

# **Phylogenie und Biogeographie der Linoideae (Linaceae)**

-

## **Evolution von Heterostylie / Homostylie in *Linum***

Dissertation zur Erlangung des Grades  
"Doktor der Naturwissenschaften"

am Fachbereich Biologie  
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

Miriam Repplinger  
geboren in Koblenz

Mainz, im Januar 2009



**Dekan:**

**1. Berichtstatter:**

**2. Berichtstatter:**

**Tag der mündlichen Prüfung: 16.07.2009**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Zusammenfassung</b>	<b>7</b>
<b>2 Einleitung</b>	<b>9</b>
<b>3 Phylogenie und Biogeographie der Linoideae (Linaceae) unter besonderer Berücksichtigung der Gattung <i>Linum</i></b>	<b>11</b>
<b>3.1 Einleitung</b>	<b>13</b>
<b>3.2 Material und Methoden</b>	<b>19</b>
3.2.1 Pflanzenmaterial	19
3.2.1.1 Molekulare Untersuchung	19
3.2.1.2 Morphologische Untersuchung	20
3.2.2 Molekulare Daten	20
3.2.2.1 DNA Isolierung	20
3.2.2.2 Amplifikation	21
3.2.2.2.1 <i>rbcL</i>	21
3.2.2.2.2 ITS	22
3.2.2.3 Aufreinigung der PCR-Produkte	23
3.2.2.4 Sequenzierung	23
3.2.2.5 Bearbeitung der Chromatogramme	24
3.2.2.6 Alignierung der Sequenzen	24
3.2.3 Molekulare Phylogenie	24
3.2.3.1 Parsimonieanalyse ( <i>Maximum Parsimony</i> , MP)	25
3.2.3.1.1 Bootstrap	26
3.2.3.1.2 Homoplasie	26
3.2.3.2 <i>Maximum Likelihood</i> (ML)	27
3.2.3.2.1 Bootstrap	28
3.2.3.3 Molekulare Uhr	29
3.2.4 Konstruktion eines ' <i>Supertrees</i> '	30
3.2.5 <i>Dispersal-Vicariance</i> Analyse (DIVA)	31
3.2.6 Rekonstruktion ancestraler Merkmalszustände	31
<b>3.3 Ergebnisse</b>	<b>33</b>
3.3.1 Phylogenie der Malpighiales	33
3.3.2 Intergenerische Untersuchung der Linoideae	35
3.3.3 Verwandtschaftliche Beziehungen innerhalb der Linoideae	39
3.3.3.1 Beziehungen innerhalb der 'Blauen Gruppe'	39
3.3.3.2 Beziehungen innerhalb der 'Gelben Gruppe'	42
3.3.4 Kalkulierung einer molekularen Uhr	46
3.3.5 Kombination verschiedener Datensätze zu einem ' <i>Supertree</i> '	46
3.3.6 <i>Dispersal-Vicariance</i> Analyse (DIVA)	47
3.3.7 Rekonstruktion ancestraler Merkmale	49
<b>3.4 Diskussion</b>	<b>51</b>
3.4.1 Position der Linaceae innerhalb der Malpighiales	51
3.4.2 Intrafamiliäre Beziehungen der Linaceae	53
3.4.3 Intergenerische Beziehungen innerhalb der Linoideae	60
3.4.3.1 <i>Anisadenia</i> / <i>Reinwardtia</i> / <i>Tirpitzia</i>	60
3.4.3.2 <i>Cliococca</i> / <i>Hesperolinon</i> / <i>Linum</i> / <i>Radiola</i> / <i>Sclerolinon</i>	61

3.4.3.2.1	Sektion <i>Linum</i> (= Sekt. <i>Eulinum</i> GRISEB.)	63
3.4.3.2.2	Sektion <i>Dasylinum</i> (PLANCH) JUZ.	67
3.4.3.2.3	<i>Linum stelleroides</i> PLANCH.	69
3.4.3.2.4	Sektion <i>Cathartolinum</i> (RCHB.) GRISEB.	69
3.4.3.2.5	Sektion <i>Syllinum</i> GRISEB.	71
3.4.3.2.6	Sektion <i>Linopsis</i> (PLANCH.) ENGELM.	73
3.4.3.2.7	<i>Radiola</i> HILL	78
3.4.3.2.8	<i>Cliococca</i> BAB.	78
3.4.3.2.9	<i>Sclerolinon</i> C. M. ROGERS	79
3.4.3.2.10	<i>Hesperolinon</i> SMALL	80
3.4.4	Mögliche taxonomische Umstrukturierungen der Linoideae	81
3.4.5	Biogeographie	84
3.4.5.1	<i>Linum</i> / <i>Cliococca</i> / <i>Hesperolinon</i> / <i>Radiola</i> / <i>Sclerolinon</i>	86
3.4.6	Merkmalsevolution innerhalb der Linaceae	92
3.4.6.1	Blattmorphologie	92
3.4.6.2	Androeceum	94
3.4.6.3	Gestaltung des Gynoeceums	96
3.4.7	Pollenkörner und Chromosomenzahl	99

