

**Classification of taxonomic units for biology and  
conservation in the cases of *Lathyrus pannonicus*  
and *Oxytropis pilosa***

Evaluation of morphological and phytosociological studies  
integrating molecular genetic data

**Dissertation**

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Eberhard Karls Universität Tübingen

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von

Matthias Schlee

aus Göppingen

Tübingen

2013

Gedruckt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Eberhard Karls Universität Tübingen.

Tag der mündlichen Qualifikation: 15.07.2014

Dekan: Prof. Dr. Wolfgang Rosenstiel

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Vera Hemleben

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Gerd Jürgens

# Content

<b>Author's contributions to the publications</b> .....	<b>4</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>5</b>
<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>6</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>8</b>
Species as units for conservation .....	8
Studied organisms .....	9
<i>Lathyrus pannonicus</i> (JACQ.) GARCKE .....	10
<i>Oxytropis pilosa</i> DC. ....	12
The phytosociological approach to define habitats .....	14
The nuclear ribosomal DNA spacers to assess intra- and inter-specific divergence .....	17
<b>Results</b> .....	<b>19</b>
Phytosociological and ecological characterisation of <i>Lathyrus pannonicus</i> and <i>Oxytropis pilosa</i> (Publication 1, 2003 & Publication 5, 2011) .....	19
Patterns of intra-specific genetic variability in <i>Lathyrus pannonicus</i> and <i>Oxytropis pilosa</i> (Publication 1, 2003; 3, 2005; 4, 2010; 5, 2011) .....	20
The correlation of ecological, morphological and molecular genetic differentiation in <i>Lathyrus pannonicus</i> (Publication 5, 2011) .....	21
Defining diversity by objective means in the genus complex <i>Astragalus/Oxytropis</i> (Publication 4, 2010) .....	22
<b>Conclusions and outlook: How to conserve biodiversity (Publication 1, 2003; Publication 2, 2004; Publication 4, 2010; Publication 5, 2011)</b> .....	<b>24</b>
<b>References</b> .....	<b>27</b>
<b>Further Publications</b> .....	<b>39</b>
<b>Conference contributions</b> .....	<b>41</b>
<b>Acknowledgements</b> .....	<b>43</b>
<b>Curriculum vitae</b> .....	<b>45</b>
<b>Publication 1</b>	
<b>Publication 2</b>	
<b>Publication 3</b>	
<b>Publication 4</b>	
<b>Publication 5</b>	

## **Author's contributions to the publications**

The outline and focus of this PhD thesis were exclusively conceived by myself.

I collected and assembled, determined, and processed all material used for these studies. Also, I performed the extensive phytosociological surveys and field work, and most of the molecular genetic work, data assembling and evaluation (DNA extraction, PCR, cloning, sequencing, editing): **Publications 1, 3 – 5**; for **publication 3** I contributed approximately 25 %.

Further data analysis and the development of new evaluation approaches were done in association with colleagues, especially PD Dr. Markus Göker and Dr. Guido Grimm: **Publications 4 and 5**.

First drafting and conception of the Publications was done by myself. Finalisation was carried out by all authors: **Publications 1, 3 – 5**.

**Publication 2** is a completely autonomous work.

## Abstract

In order to conserve biodiversity and develop taxon-specific conservation measures it is important to define and identify taxonomic units, which require protection. In this thesis, the differentiation processes in two species of the Fabaceae, the Hungarian Pea *Lathyrus pannonicus* (JACQ.) GARCKE and the Wolly Milkvetch *Oxytropis pilosa* DC., are investigated using a combination of phytosociological surveys (using the Braun-Blanquet method) and molecular sequence data, and a set of analyses which include entirely novel approaches. Both species are relict species and elements of the Pontian-Pannonian floristic province. In the case of the generally more variable *Lathyrus pannonicus* correlations are found between ecological, morphological and genetic inter-stand distances. Mean Ellenberg indicator values calculated for stands (based on the Braun-Blanquet relevés) allowed to characterise the ecological properties of members of all subspecies, and to conclude that the genetic differentiation found in *L. pannonicus* is closely linked to Ellenberg's moisture figure "F". *Lathyrus pannonicus* and its subspecies fall into two major lineages in Europe: (1) a dry-adapted lineage (subspecies *collinus*, *suevicus*, and *varius*) thriving in habitats with mean "F" values of < 4, and (2) a moist-preferring lineage (subspecies *asphodeloides*, *longestipulatus*, *pannonicus*, and the intermediate Rovere type) occurring in habitats with mean "F" values of > 4. *Oxytropis pilosa* is genetically less variable than *Lathyrus pannonicus*, which corresponds to its highly conserved morphology and ecology. Nevertheless, two major genetic variants are present. Using non-hierarchical clustering it is shown that this *intra*-specific variation in *O. pilosa* is as high or higher than *inter*-species divergence in other subclades of the *Astragalus/Oxytropis* genus complex. The two main genetic types reflect geographic differentiation. Pure and mixed populations are found, all of which ought to be protected to maintain current levels of biodiversity. The results of the plant phytosociological and genetic analyses of both target species are discussed in the context of conservation strategies: rather than maintaining mere high numbers of (currently accepted or proposed) species, it is important to select and preserve the populations, which provide the genetic resources within a species. The importance of taxon-specific conservation means is highlighted, and a recommendation is given how to preserve biodiversity.

## Zusammenfassung

Ziel der Arbeit ist es, die jüngeren Verbreitungen und Artbildungsprozesse zweier rarer (pontisch-)pannonischer Steppenpflanzen aus der Familie der Schmetterlingsblütler (Fabaceae), die sich in ihrer morphologischen Aufgliederung unterscheiden, sowohl molekulargenetisch (mittels Klonierung und Sequenzierung von rDNA-Spacerregionen) als auch pflanzensoziologisch nachzuzeichnen. Die beiden untersuchten Arten, Wollige Fahnenwicke (*Oxytropis pilosa*) sowie die Ungarische Platterbse (*Lathyrus pannonicus*), haben in weiten Teilen Eurasiens eine ähnliche Verbreitung.

Während *O. pilosa* über ihr Gesamtareal eine morphologisch homogene und genetisch schwach differenzierte Art darstellt, gliedert sich die ihr gegenübergestellte *L. pannonicus* sehr stark in morphologisch definierte Unterarten mit bemerkenswerter genetischer Variabilität, die sich genetisch-ökologisch als jeweils einen trockenheits- und einen feuchtigkeitsliebenden Ökotyp zusammenfassen lassen. Die ökologische Differenzierung der beiden untersuchten Arten kann mit der Braun-Blanquet-Methode erfasst und charakterisiert werden, wobei eine genaue synsystematische Zuordnung weder möglich noch angestrebt ist. Mit Hilfe der Braun-Blanquet-Aufnahmen wurden Ellenberg-Zeigerwerte und ökologisch-definierte Habitatdistanzen (über Bray-Curtis-Distanzen) generiert und diese den durch Klonierung und Sequenzierung gewonnenen molekularen Daten gegenübergestellt. Auf diese Weise war es möglich, trotz der hohen inter- und intraindividuellen Variabilität im Falle von *L. pannonicus* zu einem evolutionär-interpretierbaren Ergebnis zu kommen.

Bei *L. pannonicus* zeigt sich, dass die ökologische Differenzierung als die treibende Kraft im Artbildungsprozess gesehen werden kann, demgegenüber ein geographisches Differenzierungssignal zurücktritt. An die Stelle der traditionell morphologisch unterschiedenen Unterarten treten zwei genetisch-ökologisch klar charakterisierbare Haupttypen (evolutionäre Linien), die möglicherweise sogar als Arten angesprochen werden könnten. Die morphologische Gleichförmigkeit von *O. pilosa* geht einher mit ihrer ökologischen Konstanz, jedoch gibt es auch hier verschiedene genetische Typen, welche mit der geographischen Verbreitung korrelieren. Es konnte gezeigt werden, dass die genetische Variation *innerhalb* der Art *O. pilosa* die Divergenz *zwischen* allgemein akzeptierten Arten ihrer Schwestergattung *Astragalus*, die z.T. auch als Relikte angesehen werden, entspricht oder sogar statistisch-signifikant übertrifft.

Die umfassende Charakterisierung der untersuchten Reliktarten zeigt auf, welche Unterarten beziehungsweise Ökotypen und letztlich Populationen für den Naturschutz als besonders vordringlich aufgezeigt und wie neben den Arten und Unterarten selbst auch deren Habitate charakterisiert werden können. Dabei zeigt sich, dass traditionell bedingte taxonomische Kategorien (Unterarten, Arten, Gattungen) ungeeignet sind, schützenswerte Einheiten zu definieren. Im Sinne des Prozessschutzes ist es wünschenswert, dass die ökologischen Standortbedingungen bei aller Veränderlichkeit einen Erhalt der Reliktarten auch weiterhin ermöglichen. Für die untersuchten Arten kann aufgrund der pflanzensoziologischen Aufnahmen auf eine Besiedlung insbesondere von gestörten Biotopen geschlossen werden: Bevorzugt werden durch massive Störungen Lückigkeit aufweisende Habitate eingenommen, so beispielsweise beweidete oder anderweitig stark anthropogen beeinflusste und damit stark offengehaltene Flächen bis hin zu Bahndämmen. Ein Monitoring im Sinne einer Effizienzkontrolle ist für diese Reliktarten in ihren starken Wechseln unterworfenen Habitaten überdies eine Notwendigkeit. Die Schwierigkeit von Naturschutzmaßnahmen unter diesen Umständen wird ebenso diskutiert wie die Vernetzung von Habitaten, welche für Reliktarten nicht notwendigerweise zielführend ist. Insbesondere erschwert die Besonderheit vieler reliktscher Standorte eine Vernetzung der Habitate. Im Sinne des Erhalts der Biodiversität ist es wichtig, aber auch erfolgsversprechend, die umfassend in ihren Eigenheiten erkannten Reliktarten mit ihrer Anpasstheit im Fortbestand zu sichern und ihren Artbildungsprozess unter Bedingungen nicht zuletzt des Klimawandels weiter zu verfolgen.

# Introduction

## Species as units for conservation

The recognition of distinct taxa has always been one of the central goals of biology, regardless of the changing underlying concepts, methodologies, and background paradigms for this endeavour. The importance of taxa, especially species, also holds for nature conservation, since the common understanding biodiversity is focussed on the number of species thriving in a particular area or habitat. Red Lists of Threatened Species of the International Union for Conservation of Nature (IUCN) compile those species that are in danger of extinction; and methods are devised to conserve these species. However, it is not straightforward to decide on what is actually a species. Currently there exist various species concepts, the most popular being the “biological species” concept of DOBZHANSKY (1937) and MAYR (1942) that defines species based on reproductive isolation. Inherent to all species concepts is that they are logic from a theoretical point of view, but are difficult to apply in the real world (COYNE 1994; MALLETT 1995, 2001). This was already recognised by DARWIN and WALLACE, who were well aware of the problem how to decide at which point a variety, morphotype or population should be treated as a distinct species (MALLETT 2010). This holds also in the time where molecular data replaces the traditional use of morphological data to define taxa. MALLETT (2001: 887) states “speciation is a process of emerging genealogical distinctness, rather than a discontinuity affecting all genes simultaneously.” Later, he called this the “Darwinian continuum” of speciation (MALLETT 2008: 2980). Included in this concept is the observation that speciation is naturally associated with hybridisation in a broad sense (MALLETT 2007). One can expect that the difference between populations increases with the geographic distance because genetic drift is more likely to outcompete gene-flow over large distances. Other processes that account for differentiation between populations relate to the ecology of a taxon. TURESSON (1922a, 1922b) was probably among the first who noted a correlation between distribution of varieties within one species and ecological adaptation, which led him to the introduction of the concept of ecotypes: distinct units within a polymorphic species that are connected to certain ecological parameters.

Because of the difficulties to define a species by objective means or a single criterion like e.g. reproductive isolation, MALLETT (2008, 2010) advocates the use of a flexible, descriptive species concept based on the evolutionary approach of DARWIN and WALLACE. If two putative species, defined by distinct morpho- or genotypes in most of their distribution range,



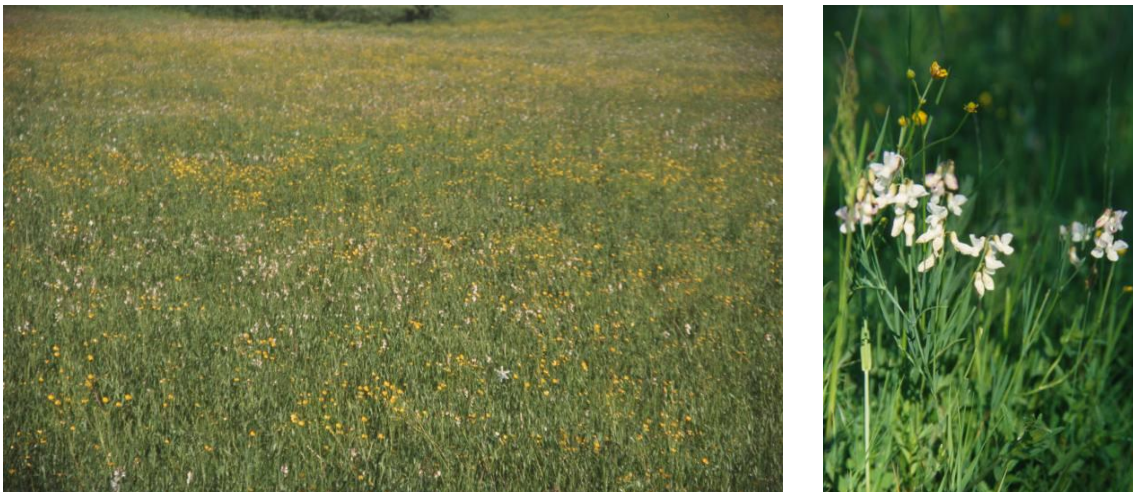
produce many intermediate forms when they occur sympatrically, they should be treated as subspecies of the same species which means that the “Darwinian continuum between varieties and species” has to be affirmed (MALLETT 2008). If no or few intermediate forms are found, they can be treated as species. In the case of disjunct putative species, it cannot be decided whether they are better addressed as species or subspecies. For this case, MALLETT (2010: 518) provides a simple solution: it should be left to the opinion of the individual researcher. If one accepts that a species can only be used as a virtual category for taxonomic or scholarly purposes to address populations, ecotypes, morphotypes, and/or genotypes that are similar, it is clear that conservation should not use the “species” or number of species as the most important unit and measure for biodiversity.

The aim of the studies presented here is to identify those populations or types within a species or a species complex that provide unique genetic, ecologic, or phenotypic types (SCHLEE 2004). If one agrees that in conservation management major emphasis needs to be laid on equal protection efforts for taxa that are equally diverse (WATT 1947; STOCK et al. 1999; POTTHAST 2000; SCHLEE 2004), it is crucial to compare diversity by appropriate means. Taking into account that taxonomic affiliations and taxonomic ranks often only poorly reflect relative genetic diversity, it is questionable if they are sufficient to determine valuable genetic resources: one need to devise methods to quantitatively compare biodiversity independent of current species concepts.

## **Studied organisms**

The phenomena and problems alluded to in the preceding section have been investigated by using exemplary botanical cases. For analyses of patterns of intra-specific differentiation, mainly two herbaceous species were studied: *Lathyrus pannonicus*, the Hungarian Pea, and *Oxytropis pilosa*, the Woolly Milkvetch, both belonging to the Fabaceae (tribes Fabeae, Galegeae; LEWIS et al. 2005). These species have a quite similar distribution range in western Eurasia, and for both species an origin in the steppe-like habitats of the Altai, Central Asia, has been assumed (GAMS 1924; MAYER 1925; BÄSSLER 1981). HAYEK (1923), GAMS (1924), and MAYER (1925) recognised them as elements of the Pontian-Pannonian floristic province, typical for the northern Black Sea region and the Pannonian Basin. In the rest of Europe, they prefer open thermophilous fringe communities and are characterised by discontinuous, relict distributions (MEUSEL et al. 1965). The occurrence outside the Pontian-Pannonian as relicts is illustrated by the distribution of both species in south-western Germany. Here, *L. pannonicus* can only be found on two hills near Tübingen (VOGGESBERGER 1992); populations in the

Nahe valley near Gau-Algesheim, ~ 180 km airline distance to Tübingen, went extinct (LANG 1993, 2011; M. SCHLEE, pers. observation). *Oxytropis pilosa* is also restricted to these two areas, and an additional population exists farther to the south on the mountains of the Hegau (~ 90 km airline distance to Tübingen). These localities in south-western Germany are several hundred kilometres away from the next populations of *L. pannonicus* (near Vienna) and *O. pilosa* (Thuringia, eastern Germany; cf. MEUSEL et al. 1965: map K245a). Another remarkable finding is a mass population of both species at a single locality in the Central Apennines (Monte Sirente, Abruzzo, Italy). Also here, the next populations are 80 km (*O. pilosa*; Ascoli Piceno, Marche) and > 150 km (*L. pannonicus*; Acquapendente, Lazio, MORTELLARO & COLASANTE 1997; Monte Amiata, Toscana, SELVI 2010) afar. In the following, the species studied are introduced in more detail.



**Figure 1.** The Hungarian Pea (*Lathyrus pannonicus*), example of a mass population found in the Central Apennines (Abruzzo, Italy). Left: Overview, right: close-up. Photos: M. SCHLEE.

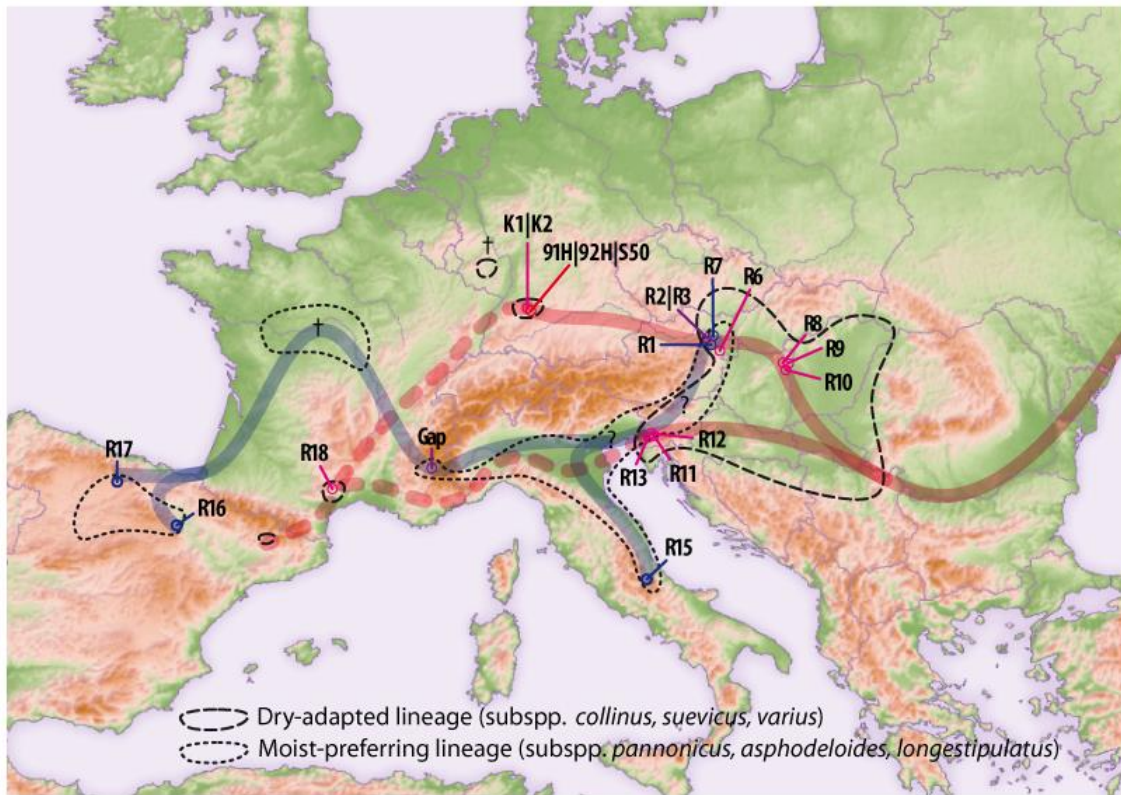
### ***Lathyrus pannonicus* (JACQ.) GARCKE**

The Hungarian Pea (*Lathyrus pannonicus*; Figure 1) is the most morphologically variable member of the Eurasian section *Lathyrostylis* (BÄSSLER 1981). This section comprises 20 species with its centre of biodiversity in the Balkans and Asia Minor (BÄSSLER 1981) while the whole genus comprises ~ 160 species representing the largest genus within the tribe Fabeae (KENICER 2008). Members of this section form a clade based on molecular (KENICER et al. 2005; including four species: *L. digitatus*, *L. filiformis*, *L. pallescens*, and *L. spathulatus*) and morphological phylogenetic analyses (LEHT 2009; including five species: *L. cyaneus*,

*L. digitatus*, *L. filiformis*, *L. pallescens*, and *L. pannonicus*). The phylogenetic position of section *Lathyrostylis* within the genus is so far unresolved as well as the phylogenetic relationship of *L. pannonicus* to other species of section *Lathyrostylis* (BÄSSLER 1964, 1966, 1971, 1973; KUPICHA 1983; cf. molecular data from ASMUSSEN & LISTON 1998, KENICER et al. 2005, and morphological data from LEHT 2009).

According to BÄSSLER (1981), members of section *Lathyrostylis* are more or less xerophytic and occur in the submeridional vegetation zone (cf. SCHROEDER 1998 for definition). This applies partly also to *L. pannonicus*. The range of this species (Figure 2) spans from the Altai Mountains in Siberia (subsp. *multijugus* [LEDEB.] BÄSSLER; FEDCHENKO 1972; BÄSSLER 1981), where it occurs together with the closely related *L. ledebourii* TRAUTV. (BÄSSLER 1981; M. SCHLEE, unpublished molecular data), to north-eastern Spain (GALLEGO 1999: 460 f.). The northern-most occurrence is in south-western Germany (GAMS 1924; WÖRZ 1992; SCHLEE et al. 2003). In Italy it goes south at least as far as Emilia e Romagna, Abruzzo (SCHLEE et al. 2011), Toscana (MELINOSSI 1965; SELVI 2010), and Lazio (SCOPPOLA 1991, 2000; MORTELLARO & COLASANTE 1997). Historical records include also Calabria and the Basilicata (FIORI 1925: 916 f.; already missing in PIGNATTI 1982: 690). The south-eastern border in Europe is on the Balkans, whereas reports from Greece and Turkey appear doubtful (DAVIS 1970: 369; BÄSSLER 1981: 203). The species' range, however, is not closed (Figure 2). In BALL (1968), BÄSSLER (1981), and in Flora Europaea (1998-2005) several subspecies within Europe are distinguished replacing an extensive splitting into varieties and even subvarieties (ŠIRJAEV 1936: 235; 1937). Traditionally, these subspecies are still largely defined by a geography that is more reflecting the ranges of local flora treatises than verifying subspecies' incidence (cf. SCHLEE et al. 2011: Table 1; FEDCHENKO 1972; PIGNATTI 1982; FOURNIER 1990; GALLEGO 1999). Only in the Pannonian Basin, two subspecies occur in very close vicinity: subspecies *pannonicus* and *collinus* (ORTMANN) SOÓ. The latter are ecologically distinct (ORTMANN 1853; HEGELMAIER 1886; REICHENBACH & BECK DE MANNAGETTA 1903; GAMS 1924; MAYER 1925; MEUSEL et al. 1965; GARCKE 1972; BÄSSLER 1981, SCHLEE et al. 2003, 2011): *L. pannonicus* subsp. *collinus* follows the typical xerophilous trend of the section – occurring in associations of the Festuco-Brometea and forest fringes of the Trifolio-Geranietea sanguinei – whereas subsp. *pannonicus* is adapted to moist habitats of Molinio-Arrhenatheretea and nutrition-rich fringes of Trifolion medii associations (SCHLEE et al. 2003, 2011). In contrast to BALL (1968) and BÄSSLER (1981),

MEUSEL et al. (1965: map K251d) only distinguished these two subspecies, in which they included the western populations.



**Figure 2.** Modern distribution of the dry-adapted and moist-preferring lineages (ecotypes) of *Lathyrus pannonicus* in western Eurasia (after SCHLEE et al. 2011). Labels refer to sampled populations and relevés. Lines indicate putative migration pathways of the (ancestral) dry-adapted (also represented in Altai, Siberia; in red) and the more recently evolved moist-preferring lineage (in blue). Crosses indicate populations that went extinct in the last 100 years.

### ***Oxytropis pilosa* DC.**

The Woolly Milkvetch (*Oxytropis pilosa*; Figure 3) is – in contrast to *Lathyrus pannonicus* – morphologically homogenous throughout its western distribution range (GAMS 1924; LEINS & MERXMÜLLER 1968; slight phenotype modifications might be found e.g. when the plant leans on rocky surface, M. SCHLEE, pers. observation). No infraspecific taxa are reported except of one dwarf variant (var. *pygmaea* G. BECK in REICHENBACH & BECK DE MANNAGETTA 1903; cf. LEINS & MERXMÜLLER 1968). However, VASIL'CHENKO et al. (1972 [1948]: 81 f.) for the eastern range describe the species as “very polymorphic in accordance with its wide distribution” including transitional forms of *O. pallasii* PERS. which is discussed as a variety of *O. pilosa*.

The genus *Oxytropis* (~ 300 species) is traditionally allied with the genus *Astragalus* (at least 2,500 species; PODLECH 1986; CHAUDHARY & SRIVASTAVA 2007) – one of the largest genera in the plant kingdom. Despite various attempts (SANDERSON 1991; SANDERSON & DOYLE 1993; WOJCIECHOWSKI et al. 1993, 1999; WOJCIECHOWSKI 2005; KAZEMPOUR OSALOO et al. 2003) molecular phylogenetic analyses so far failed to resolve inter-species relationships within the *Astragalus/Oxytropis* complex. Morphological and genetic studies focusing at the species level showed a general problem to distinguish species within *Astragalus* and *Oxytropis* – with *Astragalus* being negatively characterised only by the missing of a beaked keel but being furthermore inhomogeneous (PODLECH 1982, 1986; SANDERSON & WOJCIECHOWSKI 2000; JORGENSEN et al. 2003; SCHÖNSWETTER et al. 2004). As assumed by LEDINGHAM & REVER (1963) and SIMONS & CHINNAPPA (2004), *Oxytropis* originated in temperate Asia, is monophyletic and shows a high amount of polyploidy in the Old World but not in the New World. SIMONS & CHINNAPPA (2004) recommend the use of only one taxonomic unit also because of a similar development of microsporangia within both genera. Therefore, molecular data for *Astragalus* were included in these studies (SCHLEE et al. 2010).



**Figure 3.** The Woolly Milkvech (*Oxytropis pilosa*), specimen growing on gypsum (Marche, Italy). Photo: M. SCHLEE.

*Oxytropis pilosa* is a highly xerophytic plant (GAMS 1924; SCHLEE et al. 2003), a character species of the *Xerobrometum erecti* (BRAUN-BLANQUET & RÜBEL 1934) and – like *Lathyrus pannonicus* occurs in the submeridional vegetation zone – but extends into the nemoral zone (GAMS 1924). Its western boundary is defined by the Sea Alps. Its southern-most occurrence in Europe is probably at the ridge of Monte Sirente, Abruzzo, Italy (E. FURRER: “Abruzzen: Kalkfelsen ob Rovere am Sirente-Grat”, 1,600 m s.l.m., August 3<sup>rd</sup> 1924, Herbarium Zürich [Z]; M. SCHLEE, pers. observation). Only in the Alps, the Pannonian Basin and eastern Germany it is commonly found, thinning out towards Poland and Estonia with the northern-most populations in Östergötland and Gotland, Sweden (GAMS 1924; MEUSEL et al. 1965: map K245a). A continuous distribution is found from the Pannonian Basin to the east until the Altai, Siberia (MEUSEL et al. 1965: map K245a).

## **The phytosociological approach to define habitats**

In order to identify putative ecotypes within a species, one needs to classify the habitats of subpopulations of a species. A straightforward means is to describe the plant communities of the populations under consideration; differences in the plant communities reflect differences in the ecology of the habitat or geographic trends. For this it is necessary to use a standard that allows for comparison of studied plant communities (see MUELLER-DOMBOIS & ELLENBERG 1974 for a review of potential methods). The first method which was established to describe plant communities in a quantitative manner was that of the Zurich-Montpellier School of Phytosociology, founded by BRAUN-BLANQUET (BRAUN-BLANQUET 1921; for earlier approaches cf. RIETZ 1921). This method, known as the Braun-Blanquet approach, collects simultaneously data on the coverage and abundance of plants within a sample plot. The size of this sample plot, or relevé, can vary, the aim is to use a size that is large enough to catch most elements that form a plant community, but small enough not to mix elements of different habitats, i.e. being homogenous. The scoring of coverage *and* abundance is done using a defined scale (Table 1; BRAUN-BLANQUET 1964; KREEB 1983; cf. DIERSCHKE 1994 and WILMANN 1998 for a more detailed Braun-Blanquet scale).

**Table 1:** Modified Braun-Blanquet scale (after SCHLEE 1999: 43)

Scale	Abundance and coverage
r	Rare, low coverage
+	Up to 5 individuals, low coverage
1	Plenty individuals, up to 5 % coverage
2a	Number of individuals arbitrary, coverage 5-15 %
2b	Number of individuals arbitrary, coverage 15-25 %
2m	Number of individuals > 50, coverage less than 5 %
3	Number of individuals arbitrary, coverage 25-50 %
4	Number of individuals arbitrary, coverage 50-75 %
5	Number of individuals arbitrary, coverage 75-100 %
v	Used for distinctive species found nearby but outside the plot for comprehensive documentation of species inventory

The scores from all relevés are then tabulated. Relevés are first sorted by ‘steadiness’ (“Stetigkeit”) of occurrence, i.e. the presence or absence of a particular recorded taxon in all included relevés. In further steps rows and columns of the table are sorted to group those relevés *and* those taxa groups with similar coverage and abundance patterns by hand (cf. KREEB 1983, DIERSCHKE 1994) or by using multivariate analyses (using the program MULVA, WILDI 1989; WILDI & ORLÓCI 1990; see SCHLEE 1999 for an application and discussion). The final aim of the Braun-Blanquet approach is to classify plant communities as formal ‘associations’ (“Assoziation”). For example, the *Trifolio-Geranieteum sanguinei* association describes a dry-adapted forest fringe plant community typically found in Central Europe. ‘Associations’ are the basic units of the hierarchical synsystematic classification established by BRAUN-BLANQUET (1964), analogous to the ‘species’ in the Linnean classification. Like ‘species’, ‘associations’ can be further organised into ‘orders’ (“Ordnung”; indicated by the suffix ‘-etea’), ‘classes’ (“Klasse”; ‘-ea’), etc. As in the case of ‘species’, ‘association’ can be subdivided into ‘varieties’ (“Varietät”) and ‘forms’ (“Form”).

The use of classifying plant communities as ‘associations’ or other units of the Braun-Blanquet system has been strongly debated (RIETZ 1921; MOORE et al. 1970; WAGNER 1972;

SCHLEE 1999, 2004, 2005; WILLNER 2006; DENGLER 2012). Nevertheless, the technique of BRAUN-BLANQUET to record and compare the composition of plant communities remains a very good tool (MOORE et al. 1970; SCHLEE 1999, 2005; SCHLEE et al. 2003, 2011; for use within analyses of vegetation complexes cf. SCHUMACHER 1997; for classification with the deductive method cf. KOPECKÝ & HEJNÝ 1974, KOPECKÝ et al. 1995). Furthermore, a high amount of synsystematic literature is available for European plant communities, providing a huge data base for comparison and correlation with new relevés (cf. EWALD 2003 for discussion of future perspective; DENGLER 2012). Moreover, rearrangement and comparison of formerly collected relevés may additionally exhibit new insights in old and maybe already disappeared vegetation units (e.g. late description of the important saum vegetation *Trifolio-Geranietea sanguinei*, MÜLLER 1962, 1966, associations of which can still be found within synoptic tables of other synsystematic classification arranged before or despite having knowledge of the new ones, cf. KORNECK et al. 1993: high abundance of character species of associations of *Trifolio-Geranietea sanguinei* within those of *Festuco-Brometea*; critics in SCHLEE 1999, 2005; cf. WENDELBERGER 1986 for characterisation of a permanent “mosaic-like community complex” of such fringe societies in the Pannonian area). Accenting the need of looking back and ahead not only in monitoring samples it seems necessary to simply do relevés where needed either inspired even by intuition or need of monitoring of target species and irrespective of what association can possibly be described afterwards (WAGNER 1972, SCHLEE 1999, 2005; cf. the problem of underrepresented community types: EWALD 2003).

Instead of using the relevé data for classification in the philosophy of BRAUN-BLANQUET and his school, the data can be analysed using numerical approaches (MUELLER-DOMBOIS & ELLENBERG 1974; FISCHER & BEMMERLEIN 1989). Like any other character matrix, tables used for synsystematic studies can be subdued to cluster analyses (e.g. MOORE & O’SULLIVAN 1970; BRUELHEIDE & JANDT 1997) and multivariate analyses (cf. MULVA: WILDI 1989; WILDI & ORLÓCI 1990). Recently, SCHLEE et al. (2011) defined inter-stand habitat distances using Bray-Curtis distances based on phytosociological relevés. A strength of the scoring system by BRAUN-BLANQUET is that it minimizes estimation errors by generalisation of the absolute abundance and coverage by particular plant taxa. The major source of error and uncertainty is taxonomic bias, inflicted by misidentified taxa, and numerical bias due to seasonal changes of vegetation. If one would simply count the individuals, essentially identical plant communities could appear as markedly different. Using the scoring system of BRAUN-BLANQUET, statistic noise is filtered to a certain degree. For



instance, SCHLEE (1999) found that much more accurate scales such as the Londo scale (LONDO 1975) that includes information about absolute numbers of individuals did not provide a more reliable signal. The study by SCHLEE et al. (2011) found no significant difference between abundance-presence and ordinal scoring. Notably, SCHLEE et al. (2011) used a cut-off based on the Braun-Blanquet scores to define 'absence' vs. 'presence' rather than just score the complete absence. This represents another benefit of the Braun-Blanquet technique to record relevés: pure absence and presence data may be biased by singular, non-characteristic occurrences of particular taxa.

Phytosociological relevés can also be used to directly infer ecological parameters. ELLENBERG and co-workers (ELLENBERG 1979; ELLENBERG et al. 2001) classified plant taxa of Central Europe using 'indicator values' ("Zeigerwerte"). The ecology of a stand (habitat) can then be characterised by the (weighted) mean of all indicator values of all taxa of a plant community. Like BRAUN-BLANQUET (1964), also ELLENBERG and co-workers do not rely on the absolute presence or absence of taxa, but instead used the Braun-Blanquet scoring to weight the indicator values of individual taxa for computing a representative value for the studied stand (habitat; see also procedure applied by SCHLEE et al. 2011).

## **The nuclear ribosomal DNA spacers to assess intra- and inter-specific divergence**

Based on the fact that variation of species or ecotypes should be traced also by molecular methods several approaches have been applied for a more or less good resolution on the level of genera, species, or populations (HEMLEBEN 1992; BACHMANN 1994; VOLKOV et al. 2004). As expected, the quality and accuracy of the methods on the one hand and their unpredictable suitability for the studied object on the other hand make it difficult to choose a marker that ensures success of a good resolution. Molecular methods based on non-sequenced data (e.g. RAPD, AFLP, RFLP) often fail to produce reproducible data or in worst case reflect fungi or contamination on the studied object (BACHMANN 1994; for monitoring approaches SCHLEE 2004, PALME et al. 2005, PALME & SCHLEE 2009).

In contrast, cloning and sequencing of the spacers of the nuclear encoded ribosomal RNA genes or ribosomal DNA (nrDNA or 35S rDNA), the internal transcribed spacers, ITS1 and ITS2, and the 5' external transcribed spacer, 5' ETS, of the 35S rDNA, and the intergenic spacer of the 5S rDNA, allowed to reconstruct detailed evolutionary pathways and/or taxonomic relationships at and below the species level (e.g. RITLAND et al. 1993; CAMPBELL

et al. 1997; JOBST et al. 1998; SAMUEL et al. 1998; WISSEMAN 1999; LINDER et al. 2000; RÖSER et al. 2001; MUIR et al. 2001; VOLKOV et al. 2001, 2003; DENK et al. 2002; SCHLEE et al. 2003; RAZAFIMANDIMBISON et al. 2004; SOLTIS et al. 2004; GRIMM et al. 2005; DENK & GRIMM 2005; WISSEMAN & RITZ 2005; MUIR & SCHLÖTTERER 2005; GRIMM et al. 2007a, 2007b; KOMAROVA et al. 2008; DENK & GRIMM 2010; GRIMM & DENK 2010; SCHLEE et al. 2010, 2011).

Significant intra-specific and intra-individual genetic variability can be detected by cloning and sequencing a large number of nrDNA spacer sequences. The thus found variability and variation allows discussing differentiation patterns in a geographic and evolutionary context in those cases where traditional approaches are limited (DENK et al. 2002, 2005; MANEN et al. 2002; SCHLEE et al. 2003, 2011; DENK & GRIMM 2005, 2010; ROSSELLÓ et al. 2007; GRIMM et al. 2007a, 2007b; GRIMM & DENK 2008, 2010). This intra-individual variability in the nrDNA spacers is caused by their biparentally inheritance and their genomic organisation. They are part of a multicopy gene regions, the nucleolus organiser region (NOR), and the 5S rDNA array, and are undergoing – to some degree incomplete – concerted evolution as well as frequent intragenomic recombination (ARNHEIM et al. 1980; HEMLEBEN et al. 1988; DVORÁK et al. 1989; BALDWIN et al. 1995; KOVARIK et al. 2004; VOLKOV et al. 2007). In several cases more than one NOR or 5S rDNA array can be detected (e.g. DUBCOVSKY & DVORÁK 1995; FRANSZ et al. 1998; VOLKOV et al. 2004; LEWIS et al. 2004; KOMAROVA et al. 2008; see ROSATO & ROSSELLÓ 2009 for an example from the Fabaceae), each one with its own set of nrDNA spacers. This has long been a problem for phylogenetic inferences that can be used for taxonomic or other purposes, but recently methods have been proposed that make explicit use of the signal from intra-individual nrDNA spacer variability to infer a phylogeny based on dataset of cloned sequences (JOLY & BRUNEAU 2006; GÖKER & GRIMM 2008). The methods proposed by GÖKER & GRIMM (2008) can also be used to calculate divergence between biological units in general.

## Results

### **Phytosociological and ecological characterisation of *Lathyrus pannonicus* and *Oxytropis pilosa* (Publication 1, 2003 & Publication 5, 2011)**

The investigated populations of *Lathyrus pannonicus* cover a wide range from xerophytic to moist habitats (SCHLEE et al. 2003: Table 1; SCHLEE et al. 2011: Table S1). The mean Ellenberg *F*-value ranges from 3.3 to 5.7 for stands of *L. pannonicus* in Europe (SCHLEE et al. 2011: Table 2). *Lathyrus pannonicus* occurs in a variety of plant sociologic associations belonging to the classes Festuco-Brometea erecti, Trifolio-Geranietea sanguinei, Trifolion medii, and Molinio-Arrhenatheretea (SCHLEE et al. 2003). The subspecies are restricted to particular associations. Subspecies *collinus* is a character species of associations within the Festuco-Brometea erecti, dry grassland, and Trifolio-Geranietea sanguinei, relatively dry forest fringe communities (MUCINA & KOLBEK in MUCINA et al. 1993: 275 ff.; for an uncertain *Lathyrus pannonicus*-*Bromus erectus* association cf. p. 428). Subspecies *pannonicus* is a character species of Trifolion medii, mesic fringe communities, and Molinio-Arrhenatheretea, moisture grassland, associations, and the Lathyreto-Molinietum coeruleae association that has been described for the Balkans (TATIĆ et al. 1988). It is also listed as subdominant character species for the Succiso-Molinietum caeruleae (ELLMAUER & MUCINA in MUCINA et al. 1993: 305 f.). Even in those areas where different subspecies of *L. pannonicus* occur, the ecologic distinction of them is stable; e.g. in the case of stands within the Pannonian Basin. In Italy, however, it could not only be shown that subspecies *varius* is adapted to intermediate habitats (mean Ellenberg *F*-value ~ 4), characterised by seasonally moistened soils, typical for the Istrian karst. The population found in the Italian Abruzzo is adapted to very moist conditions (mean *F*-value of 5.29) in contrast to populations of subspecies *varius* in Istria (SCHLEE et al. 2011). For the northern Spanish populations of subspecies *longestipulatus* detailed phytosociological studies show that the subspecies is linked to moist habitats (mean *F*-value ~ 5) – comparable to *L. pannonicus* subspecies *pannonicus* in the east (SCHLEE et al. 2003, 2011).

*Oxytropis pilosa* on the other hand can only be found in xerophytic habitats throughout the whole species' range (SCHLEE et al. 2003). The description of *O. pilosa* being a character species of the Xerobrometum, the driest association of the class Festuco-Brometea erecti, can be confirmed (BRAUN-BLANQUET & MOOR 1938, KORNECK et al. 1993). Hence, comparative

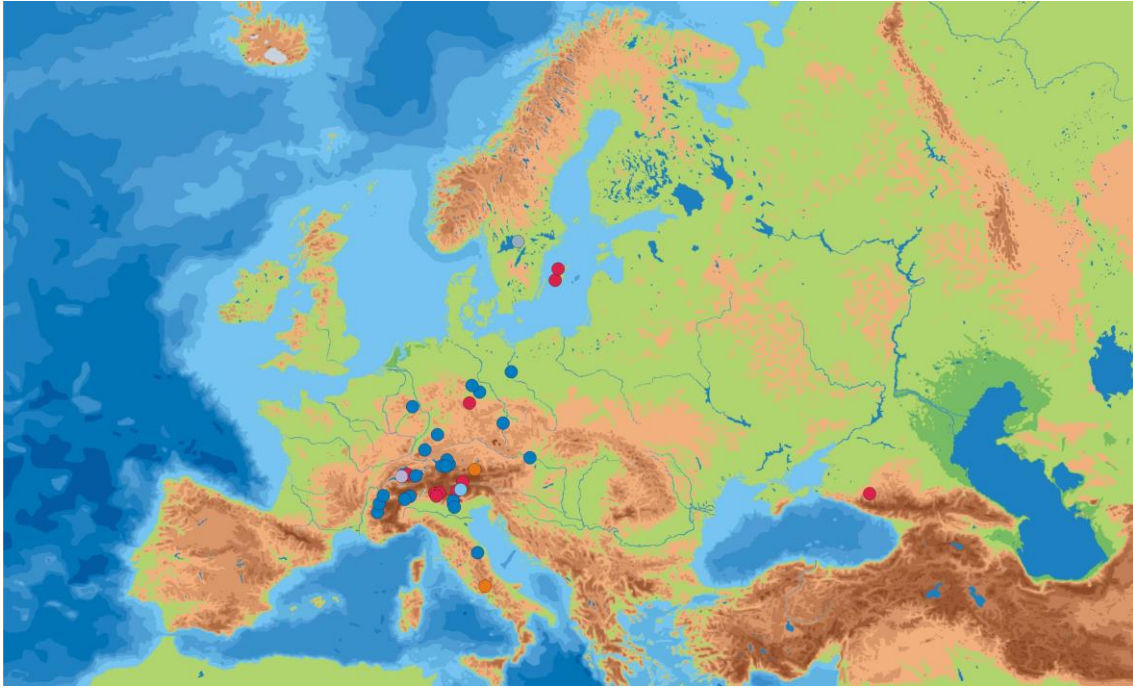
phytosociological analyses document that *L. pannonicus* subspecies *collinus* is the only member of its species that shares similar habitats as *O. pilosa* in East and Central Europe.

It has to be noted that all vegetation units are disturbed – their plant communities differ from the classical associations. Despite this, they still show a characteristic composition that can be interpreted towards dry to moist environments. This is illustrated by the good correlation of the phytosociological classification with the results of the mean Ellenberg *F*-values (compare SCHLEE et al. 2003 to SCHLEE et al. 2011).

### **Patterns of intra-specific genetic variability in *Lathyrus pannonicus* and *Oxytropis pilosa* (Publication 1, 2003; 3, 2005; 4, 2010; 5, 2011)**

The use of the cloning technique for sequencing the internal transcribed spacers, ITS1 and ITS2, of the ribosomal DNA revealed a high intra-individual variability within all subspecies of *Lathyrus pannonicus*. Intra-individual ITS (ITS1 and ITS2) and 5' ETS variability in *Lathyrus pannonicus* can be as high or higher as inter-individual divergence (SCHLEE et al. 2003, 2011; GRIMM et al. 2005). ITS and 5' ETS variation is geographically linked: individuals at all stands of *Lathyrus pannonicus* share the same or similar patterns of intra-individual variability. A number of ITS and 5' ETS sequence variants are found only in a particular region, whereas others have a wider distribution (SCHLEE et al. 2003; GRIMM et al. 2005). Furthermore, some mutations were found to be confined to a single or several subspecies. For instance, the Spanish individuals of subsp. *longestipulatus* show ITS types also found in Austria within individuals of subsp. *collinus* and *pannonicus* in addition to ITS types, and 5' ETS types, only found in Spain (SCHLEE et al. 2003: Figure 2; GRIMM et al. 2005: Figure 9; see also SCHLEE et al. 2011: Figure 3).

*Oxytropis pilosa*, on the other hand, shows a relatively low inter- and intra-individual variability (SCHLEE et al. 2010). Also here, the level of intra-individual variability exceeds the level of inter-individual divergence. This corresponds very well with the morphological and ecological homogeneity of *O. pilosa* throughout its range, and in comparison to *L. pannonicus*. Basically, two main variants of the ITS sequences can be distinguished (SCHLEE et al. 2010: Figure 2) and mapped throughout the species' range in Europe (SCHLEE and co-workers, unpublished data; Figure 4).



**Figure 4.** Distribution of major ITS genotypes of *Oxytropis pilosa* in western Eurasia. Reddish tones: ‘eastern’ genotypes, bluish tones: ‘western’ genotype (M. SCHLEE et al., unpublished data)

## **The correlation of ecological, morphological and molecular genetic differentiation in *Lathyrus pannonicus* (Publication 5, 2011)**

Correlation of distance matrixes based on ecological/phytosociological, morphological, and genetic data shows that there are two main lineages within *Lathyrus pannonicus* (SCHLEE et al. 2011). The dry-adapted lineage comprises most individuals of subspecies *collinus*, and all of the subspecies *suevicus* and *varius*. They are found in the Pannonian Basin and southwestern Germany and the Istrian Peninsula. The remaining individuals studied form the second, moisture-loving lineage. The individuals are members of the subspecies *pannonicus* from Austria, subspecies *asphodeloides* from the French Sea-Alps, and *longestipulatus* from northern Spain. Also part of this lineage is a single population of subspecies *collinus* found in Austria and an ambiguous morphotype found in Abruzzo, Italy (‘Rovere type’, SCHLEE et al. 2011). The two lineages can be distinguished by the mean Ellenberg *F*-value of their habitats: the dry adapted lineage occurs in habitats with a mean *F*-value of 3.29 to 4.2, the moisture-loving lineage in habitats with a mean *F*-value of 4.75 to 5.41 (using absence/presence scoring; SCHLEE et al. 2011: Table 3). All other computed Ellenberg values did not show significant correlation with the other data sets.

The morphological character with the best correlation to the other data sets is the length ratio of inflorescence versus leaf (LIL). Morphotypes that occur at stands with a mean Ellenberg *F*-value of  $\geq 5$  (i.e. subspecies *pannonicus*, stands R1 and R7, *longestipulatus*, stands R16 and R17, and the ‘Rovere type’, stand R15; see also SCHLEE et al. 2003) also exhibit increased LIL (SCHLEE et al. 2011; morphological data after BÄSSLER 1981). In addition to LIL, two further characters showed a significant correlation with the *F*-value: the length ratio of the calyx’ teeth to the calyx tube and the thickness of the storage root. The combination of thick storage roots with high LIL would indicate a member of the moisture-loving lineage, whereas other combinations would be uninformative.

Neither the genetic nor the morphological differentiation in *L. pannonicus* correlates to geographic distance between the populations. In the north-western part of the Pannonian Basin near Vienna, both lineages occur in close vicinity but in different habitats. Hence, the complex patterns of morphological and genetic differentiation seen in *L. pannonicus* throughout Europe reflect multiple events of radiation and area shifts linked to the adaptation to moisture environments.

## **Defining diversity by objective means in the genus complex *Astragalus/Oxytropis* (Publication 4, 2010)**

Genetic variance of species within the *Astragalus/Oxytropis* genus complex, which are among the largest genera in the plant kingdom (PODLECH 1986), was defined using a non-hierarchical single-linkage (NHSL) clustering algorithm based on 234 cloned ITS sequences obtained for *Oxytropis pilosa* (39 individuals covering 35 populations) and several representatives of other species of the *Astragalus/Oxytropis* genus complex and all available gene bank data – for the most part directly sequenced ITS sequences (SCHLEE et al. 2010). It could be shown that ITS sequences of *O. pilosa* display an inter- and intra-individual variance that is comparable to species clusters comprising numerous accepted species of *Astragalus* or *Oxytropis*. Single populations of *O. pilosa* are as divergent as or even considerably more divergent than some *Astragalus* species. In other words, different populations within *O. pilosa* represent genetic resources that can be considered equal to species of *Astragalus* or *Oxytropis*.

If a sufficiently large number of cloned sequences are retrieved and if the individuals comprising them are sampled in populations over a broad geographic range, valuable insights into the genetic divergence between populations of a single (morpho-)species can be obtained and compared with that of other, more or less closely related species. Using ITS data for such

an approach is straightforward as it is one of the most utilised sequence data deposited in databases. Therefore, the proposed approach – using objective means to identify units of comparable divergence – facilitate the identification of populations, relict stands, or biodiversity hotspots that deserve the same protection efforts independent of a fixed species concept; thus, to identify those genetic resources that possess the highest potential for on-going speciation processes or are under the highest danger of extinction.

Compared to morphologically based taxonomy, a highly adaptive species complex such as the new world *Neoastragalus* group might frequently evolve – and lose – new, unique, and locally restricted morphotypes, but will not necessarily significantly increase its genetic diversity (SCHLEE et al. 2010: Figure 2, Table 2). As a consequence, such a species complex will show a high ‘biodiversity’ regarding the number of accepted – and in the case of the *Astragalus/Oxytropis* genus complex often ‘endemic species’ – but will only show little genetic divergence between them. On the other hand, *O. pilosa* as a relict species that is ecologically restricted (cf. SCHLEE et al. 2003), is less likely to be split-up by taxonomists, but shows a notable genetic diversity.

## **Conclusions and outlook: How to conserve biodiversity (Publication 1, 2003; Publication 2, 2004; Publication 4, 2010; Publication 5, 2011)**

The case studies carried out show that a combination of traditional morphological and phytosociological studies with genetic studies using methods inspired by numerical ecology can reveal deep insights into relationships within or below the species level. This is particularly visible in the polytypic morphospecies *Lathyrus pannonicus* (SCHLEE et al. 2011). *Oxytropis pilosa* does not show any geographic phenotypic or ecological variability (SCHLEE et al. 2003, 2010) and is also genetically less differentiated. Still, the genetic variability between and within populations of the latter species nevertheless exceeds the genetic divergence between a number of related species of the genus complex *Astragalus/Oxytropis* (SCHLEE et al. 2010). Correlated to geographic distribution, evolutionary hotspots and endangered genetic resources can be detected. Such a comprehensive assessment of divergence patterns based on various data sets allows a well-founded characterisation of the situation of a population within its species. This is a necessary basis for monitoring purposes (SCHLEE et al. 2003, 2010, 2011; SCHLEE 2004).

In order to make sure that the habitat for rare relict plants is protected or improved, a particular monitoring scheme must be established (SCHLEE 1999, 2005). The financial and work-force constraints often prevent exhaustive ecological studies based on exact measurements in natural stands or based on greenhouse experiments. Moreover, in the case of highly endangered plants or very sensitive habitats such studies would make it impossible to monitor the development of a stand as they would destroy the sample or inflict irreparable damage to the plant community. Instead of this, relevés relying on the well-established Braun-Blanquet approach supply data that can easily be compared to a large amount of phytosociological literature and documentation, in particular for natural and secondary habitats within Europe. The relevé data might reflect the natural situation in case of relict stands, but might not necessarily result in the description of an ‘association’ within the philosophy of BRAUN-BLANQUET when performed in secondary habitats within the cultivated landscape dominating vast parts of Europe. Habitat protection should not aim at maintaining the status quo trying to prevent succession within the habitat, which is anyway only feasible for a limited period of time, but instead should try to protect the course of natural processes (SCHLEE 2004).



The advances in the sequencing sector (e.g. pyrosequencing approaches; GIBBONS et al. 2009, PIEDNOËL et al. 2012, SHOKRALLA et al. 2012, TABERLET et al. 2012) already allow for high-throughput. Therefore, one should focus on promising markers with a high potential for intra-individual variability and inter-individual variation such as the nuclear ribosomal spacers (NTS, 5' ETS, ITS1, ITS2, 3' ETS; 5S intergenic spacer) or microsatellite data (KARHU et al. 2000; PARISOD & BESNARD 2007; EDWARDS et al. 2008) and to use these to assess intra- and inter-specific divergence patterns. In contrast to traditionally used data (AFLP, RAPD, RFLP) that are statistically difficult to interpret because of widespread heterozygosity and hybridisation, sequence data, combined with appropriate methods, are conclusive on the quality and importance of traditionally used taxonomic units such as species or infraspecific taxa as shown for *Oxytropis pilosa* (SCHLEE et al. 2010) and the two ecologically constrained lineages of *Lathyrus pannonicus* (SCHLEE et al. 2003, 2011; GRIMM et al. 2005).

Up to now, we do not have enough data to follow actual evolutionary processes when it comes to the reaction of genetic divergence, absolute biodiversity, to man-made efforts of habitat protection. Based on our results, hectic hybridisation efforts in order to protect singular, possibly random AFLP patterns (BACHMANN 1994; FAY et al. 2005; HOLLAND et al. 2008; LAMBERTINI et al. 2008), as proposed for three populations of *Astragalus cremnophylax* var. *cremnophylax* (TRAVIS et al. 1996), appear problematic. A logical first step for a larger collaborative research approach would have been to analyse the general intra- and inter-individual diversity patterns within the species in its whole distribution range to conclude on the uniqueness of these three populations. It should be openly discussed, if an anthropogenic enforced and therefore artificial hybridisation is suitable in such a case or if a biotope network concept, allowing for random hybridisation events within natural processes, should be given the priority. It is also worth discussing openly that within subsiding natural processes some variants may go extinct (cf. SCHLEE 2004). In order to facilitate the decision making process for extensive conservation efforts, the assessment of differentiation at or below the species level by objective means is important to estimate the consequence of connecting hitherto separated habitats – or leave them separated when speciation processes have already started and artificial hybridization or homogenisation would thwart this process (SCHLEE 2004, SCHLEE et al. 2010). Instead of pursuing a networking approach at all cost, the protection of natural ecological processes is preferable.

Relocation on formerly inhabited stands might also be a suitable instrument as ecological needs should be more easily prepared well in these appropriate niches – realising a conservation concept between *in situ* and *ex situ* (VOLIS & BLECHER 2010). Especially endangered species might have the best opportunity to survive as adapted local ecotype in a changing climate (cf. PAULS et al. 2013). However, this also has to be discussed on the background of such comprehensive data.

In sum, the establishment of taxonomic units for both biology and conservation has to rely on integrating morphological and phytosociological studies with genetic data, as shown here for *L. pannonicus* and *O. pilosa*.

The specific spreading and germination needs for *L. pannonicus* and *O. pilosa* are not known so far, although in the case of *O. pilosa* the roughening of the seeds seems to facilitate germination (B. JUNGINGER, W. HERTER, pers. communication). Commonly seen evasions into human-made habitats such as rail tracks or waysides (GAMS 1924; M. SCHLEE, pers. observations) indicate the need for strong disturbance for their propagation. In contrast to many other species, relicts of the Pontian-Pannonian flora benefit from a certain level of anthropogenic impact on the natural vegetation. Comparison of the management systems for *O. pilosa* and *L. pannonicus* should prefer a grazing over a cutting regime in order to maintain the most-favourable habitat and, hence, plant community (SCHLEE et al. 2010; see POTTHAST 2004 for a discussion of disturbances and diversity changes in ecological systems in the light of process conservation). Both species easily avoid being pitted by early flowering and – in case of *O. pilosa* – hairiness and toxins of endophyte fungi (RALPHS et al. 2008). If disturbances, often a necessity to keep the relict stands of the Pontian-Pannonian flora open, are too weak, also well-intentioned networking concepts for habitats (e.g. NATURA 2000 networking program of the European Union and the Habitats Directive: Council Directive 92/43/EEC on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora) seem not to be really applicable for rare relict species such as *L. pannonicus* and *O. pilosa* as they facilitate also the propagation of populations of more common species. Finding a good trade-off between (anthropogenic) disturbance and natural conservation is the way of protecting them.

## References

- ARNHEIM, N.; KRYSTAL, M.; SCHMICKEL, R.; WILSON, G.; RYDER, O. & ZIMMER, E. (1980): Molecular evidence for genetic exchanges among ribosomal genes on nonhomologous chromosomes in man and apes. – Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A. 77: 7323-7327.
- ASMUSSEN, C. B. & LISTON, A. (1998): Chloroplast DNA characters, phylogeny, and classification of *Lathyrus* (Fabaceae). – American Journal of Botany 85: 387-401.
- BACHMANN, K. (1994): Molecular markers in plant ecology. – New Phytologist 126: 403-418.
- BÄSSLER, M. (1964): Die systematische Stellung des Subgen. *Orobus* in der Gattung *Lathyrus* und seine altweltlichen Arten. Dissertation, University of Jena.
- BÄSSLER, M. (1966): Die Stellung des Subgenus *Orobus* (L.) BAKER in der Gattung *Lathyrus* L. und seine systematische Gliederung. – Feddes Repertorium 72: 69-97.
- BÄSSLER, M. (1971): Beiträge zur Nomenklatur der Gattung *Lathyrus* L. – Feddes Repertorium 82: 433-439.
- BÄSSLER, M. (1973): Revision der eurasiatischen Arten von *Lathyrus* L. sect. *Orobus* (L.) GREN. et GODR. – Feddes Repertorium 84: 329-447.
- BÄSSLER, M. (1981): Revision von *Lathyrus* L. sect. *Lathyrostylis* (GRISEB.) BÄSSLER (Fabaceae). – Feddes Repertorium 92: 179-254.
- BALDWIN, B. G.; SANDERSON, M. J.; PORTER, J. M.; WOJCIECHOWSKI, M. F.; CAMPBELL, C. S. & DONOGHUE, M. J. (1995): The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on Angiosperm phylogeny. – Annals of the Missouri Botanical Garden 82: 247-277.
- BALL, P. W. (1968): *Lathyrus* L. (Incl. *Orobus* L.). – In: TUTIN, T. G.; HEYWOOD, V. H.; BURGESS, N. A.; MOORE, D. M.; VALENTINE, D. H.; WALTERS, S. M. & WEBB, D. A. (eds.): Flora Europaea; Vol. 2: Rosaceae to Umbelliferae. Cambridge University Press, Cambridge; pp. 136-143.
- BRAUN-BLANQUET, J. (1921): Prinzipien einer Systematik der Pflanzengesellschaften auf floristischer Grundlage. – Jahrbuch der St. Gallischen Naturwissenschaftlichen Gesellschaft 57 [Vereinsjahre 1920-1921 / Years 1920-1921]: 305-351.
- BRAUN-BLANQUET, J. (1964): Pflanzensoziologie – Grundzüge der Vegetationskunde. 3<sup>rd</sup> ed. Springer, Wien & New York.
- BRAUN-BLANQUET, J. & MOOR, M. (1938): Verband des Bromion erecti. Comité international du Prodrome phytosociologique (ed.): Prodrome des groupements végétaux / Prodromus der Pflanzengesellschaften, Fasc. 5. Brill, Leiden.
- BRAUN-BLANQUET, J. & RÜBEL, E. (1934): Flora von Graubünden. Vorkommen, Verbreitung und ökologisch-soziologisches Verhalten der wildwachsenden Gefäßpflanzen Graubündens und seiner Grenzgebiete. – Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes Rübel in Zürich 7: 821-1204.
- BRUELHEIDE, H. & JANDT, U. (1997): Demarcation of communities in large databases. – Phytocoenologia 27: 141-159.

- CAMPBELL, C. S.; WOJCIECHOWSKI, M. F.; BALDWIN, B. G.; ALICE, L. A. & DONOGHUE, M. J. (1997): Persistent nuclear ribosomal DNA sequence polymorphism in the *Amelanchier* agamic complex (Rosaceae). – *Molecular Biology and Evolution* 14: 81-90.
- CHAUDHARY, L. B. & SRIVASTAVA, S. K. (2007): Taxonomic and distributional notes on some *Astragalus* L. (Fabaceae) in India. – *Taiwania* 52: 25-48.
- COYNE, J. A. (1994) : ERNST MAYR and the origin of species. – *Evolution* 48: 19-30.
- DAVIS, P. H. (1970): *Lathyrus* L. – In: DAVIS, P. H. (ed.): *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*; Vol. 3. Edinburgh University Press, Edinburgh; pp. [328]-[369].
- DENGLER, J. (2012): *Skalenabhängigkeit von Biodiversität – von der Theorie zur Anwendung*. Habilitation thesis, University of Hamburg. DOI: 10.7809/thesis.habil.001.
- DENK, T. & GRIMM, G. W. (2005): Phylogeny and biogeography of *Zelkova* (Ulmaceae sensu stricto) as inferred from leaf morphology, ITS sequence data and the fossil record. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 147: 129-157.
- DENK, T. & GRIMM, G. W. (2010): The oaks of western Eurasia: Traditional classifications and evidence from two nuclear markers. – *Taxon* 59: 351-366.
- DENK, T.; GRIMM, G. [W.]; STÖGERER, K.; LANGER, M. & HEMLEBEN, V. (2002): The evolutionary history of *Fagus* in western Eurasia: Evidence from genes, morphology and the fossil record. – *Plant Systematics and Evolution* 232: 213-236.
- DENK, T.; GRIMM, G. W. & HEMLEBEN, V. (2005): Patterns of molecular and morphological differentiation in *Fagus* (Fagaceae): phylogenetic implications. – *American Journal of Botany* 92: 1006-1016.
- DIERSCHKE, H. (1994): *Pflanzensoziologie – Grundlagen und Methoden*. Ulmer, Stuttgart.
- DOBZHANSKY, T. (1937): *Genetics and the origin of species*. Columbia University Press, New York.
- DUBCOVSKY, J. & DVORÁK, J. (1995): Ribosomal RNA multigene loci: nomads of the Triticeae genomes. – *Genetics* 140: 1367-1377.
- DVORÁK, J.; ZHANG, H.-B.; KOTA, R. S. & LASSNER, M. (1989): Organization and evolution of the 5S ribosomal RNA gene family in wheat and related species. – *Genome* 32: 1003-1016.
- EDWARDS, C. E.; SOLTIS, D. E. & SOLTIS, P. S. (2008): Using patterns of genetic structure based on microsatellite loci to test hypotheses of current hybridization, ancient hybridization and incomplete lineage sorting in *Conradina* (Lamiaceae). – *Molecular Ecology* 17: 5157-5174.
- ELLENBERG, H. (1979): *Zeigerwerte der Gefäßpflanzen Mitteleuropas / Indicator values of vascular plants in Central Europe*. (= *Scripta Geobotanica*; 9); 2<sup>nd</sup> ed. Goltze, Göttingen.
- ELLENBERG, H.; WEBER, H.E.; DÜLL, R.; WIRTH, V. & WERNER, W. (2001): *Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa / Indicator values of plants in Central Europe*. (= *Scripta Geobotanica*; 18). 3<sup>rd</sup> ed. Goltze, Göttingen.
- EWALD, J. (2003): A critique for phytosociology. – *Journal of Vegetation Science* 14: 291-296.
- FAY, M. F.; COWAN, R. S. & LEITCH, I. J. (2005): The effects of nuclear DNA content (C-value) on the quality and utility of AFLP fingerprints. – *Annals of Botany* 95: 237-246.

- FEDCHENKO, B. A. (1972 [1948]): *Lathyrus* L. – In: KOMAROV, V. L. (ed.), Botanicheski Institut Im. V. L. Komarova Akademii Nauk SSSR / V. L. Komarov Botanical Institute of the Academy of Sciences of the U.S.S.R.: Flora of the U.S.S.R. (Flora SSSR); Vol. 13 (eds.: SHISHKIN, B. K. & BOBROV, E. G.): Leguminosae: *Oxytropis*, *Hedysarum*. Translated from Russian (Translator: LAVOOTT, R.; eds.: LORCH, J. & PLITMANN, U.), Israel Program from Scientific Translations. Keter Press, Jerusalem; pp. 363-396 [Original from 1948: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moskva, Leningrad; pp. 479-520].
- FIORI, A. (1925): Nuova Flora analitica d'Italia. Contenente la descrizione delle piante vascolari indigene inselvatichite e largamente coltivate in Italia. Vol. 1, Fasc. 6. M. Ricci, Firenze; pp. 801-944.
- FISCHER, H. S. & BEMMERLEIN, F. A. (1989): An outline for data analysis in phytosociology: past and present. – *Vegetatio* 81: 17-28.
- Flora Europaea (1998-2005): Flora Europaea online data base (excerpt from the PANDORA taxonomic data base system). Royal Botanic Garden Edinburgh. Available at: <http://rbg-web2.rbge.org.uk/FE/fe.html> [accessed 2013-09-27].
- FOURNIER, P. (1990): Les quatre flores de France: Corse comprise; générale, alpine, méditerranéenne, littorale. Lechevalier, Paris.
- FRANSZ, P.; ARMSTRONG, S.; ALONSO-BLANCO, C.; FISCHER, T. C. & TORRES-RUIZ, R. A. (1998): Cytogenetics for the model system *Arabidopsis thaliana*. – *Plant Journal* 13: 867-876.
- GALLEGO, M. J. (1999): *Lathyrus* L. – In: TALAVERA, S.; AEDO, C.; CASTROVIEJO, S.; ROMERO ZARCO, C.; SÁEZ, L.; SALGUEIRO, F. J. & VELAYOS, M. (eds.): Flora Iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares ; Vol. VII (I) : Leguminosae (partim). Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid; pp. 423-482.
- GAMS, H. (1924): Leguminosae. – In: HEGI, G. (ed.): Illustrierte Flora von Mitteleuropa, IV. Band, 3. Teil: Dicotyledones, 2. Teil: Leguminosae – Tropaealaceae. Lehmann, München; pp. 1113-1644.
- GARCKE, A. (1972): Illustrierte Flora: Deutschland und angrenzende Gebiete; Gefäßkryptogamen und Blütenpflanzen; begründet von AUGUST GARCKE; ed.: WEIHE, K. VON. 23<sup>rd</sup> ed. Parey, Berlin & Hamburg.
- GIBBONS, J. G.; JANSON, E. M.; HITTINGER, C. T.; JOHNSTON, M.; ABBOT, P. & ROKAS, A. (2009): Benchmarking next-generation transcriptome sequencing for functional and evolutionary genomics. – *Molecular Biology and Evolution* 26: 2731-2744.
- GÖKER, M. & GRIMM, G. W. (2008): General functions to transform associate data to host data, and their use in phylogenetic inference from sequences with intra-individual variability. – *BMC Evolutionary Biology* 8: 86.
- GRIMM, G. W. & DENK, T. (2008): ITS evolution in *Platanus* (Platanaceae): Homoeologues, pseudogenes and ancient hybridization. – *Annals of Botany* 101: 403-419.
- GRIMM, G. W. & DENK, T. (2010): The reticulate origin of modern plane trees (*Platanus*, Platanaceae): A nuclear marker puzzle. – *Taxon* 59: 134-147.

- GRIMM, G. W.; SCHLEE, M.; KOMAROVA, N. Y.; VOLKOV, R. A. & HEMLEBEN, V. (2005): Low-level taxonomy and intrageneric evolutionary trends in higher plants. – In: ENDRESS, P. K.; LÜTTGE, U. & PARTHIER, B. (eds.): From plant taxonomy to evolutionary biology – Von der Taxonomie zur Evolution der Pflanzen. Leopoldina-Meeting vom 10. bis 12. Juni 2004 in Reichelsheim (Odenwald). (= Nova Acta Leopoldina NF 92 [No. 342]). Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart; pp. 129-145.
- GRIMM, G. W.; DENK, T. & HEMLEBEN, V. (2007a): Evolutionary history and systematics of *Acer* section *Acer* – a case study of low-level phylogenetics. – *Plant Systematics and Evolution* 267: 215-253.
- GRIMM, G. W.; DENK, T. & HEMLEBEN, V. (2007b): Coding of intraspecific nucleotide polymorphisms: a tool to resolve reticulate evolutionary relationships in the ITS of beech trees (*Fagus* L., Fagaceae). – *Systematics and Biodiversity* 5: 291-309.
- HAYEK, A. (1923): „Pontische“ und „pannonische“ Flora. – *Österreichische Botanische Zeitschrift* 72: 231-235.
- HEGELMAIER, F. (1886): Eine verkannte Phanerogame der Flora des schwäbischen Jura. – *Jahreshefte des Vereins für vaterländische Naturkunde in Württemberg*, Stuttgart 42: 331-339.
- HEMLEBEN, V.; GANAL, M.; GERSTNER, J.; SCHIEBEL, K. & TORRES, R. A. (1988): Organization and length heterogeneity of plant ribosomal RNA genes. – In: KAHL, G. (ed.): *Architecture of Eukaryotic Genes*. VCH, Weinheim; pp. 371-383.
- HEMLEBEN, V.; ZENTGRAF, U.; KING, K.; BORISJUK, N. & SCHWEIZER, G. (1992): Middle repetitive and highly repetitive sequences detect polymorphisms in plants. – In: KAHL, G.; APPELHANS, H.; KÖMPF, J. & DRIESEL, A. J. (eds.): *DNA-polymorphisms in Eukaryotic Genomes*. BioTechForum (BTF), *Advances in Molecular Genetics*, Vol. 5, Huethig, Heidelberg; pp. 157-170.
- HOLLAND, B. R.; CLARKE, A. C. & MEUDT, H. M. (2008): Optimizing automated AFLP scoring parameters to improve phylogenetic resolution. – *Systematic Biology* 57: 347-366.
- JOBST, J.; KING, K. & HEMLEBEN, V. (1998): Molecular evolution of the internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and phylogenetic relationships among species of the family Cucurbitaceae. – *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9: 204-219.
- JOLY, S. & BRUNEAU, A. (2006): Incorporating allelic variation for reconstructing the evolutionary history of organisms from multiple genes: An example from *Rosa* in North America. – *Systematic Biology* 55: 623-636.
- JORGENSEN, J. L.; STEHLIK, I.; BROCHMANN, C. & CONTI, E. (2003): Implications of ITS sequences and RAPD markers for the taxonomy and biogeography of the *Oxytropis campestris* and *O. arctica* (Fabaceae) complexes in Alaska. – *American Journal of Botany* 90: 1470-1480.
- KARHU, A.; DIETERICH, J.-H. & SAVOLAINEN, O. (2000): Rapid expansion of microsatellite sequences in pines. – *Molecular Biology and Evolution* 17: 259-265.
- KAZEMPOUR OSALOO, S.; MAASSOUMI, A. A. & MURAKAMI, N. (2003): Molecular systematics of the genus *Astragalus* L. (Fabaceae): Phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers and chloroplast gene *ndhF* sequences. – *Plant Systematics and Evolution* 242: 1-32.

- KENICER, G. [J.] (2008): An introduction to the genus *Lathyrus* L. – Curtis's Botanical Magazine 25: 286-295.
- KENICER, G. J.; KAJITA, T.; PENNINGTON, R. T. & MURATA, J. (2005): Systematics and biogeography of *Lathyrus* (Leguminosae) based on internal transcribed spacer and cpDNA sequence data. – American Journal of Botany 92: 1199-1209.
- KOMAROVA, N. Y.; GRIMM, G. W.; HEMLEBEN, V. & VOLKOV, R. A. (2008): Molecular evolution of 35S rDNA and taxonomic status of *Lycopersicon* within *Solanum* sect. *Petota*. – Plant Systematics and Evolution 276: 59-71.
- KOPECKÝ, K. & HEJNÝ, S. (1974): A new approach to the classification of anthropogenic plant communities. – Vegetatio 29: 17-20.
- KOPECKÝ, K.; DOSTÁLEK, J. & FRANTÍK, T. (1992): The use of the deductive method of syntaxonomic classification in the system of vegetational units of the Braun-Blanquet approach. – Vegetatio 117: 95-112.
- KORNECK, D.; MÜLLER, T. & OBERDORFER, E. (eds.) (1993): Sand- und Trockenrasen, Heide- und Borstgrasgesellschaften, alpine Magerrasen, Saum-Gesellschaften, Schlag- und Hochstauden-Fluren. (= Süddeutsche Pflanzengesellschaften; 2). 3<sup>rd</sup> ed. Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, New York.
- KOVARIK, A.; MATYASEK, R.; LIM, K. Y.; SKALICKÁ, K.; KOUKALOVÁ, B.; KNAPP, S.; CHASE, M. & LEITCH, A. R. (2004): Concerted evolution of 18-5.8-26S rDNA repeats in *Nicotiana* allotetraploids. – Biological Journal of the Linnean Society 82: 615-625.
- KREEB, K.-H. (1983): Vegetationskunde: Methoden und Vegetationsformen unter Berücksichtigung ökosystemischer Aspekte. Ulmer, Stuttgart.
- KUPICHA, F. K. (1983): The infrageneric structure of *Lathyrus*. – Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh 41: 209-244.
- LAMBERTINI, C.; FRYDENBERG, J.; GUSTAFSSON, M. H. G. & BRIX, H. (2008): Herbarium specimens as a source of DNA for AFLP fingerprinting of *Phragmites* (Poaceae): possibilities and limitations. – Plant Systematics and Evolution 272: 223-231.
- LANG, W. (ed.) (1993): Flora der Pfalz. Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen für die Pfalz und ihre Randgebiete. (= Veröffentlichung der Pfälzischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften in Speyer; 85). Verlag der Pfälzischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften, Speyer.
- LANG, W. (ed.) (2011): Flora der Pfalz. Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen für die Pfalz und ihre Randgebiete. (= Veröffentlichung der Pfälzischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften: Neue Medien; 1). 2<sup>nd</sup> ed. (= 1<sup>st</sup> ed. on CD-ROM). Verlag der Pfälzischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften, Speyer.
- LEDINGHAM, G. F. & REVER, B. M. (1963): Chromosome numbers of some southwest Asian species of *Astragalus* and *Oxytropis* (Leguminosae). – Canadian Journal of Genetics and Cytology 5: 18-32.
- LEHT, M. (2009): Phylogeny of Old World *Lathyrus* L. (Fabaceae) based on morphological data. – Feddes Repertorium 120: 59-74.

- LEINS, P. & MERXMÜLLER, H. (1968): *Oxytropis* DC. – In: TUTIN, T. G.; HEYWOOD, V. H.; BURGESS, N. A.; MOORE, D. M.; VALENTINE, D. H.; WALTERS, S. M. & WEBB, D. A. (eds.): Flora Europaea; Vol. 2: Rosaceae to Umbelliferae. Cambridge University Press, Cambridge; pp. 124-126.
- LEWIS, G., SCHRIRE, B., MACKINDER, B. & LOCK, M. (eds.) (2005): Legumes of the world. Royal Botanic Gardens, Kew.
- LEWIS, M. S.; CHEVERUD, J. M. & PIKAARD, C. S. (2004): Evidence for nucleolus organizer regions as the units of regulation in nucleolar dominance in *Arabidopsis thaliana* interecotype hybrids. – Genetics 167: 931-939.
- LINDER, C. R.; GOERTZEN, L. R.; HEUVEL, B. VANDEN; FRANCISCO-ORTEGA, J. & JANSEN, R. K. (2000): The complete external transcribed spacer of 18S-26S rDNA: amplification and phylogenetic utility at low taxonomic levels in Asteraceae and closely allied families. – Molecular Phylogenetics and Evolution 14: 285-303.
- LONDO, G. (1975): Dezimalskala für die vegetationskundliche Aufnahme von Dauerquadraten. – In: TÜXEN, R. (ed.): Sukzessionsforschung: Rinteln, 16.-19.4.1973. (= Berichte der internationalen Symposien der Internationalen Vereinigung für Vegetationskunde). Cramer, Vaduz; pp. 613-617.
- MALLET, J. (1995): A species definition for the modern synthesis. – Trends in Ecology and Evolution 10: 294-299.
- MALLET, J. (2001): The speciation revolution. – Journal of Evolutionary Biology 14: 887-888.
- MALLET, J. (2007): Hybrid speciation. – Nature 446: 279-283.
- MALLET, J. (2008): Hybridization, ecological races, and the nature of species: empirical evidence for the ease of speciation. – Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B 363: 2971-2986.
- MALLET, J. (2010): Why was DARWIN's view of species rejected by twentieth century biologists? – Biology and Philosophy 25: 497-527.
- MANEN, J.-F.; BOULTER, M. C. & NACIRI-GRAVEN, Y. (2002): The complex history of the genus *Ilex* L. (Aquifoliaceae): Evidence from the comparison of plastid and nuclear DNA sequences and from fossil data. – Plant Systematics and Evolution 235: 79-98.
- MAYER, A. (1925): Zwei seltene Platterbsenarten in Württemberg. – Veröffentlichungen der Staatlichen Stelle für Naturschutz beim Württembergischen Landesamt für Denkmalpflege, Stuttgart (= Beilage zu: Jahreshefte des Vereins für Vaterländische Naturkunde in Württemberg, Stuttgart 81 [1925]) 2: 47-53.
- MAYR, E. (1942): Systematics and the origin of species. Columbia University Press, New York.
- MELINOSSI, R. (1965): La vegetazione e l'ecologia di Pratofiorito (Appennino settentrionale). – Giornale Botanico Italiano 72 = NS99: 44-61.
- MEUSEL, H.; JÄGER, E. & WEINERT, E. (1965): Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora. Vol. 1, 1: Text; Vol. 1, 2: Karten [maps]. Gustav Fischer, Jena.



- MOORE, J. J. & O'SULLIVAN, A. (1970): A comparison between the results of the Braun-Blanquet method and those of cluster "analysis". – In: TÜXEN, R. (ed.): Bericht über das Internationale Symposium der Internationalen Vereinigung für Vegetationskunde in Rinteln 4.-7. April 1966: Gesellschaftsmorphologie (Strukturforschung) [Bericht über das ... Internationale Symposium der Internationalen Vereinigung für Vegetationskunde; 10]. Junk, Den Haag; pp. 26-30.
- MOORE, J. J.; FITZSIMONS, S. J. P.; LAMBE, E. & WHITE J. (1970): A comparison and evaluation of some phytosociological techniques. – *Vegetatio* 20: 1-20.
- MORTELLARO, R. & COLASANTE, M. (1997): On the distribution of *Lathyrus* L. species (Fabaceae) in Lazio (Central Italy). – *Linzer biologische Beiträge* 29: 247-297.
- MUCINA, L.; GRABHERR, G. & ELLMAUER, T. (eds.) (1993): Die Pflanzengesellschaften Österreichs, Vol. 1: Anthropogene Vegetation. Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, New York.
- MÜLLER, T. (1962): Die Saumgesellschaften der Klasse Trifolio-Geranietea sanguinei. – *Mitteilungen der Floristisch-Soziologischen Arbeitsgemeinschaft N. F.* 9: 95-140.
- MÜLLER, T. (1966): Die Wald-, Gebüsch-, Saum-, Trocken- und Halbtrockenrasengesellschaften des Spitzbergs. – In: Landesstelle für Naturschutz und Landschaftspflege Baden-Württemberg (ed.): *Der Spitzberg bei Tübingen. (= Die Natur- und Landschaftsschutzgebiete Baden-Württembergs; 3).* Ludwigsburg; pp. 278-475.
- MUELLER-DOMBOIS, D. & ELLENBERG, H. (1974): *Aims and methods of vegetation ecology.* John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto.
- MUIR, G. & SCHLÖTTERER, C. (2005): Evidence for shared ancestral polymorphism rather than recurrent gene flow at microsatellite loci differentiating two hybridizing oaks (*Quercus* spp.). – *Molecular Ecology* 14: 549-561.
- MUIR, G.; FLEMING, C. C. & SCHLÖTTERER, C. (2000): Species status of hybridizing oaks. – *Nature* 405: 1016.
- ORTMANN, J. (1853): Ueber *Orobis lacteus* M. B., *Orobis versicolor* GMELIN. und *Orobis albus* LIN. fil. – *Verhandlungen des zoologisch-botanischen Vereins in Wien – Abhandlungen* 2 [Jahrgang 1852]: 9-13.
- PALME, C. & SCHLEE, M. (2009): *Gentechnikrecht. Darstellung für Behörden, Kommunen, Forschung, Landwirtschaft und Umweltverbände. (Praxis der Kommunalverwaltung).* Kommunal- und Schul-Verlag, Wiesbaden.
- PALME, C.; SCHLEE, M. & SCHUMACHER, J. (2005): The new law on plant engineering: European framework, national implementation and scientific issues. – *Journal for European Environmental & Planning Law (JEEPL)* 2: 215-227.
- PARISOD, C. & BESNARD, G. (2007): Glacial *in situ* survival in the Western Alps and polytopic autopolyploidy in *Biscutella laevigata* L. (Brassicaceae). – *Molecular Ecology* 16: 2755-2767.
- PAULS, S. U.; NOWAK, C.; BÁLINT, M. & PFENNINGER, M. (2013): The impact of global climate change on genetic diversity within populations and species. – *Molecular Ecology* 22: 925-946.

- PIEDNOËL, M.; ABERER, A. J.; SCHNEEWEISS, G. M.; MACAS, J.; NOVAK, P.; GUNDLACH, H.; TEMSCH, E. M. & RENNER, S. S. (2012): Next-generation sequencing reveals the impact of repetitive DNA across phylogenetically closely related genomes of Orobanchaceae. – *Molecular Biology and Evolution* 29: 3601-3611.
- PIGNATTI, S. (1982): *Flora d'Italia*. Vol. 1. Edagricole, Bologna.
- PODLECH, D. (1982): Neue Aspekte zur Evolution und Gliederung der Gattung *Astragalus* L. – *Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung München* 18: 359-377.
- PODLECH, D. (1986): Taxonomic and phytogeographical problems in *Astragalus* of the Old World and South-West Asia. – *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B* 89: 37-43.
- POTTHAST, T. (2000): Funktionssicherung und/oder Aufbruch ins Ungewisse? Anmerkungen zum Prozessschutz. – In: JAX, K. (ed.): *Funktionsbegriff und Unsicherheit in der Ökologie: Beiträge zu einer Tagung des Arbeitskreises „Theorie“ in der Gesellschaft für Ökologie vom 10. bis 12. März 1999 im Heinrich-Fabri-Institut der Universität Tübingen in Blaubeuren (= Theorie in der Ökologie; 2)*. Peter Lang, Frankfurt am Main, Bern, Bruxelles, New York, Oxford, Warszawa, Wien; pp. 65-81.
- POTTHAST, T. (2004): Die wahre Natur ist Veränderung – Zur Ikonoklastik des ökologischen Gleichgewichts. – In: FISCHER, L. (ed.): *Projektionsfläche Natur – Zum Zusammenhang von Naturbildern und gesellschaftlichen Verhältnissen*. Hamburg University Press, Hamburg.
- RALPHS, M. H.; CREAMER, R.; BAUCOM, D.; GARDNER, D. R.; WELSH, S. L.; GRAHAM, J. D.; HART, C.; COOK, D. & STEGELMEIER, B. L. (2008): Relationship between the endophyte *Embellisia* spp. and the toxic alkaloid swainsonine in major locoweed species (*Astragalus* and *Oxytropis*). – *Journal of Chemical Ecology* 34: 32-38.
- RAZAFIMANDIMBISON, S. G.; KELLOGG, E. A. & BREMER, B. (2004): Recent origin and phylogenetic utility of divergent ITS putative pseudogenes: a case study from Naucleaeae (Rubiaceae). – *Systematic Biology* 53: 177-192.
- REICHENBACH, H. G. fil. & BECK DE MANNAGETTA, G. (1903): *Leguminosae florum Germaniae simul terrarum adjacentium ergo Europae mediae (= REICHENBACH, L.; REICHENBACH, H. G. fil. & BECK DE MANNAGETTA, G.; eds.: Icones florum Germanicae et Helveticae simul terrarum adjacentium ergo Mediae Europae; 22)*. Friederici de Zezschwitz, Lipsiae [Leipzig] & Gerae [Gera].
- RIETZ, G. E. DU (1921): *Zur methodologischen Grundlage der modernen Pflanzensoziologie*. Dissertation, University of Uppsala [Uppsala]; Holzhausen, Wien.
- RITLAND, C. E.; RITLAND, K. & STRAUS, N. A. (1993): Variation in the ribosomal internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) among eight taxa of the *Mimulus guttatus* species complex. – *Molecular Biology and Evolution* 10: 1273-1288.
- RÖSER, M.; WINTERFELD, G.; GREBENSTEIN, B. & HEMLEBEN, V. (2001): Molecular diversity and physical mapping of 5S rDNA in wild and cultivated oat grasses (Poaceae: Aveneae). – *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21: 198-217.
- ROSATO, M. & ROSSELLÓ, J. A. (2009): Karyological observations in *Medicago* section *Dendrotelis* (Fabaceae). – *Folia Geobotanica* 44: 423-433.

- ROSSELLÓ, J. A.; LÁZARO, A.; COSÍN, R. & MOLINS, A. (2007): A phylogeographic split in *Buxus balearica* (Buxaceae) as evidenced by nuclear ribosomal markers: When ITS paralogues are welcome. – *Journal of Molecular Evolution* 64: 143-157.
- SAMUEL, R.; BACHMAIR, A.; JOBST, J. & EHRENDORFER, F. (1998): ITS sequences from nuclear rDNA suggest unexpected phylogenetic relationships between Euro-Mediterranean, East Asiatic and North American taxa of *Quercus* (Fagaceae). – *Plant Systematics and Evolution* 211: 129-139.
- SANDERSON, M. J. (1991): Phylogenetic Relationships within North American *Astragalus* L. (Fabaceae). – *Systematic Botany* 16: 414-430.
- SANDERSON, M. J. & DOYLE, J. J. (1993): Phylogenetic relationships in North American *Astragalus* (Fabaceae) based on chloroplast DNA restriction site variation. – *Systematic Botany* 18: 395-408.
- SANDERSON, M. J. & WOJCIECHOWSKI, M. F. (2000): Improved bootstrap confidence limits in large-scale phylogenies, with an example from *Neo-Astragalus* (Leguminosae). – *Systematic Biology* 49: 671-685.
- SCHLEE, M. (1999): Studien zur jüngeren Vegetationsentwicklung der „Beurener Heide“ bei Hechingen. Diploma thesis, University of Tübingen.
- SCHLEE, M. (2004): Probleme der Erhaltung biologischer Vielfalt in der Kulturlandschaft – Ökologische Schäden durch verfehlte Pflegekonzepte. – In: POTTHAST, T. (Hrsg.): Ökologische Schäden: Begriffliche, methodologische und operationale Aspekte. Jahrestagung AK Theorie und AK Gentechnik der GfÖ in Blaubeuren 2003 (= Theorie in der Ökologie; 10), Peter Lang, Frankfurt am Main, Bern, Bruxelles, New York, Oxford, Warszawa, Wien; pp. 95-110.
- SCHLEE, M. (2005): Untersuchungen zur Pflegesituation im Naturschutzgebiet „Beurener Heide“ bei Hechingen. – *Jahreshefte der Gesellschaft für Naturkunde in Württemberg, Stuttgart* 161: 125-176.
- SCHLEE, M.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2003): Molekulare und pflanzensoziologische Analyse von pontisch-pannonischen Reliktarten aus wärmebegünstigten Saum-Gesellschaften Süddeutschlands und benachbarter Gebiete. – In: HEMPEL, G.; RÖBBELEN, G.; OTTE, A. & WISSEL, C. (eds.): Biodiversität und Landschaftsnutzung in Mitteleuropa: Leopoldina-Symposium vom 2. bis 5. Oktober 2001 in Bremen. (= Nova Acta Leopoldina NF 87 [No. 328]). Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart; pp. 379-387.
- SCHLEE, M.; GÖKER, M.; GRIMM, G. W. & HEMLEBEN, V. (2010): Relicts within the genus complex *Astragalus/Oxytropis* (Fabaceae), and the comparison of diversity by objective means. – in: HABEL, J. C. & ASSMANN, T. (eds.): Relict species – Phylogeography and conservation biology. Springer, Heidelberg; pp. 105-117.
- SCHLEE, M.; GÖKER, M.; GRIMM, G. W. & HEMLEBEN, V. (2011): Genetic patterns in the *Lathyrus pannonicus* complex (Fabaceae) reflect ecological differentiation rather than biogeography and traditional subspecific division. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 165: 402-421.

- SCHÖNSWETTER, P.; TRIBSCH, A. & NIKLFELD, H. (2004): Amplified fragment length polymorphism (AFLP) reveals no genetic divergence of the eastern alpine endemic *Oxytropis campestris* subsp. *tiroliensis* (Fabaceae) from widespread subsp. *campestris*. – *Plant Systematics and Evolution* 244: 245-255.
- SCHROEDER, F.-G. (1998): *Lehrbuch der Pflanzengeographie*. (= UTB; 8143). Quelle und Meyer, Wiesbaden.
- SCHUMACHER, A. (1997): Die Vegetationsentwicklung auf dem Bergrutsch am Hirschkopf (Baden-Württemberg) – Sukzession auf Kalkschutt- und Mergelrohböden / Vegetation development on the Hirschkopf landslide – succession on raw calcareous and marly soils. – *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 116: 232-242.
- SCOPPOLA, A. (1991): Nuove indagini floristiche nella Provincia di Viterbo (Italia Centrale). – *Giornale Botanico Italiano* 125: 379.
- SCOPPOLA, A. (2000): Flora vascolare della Riserva Naturale Monte Rufeno (Viterbo, Italia centrale). – *Webbia* 54: 207-270.
- SELVI, F. (2010): A critical checklist of the vascular flora of Tuscan Maremma (Grosseto province, Italy). – *Flora Mediterranea* 20: 47-139.
- SHOKRALLA, S.; SPALL, J. L.; GIBSON, J. F. & HAJIBABAEI, M. (2012): Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. – *Molecular Ecology* 21: 1794-1805.
- SIMONS, E. P. & CHINNAPPA, C. C. (2004): Pollen morphology and taxonomic status of North American *Astragalus* and *Oxytropis* (Papilionoideae: Fabaceae). – *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 73: 307-319.
- ŠIRJAEV, G. (1936): De *Albi* serie sect. *Orobus* gen. *Lathyrus*. – *Bulletin de l'Association russe pour les recherches scientifiques à Prague*, Vol. 3 (= 8), Section des sciences naturelles et mathématiques No. 18: 217-238 [= 1-22].
- ŠIRJAEV, G. (1937): De *Albi* serie sect. *Orobus* gen. *Lathyrus*. II. *Lathyrus pannonicus* GARCKE s.l. – *Bulletin de l'Association russe pour les recherches scientifiques à Prague*, Vol. 5 (= 10), Section des sciences naturelles et mat[h]ématiques No. 33: 239-261 [= 1-23].
- SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; PIRES, J. C.; KOVARIK, A.; TATE, J. A. & MAVRODIEV, E. (2004): Recent and recurrent polyploidy in *Tragopogon* (Asteraceae): cytogenetic, genomic and genetic comparisons. – *Biological Journal of the Linnean Society* 82: 485-501.
- STOCK, M.; ESKILDSEN, K.; GÄTJE, C. & KELLERMANN, A. (1999): Evaluation procedure for nature conservation in a national park – a proposal for the protection of ecological processes. – *Zeitschrift für Ökologie und Naturschutz* 8: 81-95.
- TABERLET, P.; COISSAC, E.; POMPANON, F.; BROCHMANN, C. & WILLERSLEV, E. (2012): Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. – *Molecular Ecology* 21: 2045-2050.

- TATIĆ, B.; VELJOVIĆ, V.; PETKOVIĆ, B.; STEFANOVIĆ, M. & RADOTIĆ, S. (1988): Ass. Lathyreto-Molinietum coeruleae – nova zajednica livadske vegetacije sa Pešterske visoravni – Jugozapadna Srbija / Ass. Lathyreto-Molinietum coeruleae – eine neue Gesellschaft Wiesenvegetation von Pešter's Hochebene in südwestlichem Serbien [Ass. Lathyreto-Molinietum coeruleae – eine neue Gesellschaft der Wiesenvegetation von Pešter's Hochebene im südwestlichen Serbien]. – Glasnik Instituta za botaniku i botaničke bašte Univerziteta u Beogradu / Bulletin de l'Institut et du Jardin botaniques de l'Université de Beograd 12 [1977]: 31-38.
- TRAVIS, S. E.; MASCHINSKI, J. & KEIM, P. (1996): An analysis of genetic variation in *Astragalus cremnophylax* var. *cremnophylax*, a critically endangered plant, using AFLP markers. – Molecular Ecology 5: 735-745.
- TURESSON, G. [W.] (1922a): The species and the variety as ecological units. – Hereditas 3: 100-113.
- TURESSON, G. [W.] (1922b): The genotypical response of the plant species to the habitat. – Hereditas 3: 211-350.
- VASIL'CHENKO, I. T.; FEDCHENKO, B. A. & SHISHKIN, B. K. (1972 [1948]): *Oxytropis* DC. – In: KOMAROV, V. L. (ed.), Botanicheskii Institut Im. V. L. Komarova Akademii Nauk SSSR / V. L. Komarov Botanical Institute of the Academy of Sciences of the U.S.S.R.: Flora of the U.S.S.R. (Flora SSSR); Vol. 13 (eds.: SHISHKIN, B. K. & BOBROV, E. G. ): Leguminosae: *Oxytropis*, *Hedysarum*. Translated from Russian (Translator: LAVOOTT, R.; eds.: LORCH, J. & PLITMANN, U.), Israel Program from Scientific Translations. Keter Press, Jerusalem; pp. 3-176, 412-424 [Original from 1948: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moskva, Leningrad; pp. 6-229, 539-552, 556].
- VOGGESBERGER, M. (1992): *Oxytropis* DC. 1802, Fahnenwicke, Spitzkiel. – In: SEBALD, O.; SEYBOLD, S. & PHILIPPI, G. (eds.): Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs, Vol. 3: Spezieller Teil (Spermatophyta, Unterklasse Rosidae) Droseraceae bis Fabaceae. Ulmer, Stuttgart; pp. 301-303.
- VOLIS, S. & BLECHER, M. (2010): Quasi *in situ*: a bridge between *ex situ* and *in situ* conservation of plants. – Biodiversity and Conservation 19: 2441-2454.
- VOLKOV, R. A.; ZANKE, C.; PANCHUK, I. I. & HEMLEBEN, V. (2001): Molecular evolution of 5S rDNA of *Solanum* species (sect. *Petota*): application for molecular phylogeny and breeding. – Theoretical and Applied Genetics 103: 1273-1282.
- VOLKOV, R. A.; KOMAROVA, N. Y.; PANCHUK, I. I. & HEMLEBEN, V. (2003): Molecular evolution of rDNA external transcribed spacer and phylogeny of sect. *Petota* (genus *Solanum*). – Molecular Phylogenetics and Evolution 29: 187-202.
- VOLKOV, R. A.; MEDINA, F. J.; ZENTGRAF, U. & HEMLEBEN, V. (2004): Molecular cell biology: Organization and molecular evolution of rDNA, nucleolar dominance, and nucleolus structure. – In: ESSER, K.; LÜTTGE, U.; BEYSCHLAG, W. & MURATA, J. (eds.): Progress in Botany; Vol. 65; pp. 106-146.
- VOLKOV, R. [A.]; KOMAROVA, N. [Y.] & HEMLEBEN, V. (2007): Ribosomal DNA in plant hybrids: inheritance, rearrangement, expression. – Systematics and Biodiversity 5: 261-276.

- WAGNER, H. (1972): Zur Methodik der Erstellung und Auswertung von Vegetationstabellen. – In: TÜXEN, R. (ed.): Grundfragen und Methoden in der Pflanzensoziologie: 1970 in Rinteln (= Bericht über das internationale Symposium der Internationalen Vereinigung für Vegetationskunde; 14). Junk, Den Haag; pp. 225-237.
- WATT, A. S. (1947): Pattern and process in the plant community. – *Journal of Ecology* 35: 1-22.
- WENDELBERGER, G. (1986): Saum- und Mantelgesellschaften des pannonischen Raumes. – *Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Österreich* 124: 41-46.
- WILDI, O. (1989): A new numerical solution to traditional phytosociological tabular classification. – *Vegetatio* 81: 95-106.
- WILDI, O. & ORLÓCI, L. (1990): Numerical exploration of community patterns – A guide to the use of MULVA-5. 2<sup>nd</sup> ed. SPB Academic Publishing, The Hague.
- WILLNER, W. (2006): The association concept revisited. – *Phytocoenologia* 36: 67-76.
- WILMANN, O. (1998): Ökologische Pflanzensoziologie: eine Einführung in die Vegetation Mitteleuropas. (= UTB für Wissenschaft: Uni-Taschenbücher; 269). 6<sup>th</sup> ed. Quelle und Meyer, Wiesbaden.
- WISSEMAN, V. (1999): Genetic constitution of *Rosa* sect. *Caninae* (*R. canina*, *R. jundzillii*) and sect. *Gallicanae* (*R. gallica*). – *Journal of Applied Botany / Angewandte Botanik* 73: 191-196.
- WISSEMAN, V. & RITZ, C. M. (2005): The genus *Rosa* (Rosoideae, Rosaceae) revisited: molecular analysis of nrITS-1 and *atpB-rbcL* intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 147: 275-290.
- WÖRZ, A. (1992): *Lathyrus* L. 1753 inkl. *Orobus* L. 1753, Platterbse, Kichererbse. – In: SEBALD, O.; SEYBOLD, S. & PHILIPPI, G. (eds.): Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs, Vol. 3: Spezieller Teil (Spermatophyta, Unterklasse Rosidae) Droseraceae bis Fabaceae. Ulmer, Stuttgart; pp. 362-387.
- WOJCIECHOWSKI, M. F. (2005): *Astragalus* (Fabaceae): A molecular phylogenetic perspective. – *Brittonia* 57: 382-396.
- WOJCIECHOWSKI, M. F.; SANDERSON, M. J.; BALDWIN, B. G. & DONOGHUE, M. J. (1993): Monophyly of aneuploid *Astragalus* (Fabaceae): Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. – *American Journal of Botany* 80: 711-722.
- WOJCIECHOWSKI, M. F.; SANDERSON, M. J. & HU, J.-M. (1999): Evidence on the monophyly of *Astragalus* (Fabaceae) and its major subgroups based on nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA trnL intron data. – *Systematic Botany* 24: 409-437.

## Further Publications

SCHLEE, M. (1999): Studien zur jüngeren Vegetationsentwicklung der „Beurener Heide“ bei Hechingen. Diploma thesis, University of Tübingen. [pdf-Download: <http://tobias-lib.uni-tuebingen.de/volltexte/2003/788/>]

PALME, C.; SCHLEE, M. & SCHUMACHER, J. (2004): Das neue Recht der Grünen Gentechnik: Europarechtliche Vorgaben und fachliche Praxis. – EurUP – Zeitschrift für Europäisches Umwelt- und Planungsrecht 2 (4): 170-183.

PALME, C.; SCHUMACHER, A.; SCHUMACHER, J. & SCHLEE, M. (2004): Die europäische Umwelthaftungsrichtlinie. – EurUP – Zeitschrift für Europäisches Umwelt- und Planungsrecht 2 (5): 204-211.

PALME, C.; SCHLEE, M. & SCHUMACHER, J. (2005): The new law on plant engineering: European framework, national implementation and scientific issues. – Journal for European Environmental & Planning Law 2 (3): 215-227.

SCHUMACHER, J.; PALME, C. & SCHLEE, M. (2005): Schäden durch gefährliche Stoffe – Neuerungen durch die EU-Umwelthaftungsrichtlinie. – Zeitschrift für Stoffrecht 2 (1): 26-34.

PALME, C.; SCHUMACHER, J. & SCHLEE, M. (2005): Kommentierung zu § 13 Gentechnik-sicherheitsverordnung, in: EBERBACH, W.; LANGE, P. & RONELLENFITSCH, M.: Recht der Gentechnik und Biomedizin; Loseblatt [looseleave edition], 2005. C. F. Müller, Heidelberg. § 13 GenTSV; pp. 15 ff.

SCHLEE, M. (2005): Untersuchungen zur Pflegesituation im Naturschutzgebiet „Beurener Heide“ bei Hechingen. – Jahreshefte der Gesellschaft für Naturkunde in Württemberg, Stuttgart 161: 125-176.

SCHLEE, M. (2006): Umweltmanagementsysteme: Zehn Jahre EMAS – Rückblick und Ausblick. – Der Umweltbeauftragte 14 (6): 11.

SCHLEE, M. (2006): Umweltmanagementsysteme: Kosten sparen durch betrieblichen Umweltschutz. – Der Umweltbeauftragte 14 (7): 11.

SCHLEE, M. (2006): Umweltmanagementsysteme: Umweltmanagementansätze – Erfolgsmodelle in großer Vielfalt für kleine und mittlere Unternehmen? – Der Umweltbeauftragte 14 (10): 11.

SCHLEE, M. (2006/2007): Umweltmanagementsysteme: EMAS reloaded – der noch lange Weg von EMAS II nach EMAS III. – Der Umweltbeauftragte 14 (12/1): 11.

PALME, C. & SCHLEE, M. (2009): Gentechnikrecht – Darstellung für Behörden, Kommunen, Forschung, Landwirtschaft und Umweltverbände (Series: Praxis der Kommunalverwaltung). Kommunal- und Schul-Verlag, Wiesbaden. 194 pp.

ESER, U.; POTTHAST, T.; LACHNIT, S.; MÜLLER, A.; NEUREUTHER, A.-K.; RÖHL, M. & SCHLEE, M. (2010): Umweltethische Fundierung von Veränderungsprozessen in Natur und Landschaft im Zuge des Klimawandels. – In: EPPLE, C.; KORN, H.; KRAUS, K. & STADLER, J. (Issuer): Biologische Vielfalt und Klimawandel – Tagungsband mit den Beiträgen der 2. BfN-Forschungskonferenz “Biologische Vielfalt und Klimawandel” vom 2. bis 3. März 2010 in Bonn (= BfN-Skripten; 274). Bundesamt für Naturschutz, Bonn – Bad Godesberg; pp. 60-61, 87. [pdf-Download: <http://www.bfn.de/fileadmin/MDB/documents/service/Skript274.pdf>]

ESER, U.; POTTHAST, T.; LACHNIT, S.; MÜLLER, A.; NEUREUTHER, A.-K.; RÖHL, M. & SCHLEE, M. (2010): Biodiversity and climate change – Ethical foundations for German national strategies and suggestions for their communication. – In: Secretariat of the Convention on Biological Diversity: Biodiversity and climate change: Achieving the 2020 targets. Abstracts of posters presented at the 14<sup>th</sup> Meeting of the Subsidiary Body on Scientific, Technical and Technological Advice of the Convention on Biological Diversity, 10-21 May 2010, Nairobi, Kenya (= CBD Technical Series; 51). SCBD, Montreal; pp. 16-18. [pdf-Download: <http://www.cbd.int/doc/publications/cbd-ts-51-en.pdf>]

POTTHAST, T.; ROJAHN, J.; SCHLEE, M. & HEMLEBEN, V. (in prep.): Überprüfung von Hypothesen und Risikoannahmen aus den Anfängen der Anwendung der Agro-Gentechnik im Vergleich mit der aktuellen Situation.



## Conference contributions

SCHLEE, M.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2001): Molekulare und pflanzensoziologische Analyse von pontisch-pannonischen Reliktarten aus wärmebegünstigten Saum-Gesellschaften Süddeutschlands und benachbarter Gebiete. – Poster, Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina: Leopoldina-Symposium der Sektionen Ökowiensschaften und Agrar- und Ernährungswissenschaften: „Biodiversität und Landschaftsnutzung in Mitteleuropa“, 02.-05.10.2001, Bremen.

SCHLEE, M.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2002): Molecular and phytosociologic analyses of relict species of Fabaceae from pontic and pannonic steppes. – Poster, Deutsche Botanische Gesellschaft: Botanikertagung 22.-27.09.2002, Freiburg i. Br.

SCHLEE, M. (2003): Probleme der Erhaltung biologischer Vielfalt in der Kulturlandschaft – Ökologische Schäden durch verfehlte Pflegekonzepte. – Talk, Workshop „Ökologische Schäden – Begriffliche, methodologische und operationale Aspekte“, Jahrestagung AK Theorie und AK Gentechnik der GfÖ in Blaubeuren 10.-12.03.2003.

SCHLEE, M.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2003): Detailed phylogenetic analysis and hybridisation survey of European species of *Lathyrus* (sect. *Lathyrostylis*, Fabaceae). – Palmarum Hortus Francofurtensis (PHF) 7 (Abstracts, 16<sup>th</sup> International Symposium Biodiversity and Evolutionary Biology of the German Botanical society (DBG) = 17<sup>th</sup> International Senckenberg Conference. September 21-27, 2003; Frankfurt am Main): 95. – Talk.

SCHLEE, M.; GRIMM, G. W.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2004): Glacial and post-glacial migration patterns of endangered legumes resolved by detailed analyses of intra-individual and specific nrDNA variability. – Poster, Botanikertagung der DBG, Braunschweig, 5.-10.9.2004.

SCHLEE, M.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2004): Population dynamics and phylogenetic reconstructions of European relict species (*Lathyrus pannonicus* and *Oxytropis pilosa*, Fabaceae). – Talk, “7. Jahrestagung der GfBS in Stuttgart, 14.-17.09.2004.“

SCHLEE, M. (2004): Pontisch-pannonische Reliktarten Südwestdeutschlands: Molekularbiologische Rekonstruktion der biogeographischen Wanderwege und pflanzensoziologische Befunde zur Pflegesituation von Trocken- und Saumstandorten in Naturschutzgebieten. – Talk; Verleihung des „Walter-Schall-Preises“ der „Gesellschaft für Naturkunde in Württemberg e.V.“, Stuttgart, 21.10.2004.

SCHLEE, M.; GRIMM, G. W.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2005): Molecular defined migration pathways of rare species of the genera *Lathyrus* and *Oxytropis* (Fabaceae). – Poster, XVII International Botanical Congress [IBC 2005], Vienna, Austria, Europe, Austria Center Vienna, 17-23 July 2005.

SCHLEE, M.; GRIMM, G. W.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2007): Broad data from nuclear spacers fill the gap between population studies and phylogenetics – A case study of *Lathyrus* and *Oxytropis* (Fabaceae). – Talk, Popbio 2007 “Perspectives of Plant Population Biology for the next 20 years”, 20th Annual Conference of the Plant Population Biology Section of the Ecological Society of Germany, Switzerland and Austria GfOe. Basel, 17.-19. Mai 2007.

SCHLEE, M.; GÖKER, M.; GRIMM, G. W.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2007): Ecological adaptation leading to speciation in *Lathyrus*: Combining nuclear spacer data and phytosociologic surveys using phylogenetic networks. – Talk, Botanikertagung, Deutsche Botanische Gesellschaft (DBG), Hamburg, 3.-7. September 2007.

SCHLEE, M.; GRIMM, G.; GÖKER, M.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2007): Molecular and phytosociological insight into postglacial relicts *Lathyrus pannonicus* and *Oxytropis pilosa*. – Talk, “Phylogeography and Conservation of Postglacial Relicts”, National Museum of Natural History, Luxembourg, October 18<sup>th</sup>-20<sup>th</sup> 2007.

SCHLEE, M.; GRIMM, G.; GÖKER, M.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2008): Handling the phylogenetic signals of the widely disjunctive *Oxytropis pilosa* (Fabaceae). – Poster, Plant Population Biology for the coming decade; Luxembourg, Musée national d’histoire naturelle, 1-3 May 2008; Popbio 2008: 21<sup>th</sup> Annual Conference of the Plant Population Biology Section of the Ecological Society of Germany, Switzerland and Austria (GfÖ).

SCHLEE, M.; GÖKER, M.; GRIMM, G. W. & HEMLEBEN, V. (2009): Molecular phylogeny within the species rich *Astragalus/Oxytropis* complex (Fabaceae). – Poster, Botanikertagung, Deutsche Botanische Gesellschaft (DBG), Leipzig, 6.-11. September 2009.

## Acknowledgements

At the end of a long way, there is a nearly infinite number of persons which I would like to thank – not only for what they did directly to facilitate my studies but also regarding their support besides my universe, the counting of peas.

Very special thanks go to my supervisors, Prof. Dr. Vera Hemleben and Prof. Dr. Wilhelm Sauer (retired) who encouraged me for all the years. I am also very thankful to Prof. Dr. Gerd Jürgens who kindly agreed to be my second supervisor.

Without Dr. Guido Grimm with his unfailing encouragement the work would possibly not have come to an end. The night-long discussions with PD Dr. Markus Göker regarding all matters between pea and entity of the universe were always a great pleasure and help. Prof. Dr. Thomas Potthast especially supported me on questions concerning sustainability and nature conservation.

Angela Dressel and Karin Stögerer are kindly acknowledged for their technical assistance and moral support in the face of hard-to-sequence specimens, usually those I really needed, throughout the years. I enjoyed working in the labs of the Center for Plant Molecular Biology (ZMBP) – General Genetics (thank you Charley Rehm!) and the “Berghof” (thank you Christian Bartsch for the encouraging working atmosphere through the long evenings!). Discussions with the colleagues in the International Centre for Ethics in the Sciences and Humanities (IZEW), were always stimulating – not only for developing scientific thoughts (thank you for the surreal cheering up moments, Birgit Leweke!).

Anke and Jochen Schumacher as well as Alexander Auch and Manfred Gerblinger are kindly acknowledged for the “virtual” support whenever the computer’s imagination was not compatible with mine.

The herbaria G (Geneva), GZU (Graz), LY (Lyon), M (Munich), and MA (Madrid) sent specimens for revision. The hospitality of the following herbaria was very helpful and a great pleasure: BC (Barcelona), BOLO (Bologna), C (Copenhagen; with special thanks to Conny Asmussen-Lange), DR (Dresden), E (Edinburgh), FB (Freiburg), FI (Florence), FR (Frankfurt), G (Geneva), HBG (Hamburg), K (Kew, London), LE (Saint Petersburg), LI (Linz; with special thanks to Franz Speta), LJU (Ljubljana; with special thanks to the late Tone Wraber), M (Munich), MPU (Montpellier, incl. S.I.G.M.A.), P (Paris), RO (Rome; with special thanks to Maretta Colasante), S (Stockholm; with special thanks to Thomas Denk and

Christian Pott from the Palaeobotany department), STU (Stuttgart), TUB (Tübingen; with special thanks to Cornelia Dilger-Endrulat and her secret pieces of “Augenbelustigung”, the browsing through the old collections and fascicles), UPS (Uppsala), W and WU (Vienna) and Z (Zürich; with special thanks to Reinhard Berndt since the Tübingen time).

The following persons are kindly acknowledged for providing me material out of my reach: Friedrich Schlee, Evgenia Zeidler-Schewzowa and the University of Barnaul (Altai, Siberia), the late Erich Kalmbach (Tübingen and Caucasus) together with Ludmilla Barjaewa and Ludmilla Mantschenkowa, Reiner Schmahl (Bad Wildbad), Zoltán Varga (Debrecen), Eberhard Koch (Gottmadingen), Natalie Schmalz (Budenheim/Mainz), and Matthias Kropf (Vienna).

The initial start of work would not have been possible without having been funded by “Landesgraduiertenförderung Baden-Württemberg”. Travels were financially supported by the “Reinhold-und-Maria-Teufel-Stiftung Tuttlingen” and the German Academic Exchange Service (DAAD).

Finally my general gratitude goes to the many people I met in the field whose names I never got or forgot, who helped me, a strange person looking for peas, without any hesitation. Several thousand kilometres of Odyssey between the stepping stones I survived only by hearing The Rolling Stones: “Till the next (time we say) goodbye”!

This work is dedicated to those who helped me all the time and taught me the art of travelling: my parents!

## **Publication 1**

SCHLEE, M.; SAUER, W. & HEMLEBEN, V. (2003)

### **Molekulare und pflanzensoziologische Analyse von pontisch-pannonischen Reliktarten aus wärmebegünstigten Saum-Gesellschaften Süddeutschlands und benachbarter Gebiete**

In: HEMPEL, G.; RÖBBELEN, G.; OTTE, A. & WISSEL, C. (eds.): Biodiversität und Landschaftsnutzung in Mitteleuropa: Leopoldina-Symposium vom 2. bis 5. Oktober 2001 in Bremen. (= Nova Acta Leopoldina NF 87 [No. 328]). Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart; pp. 379-387.

Reprint with kind permission of the Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina – Nationale Akademie der Wissenschaften, Halle (Saale), Germany.

Original first publication of the series volume:

ISBN 3-8047-2031-5

[http://www.leopoldina.org/de/publikationen/detailansicht/?publication\[publication\]=74&cHash=18d974336e477fa705c94d68d009b6c1](http://www.leopoldina.org/de/publikationen/detailansicht/?publication[publication]=74&cHash=18d974336e477fa705c94d68d009b6c1)

[accessed 2015-06-24]

## Molekulare und pflanzensoziologische Analyse von pontisch-pannonischen Reliktarten aus wärmebegünstigten Saum-Gesellschaften Süddeutschlands und benachbarter Gebiete

Matthias SCHLEE<sup>1,2</sup>, Wilhelm SAUER<sup>1</sup> und Vera HEMLEBEN<sup>2</sup> (Tübingen)

Mit 3 Abbildungen und 1 Tabelle

### Zusammenfassung

Populationen nacheiszeitlich relikitärer und aktuell stark bedrohter mittel- und westeuropäischer Vorkommen der Fabaceen-Arten *Lathyrus bauhinii*, *L. pannonicus* und *Oxytropis pilosa* wurden einer pflanzensoziologischen Analyse unterzogen, um mehr über ihre Vergesellschaftung sowie Standortsansprüche zu erfahren und Pflegemaßnahmen für einen verbesserten Biotopschutz daraus abzuleiten. Vor allem gilt es die Brache mit den gravierenden Folgen der Vergrasung, Verbuschung und Versaumung zu verhindern. Stattdessen bedarf es einer massiven Offenhaltung der Standorte oder eines Anreißens des Bodens, damit die xerophilen Pionierarten bei einer Sukzession nicht wegen ihrer Konkurrenzschwäche verschwinden. Parallel zu den pflanzensoziologischen Aufnahmen wurden die Sippen molekularbiologisch untersucht. Hierbei wurden inter- und intraspezifische Unterschiede analysiert, um damit Aussagen zum Genfluß zwischen den Populationen und deren Herkunft machen zu können. Bereits an Sequenzen der intern transkribierten Spacer aus der ribosomalen DNA läßt sich ein hohes Maß an Diversität erkennen. Das Wissen um die genetische Bandbreite der relikitären Sippen soll auch die Effektivität des Artenschutzes erhöhen. Arten- und Biotopschutz müssen insgesamt auf die Wiederherstellung geeigneter Biotope durch gezielte Störungen wie traditionelle Beweidung oder späte Mahd abzielen. Massive Eingriffe lassen sich dabei selbst in Naturschutzgebieten nicht vermeiden, sollen die wenigen verbliebenen Reliktstandorte in Mitteleuropa fortbestehen.

### Abstract

Recently critically endangered populations of postglacial relicts, the middle- and western European *Lathyrus bauhinii*, *L. pannonicus* and *Oxytropis pilosa* (Leguminosae), are investigated by plant sociological studies to obtain more details about associations and environmental site conditions. Ultimate goal is a better habitat management. Most dangerous is fallowing which would result in sites becoming overgrown with grasses and herbs typically connected to seams as well as being disturbed by shrub invasion. Enormous efforts should be made instead to open the sites, i. e. by disturbing the soils just to let survive the xerophilous pioneer species that show low competitive capacity on the other hand. Additionally, the biotypes are investigated with methods of molecular biology. Inter- and intraspecific differences are analysed to show gene flow within the populations and to redraw their origins. Internal transcribed spacers of ribosomal DNA already present a high diversity on sequence level. Knowledge of the genetic diversity should also lead to a higher efficiency of species conservation for these relicts. The rearrangement of suitable biotopes that could be opened by disturbances such as traditional grazing or intelligent cutting management should be emphasized and even serious changes in conservation areas are not avoidable if all of the few relict sites should survive that are left in Central Europe.

1 Universität Tübingen, Spezielle Botanik und Mykologie, Auf der Morgenstelle 1, 72076 Tübingen.

2 Universität Tübingen, Zentrum für Molekularbiologie der Pflanzen (ZMBP), Allgemeine Genetik, Auf der Morgenstelle 28, 72076 Tübingen.

## 1. Untersuchte Arten

Mit der Ungarischen Platterbse, *Lathyrus pannonicus*, der Schwertblättrigen Platterbse, *L. bauhinii*, und der Wolligen Fahnenwicke, *Oxytropis pilosa*, werden xerophile Reliktarten ausgewählt, welche sich in der Bundesrepublik rezent lediglich noch an wenigen Standorten um Tübingen (vgl. HAEUPLER und SCHÖNFELDER 1988, SEBALD et al. 1992), im Kyffhäuser, Unstrut- und Saale-Gebiet sowie bei Frankfurt/Oder finden (BENKERT et al. 1996). Dabei mußten in fast allen Naturräumen Einbußen an Standorten und Populationsgrößen in den letzten Jahren hingenommen werden. Bestände in der Pfalz müssen als erloschen gelten (LANG und WOLFF 1993). Auch in Österreich und der Schweiz gibt es teilweise dramatische Bestandsreduzierungen (vgl. WELTEN und SUTTER 1982). Die Herkunft von *L. pannonicus* und *O. pilosa* liegt in den Steppengebieten des pontisch-pannonischen Raumes, wo die beiden Arten dasselbe Areal besiedeln (vgl. MEUSEL 1965). Einen Überblick über die bislang aufgesuchten Fundorte geben Abbildung 1A und B.

Für *L. pannonicus* stehen dabei eine Reihe von morphologisch und durch ihre ökologischen Ansprüche gut trennbare Unterarten zur Verfügung (BÄSSLER 1981; Abb. 1B), wohingegen *O. pilosa* morphologisch über ihr gesamtes Areal gleichförmig erscheint.

## 2. Pflanzensoziologische Untersuchung

Die ökologisch mögliche Differenzierung der Unterarten von *L. pannonicus* zeigt Tabelle 1. Dabei kommt die Xerophilie von subsp. *collinus* (inkl. subsp. *suevicus*) und subsp. *varius* (Charakterarten des Geranio-Peucedanetum cervariae) sowie von *O. pilosa* (Ordnungscharakterart der Festucetalia valesiacae bzw. Charakterart des Xerobrometum) zum Ausdruck. Die übrigen Unterarten bevorzugen hingegen deutlich feuchtere Standorte (subsp. *pannonicus*: Molinion-Verbandscharakterart!). In Übergangsgesellschaften finden sie sich vor allem dort, wo auch die Auftrennung der nebeneinander vorliegenden Unterarten erschwert ist, nämlich im Pannonischen Becken von Wien und Niederösterreich sowie um Budapest.

Insgesamt zeigt sich an allen aufgesuchten Standorten, daß den Arten stets auch die Rolle eines Störungszeigers zukommt, da sie selbst aus qualitativ hochwertigen Saum- und Trockenrasengesellschaften aufgrund ihrer Konkurrenzschwäche schnell an Trampelpfade und künstliche Verbauungen zurückgedrängt werden. Solche Standorte entziehen sich wegen ihrer Inhomogenität einer pflanzensoziologischen Kartierung. Selbst die kartierbaren und in Tabelle 1 präsentierten Standorte sind kaum als naturnah zu betrachten, sondern drücken ebenfalls – trotz ihrer Fülle an botanischen Seltenheiten – die Degeneration unserer Kulturlandschaft mit ihrem Mosaik an Übergangsgesellschaften aus, die es zu lenken gilt.

Die Vorkommen von *L. pannonicus* cf. subsp. *varius* in den Abruzzen unterscheiden sich sowohl morphologisch als auch ökologisch deutlich von ihren verwandten Sippen in Istrien. Dies unterstreicht die Bedeutung der Apenninenhalbinsel als Refugialraum für nacheiszeitliche Sippen (ebenfalls disjunktes Vorkommen von *O. pilosa*).

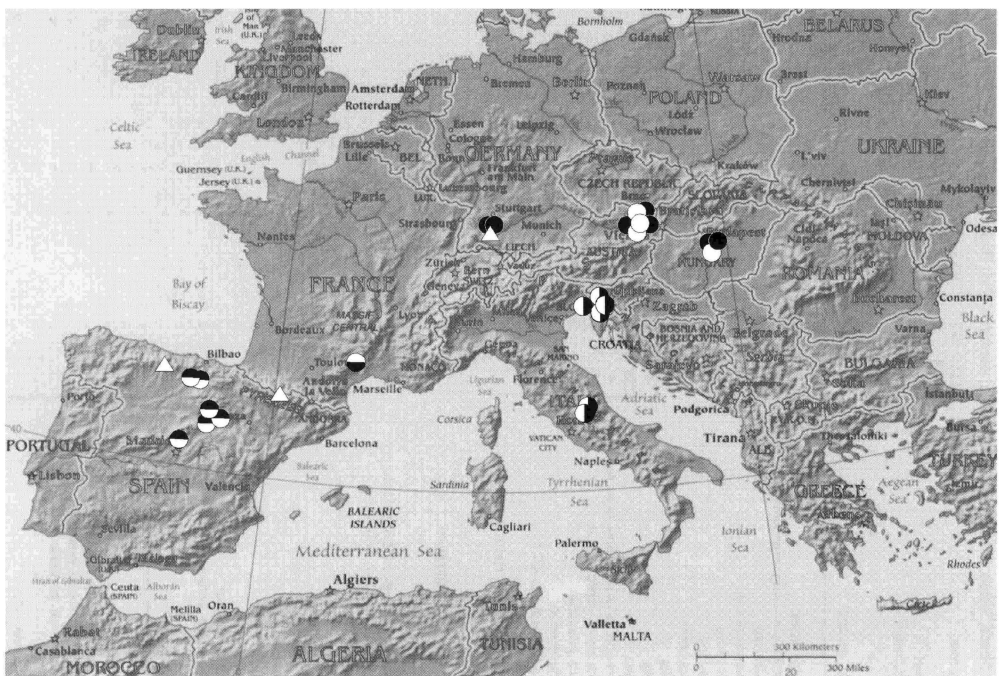
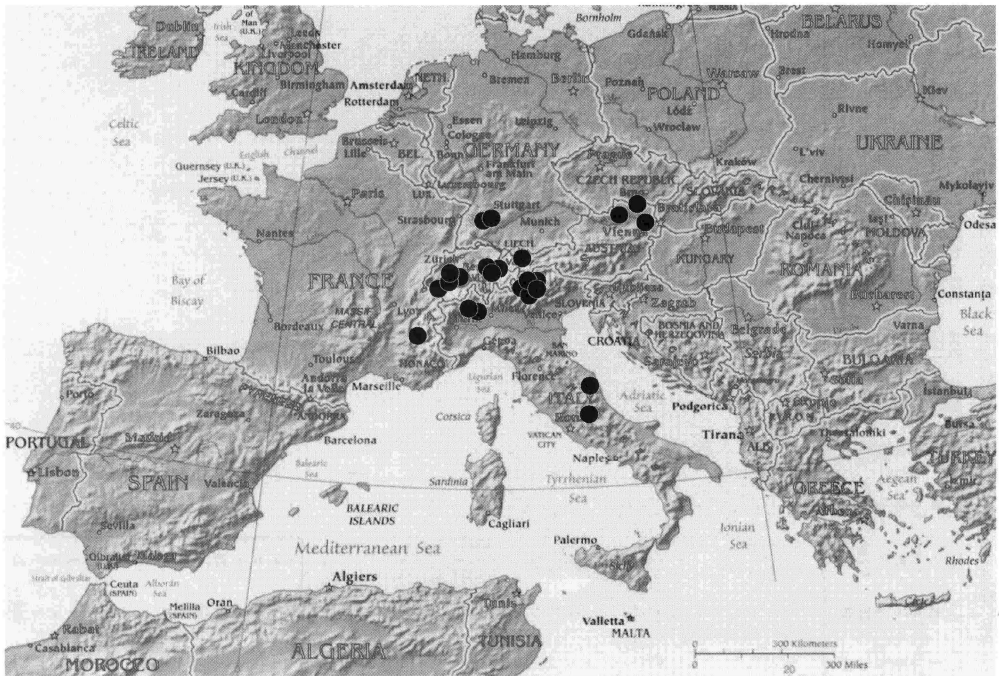


Abb. 1 Aufgesuchte Standorte der untersuchten Reliktarten: (A) *Oxytropis pilosa* (●); (B) *Lathyrus pannonicus* subsp. *collinus* und *suevicus* (●), *pannonicus* (○), *varius* (◐), *asphodeloides* (◑), *longistipulatus* (◒); *L. bauhinii* (Δ).



Tab. 1 Pflanzensoziologische Tabelle aus Aufnahmen mit verschiedenen *L. pannonicus*-Unterarten und von *O. pilosa* (verfeinerte BRAUN-BLANQUET Schätz-Skala), erstellt mittels multivariater Analyse mit MULVA-5 (WILDt und ÖRLÖCI 1990). Dargestellt sind 100 differenzierende Arten. (Abkürzungen der »besonderen Arten« im Tabellenkopf vgl. Legende zu Abb. 3.) Geländenummer R1: Kalksburg bei Wien; R2–R3: Purkersdorf, Niederösterreich (NÖ); R4: Staats, NÖ; R5: Zeiselberg, NÖ; R6: Ebreichsdorf, NÖ; R7: Hadersdorf bei Wien; R8: Budapest: Svábhegy; R9–R10: Budakeszi bei Budapest; R11: Divaca, Istrien; R12: Merce, Istrien; R13: Trieste; R14: Rovere, Abruzzen; R15: Ovindoli, Abruzzen; R16: Oteruelos (Soria); R17: Mataporquera (Cantabria); R18: Cevennen; S50, S83–S85: bei Tübingen

Geländenummer	R18	R11	R13	R12	R16	R17	R6	R7	R1	R15	R3	R2	R10	R8	R9	S84	S83	S85	S50	R14	R4	R5	
Land	F	SLO	I	SLO	E	E	A	A	A	I	A	A	H	H	H	D	D	D	D	I	A	A	
Besondere Art	Lpa	Lpv	Lpv	Lpv	Lpl	Lpl	Lpc	Lpp	Lpp	Lpv	Lpc	Lpc	Lpc	Lpc	Lpc	Op	Op	Op	Lps	Op	Op	Op	
Aufnahmeflächengröße	1	20	10	25	9	8	8	6	8	8	8	25	8	8	8	1	1,5	1	5	4	0,4	1	
Neigung	30	2	0	2	0	0	2	5	5	0	5	5	1	20	5	20	45	45	20	15	45	5	
Exposition	W	SSO		WNW			W	SW	NW		SO	SSW	SSO	SW	SSO	SSW	SSW	S	S	SSO	SW	SSW	
Deckungsgrad gesamt	80	90	90	90	95	98	98	98	80	100	95	90	95	98	90	60	15	50	50	75	60	70	
Vaccinium vitis-idaea	5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Lathyrus pannonicus subsp. asphodeloides	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Cytisus sessilifolius	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hieracium murorum agg.	r	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Helleborus foetidus	.	r	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Thalictrum minus	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Pulmonaria australis	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Primula elatior	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Potentilla alba	.	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	r	.	.
Carex montana	.	2b	2a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3	.	.	.	.
Helianthemum nummularium subsp. obscura	.	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Lathyrus pannonicus subsp. varius	.	2m	r	+	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Brachypodium pinnatum	.	+	5	+	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Trifolium ochroleucon	.	.	.	.	r	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Carex spicata (C. muricata s.l.)	.	.	.	.	r	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ranunculus bulbosus	.	1	.	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Trisetum flavescens subsp. flavescens	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Melampyrum cristatum	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Genista tinctoria	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Galium palustre subsp. elongatum	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Deschampsia flexuosa	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Carum verticillatum	.	.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Lathyrus pannonicus subsp. longestipulatus	.	.	.	.	1	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Arrhenatherum elatius subsp. bulbosum	.	.	.	.	2b	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hypochoeris radicata	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Lolium perenne	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Convolvulus arvensis	.	.	.	.	.	2m	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Carex panicea	.	.	.	.	.	.	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Colchicum autumnale	.	.	.	v	.	.	.	2a	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Vicia cracca	.	+	.	.	.	.	r	+	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Carex tomentosa	.	.	.	+	.	.	2a	1	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Anthoxanthum odoratum	.	.	.	.	.	.	1	2m	+	.	.	2b	2a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Galium verum subsp. verum	.	+	+	+	r	1	+	.	1	2m	2a	2a	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Carex flacca	.	.	.	.	.	1	1	1	2a	2a	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Lathyrus pratensis	.	.	.	.	v	.	.	+	+	+	1	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Lotus corniculatus subsp. corniculatus	.	+	.	.	.	1	.	.	+	+	+	+	.	.	.	.	r	.	.	.	.	.	.
Festuca pratensis.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	1	+	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Holcus lanatus	.	.	.	.	+	1	.	.	.	.	.	1	2a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Leontodon hispidus subsp. hispidus	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	+	+	2a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Alopecurus pratensis subsp. pratensis	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3	+	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Trifolium pratense var. pratense	.	.	.	.	.	+	.	.	+	2a	+	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Rhinanthus minor	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2a	1	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Plantago lanceolata	.	.	.	.	.	.	.	.	2a	.	2m	2a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ranunculus acris subsp. acris	.	.	.	.	.	.	.	.	+	2a	1	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

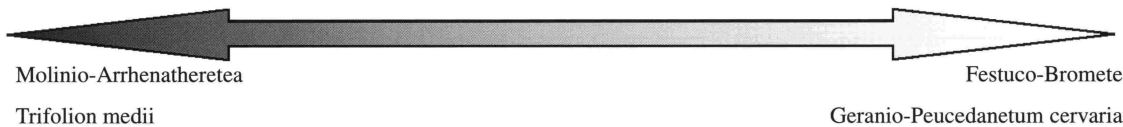
Geländenummer	R18	R11	R13	R12	R16	R17	R6	R7	R1	R15	R3	R2	R10	R8	R9	S84	S83	S85	S50	R14	R4	R5
Land	F	SLO	I	SLO	E	E	A	A	A	I	A	A	H	H	H	D	D	D	D	I	A	A
Besondere Art	Lpa	Lpv	Lpv	Lpv	Lpl	Lpl	Lpc	Lpp	Lpp	Lpv	Lpc	Lpc	Lpc	Lpc	Lpc	Op	Op	Op	Lps	Op	Op	Op
Aufnahmeflächengröße	1	20	10	25	9	8	8	6	8	8	25	8	8	8	8	1	1,5	1	5	4	0,4	1
Neigung	30	2	0	2	0	0	2	5	5	0	5	5	1	20	5	20	45	45	20	15	45	5
Exposition	W	SSO		WNW			W	SW	NW		SO	SSW	SSO	SW	SSO	SSW	SSW	S	S	SSO	SW	SSW
Deckungsgrad gesamt	80	90	90	90	95	98	98	98	80	100	95	90	95	98	90	60	15	50	50	75	60	70
<i>Knautia arvensis</i> subsp. <i>arvensis</i>	.	+	+	.	.	.	.	r	.	.	+	+	+	1	+	.	.	.	.	.	.	.
<i>Lathyrus pannonicus</i> subsp. <i>collinus</i>	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	1	1	1	1	1	.	.	.	.	.	.	.
<i>Lathyrus pannonicus</i> subsp. <i>pannonicus</i>	.	.	.	.	.	.	.	1	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Helictotrichon pubescens</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	1	2a	+	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Trifolium montanum</i>	.	r	1	1	.	.	+	+	.	.	+	2m	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Silene vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Thesium pyrenaicum</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	r	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Polygala comosa</i>	.	.	.	.	r	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Phleum pratense</i> subsp. <i>pratense</i>	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.
<i>Trifolium repens</i>	.	.	.	1	r	.	.	.	.	2a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Centaurea jacea</i> agg.	.	+	.	.	+	2a	.	.	.	+	.	+	.	+	r	.	.	.	.	.	.	.
<i>Salvia pratensis</i>	.	+	+	r	.	.	.	.	.	.	.	.	1	+	+	.	.	r	.	.	.	.
<i>Carex caryophyllea</i>	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	r	+	.	.	.	.	.	.	.
<i>Dictamnus albus</i>	.	+	1	1	.	.	.	.	.	.	.	.	v	.	+	.	.	.	.	.	.	v
<i>Thesium ramosum</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.
<i>Arrhenatherum elatius</i> subsp. <i>elatius</i>	.	.	.	.	.	.	.	3	.	2a	2a	2a	1	.	4	.	.	.	.	.	.	2a
<i>Fragaria viridis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	1	.	.	r	.	.	.	.
<i>Iris variegata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	v	.	.	.	.	.	.	.
<i>Crataegus spec. (K)</i>	.	.	.	r	.	.	.	r	.	.	+	.	r	.	2a	.	.	.	.	.	.	.
<i>Viola hirta</i>	.	.	1	+	.	.	1	r	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Quercus spec. (K)</i>	v	.	+	v	r	.	r	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Filipendula vulgaris</i>	.	.	v	1	r	+	.	1	+	.	1	1	1	+	+	.	.	.	.	.	.	.
<i>Inula salicina</i>	.	.	.	+	1	.	+	1	.	.	4	v	.	1	+	.	.	.	.	.	.	.
<i>Briza media</i>	.	1	.	+	v	.	1	+	1	.	1	2m	.	+	r	.	.	.	.	.	.	.
<i>Dactylis glomerata</i>	v	.	.	1	2b	.	2b	2a	1	.	1	2m	.	1	1	.	.	.	.	.	.	.

(Fortsetzung auf S. 384)

Tab. 1 (Fortsetzung)

Geländenummer	R18	R11	R13	R12	R16	R17	R6	R7	R1	R15	R3	R2	R10	R8	R9	S84	S83	S85	S50	R14	R4	R5
Land	F	SLO	I	SLO	E	E	A	A	A	I	A	A	H	H	H	D	D	D	D	I	A	A
Besondere Art	Lpv	Lpv	Lpv	Lpv	Lpl	Lpl	Lpc	Lpp	Lpp	Lpv	Lpc	Lpc	Lpc	Lpc	Lpc	Op	Op	Op	Lps	Op	Op	Op
Aufnahmeflächengröße	1	20	10	25	9	8	8	6	8	8	25	8	8	8	8	1	1,5	1	5	4	0,4	1
Neigung	30	2	0	2	0	0	2	5	5	0	5	5	1	20	5	20	45	45	20	15	45	5
Exposition	W	SSO		WNW			W	SW	NW		SO	SSW	SSO	SW	SSO	SSW	SSW	S	S	SSO	SW	SSW
Deckungsgrad gesamt	80	90	90	90	95	98	98	98	80	100	95	90	95	98	90	60	15	50	50	75	60	70

Euphorbia cyparissias	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	+	+	.	+	+	1	.	.	.
Sanguisorba minor subsp. minor	.	r	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Bromus erectus	.	4	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Scorzonera humilis	.	2m	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Lathyrus pannonicus subsp. suevicus	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Geranium sanguineum	.	.	v	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Lotus corniculatus subsp. hirsutus	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Centaurea scabiosa agg.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Chamaecytisus supinus	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Thymus praecox subsp. praecox	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Thesium linophyllum	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Achillea millefolium agg.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Tanacetum corymbosum	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Teucrium chamaedrys	.	.	.	+	.	.	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Scabiosa columbaria	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Festuca ovina agg.	.	2a	1	.	+	.	.	.	.	.	.	+	v	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ligustrum vulgare (K)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	r	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Aster linosyris	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Bupleurum falcatum	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Stachys recta	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Poa angustifolia	.	.	.	.	.	1	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Coronilla varia	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Peucedanum cervaria	.	.	.	.	.	.	r	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Trinia glauca subsp. glauca	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Salvia sclarea	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Galium glaucum	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Aster amellus	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hieracium pilosella	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Onobrychis vicifolia subsp. vicifolia	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Oxytropis pilosa	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Thymus pulegioides subsp. chamaedrys	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Sisymbrium loeselii	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Scorzonera cana	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.



Trifolion medii

Geranio-Peucedanetum cervariae

### 3. Molekularbiologische Untersuchung

Die ökologisch gut differenzierbaren Sippen wurden mit Hilfe molekularer Marker der ribosomalen DNA-Genabschnitte, die hoch repetitiv im Genom vorliegen, auf ihre Diversität untersucht (HEMLEBEN und ZENTGRAF 1994; Abb. 2A). Die Auswertung der Sequenzdaten erbringt für die intern transkribierten Spacer (ITS1 und ITS2) eine gute Auftrennung auf Artebene. Die Unterarten von *L. pannonicus* zeigen mit diesem Marker keine entsprechend diskrete Aufspaltung, wie sie nach morphologischen, geographischen und ökologischen Kriterien relativ gut möglich ist. Überdies zeigt sich eine deutliche intraspezifische Variabilität (Abb. 2B und 3). Künftige Untersuchungen am extern transkribierten Spacer (5' ETS; Daten hier nicht gezeigt) lassen eine bessere Aufspaltung der Sippen durch die innerhalb dieses Spacers vorhandene Repeatstruktur erwarten.

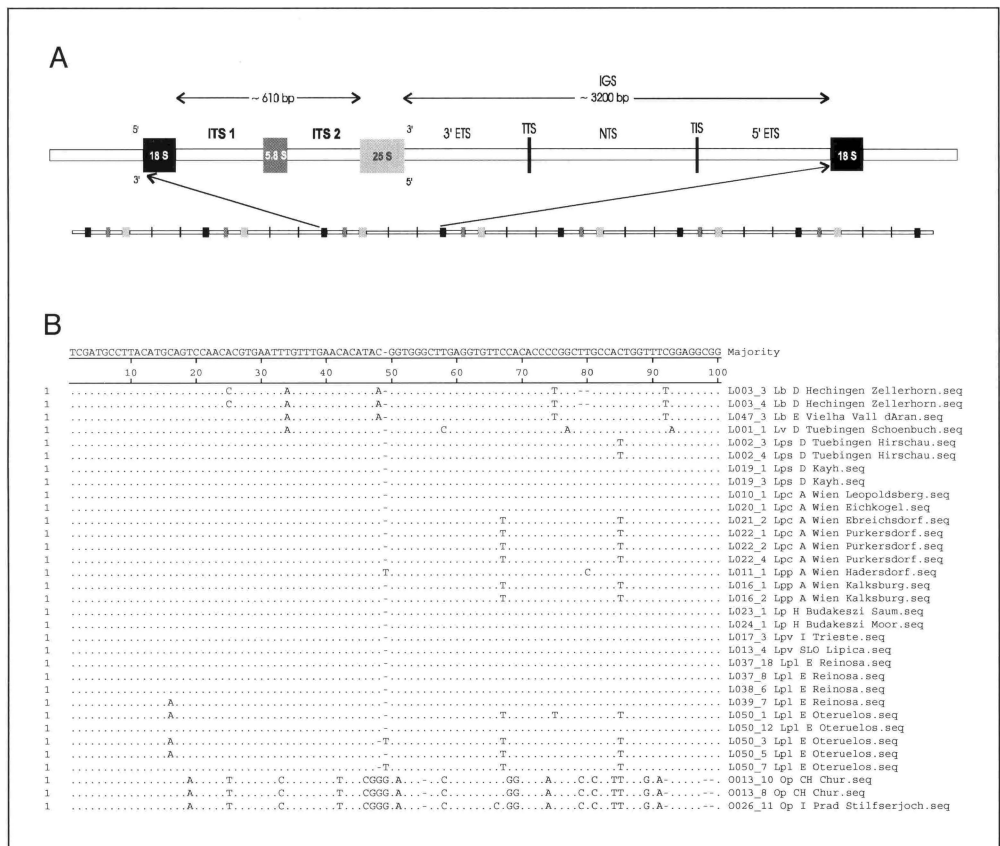


Abb. 2 Spacer-Abschnitte der ribosomalen DNA als molekulare Marker. (A) Organisation der 18S, 5.8S und 25S ribosomalen RNA-Gene. ITS1 und ITS2: Intern transkribierte Spacer; IGS: Intergener Spacer; 3' ETS und 5' ETS: Extern transkribierter Spacer; TTS: Transkriptions-Terminationsstelle; TIS: Transkriptions-Initiationsstelle; NTS: Nicht transkribierter Spacer. (B) Ausschnitt aus dem Alignment des ITS1-Abschnittes der untersuchten Reliktarten. (Abkürzungen vgl. Legende zu Abb. 3)

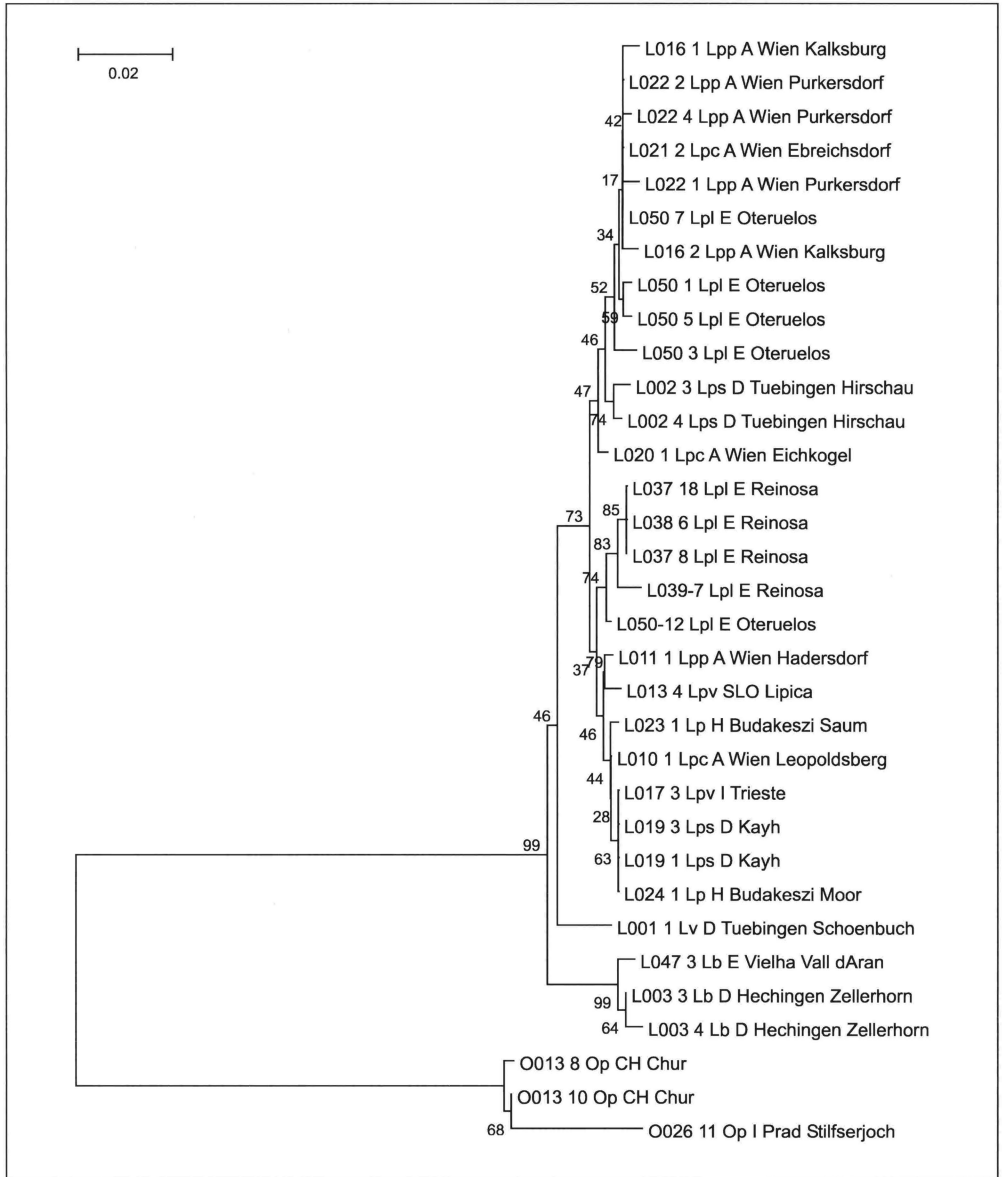


Abb. 3 Neighbor-Joining-Stammbaum verschiedener *Lathyrus*-Arten sowie von *Oxytropis pilosa* (Außen-Gruppe). Die Zahlenwerte sind Bootstrap-Werte (1000 Replikate). Der Stammbaum zeigt sehr große Übereinstimmung mit dem Konsensus ebenfalls errechneter Maximum Parsimony-Bäume, für die es allerdings > 1 Mio. Möglichkeiten gibt (MEGA 2.1, KUMAR et al. 2001; Distanzen nach KIMURA 2-Parameter-Modell, Alignment-Lücken als »pairwise deletion« behandelt). Klonbezeichnung: L = *Lathyrus*, O = *Oxytropis*. Erste Zahl: Individuum des angegebenen Standortes; zweite Zahl: Klon-Nummer aus diesem Individuum. Lb: *L. bauhinii*; Lpa: *L. pannonicus* subsp. *asphodeloides*; Lpc: *L. pannonicus* subsp. *collinus*; Lpl: *L. pannonicus* subsp. *longestipulatus*; Lpp: *L. pannonicus* subsp. *pannonicus*; Lps: *L. pannonicus* subsp. *suevicus*; Lpv: *L. pannonicus* subsp. *varius*; Lv: *L. vernus*; Op: *Oxytropis pilosa*. Der Ortsangabe ist das Nationalitätskennzeichen vorangestellt.

Das Aufzeigen der Diversität der Sippen und ihrer schutzbedürftigen Biotope soll insgesamt den Arten- und Biotopschutz intensivieren helfen. Dieser muß dabei weit über die geforderte Aufnahme der Sippen und Biotoptypen in den Anhängen der Flora-Fauna-Habitat-Richtlinie hinausgehen, da ein Erhalt von Pionierarten wie den hier untersuchten entschiedene massive Eingriffe bei Pflegemaßnahmen voraussetzt. Damit werden dann aber sogar bei extensiver Nutzung Massenbestände möglich, wie Beispiele in den Abruzzen zeigen.

### *Danksagung*

Die Arbeiten wurden unterstützt durch ein Reisetstipendium der Reinhold- und Maria-Teufel-Stiftung sowie einem Promotionsstipendium der Landesgraduiertenförderung Baden-Württemberg. Angela DRESSEL und Guido GRIMM sei ebenfalls herzlich gedankt.

### *Literatur*

- BÄSSLER, M.: Revision von *Lathyrus* L. sect. *Lathyrostylis* (GRISEB.) BÄSSLER (Fabaceae). Feddes Repertorium 92 (3), 179–254 (1981)
- BENKERT, D., FUKAREK, F., und KORSCH, H. (Eds.): Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen Ostdeutschlands. Jena: G. Fischer 1996
- HAEUPLER, H., und SCHÖNFELDER, P. (Eds.): Atlas der Farn- und Blütenpflanzen der Bundesrepublik Deutschland. Stuttgart: Ulmer 1988
- HEMLEBEN, V., and ZENTGRAF, U.: Structural organization and regulation of transcription by RNA polymerase I of plant nuclear ribosomal RNA genes. In: NOVER, L. (Ed.): Plant Promoters and Transcription Factors (= Results and Problems in Cell Differentiation; 20); pp. 3–24. Berlin, Heidelberg: Springer 1994
- KUMAR, S., TAMURA, K., JAKOBSEN, I. B., and NEI, M.: MEGA2.1: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software. Tempe, Arizona, USA: Arizona State University 2001
- LANG, W., und WOLFF, P. (Eds.): Flora der Pfalz. Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen für die Pfalz und ihre Randgebiete (= Veröffentlichungen der Pfälzischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften in Speyer; 85). Speyer 1993
- MEUSEL, H.: Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora. Band 1: Teil 1, Text. Teil 2, Karten. Jena: G. Fischer 1965
- SEBALD, O., SEYBOLD, S., und PHILIPPI, G. (Eds.): Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs. Band 3: Spezieller Teil (Spermatophyta, Unterklasse Rosidae) Droseraceae bis Fabaceae. 1. Aufl. Stuttgart: Ulmer 1992
- WELTEN, M., und SUTTER, R.: Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen der Schweiz. Vol. 1. Basel: Birkhäuser 1982
- WILDI, O., und ORLÓCI, L.: Numerical Exploration of Community Patterns – A Guide to the Use of MULVA-5. 2<sup>nd</sup> ed. The Hague: SPB Academic Publishing 1990

Matthias SCHLEE  
Universität Tübingen  
Spezielle Botanik & Mykologie  
Auf der Morgenstelle 1  
72076 Tübingen  
Bundesrepublik Deutschland  
Tel.: ++49 (0) 707 12 97 61 47  
Fax: ++49 (0) 70 71 29 50 42  
E-Mail: matthias.schlee@uni-tuebingen.de

## **Publication 2**

SCHLEE, M. (2004)

### **Probleme der Erhaltung biologischer Vielfalt in der Kulturlandschaft – Ökologische Schäden durch verfehlte Pflegekonzepte**

In: POTTHAST, T. (Hrsg.): Ökologische Schäden: Begriffliche, methodologische und operationale Aspekte. Jahrestagung AK Theorie und AK Gentechnik der GfÖ in Blaubeuren 2003 (= Theorie in der Ökologie; 10), Peter Lang, Frankfurt am Main, Bern, Bruxelles, New York, Oxford, Warszawa, Wien, pp. 95-110.

Reprint with kind permission of the publisher Peter Lang, Frankfurt am Main, Germany.

Original first publication of the series volume:

ISBN 978-3-631-52849-5

[www.peterlang.com/?52849](http://www.peterlang.com/?52849)

[accessed 2015-06-24]

# Probleme der Erhaltung biologischer Vielfalt in der Kulturlandschaft – Ökologische Schäden durch verfehlte Pflegekonzepte

Matthias Schlee

Universität Tübingen, Zentrum für MolekularBiologie der Pflanzen (ZMBP) – Allgemeine Genetik,  
Auf der Morgenstelle 28, D-72076 Tübingen  
matthias.schlee@uni-tuebingen.de

## Abstract

In order to find definitions for the concept of “ecological damage” within the field of nature and landscape conservation, the separation of original natural landscape and cultivated landscape is discussed. This could offer the possibility to avoid a situation in which one is forced to call the whole of Europe being an “ecological damage” due to its almost complete lack of anthropogenically undisturbed environment. Contrary to this unsatisfactory situation, protection of cultivated landscapes must be improved to avert the loss of valuable secondary habitats. Disturbances of habitats must be enforced even and especially within protected areas to keep successions going on and preserve all phases of development of a dynamic and diversity of plant communities and species. Examples of nature conservation areas in Southern Germany show the necessity of such massive interventions. Methodical problems for describing the ecological or biodiversity decline and legislation retards are discussed. In German environmental law, anthropocentric orientation is preferred to ecocentric orientation and puts evidence on the fact that “ecological damage” is mostly used for liability matters with eco-toxicological relevance. Thus, a definition for “ecological damage”, which can hardly be applied to a situation wherein cultural landscape is inhibited in its dynamical change, does not fit to a unique definition reflecting all ecological aspects.

**Keywords:** nature protection, landscape protection, cultural landscape, protection of species, succession, disturbance, German environmental law, phytosociology, molecular biology

**Schlüsselwörter:** Naturschutz, Landschaftsschutz, Kulturlandschaft, Artenschutz, Sukzession, Störung, Naturschutzrecht, Pflanzensoziologie, Molekularbiologie

## 1 Einleitung

Ausgehend von der Feststellung, dass in Mitteleuropa faktisch nur noch solche primären Habitate existieren, die zumindest mittelbar durch den Menschen beeinflusst sind, die Mehrzahl der primären Habitate sogar zerstört ist, stellt sich dringend die Frage nach dem Schutz wenigstens der sekundären Habitate. Letztere können, selbst für Vertreter eines ökozentrischen Ansatzes, als Kulturlandschaft wertvolle Aspekte an Arten und Biotopen enthalten und stellen daher einen würdigen Ersatz einer – letztlich im Detail ja unbekanntem – Naturlandschaft dar. Die Kultur-



landschaft selbst ist einem ständig schnelleren Wandel unterworfen. Ihre Erhaltung ist zwar gesellschaftlich erwünscht, aber nicht mehr zu leisten. Selbst (oder gerade?) in Naturschutzgebieten erscheint ein adäquater Schutz nicht mehr gewährleistet, obwohl insbesondere hier die praktische Umsetzung der Erhaltungsziele von der Öffentlichkeit erwartet wird. Verfehlte Pflegekonzepte verursachen in manchen Habitaten sogar gravierendere „ökologische Schäden“ als deren vormalige Nutzung, die doch immerhin einen schutzwürdigen Biotop hervorbrachte.

Solche Überlegungen werfen die Frage auf, was im Bereich des Naturschutzes als „ökologischer Schaden“ theoretisch fundiert klassifiziert werden kann und worin die Abwendung solcher Schäden und somit eine praktische Konsequenz für erfolgreiche Pflegekonzepte bestehen könnte.

Anhand ausgewählter Fallbeispiele aus Naturschutzgebieten Südwestdeutschlands und einer Diskussion von zentralen Methoden für Effizienzkontrollen im Biotop- und Artenschutz soll zunächst gezeigt werden, wie kompliziert die aktuelle Situation im Naturschutz ist, um dann Lösungsansätze entwickeln zu können. Eine Beschränkung, vornehmlich auf den floristischen Blickwinkel, scheint sinnvoll, denn die Vegetation erfährt als Habitatgrundlage der tierischen Lebewelt in der Naturschutzpolitik die größte Aufmerksamkeit.

## **2 Möglichkeiten einer Definition „ökologischer Schäden“ im Natur- und Landschaftsschutz**

Es ist problematisch, dass allzu sehr nomenklatorisch fixierte BiologInnen wider besseres theoretisches Wissen in der Praxis Ökosysteme noch immer als deterministische Systeme betrachten, bei denen beispielsweise ein zielgerichtetes Streben der Vegetation hin zu einer Klimaxgesellschaft verfolgt werden könnte.

Eine solche Klimaxgesellschaft würde standörtlich – pedologisch-klimatisch – angepasst einen „stabilen“ Endzustand aufweisen. Zwar vermögen einige Ökosysteme auf Stadien zuzusteuern, die eine deutlich geringere Schwankungsdynamik zeigen als ihnen vorausgegangene Initial- und Folgegesellschaften. Solche Tendenzen lassen sich, bezogen auf größere zonale Vegetationseinheiten vom groben Typus, wie etwa einer Steppe oder eines Waldes, häufig erkennen. Die Ausgestaltung im kleinräumigen Maßstab jedoch erweist sich als dynamisch – und sei es auf geringerem, kaum wahrnehmbarem Schwankungsniveau. Dies gilt gerade auch für die oftmals für Mitteleuropa angeführte Klimaxgesellschaft eines bestimmten Waldtyps, der flächendeckend nie verwirklicht war, wie Küster (1998, 240) zusammenfasst:

(...) die zentrale Aussage der Waldgeschichte ist es nicht, auf einen konkreten und stabilen Zustand der Natürlichkeit hinzuweisen, sondern darauf, dass die natürliche Entwicklung von Ökosystemen wie dem Wald auf Wandel und Dynamik beruht. Es ist also von Natur aus kein Zustand im Wald langfristig stabil; es herrscht ein ewiger, aber langsam verlaufender Wechsel der Waldbilder.

Bei genauer Lektüre insbesondere pflanzensoziologischer Abhandlungen zeigt es sich, dass die meisten Forschenden bei der Betrachtung natürlicher Vorgänge noch immer von einer Statik derselben auszugehen scheinen. Fischer (1999, 157) bemerkt hierzu treffend:

Aus pflanzensoziologischer Sicht betrachtet kann der Anschein entstehen, Vegetation sei etwas sehr Statisches, Festgefühtes. Tatsächlich ist aber gerade die Veränderlichkeit eine wesentliche Eigenschaft der Vegetation, von grundsätzlicher Bedeutung sowohl für das wissenschaftliche Verständnis von Vegetation als auch hinsichtlich der Nutzung der Vegetation durch den Menschen.

In den wenigsten Analysen lassen sich zum Beispiel der Einbezug des Mosaik-Zyklus-Konzepts oder Weiterentwicklungen inklusive ihrer umstrittenen Störungsvoraussetzungen (vgl. Böhmer 1997) erkennen, obwohl diese Phänomene, wie noch dargelegt wird, seit Jahrhunderten bekannt sind. Eine Folge dieser starren Sichtweise sind Vegetationskarten einer „potentiellen natürlichen Vegetation“ (PNV) oder „standörtliche Forstkarten“. Diese dargestellte fiktive Vegetation soll dann diejenige sein, welche im betreffenden Gebiet optimal stockt, wenn die Nutzung schlagartig unterbrochen würde – in Abhängigkeit von den zu diesem Zeitpunkt gegebenen Bodenverhältnissen und unter Ausschöpfung des aktuellen (!) Arteninventars. Aber ebendiese aktuellen Verhältnisse finden sich erstaunlich selten dokumentiert (eine Ausnahme bildet die frühe eindrucksvolle Gegenüberstellung der PNV und aktuellen realen Vegetation von Italien bei Fenaroli 1970 und Tomaselli 1970).

Für den Naturschutz stellt sich die Ausgangslage also folgendermaßen dar: Zusätzlich zu einem vermeintlichen Wissen um letztlich hypothetische Vorstellungen von früheren und als optimal dargestellten Vegetationsverhältnissen besteht eine Wissenslücke bezüglich der aktuellen Verhältnisse. Ein positiver Ansatz zum Ausgleich dieses Defizits ist die recht präzise Biotopkartierung nach § 30 BNatSchG (in der Fassung vom 25.03.2002, BGBl. I S. 1193) bzw. – weil für einige Bundesländer voreilig als abgeschlossen eingestuft – noch nach § 20c BNatSchG (in der Fassung der Bekanntmachung vom 21.09.1998, BGBl. I S. 2994, zuletzt geändert am 29.10.2001, BGBl. I S. 2785; außer Kraft getreten am 25.03.2002) respektive der jeweiligen landesrechtlichen Umsetzung. Das (anstehende) Melden von schutzwürdigen Biotopen nach der FFH-Richtlinie<sup>1</sup> kann hingegen nicht als „echte“ neuere Kartierungsmaßnahme gewertet werden und muss als Grundlage für einen zu wünschenden Erfolg des Natura 2000 Konzepts seine Wirkung erst noch unter Beweis stellen. In der dringend notwendigen Auseinandersetzung um diese Meldungen muss sich, trotz Wissenslücken, ein vorwiegend politisch durchzusetzendes Konzept entwickeln, das angibt, wie eine betreffende Vegetation zu steuern sein sollte, um einem, wenn auch diffusen, so doch von der Gesellschaft getragenen und zu bezahlenden Schutzziel näher zu kommen.

Zweifelsfrei erleichtern immer präzisere Fernerkundungsmethoden und die gesteigerte Qualität der Präsentation mittels GIS (Geografischen Informationssystemen) die Datenvermittlung. Gleichwohl sei vor bloßem Datensammeln und einer wahren Digitalisierungseuphorie gewarnt. Grabherr & Reiter (1999) empfehlen GIS für eine bessere Stichprobenauswahl, doch dabei ist noch vor der Computerarbeit eine klare systematische Vorarbeit gefragt. Und nach erfolgter großflächiger Bewertung muss in zersiedelten kleinräumigen Lebensräumen die Detailarbeit jener Realität Rechnung tragen, welche Datensätze von zwangsläufig unterschiedlichster Dichte und Güte hervorbringt. Analog betonen schon Vahle & Dettmar (1988, 414) in ihrer Kritik an numerischen Methoden der Pflanzensoziologie, es sei wichtiger, notwendiger und werde dem Menschen gerechter, durch „Typenbildung“ und Bildung von „Typenreihen“ aus einer beweglichen und lebendigen inneren Vorstellung heraus „nicht nur das Vegetationsmuster alter Kulturlandschaften zu kopieren, sondern für den Aufbau ganz neuer, dem heutigen Menschen angemessener und lebenswerter Landschaften einen Beitrag zu leisten.“ Zu diesem Ergebnis kommt auch Fischer (1999, 172), der als Ergänzung der zahlreichen bereits vorliegenden Einzeluntersuchungen, die aktuelle Notwendigkeit der Generalisierung und Erarbeitung von Szenarien für

1 Flora-Fauna-Habitat-Richtlinie; Richtlinie 92/43/EWG des Rates zur Erhaltung der natürlichen Lebensräume sowie der wild lebenden Tiere und Pflanzen vom 21.05.1992 (ABl. EG Nr. L 206 S. 7) und den erfolgten Änderungen.

zukünftige Vegetationsentwicklungen betont. Eine Lösung dieser Probleme könne allerdings nicht durch „digitalisierte Wirklichkeitserfassung“ oder Computersimulation erfolgen (Vahle & Dettmar 1988, 414).

## 2.1 Bedeutung von Vegetationsdynamik und insbesondere Sukzession im Naturschutz

Abläufe in der Vegetation und auch in darunter zu subsumierenden Sekundärgesellschaften der Kulturlandschaft sind Sukzessionen unterworfen. Diese Abläufe wurden bereits frühzeitig erkannt und als Gesetzmäßigkeit verstanden, wie es die Rückblicke auf historische Arbeiten bei Pignatti & Ubrizsy-Savoia (1989) und Drury & Nisbet (1973, 333 f.) zeigen.

Bei Heusinger (1831) findet sich ein früher Hinweis, wie in der Kulturlandschaft Sukzession zur Naturlandschaft geschieht:

Noch größern Abbruch thun dem Weidevieh auf den Hutrasen die Ausläufer der Schlehenstauden und Dornhecken, welche nach und nach sich auf Berghutrasen ansiedeln, und welche man meist ungestört fortwachsen läßt. In manchen Ländern ist man so sorglos und gleichgültig gegen den Werth eines Hutrasens, daß man die Morgen Landes zu hunderten mit Wachholderstauden und Feldrosen, Weißdorn-, Schlehen- und Stachelbeerstauden überwachsen läßt, die nicht allein den Platz einnehmen, welche nützliche Hutweidepflanzen einnehmen könnten, sondern überdem die Schafe ihrer Wolle berauben, wenn sie zwischen denselben hingetrieben werden.(...) Diese Art Verwilderung hat für den Landwirth fast gar keinen Nutzen, und ihre Anwesenheit giebt einen solchen Maaßstab ab von der Trägheit, Unwissenheit und Verkehrtheit derjenigen, welchen dergleichen Flächen gehören, und den Wald von solchen Dorngebüsch dulden, die nur erst sehr spät einzelnen Waldbäumen gestatten, sich zu erheben.

Bis heute findet das Wissen um Sukzessionen, trotz ihrer naturgegebenen Konsequenz, kaum Anwendung auf die Vorstellung von Naturschutzgebieten, in denen allzu oft als Schutzziel ein bestimmter *status quo* erhalten werden soll. Die faktisch stattfindenden Abläufe sind aber sehr unterschiedlich in Bezug auf die Vegetationseinheiten und klimatischen Begebenheiten (Drury & Nisbet 1973).

Vegetation ist äußerst dynamisch. Die konkret von den einzelnen Beständen eingeschlagenen Wege der Dynamik werden auf der Individual- und Populationsebene entschieden, und oft fällt die Entscheidung für einen Weg im Zuge einer kurzfristigen Störung (Fischer 1999, 173).

Gerade die Heterogenität dieser Abläufe scheint aber, kurz gesagt, letztendlich ein Motor der Evolution zu sein (vgl. Potthast 1999, 53 ff.). Mitunter wissen wir trotz historischer Erkenntnisse überhaupt nicht, in welche Richtung eine Sukzession ihren Verlauf nehmen wird, vor allem dann, wenn sich anthropogene Störungen zeitlich und räumlich von den historischen – keineswegs nur „nachhaltigen Nutzungen“ (Küster 1998) – unterscheiden. Störungen können in der anthropogenen Entwicklung durchaus in der Absicht zur Erhaltung der Kulturlandschaft in ihrer Dynamik erfolgen. Gleichzeitig sich vollziehende mechanische Veränderungen der Böden sowie Schadstoffeintrag und Düngeeffekte aus der Luft sind mitunter so gravierend, dass das Ergebnis der Sukzession nicht mehr einem als historische Referenz zugrunde liegenden Vorbild entsprechen würde, dessen Renaturierung angestrebt sein könnte.

Diskussionen über das Waldsterben und die dadurch angeregte ökologische Forschung belegen allerdings auch, dass viele „Schäden“ in den nicht standortgerechten Kulturen zu suchen sind (Ellenberg 1995; Küster 1998, 229 f.).

Schreiber (1995, 133) gibt zudem zu bedenken, dass aufgrund mangelhaften Diasporentransports die aktuellen Pflanzengesellschaften sich in ihrem Artengefüge verändert haben. Die den-

noch teilweise hohe Artenvielfalt in der Kulturlandschaft erklärt sich, analog zu der in natürlichen Systemen (vgl. Stabilitäts-Diversitäts-Hypothese bei Connell 1978; Connell & Slayter 1977), durch ein hohes Maß an nebeneinander ablaufenden Sukzessionsereignissen und wiederholten Störungen ihrer Systeme. Störungen tragen zum Erhalt der Dynamik bei und sind damit „Initialpunkt oder Kausalfaktor für Sukzession, Regeneration oder Aufrechterhaltung der Artenvielfalt“ (Potthast 1999, 73). Fischer (1999, 173) betont, „dass sich Pflanzenindividuen oft nur nach bestimmten Störungen des Bestandes zu etablieren vermögen, andererseits aber, sofern einmal etabliert, lange verharren können, auch wenn sich die Umweltbedingungen geändert haben“.

## 2.2 Die Definition der „ökologischen Schäden“ im Umweltgutachten von 1987

Eine der wenigen Definitionen „ökologischer Schäden“ findet sich im Umweltgutachten 1987 (SRU 1987, 460 Rn 1691). Sie hat ihren Platz im Zusammenhang mit der Ökotoxikologie im Kapitel „Umwelt und Gesundheit“ und bildet, nach der Beleuchtung der menschlichen Gesundheit, gewissermaßen ein Anhängsel unter der Überschrift „Grenzwerte zum Schutz anderer Güter“. So heißt es dort:

Als Schäden im ökologischen Sinne werden solche Veränderungen angesehen, die über das natürliche Schwankungsmaß der betroffenen Populationen oder Ökosysteme hinausgehen und sich oft nur über größere Zeiträume manifestieren, sowie Veränderungen, die entweder überhaupt nicht oder oft erst Jahrzehnte nach der toxischen Einwirkung und mit hohem Aufwand rückgängig gemacht werden können.

Das thematische Umfeld dieses Zitats (SRU 1987, 457 ff.; insbesondere Rn. 1679) lässt erkennen, dass hier keineswegs von einem ökozentrischen Umweltschutz ausgegangen werden kann. Die Definition „Ökologischer Schäden“ ist vielmehr anthropozentrisch ausgerichtet. Bereits die Anführung, Schäden „mit hohem Aufwand rückgängig“ zu machen, verstärkt die Annahme, dass für das „Ökologische“ keine griffige Vorstellung vorhanden ist, während „Schäden“ eher – und zwar monetär – fassbar sind, wie es vor allem bei der Bewertung des Immissionsschutzes zum Ausdruck kommt (SRU 1987, 457 Rn 1680):

Tiere, Pflanzen und Sachen können allenfalls vor Gefährdungen, nicht aber vor Benachteiligungen oder Belästigungen geschützt werden. Sie werden auch nur insoweit geschützt, als Menschen durch ihre Zerstörung oder Beschädigung Nachteile erleiden (...). Nur eine erhebliche Beeinträchtigung ist als Schaden anzusehen. Ob die Beeinträchtigung von Tieren, Pflanzen, Sachen erheblich ist, hängt davon ab, ob die Schäden eine nach dem Gebot der gegenseitigen Rücksichtnahme nicht mehr zumutbare Vermögenseinbuße hervorrufen (erheblicher Schaden für die Nachbarschaft) oder ein schutzwürdiges Ökosystem nachhaltig beeinträchtigt wird (erheblicher Schaden für die Allgemeinheit).

## 2.3 Die Definition des Umweltgutachtens von 1987 als Basis für eine Definition „ökologischer Schäden“ im Naturschutz?

Wer versucht, die Definition des SRU (1987) auf den Natur- und Artenschutz hin auszulegen und statt der „toxischen Einwirkung“ gleichsam jede „menschliche Einwirkung“ anzuführen, kann, salopp betrachtet, ganz Europa als „ökologischen Schaden“ einstufen. Die Begründung hierfür liegt darin, dass es hier keine Biotope mehr gibt, die nicht zumindest mittelbar einer Störung durch den Menschen unterworfen sind. Die Vorstellung, es gebe noch letzte Reste von vom Menschen völlig unberührter Natur, ist irrig, denn selbst Moore, die Meeresküste und das

Hochgebirge sind beeinflusst – und sei es auch nur mittelbar durch Klimaveränderungen. Die floristisch-faunistische, vor allem aber auch die pedologische und mikrobielle Zusammensetzung ist häufig so nachhaltig gestört, dass die Ausgestaltung analog zu einer Ausgestaltung zu einem beliebigen Zeitpunkt wenigstens der letzten 10.000 Jahre nicht mehr möglich und – wie diskutiert werden wird – auch nicht nötig erscheint. Unmöglich scheint dies schon, weil die Bodengesehe eines mindestens ebenso langen Zeitraumes bedürfte, die parallele (Co-) Evolution ihrer Bewohner indes eine andere wäre (Drury & Nisbet 1973; Ellenberg 1996). Wie Weish (1992) zu Recht bemerkt, „ist diese Auffassung zwar im Prinzip richtig, aber eher ein Gemeinplatz.“ Zweckpessimismus dieser Art diene häufig dazu, Naturschutzbestrebungen zu schwächen.

Das SRU-Gutachten (1987) fußt unter anderem auf der richtigen Annahme, dass es natürliche Schwankungen gibt, deren „natürliche[s] Schwankungsmaß“ unbekannt ist, weil sie für je einzelne Gesellschaften oder Populationen, die zudem vernetzt sind, verschieden ausfallen können. Das abstrakte Wissen um Dynamik und oszillierende Systeme in der Natur ist zwar eine bedeutsame Basisinformation für Politik und Gesetzgebung. Problematisch ist dabei aber, dass die naturwissenschaftliche Erforschung jener Dynamik stets wünschenswert, aber nicht zwangsläufig möglich oder hilfreich ist, da keine verlässliche Vorstellung von den stets unbestimmten Zeitfaktoren besteht. So ist zum Beispiel auch der Zeitpunkt ungewiss, zu dem eine Pflanzengesellschaft in eine andere durch Sukzession übergehen könnte. Unbefriedigend bleibt vor allem aber die Diskrepanz beim Versuch der Verquickung des ökozentrischen Ansatzes mit dem anthropozentrischen. Der mit der Pflege beschäftigte Mensch betreibt mit „hohem Aufwand“ die Beseitigung der durch menschliche Einwirkung entstandenen Schäden. Wann aber kann der Mensch die „Natur“ wirklich für sich belassen, weil er der Auffassung ist, dass sie nun einem von Menschen entkoppelten Stadium entspricht, und wann muss oder wird er wieder eingreifen, weil die Dynamik es zu einem späteren Zeitpunkt verlangt, oder die wissenschaftliche Auffassung oder die Nutzungsvorstellung wieder wechselt?

Anhand dieser Frage wird deutlich, dass oben genannte Definition nicht eins zu eins für den Natur- und Artenschutz übernommen werden kann. Jede/r ökologisch Versierte würde einzelne Sukzessionsstadien je verschieden bewerten. Wichtiger noch als eine strenge und alleingültige Definition von „ökologischen Schäden“ zu formulieren, ist daher die Diskussion über dieselben und die Erarbeitung der rechtlichen und praktischen Konsequenzen für den Naturschutz.

## 2.4 „Ökologische Schäden“ in der Naturlandschaft

Übernimmt man den Definitionsvorschlag, so ließe sich meines Erachtens an eine Einteilung der zu schützenden Güter in Naturlandschaft einerseits und Kulturlandschaft andererseits denken. Zumindest für eine Naturlandschaft könnte dann jeglicher Eingriff in eine natürliche Dynamik im Sinne eines streng ökozentrischen Ansatzes als „ökologischer Schaden“ bezeichnet werden, analog der Diskussion um einen Prozessschutz, der für „unberührte“ Natur (in der Praxis zumeist noch auf Kernzonen eines Nationalparks angewandt) als Schutzziel immer häufiger empfohlen wird (Scherzinger 1990; kritisch hierzu und zum „Naturnähe“-Begriff in diesem Zusammenhang Potthast 2000, 72 f.). Eine solche Definition von „ökologischen Schäden“ für die Naturlandschaft kann aus genannten Gründen in Mitteleuropa nur noch für wenige und kleine Areale gelten, und zwar lediglich für Felsgesellschaften oder manche „Urwiesen“ der Alpen,

schon nicht mehr für die größeren Einheiten von Nationalparks, die letztlich in großen Teilen unserer Kulturlandschaft zugehören. Der Schutz der wenigen letzten Naturlandschaften könnte gemäß der vorgeschlagenen Einteilung und unter der Zielsetzung eines echten Prozessschutzes dem der Kulturlandschaften vorgeordnet werden. Dies könnte die Durchsetzbarkeit und Akzeptanz bestimmter Maßnahmen, wie von Eser & Potthast (1999, 27-32) gefordert, erhöhen. Zu kritisieren bleibt, dass der Prozessschutz oftmals sehr unterschiedlich verstanden und ausgelegt wird (Potthast 2000, 72).

## 2.5 Naturlandschaft versus Kulturlandschaft – ist eine Definition „ökologischer Schäden“ für die Kulturlandschaft möglich?

Da auch die Kulturlandschaft in weiten Teilen als schützenswert gilt, und sie in der Gesellschaft als vertraute und teilweise romantisch verklärte „Natur“ mit einem unverkennbaren Artenreichtum („Biodiversität“) betrachtet und akzeptiert wird, besteht die Wunschvorstellung einer Rückkehr zu homogeneren postglazialen Waldgesellschaften sowohl praktisch als auch theoretisch nicht mehr. Eine Definition „ökologischer Schäden“ muss sich zwingend von einem nur als störend empfundenen anthropogenen Einfluss entfernen. Kulturlandschaften, die der Vorgabe einer Vermittlung mit Naturlandschaften im Hinblick auf Vegetationstypus oder Arteninventar noch gerecht werden können, sollten deshalb, in Anlehnung an eine im Rahmen der Tagung geäußerte Idee, auch vom Begriffskonstrukt des „ökologischen Schadens“ befreit werden. So würde auch die positive Bewertung durch den Menschen evident, der für den Erhalt dieses Potenzials keinen negativ belegten Begriff verwenden sollte. Ein „Kulturlandschaftsschutz“, wie er von Weish (1992) gefordert, aber noch nicht näher ausgeführt wird, müsste sich dieses wichtigen Themas gesondert annehmen und eigene Schadensdefinitionen entwerfen. Er müsste als eine Art Überbau des Arten- und Naturschutzes fungieren, da mit deren klassischer Ausrichtung allein aufgrund der Rote-Listen-Problematik, wie noch zu erläutern ist, keine befriedigenden Lösungen mehr zu erwarten sind. Ein Vertreter dieser Forderung sei im Folgenden zitiert:

Nicht Naturschutz, sondern die Erhaltung der gewachsenen Identität der Landschaft sichert den Bestand dieser Lebensräume (Küster 1998, 237).

Schutz verdient hier weniger die ‚Natur‘ als die in Dynamik gewachsene Identität von Landschaften mit ihren charakteristischen Tier- und Pflanzenarten (Küster 1998, 242).

Diese Landschaften verdanken ihre Existenz dabei zum Teil massivsten Eingriffen, weshalb Küster (1998, 237) vor Missdeutungen des Wortes „nachhaltig“ warnt. Frühe Landwirtschaft sei bereits intensiv und nicht im Sinne eines so genannten biologischen Landbaus „nachhaltig“ gewesen. Nur zuweilen sei extensiv gewirtschaftet worden, entscheidend war aber vor allem „ein großräumiger Wechsel in der Nutzungsintensität“ (Mühlenberg & Slowik 1997, 218). So kann es bezüglich der Kulturlandschaft keinen Zweifel mehr geben, dass eine Nutzung stattfinden muss; das problematische „Wie“ bedarf der intensiven Erörterung.

Die zeitliche Dynamik der Landschaft, d.h. Nutzungswechsel und Nutzungskontinuität, sollte integraler Bestandteil von Nutzungskonzepten sein. (...) [D]ie durch Nutzungsdynamik erzeugten zeitlichen Muster einer Landschaft [spielen] für das Überleben von Populationen häufig eine wichtigere Rolle als alleine das räumliche Muster. Die zeitlichen Muster in der Landschaft tragen ebenfalls zur Erhöhung der Gesamtvielfalt bei (Purtauf et al. 2002, 214).

Vahle (2001) geht gar so weit, ein eigenständiges Konzept einer „Potentiellen Kulturlandschafts-Vegetation (PKV)“ zu entwickeln, die er wie folgt definiert:

Die Potentielle Kulturlandschafts-Vegetation (PKV) ist (...) diejenige Vegetation, die sich in einem Landschaftsraum gerade durch die qualitativ unterschiedlichen Tätigkeiten des Menschen entwickelt. Dabei werden vor allem diejenigen Tätigkeiten ins Auge gefasst, die die Vielfalt von Vegetationstypen erhöhen (a.a.O., 273).

[Es] sollte nach Wegen gesucht werden, denjenigen ‚Faktor‘ einzubeziehen, der die arten- und biotopreiche Kulturlandschaft hervorgebracht hat: den Menschen. Denn gerade die Tätigkeiten des Menschen in der historischen Kulturlandschaft wirkten sich differenzierend und bereichernd auf Vegetation und Landschaft aus (...), was die Voraussetzung zur Entstehung oder zumindest starken Ausdehnung vieler gerade im heutigen Sinn besonders schutzwürdiger Biotope war (a.a.O., 274).

Diese PKV sei ein positiv belegter Begriff, der als anstrebenswert gelte und sich von der als sprachlich negativ besetzten „Ersatzgesellschaft“ abhebe, dem traditionell positiv belegten Begriff der PNV ebenbürtig. Da Vahle die sich selbst überlassenen Naturschutzgebiete als chancenlos betrachtet, ein hoher Pflegeaufwand nicht finanzierbar sei, und er eine Museumslandschaft als nicht zeitgemäß erachtet, fordert er die Entwicklung von Leitbildern für einen „Naturschutz auf der gesamten Fläche“. Der menschliche Einfluss – als ein „natürlicher Faktor“ anzusehen – stehe im günstigen Fall für eine „hochkomplexe Ordnung“, die einen „traditionellen Kulturgradienten“ nachzeichnet, einer dörflichen Kultur, deren historische Beschreibung leider nur fragmentarisch vorliege (a.a.O., 274 ff.).

Solche Ansätze zum Kulturlandschaftsschutz konnten sich umweltrechtlich noch nicht durchsetzen. Die Einteilung in Landschafts- und Naturschutzgebiete sowie in Naturparks, welche durch die Freizeit- und Tourismusbranche zum Naturerlebnis geprägt werden (wie z.T. leider auch die Nationalparks), hat historische Ursprünge. Sie ist nur mit der Entstehung des Bundesnaturschutzgesetzes (BNatSchG) zu verstehen, ein biologischer Sinn ergibt sich daraus nicht. Die Novelle des BNatSchG enthält zwar ein „Entwicklungsgebot“, subsumiert aber die wertvolle Kulturlandschaft unter den Naturschutzgebieten, und bleibt so im Rahmen einer traditionellen Schutzgebietsdefinition.

## 2.6 Zwischenfazit

Eine Definition mit dem Anspruch auf Allgemeingültigkeit lässt sich für den Begriff des „ökologischen Schadens“ meines Erachtens nicht verwirklichen. Das zentrale Problem scheint dabei die Interpretation des Begriffs der „Störung“ zu sein, die je nach deren Intensität sich positiv oder negativ auf eine Dynamik auswirken kann, deren räumlich/zeitliche Dimension wiederum unklar bleibt. Dabei spielt es zunächst keine Rolle, ob es sich um Naturlandschaft oder Kulturlandschaft handelt.

Die Vielfalt der dynamischen Prozesse in der Vegetationsentwicklung, die Vielfalt der Sukzessionen, deren Stadien nur teilweise vom Menschen angestrebt oder für wertvoll erachtet werden, stellen die Momentaufnahmen der Lebewelt dar, die letztendlich geschützt, und denen Entwicklungsmöglichkeiten zu- oder abgesprochen werden sollen. Letztlich wird also ein „ökologischer Schaden“ auf die Bewertung eines bestimmten Sukzessionsstadiums fokussiert, d. h. die Relevanz einer Veränderung von dessen Dynamik, Ablauf und Richtung wird bewertet.

Zentrale Fragen, was „ökologische Schäden“ in der Natur- und Kulturlandschaft seien, sind also einerseits die nach dem Ablauf einer Sukzession, andererseits aber die nach der Bewertung der

erfolgenden Störungen (inklusive Biotoppflege!) zur Aufrechterhaltung von Sukzessionen und Dynamik:

- Kann ein Schutz der Dynamik, die Ermöglichung der Sukzession wenigstens in den „Naturschutzgebieten“ erfolgen? Darf dort anthropogen durch Störungen Einfluss genommen werden?
- Ist das Erzielen eines „status quo“ oder die Weiterentwicklung von Biotopen sinnvoll und machbar (Unterbrechung oder Steuerung der Sukzession)?

Diese Fragen sollen im Folgenden anhand von Fallbeispielen aus Naturschutzgebieten erläutert werden. Ein Exkurs zu Neophyten soll darüber hinaus auf eine mögliche „ökologische Schädigung“ hinweisen.

Des Weiteren sollen Methoden der Effizienzkontrolle pflanzensoziologischer Erfassung und der Molekularbiologie kritisch hinterfragt werden. Wenn – zunächst neutral formuliert – aus naturwissenschaftlicher Sicht Veränderungen nicht überzeugend als problematisch aufgezeigt werden könnten, bliebe eine Bewertung, was ein Schaden sein könnte, vollkommen abstrakt.

- Sind also Veränderungen überhaupt qualitativ und quantitativ als „Problem“ erfassbar?

Abschließend soll die rechtliche Komponente erläutert werden:

- Erscheinen die rechtlichen Rahmenbedingungen sinnvoll und ausreichend?

### 3 Fallbeispiele

#### 3.1 Der Bergrutsch am Hirschkopf bei Mössingen – Schaden als Chance für den Neubeginn!

Die üblicherweise nur im Zentimetermaßstab zu verfolgende Rückverlagerung des Traufs (Kante am Steilabfall) der Schwäbischen Alb wurde 1983 durch den größten Bergsturz des letzten Jahrhunderts nach einem starken Regenfall massiv beschleunigt. Da solche Ereignisse geologisch nicht unüblich sind, erscheint es mir angebracht, sie als natürlich auftretenden „ökologischen Schaden“ zu betrachten, der der Natur gleichwohl die Chance eröffnet, dieses Areal (mangels Nutzbarkeit) so einer Sukzession zu überlassen, wie sie „natürlicherweise“ eintreten sollte. Nun ist aber selbst bei einem flächenmäßig derartig großen Naturereignis der anthropogene Einfluss unübersehbar. So wurde die Abrisskante durch die Anlage von Forstwegen, die das Eindringen der Wassermassen in den Weißjura ermöglichten, gewissermaßen vorbestimmt.

Nachdem der Bergrutsch zuerst als rein „ökonomischer Schaden“ eingestuft und überhastete Aufräumaktionen durchgeführt worden waren, erfolgte eine Unterschutzstellung erst sehr spät. Der weitestgehend naturnahe Sukzessionsprozess im Umfeld der Forste der Schwäbischen Alb kann erst nach diesem erneuten anthropogenen Eingriff wissenschaftlich verfolgt werden (Schumacher 1997). Die Untersuchungen zeigen das Werden, aber auch das Vergehen von Pflanzengesellschaften. Im Sinne eines Prozessschutzes wäre von Interesse, die Entwicklung vollkommen ungestört ablaufen zu lassen. Dagegen steht aber der massive Druck des Wildes (insbesondere riesiger gefütterter und kaum bejagter Wildschweinpopulationen).



**Zwischenfazit:** Eine durch den Menschen wirklich ungestörte Rückentwicklung ist aufgrund äußerer Einflüsse in Mitteleuropa so gut wie unmöglich. Weitere Pflegemaßnahmen z.B. in Form von Wilddezimierungen sind eigentlich stets nötig, doch herrscht bezüglich der tolerierbaren („natürlichen“) Bestandsdichte Unsicherheit. Ein „ökologischer Schaden“ träte dann ein, wenn dem Werden und Vergehen einzelner Sukzessionsstadien entgegengewirkt, die Dynamik anthropogen gestört würde. Das Naturschutzgebiet „Hirschkopf“ ist von wissenschaftlichem Interesse für ein nur beinahe ohne anthropogene Störungen betroffenes Areal.

### 3.2 Die „Beurener Heide“ bei Hechingen

Die Nutzung gerodeter Hänge am Albtrauf durch Beweidung entspricht einer jahrhundertealten Tradition und führte zur charakteristischen Ausbildung der vertrauten Kulturlandschaft mit ihrem dem Verbiss trotzendem Wacholdergebüsch. Die Beurener Heide bei Hechingen ist dabei ein unter Orchideenliebhabern sehr geschätztes Naturschutzgebiet.

Nach Schlee (1999) konnten etwa 20 Arten von Orchideen für das Gebiet bestätigt werden. Vereinzelt werden für gewisse Ragwurz-Arten Varietäten angegeben, die ihre Verbreitung in Südeuropa haben, was die Ansalbung durch falsche „Liebhaber“ nahe legt.

Orchideen werden gerne als Zielarten für eine Ausweisung von Naturschutzgebieten herangezogen, da sie meist sehr auffällig sind und als vollständig geschützte Gattung eine große Anzahl Rote Liste-Arten versprechen. Deshalb führen sie bei Naturschützern stets die Inventarlisten an. Dies mag nicht unbedingt von Nachteil sein, wenn es gilt, insgesamt wertvollen Flächen, wie sie Trockenrasen und -säume durchweg aufgrund ihrer hohen Vielfalt an bedrohten Arten darstellen, eine zügige Unterschutzstellung angedeihen zu lassen. Orchideen genießen einen hohen Stellenwert auch außerhalb der Fachwelt und liefern nebenbei eine formale Rechtfertigung für den Schutz unbekannter und seltenerer Arten. Sie führen aber dann zum Problem, wenn Schutzmaßnahmen für einen Biotop einseitig auf diese Arten ausgerichtet sind. Dies gilt vor allem dann, wenn aufgrund der ausbleibenden traditionellen Pflege die Gebiete verbuschen (der ästhetisch das Landschaftsbild prägende Wacholder ist hierbei nur der markanteste Vertreter; in Frage kommen sämtliche Gebüsch- und Waldarten), vergrasen (insbesondere mit *Arrhenatherum elatius*, dem Glatthafer aus den Wirtschaftswiesen) und versaumen (mit Arten des nitrophilen Saumes und nicht etwa nur mit den Spezialisten der Trockensäume). Hierbei zeigt sich, dass die Phänomene der Vergrasung und Versaumung noch immer zu wenig Eingang in die Literatur gefunden haben (abgesehen von den klassischen Verschiebungen zwischen Aufrechter Trespel (*Bromus erectus*) und Fliederzwecke (*Brachypodium pinnatum*) infolge des Wechselspieles von Mahd und Beweidung; vgl. u.a. Bobbink & Willems 1987; Eckert & Jacob 1997; neuerdings auch verstärkt für Pfeifengras (*Molinia*); vgl. Eberle 1995). Diese Unterrepräsentierung erstaunt umso mehr, als sie auch aus historischen Vegetationsaufnahmen bei einer Neubewertung durchaus ablesbar sind. Sie treten aber gegenüber der auffälligeren und durch relativ simples mechanisches Entfernen beseitigbaren Verbuschung kaum in das Blickfeld und bedürfen noch eingehender wissenschaftlicher Erforschung.

Positive Erfahrungen mit einer Pflegebeweidung in einem der größten Orchideen-Vorkommen Niedersachsens belegen zwar einen quantitativen Rückgang einzelner Arten, insgesamt jedoch eine qualitative Bestandssicherung und befriedigende Offenhaltung der Kulturlandschaft, so dass die Sorgen auch für diese Artengruppe eigentlich unbegründet wären (Rieger 1996). Auch

Haarmann & Pretscher (1993, 107) beobachten Fehlentwicklungen speziell in Orchideen-Naturschutzgebieten. So seien diese teilweise zerstört oder sehr stark gefährdet, obschon sie wie „Kleinodien oder Heiligtümer der Natur“ betrachtet und zumindest ein Teil von ihnen „nicht nach objektiv biologischer oder ökologischer Notwendigkeit, sondern aus subjektiv getönten Vorstellungen über Seltenheit, Schönheit oder Gefährdung ausgewiesen“ würden. Neuansiedlungen von Orchideen können jedoch gerade an den gestörtesten, jüngst offengelegten Stellen häufig beobachtet werden. In Beuren kann die spektakulärste Varietät der Bienenragwurz bevorzugt an bereits langjährig existierenden Trampelpfaden gefunden werden.

**Zwischenfazit:** Gerade massive Störungen sind paradoxerweise häufig die letzte Möglichkeit für die im Schutzzweck herausgestellten Arten, um falschen Pflegemaßnahmen zu entgehen. Artenreiche Naturschutzgebiete können gleichwohl einen „ökologischen Schaden“ verdeutlichen, weil ihr Artenreichtum nur auf einer Momentaufnahme des Gesellschaftsumbaues beruht. Phänomene der Vergrasung, Versaumung und Verbuschung aufgrund einheitlicher Pflegemaßnahmen sind, sofern großflächig auftretend, auf Dauer Garanten einer Verarmung der Flora und Fauna. Pflegemaßnahmen müssen so kleinräumig sein wie ihre Vegetationseinheiten und sich an den historischen Vorgaben orientieren. Der dadurch erzielte Artenreichtum ist in seiner Dynamik stabil und beruht hauptsächlich auf Randeffekten und Störungen. Eingriffe sind dann keine „ökologischen Schäden“, weil alle Sukzessionsstadien erhalten werden.

### 3.3 Reliktartenproblematik – Naturschutzgebiet „Hirschauer Berg“ bei Tübingen

Eines der bekanntesten Naturschutzgebiete Baden-Württembergs findet sich bei Tübingen, wo alte aufgelassene Weinberge wärmegetönten Halbtrockenrasengesellschaften gewichen sind. Dort haben deutschlandweit extrem rare pannonische Steppenelemente überdauert (Wollige Fahnenwicke, *Oxytropis pilosa*; Ungarische Platterbse, *Lathyrus pannonicus*), deren Mikroevolution Gegenstand umfangreicher pflanzensoziologisch-molekulargenetischer Untersuchungen ist (Schlee et al. 2003). Es stellt sich die Frage, wie Reliktpflanzen wirksam geschützt werden können, die nur noch wenige Quadratmeter ursprünglich natürlicher Bedingungen in der Kulturlandschaft vorfinden. Sie lassen sich in diesem Fall nur schwerlich pflanzensoziologisch einordnen, da sie Pioniercharakter besitzen und damit auch Ruderalstandorte besiedeln (z.B. außerhalb ihres Hauptbestandes eurasischer Steppen, Bahngleise und Straßenränder im Alpenraum und Südeuropa). Bei der Ungarischen Platterbse stellt sich zudem die Frage, wie sich die Ökotypen orientieren, die für ihre Westausbreitung in Südeuropa einen Habitatwechsel von sehr trocken nach sehr nass vollzogen haben. Molekulare Befunde verdeutlichen, dass sich die Reliktarten in einer geologisch-biogeographisch jungen Phase dabei bereits morphologisch und genetisch so deutlich auseinanderentwickelt haben, dass eine Unterscheidung von Unterarten gegeben ist. Das bedeutet, dass letztlich die Erhaltung jeder Population wichtig ist. Ein Austausch von genetischem Material beispielsweise durch *in situ* Konservierungsmaßnahmen in Botanischen Gärten ist wegen der Hybridisierungswahrscheinlichkeit – sogar mit anderen nicht autochtonen Kultivaren – abzulehnen. Eine Vernetzung der Habitate für die ausbreitungsfähige Wollige Fahnenwicke hingegen wäre für die neuen Bundesländer wünschenswert, und eine Schafbeweidung ist ohnedies für beide Arten das kulturgeschichtlich angestammte und wirkungsvollste Mittel für deren Erhaltung.

**Zwischenfazit:** „Ökologische Schäden“ lassen sich für dieses Naturschutzgebiet dahingehend präzisieren, dass die zunächst den Fortbestand sichernden anthropogenen Einflüsse nicht mehr aufrechterhalten werden und dadurch die „natürliche Dynamik“ schwindet. Diese ist durch die Überwucherung mit mesophilen Saumarten und Neophyten (*Robinia pseudoacacia* aus Nordamerika) stets gefährdet, weshalb der Erhalt der autochtonen Arten betont wurde und zumindest an solchen Reliktstandorten ernst genommen werden muss.

### 3.4 Exkurs – Neophyten

Meines Erachtens sollten zumindest invasive Neophyten generell als „ökologischer Schaden“ betrachtet werden. Gerade diese invasiven Arten nutzen dynamische Systeme aus oder werden durch eine Störung zunächst in ihrer Vermehrung begünstigt (Eser 1999, 164 ff.; Bornkamm 2002 am Beispiel von Schmalblättrigem Greiskraut, *Senecio inaequidens*; Hartmann & Konold 1995 am Beispiel von Nordamerikanischen Goldruten, *Solidago*-Arten).

Unverständlich bleibt mir demgegenüber, warum Haeupler (2000, 119) folgende – unstrittig stattfindenden – biologischen Ereignisse pauschal als „positive Seiten“ betrachtet:

Invasoren bringen wie jeder andere Ankömmling auch, neue genetische Ressourcen, können Hybridisierung, Autoploidisierung (neue Umgebung = neuer Stress), Apomixis, d.h. evolutive Prozesse anregen und somit durchaus zur Erhöhung und/oder Aufrechterhaltung der Cormophytendiversität beitragen.

Unreflektiert ließe sich damit problemlos auch die heftig umstrittene Freisetzung gentechnisch-veränderter Organismen befürworten (für kritische Anmerkungen zu Hybridisierungsvorgängen ganz allgemein vgl. Eser 1999, 194 ff.). Kritisch erscheint mir zudem die Positivbesetzung der sicher quantitativen – letztlich nicht notwendigerweise als qualitativ besser empfundenen – Erhöhung der Diversität an sich. Archäophyten freilich, zumal wenn sie als Kulturpflanzen genutzt werden, durchleb(t)en diese Prozesse ebenso wie die von Haeupler (2000, 121) betonten Anökophyten (Heimatlosen), deren Herkunft unbekannt ist. Jedoch verweist er aus gutem Grund auch auf Invasoren aus der schon längst heimischen Flora, deren Zurückdrängen für Reliktarten oder andere Seltenheiten gegebenenfalls gerechtfertigt sein sollte.

**Zwischenfazit:** Die Aussage „Neophyten sind kein Schaden für die Natur, sondern für die Natur, die wir erhalten wollen“ (Eser 1999, 216) bringt auf den Punkt, dass bislang zwar keine Ausrottung von Arten oder ein endgültiges Erlöschen von Pflanzengesellschaften durch Neophyten dokumentiert werden konnte, gleichwohl negative Auswirkungen attestiert werden, je nach BetrachterIn. Die Definitionen einer „heimischen Art“ und „gebietsfremden Art“ im BNatSchG sind zwar nicht unproblematisch (Herter et al. in Schumacher & Fischer-Hüftle 2003, § 10 Rn 49-55), doch sind m.E. Referenzpunkte einer jeweiligen Artetablierung für den klassischen Naturschutz unabdingbar, der auch bei Etablierung eines Kulturlandschaftsschutzes für bestimmte angeführte Reliktarten auf lange Sicht nicht ganz wegzudenken sein sollte. Die Maßgabe der Kontrolle einer erfolgreichen Wiederbesiedlung (a.a.O., Rn 54) dürfte ohnedies auch für Vertreter einer anderen Meinung von Interesse und akzeptabel sein. Zu Recht verweisen Kratsch & Herter in Schumacher & Fischer-Hüftle (2003, § 41 Rn 14-15) auf die Bedeutung regionaler Sippen und Unterarten, welche andernorts als „gebietsfremde Arten“ gelten müssen. Gregor & Matzke-Hajek (2002) verweisen auch auf den Schutz von Apomikten, also den Erhalt von infraspezifischer Variabilität durch deren Würdigung innerhalb der Roten Listen, die diesen Er-

kenntniszuwachs nicht ausblenden sollten. Schwachpunkt bleibt die Verankerung des Umgangs mit Kulturpflanzen. Deren Schutz ist nicht im BNatSchG verankert (a.a.O., Rn 43), obwohl sie ein unstrittig wichtiger Teil der Kulturlandschaft sind, welche ihrerseits explizit Schutz erfährt (§ 2 Abs. 1 Nr. 14 BNatSchG).

Letztlich lassen sich für alle vorgestellten Naturschutzgebiete Aspekte eines „ökologischen Schadens“ intuitiv leicht finden. Dies hat häufig seine Gründe nicht nur in der praktischen Umsetzung falscher Pflegekonzepte, sondern bereits in der unterschiedlichen Wahrnehmung und theoretischen Entwicklung eines Schutzkonzeptes. Möglicherweise kann im Sinne einer Kulturlandschaftsentwicklung Arten- und Biotopschutz vorgebracht werden, wo Pflegekonzepte scheitern:

Darüber hinaus spricht gegen eine flächenhafte Festschreibung von Pflegemaßnahmen und Nutzungen, dass mehrere Arten und Gesellschaften trotz planmäßiger Pflege verschwinden (...). Stattdessen sind Landnutzungsformen mit einer für den Naturschutz zukunftsweisenden Vielfalt und Dynamik notwendig, die durch Pflegeverordnungen nicht annähernd nachzuahmen sind ... (Vahle 2001, 274).

## 4 Methodische Problematik

### 4.1 Biotoperfassung im Naturschutz

Sollen „ökologische Schäden“ allgemein definiert und belegt werden, so müssen die naturwissenschaftlichen Methoden, die zur Beschreibung derselben dienen, konsequent und konsistent sein. Im Natur- und Landschaftsschutz wird allen Methoden voran auf die Beschreibung der (Pflanzen-)Gesellschaften (Assoziationen etc.) gesetzt und deren Evolution oder Zusammensetzung einst und jetzt verglichen – um dann festzustellen, dass es sich letztendlich immer schon um Übergangsgesellschaften, Basalgemeinschaften oder Rumpfgemeinschaften handelte, die über das letzte Jahrhundert hinweg kartiert wurden, und die häufig keine „reinen“ Assoziationen im Sinne Braun-Blanquets darstellen, obschon sie beispielsweise dem Homogenitätskriterium entsprechen (zur Problematik der pflanzensoziologischen Einheiten vgl. z.B. Jax 2002, 110 ff; Möller 1993). Eine solche starre Einteilung in Pflanzengesellschaften ist höchst problematisch, weil sie den Blick auf die Umbauten, die Sukzession der Pflanzengesellschaften, verschließt. Fehler können hier an mehreren Stellen gemacht werden. *Entweder* die Forschenden ignorieren die als inhomogen empfundenen Übergänge und kartieren nur wenige homogene aber untypische Flächen innerhalb des betreffenden Areals. Dann verschließt sich jedoch die Sicht auf die für den Naturschutz relevanten „Inseln“, die z.T. quantitativ, zumindest aber qualitativ als Initialstadium oder als für erneute Expansion notwendiges Reststadium bedeutsam sind. *Oder* aber alle Flächen werden zwar als homogen kartiert, dann aber bei der syntaxonomischen Zuordnung in offenem Widerspruch zum Geländeeindruck einem künstlichen System von real bereits nicht mehr existenten Pflanzengesellschaften alter (Zürich-Montpellier) Schule einverleibt. Oder aber, und das ist noch fragwürdiger, die Forschenden ergehen sich in Neubeschreibungen von Subvarianten einer Subassoziation — nur um bei deren geringster Fazies-Verschiebung (erkennbar bei einer späteren Neukartierung) eine dramatische Gesellschaftsveränderung für den Naturschutz zu attestieren. Dengler & Berg (2000) fassen die Probleme bei der Klassifikation von Pflanzengesellschaften in exzellenter Weise zusammen. Sie verweisen aber auch auf die Schwierigkeiten alternativer deduktiver Methoden, deren Benennung von Gesellschaften trotz der Zusammenstellung wichtigster Gesellschaftselemente wenig griffig bleibt und sich damit

kaum für den Naturschutz mit seinem Schutzkatalog und Roten Listen eignet. Allerdings sind es auch diese Listen selbst, die, notgedrungen nur einen Ausschnitt präsentierend, entweder als zu grober Biotoptypenkatalog (Riecken et al. 1994) oder als zu starres und schwerlich abbildbares Syntaxonomie-Konstrukt (Rennwald 2000) empfunden werden. Blab in Riecken et al. (1994, 9 f.) mahnt daher:

Biotope sind immer Bestandteil der jeweiligen Landschaft und ihrer kulturhistorischen Entwicklung, außerdem stellen sie nur einen Teil der Gesamtheit eines Ökosystems dar und können somit im Naturhaushalt bestehende Funktionszusammenhänge nur partiell abbilden. Ferner sind Lebensräume stets ‚Individuen‘ mit ganz spezifischen Eigenschaften, entsprechend muss das Naturschutzhandeln darauf abzielen, auch die gesamte ökologische Bandbreite von Biotopen desselben Typs zu sichern.

Auch Riecken et al. (1994, 22) verweisen auf die hohe Subjektivität solcher Kataloge:

Die einzuordnenden und zu bewertenden Objekte sind somit Bestandteile eines dynamischen Raum-Zeit-Systems, in dem viele Bestände mehr oder weniger langlebige Übergangssituationen repräsentieren und sich häufig einer konkreten Einordnung entziehen (...). Gleichzeitig unterscheiden sich einzelne Flächen eines Biotoptyps schon aufgrund ihrer unterschiedlichen historischen Entwicklung fast immer bei genauer Analyse ihres Arteninventars und ihrer konkreten Ausprägung. Hieraus resultiert eine begrenzte Anwendbarkeit dieses Instruments in der praktischen Naturschutzarbeit, wenn es darum geht, dynamische Prozesse in der Landschaft zu beschreiben und zu beurteilen. Entsprechend lässt sich auch bei durch Sukzession ineinander übergehenden gefährdeten Biotoptypen aus der Gefährdungseinstufung keine relative Schutzpriorität unmittelbar herleiten. Hierzu bedarf es in jedem Fall der Festlegung regionaler Leitbilder des Naturschutzes (...).

Von Schlee (1999) und Schlee et al. (2003) konnte gezeigt werden, dass die Kartierungsmethode nach Braun-Blanquet an sich noch immer durchaus ihre Berechtigung hat, aber dass in der Auswertung wichtige Veränderungen bei einer Ausrichtung auf naturschützerische Belange vorgenommen werden sollten. Dies geschieht gerade nicht dadurch, dass die pflanzensoziologischen Tabellen auseinandergerissen werden, um syntaxonomisch sauber Assoziationen auszuscheiden; vielmehr werden Aufnahmen zusammengeführt, um die relevanten Übergänge hervortreten zu lassen, was inzwischen mit Hilfe des Computers forciert werden kann (z.B. Datenbanken nach Subal 1997). Die Übergänge gewähren überhaupt erst einen Eindruck von der ökologischen Zusammensetzung und den Umbauten der Biotope und lassen die wesentlichen Elemente der Habitate erkennen. Überlappungen (und daher Mehrfachtabellen) sind dabei nicht ausgeschlossen. Ohne diese Gesamtschau und den eventuell möglichen Vergleich mit historischen Aufnahmen haben wir kein vollständiges Bild von der Vegetation vor der Industrialisierung und Technisierung und der rasanten Nachkriegsentwicklung – und müssten im Naturschutz selbst für die jüngsten Restaurationen von irrigen Voraussetzungen ausgehen.

Synoptische Tabellen, wie sie Korneck et al. (1993) veröffentlichten, zeigen trotz ihrer komprimierten Zusammenschau der Aufnahmen ein hohes Maß dieser Übergänge, wenn man sich auf die hohen Stetigkeiten sogenannter „Begleiter“ konzentriert, die beispielsweise für die Trockenrasen einen enorm hohen Prozentwert an Saumarten aufweisen. Damit wird deutlich, wie sehr die von diesen Autoren beschriebenen Pflanzengesellschaften insbesondere von der Nutzungsweise abhängig sind. Auch Kuhn (1937) bietet für die Region der im Abschnitt 3 aufgeführten Fallbeispiele hervorragende historische Vergleiche mit eng auf die (damalige) kulturelle Nutzung ausgelegten Belegaufnahmen. Pflanzengesellschaften haben sich immer schon mehr oder weniger vermischt und im Laufe der Zeit gewandelt, weshalb neue floristische Elemente ein- bzw. abwandern konnten. Diesen historisch wertvollen Tabellen, die teilweise von den Autoren als „ranglose Gesellschaften“ bewusst nur grob skizziert wurden, heute Individualbeschreibungen

gen einzelner Aspektkartierungen mit einer angesalbten Orchidee entgegenzusetzen, wird dem Naturschutz daher auf Dauer abträglich sein. Es sind die großen ökologischen Fragestellungen der Nutzung und des damit verbundenen Umbaus im großen Stil aufgrund der genannten Phänomene der Verbuschung, Vergrasung und Versaumung, welche die Veränderungen im Vergleich zu den historischen Aufnahmen evident werden lassen. Ihre Entstehung war ein stets wechselvolles Pendeln zwischen Beweidung, Mahd und Beackerung, weshalb sich die Kompendien hier besonders schwer tun (vgl. Rennwald 1999, 335; Anm. 519).

Die neuerliche Untersuchung an der „Beurener Heide“ (Schlee 1999) zeigt beispielsweise, dass durch den Besucherstrom einige Zielarten wieder verschwunden sind (einzige Bestände einer seltenen Orchideen-Art) – Gebiete dieser Art bedürfen auch eines Schutzes vor der Öffentlichkeit.

Wenigstens für die Zukunft sollte daher die moderne Pflanzensoziologie mit Hilfe von Dauerbeobachtungsflächen Vergleichbarkeit und Erfolgskontrolle garantieren. Kosten und Personalintensität setzen hierbei jedoch schnell Grenzen. So bewähren sich die Probestellen selten als repräsentativer typischer Ausschnitt. Der hohe Zeitaufwand für feine Schätzskaalen wie jener nach Londo sind nach meiner Erfahrung (vgl. Schlee 1999) oft nicht notwendig. Auch bei Kaiser et al. (1998, 58) ist ersichtlich, dass sich Fehler bei den Aufnahmen in Gewichtung zu den Auswirkungen für die Braun-Blanquet Skala in etwa die Waage halten, wie überhaupt Witterungseinflüsse und Kartierungserfahrung für die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse aus Dauerbeobachtungsflächen die größte Unsicherheit bergen (Quinger 1994, 121).

Behörden können also schwerlich den Erfolg messen. Ein bloßes Durchzählen der Pflanzen, das eine höhere Zahl an Rote Liste-Arten und Biotopen erweisen mag, kann durchaus zu einer kurzfristigen Bestätigung des Schutzzieles führen. Jedoch ist ein Umbau der Pflanzengesellschaften, der möglicherweise gar nicht gewünscht ist, ebenfalls begleitet von einem vorübergehenden Anstieg der Artenvielfalt, der dann jedoch zugunsten von „Allerweltsarten“ auch wieder abfällt. Diese setzen sich dann hartnäckig fest und erlauben keine Wiederbesiedlung der Flächen durch bedrohlichere Arten. So stellt auch Blab in Riecken et al. (1994, 9) ernüchtert fest:

Die Bilanzierung des Umfanges der Gefährdung zeigt dabei, dass nahezu alle schutzwürdigen Biotoptypen in Deutschland gefährdet sind (rd. 92%). Besonders alarmierend ist darüber hinaus, dass die kaum oder nicht regenerierbaren Lebensraumtypen von dieser Entwicklung am stärksten betroffen sind, während der überwiegende Anteil der aktuell nicht oder gering(er) gefährdeten Typen über eine vergleichsweise höhere Regenerationsfähigkeit verfügt.

Festzustellen bleibt, dass der „ökologische Schaden“, den man durch solch umstrittene Methoden ermittelt hat, allzu leicht zum argumentativen Spielball der Interessenvertreter wird. Dies geschieht umso leichter, als noch ein erhebliches Defizit selbst im Bereich der Grundlagenforschung (Reich 1994, 104 f.) und auch in der Beurteilung der ablaufenden Prozesse gerade im Hinblick auf die Wechselwirkungen mit der Fauna (Blab & Völkl 1994, 296) auszumachen ist. Nach Oertel (1994, 181) seien Effizienzkontrollen letztlich so vielfältig anzugehen wie die Biotope oder Vegetationseinheiten selbst. Auch für die schon angeführte PKV sieht Vahle (2001, 284 f.) das Problem der Vegetationserfassung in der „ausgeräumte[n] Landschaft“ als schwieriges, selbst kaum über Sigmäten (Vegetationskomplexe) und nur im historischen Kontext zum Inventar der Dörfer zu lösendes Problem an.

## 4.2 Molekularbiologische Methodik

Molekulare Detailuntersuchungen sind extrem selten vorzufinden. Ein diffuses Wissen, dass sich Arten differenzieren, weil dies evolutiv stets gegeben sein kann, und das Wissen, dass auch einzelne Allele verschwinden können, verleitet viele Naturschützer zu der Vorstellung, man müsse Biotope vernetzen oder gar eine *ex situ*-Erhaltung einzelner Raritäten forcieren, um ja keine genetische Information zu verlieren. Dabei verkommt die Biodiversität, wie Potthast (1999, 143 f.) befindet, zu einem Schlagwort, und er konstatiert: „Das Fehlen eines theoretischen Konzepts zeigt sich in der eher lexikalisch aufzählenden Liste all dessen, was bio-divers ist – schlichtweg alles. Eine Untersuchung der Kausalzusammenhänge darf aus pragmatischen Gründen aktueller Bedrohung noch zurückstehen“.

Gut gemeinte Ansätze des durch die Rio-Konvention ermutigten Naturschutzes lassen schnell vergessen, dass einzelne Arten offenkundig eine Strategie verfolgen, die kleine Populationen durchaus stabil zu erhalten vermag. Nur beispielsweise über den Herbarbefund nachweislich rekonstruierbare Populationen sollten einem Verbund unterstellt werden. Ein ganz extremer Fall von anthropogener Beeinflussung findet sich bei Travis et al. (1996) für eine Tragant-Art (*Astragalus*) am Grand Canyon. Obwohl die Datenlage aufgrund der Methodik nicht überragend gut ist, sondern lediglich ein unbekannter Ausschnitt aus dem Genom der Pflanzen verschiedene Amplifikate für die zu unterscheidenden Populationen liefert (AFLP = Amplified Fragment Length Polymorphism), wie dies gleichermaßen durch einen Pilz oder anderen Schädling auf dem Blattmaterial verursacht werden könnte (Bachmann 1994), wird hier bereits der Anspruch erhoben, diese mutmaßlich verschiedenen Genotypen oder Allele schützen zu müssen. Damit wird jedoch der Schutz der „Biodiversität“ zu einem „Allelschutz“ atomisiert. Tatsächlich scheint die Strategie bei der Gattung *Astragalus*, immerhin mit rund 2000 Arten eine der größten des Pflanzenreichs, aber offenkundig diejenige zu sein, in einer lebhaften Artbildung zu stecken und vermeintliche Mini-Populationen als Founder-Populationen für eine neue Art zu nutzen (Sanderson & Wojciechowski 1996). Somit ist es fraglich, ob unbedingt die genetische Konsistenz dieser nahe beieinander gelegenen Populationen Ziel des Naturschutzes sein sollte und eine Rettung des selteneren Allels durch Einbringung in die größere Population gerechtfertigt ist. Dann würde zwar das unbekannte Allel in der größeren Population weiterexistieren, aber man hätte eine weitere anthropogen geschaffene Population zu separieren, weil sie selbst eine völlige Neukombination darstellt.

Im Umkehrschluss sollte man generell aber nicht die Gefahr verkennen (Potthast 1999, 214 ff.), vermeintliche oder phänotypisch evident sich unterscheidende Sippen nur auf Grund des letztlich nicht aussagekräftig genug gewählten molekularen Markers als der gängigen und häufigen Sippe angehörig zu verstehen, nur weil wir die Unterschiede (noch) nicht würdigen können. Freilich lassen uns diese tatsächlich großen genetischen Ähnlichkeiten, die bisher ermittelt wurden, aber erkennen, dass unser Artbegriff noch immer ungenau ist, und die Genetik nur ein gewichtiges Merkmal unter vielen für Taxonomen und Systematiker sein kann. Welche genetischen Unterschiede bei der Artbildung zum Tragen kommen, wissen wir in aller Regel nicht. Wir würden sie erst dann herausfinden, wenn wir das gesamte Genom (und dessen Funktion) jeweils von mehreren Individuen einer Population untersucht hätten, was noch Zukunftsmusik ist („Phylogenomics“; Eisen & Fraser 2003). Eine Erfolgskontrolle bei den molekularen Befunden ist somit so gut wie ausgeschlossen, weil die Ressourcen selbst bei Quantensprüngen in der Genetik niemals ausreichen werden, alles nüchtern zu erfassen – und selbst dann nicht die Ent-

scheidung getroffen werden könnte, wie sich welches Allel möglicherweise weiterentwickelt, und welcher als „Datenmüll“ vermeintlich enttarnte Nukleotidabschnitt möglicherweise doch reaktiviert oder anderswo eingebaut wird. Stets aber stünde am Ende die Frage, welche antizipierende Auswahl man treffen müsste – genau dies aber kann niemals das Ziel sein. Da sich Veränderungen, die letztlich zu einer Artbildung führen können, erst mit der Zeit entwickeln und durchsetzen (z.B. durch „concerted evolution“; Dover 1994), muss sich der Forschende ohnedies mit der Retrospektive begnügen und sollte zumindest bei Wildpflanzen nicht die Rolle des Züchters einnehmen.

## 5 Umweltrechtliche Analyse

Für eine ausführliche Darlegung der (Nicht-)Verankerung des Rechtsbegriffs des ökologischen Schadens in nationalen Umweltgesetzen sei auf Brand (in diesem Band) verwiesen. Hier soll lediglich noch die für den Natur- und Artenschutz entscheidende Gesetzeslage vertieft werden.

Bei den Fallbeispielen in Abschnitt 3 handelt es sich um Naturschutzgebiete, die großteils zu den hochwertigsten Baden-Württembergs gezählt werden, deren Schutz jedoch unbefriedigend verläuft. Es stellt sich daher die Frage, wie der Schutzgebiedsgedanke an sich als eines der wesentlichsten Elemente des klassischen Naturschutzes weiterentwickelt, und wie der in Abschnitt 4 erläuterten methodischen Problematik der Erfassung von „ökologischen Schäden“ von Seiten des Umweltrechts begegnet werden kann.

Da das SRU-Gutachten von 1987 nicht zuletzt wesentliche Grundlage für die Fortschreibung des Umweltrechts war und ist, soll hier vor allem auf die Spezifitäten des Naturschutzrechtes und Bodenschutzrechtes innerhalb des Umweltrechts eingegangen werden. Insbesondere soll eine geplante Kodifikation des Umweltrechts in Form eines Umweltgesetzbuches (UGB) in diesem Zusammenhang analysiert werden, weil dieses seit dem Umweltbericht der Bundesregierung (1976) stete Bemühungen im Umweltrecht erfährt und dank der angestrebten Fokussierung auf den Naturschutz und Bodenschutz einen Hinweis auf einen einheitlichen ökologischen Schadensbegriff liefern sollte. Allemaal haben Entwürfe zum UGB die Neufassung des BNatSchG (in der Fassung vom 25.03.2002, BGBl. I S. 1193) und das Zustandekommen des BBodSchG (in der Fassung vom 17.03.1998, BGBl. I S. 502, geändert am 09.09.2001, BGBl. I S. 2331) maßgeblich befördert. Im besonderen Teil des Umweltgesetzbuchs (Jarass et al. 1994, 354 ff.; sogen. Professorenentwurf: UGB-BT) wird die Verankerung des Naturschutzes im allgemeinen Teil (Kloepfer et al. 1991; sogen. Professorenentwurf: UGB-AT) nahegelegt, wo er das „Zentrum des Umweltrechts“ bilden sollte. Aktuell (Unabhängige Sachverständigenkommission zum Umweltgesetzbuch beim Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit 1998; sogen. Kommissionsentwurf: UGB-KomE) aber findet sich dieser Teil des Rechts noch immer nicht „vor die Klammer gezogen“ (Kloepfer 1998, 38 ff.), sondern weiterhin nur als Basis zu Beginn des besonderen Teils des UGB-KomE (a.a.O., 200 ff.). Der Entwurf des UGB-BT argumentiert besonders stark unter Berufung auf das SRU-Gutachten 1987 (Jarass et al. 1994, 355) und stellt – somit weiterhin gültig – fest:

Das Naturschutzrecht ist bisher nicht hinreichend über seine historischen Wurzeln als Recht eines besonderen Flächen- oder Artenschutzes hinaus zu einem allgemeinen Recht eines umfassenden Naturhaushaltsschutzes entwickelt worden. Die für den allgemeinen Schutz verfügbaren Instrumente sind daher noch zu wenig entfaltet und noch zu wenig mit den anderen Bereichen des Umweltschutzes abgestimmt.



Diese Fixierung auf den Naturhaushalt und die Ökologie ist von Seiten des Naturschutzes lange gefordert worden. Die Konzentration auf Flächen- und Artenschutz, der kohärenter ausfallen müsste und viel zu oft noch getrennt voneinander abläuft, findet seine Wurzeln spätestens im Reichsnaturschutzgesetz vom 24.06.1935, für die neuen Bundesländer im Landeskulturgesetz (LKG) der DDR von 1970 (Kloepfer 1991), bis hin zur vertanen Chance der Schaffung eines einheitlichen Naturschutzgesetzes im Zuge des Beitritts der neuen Bundesländer und der stattdessen erfolgten Verschärfung der naturschutzrechtlichen Situation durch das Investitionserleichterungs- und Wohnbaulandgesetz (Jarass et al. 1994, 14). Schon frühzeitig fordert auch Storm (1985) die ökologische Fortentwicklung des Umweltrechts, insbesondere durch Aufnahme des Querschnittsrechts Bodenschutz, am besten realisiert in einem allgemeinen Umweltgesetz. Auch Kloepfer (1998, 53 Rn 59) vermerkt:

Nicht wenige Gesetze, die ursprünglich primär andere Zielsetzungen verfolgen, nehmen allmählich eine ‚ökologische Tönung‘ an (...) Endziel ist eine hinreichende ‚Umweltverträglichkeit‘ der Rechtsordnung im ganzen, womit freilich nicht die Verdrängung anderer Regelungsaufgaben oder eine doktrinaire ‚Ökologisierung‘ des Rechts, wohl aber der weitere Abbau oftmals unbedachter und unnötiger umweltfeindlicher Effekte einzelner Regelungen (...) gemeint ist.

Nun ist die naturwissenschaftliche Ökologie-Forschung allerdings eine Disziplin, die wertfrei agieren sollte. Die Entkopplung von „Ökologie“ und „Schaden“ scheint, wie bereits angeführt, wünschenswert, nicht zuletzt weil der Begriff „Schaden“ eine anthropozentrische Betrachtungsweise impliziert. Auch wenn das Wort „Ökologie“ unbefriedigend und teilweise schlicht falsch verwendet wird, so ist insgesamt doch von einer positiven Auswirkung seines Gebrauchs auszugehen. Dies zeigt sich maßgeblich in den Leitgedanken des UGB-AT (Kloepfer 1991, 13), denn angestrebt wird hier

die rechtliche Verankerung eines medienübergreifenden, ökologischen Ansatzes im Umweltschutz; damit soll der bisherige, primär mediale Ansatz des Umweltschutzes überwunden und eine, den neueren Entwicklungen in Philosophie und den Naturwissenschaften Rechnung tragende ‚ganzheitliche Betrachtungsweise‘ der Umwelt etabliert werden.

Von der Tendenz her ist es entscheidend, die Konzentration des gültigen Umweltrechts auf einzelne Umweltmedien zu überwinden. Auch der Begriff „ökologischer Schaden“ selbst könnte nur medienübergreifend definiert werden, weshalb man die ökologische Komponente weiter betonen muss; denn die Vernetzung mehrerer Umweltmedien bleibt die Frage der Ökologie. Als die wichtigsten Elemente des Kulturlandschaftsschutzes für die Umsetzung des Natur- und Artenschutzes erscheinen entweder die einzelgesetzlichen oder die in einem UGB zu verwirklichenden Maßgaben der Umweltinformation, des Verbandsklagerechts, der Umweltverträglichkeitsprüfung, des gesetzesunmittelbaren Biotopschutzes (vgl. z.B. Natura 2000; Biotopie können „auch ohne einen spezifischen oder konkret nachweisbaren Beitrag zum Artenschutz Elemente des besonderen Naturhaushalts decken (...)“, Kloepfer et al. 1991, 421) und einer zu entwickelnden Umweltleitplanung gegenüber anderen raumbezogenen Planungen (insbesondere BauGB). Dieser wirkt bislang im BNatSchG (§ 2, Abs. 1, Nr. 14) oder im UGB-KomE (§ 247, Abs. 1, Nr. 5) als schutzbedürftig unter vielen ohne seine zentrale Rolle unterbewertet. Nach der Streichung der Landwirtschaftsklausel im Naturschutzrecht besteht die Notwendigkeit, die Aufgaben einer den Schutzziele dienlichen Land- und Forstwirtschaft klarer zu definieren.

Der nutzende Mensch hat also seine Aufgabe in der Erfüllung der Schutzziele, und schon deshalb ist ein ökozentrischer Ansatz des Gesetzes nicht machbar. Im UGB-KomE findet sich unter

§ 1 Abs. 1: „Zweck des Gesetzbuches ist der Schutz der Umwelt und des Menschen, seiner Gesundheit und seines Wohlbefindens“ (a.a.O., 109), nach Kloepfer (1998, 39) das Eingeständnis, „dass es sich bei den Normen des UGB weithin um technisches Sicherheitsrecht ohne direkten Bezug zum Umweltschutz handelt“. Der Begriff des „ökologischen Schadens“ erscheint folgerichtig dann gebräuchlicher bei der Umwelthaftung und dem Gebot der Beseitigung und Wiedergutmachung ökologischer Schäden, also an der Stelle, wo der handelnde Mensch zur Verantwortung gezogen wird. Dies geschieht jedoch bisher nicht als Legaldefinition im Gesetzesentwurf an sich, sondern ausschließlich in den Begründungen der Kommission (UGB-KomE, 705 ff., § 131). Auch wird festgestellt, dass „ökologische Schäden streng genommen nicht voll ausgleichbar sind“ (UGB-KomE, 898; so bereits Jarass et al. 1994, 405). Eine Erfassung „ökologischer Schäden“ ist in diesem Punkt teilweise dem Zivilrecht entzogen – eine rechtlich kritische Situation, die neuerdings dementsprechend auch negiert wird. Immerhin ist die Ausrichtung des Umweltrechts bis auf wenige Ausnahmen und einschließlich der Staatszielbestimmung Art. 20a Grundgesetz von anthropozentrischer und nicht ökozentrischer Ausrichtung, weshalb ein Schutzanspruch rein öffentlich-rechtlich zu erfolgen hat. Dies gilt jedoch nur dann, wenn die Allgemeinheit betroffen ist (Kloepfer 1994; Wezel 2001, 26 f.). Auch Kokott et al. (2003, 11) sehen die Übertragung von Ansprüchen aus Umweltschäden als schwerwiegendes Problem aufgrund des Bezugs der Haftungsregelung auf Individuen. Als pragmatische Arbeitsdefinition wird von ihnen zunächst ein Oberbegriff gewählt, „der alle Beeinträchtigungen an Naturgütern erfasst – unabhängig von ihrer Zuordnung zu einem Rechtsgutsträger. Erst in einem zweiten Schritt ist dann nach Schädigungsobjekten zu differenzieren.“ Dies geht wie folgt vorstatten:

Umweltschaden (*Umweltschaden im weiteren Sinn*) [Hervorhebung im Original] bezeichnet jede durch eine Umwelteinwirkung herbeigeführte Schädigung an Individualrechtsgütern und jeden ökologischen Schaden.

Ökologischer Schaden (*Umweltschaden im engeren Sinn*) [Hervorhebung im Original] ist jede erhebliche und nachhaltige Beeinträchtigung der Naturgüter, die nicht zugleich einen individuellen Schaden darstellt. Erfasst sind insbesondere Beeinträchtigungen von Luft, Klima, Wasser, Boden, der Tier- und Pflanzenwelt und ihrer Wechselwirkungen. Eine Beeinträchtigung ist insbesondere dann erheblich, wenn sie Bestandteile des Naturhaushaltes betrifft, die einem besonderen öffentlich-rechtlichen Schutz unterliegen. Sie ist nachhaltig, wenn sie nicht voraussichtlich innerhalb eines kurzen Zeitraumes durch natürliche Entwicklungsprozesse ausgeglichen wird. Diesbezüglich sind zur Vermeidung volkswirtschaftlich unsinniger Maßnahmen Erheblichkeitsschwellen festzulegen (de minimis-Regel).

Hier zeigt sich die Hilflosigkeit der Wissenschaft einerseits und des Umweltrechts andererseits (vgl. Wezel 2001), den Begriff „ökologische Schäden“ zu präzisieren und damit dem modernen Umweltrecht ein Hilfsinstrumentarium angedeihen zu lassen, mit dem Sanktionsmöglichkeiten aufgezeigt werden können, die dann der Politik ein ökologisch sinnvollerer Handeln ermöglichen würden. Dies ist ein ernstes Problem und wird die gesellschaftliche Akzeptanz und Notwendigkeit der Beseitigung „ökologischer Schäden“ nicht eben steigern. Wenigstens sollte eine allgemeine Diskussion um diese Problematik aufrechterhalten werden, bis zumindest eine monetäre Einstufung der „ökologischen Schäden“ von der rezenten Gesellschaft angemessen verstanden wird.

Die herrschende Auffassung der Umweltrechtler, dass eine Naturalrestitution als Ausgleich für „ökologische Schäden“ naturwissenschaftlich nicht nachvollziehbar, juristisch jedoch möglich sei, weil der Begriff „Naturalrestitution“ ohnedies nicht den exakt ursprünglichen Zustand, sondern nur einen „ökologisch gleichartigen oder gleichwertigen Zustand“ meint (Wezel 2001, 53 ff.), widerspricht einem tieferen Verständnis der Sukzessionslehre und wird stets weitere Kon-

flikte im Naturschutz schaffen – dann nämlich, wenn die Wiederherstellung von Ausgangszuständen nicht zum Erfolg führt, und durch die Stufenlösung andere Schadensausgleichskonzepte zum Tragen kommen, Ausgleichsflächen ökologisch „aufgewertet“ werden, und damit andere Biotope der Zerstörung preisgegeben sind. Verstärkt wird es dann zu anthropozentrisch kontrovers ausgerichteten Bewertungen von Pflanzengesellschaften und einzelnen Organismen kommen.

Es stellt sich die Frage, ob eine einheitliche Definition für „ökologische Schäden“ zwingend für eine Kodifikation eines UGB ist, und ob sie überhaupt über die Begründung hinaus in den Gesetzestext aufgenommen wird. Zu erwarten wäre dann im positiven Falle ein definitorischer Schwerpunkt auf der Umwelthaftung – einem rein anthropozentrischen Gesichtspunkt. Eine Ansammlung mehrerer Definitionen, wie sie m.E. für die Aspekte des Naturschutzes allein schon gefunden werden kann, verbietet sich bei der Umsetzung in geltendes Recht durch die juristische Maxime des Zirkelverbots und des Verbots der Mehrfachdefinition in der Gesetzgebungstechnik (Kloepfer et al. 1991, 114).

## 6 Fazit

Es ist meines Erachtens nicht möglich, den Begriff „ökologischer Schaden“ so zu definieren, dass er im Naturschutz allgemein angewandt werden kann. Intuitiv kann aber aus praktischen Erwägungen heraus für einzelne Elemente des Arten- und Biotopschutzes ein „ökologischer Schaden“ dann attestiert werden, wenn methodisch weitgehend sicher eine Störung von Dynamik oder Sukzessionsabläufen in dokumentierbaren Raum- und Zeitdimensionen auszumachen ist.

Die in Kapitel 4 erfolgte Methodenkritik mündet letztlich in einer Unsicherheit. So soll ein Ausbau des Naturschutzgedankens auch auf Ereignisse ausgedehnt werden, die nicht absehbar sind. Im Sinne eines Prozessschutzes sollten alle Vorgänge eines dynamischen Systems abgepuffert werden können, ohne dass eine spezielle Anpassung durch Mensch oder Natur im einzelnen vorzunehmen wäre (Scherzinger 1990; Potthast 2000). Ob dies gelingt, oder ob allein die Deutung, was als gelungen gelten darf, stimmig ist, entscheidet dann auch darüber, ob nun ein „ökologischer Schaden“ vorliegt oder nicht. Grundsätzlich steht und fällt die Diskussion um den „ökologischen Schaden“ mit einer (meist noch zu findenden) naturschützerischen Zielsetzung. Deren Erreichen oder Verfehlen stellt (subjektiv) einen „ökologischen Schaden“ dar. Die Argumentation läuft analog der des Prozessschutzes.

Der Schutz der Natur bezieht sich mithin auf natürliche *Prozesse* und darüber hinaus auf ein Potential für *zukünftige* Veränderung unter der Prämisse des Natürlichen (Potthast 2000, 69 f.; Hervorhebungen im Original).

(...) Kriterien zur differenzierten Analyse anthropogener Systeme (...) sollten sich weder instrumentell noch moralisch normativ an einem letztlich obsoleten ‚Naturzustand‘ orientieren, sondern an der Prozesshaftigkeit der Wechselwirkungen zwischen Menschen und nichtmenschlichen Bestandteilen ökologischer Systeme, in denen sich menschliche Zwecksetzungen und ökologisches Funktionieren mitnichten per se ausschließen (Potthast 2000, 79).

Daraus folgt, dass der anthropozentrische und der ökozentrische Ansatz auf dieser Ebene der Wechselwirkungen nicht mehr sauber trennbar sind.

Das unter Punkt 5 abgehandelte Naturschutzrecht mit seinem ambivalenten Verhältnis zwischen anthropozentrischem und dezent-ökozentrischem Ansatz scheitert aus dem gleichen Grund, und

so ist auch von der juristischen Warte aus eine Definition des „ökologischen Schadens“ noch nicht einheitlich.

Unter Punkt 3 wurde an ausgewählten Naturschutzgebieten das Versagen von Pflegemaßnahmen dargelegt. Der Zustand der Naturschutzgebiete gibt allgemein großen Anlass zur Sorge (Haarmann & Pretscher 1993, 253ff). Davon ausgehend, dass 10% Vorrangflächen für den Naturschutz in einem Biotopverbundsystem (BNatSchG; Jarass 1994, 13 f.) geschaffen werden sollen, deren Perspektive sich dann, angesichts gar keiner, nicht ausreichender oder sogar falscher Pflege verschlechtern und keineswegs einem Entwicklungsgebot nachkommen würde, lässt sich befürchten, dass der juristisch erzielte verhalten-ökozentrische Ansatz im Gerangel um richtige Durchführungen sein Ziel nicht findet und letztlich zu einer Verschlechterung der ohnedies ernstesten Situation führt. Mit der Sicherstellung für den Naturschutz allein ist es nicht getan. Die Sicherstellung vor Verbauung oder vor der Beanspruchung durch andere raumbezogene Leitplanungen ist zwar vorrangiges Gebot, denn hier entstünde der eigentliche primäre und unwiederbringliche Schaden. Dort allerdings, wo eine solch drastische Eliminierung nicht zu erwarten ist, ist einer Schaffung von Akzeptanz bei der Fortführung traditioneller Nutzung der Vorzug zu geben. Dieses oft notwendige *mehr* an Nutzung muss verwirklicht werden (Küster 1998; Schmahl & Schlee 2004). Traditionelle Nutzung (z.B. durch Vertragsnaturschutz mit Landwirten) muss als Schutzzweck nicht nur formuliert, sondern vor allem regelmäßig kontrolliert werden. Ein „ökologischer Schaden“ träte eben dann ein, wenn sich der Zustand des Schutzgebietes von diesem Schutzzweck entfernt, oder dieser nicht mehr erreicht werden kann. Somit muss das Entwicklungsgebot stets oberste Maxime sein. Förderprogramme für Gewässerränder, Ackerlandstreifen und Brachen z.B. waren stets von – leider zeitlich begrenztem – Erfolg gekrönt.

Wichtigstes Bindeglied zwischen allen Pflanzengesellschaften sind gerade solche Übergangs- oder Saumgesellschaften – Säume gleich welcher physiognomischen Ausrichtung. Im Grenzbereich ökologisch gravierendster Gradienten zeigen sie stets ein verändertes Arteninventar aber auch das Vermitteln von Arten zwischen verschiedenen Gesellschaften, die damit ein größeres Areal einnehmen können (Wilmanns 1988). Der Austausch von Natur- und Kulturlandschaft muss über sie erfolgen. Säume schaffen Kleinräumigkeit und erhöhen die Zahl an ökologischen Randeffekten zur Steigerung der Arten- und Biotopvielfalt und vernetzen ökologisch unterschiedlich ausgestattete Standorte, auch „ökologisch geschädigte“. Sie stehen im Gefälle der verschiedenen Sukzessionsrichtungen. Saumhabitats sind die Gesellschaften, über die der Mensch im bewaldeten Mitteleuropa Fuß fasste und von denen er auch künftig die Vielfalt zu erwarten hätte. Sie zu zerstören ist der eigentliche „ökologische Schaden“!

**Danksagung:** Thomas Potthast und den anonymen GutachterInnen danke ich für die zahlreichen Anregungen zum Prozessschutz und die kritischen Hinweise zum Manuskript.

## 7 Literatur

- Bachmann, Konrad 1994: Transley Review No. 63. Molecular markers in plant ecology. *New Phytologist* 126 (3), 403-418.
- Blab, Josef & Wolfgang Völkl 1994: Voraussetzungen und Möglichkeiten für eine wirksame Effizienzkontrolle im Naturschutz. In: Josef Blab, Eckhard Schröder & Wolfgang Völkl (Hrsg.), *Effizienzkontrollen im Naturschutz – Referate und Ergebnisse des gleichnami-*

- gen Symposiums vom 19.-21. Oktober 1992 (= Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz, Bundesamt für Naturschutz; 40). Kilda, Greven, 291-300.
- Bobbink, Roland & Jo H. Willems 1987: Increasing dominance of *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. in chalk grasslands – a threat to a species-rich ecosystem. *Biological Conservation* 40, 301-314.
- Böhmer, Hans J. 1997: Zur Problematik des Mosaik-Zyklus-Begriffes. *Natur und Landschaft* 72 (7/8), 333-338.
- Bornkamm, Reinhard 2002: On the phytosociological affiliations of an invasive species *Senecio inaequidens* in Berlin. *Preslia* 74, 395-407.
- Brand, Verena 2004: Der „Schaden für die Umwelt“ und seine Definitionen in verschiedenen nationalen Umweltgesetzen – Implikationen für das Gentechnikrecht. In diesem Band, 145-158.
- Connell, Joseph H. 1978: Diversity in tropical rain forests and coral reefs. High diversity of trees and corals is maintained only in a nonequilibrium state. *Science* 199, 1302-1310.
- Connell, Joseph H. & Ralph O. Slayter 1977: Mechanisms of succession in natural communities and their role in community stability and organization. *The American Naturalist* 111 (982), 1119-1144.
- Dengler, Jürgen & Christian Berg 2000: Klassifikation und Benennung von Pflanzengesellschaften – Ansätze zu einer konsistenten Methodik im Rahmen des Projekts ‚Rote Liste der Pflanzengesellschaften von Mecklenburg-Vorpommern‘. In: Erwin Rennwald (Hrsg.), Verzeichnis und Rote Liste der Pflanzengesellschaften Deutschlands – Mit Datenservice auf CD-ROM – Referate und Ergebnisse des gleichnamigen Fachsymposiums in Bonn vom 30.06.-02.07.2000. Schriftenreihe für Vegetationskunde 35, Bundesamt für Naturschutz, Bonn-Bad Godesberg, 17-47.
- Dover, Gabby 1994: Concerted evolution, molecular drive and natural selection. *Current Biology* 4 (9), 777-783.
- Drury, William H. & Ian C. T. Nisbet 1973: Succession. *Journal of the Arnold Arboretum* 54 (3), 331-368.
- Eberle, Georg M. 1995: Das Pfeifengras *Molinia arundinacea* Schrank – Eine Problempflanze auf Pflegeflächen? *Berichte der Bayerischen Botanischen Gesellschaft zur Erforschung der heimischen Flora* 65, 81-86.
- Eckert, Georg & Helmut Jacob 1997: Reduktion von *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. in Kalkmagerrasen – Ein Beitrag zur Verbesserung der Beweidbarkeit basiphiler Wacholderheiden der Schwäbischen Alb. *Natur und Landschaft* 72 (4), 193-198.
- Eisen, Jonathan A. & Claire M. Fraser 2003: Phylogenomics – Intersection of evolution and genomics. *Science* 300, 1706-1707.
- Ellenberg, Heinz 1995: Allgemeines Waldsterben – ein Konstrukt? Bedenken eines Ökologen gegen Methoden der Schadenserfassung. *Naturwissenschaftliche Rundschau* 48 (3), 93-96.
- Ellenberg, Heinz 1996: *Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen in ökologischer, dynamischer und historischer Sicht*. 5. Aufl, Ulmer, Stuttgart.

- Eser, Uta 1999: Der Naturschutz und das Fremde – Ökologische und normative Grundlagen der Umweltethik. Campus, Frankfurt am Main.
- Eser, Uta & Thomas Potthast 1999: Naturschutzethik – Eine Einführung für die Praxis. Nomos, Baden-Baden.
- Fenaroli, Luigi 1970: Note illustrative della carta della vegetazione reale d'Italia. Collana verde 28, Ministero Agricoltura e Foreste – Direzione generale per l'economia montana e per le foreste, Roma.
- Fischer, Anton 1999: Sukzessionsforschung – Stand und Entwicklung. Berichte der Reinhold-Tüxen-Gesellschaft (RTG) 11, 157-177.
- Grabherr, Georg & Karl Reiter 1999: Aktuelle Aspekte der Vegetationskartierung, der Fernerkundung und geographischer Informationssysteme. Berichte der Reinhold-Tüxen-Gesellschaft (RTG) 11, 353-366.
- Gregor, Thomas & Günter Matzke-Hajek 2002: Apomikten in roten Listen – Kann der Naturschutz einen Großteil der Pflanzenarten übergehen? Natur und Landschaft 77, 64-71.
- Haarmann, Knut & P. Pretschner 1993: Zustand und Zukunft der Naturschutzgebiete in Deutschland – Die Situation im Süden und Ausblicke auf andere Landesteile. Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz 39, Bundesforschungsanstalt für Naturschutz und Landschaftsökologie, Bonn-Bad Godesberg.
- Haeupler, Henning 2000: Biodiversität in Zeit und Raum – Dynamik oder Konstanz? Berichte der Reinhold-Tüxen-Gesellschaft (RTG) 12, 113-129.
- Hartmann, Elisabeth & Werner Konold 1995: Späte und Kanadische Goldrute (*Solidago gigantea* et *canadensis*) – Ursachen und Problematik ihrer Ausbreitung sowie Möglichkeiten ihrer Zurückdrängung. In: Reinhard Böcker et al. (Hrsg.), Gebietsfremde Pflanzenarten – Auswirkungen auf einheimische Arten, Lebensgemeinschaften und Biotope; Kontrollmöglichkeiten und Management. ecomed, Landsberg, 93-104.
- Heusinger, Friedrich 1831: Vollständiger Unterricht über den Futterbau auf benarbttem Boden oder Anleitung gutes und reichliches Futter auf Wiesen und Huthrasen zu gewinnen: mit einer Anzeige der an den Wiesen, Rasen und dem Futter, waehrend eines jeden Monats, vorzunehmenden Arbeiten. Nach den besten neuesten Verfahrensarten und eigenen Erfahrungen bearbeitet von Friedrich Heusinger (Mit drey Kupfertafeln). In: Carl W. E. Putsche (Hrsg.), Ein integrireder Theil der Allgemeinen Encyclopädie der gesammten Land- und Hauswirthschaft der Deutschen, Bd. 11. Baumgärtners Buchhandlung, Leipzig.
- Jarass, Hans D. et al. 1994: Umweltgesetzbuch – besonderer Teil (UGB-BT); Forschungsbericht 101 06 044/01-08. Berichte / Umweltbundesamt 4/94, Erich Schmidt, Berlin.
- Jax, Kurt 2002: Die Einheiten der Ökologie – Analyse, Methodenentwicklung und Anwendung in Ökologie und Naturschutz. Theorie in der Ökologie 5, Peter Lang, Frankfurt am Main.
- Kaiser, Thomas, Verena Baier, Ilona Grünewald & S. Haas 1998: Erfassungsdefizite bei Vegetationsaufnahmen mesophiler Laubwälder in Abhängigkeit vom Aufnahmezeitpunkt. Tuexenia 18, 51-61.
- Kloepfer, Michael 1994: Zur Geschichte des deutschen Umweltrechts. Schriften zum Umweltrecht 50, Duncker & Humblot, Berlin.

- Kloepfer, Michael 1998: Umweltrecht. 2. Aufl. Beck, München.
- Kloepfer, Michael, Eckard Rehbinder & Eberhard Schmid-Assmann 1991: Umweltgesetzbuch – allgemeiner Teil (UGB-AT); Forschungsbericht 10106028 01 03. Berichte / Umweltbundesamt 7/90, Erich Schmidt, Berlin.
- Kokott, Juliane, Axel Klaphake & Simon Marr 2003: Ökologische Schäden und ihre Bewertung in internationalen, europäischen und nationalen Haftungssystemen – eine juristische und ökonomische Analyse. Unter Mitarbeit von Peter Beyer & Ute Beckert – Umweltforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (Forschungsbericht 201 18 101). Berichte / Umweltbundesamt 3/2003, Erich Schmidt, Berlin.
- Korneck, Dieter, Theo Müller & Erich Oberdorfer 1993: Sand- und Trockenrasen, Heide- und Borstgrasgesellschaften, alpine Magerrasen, Saum-Gesellschaften, Schlag- und Hochstauden-Fluren. In: Erich Oberdorfer (Hrsg.), Süddeutsche Pflanzengesellschaften, Teil II. 3. Aufl, Gustav Fischer, Jena/Stuttgart und New York.
- Kuhn, Karl 1937: Die Pflanzengesellschaften im Neckargebiet der Schwäbischen Alb. Rau, Öhringen.
- Küster, Hansjörg 1998: Geschichte des Waldes – Von der Urzeit bis zur Gegenwart. Beck, München.
- Möller, Hans 1993: „Pflanzengesellschaft“ als Typus und als Gesamtheit von Vegetationsausschnitten – Versuch einer begrifflichen Klärung. *Tuexenia* 13, 11-21.
- Mühlenberg, Michael & Jolanta Slowik 1997: Kulturlandschaft als Lebensraum. Quelle und Meyer, Wiesbaden.
- Oertel, Gunnar 1994: Effizienzkontrollen in Naturschutz und Landschaftsplanung. In: Josef Blab, Eckhard Schröder & Wolfgang Völkl (Hrsg.), Effizienzkontrollen im Naturschutz – Referate und Ergebnisse des gleichnamigen Symposiums vom 19.-21. Oktober 1992. Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz 40, Bundesamt für Naturschutz, Kilda, Greven, 181-186.
- Pignatti, Sandro & Andrea Ubrizsy-Savoia 1989: Early use of the succession concept by G. M. Lancici in 1714. *Vegetatio* 84, 113-115.
- Potthast, Thomas 1999: Die Evolution und der Naturschutz – Zum Verhältnis von Evolutionsbiologie, Ökologie und Naturethik. Campus, Frankfurt am Main.
- Potthast, Thomas 2000: Funktionssicherung und/oder Aufbruch ins Ungewisse? Anmerkungen zum Prozeßschutz. In: Kurt Jax (Hrsg.), Funktionsbegriff und Unsicherheit in der Ökologie – Beiträge zu einer Tagung des Arbeitskreises „Theorie“ in der Gesellschaft für Ökologie vom 10. bis 12. März 1999 im Heinrich-Fabri-Institut der Universität Tübingen in Blaubeuren. *Theorie in der Ökologie* 2, Peter Lang, Frankfurt am Main, 65-81.
- Purtauf, Tobias, Jens Dauber, Sabine Hasseck & Volkmar Wolters 2002: Erhalt der Biodiversität einer marginalen Region unter Landnutzungswandel. In: Horst Korn & Ute Feit (Bearb.), Treffpunkt Biologische Vielfalt II – Aktuelle Forschung im Rahmen des Übereinkommens über die biologische Vielfalt vorgestellt auf einer wissenschaftlichen Expertentagung an der Internationalen Naturschutzakademie Insel Vilm vom 23. bis 27. Juli 2001. Bundesamt für Naturschutz, Bonn-Bad Godesberg, 209-215.

- Quinger, Burkhard 1994: Methoden und Erfahrungen bei der Dauerflächenbeobachtung von Magerrasen-Renaturierungsflächen im bayerischen Alpenvorland. In: Josef Blab, Eckhard Schröder & Wolfgang Völkl (Hrsg.), Effizienzkontrollen im Naturschutz – Referate und Ergebnisse des gleichnamigen Symposiums vom 19.-21. Oktober 1992. Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz 40, Bundesamt für Naturschutz, Kilda, Greven, 113-123.
- Reich, Michael 1994: Dauerbeobachtung, Leitbilder und Zielarten – Instrumente für Effizienzkontrollen des Naturschutzes? In: Josef Blab, Eckhard Schröder & Wolfgang Völkl (Hrsg.), Effizienzkontrollen im Naturschutz – Referate und Ergebnisse des gleichnamigen Symposiums vom 19.-21. Oktober 1992. Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz 40, Bundesamt für Naturschutz, Kilda, Greven, 103-111.
- Rennwald, Erwin 2000: Verzeichnis und Rote Liste der Pflanzengesellschaften Deutschlands – Mit Datenservice auf CD-ROM – Referate und Ergebnisse des gleichnamigen Fachsymposiums in Bonn vom 30.06.-02.07.2000. Schriftenreihe für Vegetationskunde 35, Bundesamt für Naturschutz, Bonn-Bad Godesberg.
- Riecken, Uwe, Ulrike Ries & Axel Ssymank 1994: Rote Liste der gefährdeten Biotoptypen der Bundesrepublik Deutschland. Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz 41, Bundesamt für Naturschutz (BfN), Institut für Biotopschutz und Landschaftsökologie, Bonn-Bad Godesberg.
- Rieger, Walter 1996: Ergebnisse elfjähriger Pflegebeweidung von Halbtrockenrasen. Natur und Landschaft 71 (1), 19-25.
- Sanderson, Michael J. & Martin F. Wojciechowski 1996: Diversification rates in a temperate legume clade – Are there „so many species“ of *Astragalus* (Fabaceae)? American Journal of Botany 83 (11), 1488-1502.
- Scherzinger, Wolfgang 1990: Das Dynamik-Konzept im flächenhaften Naturschutz – Zieldiskussion am Beispiel der Nationalpark-Idee. Natur und Landschaft 65 (6), 292-298.
- Schlee, Matthias 1999: Studien zur jüngeren Vegetationsentwicklung der „Beurener Heide“ bei Hechingen. Tübingen, Univ., Dipl.  
(<http://w210.ub.uni-tuebingen.de/dbt/volltexte/2003/788/>).
- Schlee, Matthias, Wilhelm Sauer & Vera Hemleben 2003: Molekulare und pflanzensoziologische Analyse von pontisch-pannonischen Reliktarten aus wärmebegünstigten Saum-Gesellschaften Süddeutschlands und benachbarter Gebiete. Nova Acta Leopoldina NF 87 (328), 379-387.
- Schmahl, Reiner & Matthias Schlee 2004: Blaikenbildung im Hochgebirge – Ein Plädoyer für die Renaturierung der Almen. Naturschutz in Recht und Praxis. Interdisziplinäre Online-Zeitschrift für Naturschutz und Naturschutzrecht 3 (3).  
([http://www.naturschutzrecht.net/Online-Zeitschrift/Nrpo\\_04Heft3.pdf](http://www.naturschutzrecht.net/Online-Zeitschrift/Nrpo_04Heft3.pdf)).
- Schreiber, Karl-Friedrich 1995: Renaturierung von Grünland – Erfahrungen aus langjährigen Untersuchungen und Managementmaßnahmen. Berichte der Reinhold-Tüxen-Gesellschaft (RTG) 7, 111-139.
- Schumacher, Anke 1997: Die Vegetationsentwicklung auf dem Bergrutsch am Hirschkopf (Baden-Württemberg) – Sukzession auf Kalkschutt- und Mergelrohböden. Forstwissenschaftliches Centralblatt 116, 232-242.



- Schumacher, Jochen & Peter Fischer-Hüftle 2003: Bundesnaturschutzgesetz Kommentar. Kohlhammer, Stuttgart.
- SRU [Der Rat von Sachverständigen für Umweltfragen] 1987: Umweltgutachten 1987 (=Bundestags-Drucksache 11/1568).
- Storm, Peter-Christoph (1985): Umweltrecht wohin? Zeitschrift für Rechtspolitik 1985(1), 18-21.
- Subal, Wolfgang 1997: FLOREIN, Interaktives Programm zur Bearbeitung floristischer Daten, Version 5.0. Zentralstelle für die Floristische Kartierung Deutschlands (Hrsg.). (<http://www.biologie.uni-regensburg.de/Botanik/Florkart/>).
- Tomaselli, Ruggero 1970: Note illustrative della carta della vegetazione naturale potenziale d'Italia (prima approssimazione). Collana Verde 27, Ministero Agricoltura e Foreste – Direzione generale per l'economia montana e per le foreste, Roma.
- Travis, Steven E., Joyce Maschinski & Paul Keim 1996: An analysis of genetic variation in *Astragalus cremnophylax* var. *cremnophylax*, a critically endangered plant, using AFLP markers. *Molecular Ecology* 5 (6), 735-745.
- Unabhängige Sachverständigenkommission zum Umweltgesetzbuch beim Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit 1998: Umweltgesetzbuch (UGB-KomE) – Entwurf d. Unabhängigen Sachverständigenkommission zum Umweltgesetzbuch beim Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (Hrsg.). Duncker & Humblot, Berlin.
- Umweltbericht 1976. Bundestags-Drucksache 7/5684, 23 ff.
- Vahle, Hans-Christoph 2001: Das Konzept der potentiellen Kulturlandschafts-Vegetation. *Tuexenia* 21, 273-292.
- Vahle, Hans-Christoph & Jörg Dettmar 1988: „Anschauende Urteilskraft“ – Ein Vorschlag für eine Alternative zur Digitalisierung der Vegetationskunde. *Tuexenia* 8, 407-415.
- Weish, Peter 1992: Kultur- und Naturlandschaften – Konzepte zu ihrer Erhaltung. In: Herbert Franz (Schriftltg.), Die Störung der ökologischen Ordnung in den Kulturlandschaften. Veröffentlichungen der Kommission für Humanökologie / Österreichische Akademie der Wissenschaften 3, Verlag der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, Wien, 215-226.
- Wezel, Heike 2001: Die Disposition über den ökologischen Schaden – unter Berücksichtigung öffentlich-rechtlicher Aspekte. Schriften zum Umweltrecht 112, Duncker & Humblot, Berlin.
- Wilmanns, Otti 1988: Säume und Saumpflanzen – Ein Beitrag zu den Beziehungen zwischen Pflanzensoziologie und Paläobotanik. In: Landesdenkmalamt Baden-Württemberg, Der prähistorische Mensch und seine Umwelt – Festschrift für Udelgard Körber-Grohne zum 65. Geburtstag, zusammengestellt von Hansjörg Küster. Forschungen und Berichte zur Vor- und Frühgeschichte in Baden-Württemberg 31, Konrad Theiss, Stuttgart, 21-30.

## **Publication 3**

GRIMM, G. W.; SCHLEE, M.; KOMAROVA, N. Y.; VOLKOV, R. A. & HEMLEBEN, V. (2005)

### **Low-level taxonomy and intrageneric evolutionary trends in higher plants**

In: ENDRESS, P. K.; LÜTTGE, U. & PARTHIER, B. (eds.): From plant taxonomy to evolutionary biology – Von der Taxonomie zur Evolution der Pflanzen. Leopoldina-Meeting vom 10. bis 12. Juni 2004 in Reichelsheim (Odenwald). (= Nova Acta Leopoldina NF 92 [No. 342]). Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart; pp. 129-145.

Reprint with kind permission of the Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina – Nationale Akademie der Wissenschaften, Halle (Saale), Germany.

Original first publication of the series volume:

ISBN 3-8047-2252-0

[http://www.leopoldina.org/de/publikationen/detailansicht/?publication\[publication\]=88&cHash=d29912e2a725141e9709dc5e1f7c0507](http://www.leopoldina.org/de/publikationen/detailansicht/?publication[publication]=88&cHash=d29912e2a725141e9709dc5e1f7c0507)

[accessed 2015-06-24]

## Low-level Taxonomy and Intrageneric Evolutionary Trends in Higher Plants

Guido W. GRIMM, Matthias SCHLEE, Nataliya Y. KOMAROVA,  
Roman A. VOLKOV, and Vera HEMLEBEN (Tübingen)

With 9 Figures and 2 Tables

### Abstract

The nuclear encoded 18S, 5.8S, and 25S ribosomal RNA genes (18–25S rDNA) have been used as molecular markers in numerous systematic studies at all hierarchical levels. In the case of low-level evolution the spacer regions of the 18–25S rDNA have been of major interest. Most recently, several objections came up against the use of rDNA sequences since it belongs to a tandemly organized multigene family. Phylogenies inferred from the same marker were found to be conflicting each other, and the discussion focussed on the impact of pseudogenes and unknown paralogy of sequences that might have been used in such studies. This is especially true for intrageneric studies using the internal and external transcribed spacers (ITS1, ITS2, and ETS). If cloning is applied to assemble an ITS/ETS data basis that comprehensively reflects not only the intrageneric (interspecific), but also intraspecific and intraindividual genetic variability, the objections against 18S–25S rDNA can be cleared out. At hand of different variable, differentiated, and complex ITS and also ETS data sets of the arborescent genera *Acer*, *Fagus*, *Zelkova* and the herbs *Lathyrus* and *Solanum*, it can be demonstrated that especially the detected intraspecific variability of the ITS and ETS is a most valuable source for taxonomic-systematic purposes. In addition, appropriate phylogenetic analyses of such data help to trace molecular evolution and intrageneric differentiation through space and time (e.g. ancient hybridization events, gene flow, general mutational trends). So-deduced phylogenetic hypotheses correlate in detail with other data sources such as morphology, biogeography, the fossil record, and ecology, and hence allow to identify general evolutionary trends within these genera. Such a taxonomic, systematic, and phylogenetic resolution on an intrageneric level is up to now not achieved with any known single-copy and/or only uniparentally inherited molecular marker.

### Zusammenfassung

Nucleotidsequenzen von verschiedenen Regionen der kernkodierten ribosomalen 18S, 5,8S und 25S RNA-Gene (18S–25S rDNA) werden in zahlreichen systematischen Studien unterschiedlicher Hierarchie verwendet. Im Falle der intragenerischen Studien kommen vor allem Sequenzen der intern oder extern transkribierten Spacerregionen (ITS und ETS) zur Anwendung. Dabei hat sich gezeigt, daß vermutlich auf Grund der Organisation der kernkodierten Gene – tandemartig angeordnete multiple Kopien („multigene family“) – Probleme bei der Analyse und Interpretation der Daten auftreten. Insbesondere bei Verwendung desselben Markers kam es zu markanten Inkonsistenzen bei den errechneten phylogenetischen Hypothesen. In diesem Zusammenhang werden vor allem zwei Punkte diskutiert: die nicht bekannte Homologie oder Paralogie der jeweilig sequenzierten Tandemrepeats bzw. das Auftreten von sogenannten „Pseudogenen“, welche die phylogenetische Hypothese verzerren. Mittels Klonierung läßt sich jedoch eine Datenbasis aufbauen, die einen Einblick in die intraspezifische und sogar individuelle Variabilität der jeweiligen Mitglieder einer Gattung liefert. An Hand unterschiedlich variabler Datensätze (ITS1, ITS2, 5' ETS) von verschiedenen Baumgattungen (*Acer*, *Fagus*, *Zelkova*) und krautigen Pflanzen (*Lathyrus*, *Solanum*) kann gezeigt werden, daß die vorhandene genetische Variabilität innerhalb der untersuchten Arten von enormer Bedeutung für taxonomisch-systematische Fragestellungen ist. Ferner lassen sich an Hand der umfassenden Datensätze komplexe phylogenetisch-evolutionäre Prozesse, wie z. B. vorrezente Hybridisierungsereignisse und allgemeine Entwicklungstendenzen, detailliert beschreiben. Die resultierenden molekular-phylogenetischen Rekonstruktionen lassen sich problemlos mit

morphologischen, biogeographischen, ökologischen und fossilgeschichtlichen Aspekten verknüpfen. Eine derartig spezifische und detaillierte taxonomisch-systematische und phylogenetische Auflösung der komplexen intragenerischen Zusammenhänge ist mit keinem der derzeit bekannten und benutzen ‚single copy‘ bzw. nur uniparental vererbten (Organell-DNA) molekularen Markern zu erreichen.

## 1. Introduction

For phylogenetic reconstructions at low taxonomic levels the spacer regions of the nuclear encoded 18S, 5.8S, and 25S ribosomal DNA (18S–25S rDNA), especially the internal transcribed spacers (ITS 1 and 2), are widely used and discussed as valuable molecular tool due to a high rate of molecular evolution. The 18S–25S rDNA, located at the nucleolus organizing region (NOR), consists of tandemly arranged repeated units (Fig. 1) and serves as a convenient model for the investigation of molecular changes in a multigene family. In higher plants, up to 20,000 copies of 18S–25S rDNA per genome were detected (for review see HEMLEBEN et al. 1988). Sometimes, more than one rDNA locus per chromosomal set can be found (FRANZ et al. 1998, for review see VOLKOV et al. 2004). Most recently, several objections came up against the use of rDNA sequences for phylogenetic studies. Phylogenies inferred from the 18S–25S rDNA spacer regions appeared to be conflicting. The theoretical discussion was mainly focused on the impact of pseudogenes and the unknown paralogy of se-

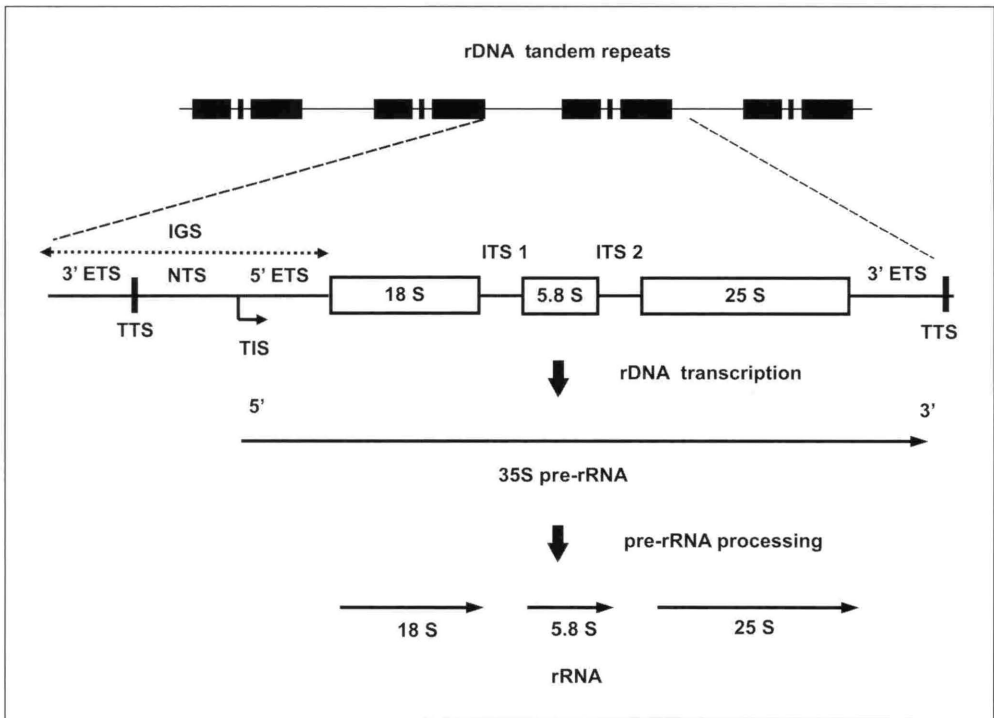


Fig. 1 General organization scheme of the 18S–25S rDNA (modified from VOLKOV et al. 2004). Abbr.: 5.8S, 5.8S rDNA; 18S, 18S rDNA; 25S, 25S rDNA; ETS, external transcribed spacer; IGS, intergenic spacer; ITS, internal transcribed spacer; TIS, transcription initiation site; TTS, transcription termination site.

quences used in such studies. In some cases, e.g. for *Quercus* (DENDUANGBORIPANT and CRONK 2001) and *Solanum* (VOLKOV et al. 2003), the problems connected with pseudogenes were documented. This culminated in the conclusion of ÁLVAREZ and WENDEL (2003, p. 429) “that ITS no longer (can) be routinely utilized for phylogenetic analysis, opting instead for using several or more different single-copy nuclear loci”. However, the authors acknowledged that “ITS sequence data have and may continue to provide insights into phylogenetic history, polyploidy ancestry, genome relationships, historical introgression, and other evolutionary questions”, if the objections arising from paralogs and pseudogenes can be experimentally ruled out or dealt with. This was further underlined by BAILEY et al. (2003), who also addressed this topic with mainly theoretical arguments.

In the case of intrageneric evolution in flowering plants, patterns of differentiation are complex due to reticulation, i.e. ancient and recent hybridization/polyploidization events (Fig. 2). Immediately after allopolyploidization rDNA is bi-parentally inherited (e.g. UCHIMIYA et al. 1983, HEMLEBEN et al. 1998), hence, in an allopolyploid at least 2 paralogous sets of rDNA obtained from both parents should be present (e.g. WISSEMANN 2002, for *Rosa*). Remarkably, in the natural allotetraploid *Nicotiana tabacum* the maternal rDNA got lost and was nearly completely replaced by its paternal counterpart (VOLKOV et al. 1999, LIM et al. 2000), which endured apparent structural rearrangement in the intergenic spacer region (IGS).

Taking into account that several variants of rDNA can be present in the nucleus, cloning of PCR products followed by sequencing of several clones is necessary to assemble a comprehensive data set; in order to identify different levels of intragenomic/-individual variability

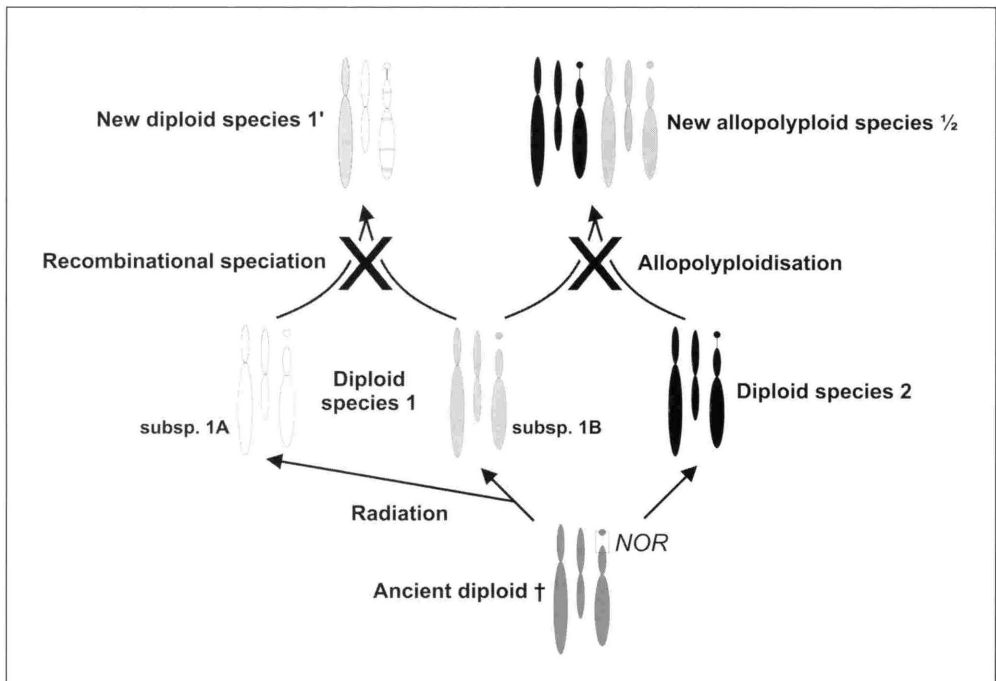


Fig. 2 Diagram exhibiting a simple reticulate evolution and its implication for the current gene pools. Abbr.: NOR, nucleolus organisator region.

ty of rDNA. As consequence, detailed insight into the pathway of intrageneric molecular evolution and differentiation including reticulation can be obtained (GREBENSTEIN et al. 1998, JOBST et al. 1998, STEANE et al. 1999, WISSEMANN 1999, 2002, VON BALTHAZAR et al. 2000, MUIR et al. 2001, DENK et al. 2002, GRIMM 2003, VOLKOV et al. 2003, SCHLEE et al. 2003, DENK and GRIMM 2005, DENK et al. 2005).

In the following paragraphs, we review some of the ongoing molecular work currently undertaken in our lab using the 18S–25S rDNA spacer sequence (ITS and ETS) data as a most valuable source for taxonomic-systematic purposes like the reconstruction of intrageneric phylogeny and identification of ancient and recent horizontal gene flow. In focus are differently variable and complex ITS and also ETS (5' external transcribed spacer, see Fig. 1) data sets of the arborescent angiosperm genera *Acer* (124 species, VAN GELDEREN et al. 1994), *Fagus* (8 species, cf. DENK et al. 2005), *Zelkova* (fam. Ulmaceae, 5 disjunct species, cf. DENK and GRIMM 2005) and the herbal genera *Lathyrus* (~160 species, ASMUSSEN and LISTON 1998, 20 species in sect. *Lathyrostylis*, BÄSSLER 1981), and *Solanum* (234 species in sect. *Petota*, HAWKES 1990). The depicted phylogenetic hypotheses correlate with other data sources such as morphology, biogeography, ecology and the fossil record, and hence, allow identifying general evolutionary trends within these genera. Up to now, such a taxonomic, systematic, and phylogenetic resolution on an intrageneric and inter- and intraspecies level can not be achieved with single-copy and/or only uniparentally inherited molecular markers.

## 2. Patterns of rDNA Spacer Sequence Diversity

### 2.1 Ribosomal DNA Spacer Sequences as Taxonomic and Phylogenetic Marker at the Generic Level

Now it is commonly accepted that molecular variability can differ in different taxonomic groups. In our studies, obvious differences in accumulation of sequence variability are exemplified in the ITS1 and 2 of genus *Acer* (GRIMM 2003) compared to *Zelkova* (DENK and GRIMM 2005). The ITS sequences of *Acer* are strongly diverged. They contain numerous point mutations and 1–3 bp indels distributed throughout the ITS1 and ITS2; also, several longer indels, up to 15 bp, were found. Generally, length conserved and polymorphic motives alternating in the ITS of *Acer* were detected in the same position in different species. Remarkably, the indels are highly taxon-specific and, therefore, are of high taxonomic-systematic significance (Tab. 1).

In addition to these specific indels, another source of taxonomic information represents highly divergent “oligonucleotide motives” harboring multiple short indels and point mutations. A base-per-base alignment and analysis of such regions is difficult since the evolution of these regions may encompass also indel incidents not directly recognizable in the recent nucleotide sequence (Fig. 3). The example, based on a rather simple 8- or 11-bp long motif, demonstrates, that any possible alignment of such regions is principally biased from a methodological point of view. Nevertheless, the oligonucleotide motives as macrocharacters are conserved, specific for different taxonomic groups and can be evaluated in an evolutionary framework (Fig. 3D). In conclusion, due to the observed high levels of molecular variability, unique ITS sequences and oligonucleotide motives define and sustain morphologically distinguished taxa such as subspecies, species, series and sections within genus *Acer*. A set of

Tab. 1 Group-specific indels within the ITS of *Acer* spp. (modified from GRIMM 2003)

	length ITS1	ID1	ID2	ID3	ID4	ID5	length ITS2	ID6	ID7	ID9 <sup>[1]</sup>
<i>Dipteronia sinensis</i>	233bp	–	–	–	–	–	238bp	–	–	<b>I</b>
sect. <i>Acer</i>	233–242bp	–	–	–	(+)	–	233–242bp	(+)	–	–
ser. <i>Arguta</i>	237/238bp	–	–	–	–	–	234bp	–	–	–
sect. <i>Ginnala</i>	234/235bp	–	–	–	–	–	250/251bp	–	+	–
ser. <i>Grisea</i>	231–233bp	–	–	–	–	+	216–219bp	–	–	–
<i>A. carpinifolium</i> , sect. <i>Indivisa</i>	220/227bp	–	(+)	–	–	+	243bp	–	–	–
<i>A. diabolicum</i> , ser. <i>Lithocarpa</i>	232/233bp	–	–	–	–	+	235/236bp	–	–	–
sect. <i>Macrantha</i>	234–236bp	–	–	–	–	–	227–238bp	–	–	<b>I/D</b>
sect. <i>Rubra</i>	221/222bp	–	–	–	–	+	233–235bp	–	–	–
<i>A. buergerianum</i> , ser. <i>Trifida</i>	230bp	+	–	+	–	+	236bp	–	–	–

Legend: +, group-specific indel (**ID**) always realized at this position; (+), realized in some accessions of the group (series/section).

[1] *Macrantha* genotype 1 exhibits + 6 bp (**I**), *D. sinensis* + 5 bp, in comparison to the consensus nucleotide composition, *Macrantha* genotype 2 lacks 6 bp (**D**).

divergent sequences as detected for the ITS of *Acer* (Fig. 4) and the ETS of *Solanum* (see below) can be directly used to depict molecular phylogenies with standard computer-based analysis methods.

Compared to *Acer*, the overall level of ITS sequence variability in the genus *Zelkova* is markedly lower. Nevertheless, the data can be successfully used for taxonomic purposes. Prominent length polymorphism is here restricted to a single region within the ITS1, where ITS clones of two taxa (i.e. *Z. schneideriana* and some clones of *Z. serrata*) exhibit a 24-bp long deletion. Analogous to the ITS of *Acer*, the ITS of *Zelkova* is composed of regions, that preferentially accumulated and fixed point mutations, and of conserved regions, in which no changes were detected. However, in contrast to *Acer* markedly less mutations were fixed during the speciation of *Zelkova* and, therefore, the mutations are of high taxonomic weight. Remarkably, most of the point mutations in *Zelkova* have been detected only in some ITS clones, whereas the other clones are identical to the consensus of all *Zelkova* species (DENK and GRIMM 2005). Here, the taxonomic identity is *not* given by a unique ITS sequence; instead the *intraindividual variability* has to be taken into account. Such a less differentiated data set produces phylogenies, wherein sequences of different individuals and species, respectively, partly intermix with each other (Fig. 5A). Possible paralogous ITS sequences that interfere with the standard molecular analysis were found in *Z. serrata* and *Z. carpinifolia*. As a result, the ITS accessions of both taxa are either mixed with *Z. schneideriana* and *Z. abelicea/sicula* clones, respectively, or form distinct clades. To clarify this “ambiguous” placement, we defined and correlated series of mutations (oligonucleotide motif variants) found for the ITS of

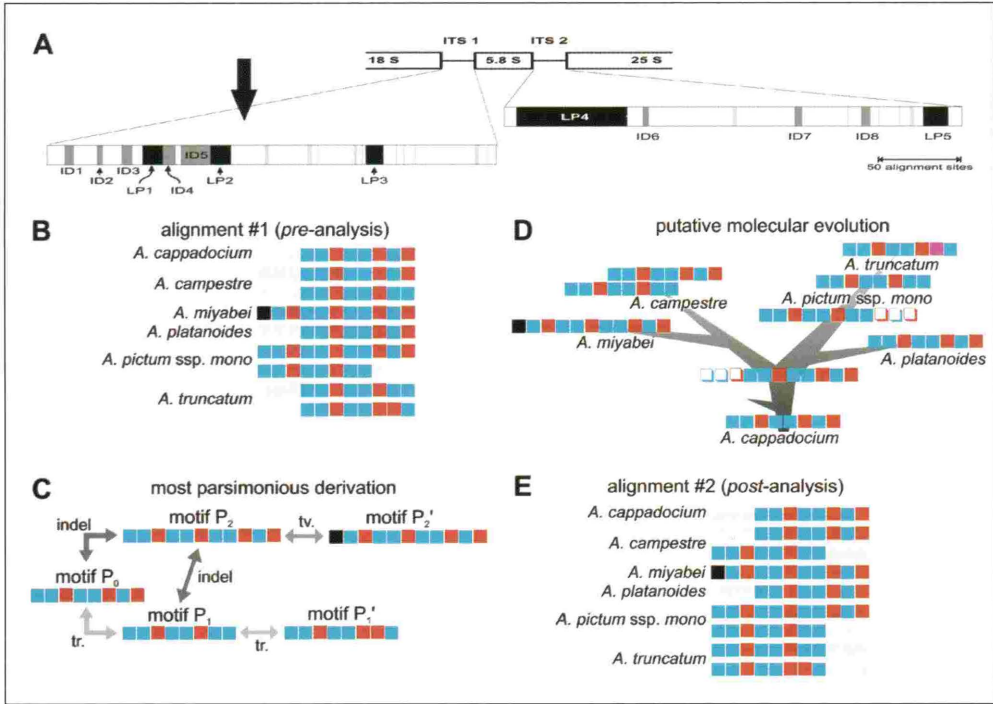


Fig. 3 Difficulties arising from a fixed alignment of indels, an example from the LP2 motif in *Acer* sect. *Platanioidea* (modified from GRIMM 2003). (A) Scheme of the ITS; position of the LP2 indicated by the black arrow. (B) Alignment with a minimum of alignment gaps meeting MP and ML criteria for individual nucleotide sites. (C) Derivation of complete motives meeting MP and ML criteria; 8-bp and 11-bp long motives differ in single mutations from each other. (D) Putative molecular evolution of LP2 according to the complete ITS data; the initial 3-bp insertion is later compensated by 3-bp deletions, and (E) the accordingly optimized alignment. Each box equals one nucleotide; black = guanine, blue = cytosine, red = thymine. Abbr.: ID, indel; LP, length polymorphic region; tr., transition; tv., transversion.

*Zelkova* with morphological data and the fossil record. This allowed us (i) to identify sub-recent introgression between *Z. schneideriana* and *Z. serrata* and (ii) to depict ancestral ITS motives (example given in Fig. 6, for details refer to DENK and GRIMM 2005). Furthermore, we showed that the ancestral motives shared between the nowadays western Eurasian taxa *Z. abelicea*, *Z. carpinifolia*, *Z. sicula*, and the Japanese *Z. serrata* and the co-occurring taxon-specific derived motives can be correlated in detail to morphological characteristics found in western Eurasian macrofossil assemblages of *Zelkova*.

Intraindividual polymorphism of ITS is even more pronounced in species of the genus *Fagus* (DENK et al. 2002, GRIMM 2003, DENK et al. 2005). Similar to the situation in *Zelkova*, length polymorphism is restricted to two regions in ITS1 and ITS2, respectively. The occurrence of a 15-bp long indel within the ITS1 in approximately 50 % of all clones representing different individuals of *F. engleriana* and *F. japonica* (forming the subgen. *Engleriana*) is characteristic for these two species and, hence, represent a genetic synapomorphy of the subgenus *Engleriana*. This indel is always accompanied by several point mutations in other parts of the ITS, which are also restricted to this subgenus (GRIMM 2003). Again, the detected intraindi-



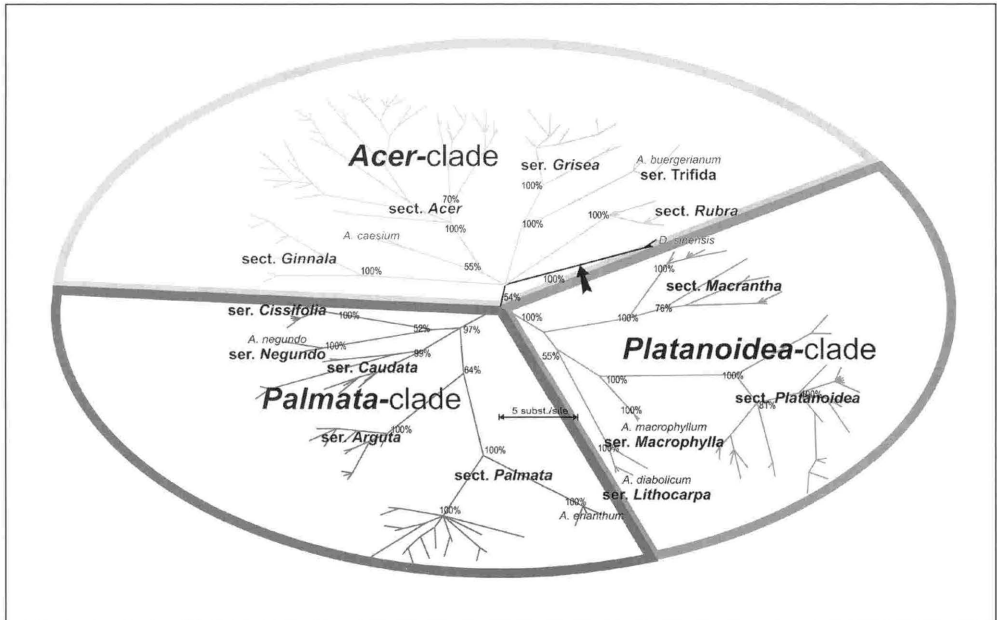


Fig. 4 Maximum likelihood (ML) molecular phylogeny of *Acer* as inferred from ITS sequence data based on a Bayesian inference (BI) analysis (GRIMM 2003). Numbers at nodes indicate posterior probabilities. Branches with < 50 % probability are collapsed.

vidual variability and differentiation are of high taxonomic importance. The encountered in-traspecific and -individual divergence in genus *Fagus* is equal to or higher than the mean interspecific divergences. In the case of subgenus *Engleriana*, the detected intraindividual variability is even comparable to the levels of interserial and -sectional molecular differentiation in *Acer* (Tab. 2). On the other hand, nearly identical ITS sequences ( $\leq 1\%$  difference) can be found in all Eurasian taxa of the subgenus *Fagus*, although these taxa are morphologically well distinguishable. Consequently, the mode of ITS sequences variability strongly interferes with the phylogenetic reconstruction based on standard molecular analyses; Eurasian species of subgenus *Fagus* are not subdivided, only the positions of subgenus *Engleriana* and the North American *F. grandifolia* are clearly defined (Fig. 5B). In addition, individuals of the two endemic East Asian species *F. hayatae* and *F. longipetiolata* show a remarkable polymorphism with sequences that group together with the other Eurasian species, whereas the remaining sequences form a distinct clade. ITS variants related to intraindividual genetic polymorphism may indeed represent paralogs. The question is, do they really confuse phylogeny? A detailed reinvestigation and correlation of the ITS data to the fossil record and an accompanying morphological cladistic analysis (GRIMM 2003, DENK et al. 2005) revealed (i) an *ancient genetic polymorphism*, which is still present in modern individuals of *F. hayatae* and *F. longipetiolata* (East Asian relict species, characterized by the lack of derived morphological features), and (ii) *horizontal gene flow* between populations of *Fagus* throughout space and time. Thus, the at a first glance somewhat confusing ITS variability in *Fagus* (Fig. 5B) can be incorporated into a comprehensive framework taking into account the complex intrageneric differentiation history of the genus. Phases of unhindered horizontal gene flow resulted in intraindividual ge-

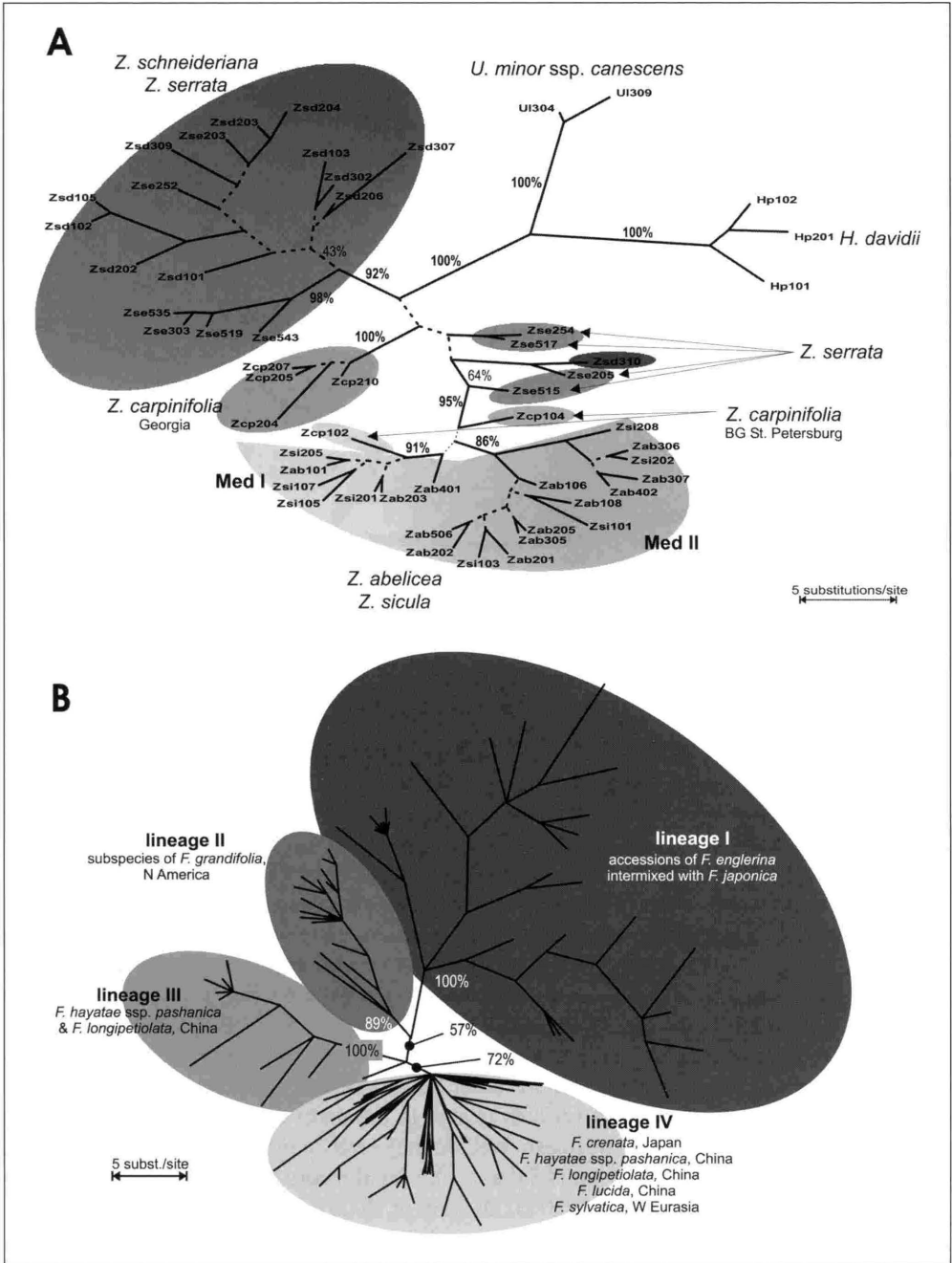


Fig. 5 ML via BI phylograms based on “ambiguous” ITS data. (A) *Zelkova* (DENK und GRIMM 2005). (B) *Fagus* (DENK et al. 2005). “Med I/II” labels refer to two ITS variants realized in individuals of *Z. abelicea* and *Z. sicula*. Numbers at nodes indicate posterior probabilities. Branches with < 50 % probability are collapsed. Abbr.: *H.*, *Hemiptelea*; *U.*, *Ulmus*.

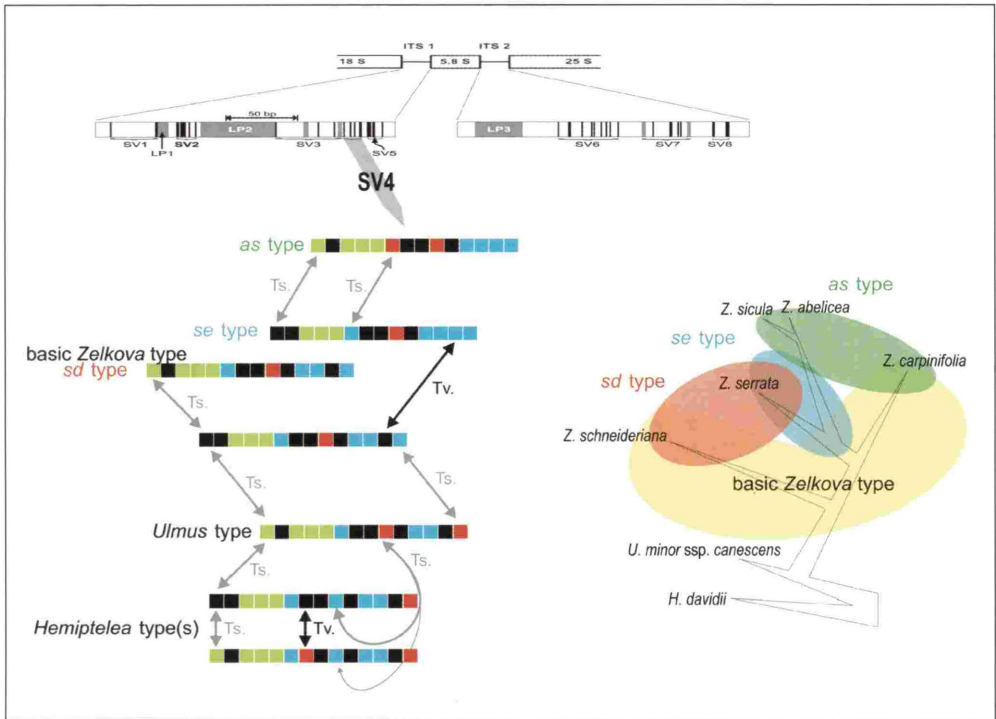


Fig. 6 Derivation of the oligonucleotide motif SV4 in *Zelkova* (modified after DENK and GRIMM 2005). Top, scheme of the ITS of *Zelkova*; bars indicate mutations, labels refer to distinguished oligonucleotide motives. Left, derivation of detected SV2 types serving as well MP as ML criteria. Right, evolution of the SV4 motif in course of species differentiation; the dendrogram is based on molecular (ITS), morphological, and fossil evidence; distribution of motives is indicated by coloured circles. Abbr.: LP, length polymorphism; SV, series of site variabilities.

netic variability reflected by possibly paralogous ITS sequences. This paralogy is not hindering the phylogenetic reconstruction; instead it is a clue to understand the lack of strict morphoclines in macrofossils and the restriction of certain morphological characteristics within recent *Fagus* species. Uniparentally inherited molecular markers such as the cpDNA *matK* were not able to reproduce the actual reticulate history of this genus and consequently produced molecular phylogenies (STANFORD 1998, MANOS and STANFORD 2001) that contradicted both morphological (SHEN 1992, DENK 2003) and fossil data.

Comparison of the 5'ETS sequences allows successful taxonomy reconstruction in sect. *Petota* of the genus *Solanum*. In the 5'ETS two major structural regions can be distinguished: (i) a variable region (VR), demonstrating significant structural rearrangements, and (ii) a conservative region (CR), evolving mainly by base substitutions (Fig. 7). In VR, a conservative element (CE) was detected. Ribosomal DNA with one CE in the 5'ETS (ancestral structural variant A) was found in European out-group species (*S. dulcamara*, *S. nigrum*), in non-tuber-bearing South American species of ser. *Etuberosa*, and in Central American tuber-bearing diploids. Duplication of CE occurred in the 5'ETS of South American diploid species of sers. *Commersoniana* and *Circaeifolia* (variant B). All other South American diploids and Central American polyloids of superser. *Rotata* also possess two CE, and additionally two duplica-

Tab. 2 KIMURA-2-parameter distances calculated for *Acer* and *Fagus*

	mean intraspecific diversity <sup>[1]</sup>	interspecific diversity <sup>[1]</sup> (group mean) (other groups)	mean interspecific diversity <sup>[1]</sup>		mean intraspecific diversity <sup>[1]</sup> (within subgenus)	mean interspecific diversity <sup>[1]</sup> (other lineages)	mean interspecific diversity <sup>[1]</sup>	
<i>D. sinensis</i>	0.001	n/c	0.001	<b>subgen.</b>	<i>F. engleriana</i>	0.091	0.086	0.097
<b>Acer-clade</b>	sect. <i>Acer</i>	0.08	0.101	<b>Engleriana</b>	<i>F. japonica</i>	0.086		
	sect. <i>Ginnala</i>	0.050	n/c		<i>F. grandifolia</i>	0.014	0.039	0.053
	ser. <i>Grisea</i>	0.006	0.019		<i>F. hayatae</i>	0.035	0.040	0.049
	sect. <i>Indivisa</i>	0.005	n/c	<b>subgen.</b>	<i>F. longipetiolata</i>	0.034	0.034	
	sect. <i>Rubra</i>	0.002	0.004		<i>F. lucida</i>	0.028 <sup>[3]</sup>	0.032	
	sect. <i>Trifida</i>	0.008	n/c		<i>F. crenata</i>	0.016	0.030	0.056
					Georgian <i>F. sylvatica</i>	0.025	0.029	
<b>Palmata-clade</b>	ser. <i>Arguta</i>	0.004	0.010		other <i>F. sylvatica</i>	0.014	0.028	
	ser. <i>Caudata</i>	0.049	0.021					
	ser. <i>Cissifolia</i>	0.002	0.003					
	ser. <i>Negundo</i>	0.010	n/c					
	sect. <i>Palmata</i>	0.011	0.067					
<b>Platanoidea-clade</b>	ser. <i>Lithocarpa</i>	0.013	n/c					
	ser. <i>Macrophylla</i>	0.000	n/c					
	sect. <i>Macrantha</i>	0.014 <sup>[2]</sup>	0.041 <sup>[2]</sup>					
	sect. <i>Platanoidea</i>	0.009	0.042					

[1] Within group averages calculated via Kimura 2-parameter substitution model, gamma-distributed (MEGA 2.1®).

[2] In the case of taxa of sect. *Macrantha* the comparably low intraspecific diversity and the high interspecific diversity is due to the occurrence of two distinct genotypes. Species which can be assigned to the same genotype are basically identical (not differentiated on a molecular level).

[3] Mainly due to interlocality variability

tions around CE1 are present in VR (variant C). Finally, 18S–25S rDNA with six CE in the 5'ETS was found in tomato (*S. lycopersicum*) and related wild species (variant D). Amplification of CE occurred independently at least two times, in “potato”- and “tomato”-lineages (VOLKOV et al. 2003, KOMAROVA et al. 2004). Phylogenetic dendrograms derived from the comparison of the 752-bp portion of 5'ETS upstream of the 18S rRNA coding region (i.e. excluding all major structural rearrangements detected in VR) agree well with the biogeographical and morphological data and showed that the *structural variants A–D* found in the 5'ETS are characteristic for different clades and, therefore, can be used as taxonomically significant diagnostic “macrocharacters” in the sect. *Petota*.

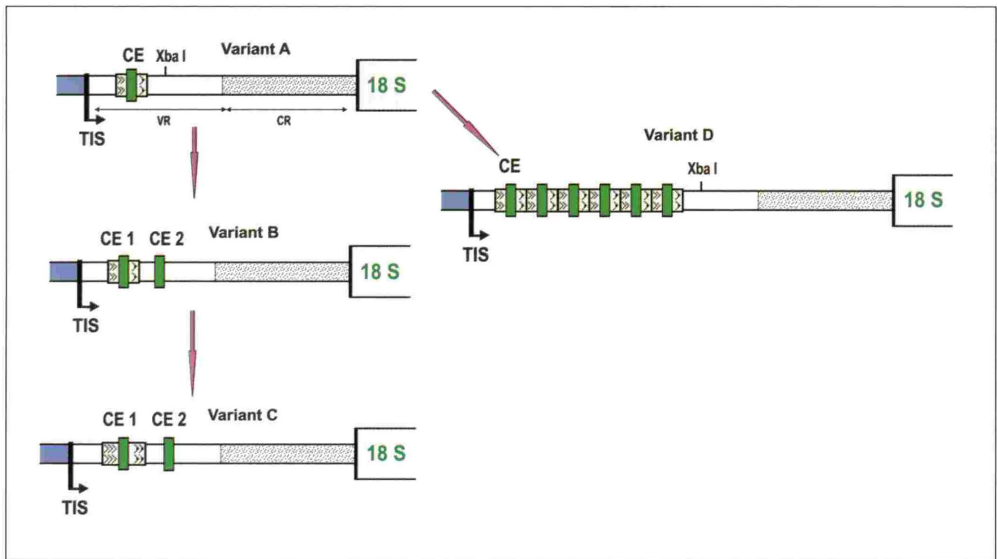


Fig. 7 Independent amplification of CE in the ETS of *Solanum* species. Abbr.: CE, conservative element; TIS, transcription initiation site.

## 2.2 Intraspecific Differentiation

Comparison of rDNA spacer regions is mainly used to describe interspecific differentiation. In combination with cloning, rDNA spacer sequence data can be useful for intraspecific studies. DENK et al. (2002) compared the patterns of ITS variability in individuals of *Fagus sylvatica* from western Eurasia with the lack of decent morphoclines in this taxon (DENK 1999a,b). Our results showed that the overlapping intraindividual variability is in accordance with the morphological variability detected in the respective populations. The combined data indicated a Transcaucasian origin of *F. sylvatica* and a subsequent loss of genetic variability towards central and western Europe, which could be further confirmed by additional molecular and morphological data from the remaining taxa of the genus (DENK 2003, GRIMM 2003, DENK et al. 2005). General observations for the genus *Fagus* clearly point towards a northern Pacific origin of the genus and to East Asia as centre of diversification and modern refuge

for primitive taxa. Transferring the assembled morphological, fossil, and ITS data into this evolutionary framework, it is possible to reconstruct the gene pools (i.e. ITS pools in a strict sense) of extinct ancestral taxa and their modern relatives (Fig. 8). In strong correlation to the fossil record, these gene pools reflect an *ancestral intraspecific differentiation* that gave rise to the extant and morphologically distinct species.

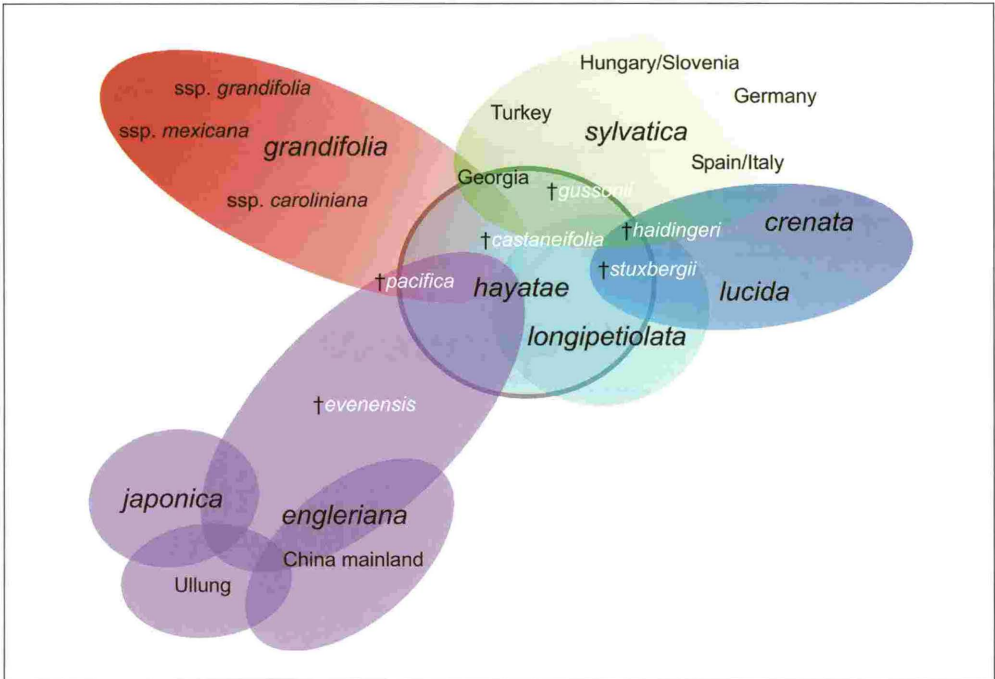


Fig. 8 Ancient and recent ITS pools in *Fagus*. Note that specific ITS molecular characteristics are shared by different taxa. Species' ITS boundaries are indicated by accordingly coloured circles. Assumed position of extinct predecessors (in white font) of modern species is given by the correlation with morphological and palaeobiogeographical evidence (cf. DENK 2003, GRIMM 2003, DENK et al. 2005).

*Lathyrus pannonicus*, a member of the basal subgenus *Orobus* sect. *Lathyrostylis*, shows a remarkable intraspecific differentiation in regard to phytosociological, morphological, and molecular genetical characteristics (ITS and ETS data) of analyzed populations throughout Europe (SCHLEE et al. 2003, M. SCHLEE, W. SAUER, and V. HEMLEBEN, in prep.). Apparently, an *ancient ITS polymorphism*, which occurred in species of Siberia (subsp. *multijugus*), has been retained in a derived form throughout all sampled populations and each distinguished subspecies of *L. pannonicus*. Molecular peculiarities found in the ITS polymorphs of each population further allow the reconstruction of putative migration pathways. Moreover, intraspecific differentiation related to an ecological shift from dry to wet ecotypes in the Pannonian area is also reflected in the ITS polymorphs. Populations and subspecies which are adapted to more wet ecological conditions share exclusive point mutations and intraindividual site variabilities, which are not found in the dry adapted counterparts. This is confirmed by ETS data

(Fig. 9) from selected individuals: A maximum likelihood analysis places an ecologically intermediate individual of *L. pannonicus* subsp. *varius* from Istria in between and basal to clades comprising either the dry adapted subspecies *collinus* (including *suevicus*) or the more moist tolerant subspecies *pannonicus*. The latter one was established in course of the ecological shift in the Pannonian area and is suggested to be the ancestor of the further derived subspecies *longestipulatus*, which extended the species' range to the Atlantic and northern Spain, respectively (Fig. 9).

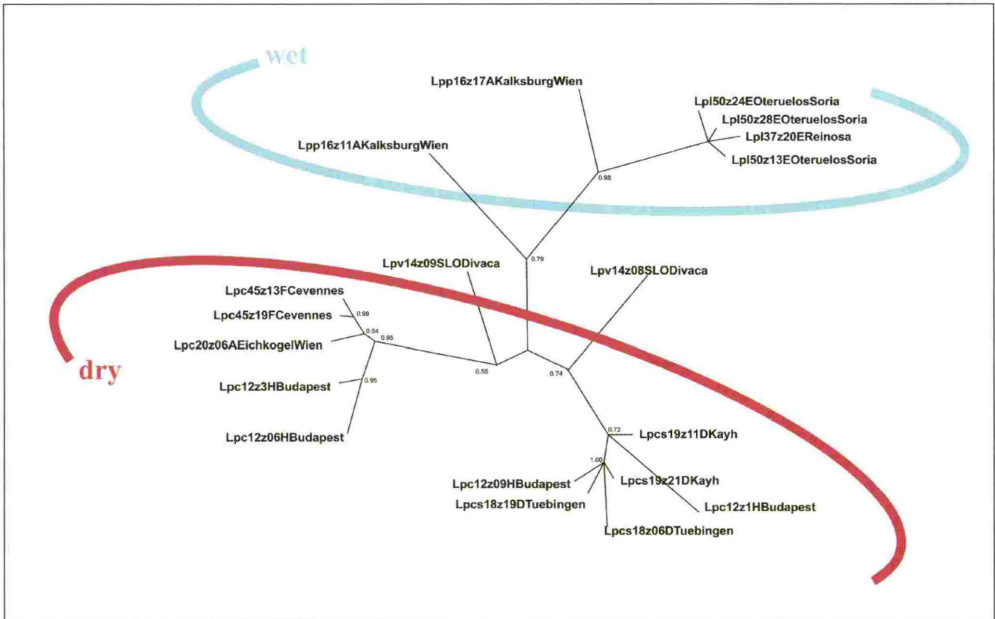


Fig. 9 ML phylogram based on the 5' ETS of individuals of *Lathyrus pannonicus* out of different relevées representing wet and dry stands (inferred via BI). Clone labels: Lpp, subsp. *pannonicus*, Pannonicum; Lpl, subsp. *longestipulatus*, Spain; Lpc(s), subsp. *collinus* including *suevicus*, Central Europe. Numbers at nodes are computed posterior probabilities.

### 2.3 Identification of Hybrids

Horizontal gene flow as a consequence of interspecific hybridization represents a common evolutionary feature of flowering plants (GRANT 1981). Accordingly, the pathways of speciation are often reticulate and not dichotomous. In the case of recombinational speciation (GRANT 1981) interspecific hybridization occurs at the same (mainly diploid) ploidy level, and a derived hybrid contains a "mix" of chromosomes of both parents (cf. Fig. 2). This could apply to the ITS situation detected for *Zelkova* and *Fagus* (see above), which are considered to comprise mainly diploid species (with the exception of the triploid *Z. sicula*). Respectively, in these genera, intragenomic heterogeneity of rDNA may indicate introgression of genetic information from a related species. Such situation was observed in our investigations of genus *Lathyrus* (M. SCHLEE, W. SAUER, and V. HEMLEBEN, in prep.). In *L. filiformis* most ITS clones

are nearly identical for individuals of different populations. However, in a Moroccan individual 5 clones showed ITS types which are either typical for *L. bauhinii* or for populations of *L. pannonicus* subsp. *longestipulatus* in northern Spain. Contamination (e.g. by alien pollen on the leaf surface) can be fairly ruled out, since (i) the studied individual was the only *Lathyrus* specimen in the used collection (Herbarium FB) and (ii) *L. bauhinii* and *L. pannonicus* are not found in Morocco. Hence, these data would indicate subrecent horizontal gene flow between *L. bauhinii*, *L. filiformis* and *L. pannonicus* with respect to the ancestors of the *L. filiformis* populations nowadays native to Morocco (data not shown).

In hybrids, comparison of rDNA spacer sequences allows identification of a species donating the rDNA-bearing chromosome. Generally, phylogeny obtained for molecular markers located at different chromosomes should have the same topology if no reticulate evolution takes place. In our studies of diploid *Solanum* species of sect. *Petota* the same phylogeny up to the level of series was produced, both for 5S rDNA spacer sequences (VOLKOV et al. 2001) and 5' ETS of the 18–25S rDNA (VOLKOV et al. 2003), which are located at chromosome I and II, respectively (GEBHARDT et al. 1991). In contrast, ETS sequences of members of the *S. brevicaulis* complex (UGENT 1970) never grouped together, but were distributed between other species of ser. *Tuberosa*, illustrating reticulate evolution in the group and demonstrating that the *S. brevicaulis* complex is composed of morphologically similar but not always genetically closely related species (VOLKOV et al. 2003).

Another mode of hybridization in plants represents allopolyploidization, which produces polyploid species containing complete chromosomal sets of diploid parents (cf. Fig. 2). In this case comparison of ITS/ETS sequences could be also applied to trace back the origin of the allopolyploid genome as it was shown in our investigations for several polyploid species of potato (VOLKOV et al. 2003). In contrast, the tetraploid *Acer pseudoplatanus* and the octaploid *A. rubrum* and *A. saccharinum* ITS sequences were found to be extremely homogeneous and obviously distinct from all ITS sequence variants found in related diploid *Acer* species; therefore, the origin of the *Acer* polyploids still remains unclear. A possible explanation could be that the parental forms are extinct. It is also possible that the rDNA variants of modern allopolyploids endured intensive concerted evolution, which resulted in homogenization/elimination of repeats of one of the diploid parents and even additional rearrangement of 18S–25S rDNA of the other parent. In this case, only one type of rDNA would be observed, which appears rather uniform. A similar phenomenon was described for the tetraploid tobacco (*Nicotiana tabacum*; VOLKOV et al. 1999). However, the maintenance of the 18S–25S rDNA from both parents was demonstrated in other species, e.g. in *Brassica* (CHEN and PIKAARD 1997) and *Solanum* (VOLKOV et al. 2003), suggesting either a recent origin of the respective allopolyploids and/or different rates of homogenization in different taxonomic groups.

### 3. Conclusion and Outlook

The rDNA spacer sequences obtained for several plant genera represent most valuable molecular data sets for all kinds of detailed studies addressing various aspects of intrageneric evolution and the origin and differentiation of species. Since PCR and sequencing is a rather easy and fast method, the determination of taxon-specific rDNA based characteristics provides valuable tools for taxonomic and systematic studies. This is especially of importance for the estimation of “number of species”, which is the basis to count biodiversity. We have to keep



in mind that certain genera are morphologically variable and include numerous accepted species and infraspecific taxa, although they demonstrate relatively low sequence variability in the rDNA spacer. An interesting example here represents sect. *Petota* of genus *Solanum*, which according to HAWKES (1990) comprises 234 species. Many of these species are morphologically polymorph, but differ from each other only by overlapping character states. Respectively, they can be morphologically distinguished only by using numerical phenetic analysis (SPOONER et al. 2000, 2001). Our data show that such species are also very similar at the molecular level (VOLKOV et al. 2003), supporting the proposal to reduce significantly the number of species recognized in sect. *Petota* (e.g. SPOONER et al. 2000, 2001). Other groups (e.g. *Fagus*) exhibit a relatively high ITS sequence variability, but are morphologically conserved. The example of *Fagus* (cf. Tab. 2) illustrates that in this genus the protection of each Asian individual is more important than that of any European population in regard to preserve the full genetic potential of this genus. The first group (many-species, morphologically variable genera) is always in the focus of biodiversity and systematics, while the latter (few-species, morphologically conserved genera) is often ignored.

Our work with selected plant model groups demonstrates that molecular and morphological data should be combined to evaluate “taxa”, in particular to define the boundaries of species. Moreover, the major evolutionary trends documented in the fossil record and (palaeo)biogeographical phenomena, like migration routes, (re-)occupation of niches and ecological shifting, should be considered (HEMLEBEN 1999). Especially, the detection of refugial habitats may help to identify the hotspots of evolution, where processes of speciation are evident and prototypes of modern taxa can be found as we have already shown in case of *Fagus* and *Zelkova*.

To reconstruct reticulate intrageneric evolution, we need information about all presumptive paternal lineages. Accordingly, ITS/ETS sequence comparison allows identification of the 18S–25S rDNA donors, both in diploid hybrids and in allopolyploids. Sequence polymorphism among members of a population may indicate introgression of genetic material of related species. In many cases, both parental rDNA variants could be identified, especially if “young” hybrids/allopolyploids were studied. In addition, rearrangement of genetic material was demonstrated in “old” natural allopolyploids as a result of concerted evolution, which led to homogenization/conversion of parental rDNA. Hence, introgression and allopolyploidization, recent and ancient, respectively, may be traced back on the molecular level using sequence comparison of rDNA spacer sequences. It is obvious that the reconstruction of complex pathways of plant speciation is dependent on as much as possible data reflecting not only interspecific differentiation, but also the intraspecific and intraindividual variability, which can be documented by cloning and sequencing of a large number of clones.

Although the generation of a single mutation is a statistical phenomenon, its fixation at a particular position in any gene region is a function of evolution. This is in particular true, if not a single nucleotide with its limited number of character states (i.e. A, C, G, and T) is addressed but complexes of evolutionary linked mutations. The analysis of distribution of original and derived ITS sequence variants among *Zelkova* species and the subrepeat organization in the ETS of *Solanum* demonstrate that well-sustained hypotheses about phylogeny and molecular evolution can be established without relying solely on computer algorithms and standard molecular base-per-base analysis methods. Instead, molecular systematics should in addition focus on “molecular macrocharacters” like taxon-specific sequence variants, structural rearrangements, repeat patterns, etc., in comparison to complex morphological characters

such as leaf anatomy and flower morphology, which are commonly used for taxonomic and systematic purposes. As demonstrated for *Fagus* and *Zelkova* those basically phenomenological analyses outperform the capabilities of computer-based, mainly statistical methods and were found to correlate perfectly with and to round off the morphological and fossil evidences. Crucial for future studies on the pathways of molecular evolution is a better understanding of the molecular mechanisms that determine mutation patterns. An intriguing question is why mutations do appear preferentially in particular positions, e.g. in ITS, in different taxonomic groups. Especially in the case of intrageneric evolution, the major task for molecular systematics should not be simply the accumulation and evaluation of sequence data, but the tracking of internal and external factors which determine speciation and molecular variability. The identification and subsequent analysis of molecular macrocharacters may be one clue to this problem.

## References

- ÁLVAREZ, I., and WENDEL, J. F.: Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Mol. Phyl. Evol.* 29, 417–434 (2003)
- ASMUSSEN, C. B., and LISTON, A.: Chloroplast DNA characters, phylogeny, and classification of *Lathyrus* (Fabaceae). *Amer. J. Bot.* 85, 387–401 (1998)
- BÄSSLER, M.: Revision von *Lathyrus* L. sect. *Lathyrostylis* (Griseb.) Bässler (Fabaceae). *Feddes Rep.* 92, 179–254 (1981)
- BAILEY, C. D., CARR, T. G., HARRIS, S. A., and HUGHES, C. E.: Characterization of angiosperm nrDNA polymorphism, paralogy, and pseudogenes. *Mol. Phyl. Evol.* 29, 435–455 (2003)
- BALTHAZAR, M. VON, ENDRESS, P. K., and QIU, Y.-L.: Phylogenetic relationships in Buxaceae based on nuclear internal transcribed spacers and plastid *ndhF* sequences. *Int. J. Plant Sci.* 161, 785–792 (2000)
- CHEN, Z. J., and PIKAARD, C. S.: Transcriptional analysis of nucleolar dominance in polyploid plants: Biased expression/silencing of progenitor rRNA genes is developmentally regulated in *Brassica*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 3442–3447 (1997)
- DENDUANGBORIPANT, J., and CRONK, Q. C. B.: Evolution and alignment of the hypervariable arm 1 of *Aeschynanthus* (Gesneriaceae) ITS 2 nuclear ribosomal DNA. *Mol. Phyl. Evol.* 20, 163–172 (2001)
- DENK, T.: The taxonomy of *Fagus* in western Eurasia, 1: *Fagus sylvatica* subsp. *orientalis* (= *F. orientalis*). *Feddes Rep.* 110, 177–200 (1999a)
- DENK, T.: The taxonomy of *Fagus* in western Eurasia, 2: *Fagus sylvatica* subsp. *Sylvatica*. *Feddes Rep.* 110, 381–412 (1999b)
- DENK, T.: Phylogeny of *Fagus* L. (Fagaceae) based on morphological data. *Plant Syst. Evol.* 240, 55–81 (2003)
- DENK, T., and GRIMM, G. W.: Phylogeny and biogeography of *Zelkova* (Ulmaceae s. str.) as inferred from leaf morphology. ITS sequence data and the fossil record. *Bot. J. Linn. Soc.* 147, 129–157 (2005)
- DENK, T., GRIMM, G. W., and HEMLEBEN, V.: Patterns of molecular and morphological differentiation in *Fagus*: implications for phylogeny. *Amer. J. Bot.* 92, 1006–1016 (2005)
- DENK, T., GRIMM, G., STÖGERER, K., LANGER, M., and HEMLEBEN, V.: The evolutionary history of *Fagus* in western Eurasia: Evidence from genes, morphology and the fossil record. *Plant Syst. Evol.* 232, 213–236 (2002)
- FRANZ, P., ARMSTRONG, S., ALONSO-BLANCO, C., FISCHER, T. C., and TORRES-RUIZ, R. A.: Cytogenetics for the model system *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 13, 867–876 (1998)
- GEBHARDT, C., RITTER, E., BARONE, A., DEBENER, T., WALKEMEIER, B., SCHACHTSCHABEL, U., KAUFMANN, H., THOMSON, R. D., BONIERBALE, M. W., GANAL, M. W., TANKSLEY, S. D., and SALAMINI, F.: RFLP maps of potato and their alignment with the homologous tomato genome. *Theor. Appl. Genet.* 83, 49–57 (1991)
- GRANT, V.: *Plant Speciation*. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Columbia Univ. Press 1981
- GREBENSTEIN, B., RÖSER, M., SAUER, W., and HEMLEBEN, V.: Molecular phylogenetic relationships in Aveneae (Poaceae) species and other grasses as inferred from ITS1 and ITS2 sequences. *Plant Syst. Evol.* 213, 233–250 (1998)
- GRIMM, G. W.: Tracing the mode and speed of intrageneric evolution: A phylogenetic case study of genus *Acer* L. and genus *Fagus* L. Ph.D. thesis, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen (2003)
- HAWKES, J. G.: *The Potato Evolution, Biodiversity and Genetic Resources*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press 1990
- HEMLEBEN, V.: Die Bedeutung der Molekularbiologie für die moderne Evolutionsforschung. In: JUNKER, T., and ENGELS, E.-M. (Eds.): *Die Entstehung der synthetischen Theorie. Beiträge zur Geschichte der Evolutionsbiologie in Deutschland 1930–1950*. Band 2, S. 211–221. Berlin: VWB, Verlag für Wissenschaft und Bildung 1999

- HEMLEBEN, V., GANAL, M., GERSTNER, J., SCHIEBEL, K., and TORRES, R. A.: Organization and length heterogeneity of plant ribosomal RNA genes. In: KAHL, G. (Ed.): Architecture of Eukaryotic Genes; pp. 371–383. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH 1988
- HEMLEBEN, V., ZANKE, C., PANCHUK, I. I., and VOLKOV, R. A.: Repetitive elements as molecular markers in potato breeding. *Beiträge zur Züchtungsforschung* 4, 61–66 (1998)
- JOBST, J., KING, K., and HEMLEBEN, V.: Molecular evolution of the internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and phylogenetic relationships among species of Cucurbitaceae. *Mol. Phyl. Evol.* 9, 204–219 (1998)
- KOMAROVA, N. Y., GRABE, T., HUIGEN, D. J., HEMLEBEN, V., and VOLKOV, R. A.: Organization, differential expression and methylation of rDNA in artificial *Solanum* allopolyploids. *Plant Mol. Biol.* 56, 439–463 (2004)
- MANOS, P. S., and STANFORD, A. M.: The historical biogeography of Fagaceae: Tracking the tertiary history of temperate and subtropical forests of the Northern Hemisphere. *Int. J. Plant Sci.* 162, S77–S93 (2001)
- MUIR, G., FLEMING, C. C., and SCHLÖTTERER, C.: Three divergent rDNA clusters predate the species divergence in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L.: *Mol. Biol. Evol.* 18, 112–119 (2001)
- LIM, K. Y., KOVARIK, A., MATYASEK, R., BEZDEK, M., LICHTENSTEIN, C. P., and LEITCH, A. R.: Gene conversion of ribosomal DNA in *Nicotiana tabacum* is associated with undermethylated, condensed and probably active gene units. *Chromosoma* 109, 161–172 (2000)
- SCHLEE, M., SAUER, W., and HEMLEBEN, V.: Molekulare und pflanzensoziologische Analyse von pontisch-pannonischen Reliktarten aus wärmebegünstigten Saum-Gesellschaften Süddeutschlands und benachbarter Gebiete. *Nova Acta Leopoldina NF Bd. 87, Nr. 328*, 379–387 (2003)
- SHEN, C.-F.: A Monograph of the Genus *Fagus* Tournai ex. L. (Fagaceae). Ph.D. thesis, The City University of New York, New York (1992)
- SPOONER, D. M., VAN DEN BERG, R. G., and MILLER, J. T.: Species and series boundaries of *Solanum* series *Longipedicellata* (Solanaceae) and phenetically similar species in ser. *Demissa* and ser. *Tuberosa*: implications for a practical taxonomy of Section *Petota*. *Amer. J. Bot.* 88, 113–130 (2000)
- SPOONER, D. M., VAN DEN BERG, R. G., REVERA-PENA, A., VELGUTH, P., DEL RIO, A., and SALAS-LOPEZ, A.: Taxonomy of Mexican and Central American members of *Solanum* series *Conicibaccata* (sect. *Petota*). *Syst. Bot.* 26, 743–756 (2001)
- STANFORD, A. M.: The biogeography and phylogeny of *Castanea*, *Fagus*, and *Juglans* based on *matK* and ITS sequence data. Ph.D. thesis, Chapel Hill (1998).
- STEANE, D. A., SCOTLAND, R. W., MABBERLEY, D. J., and OLMSTEAD, R. G.: Molecular systematics of *Clerodendron* (Lamiceae): ITS sequences and total evidence. *Amer. J. Bot.* 86, 98–107 (1999)
- UCHIMIYA, H., OHGAWARA, T., KATO, H., AKIYAMA, T., HARADA, H., and SUGIURA, M.: Detection of two different nuclear genomes in parasexual hybrids by ribosomal RNA genes analysis. *Theor. Appl. Genet.* 64, 117–118 (1983)
- UGENT, D.: The potato. *Science* 170, 1161–1166 (1970)
- VAN GELDEREN, D. M., JONG, P. C. DE, and OTERDOOM, H. J.: *Maples of the World*. Portland, Oregon: Timber Press 1994
- VOLKOV, R. A., BORISJUK, N. V., PANCHUK, I. I., SCHWEIZER, D., and HEMLEBEN, V.: Elimination and rearrangement of parental rDNA in the allotetraploid *Nicotiana tabacum*. *Mol. Biol. Evol.* 16, 311–320 (1999)
- VOLKOV, R. A., ZANKE, C., PANCHUK, I. I., and HEMLEBEN, V.: Molecular evolution of 5S rDNA of *Solanum* species (sect. *Petota*): application for molecular phylogeny and breeding. *Theor. Appl. Genet.* 103, 1273–1282 (2001)
- VOLKOV, R. A., KOMAROVA, N. Y., PANCHUK, I. I., and HEMLEBEN, V.: Molecular evolution of rDNA external transcribed spacer and phylogeny of sect. *Petota* (genus *Solanum*). *Mol. Phyl. Evol.* 29, 187–202 (2003)
- VOLKOV, R. A., MEDINA, F. J., ZENTGRAF, U., and HEMLEBEN, V.: Molecular Cell Biology: Organization and molecular evolution of rDNA, nucleolar dominance and nucleolus structure. In: ESSER, K., LÜTTGE, U., BEYSCHLAG, W., and MURATA J. (Eds.): *Progress in Botany*. Vol. 65, pp. 106–146. Berlin, Heidelberg, New York: Springer 2004
- WISSEMANN, V.: Genetic constitution of *Rosa* Sect. *Caninae* (*R. canina*, *R. jundzillii*) and Sect. *Gallicanae* (*R. gallica*). *J. Appl. Bot. – Angewandte Botanik* 73, 191–196 (1999)
- WISSEMANN, V.: Molecular evidence for allopolyploid origin of the *Rosa canina*-complex (Rosaceae, Rosoideae). *J. Appl. Bot. – Angewandte Botanik* 76, 176 (2002)

Prof. Dr. Vera HEMLEBEN  
 Lehrstuhl für Allgemeine Genetik  
 Universität Tübingen  
 Zentrum für Molekular Biologie der Pflanzen (ZMBP)  
 Auf der Morgenstelle 28  
 72076 Tübingen  
 Germany

Tel.: +49 7071 2973554  
 Fax: +49 7071 295042  
 E-Mail: guido.grimm@uni.tuebingen.de

## **Publication 4**

SCHLEE, M.; GÖKER, M.; GRIMM, G. W. & HEMLEBEN, V. (2010)

**Relicts within the genus complex *Astragalus/Oxytropis* (Fabaceae), and the comparison of diversity by objective means**

In: HABEL, J. C. & ASSMANN, T. (eds.): Relict species – Phylogeography and conservation biology. Springer, Heidelberg. S. 105-117.

DOI 10.1007/978-3-540-92160-8\_5

Reprint with kind permission of Springer Science+Business Media, Heidelberg, Germany.

Original first publication of the volume:

DOI 10.1007/978-3-540-92160-8

ISBN 978-3-540-92159-2 (Print)

ISBN 978-3-540-92160-8 (Online)

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8339.2011.01125.x/abstract>

[accessed 2015-06-24]

# Relicts Within the Genus Complex *Astragalus/Oxytropis* (Fabaceae), and the Comparison of Diversity by Objective Means

Matthias Schlee, Markus Göker, Guido W. Grimm, and Vera Hemleben

**Abstract** *Astragalus* and *Oxytropis* represent one of the largest angiosperm genus complexes. It is widely discussed why – and if at all – it contains so many species. Here, we discuss how the genetic divergence in a postglacial relict species, *Oxytropis pilosa*, can provide insights into the relative genetic variance of taxa. Methods are introduced to obtain sequence clusters of similar genetic diversity and to detect statistically significant differences. These approaches provide objective means to identify taxa that deserve the same protection efforts, independent of a fixed species concept. *O. pilosa* ITS sequences display an inter- and intra individual variance, comparable to clusters comprising numerous accepted species. Regarding genetic diversity, some *O. pilosa* populations represent relicts that deserve the same or a higher protection status than some species of *Astragalus*. We discuss the need of objectivity in identifying the evolutionary hot spots as well as the measures to define and protect them.

## 1 Introduction

*Astragalus* (~2,500 species; Podlech 1986) and *Oxytropis* (~300 species) are closely related genera, representing one of the largest angiosperm genus complexes. Taxonomic instability within the genus complex comprising both *Astragalus* and

---

M. Schlee (✉) and V. Hemleben  
Center for Plant Molecular Biology (ZMBP) – General Genetics, University of Tübingen,  
Auf der Morgenstelle 28, D-72076 Tübingen, Germany  
e-mail: matthias.schlee@gmx.de

M. Göker  
DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Inhoffenstraße 7B, D-38124  
Braunschweig, Germany

G.W. Grimm  
Department of Palaeobotany, Swedish Museum of Natural History, Box 50007, S-10405  
Stockholm, Sweden

*Oxytropis* results in a high number of similarities, which may differ in their assignment to the genus. In fact, the separation of both genera is based on a single morphological criterion only: *Astragalus* exhibits a mucronate keel along the adaxial side of the legume, whereas *Oxytropis* is characterized by an abaxial carinate legume (Candolle 1802; Barneby 1964; Chater 1968). Molecular studies encountered difficulties in providing sufficient resolution at the species level, independent of the sequence marker used (nuclear and/or chloroplast DNA spacer: Sanderson 1991; Sanderson and Doyle 1993; Wojciechowski et al. 1993, 1999; Kazempour Osaloo et al. 2003). Efforts in chemotaxonomy were promising (Williams and Barneby 1977), but have been only sporadically applied (Tin et al. 2007).

It has been widely discussed why so many species are recognized for *Astragalus* (Sanderson and Wojciechowski 1996), but it has seldom been addressed whether this large number of species, which is continuing to increase in local floras, optimally represent the natural relationships. *Astragalus* underwent a considerable radiation in all its main centers of biodiversity: Eurasia (mainly Southwest Asia), Africa, North America, and South America. The high number of morphologically defined species – and varieties – is caused by numerous endemics, often referred to as “relict” species because of their isolated mountainous stands and small populations. It is rare to find widespread *Astragalus* species. *Astragalus* covers various climates within its biogeographical areas, such as continental to arctic steppes, stony alpine slopes, and Mediterranean mountainous rocky places or even tropical African highland (Barneby 1964; Gillett 1964; Chater 1968). The preference for mountainous habitats, in conjunction with (post)glacial rapid environmental changes, may have facilitated differentiation processes leading to a split up into numerous species and varieties.

*Oxytropis* shows a quite similar distribution area in Eurasia and North America compared to *Astragalus*, but is absent from South America. This distribution is comparable to that of another large genus – *Pedicularis* (Sauer et al. 1990). *Oxytropis* exceeds more to the (arctic) North of the Northern Hemisphere than *Astragalus*, and some remarkable species such as *O. campestris* with its distinct subspecies can be found on both continents. *Oxytropis pilosa* (Fig. 1) is a rare relict species exhibiting a highly fragmented distribution area. It is mainly found in the Pannonian Basin (Hungary to Austria) and in the Alps with prompt occurrences in Scandinavia (including the seashore of Gotland), the Baltic as well as in the Abruzzo (Hegi 1924; Meusel et al. 1965; M. Schlee, pers. observation). In a number of other accounts including *O. pilosa* (M. Schlee, G.W. Grimm, M. Göker, V. Hemleben, in prep.), the internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) of the nuclear ribosomal DNA (nrDNA) allowed reconstruction of detailed evolutionary pathways (Schlee et al. 2003; Denk and Grimm 2005; Grimm et al. 2007) as they are biparentally inherited, part of a multicopy gene region and undergo (to some degree incomplete) concerted evolution as well as frequent intragenomic recombination (Arnheim et al. 1980; Hemleben et al. 1988; Baldwin et al. 1995; Volkov et al. 2007). We detected significant intraspecific and intraindividual genetic variability in *O. pilosa* by cloning and sequencing a large number of nrDNA internal transcribed spacer sequences (ITS1 and ITS2; M. Schlee, G.W. Grimm, M. Göker,



**Fig. 1** *Oxytropis pilosa*, xerothermic habitat on gypsum, Ascoli Piceno, Marche, Italy

V. Hemleben, in prep.). The variability found allows discussion of migratory and evolutionary patterns for this species, which will form the subject of an upcoming study.

Here, we make use of the large amount of sequence data obtained for *O. pilosa* to conduct a comparison of the genetic diversity of clades by objective means. This is done to find an alternative to classical methods, such as morphotaxonomy-based approaches for the identification of units that represent hot spots of biodiversity (here, genetic resources). We apply non-hierarchical single-linkage clustering to the combined *Astragalus* and *Oxytropis* ITS dataset after determining the distance threshold that optimally delimits *O. pilosa*. Thus, the resulting clusters represent estimates for species boundaries obtained by the use of an operational and fully-automated method treating *O. pilosa* as the standard. The clusters are expected to be uniform, given the distance threshold and the clustering algorithm (i.e., non-hierarchical single-linkage, NHSL). The obtained clusters are discussed with respect to the taxonomic affiliation (assigned species) of the comprised sequences. A character-based approach is used to determine whether the genetic diversity of selected clusters is significantly distinct. If one agrees that in conservation management major emphasis needs to be laid on equal protection efforts for taxa that are equally diverse (Watt 1947; Stock et al. 1999; Potthast 2000; Schlee 2004), it is crucial to compare diversity by appropriate means. Taking into account that taxonomic affiliations and taxonomic ranks often only poorly reflect relative genetic variance, we wonder whether they are sufficient to determine valuable genetic resources. Here, we thus address the question if biodiversity assessment based on substantial molecular data is superior to estimating diversity from data linked to the recognition of morphospecies and if the proposed techniques are valuable to estimate the relative need for conservation efforts as a means to discriminate protection units. Finally, we

briefly discuss the conservation measures that are appropriate in the case of *O. pilosa*, once the most valuable genetic resources have been identified.

## 2 Material and Methods

In addition to our own dataset of *Oxytropis* ITS clones comprising the ITS1, 5.8S rDNA, and ITS2 regions, and flanking 18S and 25S rDNA (also including some European *Astragalus*; EMBL accession numbers AM401376 to AM401574; AM943374 to AM943384; FM205750 to FM205773), we added all ITS sequences stored in DDBJ, EMBL, and NCBI gene banks (sequences usually obtained by direct sequencing, not by cloning; downloaded on January 2008) for the genera *Astragalus* and *Oxytropis*. Solitary ITS1 and ITS2 sequences were combined if they belonged to the same source according to the original literature/description. The sequences were aligned using the POA program (Lee et al. 2002). The 5.8S rDNA was excluded from the analyses. Phylogenetic inference was performed under the maximum likelihood (ML) optimality criterion using RAxML 7.0 (Stamatakis 2006; Stamatakis et al. 2008). The program implements a new fast ML bootstrapping and subsequent search for the best topology. Duplicate sequences were eliminated prior to ML analyses. Tree inference and 100 bootstrap replicates were conducted under the CAT approximation (Stamatakis 2006), but final parameter optimization was done under a GTR+ $\Gamma$  model. A plain text (NEXUS) file containing the complete alignment, GenBank accession numbers, and information on the sets of identical sequences reduced by RAxML to a single one, respectively, is available at <http://www.goeker.org/mg/clustering/>.

To obtain a non-nested sequence classification based on the given distance (or similarity) threshold, we use NHSL clustering, as in the case of the popular tool blastclust (<ftp://ftp.ncbi.nih.gov/blast/documents/blastclust.html>; regarding hierarchical single-linkage clustering, see, e.g., Legendre and Legendre 1998, pp. 308–312). NHSL is based on the notion of a “link”. A link is defined as any distance between two objects (here, sequences) that is smaller than or equal to the predefined threshold. NHSL starts by assigning the first object to the first cluster. For each of following objects in turn, it assigns that object to the same cluster than a previously clustered object if the distance between them is a link. If no such previously classified object is found, the current object is assigned to a new cluster. If several such previously classified objects are found that belong to distinct clusters, these clusters are joined.

Obviously, larger threshold values will result in larger but less numerous clusters, whereas small thresholds will lead to numerous small clusters. A biologically sensible threshold is usually not known a priori. However, a particularly well studied (and monophyletic) taxon (here, *O. pilosa*), can be used as a standard by determining the lowest possible threshold that results in all sequences obtained from that taxon being assigned to a single cluster. It is easy to implement an algorithm that calculates this value for a predefined group. Wirth et al. (1966, p. 61) who used similarities



instead of distances define "...a similarity value,  $c$ , which is the largest fixed linking similarity value for which the cluster is still an interlinked aggregate of specimens". For each of the  $n$  objects within the group, the distance to the least distant object that belongs to the same group is determined; the largest of these  $n$  values represents the result, analogous to  $c$ . This is due to the fact that in NHSL, a *single* link is sufficient for an object to be assigned to a cluster. This algorithm and NHSL have been implemented in the program OPTSIL (Göker et al. 2009) which is available upon request. The determination of the standard threshold and NHSL relied on uncorrected distances (also called "Hamming" or " $p$ " distances; e.g., Swofford et al. 1996, p. 455), which represent the relative number of deviations between two sequences. For downloaded sequences, we relied on the NCBI taxonomy provided in the same files to assign them to genera and species. The optimal threshold calculated for *O. pilosa* was then applied in NHSL.

A disadvantage of the NHSL approach is that clustering methods such as single-linkage clustering cannot be considered as valid methods of phylogenetic inference, mainly because lower pair wise distances (or higher similarities) do not necessarily indicate a closer phylogenetic relationship (e.g., Felsenstein 2004, pp. 165–167). This issue has led to the widespread avoidance of UPGMA clustering (Sokal and Michener 1958) in phylogenetic studies. However, the difficulties may be tempered or even disappear if non-nested clustering is applied and if species are to be distinguished, because within-species sequence dissimilarities are expected to be rather low. The same rationale applies to the usual arguments against uncorrected distances because unobserved, superimposed nucleotide substitutions only play a role if distances are large (e.g., Felsenstein 2004, p. 158).

Göker and Grimm (2008) used the well-known Shannon entropy formula (Shannon 1948) to calculate the character data of *hosts* (plant individuals) from the character data of their *associates* (cloned sequences obtained from the respective plant individuals). For all sequences belonging to the same individual, the entropy of each alignment column was calculated to represent the amount of genetic divergence within each individual using the program G2CEF designed and implemented by M. Göker (downloadable from <http://www.goeker.org/mg/distance/>). An alignment of length  $n$  will thus result in  $n$  corrected entropy values per group. Because the variance in nucleotide characters may depend on the number of sequences, each entropy value was corrected by division through the maximum possible entropy for the given number of associates, which is 0 in the case of a single associate. Accordingly, the corrected entropy values for individuals present with a single sequence only are undefined.

For each pair of groups,  $n$  differences between the  $n$  corresponding corrected entropy values can be determined. Subsequently, a non-parametric Wilcoxon signed-rank test or a parametric t-test (or any other appropriate statistical test) can be applied to assess whether the distribution of these differences significantly deviates from 0 and, thus, the two original entropy distributions are significantly different from each other. This procedure is similar to paired-site tests used to assess whether the scores of two phylogenetic trees are significantly different, given a sequence alignment of the same taxa (Felsenstein 2004, p. 364 ff.). Pair wise tests

were conducted with R (R Development Core Team 2005) and restricted to those clusters obtained by NHSL that comprised more than five sequences.

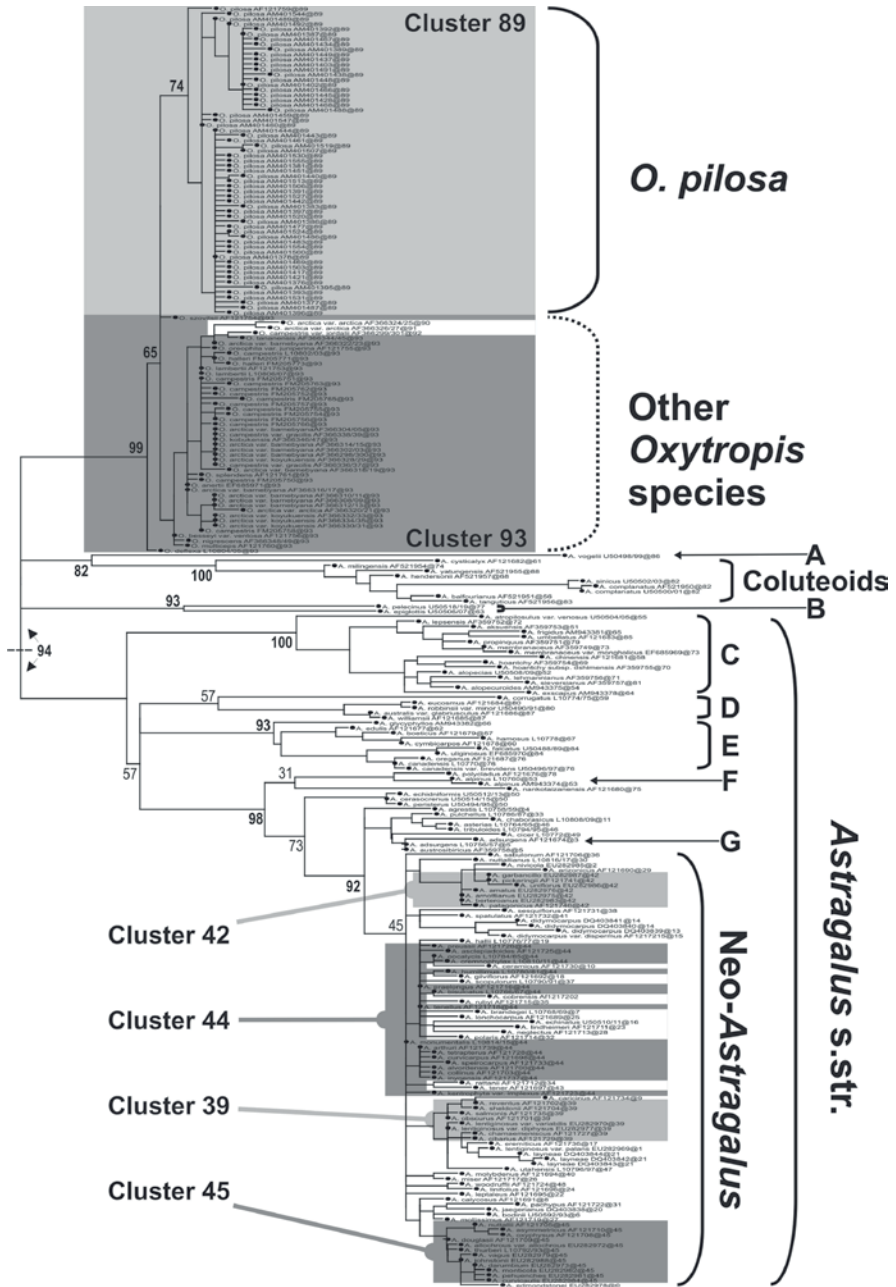
### 3 Results

Our final data matrix comprised 437 ITS sequences of *Astragalus* and *Oxytropis* species comprising 464 characters from ITS1 and ITS2. Of these 437 sequences, 184 were exact sequential duplicates of others; 291 of the 464 characters were variable and 195 were parsimony-informative. After elimination of duplicates, the alignment analyzed under ML comprised 358 distinct alignment patterns, including a proportion of gaps and completely undetermined characters of 7.48%. The best ML tree obtained is shown in Fig. 2. The tree was rooted along an unresolved backbone polytomy giving respect to a bipartition that separated all *Astragalus* s.str. from the remaining *Astragalus* lineages and *Oxytropis* (in 98% of ML bootstrap replicates). The remaining backbone could be considered to be rather well-resolved, indicating several lineages with bootstrap support (BS) between 70 and 100. Towards the tip of the tree, a general decrease in BS was observed (details not shown). Particularly, the well-known *Neo-Astragalus* clade received little BS. Multiple accessions of the same *Astragalus* species (also listed in Table 1) were found within the same clade (with varying support), as were all ITS sequences of *O. pilosa* (BS=74, new cloned data plus one directly sequenced NCBI GenBank accession). In contrast, the two other extensively sampled species of *Oxytropis*, *O. arctica* and *O. campestris*, were intermixed with each other and with several other *Oxytropis* species.

Optimal distance thresholds calculated for the present species are shown in Table 1. We obtained an optimal value for *O. pilosa* of about 0.0069. Results of NHSL obtained with the optimal threshold are shown together with the ML tree in Fig. 2.

The largest clusters and their properties are shown in Table 2. *Oxytropis campestris* appeared inseparable from *O. arctica* as well as from a number of less intensively sampled *Oxytropis* species. The clusters 39, 42, 44 and 45 each contained a number of distinct *Astragalus* species, indicating that genetic divergence within many accepted *Astragalus* species is much lower than within either *O. pilosa* or the *O. arctica*–*O. campestris* complex.

The results of the Wilcoxon signed-rank and t-tests, which are shown in Table 3, confirmed this conclusion. According to the Wilcoxon test, genetic divergence of *O. pilosa* was not significantly different from the *O. arctica*–*O. campestris* complex, but significantly different (lower) from *Astragalus* clusters 44 and 45 (species numbers given in Table 2), and significantly different (higher) from *Astragalus* cluster 42 and *Astragalus* cluster 39, respectively. According to the t-test, genetic divergence of *O. pilosa* was not significantly different from any of the other clusters, whereas the *O. arctica*–*O. campestris* complex was significantly more divergent than *Astragalus* clusters 42 and 39, respectively.



**Fig. 2** ML phylogram based on ITS data of *Astragalus* and *Oxytropis*, with major clusters (see text) and clades annotated. Numbers at nodes indicate non-parametric bootstrap support based on 100 ML bootstrap replicates. Clusters (see text) are highlighted by distinct background shading, clade names are given at right. A, *A. vogelii*; B, *A. epiglottis* and *A. pelecinus*; C, clade of Eurasian *Astragalus*; D, *A. corrugatus* and allies; E, clade of Eurasian and North American *Astragalus*; F, *A. alpinus*; G, *A. adsurgens* (cf. Table 1)

**Table 1** Optimal distance thresholds (i.e., smallest thresholds for which the group is retained in a non-hierarchical single-linkage clustering; NHSL) for the *Astragalus* and *Oxytropis* taxa present in the molecular dataset

Taxon	Optimal threshold	Number of sequences
<i>A. hoantchy</i> , clade C	0.01609195	3
<i>A. didymocarpus</i> , <i>Neo-Astragalus</i> clade	0.01395349	4
<i>A. adsurgens</i> , G	0.01173709	2
<i>O. campestris</i>	0.01162791	23
<i>A. lentiginosus</i> , <i>Neo-Astragalus</i> clade	0.00697674	6
<i>O. arctica</i>	0.00692841	18
<i>O. pilosa</i>	0.00688073	200
<i>A. membranaceus</i> , clade C	0.00458716	3
<i>A. alpinus</i> , F	0.00440529	2
<i>A. layneae</i> , <i>Neo-Astragalus</i> clade	0.00232558	3
<i>O. halleri</i>	0.00229358	7
<i>A. complanatus</i> , Coluteoid clade	0.00229358	2
Others	0	1

An optimal threshold of 0 is due to the presence of no more than a single sequence for the respective taxon or due to all sequences being identical. Single uppercase letters (C, F, G) after the taxon name refer to Fig. 2

**Table 2** Clusters containing more than five sequences obtained by using non-hierarchical single-linkage clustering and the optimal distance threshold determined for *O. pilosa*

Cluster no.	Number of species	Number of sequences contained	Taxonomy	Average corrected entropy
89	1	200	<i>O. pilosa</i>	0.005865
93	16	59	<i>O. arctica</i> , <i>O. campestris</i> , <i>Oxytropis</i> spp.	0.009686
44	19	19	<i>A. spp. (Neo-Astragalus)</i>	0.008344
45	14	16	<i>A. spp. (Neo-Astragalus)</i>	0.008122
42	13	16	<i>A. spp. (Neo-Astragalus)</i>	0.002533
39	12	16	<i>A. spp. (Neo-Astragalus)</i>	0.002326

The reference numbers of each cluster, the numbers, and the taxonomic affiliations of the contained sequences, and the average corrected entropy values are shown

**Table 3** Results of the Wilcoxon signed-rank tests (lower left half) and t-tests (upper right half) applied to the five largest clusters found by NHSL

Cluster no.	89	93	44	45	42	39
89	–	0.1466	0.4906	0.4288	0.08392	0.2013
93	0.4882	–	0.7527	0.6992	0.0005*	0.0279*
44	0.0099*	0.7671	–	0.9497	0.0291*	0.0694
45	0.0025*	0.4939	0.7987	–	0.0326*	0.0853
42	<0.0001*	<0.0001*	0.1052	0.0393*	–	0.9373
39	<0.0001*	<0.0001*	0.004*	0.0160*	0.3964	–

Differences significantly ( $p \leq 0.05$ ) deviating from 0 are marked with an asterisk

## 4 Discussion and Conclusion

Genetic variability of populations within the *Astragalus-Oxytropis* complex has most often been addressed by techniques, such as allozyme polymorphisms (Karron et al. 1988; two endemic and two widespread species), RFLP (Kulshreshtha et al. 2004; one *Astragalus* species comprising six varieties, two *Oxytropis* species, pea as outgroup), AFLP, or RAPD (Travis et al. 1996; one variety). Only a few studies used cloned ITS sequences to compare populations (Dong et al. 2003, eight widespread species, one comprising two varieties, another comprising two sub species; Yip and Kwan 2006, one widespread species from 23 localities divided into at least two undefined varieties). Both studies found the marker highly conserved, and proposed the use of 5S rDNA spacers for the future. In contrast, our results indicate that if a sufficiently large number of cloned sequences are retrieved and if populations are sampled from a broad biogeographic range, valuable insights into the genetic divergence of populations can be obtained. Such substantially sampled taxa (here, *O. pilosa*) can be used as standards to optimize distance thresholds for non-hierarchical clustering algorithms. The adapted clustering techniques will result in a division of sequences into subsets of comparable genetic divergence as a basis to define conservation units. Statistical tests based on multiple sequence alignments allow us to compare the molecular diversity of different groups by objective means and to identify the significant differences regarding genetic variance. In contrast, traditional approaches such as AFLP, RAPD, RFLP, and microsatellite studies are often methodologically restricted to the species level and are statistically difficult to interpret (Felsenstein 2004, pp. 240f, 246f).

Results of our molecular comparison approach are in agreement with previous studies. For instance, the fact that *O. campestris* and *O. arctica* are hardly separable has been addressed by Jorgensen et al. (2003). Likewise, the considerably high genetic variance observed in our *O. pilosa* data confirms the interpretation of that species as a relict species. Particularly, the comparison of *O. pilosa* and the *Neo-Astragalus* species underlines how much divergence is preserved within the former. In fact, single populations of *O. pilosa* are as divergent as or even considerably more divergent than some *Astragalus* species. As a consequence, they deserve the same conservation efforts as the latter. This result is striking regarding the tendency in literature to suggest the protection of even single alleles within a variety of *A. cremnophylax* (Travis et al. 1996; for further examples, see the discussion in Soltis and Gitzendanner 1999), one of the numerous species included in our cluster 44 (Fig. 2 and Tables 1–3). Already the limited data available on *Astragalus* indicates that some species within the *Neo-Astragalus* clade (Table 1) are genetically more diverse than others, which should be taken into account in course of conservation.

In our view, not each unique individual and/or morphotype should per se be considered a relict or endemic. Biodiversity hotspots and genetic resources can be detected by objective means, similar to the approach presented here. Suitable nature conservation efforts should, therefore, also rely on molecular markers and algorithms that identify those relict stocks with the highest potential for ongoing speciation

processes, and those stocks that are endangered to become extinct. A highly adaptive species complex will frequently evolve (and lose) new, unique, and locally restricted morphotypes, but will not necessarily significantly increase its genetic diversity (Table 3). As a consequence, such a species complex will show a high biodiversity as reflected by the number of accepted (endemic) “species”, with only little genetic divergence between them. On the other hand, true relict species such as *O. pilosa* are morphologically and ecologically restricted or conservative (Hegi 1924), but can harbor a high genetic diversity (cf. Tables 1–3).

Focusing on the genetic diversity within the ITS regions may only be part of the story. Most likely, amplifying additional genes will result in additional insight into ecology and morphology. However, because of a lack of both time and funding, it is hardly realistic to do such multi gene sequencing for a broad sample size, and to detect and protect each individual that is a potential founder organism. Rather, one should focus on the identification and protection of at least some of the remaining true relicts in our rapidly changing world. Even though the cost of sequencing is continuously decreasing (because of recent advances in high-throughput techniques), there will always remain a trade-off between the number of loci amplified per individual and the number of individuals examined. As demonstrated above, it is easy to quantitatively determine units with similar genetic diversity, as long as a sufficient number of sequences is amplified for an appropriate reference taxon (here, *O. pilosa*). Accordingly, focusing on a single molecular locus, preferably one for which a large number of sequences are already deposited in public databases, is likely to remain the method of choice in many future studies. Once the most valuable genetic resources have been identified, using the methods described above (or any other appropriate means), protection measures for these resources can be laid out. Phytosociological studies can provide valuable insights into a species’ habitat needs. Such studies are necessary, particularly if the genetic divergence within single individuals is so high that they deserve considerable conservation efforts, as confirmed by the present study for *O. pilosa*. In such a case, conservation should aim at preserving as much of the estimated genetic richness as is possible. The monitoring of relicts should be intensified, in general, using the combination of molecular and phytosociological methods to detect the evolutionary hotspots and endangered genetic resources as well as the means to protect them. Phytosociological surveys were conducted for *O. pilosa* using the Braun-Blanquet approach to quickly obtain detail-rich relevées (Schlee et al. 2003; M. Schlee, G.W. Grimm, M. Göker, V. Hemleben, in prep.). As a conclusion from these surveys, conservation efforts need to include more suitable land-use of the habitats. A management system should prefer a grazing over a cutting regime. The toxicity of *Astragalus* and *Oxytropis* species, in general, is here of lesser importance because food aversions can be conditioned if they do not already exist in grazing animals (Ralphs and Provenza 1999). Hairiness of the plants (e.g., *O. pilosa*) or spines (many *Astragalus* species) then remain the species’ natural means of protection. If disturbances are too weak, networking concepts for habitats (e.g., NATURA 2000 for Europe) fail. However, if the natural linkage between habitats cannot be restored, networking is not necessarily desirable when speciation is in progress because it might be

thwarted by artificial hybridization or homogenization among populations. The protection of ecological processes is, therefore, highly recommended instead of pursuing a networking concept at all cost. As a consequence, conservation efforts must hastily be improved to protect the disjunct populations of *O. pilosa* and to retain their genetic diversity as a valuable natural resource.

**Acknowledgments** Special thanks go to Angela Dressel and Karin Stögerer for technical assistance, and to Wilhelm Sauer for discussion. Reiner Schmahl, Eberhard Koch, Natalie Schmalz and Matthias Kropf, Ludmilla Barjaewa, Ludmilla Mantschenkowa, and Erich Kalmbach, Friedrich Schlee, Evgenia Zeidler-Schewzowa, and the University of Barnaul (Altai, Siberia) are kindly acknowledged for contributing plant material, GZU, LY, M, and MA for sending specimens for revision. Hospitality of the visited herbaria BC, BOLO, C, DR, E, FB, FI, FR, G, HBG, K, LE, LI, LJU, M, MPU (incl. SIGMA), P, RO, S, STU, TUB, UPS, W, WU, and Z was enjoyed with great pleasure. The project was supported by a grant of the “Landesgraduierföderung Baden-Württemberg”; grants for travelling were obtained from “Reinhold-und-Maria-Teufel-Stiftung” and the German Academic Exchange Service (DAAD).

## References

- Arnheim N, Krystal M, Schmickel R, Wilson G, Ryder O, Zimmer E (1980) Molecular evidence for genetic exchanges among ribosomal genes on nonhomologous chromosomes in man and apes. *Proc Natl Acad Sci USA* 77(12):7323–7327
- Baldwin BG, Sanderson MJ, Porter JM, Wojciechowski MF, Campbell CS, Donoghue MJ (1995) The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence of angiosperm phylogeny. *Ann Mo Bot Gard* 82(2):247–277
- Barneby RC (1964) Atlas of North American *Astragalus*. *Mem NY Bot Gard* 13(1–2):1–1188
- Candolle AP de (1802) [Astragalogia] Augustini-Pyrami Decandolle, Astragalogia nempe Astragali, Biserrulae et Oxytropidis, nec non Phacae, Colutae et Lessertiae, *Historia Iconibus Illustrata*. Joann. Bapt. Garnery, Parisiis
- Chater AO (1968) *Astragalus*. In: Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA (eds) *Flora europaea*, vol 2, 1st edn, Rosaceae to Umbelliferae. Cambridge University Press, Cambridge, pp 108–124
- Denk T, Grimm GW (2005) Phylogeny and biogeography of *Zelkova* (Ulmaceae s.str.) as inferred from leaf morphology, ITS sequence data and the fossil record. *Bot J Linn Soc* 147(2):129–157
- Dong TTX, Ma XQ, Clarke C, Song ZH, Ji ZN, Lo CK, Tsim KWK (2003) Phylogeny of *Astragalus* in China: molecular evidence from the DNA sequences of 5S rRNA spacer, ITS, and 18S rRNA. *J Agric Food Chem* 51(23):6709–6714
- Felsenstein J (2004) *Inferring phylogenies*. Sinauer Associates, Sunderland, MA
- Gillett JB (1964) *Astragalus* L. (Leguminosae) in the highlands of Tropical Africa. *Kew Bull* 17(3):413–423
- Göker M, Grimm GW (2008) General functions to transform associate data to host data, and their use in phylogenetic inference from sequences with intra-individual variability. *BMC Evol Biol* 8:86
- Grimm GW, Denk T, Hemleben V (2007) Evolutionary history and systematics of *Acer* section *Acer* – a case study of low-level phylogenetics. *Plant Syst Evol* 267(1–4):215–253
- Hegi G (1924) *Flora von Mitteleuropa*. IV. Band, 3. Teil: Dicotyledones 2. Teil Leguminosae – Tropaeolaceae, 1st edn. Carl Hanser, München
- Hemleben V, Ganai M, Gerstner J, Schiebel K, Torres RA (1988) Organization and length heterogeneity of plant ribosomal RNA genes. In: Kahl G (ed) *Architecture of eukaryotic genes*. VCH, Weinheim, pp 371–383

- Jorgensen JL, Stehlik I, Brochmann C, Conti E (2003) Implications of ITS sequences and RAPD markers for the taxonomy and biogeography of the *Oxytropis campestris* and *O. arctica* (Fabaceae) complexes in Alaska. *Am J Bot* 90(10):1470–1480
- Karron JD, Linhart YB, Chaulk CA, Robertson CA (1988) Genetic structure of populations of geographically restricted and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). *Am J Bot* 75(8):1114–1119
- Kazempour Osaloo S, Maassoumi AA, Murakami N (2003) Molecular systematics of the genus *Astragalus* L. (Fabaceae): Phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers and chloroplast gene *ndhF* sequences. *Plant Syst Evol* 242(1–4):1–32
- Kulshreshtha S, Creamer R, Sterling TM (2004) Phylogenetic relationships among New Mexico *Astragalus mollissimus* varieties and *Oxytropis* species by restriction fragment analysis. *Weed Sci* 52(6):984–988
- Lee C, Grasso C, Sharlow M (2002) Multiple sequence alignment using partial order graphs. *Bioinformatics* 18(3):452–464
- Legendre P, Legendre L (1998) Numerical ecology, 2nd English edn. Elsevier, Amsterdam
- Meusel H, Jäger E, Weinert E (1965) Vergleichende Chorologie der zentral-europäischen Flora. Band 1, Teil 1: Text; Band 1, Teil 2: Karten. Gustav Fischer, Jena
- Podlech D (1986) Taxonomic and phytogeographical problems in *Astragalus* of the Old World and South-West Asia. *Proc R Soc Edinb B* 89:37–43
- Potthast T (2000) Funktions-sicherung und/oder Aufbruch ins Ungewisse? Anmerkungen zum Prozeßschutz. In: Jax K (ed) Funktionsbegriff und Unsicherheit in der Ökologie. Beiträge zu einer Tagung des Arbeitskreises “Theorie” in der Gesellschaft für Ökologie vom 10. bis 12. März 1999 im Heinrich-Fabri-Institut der Universität Tübingen in Blaubeuren (=Theorie in der Ökologie; 2). Peter Lang, Frankfurt a.M, pp 65–81
- Ralphs MH, Provenza FD (1999) Conditioned food aversions: principles and practices, with special reference to social facilitation. *Proc Nutr Soc* 58(4):813–820
- R Development Core Team (2005) R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria
- Sanderson MJ (1991) Phylogenetic relationships within North American *Astragalus* L. (Fabaceae). *Syst Bot* 16(3):414–430
- Sanderson MJ, Doyle JJ (1993) Phylogenetic relationships in North American *Astragalus* (Fabaceae) based on chloroplast DNA restriction site variation. *Syst Bot* 18(3):395–408
- Sanderson MJ, Wojciechowski MF (1996) Diversification rates in a temperate legume clade: are there “so many species” of *Astragalus* (Fabaceae)? *Am J Bot* 83(11):1488–1502
- Sauer W, Gebert S, Shu-Kun C, Li H (1990) Beitrag zur Kenntnis chinesischer *Pedicularis*-Arten (Scrophulariaceae). *Razprave IV. razreda SAZU [Razprave/ Slovenska Akademija Znanosti in Umetnosti, Razred za Naravoslovne Vede = Dissertationes/ Academia Scientiarum et Artium Slovenica, Classis 4]*. *Ljubljana* 31(19):291–316
- Schlee M (2004) Probleme der Erhaltung biologischer Vielfalt in der Kulturlandschaft – Ökologische Schäden durch verfehlte Pflegekonzepte. In: Potthast T (ed) Ökologische Schäden – begriffliche, methodologische und ethische Aspekte (=Theorie in der Ökologie; 10). Peter Lang, Frankfurt a.M, pp 95–120
- Schlee M, Sauer W, Hemleben V (2003) Molekulare und pflanzensoziologische Analyse von pontisch-pannonischen Reliktarten aus wärmebegünstigten Saum-Gesellschaften Süddeutschlands und benachbarter Gebiete. *Nova Acta Leopold NF* 87(328):379–387
- Shannon C (1948) A mathematical theory of information. *Bell System Tech J* 27:379–423
- Sokal RR, Michener CD (1958) A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ Kansas Sci Bull* 38(Pt 2, No 22):1409–1438
- Soltis PS, Gitzendanner MA (1999) Molecular systematics and the conservation of rare species [Review]. *Conserv Biol* 13(3):471–483
- Stamatakis A (2006) RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22(21):2688
- Stamatakis A, Hoover P, Rougemont J (2008) A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web-servers. *Syst Biol* 57(5):758–771



- Stock M, Eskildsen K, Gätje C, Kellermann A (1999) Evaluation procedure for nature conservation in a national park – a proposal for the protection of ecological processes. *Z Ökologie Naturschutz* 8(1):81–95
- Swofford DL, Olsen GJ, Waddell PJ, Hillis DL (1996) Phylogenetic inference. In: Hillis DM, Moritz C, Mable BK (eds) *Molecular systematics*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, pp 407–514
- Tin MMY, Cho C-H, Chan K, James AE, Ko JKS (2007) *Astragalus* saponins induce growth inhibition and apoptosis in human colon cancer cells and tumor xenograft. *Carcinogenesis* 28(6):1347–1355
- Travis SE, Maschinski J, Keim P (1996) An analysis of genetic variation in *Astragalus cremnophylax* var. *cremnophylax*, a critically endangered plant, using AFLP markers. *Mol Ecol* 5(6):735–745
- Volkov R, Komarova N, Hemleben V (2007) Ribosomal DNA in plant hybrids: inheritance, rearrangement, expression. *Syst Biodiver* 5(3):261–276
- Watt AS (1947) Pattern and process in the plant community. *J Ecol* 35(1/2):1–22
- Williams MC, Barneby RC (1977) The occurrence of nitro-toxins in North American *Astragalus* (Fabaceae). *Brittonia* 29(3):310–326
- Wirth M, Estabrook GF, Rogers DJ (1966) A graph theory model for systematic biology, with an example for the Oncidiinae (Orchidaceae). *Syst Zool* 15(1):59–69
- Wojciechowski MF, Sanderson MJ, Baldwin BG, Donoghue MJ (1993) Monophyly of aneuploid *Astragalus* (Fabaceae): Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Am J Bot* 80(6):711–722
- Wojciechowski MF, Sanderson MJ, Hu JM (1999) Evidence on the monophyly of *Astragalus* (Fabaceae) and its major subgroups based on nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA *trnL* intron data. *Syst Bot* 24(3):409–437
- Yip PY, Kwan HS (2006) Molecular identification of *Astragalus membranaceus* at the species and locality levels. *J Ethnopharmacol* 106(2):222–229

## Publication 5

SCHLEE, M.; GÖKER, M.; GRIMM, G. W. & HEMLEBEN, V. (2011)

**Genetic patterns in the *Lathyrus pannonicus* complex (Fabaceae) reflect ecological differentiation rather than biogeography and traditional subspecific division.**

Botanical Journal of the Linnean Society 165 (4): 402-421.

Reprint with kind permission of Wiley, Hoboken (New Jersey), USA, and The Linnean Society of London as the holder of the copyright of the Botanical Journal of the Linnean Society.

DOI: 10.1111/j.1095-8339.2011.01125.x

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8339.2011.01125.x/abstract>

[accessed 2015-06-24]



# Genetic patterns in the *Lathyrus pannonicus* complex (Fabaceae) reflect ecological differentiation rather than biogeography and traditional subspecific division

MATTHIAS SCHLEE<sup>1</sup>, MARKUS GÖKER<sup>2</sup>, GUIDO W. GRIMM<sup>3\*</sup> and VERA HEMLEBEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre for Plant Molecular Biology (ZMBP), Department of General Genetics, Auf der Morgenstelle 28, University of Tübingen, 72076 Tübingen, Germany

<sup>2</sup>DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, Germany

<sup>3</sup>Department of Palaeobotany, Swedish Museum of Natural History, Svante Arrhenius väg 7, 10405 Stockholm, Sweden

Received 9 September 2010; revised 21 January 2011; accepted for publication 28 January 2011

The endangered European relict species complex *Lathyrus pannonicus* shows distinct morphological variation, reflected by the number of subspecies recognized, and complicated patterns of genetic variation. The traditionally recognized subspecies appear to possess different ecological preferences and disjunct distributions, particularly in the western range of the species. In this study, *L. pannonicus* was investigated by the correlation of distance matrices based on phytosociological, ecological, molecular and morphological data. Ecological characteristics of selected stands of *L. pannonicus* throughout Europe were assessed using ‘Ellenberg values’ of all the constituent taxa in phytosociological relevés. Genetic distances were calculated using recently developed methods to analyse high degrees of intra-individual nuclear-encoded internal transcribed spacer variability. We found that the remarkable genetic (and morphological) diversity in *L. pannonicus* could not be explained solely by the fragmentation of the distributional range. Instead, patterns of morphological and genetic differentiation were a reflection of the moisture regime in the sampled stands. Two major lineages could be identified: (1) a lineage adapted to dry conditions (Ellenberg indicator *F*-value  $\leq 3.5$ ) and (2) a lineage preferring moist conditions (*F*-value  $\geq 4.5$ ). Although both lineages occurred in close proximity in the Pannonian area, they appeared to be reproductively isolated in general. Further data are needed to determine whether these genetically and ecologically defined lineages, or ecospecies, within the *L. pannonicus* species complex can be formalized as (Linnaean) species or subspecies. © 2011 The Linnean Society of London, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2011, **165**, 402–421.

**ADDITIONAL KEYWORDS:** ecospecies – genetic variation – intra-individual variability – matrix correlation – morphological variation – multiple evidence approach – phytosociological relevés – speciation.

## INTRODUCTION

*Lathyrus* L. is a species-rich genus of herbaceous plants in Fabaceae (tribe Fabeae Rchb., formerly Viciae DC.) with 42 accepted species in Europe (Flora Europaea, 1998–2005). Members of the five genera of Fabeae (*Lathyrus*, *Lens* Mill., *Pisum* L., *Vavilovia* Fed., *Vicia* L.) are common throughout Europe and include crops such as peas (*Pisum*

*sativum* L.) and lentils (*Lens culinaris* Medik.). Seeds and other parts of *Lathyrus* are potentially edible (Allen & Allen, 1981), but contain variable amounts of the neurotoxic  $\beta$ -*N*-oxalyl-L- $\alpha$ , $\beta$ -diaminopropionic acid (e.g. Fikre *et al.*, 2008; Sanchez Vioque, de los Mozos Pascual & Rodriguez Conde, 2009), which can cause a disease known as neurolathyrism (Selye, 1957; Spencer & Schaumburg, 1983; Spencer *et al.*, 1986). *Lathyrus sativus* L., the grass pea, has traditionally been cultivated as food for humans and animals (e.g. Mera *et al.*, 2000; Ur-Rehman *et al.*, 2008;

\*Corresponding author. E-mail: guido.grimm@nrm.se

Smulikowska *et al.*, 2008) in North Africa, South Asia, (eastern) Europe and South America, especially in areas affected by frequent or widespread famines (e.g. mediaeval Europe, Barrow, Simpson & Miller, 1974; modern Ethiopia, Getahun *et al.*, 2005; Bangladesh, Haque *et al.*, 1996).

Among the European species of *Lathyrus*, *L. pannonicus* Garcke is exceptional because of the large number of accepted subspecies (five in Flora Europaea, 1998–2005; one in Central Asia; Bässler, 1981) and a relict/disjunct distribution. According to Bässler (1981), Meusel, Jäger & Weinert (1965), Ball (1968), Flora Europaea (1998–2005) and data compiled for the Global Plant Checklist (IOPI, 1996–2007), the distribution can be roughly described as a belt ranging from the Altai Mountains (Russia and north-east Kazakhstan) via the Crimean Peninsula and the Balkans to northern and central Spain (Table 1). However, this distribution is highly fragmented (Fig. 1). In addition to the disjunct populations defining the western (Spain, mainly Cantabrian Mountains; cf. Gallego & Talavera, 1999) and eastern (Altai; Crimean Peninsula; cf. Fedchenko, 1972 [1948]) borders, (small) isolated populations are (were) found in the Cevennes (southern France), in the Loire Valley (central France: Coste, 1937; Guinochet & de Vilmorin, 1984; the latter possibly extinct: Fournier & Hubert, 2005 onwards; M. Schlee, pers. observ., June 2001), the Maritime Alps (Chas, 1994; Aeschmann *et al.*, 2004), south-western Germany (Albvorland/Neckarland; population near Gau-Algesheim in Rheinhessen extinct, Bässler, 1981; Schlee, Sauer & Hemleben, 2003) and the Italian Apennines (Pignatti, 1982; Mortellaro & Colasante, 1997; Fig. 1). An isolated population in the southern foothills of the Italian Alps (Monte Baldo, Veneto; Bässler, 1981; Pignatti, 1982) has probably been lost (M. Schlee, pers. observ., June 2001 and June 2002; already doubtful in Goiran, 1900; herbarium specimen stored in Florence [FI], cited in Bässler, 1981, is a donation from Barbarin to Parlatores dated January 1842). In Italy, the species is still relatively abundant around Trieste and on the Istrian Peninsula (Pignatti, 1982; Poldini, 1989; M. Schlee, pers. observ., May–June 2000). A more or less closed distribution area is confined to the Pannonian Basin and central Balkans (Jacquin, 1773; Bässler, 1981; Fischer, Adler & Oswald, 2005). Populations are under considerable threat and the species is categorized as ‘endangered’ in several European states (Schnittler *et al.*, 2001). The occurrence and abundance are drastically declining in Austria (cf. Janchen, 1956–1960; Fischer *et al.*, 2005; M. Schlee, pers. observ., 2000–2004) and Germany (compare Haeupler, Schönfelder & Schuhwerk, 1988 with Lang & Wolff, 1993; cf. Schlee *et al.*, 2003), and require special protection (Niklfeld & Schratt-Ehrendorfer, 1999; Würz, 1992; Breunig & Demuth,

1999; Welk, 2002; see also Fournier & Hubert, 2005 onwards, for France; Cervoský *et al.*, 1999, for Slovakia; and Witkowski, Król & Solarz, 2003, for the Carpathians). Herbaria contain numerous *L. pannonicus* specimens of various provenances (Bässler, 1981; M. Schlee, pers. observ.) including extinct populations (e.g. Loire Valley; Monte Baldo).

Mayer (1925) and Bässler (1981) suggested that the steppes of the Pontian-Pannonian and the Altai represent the original habitats of *L. pannonicus* and its close relative *L. ledebourii* Trautv. (*L. ledebouri*’, spelling corrected according to the Vienna Code Art. 60C.1/60.11). One reason why *L. pannonicus* has become a relict with a highly disjunct distribution may be the loss of suitable open landscapes and the decline in extensive livestock farming, e.g. sheep farming. Grazing animals locally damage and thereby open up the vegetation cover for plants such as *L. pannonicus* (Schlee, 2004). For example, mass populations found in the Abruzzo (central Italy; this study) were associated with paddocks. Within fringe communities, one of the typical habitats of *L. pannonicus* in central and western Europe, individuals are typically found in disturbed places, e.g. along footpaths. The vegetation coverage is generally < 100% (Table S1, see Supporting Information). Management systems for nature protection areas that prefer cutting to grazing to protect marginal and improvident vegetation units throughout Europe are disadvantageous for *L. pannonicus* (Schlee *et al.*, 2003; Schlee, 2005). The monitoring of German relict populations and those close to Vienna (Wiener Hausberge) revealed that stands of *L. pannonicus* are highly susceptible to overgrowth by *Robinia pseudoacacia* L. and other shrubs (Böcker & Dirk, 2004; M. Schlee, pers. observ., 1996 onwards). In fringe communities, the species is not only overgrown by shrubs and trees, but also crowded out by commonly associated herbs (e.g. *Geranium sanguineum* L., *Peucedanum cervaria* Cusson ex Lapeyr.) and grasses (e.g. *Arrhenatherum elatius* P.Beauv., *Brachypodium pinnatum* P.Beauv.; Table S1; Schlee, 2004; Hédl, Kopecký & Komárek, 2010).

Preliminary data on nuclear-encoded rDNA spacers (internal transcribed spacers ITS1/ITS2 and 5’ external transcribed spacer) revealed a remarkably increased intraspecific diversity and intra-individual ITS variability within members of the *L. pannonicus* species complex (Schlee *et al.*, 2003; Grimm *et al.*, 2005). This is in contrast with the general pattern that rare species have lower genetic diversity than common species (Gitzendanner & Soltis, 2000; Cole, 2003; but see, for example, Gunnarsson, Hassel & Söderström, 2005; Kang, Jiang & Huang, 2005; Schlee *et al.*, 2010). High levels of intraspecific (Schlee *et al.*, 2003; this study) versus low levels of interspecific variation have, to date, hindered

**Table 1.** Current infraspecific classification of *Lathyrus pannonicus* and (historical) distribution range (see text)

Taxon	Synonyms*	Distribution†
<i>L. ledebourii</i> Trautv.	<i>L. pannonicus</i> subsp. <i>ledebourii</i> (Trautv.) Bässler <i>Orobis intermedius</i> Ledeb. <i>O. ledebouri</i> (Trautv.) Roldugin	Altai; Omsk and Krasnojarsk oblast; Minusinsk area. Partly sympatric with <i>L. pannonicus</i> subsp. <i>multijugus</i>
<i>L. pannonicus</i> subsp. <i>asphodeloides</i> (Gouan) Bässler	<i>O. asphodeloides</i> Gouan <i>L. asphodeloides</i> (Gouan) Gren. & Godr. <i>L. versicolor</i> auct. ...	From west France (†)‡ to the Alps and south Italy§
<i>L. pannonicus</i> subsp. <i>collinus</i>	<i>L. austriacus</i> (Crantz) Wissjul. <i>L. lacteus</i> (M.Bieb.) Wissjul. <i>L. pannonicus</i> subsp. <i>pannonicus</i> var. <i>versicolor</i> auct. ...	Disjunct: east-central and east Europe (Pannonian Basin; northern part of Balkan peninsula); south-west Germany¶; south France/north-east Spain**; Crimea††
<i>L. pannonicus</i> subsp. <i>longestipulatus</i> Lainz	<i>L. lacaitae</i> Czefr. <i>L. pannonicus</i> subsp. <i>hispanicus</i> (Lacaita) Bässler <i>Orobis hispanicus</i> Lacaita	North-eastern part of the Iberian peninsula: central and north Spain, east Spain (?)‡‡
<i>L. pannonicus</i> subsp. <i>multijugus</i> (Ledeb.) Bässler	<i>L. multijugus</i> (Ledeb.) Czefr. <i>L. pannonicus</i> var. <i>multijugus</i> (Ledeb.) Schischk. <i>L. p.</i> var. <i>paucijugus</i> (Ledeb.) Schischk. ... ? <i>Orobis lacteus</i> var. <i>paucijugus</i> Ledeb.	Altai; Omsk and Krasnojarsk oblast; northern part of east Kazakhstan; Mongolia (?). Partly sympatric with <i>L. ledebourii</i>
<i>L. pannonicus</i> subsp. <i>pannonicus</i>	<i>L. pannonicus</i> subsp. <i>velebiticus</i> (Degen & Lengyel) Bässler <i>O. pannonicus</i> Jacq. ...	Disjunct: east-central Europe (Pannonian Basin); north-western part of Balkan peninsula (C Bosnia-Herzegovina); Romania (near Cluj)§§
<i>L. pannonicus</i> subsp. <i>varius</i> (Hill) P.W.Ball	<i>O. versicolor</i> J.F.Gmel. <i>O. varius</i> Hill <i>L. varius</i> (Hill) C.Koch¶¶ ...	Central and north-east Italy into west Slovenia (Istrian peninsula) and west Croatia

\*Selection; for a comprehensive list of synonyms, see Bässler (1981).

†Based on Flora Europaea (1998–2005) and Bässler (1981); cf. Introduction and Figure 1 for details and corrections.

‡Populations in central and western France (Loire Valley) are extinct.

§According to IOPI (1996–2007) and Flora Europaea (1998–2005); Bässler restricts this ‘Sippe’ to France. Isolated population in northern Italy (Monte Baldo, Veneto) is extinct.

¶Near Tübingen; Palatinate population(s) are extinct.

\*\*These putative relicts of subsp. *collinus* in western Europe have been commonly lumped with subsp. *asphodeloides* (France) and subsp. *longestipulatus* (= subsp. *hispanicus*; Spain).

††Based on Bässler (1981). Subspecies not treated in Flora Europaea (1998–2005).

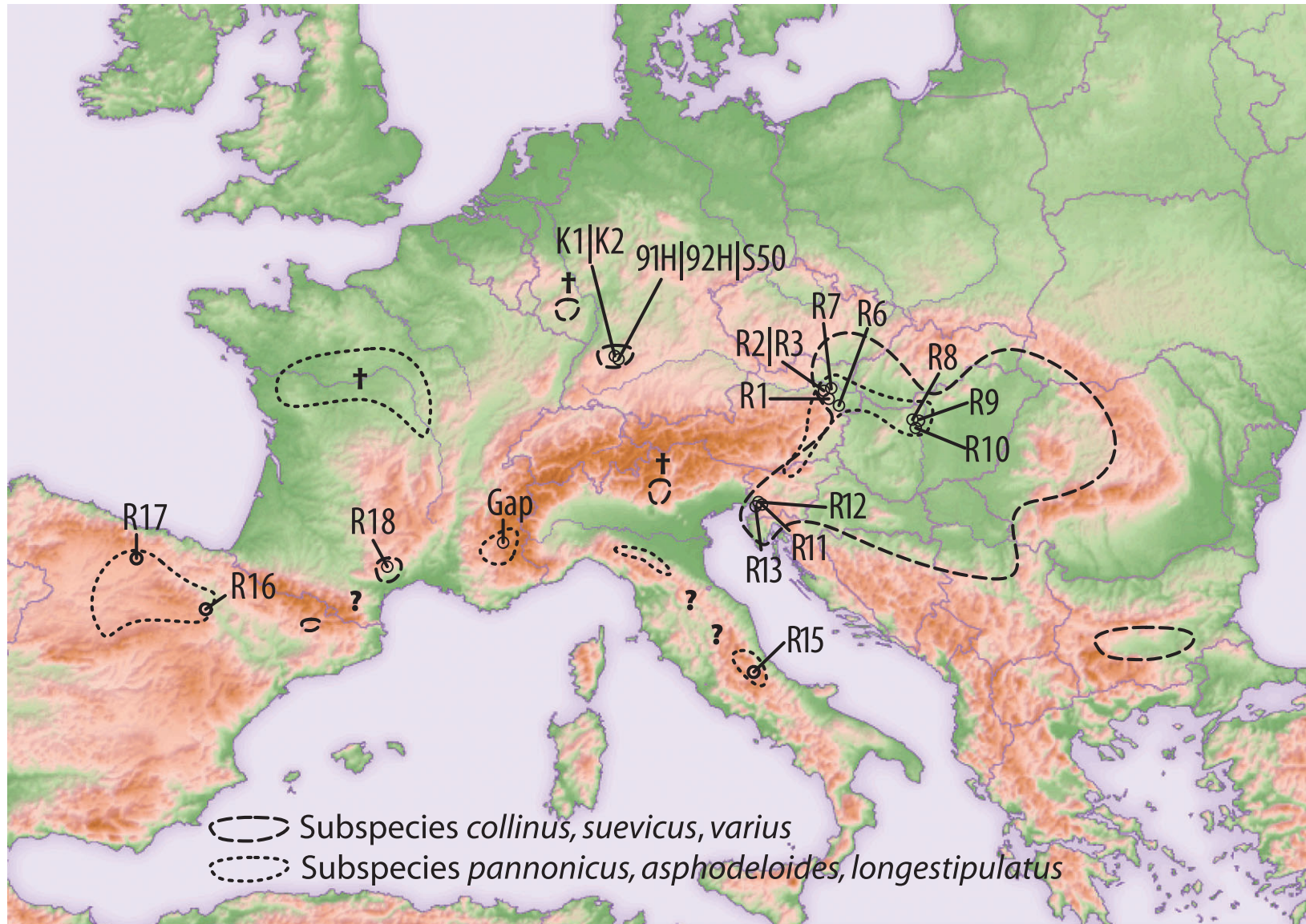
‡‡Revisited populations and herbarium specimens from north-eastern Spain are of the *collinus* morphotype.

§§According to Bässler (1981).

¶¶P. W. Ball used this taxon as the basionym (cf. IOPI, 1996–2007).

traditional phylogenetic analyses and a molecular division at and below species level in *Lathyrus* (Asmussen & Liston, 1998; Kenicer *et al.*, 2005). Bässler (1981) noted remarkable intraspecific mor-

phological variation and distinguished six ‘geographic races’ of *L. pannonicus* as subspecies: subsp. *asphodeloides* (Gouan) Bässler, subsp. *collinus* (Ortmann) Soó, subsp. *longestipulatus* M.Lainz (= *L. pannonicus*



**Figure 1.** Distribution of subspecies of *Lathyrus pannonicus* in Europe modified after Meusel *et al.* (1965), Flora Europaea (Ball, 1968) and Bässler (1981) including personal observations performed in the field (M. Schlee, 1999–2010). Stands of *L. pannonicus* in Europe analysed here are indicated using the corresponding relevé labels (relevés provided in Table S1). For three stands ('K1|K2', '91H|92H|S50', 'R2|R3'), the relevés cover several years. '†', Populations that have gone extinct in historical times; '?', occurrence needs further verification.

subsp. *hispanicus* [Lacaita] Bässler), subsp. *multijugus* (Ledeb.) Bässler ( $\equiv$  *L. multijugus* [Ledeb.] Czeffr.), subsp. *pannonicus* and subsp. *varius* (Hill) P.W.Ball. His concept largely followed that of Flora Europaea (Ball, 1968). Two of the subspecies recognized by Bässler occur sympatrically (subsp. *collinus* and subsp. *pannonicus*; Table 1; Fig. 1) and are considered to be ecologically isolated (Bässler, 1981).

That most subspecies of *L. pannonicus sensu* Bässler have clearly distinct geographical ranges (Table 1; Bässler, 1981) may explain why the isolated westernmost stands of subsp. *collinus* (north-east Spain; Cevennes) have been overlooked by Bässler (1981) and local taxonomists (e.g. Gallego & Talavera, 1999). Although these individuals have been commonly assigned to subsp. *asphodeloides* and subsp. *longestipulatus*, they are morphologically distinct. Most individuals, from herbaria or in the field, can be unambiguously identified to subspecies level using the morphological parameters provided by Bässler's concept if the roots, subaerial vegetative parts and flowers are available (Schlee *et al.*, 2003; this study).

Prior to Bässler and Ball, Meusel *et al.* (1965) recognized only two ecologically different subspecies based on the shape of the storage roots (following Gams, 1924; cf. var. '*microrrhizus*' and '*macrorrhizus*' in Mayer, 1914, and earlier studies, e.g. Ortmann, 1853): (1) a more or less xerophytic subsp. *collinus* (including most of subsp. *varius*) with thin storage roots, and (2) subsp. *pannonicus* (including subsp. *asphodeloides* and *longestipulatus* and part of subsp. *varius*; Meusel *et al.*, 1965: map K254d) with thick storage roots and typically found in more moist habitats (Bässler, 1981; Schlee *et al.*, 2003). Thus intraspecific differentiation in *L. pannonicus* may not be caused merely by the geographical fragmentation of the populations, but also by additional factors such as shifts in habitat preferences (adaptive radiation).

Habitats can be characterized by the set of taxa that co-occur (the plant community) and their abundance using the survey technique of Braun-Blanquet (Braun-Blanquet, 1964; Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974: 58ff.; an extended fine-scale classification is described in Dierschke, 1994). This approach, known as 'phytosociology', considers a plant community to reflect local ecological parameters; differences in plant communities indicate differences in ecology (Braun-Blanquet, 1964). In addition, Ellenberg indicator values (Ellenberg, 1979; Ellenberg *et al.*, 1992) of the taxa recorded can serve as a means of defining the (ecological) similarity or dissimilarity between habitats. Ellenberg indicator values are 'quick estimates for ecological interpretations' (Ellenberg *et al.*, 1992: 249). In combination with the phytosociological information, the general ecological setting of the habitat can be described (Ellenberg *et al.*, 1992), even if the

data matrix is incomplete (Ewald, 2003). The set of taxa forming a plant community is also a function of the geography, as many species are geographically restricted. Hence, the geographical distances between the analysed populations ought to be considered when investigating the correlation between ITS divergence, morphology and habitats (ecological setting).

Using *L. pannonicus* as a model organism, we explored its habitat preferences, geographical, molecular (ITS region including ITS1, 5.8S rDNA and ITS2) and morphological differentiation patterns to address the following questions.

1. Is there a statistically significant correlation between the plant communities of the habitats, the geographical position of the habitats and the genetic and morphological divergence of the *L. pannonicus* subspecies that typify each habitat?
2. To what extent do ITS sequence variation and morphological differentiation reflect the geographical setting? Further, is there evidence for an ecological signal in the genetic or morphological divergence that is independent of the (bio-) geographical setting?

A straightforward way to answer these questions is to test the correlation of distance matrices based on the four datasets using Spearman's correlation values and permutational probabilities (Legendre & Lapointe, 2004; for further applications, see Auch *et al.*, 2006; Göker & Grimm, 2008). *Habitat distances* are based on either the presence/absence or abundance (Braun-Blanquet, 1964), or on ecological properties ('behaviour'; Ellenberg *et al.*, 1992). *Geographical distances* can be established using the GPS coordinates of the analysed stands. *Inter-stand ITS distances* can be calculated using the transformations described by Göker & Grimm (2008) that allow the transformation of data matrices of 'associates' (here: cloned ITS data) into those of 'hosts' (here: stands). *Morphological distances* are based on a matrix of discrete and continuous characters, mainly assembled from Bässler (1981). Understanding the relationship between the level of genetic (here: ITS) and morphological differentiation in *L. pannonicus*, the (ecological) characteristics of the preferred habitats of its subpopulations and the influence of the geographical distribution on the other three datasets will be a first step to identify the major forces in the evolution and speciation of *L. pannonicus* and to define protection units, i.e. populations warranting protection.

## MATERIAL AND METHODS

### DATA MATRICES

The analyses are based on 21 Braun-Blanquet surveys (relevés, Table S1) covering 17 stands of *L. pannonicus*

(Fig. 1). Three of the stands have been repeatedly surveyed for 2 or 3 years. The stands were selected to cover most of the ecological and biogeographical range inhabited by subspecies of *L. pannonicus* in Europe (Fig. 1). The genetic diversity of *L. pannonicus* was assessed using a representative set of 112 cloned ITS sequences obtained from 25 individuals growing at the 17 surveyed stands (voucher information and accession numbers provided in Table S2, see Supporting Information). Cloned sequences were obtained following the procedures detailed by Denk *et al.* (2002) with the following modifications: amplification used the primer pair 5'-GCGAGAATTCCTGAACT-3' (forward) and 5'-ACGAATTCCTCCGCTTATTGATA TGCTTA-3' (reverse). Clones were sequenced using the facilities of the University of Tübingen and by a commercial laboratory. For comparison, 153 ITS sequences from additional individuals of *L. pannonicus* and *L. ledebourii* are available. They were not included in the analysis owing to the lack of corresponding phytosociological data. The morphological data matrix relied mainly on characters provided by Bässler (1981); the same characters were used to identify the subspecies in the field. We refrained from sampling plants for new morphometric data because of the threatened status (often only a few individuals) of *L. pannonicus* at the surveyed stands.

#### ESTABLISHMENT OF INTER-STAND HABITAT DISTANCES

To identify a potential ecological signal, distances that reflect the similarity of the habitats at the analysed stands can be used. A direct phytosociological approach is to consider the similarity between two habitats to be dependent on the proportion of shared species. More sophisticated distances consider the abundance of the species or their ecological properties (here: using Ellenberg indicator values). Thus, the taxon sets provided by the Braun-Blanquet surveys (phytosociological relevés; Table S1) were used to compute Bray-Curtis distances (Legendre & Legendre, 1998: 287) between the stands. The abundance information was either scored as presence/absence data, applying a cut-off between the abundance codes 'r' ('rare': one individual) and '+' ('few': two to five individuals; Braun-Blanquet, 1964), or transformed into an ordinal scale between 0 and 10 (for the original values 'v', 'r', '+', '1', '2m', '2a', '2b', '3', '4' and '5', in order; for definitions, refer to Braun-Blanquet, 1964 and Dierschke, 1994). In addition, mean Ellenberg indicator values, such as *L* ('light figure', Ellenberg *et al.*, 1992), indicating the exposure to light, *T* ('temperature figure'), referring to the temperature regime (Arctic-Mediterranean; alpine level-lowland), *K* ('continentality figure', occupied range in western Eurasia), *F* ('moisture figure'),

*R* ('reaction figure', soil acidity and lime content), *N* ('nitrogen figure', availability of inorganic nutrients, such as nitrogen, potassium, phosphorus and magnesium) and *S* ('salt figure', salinity), were used to generate ecologically interpretable distances between relevés. Ellenberg indicator values for most recorded taxa (Table S4, see Supporting Information) follow Ellenberg *et al.* (1992, compiled on diskette: Version 3.1, July 1993). Again, presence/absence coding, using the average indicator values of the plants judged as 'present', and abundance coding were applied. For the latter, we calculated the weighted average for each stand as the sum of the products of the recoded abundance (as weight; see above) and the indicator value for all species in the stand, divided by the sum of all their weights. A small number of taxa not considered in the list of Ellenberg *et al.* (1992) were removed prior to the calculation of the mean indicator values (Ewald, 2003). In principle, the original values defined by Ellenberg *et al.* (1992) are valid only for Central Europe. The same rules can be used to generate analogous values for other areas (Hill *et al.*, 2000), which is unnecessary in our case. Conditions found, for example in Spain, were directly comparable with those found in Central Europe because they were azonal (respectively mountainous) within the Mediterranean. Being relict stands, they offer basically the same habitat and inventory of concomitant flora as found in Central Europe.

#### ESTABLISHMENT OF GEOGRAPHICAL DISTANCES BETWEEN STANDS

Geographical distances were calculated as Euclidean distances (Legendre & Legendre, 1998: 278) between data points with the longitude and latitude measures as coordinates. Because these distances were linearly correlated with the more realistic Chord (Legendre & Legendre, 1998: 279) distances, and because a non-parametric correlation was used (see below), Euclidean distances were sufficient for our purpose. They represent the linear (air-line) distance between two stands as a lower bound for the effective geographical distance, which might be longer because of geographical barriers. It can be assumed that these coordinate-based distances reflect, to some degree, the effective distances to be overcome by pollinators and seeds, which are crucial for the maintenance of gene flow.

#### ESTABLISHMENT OF INTER-STAND GENETIC (ITS) DISTANCES

In the light of the high intra-individual variability and potential inter-individual variation, genetic distances between the stands (here: based on ITS) can be calculated using the transformations described by



Göker & Grimm (2008) that allow transformation of data matrices of 'associates' into those of 'hosts'. The sequence character matrix of 112 *L. pannonicus* clones (as associates; see Supporting Information S3), including data for ITS1, 5.8S rDNA and ITS2, or a matrix of pairwise distances based on these sequence data, was used as input data. The stands are defined as hosts. In this particular case, this is possible because the *Lathyrus* populations at each stand appeared to be morphologically homogeneous; hence, it can be assumed that they are members of the same biological unit (closest relatives). The program G2CEF (Göker & Grimm, 2008; available at <http://www.goeker.org/mg/distance/>) permits the transformation of the primary character matrix (cloned data, as associates) into character matrices of the stands (hosts). The transformed characters represent either the frequency of a nucleotide at a specific sequence position within all clones representing a stand (FRQ) or the modal (MOD) and strict (CON) consensus of nucleotides. Uncorrected pairwise distances between the stands (hosts) were then computed on the basis of the transformed character matrices using PAUP\* version 4b10 (Swofford, 2002). The program PBC (Göker & Grimm, 2008; also available at <http://www.goeker.org/mg/distance/>) allowed the transformation of genetic distances between the associates (ITS clones) into distances between the hosts (stands) using the transformations PBC ('phylogenetic Bray-Curtis'; see Göker & Grimm, 2008 for an explanation) and MIN (inter-host distance equals the minimal found distance between clones of either stand).

#### ESTABLISHMENT OF INTER-STAND MORPHOLOGICAL DISTANCES

Morphological distances for the correlation with the other data matrices were established as follows: morphological features differing at the infraspecific level were tabulated and coded as discrete or continuous characters. In total, 12 morphological characters were compiled from the literature following Bässler (1981) and his subspecies concept (Table S5, see Supporting Information); the same concept was used to identify individuals of a certain subspecies in the field. Plants at each stand were morphologically uniform and can be considered to belong to the same subspecies. Individuals at one stand (Rovere, Abruzzo) were found to be morphologically intermediate between the described subspecies, and were treated as a distinct entity. In contrast with Bässler (1981), the south-western German populations (*L. suevicus* A.Mayer) were treated as a distinct taxon at the level of subspecies following Mayer (1914, 1925; see also Wörz, 1992). Mayer (1925) described it as a 'Rasse' (race) within the

'Formenkreis' (species complex) of *L. pannonicus* that differs from other races, such as subsp. *collinus* and subsp. *pannonicus*. Of the 12 morphological characters, one is constant among the subspecies covered by this study. As for the Ellenberg indicator values, morphology-based distances between the stands were established for each character individually and for the complete set. To compute distances, morphological features were treated as continuous characters and brought to the same scale by ranging (Legendre & Legendre, 1998: 38). Because we apply nonparametric correlations (see next paragraph), the presence/absence or transformation series characters could be integrated into the same dataset via coding as ordinal characters. The range and inference of Manhattan distances and the calculation of Euclidean distances as used above were implemented in the program EUKDIS available at <http://www.goeker.org/mg/distance/> (full data given in Table S5).

#### CORRELATION OF DISTANCE MATRICES

The significance of correlation between distance matrices was established using the software CADM (Legendre, 2001), which calculates the permutational probability of the Spearman rank correlation values between distance matrices, the null hypothesis  $H_0$  being that the correlation is no higher than expected by chance. We applied 10 000 random permutation replicates for each pairwise comparison. Results (including all calculated Spearman correlation values and probabilities of  $H_0$ ) are given in Table S6 (see Supporting Information).

#### VISUALIZATION

The distance matrices based on transformed ITS data were visualized using the neighbor-net algorithm (Bryant & Moulton, 2002, 2004) implemented in SplitsTree 4 (version 4.10; Huson & Bryant, 2006). The neighbor-net algorithm computes a planar phylogenetic network based on a distance matrix and, hence, allows the accommodation of incompatible splits proposed by the data in contrast with phylogenetic trees. Because of the likelihood of nontreelike signals, we opted for phylogenetic networks instead of a tree to visualize the genetic distance matrices.

Similarity between habitats based on the abundance and presence/absence scored Braun-Blanquet surveys were visualized by subjecting the distance matrices to principal coordinates analysis (PCoA; Legendre & Legendre, 1998: 424–426). Principal coordinates were calculated using AxCPCoords (Stamatakis *et al.*, 2007), and the two coordinates with the largest eigenvalues were plotted using R (<http://www.r-project.org/>) version 2.6.2.

## RESULTS

A total of 112 ITS sequences was obtained from 25 individuals of 17 stands. The individuals at each stand were identified on the basis of morphology. In most cases, they were identified as members of one of the six recognized subspecies: *asphodeloides*, *collinus*, *longestipulatus*, *pannonicus*, *suevicus* and *varius*; one morphologically ambiguous type was collected in Rovere, Abruzzo ('Rovere type' in the following). None of the investigated stands showed a mixture of subspecies or morphotypes. The 17 stands were phytosociologically mapped using the survey technique established by Braun-Blanquet (Table S1). For the purpose of the present study, the relevés were not interpreted following the phytosociological classification system of Braun-Blanquet, i.e. no formalized plant associations were used. In total, 209 different plant species and subspecies were recorded at the investigated stands. Eleven additional taxa were not determined to the species or were not included in Ellenberg's list, and had to be removed before calculating average values (Table S4).

HABITAT DISTANCES BASED ON  
PHYTOSOCIOLOGICAL SURVEYS

The final character matrix comprised all 21 relevés and 209 characters (recorded plant taxa). The results of a PCoA based on the two matrices of Bray–Curtis distances between the relevés revealed a clear biogeographical signal (Fig. 2). Repeated relevés at the same localities (91H, 92H and S50; K1 and K2; R2 and R3) were clustered. Therefore, one relevé was randomly selected per locality and used in the subsequent analyses. Geographically close stands were clustered (Fig. 2). Exceptions were geographically close stands of *L. pannonicus* subsp. *varius* in Istria (Fig. 1): R11 (Divača, Slovenia) and R13 (Trieste, Italy) resembled the stands of *L. pannonicus* subsp. *collinus* in Hungary, whereas R12 (Sežana, Slovenia) was most similar to the Austrian stands (subsp. *collinus* and subsp. *pannonicus*), in particular R1 (Kalksburg, Vienna).

Classification of the habitats according to their mean Ellenberg *F*-values, reflecting the moisture regime of a stand (Table 2), revealed the first evidence for an additional ecological signal. A line could be drawn separating stands with a dominance of taxa indicating dry conditions ( $F < 4$ ) from those with a dominance of taxa characteristic of moist habitats ( $F > 4$ ; Fig. 2). Using this line as a guide, the stands that were inhabited by the defined infraspecific taxa of *L. pannonicus* showed a conspicuous pattern: dry stands of *L. pannonicus* subsp. *collinus* appeared to be more similar to those of the dry-adapted subsp. *suevicus* and drier stands of subsp. *varius*, whereas moister stands of subsp. *collinus* and subsp. *varius* were more similar

to those of the moist-adapted subsp. *longestipulatus*, subsp. *pannonicus* and the Rovere type.

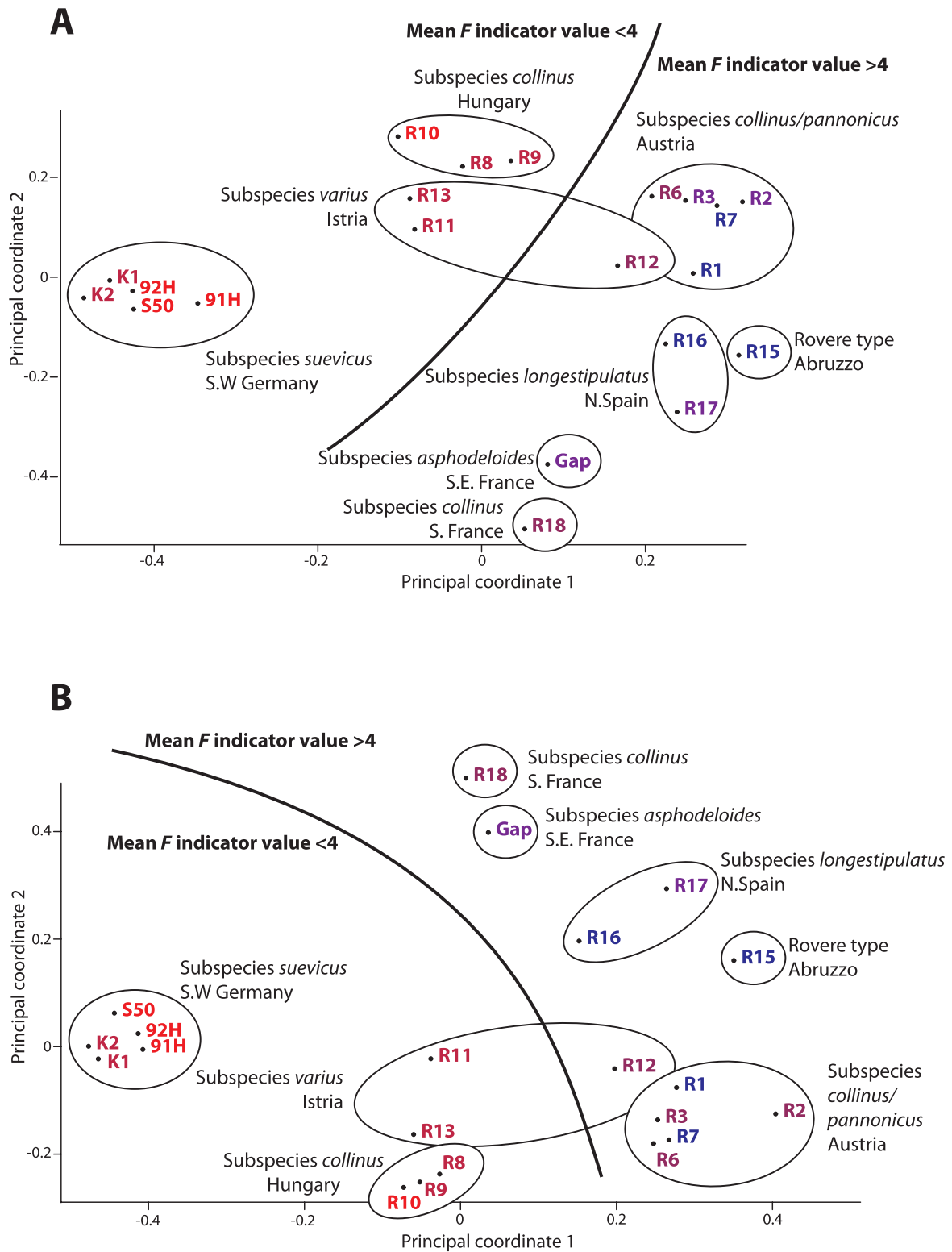
PATTERNS OF GENETIC (ITS) AND MORPHOLOGICAL  
DIFFERENTIATION IN *L. PANNONICUS*

In *L. pannonicus*, intra-individual ITS variability was as high as the variation among individuals from the same or different stands (Table 3; comprehensive data can be found in Table S7, see Supporting Information). Thus, genetic differentiation between the 17 surveyed stands was analysed using accordingly transformed data and phylogenetic reconstructions that accounted for incompatible signals. Contrary to the results from habitat distances (Fig. 2), the ecological signal (Table 2), reflected to some degree by the detected subspecies (Fig. 2), was stronger than the biogeographical signal in the phylogenetic network based on inter-stand, PBC-transformed, genetic distances (Fig. 3). Exceptions were stands R2/R3 and R13, both represented by a limited number of clones (stand R6 could not be included because only a single ITS clone was obtained). Their position in the graph could be a sampling artefact. Contrary to the results above (Fig. 2), a biogeographical subdivision could be recognized within each ecological cluster (Fig. 3; cf. Table 2).

Although individuals in each stand (local populations) could be assigned to the same subspecies of *L. pannonicus*, a strict association between morphotype (subspecies) and habitat was not found. On the one hand, members of the morphologically similar subspecies *collinus* and *suevicus* (pairwise mean morphological distance MD = 0.042; Table S5) occurred in dry habitats (Fig. 2; Table 2), and stands comprising the morphologically similar subsp. *pannonicus* and the enigmatic Rovere type (MD = 0.04; Table S5) were dominated by taxa indicating moist conditions (Fig. 2; Table S1). On the other hand, morphologically highly similar populations, e.g. populations representing subsp. *collinus* in the Maritime Alps and the Pannonian Basin, occurred in both dry and relatively moist habitats (Table 2). The same applies to members of subsp. *varius* (Istrian Peninsula). These two ecologically more variable taxa (subsp. *collinus* and subsp. *varius*) are morphologically distinct (MD = 0.34; Table S5), despite their relative geographical proximity (Fig. 1).

## CORRELATION OF DISTANCE MATRICES

The transformations applied to the ITS data showed no correlation with the number of associates (ITS clones) per host (stand), indicating the absence of a sampling size bias. Overall, the (varying) number of clones sampled per stand had no statistically significant



**Figure 2.** Principal coordinates analysis (PCoA) of Bray–Curtis habitat distance matrices. Distances are based on the relevé data (Table S1) using two scoring systems. A, Abundance (recoded Braun-Blanquet codes) scoring. B, Presence/absence scoring (see text). Relevé labels (e.g. ‘K1’) refer to Figure 1 and Table S1. Mean  $F$ -values of each stand are listed in Table 2. In online version of figure, Gradual coloration refers to mean  $F$ -values (moisture regime, Ellenberg *et al.*, 1992) of the corresponding habitat: dry (red,  $F < 3.5$ ) to moist (blue;  $F > 5$ ).

**Table 2.** Mean Ellenberg indicator values (moisture value *F*) of stands used for correlation

Relevé*	Region	Associated subspecies (type) of <i>L. pannonicus</i>	Mean <i>F</i> -value (category)†	
			Abundance scoring	Absence/presence scoring
91H	South-west Germany	Subsp. <i>suevicus</i>	3.40 (dry)	3.30 (dry)
K1	South-west Germany	Subsp. <i>suevicus</i>	3.57 (dry trend)	3.58 (dry trend)
R8	Hungary	Subsp. <i>collinus</i>	3.76 (dry trend)	3.81 (dry trend)
R9	Hungary	Subsp. <i>collinus</i>	3.60 (dry trend)	3.54 (dry trend)
<b>R10</b>	Hungary	Subsp. <i>collinus</i>	<b>3.32 (dry)</b>	<b>3.29 (dry)</b>
R11	Istrian Peninsula	Subsp. <i>varius</i>	3.61 (dry trend)	3.66 (dry trend)
R12	Istrian Peninsula	Subsp. <i>varius</i>	4.25 (moist trend)	4.23 (moist trend)
R13	Istrian Peninsula	Subsp. <i>varius</i>	3.64 (dry trend)	3.57 (dry trend)
R18	South-central France	Subsp. <i>collinus</i>	4.23 (moist trend)	4.00 (intermediate)
Gap	South-east France	Subsp. <i>asphodeloides</i>	4.77 (moist)	4.74 (moist)
R3	Austria	Subsp. <i>collinus</i>	4.56 (moist)	4.57 (moist)
R6	Austria	Subsp. <i>collinus</i>	4.33 (moist trend)	4.20 (moist trend)
<b>R1</b>	Austria	Subsp. <i>pannonicus</i>	<b>5.72 (moist)</b>	<b>5.41 (moist)</b>
R7	Austria	Subsp. <i>pannonicus</i>	5.44 (moist)	5.3 (moist)
R15	Central Italy	Rovere type	5.29 (moist)	5.33 (moist)
R16	North-east Spain	Subsp. <i>longestipulatus</i>	5.00 (moist)	5.32 (moist)
R17	North-east Spain	Subsp. <i>longestipulatus</i>	4.91 (moist)	5.00 (moist)

\*See Table S1 for details.

†Categories labelled as follows. Indicators of dry sites dominate ( $F = 3$ ; Ellenberg *et al.*, 1992): 'dry', mean  $F$ -value < 3.5; 'dry trend', mean  $F$ -value = 3.5–4. Indicators of moist sites dominate ( $F = 5$ ; Ellenberg *et al.*, 1992): 'moist trend', mean  $F$ -value = 4–4.5; 'moist', mean  $F$ -value > 4.5.

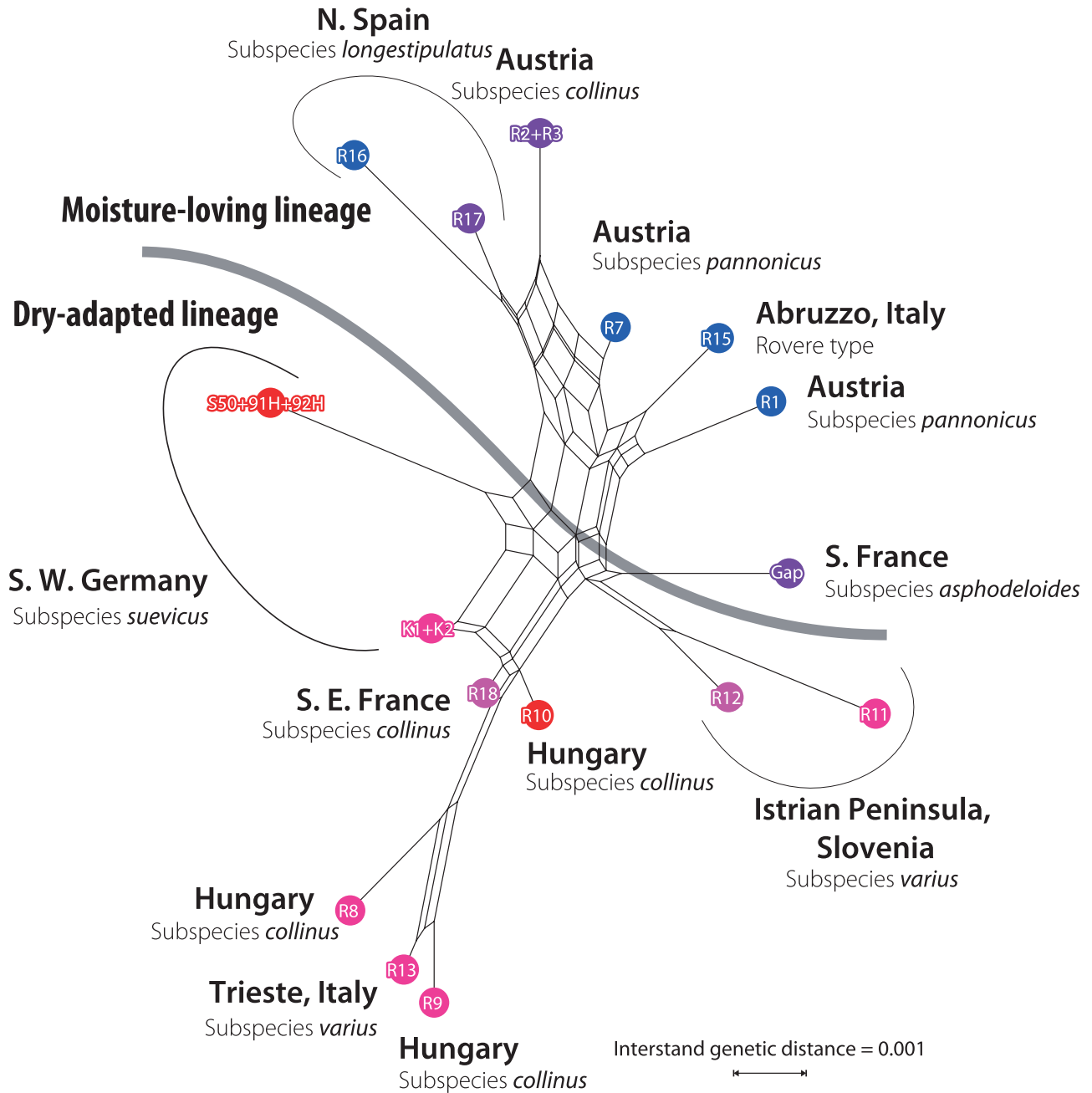
The driest and wettest stands are highlighted in bold.

**Table 3.** Intra- and inter-individual internal transcribed spacer (ITS) variability in *Lathyrus pannonicus*

Taxon	Number of individuals included in analysis	Number of ITS clones included in analysis	Maximum intra-individual distance in this taxon	Maximal inter-individual distance in this taxon
Subsp. <i>asphodeloides</i>	1	7	0.013	–
Subsp. <i>collinus</i>	6	23	0.022	0.022
Subsp. <i>longestipulatus</i>	2	13	0.028	0.024
Subsp. <i>pannonicus</i>	2	13	0.017	0.017
Subsp. <i>suevicus</i>	7	11	0.010	0.017
Subsp. <i>varius</i>	6	38	0.026	0.028
Rovere type	1	7	0.019	–

effect on the inferred inter-stand distance matrices. The resultant genetic distances were significantly correlated with each other ( $P \leq 0.0022$ ; see Table S6 for a complete list). The highest correlation was found between PBC- and MIN-transformed distances (0.88), the lowest between CON and MOD (0.32). The two scoring schemes, presence/absence versus abundance scoring, for the taxon lists of Braun-Blanquet relevés showed a strong correlation. In other words, the absolute abundance of taxa was of minor importance in

characterizing the differences between stands. This was also found for the Ellenberg indicator value-based distances: the correlation between Ellenberg value-based mean distances using presence/absence and abundance scoring was 0.94. The lowest correlation was found for the distances based on the salinity values ( $S$ -value). Some of the Ellenberg values showed a significant correlation between each other. For instance, distances based on the moisture values ( $F$ -value) showed a correlation with distances based on



**Figure 3.** Neighbor-net splits graph based on inter-stand genetic distances. Inter-stand genetic distances are based on ‘phylogenetic Bray–Curtis’ (PBC)-transformed, cloned internal transcribed spacer (ITS) data (as ‘associates’) defining the stand as ‘host’ (Göker & Grimm, 2008; this study). Stands are addressed by the corresponding relevé labels (cf. Figs 1, 2; Table 2). Gradual coloration refers to the mean  $F$ -value (moisture regime, Ellenberg *et al.*, 1992) for the corresponding stand: dry (red) to moist (blue; Fig. 2; Table 2). Edges are scaled in terms of the expected number of substitutions per site.

the continentality values ( $K$ -value; abundance scoring), and nutrition ( $N$ ) and salinity ( $S$ ) values (both scoring schemes). Of 12 morphological characters, two were found to correlate with most other morphology-based distances, namely leaf length and length ratio of

inflorescence to leaf (LIL). These showed the highest correlation (0.76) among all morphology-based matrices. A relatively high correlation was also found between LIL (and leaf length) and plant height and length of flower.

Statistically significant correlations (for a summary, see Table 4) were found between the inter-stand habitat distances and the geographical distances. This applies to the Bray–Curtis distances and to the Ellenberg indicator values. A significant correlation was also found between several of the morphology-based and Ellenberg value-based distance matrices, but no such correlation was found between morphology and Bray–Curtis distances. Low (0.28–0.36), but statistically significant ( $P \leq 0.0068$ ), correlation was found between the mean  $F$ -value (moisture regime) and mean  $S$ -value (salinity), respectively, and two or four of the transformations applied to the ITS data. Transformed ITS data and morphology were not correlated with geography. In conclusion, the patterns of genetic ITS differentiation (and morphology) were influenced by a series of factors other than, or in addition to, the biogeographical setting (disjunct distribution patterns). The Ellenberg indicator value-based distances that showed the highest correlation with ITS data and morphology were those based on the  $F$ -value (moisture regime).

## DISCUSSION

### EFFECT OF GEOGRAPHY AND BIOGEOGRAPHY

The similarity between plant communities containing *L. pannonicus* is mainly controlled by their geographical position (Fig. 2; Table 4), although there are ascertainable differences in the habitats as reflected by the ecological properties of the stands (e.g. mean  $F$ -value; Fig. 2; Table 2). For instance, the plant communities of Hungarian stands (relevés R8, R9, R10; Fig. 2) are most similar to each other and to the adjacent Istrian stands, and less similar to relevés of stands in central and western Europe, in particular Germany and France.

Given that *L. pannonicus* is a species in decline, one might have expected that the patterns of morphological and ITS differentiation would have been predominantly a result of the disjunct distribution of contemporary populations and would have been geographically associated (disrupted gene flow; e.g. Templeton *et al.*, 2001; Wares, 2001; Schönswetter, Popp & Brochmann, 2006; Qiu *et al.*, 2009; Clark *et al.*, 2010; McCraney *et al.*, 2010). In contrast, we did not find a correlation between inter-stand geographical and morphological and/or genetic distances (Table 4). Adjacent stands do not necessarily represent genetically closest relatives (Fig. 3). The subspecies *longestipulatus* (north Spain) and *varius* (Istrian Peninsula) differ from geographically adjacent stands of subsp. *asphodeloides* (south-east France), subsp. *collinus* (north-east Spain; south France; Hungary)

and the Rovere type (central Italy). This implies that the pattern of morphological and molecular differentiation seen in European *L. pannonicus* is not the result of a single event or process of area disruption, but rather reflects multiple events of (adaptive) radiation and area shifts. Similar observations have been made in other European (complex) species, including several species of Ranunculaceae (Turesson, 1931) and *Biscutella laevigata* Sibth. & Sm. (Brassicaceae) (Parisod & Besnard, 2007).

### MORPHOLOGY AND INFRASPECIFIC CLASSIFICATION

The morphological differences between the subspecies of *L. pannonicus* appear to reflect ecological adaptations (Figs 2, 3; Tables 2, 4), but are not entirely congruent with the character suites used to discriminate infraspecific taxa by Bässler (1981). In view of our results, Bässler's (1981) concept of subspecies recognized too many taxa. Phytosociological, ecological and genetic evidence (Figs 2, 3; Table 2) allows two major lineages to be distinguished: a moisture-loving lineage (comprising subspecies *asphodeloides*, *pannonicus* and *longestipulatus* and the Rovere type) and a dry-adapted lineage (comprising subspecies *collinus*, *suevicus* and *varius*; Fig. 1; Table 5; see also Meusel *et al.*, 1965). The character with the best correlation to the mean Ellenberg indicator values is the length ratio of inflorescence versus leaf (LIL; Tables S4 and S6). Morphotypes that occur at stands with a mean Ellenberg  $F$ -value of  $\geq 5$  (Table 2) also exhibit increased LIL (2–4; 1–2.5 in the dry-adapted lineage; Table 5; cf. Bässler, 1981). In addition to LIL, two further characters show a significant correlation with the  $F$ -value (Table S6). Only the combination of thick storage roots with high LIL would unambiguously indicate a member of the moisture-loving lineage, whereas other combinations would be uninformative (Table 5). As our morphological data matrix is based on the literature and Bässler's concept of subspecies, not on primary field data, a formal taxonomic revision would be premature at this point. *Lathyrus pannonicus* is an endangered species; hence, our collection comprises an insufficient number of complete specimens that could be used for morphometric analyses. Nevertheless, the present study has pinpointed those characters (some of which have been used for infraspecific taxonomy by Bässler [1981] and others) that may be of high systematic value for circumscribing the two major lineages (LIL, thickness of storage roots; see Table 5).

We found no significant correlation between morphology and patterns of ITS differentiation, with one exception: the ecologically informative LIL ratio correlates with MIN-transformed ITS distances (Table 4). Morphological and genetic differentiation is

**Table 4.** Spearman correlation (top right triangle) and  $H_0$  probabilities (bottom left triangle) of selected distance matrices

	Genetic distances		<i>F</i> figure		Relevés		Geography	Morphology		
	PBC	MIN	(abund.)	(pres./abs.)	(abund.)	(pres./abs.)		RT	LIL	Mean
PBC-transformed ITS data	~	<b>0.8839</b>	<b>0.2928</b>	<b>0.3368</b>	-0.0341	0.0018	-0.0341	0.1328	0.1634	0.2304
MIN-transformed ITS data	<b>0.0001</b>	~	<b>0.4950</b>	<b>0.5198</b>	0.0579	0.0756	-0.0380	0.2533	<b>0.2519</b>	0.2062
Moisture regime, <i>F</i> figure (abund.)	<b>0.0049</b>	<b>0.0002</b>	~	<b>0.9472</b>	<b>0.3040</b>	<b>0.3083</b>	0.0289	<b>0.5321</b>	<b>0.3791</b>	0.1426
Moisture regime, <i>F</i> figure (pres./abs.)	<b>0.0024</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.0001</b>	~	<b>0.3155</b>	<b>0.3188</b>	0.0313	<b>0.6066</b>	<b>0.4604</b>	0.2147
Relevés (abund.)	0.6133	0.3155	<b>0.0049</b>	<b>0.0012</b>	~	<b>0.9660</b>	<b>0.5193</b>	0.1634	0.1849	0.1419
Relevés (pres./abs.)	0.5005	0.2533	<b>0.0033</b>	<b>0.0008</b>	<b>0.0001</b>	~	<b>0.5365</b>	0.1454	0.1958	0.1577
Geography	0.6206	0.6483	0.3049	0.2736	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>	~	0.0929	0.2693	0.2716
Morphology, RT	0.0791	0.0116	<b>0.0005</b>	<b>0.0003</b>	0.0772	0.0948	0.1210	~	<b>0.6255</b>	<b>0.4171</b>
Morphology, LIL	0.0683	<b>0.0082</b>	<b>0.0034</b>	<b>0.0007</b>	0.0989	0.087	0.0263	<b>0.0005</b>	~	<b>0.7637</b>
Morphology, mean	0.0244	0.0252	0.0841	0.0231	0.1720	0.1439	0.0273	<b>0.0023</b>	<b>0.0001</b>	~

Significant correlations ( $P \leq 0.01$ ) are highlighted in bold. Abbrev.: abund., abundance; ITS, internal transcribed spacer; LIL, length ratio of inflorescence to leaf; PBC, MIN, acronyms of transformation devised by Göker & Grimm (2008); pres./abs., presence/absence; RT, thickness of storage root. The complete table is provided as online supporting material (Table S6).

**Table 5.** Morphological and taxonomic circumscription of ecologically relevant lineages in *Lathyrus pannonicus*

	<i>F</i> figure (min/max values, both scorings)	Comprised morphotypes	LIL (length ratio of inflorescence to leaf)	Length ratio calyx teeth to calyx tube	Storage root
Moist-preferring lineage	4.7/5.7	Subspecies <i>asphodeloides</i> [A], <i>longestipulatus</i> [L], <i>pannonicus</i> [P], Rovere type [R]	Variable: 1–1.2 [A]; 2–3 [P,R]; 3–4 [L]	0.5 [all morphotypes]	Thick [L,P,R] or thin [A]
Dry-tolerant lineage	3.3/4.6	Subspecies <i>collinus</i> [C], <i>suevicus</i> [S], <i>varius</i> [V]	Constrained: 1–1.2 [C,S]; 1.5–2.5 [V]	0.5–0.8 [C,S]; 1.0 [V]	Thin [C,V] or intermediate [S]
<i>Lathyrus ledebourii</i>	?		Constrained: 1–1.2	0.67–1	No storage roots

Morphological data are based on Bässler (1981) (see Table S5).



not generally congruent in *L. pannonicus* (Fig. 3). Morphological data (circumscription of subspecies; Bässler, 1981) are not in full agreement with either the ecological characteristics of the investigated stands (Tables 2, 4) or the molecular differentiation patterns (Fig. 3). On the other hand, molecular data are highly consistent with the distinction of two evolutionary lineages defined by different habitat preferences, two 'ecospecies' (Turesson, 1922a, b, 1925; for more recent applications, see Kalinganire, Pinyopusarerk & Williams, 2002; Brosse, Grossman & Lek, 2007), within a polytypic 'morphospecies' *L. pannonicus* (Fig. 3; Tables 4, 5). The picture may become clearer when more data are available. With respect to the situation in the field (threatened populations comprising few individuals; evidence for extinction in historical times, e.g. Loire Valley, central France, Fournier & Hubert, 2005 onwards, and south-west Germany, Lang & Wolff, 1993), such morphometric data will need to incorporate data from the large collections in herbaria in addition to further molecular and phytosociological surveys (Schlee *et al.*, 2003; M. Schlee, unpubl. data). These data were not included in the present study, because we wanted to test the correlation of *all* four datasets.

#### ECOLOGICAL DIFFERENTIATION IN *L. PANNONICUS*

Patterns of ITS and morphological differentiation converge if the mean Ellenberg *F*-values of a stand are used as an additional source of information (Figs 2, 3; Tables 2, 4, 5). This is remarkable considering the complex and, to some degree, puzzling morphological and genetic differentiation found in the *L. pannonicus* species complex (Tables 3, 5) and the discontinuity of its distribution (Fig. 1; Meusel *et al.*, 1965; Bässler, 1981). The fragmentation of the distribution area may have accelerated the fixation of these patterns (cf., for example, Templeton *et al.*, 2001; Clark *et al.*, 2010), but is apparently not the major force behind them (Figs 2, 3; Tables 2, 4). Based on our results, we hypothesize that the conspicuous pattern of morphological and genetic differentiation in *L. pannonicus* is primarily a result of an ecological shift. The modern distribution of *L. pannonicus* (and its assumed close relative, *L. ledebourii*; Bässler, 1981; cf. Table 1) suggests that the species (complex) originated in steppe-like habitats (dry grasslands) in Central Asia at some point in the Neogene. Most species of section *Lathyrrostylis* (Griseb.) Bässler are confined to steppe-like environments in Central Asia or Asia Minor, e.g. *L. armenus* (Boiss. & Huet) Čelak., *L. cyaneus* (Steven) C.Koch, *L. karsianus* P.H.Davis, *L. nivalis* Hand.-Mazz. and *L. digitatus* (Bieb.) Fiori, the latter also occurring in southern Europe (Bässler, 1981).

With the uplift of the Tibetan plateau in the Neogene, Central Asia became progressively drier. Consequently, the open landscapes typical of the Altai foothills in modern Kazakhstan were shaped that host (or have hosted) a significant population of *L. pannonicus* (subsp. *multijugus*) and *L. ledebourii* (Bässler, 1981; more recent census data are not available). Increased continentality also affected most parts of western Eurasia from the late Miocene onwards: the Pliocene to Holocene of large parts of Europe was characterized by the extension and shrinking of steppe-like environments and vegetation (Mai, 1995). During one or several dry episodes, *L. pannonicus* could have extended its range to the Balkans and the Pannonian Basin, the modern centre of abundance of the dry-adapted lineage in Europe. Primarily adapted to drier environments, but also tolerant of moisture to a certain degree (Table 2), one ecotype of *L. pannonicus*, subsequently forming the moisture-loving lineage, was able to adapt further to generally moister, but still relatively open, habitats, such as forest fringe communities like those found today near Vienna (Mucina & Kolbek, 1993: 275ff.; Schlee *et al.*, 2003; Aeschmann *et al.*, 2004; for historical context, see Wilmanns, 1988). From Central Europe, both lineages could have colonized more western localities using suitable corridors north and south of the Alps. Colonization was possibly asynchronous because of the different ecological requirements of the lineages (this study): during wetter periods, the dry-adapted populations were probably isolated from each other (increased genetic drift) and came into contact with the expanding wet-loving populations, permitting the possibility of locally restricted inter-lineage gene flow, whereas the latter underwent a period of increased intra-lineage gene flow and homogenization (the situation was reversed in dry periods).

#### *LATHYRUS PANNONICUS*, ONE SPECIES OR TWO?

If one applies a traditional, 'pattern-based' definition of species and subspecies, as advocated by Mallet (1995), we need to focus on the differentiation patterns that emerge(d) when two (potential) sibling species come (or came) into contact (see Mallet, 1995, and literature cited therein; for examples, see Grant & Grant, 2006; Wake, 2006). If they 'easily fuse', for example by producing numerous intermediates, they can be considered to be subspecies and, if they do not prevalently fuse, they can be considered to be species (Mallet, 1995; see also Mallet, 2001, 2008, 2010; Grant & Grant, 2006; and literature cited therein). The relative similarity between neighbouring stands, such as Gap and R18 (Fig. 3; Tables 2, 5) and the *collinus*-type individual at stand R2/R3 (cf. Appendix S1), could mirror occasional unhindered

gene flow and intermixing in (former) contact zones that lead to the formation of intermediate (or ambiguous) types. On the other hand, if the moisture-loving lineage evolved by an ecological shift from populations of the dry-adapted lineage (a 'budding' event), the morphological resemblance of some moisture-loving ecotypes to dry-adapted ecotypes could be a relict or a lineage-sorting phenomenon accompanying speciation.

Despite these potentially contact-related phenomena, our data indicate that there are, indeed, substantial barriers to unhindered gene flow between the two lineages within *L. pannonicus* on a rather small geographical scale and in the absence of geographical barriers (Fig. 1). For example, the dry-adapted and moisture-loving lineages are readily distinguishable in the Pannonian Basin, where they occur in closest proximity, but in different habitats (Figs 1–3; Table 5; cf. Bässler, 1981; Schlee *et al.*, 2003). Both lineages are, with the exception of one stand (R2/R3; details given in Appendix S1), morphologically distinct (Tables 5, S5). This is comparable with the situation in eastern Kazakhstan and the Russian Altai. There, *L. pannonicus* occurs sympatrically with its close relative *L. ledebourii* (Nosova, 1965; Bässler, 1981; M. Schlee, unpubl. ITS data), the latter being distinguished from *L. pannonicus* by the lack of storage roots (Tables 1, 4; Bässler, 1981). Furthermore, ecotypes representing both lineages, the dry-adapted (Hungary, south-west Germany, Istrian Peninsula, south France) and moisture-loving (Austria, central Italy, south-east France, north Spain) lineages, are found scattered throughout the range of the morphospecies *L. pannonicus* (Fig. 1; Meusel *et al.*, 1965: map K251d). Phases of temporary contact can be assumed (see above); however, characteristic genetic (or morphological) signatures of the two primary ecotypes were not lost or obscured during migratory (range-shaping) processes. Thus, it is reasonable to argue that the complex (polytypic) morphospecies *L. pannonicus* (Ball, 1968; Bässler, 1981) actually comprises two (eco-)species.

Breeding and cultivation experiments under controlled conditions would be helpful. For example, would individuals from the Gap population (a member of the moisture-loving lineage lacking the typical LIL ratio; Table 5) be able to adapt their morphology if placed in more moist environments, or would the moisture-loving ecotypes in Austria or Spain (see Table 5), with their highly distinct morphology, adapt to, or thrive in, dry habitats? Mayer (1925, referring to a letter from A. Tscherning, Vienna) reported an experiment conducted by the Austrian professor J. Wiesbaur near Kalksburg, Vienna. Wiesbaur apparently found that the differences between the two morphotypes found near Vienna (already treated as

ecologically distinct races or varieties at that time), the generally dry-standing (Wiesbaur *in litt.*; Mayer, 1925) *L. pannonicus* 'versicolor' (synonym of subsp. *collinus*) and the generally moist-standing (Wiesbaur *in litt.*; Mayer, 1925) *L. pannonicus* 'austriacus' (synonym of subsp. *pannonicus*), increased when cultivated next to each other for several years. This would further support the idea that the dry-adapted and moisture-loving lineages cannot merge freely and would be better treated as two (Linnaean) species ('*L. collinus*', '*L. pannonicus s.str.*'), rather than as subspecies (Meusel *et al.*, 1965), in analogy with the treatment of *L. ledebourii* as a distinct species.

## CONCLUSIONS AND OUTLOOK

Combined analyses of inter-stand distances based on phytosociological (habitat), morphological and genetic data suggest two major evolutionary lineages (ecospecies) within the morphospecies *L. pannonicus*. Using matrix correlation, we found that the moisture regime is linked to the detected complex patterns of molecular and morphological differentiation. The next step is to better circumscribe these two major lineages by collecting sufficient morphometric data in addition to more broadly sampled molecular data. Herbarium specimens commonly lack detailed information about the environment (stand, habitat). Nevertheless, the inclusion of data from such specimens is indispensable if the original stand is difficult to access, not available any longer (Loire Valley; Palatinate; Monte Baldo) or highly threatened as in the case of *L. pannonicus* (Tübingen, south-west Germany; Cevennes; Abruzzo). Testing whether the differentiation patterns remain stable within analyses of a larger dataset will resolve whether the two major lineages should be treated as subspecies or species, and formalize the appropriate taxa.

A distance analysis framework is advantageous for addressing the question of how different divergence patterns are linked. Combining phytosociological monitoring, including information from Ellenberg or other ecological indicator values, broadly sampled molecular data, patterns of geographical distribution and morphological differentiation, it is also possible to define units that require protection efforts as they represent evolutionary stepping stones.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Special thanks go to Angela Dressel and Karin Stögerer for technical assistance, to Wilhelm Sauer for discussion and to Thomas Denk and Steve McLoughlin for helpful comments on the manuscript. Further thanks go to Reinhard Berndt, Zürich, and Zoltán Varga, Debrecen, for discussions and mate-

rial. The reports of two very attentive and interested anonymous reviewers were greatly appreciated. Friedrich Schlee, E. Zeidler-Schewzowa and the University of Barnaul (Altai, Siberia) are kindly acknowledged for contributing plant material, and GZU, LY, M and MA for sending specimens for revision. The hospitality of the visited herbaria BC, BOLO, C, DR, E, FB, FI, FR, G, HBG, K, LE, LI (with special thanks to Franz Speta), LJU (with special thanks to the late Tone Wraber), MPU (incl. SIGMA), M, P, RO (with special thanks to Maretta Colasante), S, STU, TUB (with special thanks to Cornelia Dilger-Endrulat), UPS, WU, W and Z was enjoyed with great pleasure. Travel expenses were kindly supported by the Reinhold-und-Maria-Teufel-Stiftung, Tuttlingen, Germany, and the German Academic Exchange Service (DAAD). MS was supported by Landesgraduiertenförderung, Baden-Württemberg, Germany; GWG was supported by the Swedish Research Council (VR).

## REFERENCES

- Aeschimann D, Lauber K, Moser DM, Theurillat J-P. 2004.** *Flora alpina. Ein Atlas sämtlicher 4500 Gefäßpflanzen der Alpen. Vol. 1: Lycopodiaceae–Apiaceae.* Bern, Stuttgart: Haupt.
- Allen ON, Allen EK. 1981.** *The Leguminosae – a source book of characteristics, uses and nodulation.* London: Macmillan.
- Asmussen CB, Liston A. 1998.** Chloroplast DNA characters, phylogeny, and classification of *Lathyrus* (Fabaceae). *American Journal of Botany* **85**: 387–401.
- Auch AF, Henz SR, Holland BR, Göker M. 2006.** Genome BLAST distance phylogenies inferred from whole plastid and whole mitochondrion genome sequences. *BMC Bioinformatics* **7**: 350.
- Ball PW. 1968.** *Lathyrus* L. (incl. *Orobanchaceae*). In: Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA, Ball PW, Chater AO, Ferguson IK, eds. *Flora Europaea, Vol. 2 (Rosaceae to Umbelliferae).* Cambridge: Cambridge University Press, 136–143.
- Barrow MV, Simpson CF, Miller EJ. 1974.** Lathyrism: a review. *Quarterly Review of Biology* **49**: 101–128.
- Bässler M. 1981.** Revision von *Lathyrus* L. sect. *Lathyrystylis* (Griseb.) Bässler (Fabaceae). *Feddes Repertorium* **92**: 178–254.
- Böcker R, Dirk M. 2004.** Measures to restrict *Robinia pseudoacacia*. *Neobiota* **3**: 91–100.
- Braun-Blanquet J. 1964.** *Pflanzensoziologie – Grundzüge der Vegetationskunde.* Wien, New York: Springer.
- Breunig T, Demuth S. 1999.** *Rote Liste der Farn- und Samenpflanzen Baden-Württemberg (Stand 15.4.1999).* Karlsruhe: Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg (LfU).
- Brosse S, Grossman GD, Lek S. 2007.** Fish assemblage patterns in the littoral zone of a European reservoir. *Freshwater Biology* **52**: 448–458.
- Bryant D, Moulton V. 2002.** NeighborNet: an agglomerative method for the construction of planar phylogenetic networks. In: Guigó R, Gusfield D, eds. *Algorithms in bioinformatics, Second International Workshop, WABI, Rome, Italy.* Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 375–391.
- Bryant D, Moulton V. 2004.** Neighbor-Net: an agglomerative method for the construction of phylogenetic networks. *Molecular Biology and Evolution* **21**: 255–265.
- Cervoský J, Feráková V, Holub J, Maglocký S, Precházka F. 1999.** *Cervená kniha. Ohrožených a vzácných druhů rostlin a živočichů SR a ČR. Vysší rostliny.* [The Czech and Slovak Red Data Book – vascular plants]. Bratislava: Příroda (Nature) Publishers.
- Chas E. 1994.** *Atlas de la flore des Hautes-Alpes.* Gap: Conservatoire Botanique National Alpin de Gap-Charance/Conservatoire des Espaces naturels de Provence et des Alpes du sud, Parc National des Écrins.
- Clark RW, Brown WS, Stechert R, Zamudio KR. 2010.** Roads, interrupted dispersal, and genetic diversity in timber rattlesnakes. *Conservation Biology* **24**: 1059–1069.
- Cole CT. 2003.** Genetic variation in rare and common plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **34**: 213–237.
- Coste H. 1937.** *Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes. Vol. 1.* Paris: Librairie des Sciences et des Arts.
- Denk T, Grimm G, Stögerer K, Langer M, Hemleben V. 2002.** The evolutionary history of *Fagus* in western Eurasia: evidence from genes, morphology and the fossil record. *Plant Systematics and Evolution* **232**: 213–236.
- Dierschke H. 1994.** *Pflanzensoziologie – Grundlagen und Methoden.* Stuttgart (Hohenheim): Ulmer.
- Ellenberg H. 1979.** *Zeigerwerte der Gefäßpflanzen Mitteleuropas.* Göttingen: Erich Goltze.
- Ellenberg H, Weber HE, Düll R, Wirth V, Werner W, Paulißen D. 1992.** *Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa.* Göttingen: Erich Goltze.
- Ewald J. 2003.** The sensitivity of Ellenberg indicator values to the completeness of vegetation relevés. *Basic and Applied Ecology* **4**: 507–513.
- Fedchenko BA. 1972 [1948].** Genus 826. *Lathyrus* L. In: Shishkin BK, Bobrov EG, eds. *Flora of the U.S.S.R. (Flora SSSR). Vol. XIII. Leguminosae: Oxytropis, Hedysarum.* Jerusalem: Israel Program from Scientific Translations, 363–396 [translated from Russian; original: Moskva, Leningrad: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, 479–520].
- Fikre A, Korbu L, Kuo Y-H, Lambein F. 2008.** The contents of the neuro-excitatory amino acid beta-ODAP (beta-N-oxalyl-L-alpha,beta-diaminopropionic acid), and other free and protein amino acids in the seeds of different genotypes of grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Food Chemistry* **110**: 422–427.
- Fischer MA, Adler W, Oswald K, eds. 2005.** *Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol.* Linz: Land Oberösterreich, Biologiezentrum der OÖ Landesmuseen.
- Flora Europaea. 1998–2005.** Flora Europaea online database (excerpt from the PANDORA taxonomic data base

- system). Royal Botanic Garden Edinburgh. Available at <http://rbg-web2.rbge.org.uk/FE/fe.html> [last accessed 10/08/2010].
- Fournier E, Hubert S. 2005 onwards.** *Lathyrus pannonicus* (Jacq.) Garcke subsp. *asphodeloides* (Gouan) Bässler. Gesse fausse asphodèle. Homepage of the Conservatoire du Patrimoine Naturel Sarthois (CPNS). Available at [http://www.sarthe.com/cpns/RUBRIQUE%202/FLORE/flore\\_58.htm](http://www.sarthe.com/cpns/RUBRIQUE%202/FLORE/flore_58.htm) [accessed August 2010].
- Gallego MJ, Talavera S. 1999.** 35. *Lathyrus* L. In: Talavera S, Aedo C, Castroviejo S, Romero Zarco C, Sáez L, Salgueiro FJ, Velayos M, eds. *Flora Iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol. VII (1), Leguminosae (partim)*. Madrid: Real Jardín Botánico, CSIC, 423–482.
- Gams, H. 1924.** *Lathyrus*. In: Hegi, G. *Illustrierte Flora von Mitteleuropa, IV. Band, 3. Teil: Dicotyledones, 2. Teil: Leguminosae – Tropaeaceae*. München: Lehmann, pp. 1562–1609.
- Getahun H, Lambein F, Vanhoorne M, Van der Stuyft P. 2005.** Neurotoxicity risk depends on type of grass pea preparation and on mixing with cereals and antioxidants. *Tropical Medicine and International Health* **10**: 169–178.
- Gitzendanner MA, Soltis PS. 2000.** Patterns of genetic variation in rare and widespread congeners. *American Journal of Botany* **87**: 783–792.
- Goiran A. 1900.** *Le piante fanerogame dell'agro veronese: censimento*. vol. 2. Verona: Stabilimento Tipo-lit. G. Franchini.
- Göker M, Grimm GW. 2008.** General functions to transform associate data to host data, and their use in phylogenetic inference from sequences with intra-individual variability. *BMC Evolutionary Biology* **8**: 86.
- Grant PR, Grant BR. 2006.** Species before speciation is complete. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **93**: 94–102.
- Grimm GW, Schlee M, Komarova NY, Volkov RA, Hemleben V. 2005.** Low-level taxonomy and intrageneric evolutionary trends in higher plants. In: Endress PK, Lüttge U, Parthier B, eds. *From plant taxonomy to evolutionary biology*. Nova Acta Leopoldina, N. F., Vol. 92, No. 342. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 129–145.
- Guinochet M, de Vilmorin R. 1984.** *Flore de France. Fascicule 5: Rosales–Myrtales*. Paris: Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Gunnarsson U, Hassel K, Söderström L. 2005.** Genetic structure of the endangered peat moss *Sphagnum angermanicum* in Sweden: a result of historic or contemporary processes? *The Bryologist* **108**: 194–203.
- Haeupler H, Schönfelder P, Schuhwerk F, eds. 1988.** *Atlas der Farn- und Blütenpflanzen der Bundesrepublik Deutschland*. Stuttgart: Ulmer.
- Haque A, Hossain M, Wouters G, Lambein F. 1996.** Epidemiological study of lathyrism in northwestern districts of Bangladesh. *Neuroepidemiology* **15**: 83–91.
- Hédil R, Kopecký M, Komárek J. 2010.** Half a century of succession in a temperate oakwood: from species-rich community to mesic forest. *Diversity and Distributions* **16**: 267–276.
- Hill MO, Roy DB, Mountford JO, Bunce RGH. 2000.** Extending Ellenberg's indicator values to a new area: an algorithmic approach. *Journal of Applied Ecology* **37**: 3–15.
- Huson DH, Bryant D. 2006.** Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* **23**: 254–267.
- IOPI. 1996–2007.** Provisional global plant checklist: international organization for plant information. Available at <http://www.bgbm.org/iopi/gpc/default.asp> [last accessed 07/09/2010].
- Jacquin NJ. 1773.** *Floræ Austriacæ, sive plantarum selectarum in Austriæ archiducatu sponte crescentium, icones, ad vivum coloratæ, et descriptionibus, ac synonymis illustratæ / Vol. I. Opera et sumptibus Nicolai Josephi Jacquin*. Viennæ: Leopoldi Joannis Kaliwoda, aulæ imperialis typographi.
- Janchen E. 1956–1960.** *Catalogus Floræ Austriae. Vol. 1. I. Teil: Pteridophyten und Anthophyten (Farne und Blütenpflanzen)*. Wien: Springer.
- Kalinganire A, Pinyopusarker K, Williams ER. 2002.** Geographic variation in seedling morphology of *Chukrasia* species. *Australian Journal of Botany* **50**: 319–330.
- Kang M, Jiang M, Huang H. 2005.** Genetic diversity in fragmented populations of *Berchemiella wilsonii* var. *pubipetiolata* (Rhamnaceae). *Annals of Botany* **95**: 1145–1151.
- Kenicer GJ, Kajita T, Pennington RT, Murata J. 2005.** Systematics and biogeography of *Lathyrus* (Leguminosae) based on internal transcribed spacer and cpDNA sequence data. *American Journal of Botany* **92**: 1199–1209.
- Lang W, Wolff P. 1993.** *Flora der Pfalz. Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen für die Pfalz und ihre Randgebiete (= Veröffentlichung der Pfälzerischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften in Speyer; 85)*. Speyer: Verlag der Pfälzerischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften.
- Legendre P. 2001.** *Congruence among distance matrices: Program CADM user's guide*. Montréal, QC: Département de Sciences Biologiques, Université de Montréal.
- Legendre P, Lapointe F-J. 2004.** Assessing congruence among distance matrices: single-malt Scotch whiskies revisited. *Australian and New Zealand Journal of Statistics* **46**: 615–629.
- Legendre P, Legendre L. 1998.** *Numerical ecology*. Amsterdam: Elsevier Science.
- McCraney WT, Goldsmith G, Jacobs DK, Kinziger AP. 2010.** Rampant drift in artificially fragmented populations of the endangered tidewater goby (*Eucyclogobius newberryi*). *Molecular Ecology* **19**: 3315–3327.
- Mai DH. 1995.** *Tertiäre Vegetationsgeschichte Europas*. Jena, Stuttgart, New York: Gustav Fischer.
- Mallet J. 1995.** A species definition for the Modern Synthesis. *Trends in Ecology and Evolution* **10**: 294–299.
- Mallet J. 2001.** The speciation revolution. *Journal of Evolutionary Biology* **14**: 887–888.
- Mallet J. 2008.** Hybridization, ecological races, and the

- nature of species: empirical evidence for the ease of speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* **363**: 2971–2986.
- Mallet J. 2010.** Why was Darwin's view of species rejected by twentieth century biologists? *Biology and Philosophy* **25**: 497–527.
- Mayer A. 1914.** *Lathyrus pannonicus* Garcke = var. 'macrorrhizus' – 'microrrhizus' Neilreich. *Allgemeine Botanische Zeitschrift für Systematik, Floristik, Pflanzengeographie etc., Karlsruhe* **20**: 75–77.
- Mayer A. 1925.** Zwei seltene Platterbsenarten in Württemberg. *Veröffentlichungen der Staatlichen Stelle für Naturschutz beim Württembergischen Landesamt für Denkmalspflege, Stuttgart* (= Beilage zu Jahreshefte des Vereins für Vaterländische Naturkunde in Württemberg, Stuttgart 81 [1925]) **2**: 47–53.
- Mera M, Montenegro A, Espinoza N, Guete N. 2000.** Research backs grass pea exports by small Chilean farmers. *Lathyrus Lathyrism Newsletter* **1**: 31.
- Meusel H, Jäger E, Weinert E. 1965.** *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora*. Jena: Gustav Fischer, Vol. 1, Part 1, Text; Vol. 1, Part 2, Karten [maps].
- Mortellaro R, Colasante M. 1997.** On the distribution of *Lathyrus L. species* (Fabaceae) in Lazio (central Italy). *Linzer Biologische Beiträge* **29**: 247–297.
- Mucina L, Kolbek J. 1993.** *Trifolio-Geranietea sanguinei*. In: Mucina L, Grabherr G, Ellmauer T, eds. *Die Pflanzengesellschaften Österreichs, Band 1: Anthropogene Vegetation*. Jena, Stuttgart, New York: Gustav Fischer, 271–296.
- Mueller-Dombois D, Ellenberg H. 1974.** *Aims and methods of vegetation ecology*. New York, London, Sydney, Toronto: John Wiley & Sons.
- Niklfeld H, Schratt-Ehrendorfer L. 1999.** Rote Liste gefährdeter Farn- und Blütenpflanzen (Pteridophyta und Spermatophyta) Österreichs. 2. Fassung. *Grüne Reihe des Bundesministeriums für Umwelt, Jugend und Familie* **10**: 33–151.
- Nosova LM. 1965.** Some new species with disjunctive ranges in the flora of northern steppe in the European part of the USSR. *Bjulleten' Moskovskogo Obscestva Ispytatelej Prirody, Otdel biologiceskij* [= *Bulletin of Moscow Society of Naturalists, Biological series*]. **70**: 116–130.
- Ortmann J. 1853.** Ueber *Orobis lacteus* M. B., *Orobis versicolor* Gmelin. und *Orobis albus* Lin. fil. *Verhandlungen des zoologisch-botanischen Vereins in Wien* **2**: 9–13.
- Parisod C, Besnard G. 2007.** Glacial *in situ* survival in the Western Alps and polytopic autopolyploidy in *Biscutella laevigata* L. (Brassicaceae). *Molecular Ecology* **16**: 2755–2767.
- Pignatti S. 1982.** *Flora d'italia, vol. 1*. Bologna: Edagricole.
- Poldini L. 1989.** *La vegetazione del Carso isontino e triestino. Studio del paesaggio vegetale fra Trieste, Gorizia e i territori adiacenti* [The vegetation of the isontine and triestine Karst]. Trieste: Lint.
- Qiu J, Fu Y-B, Bai Y, Wilmschurst JF. 2009.** Genetic variation in remnant *Festuca hallii* populations is weakly differentiated, but geographically associated across the Canadian Prairie. *Plant Species Biology* **24**: 156–168.
- Sanchez Vioque R, de los Mozos Pascual M, Rodriguez Conde MF. 2009.** Contents of total protein and beta-N-oxalyl-L-alpha,beta-diaminopropionic acid (ODAP) in a collection of *Lathyrus cicera* of the Bank of Plant Germplasm of Cuenca (Spain). *Plant Breeding* **128**: 317–320.
- Schlee M. 2004.** *Probleme der Erhaltung biologischer Vielfalt in der Kulturlandschaft – ökologische Schäden durch verfehlte Pflegekonzepte*. In: Potthast T, ed. *Ökologische Schäden – begriffliche, methodologische und ethische Aspekte* (= *Theorie in der Ökologie*; 10). Frankfurt: Peter Lang, 95–120.
- Schlee M. 2005.** Untersuchungen zur Pflegesituation im Naturschutzgebiet 'Beurener Heide' bei Hechingen. *Jahreshefte der Gesellschaft für Naturkunde in Württemberg, Stuttgart* **161**: 125–176.
- Schlee M, Sauer W, Hemleben V. 2003.** *Molekulare und pflanzensoziologische Analyse von pontisch-pannonischen Reliktarten aus wärmebegünstigten Saum-Gesellschaften Süddeutschlands und benachbarter Gebiete*. In: Hempel G, Röbbelen G, Otte A, Wissel C, eds. *Biodiversität und Landschaftsnutzung in Mitteleuropa*. Nova Acta Leopoldina, N. F. Vol. 87, No. 328, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 379–387.
- Schlee M, Göker M, Grimm GW, Hemleben V. 2010.** *Relicts within the genus complex Astragalus/Oxytropis (Fabaceae), and the comparison of diversity by objective means*. In: Habel JC, Assmann T, eds. *Relict species*. Heidelberg, New York: Springer, 105–118.
- Schnittler M, Köppel C, Rennwald E, Hirneisen N. 2001.** *European national red lists of threatened plants*. Document of the European Council issued for the Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats [Document no. T-PVS (2001)]. Strasbourg, January 8th 2001.
- Schönschwetter P, Popp M, Brochmann C. 2006.** Central Asian origin of and strong genetic differentiation among populations of the rare and disjunct *Carex atrofusca* (Cyperaceae) in the Alps. *Journal of Biogeography* **33**: 948–956.
- Selye H. 1957.** Lathyrism. *Revue Canadienne de Biologie* **16**: 1–82.
- Smulikowska S, Rybinski W, Czerwinski J, Taciak M, Mieukowska A. 2008.** Evaluation of selected mutants of grasspea (*Lathyrus sativus* L.) var. Krab as an ingredient in broiler chicken diet. *Journal of Animal and Feed Sciences* **17**: 75–87.
- Spencer PS, Schaumburg HH. 1983.** Lathyrism: a neurotoxic disease. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology* **5**: 625–629.
- Spencer PS, Dwivedi MP, Ludolph A, Roy DN, Hugon J, Schaumburg HH. 1986.** Lathyrism. Evidence for role of neuroexcitatory amino acid BOAA. *The Lancet* **328**: 1066–1067.
- Stamatakis A, Auch AF, Meier-Kolthoff J, Göker M. 2007.** AxPcoords & parallel AxParafit: statistical co-phylogenetic analyses on thousands of taxa. *BMC Bioinformatics* **8**: 405.
- Swofford DL. 2002.** *PAUP\*: phylogenetic analysis using*

- parsimony (and other methods) 4.0 beta*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Templeton AR, Robertson RJ, Brisson J, Strasburg J. 2001.** Disrupting evolutionary processes: the effect of habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **98**: 5426–5432.
- Turesson GW. 1922a.** The genotypical response of the plant species to the habitat. *Hereditas* **3**: 211–350.
- Turesson GW. 1922b.** The species and variety as ecological units. *Hereditas* **3**: 100–113.
- Turesson GW. 1925.** The plant species in relation to habitat and climate. *Hereditas* **6**: 147–236.
- Turesson GW. 1931.** The geographical distribution of the Alpine ecotype of some Eurasiatic plants. *Hereditas* **15**: 329–346.
- Ur-Rehman S, Piggott JR, Ahmad MM, Hussain S, Ahmad N, Owusu-Darko P. 2008.** Preparation and evaluation of pizza cheese made from blend of vetch-bovine milk. *International Journal of Food Science and Technology* **43**: 770–778.
- Wake DB. 2006.** Problems with species: patterns and processes of species formation in salamanders. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **93**: 8–23.
- Wares JP. 2001.** Intraspecific variation and geographic isolation in *Idotea balthica* (Isopoda: Valvifera). *Journal of Crustacean Biology* **21**: 1007–1013.
- Welk E. 2002.** *Arealkundliche Analyse und Bewertung der Schutzrelevanz seltener und gefährdeter Gefäßpflanzen Deutschlands (=Schriftenreihe für Vegetationskunde; 37)*. Bonn-Bad Godesberg: Bundesamt für Naturschutz.
- Wilmanns O. 1988.** *Säume und Saumpflanzen – ein Beitrag zu den Beziehungen zwischen Pflanzensoziologie und Paläobotanik*. In: Küster H, ed. *Der prähistorische Mensch und seine Umwelt – Festschrift für Udelgard Körber-Grohne zum 65. Geburtstag (=Landesdenkmalamt Baden-Württemberg: Forschungen und Berichte zur Vor- und Frühgeschichte in Baden-Württemberg; 31)*. Stuttgart: Konrad Theiss, 21–30.
- Witkowski ZJ, Król W, Solarz W, eds. 2003.** *Carpathian list of endangered species*. Vienna, Krakow: WWF and Institute of Nature Conservation, Polish Academy of Sciences.
- Wörz A. 1992.** 14. *Lathyrus L. 1753 inkl. Orobus L. 1753, Platterbse, Kichererbse*. In: Sebald O, Seybold S, Philippi G, eds. *Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs, Band 3. Spezieller Teil (Spermatophyta, Unterklasse Rosidae) Droseraceae bis Fabaceae*. Stuttgart: Ulmer, 362–388.

## SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

**Table S1.** Phytosociological relevés of selected stands of *Lathyrus pannonicus*

**Table S2.** Voucher data and EMBL database accession numbers.

**S3.** NEXUS-formatted internal transcribed spacer (ITS) data (nucleotide character) matrix.

**Table S4.** Individual Ellenberg values of taxa recorded in the relevés.

**Table S5.** Morphological matrix and ranking of characters.

**Table S6.** Results of correlation analysis using CADM

**Table S7.** Tabulation of minimum and maximum genetic distances between individuals and morphotaxa.

**Appendix S1.** Note on data of stand R2/R3.

Please note: Wiley-Blackwell are not responsible for the content or functionality of any supporting materials supplied by the authors. Any queries (other than missing material) should be directed to the corresponding author for the article.