#### **4 Evolution von Reproduktions-systemen in den Linoideae (Linaceae) unter besonderer Berücksichtigung der Heterostylie** **101**

<b>4.1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>103</b>
<b>4.2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>113</b>
4.2.1	Untersuchungsgruppe	113
4.2.2	Charakterisierung der Reproduktionssysteme	113
4.2.2.1	Rasterelektronenmikroskopie (REM)	114
4.2.2.2	Test auf Selbstinkompatibilität	114
4.2.2.3	Bestimmung des P/O-Wertes	116
4.2.3	Phylogenetische Rekonstruktion der Linoideae	117
4.2.4	Bestimmung der genetischen Diversität	117
4.2.4.1	AFLP-Fingerprint-Technik	118
4.2.4.1.1	Auswertung der AFLP-Daten	120
4.2.5	Ermittlung der genetischen Grundlagen der Heterostylie / Homostylie in <i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> und <i>L. leonii</i>	121
4.2.5.1	Kreuzungsexperimente	121
4.2.6	Statistische Auswertungsmethoden	124
<b>4.3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>125</b>
4.3.1	Charakterisierung der Reproduktionssysteme	125
4.3.1.1	Pollenkornoberfläche	127
4.3.1.2	Untersuchung der Narbenstruktur	138
4.3.1.3	Selbstinkompatibilität	144
4.3.1.4	Bestimmung des P/O-Wertes	148
4.3.2	Evolution der Reproduktionssysteme in den Linaceae	149
4.3.3	Phylogenetische Rekonstruktion der Sektion <i>Linum</i>	151
4.3.4	<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> und <i>Linum leonii</i>	153
4.3.4.1	Charakterisierung der verschiedenen Blütentypen	153
4.3.4.2	Bestimmung des P/O-Wertes	157
4.3.4.3	AFLP-Untersuchung	159
4.3.5	Ermittlung der genetischen Grundlagen der Heterostylie / Homostylie in <i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> und <i>Linum leonii</i>	160
4.3.5.1	Generierung der F1-Generation	160
4.3.5.2	Rückkreuzung der F1-Generation mit <i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i>	162
4.3.5.2.1	Bestimmung der Pollenvitalität	162
4.3.5.2.2	<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> (LG) X <i>L. leonii</i> – F1-Hybrid C-HO	164
4.3.5.2.3	<i>Linum leonii</i> X <i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i> (KG) – F1-Hybrid E-KG	164
4.3.5.2.4	<i>Linum leonii</i> X <i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i> (KG) – F1-Hybrid E-HO	165
<b>4.4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>167</b>
4.4.1	Evolution von Heterostylie / Homostylie	167

4.4.1.1	Variabilität von Reproduktionssystemen in den Linaceae _____	168
4.4.1.2	Strukturierung der Pollenkornoberfläche _____	179
4.4.1.3	Beschaffenheit der Narbenpapillen _____	188
4.4.1.4	Evolution von Homostylie / Heterostylie in <i>Linum</i> _____	190
4.4.2	<i>Linum leonii</i> & <i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i> _____	193
4.4.3	Genetische Grundlage der Heterostylie _____	198
<b>5</b>	<b>Literatur</b> _____	<b>207</b>
	<b>Anhang</b> _____	<b>227</b>

# 1 Zusammenfassung

Die Linaceae-Linoideae, vor allem die Gattung *Linum*, wurden unter Verwendung von zwei molekularen Markern (*rbcL* und ITS) bzgl. ihrer Phylogenie und Biogeographie untersucht. Die Linaceae entstanden während der mittleren Kreide in den frühen tropischen Regenwäldern, von wo aus sich die monophyletischen Linoideae vor etwa 51-46 Mill. Jahren über die temperaten Gebiete der Nordhemisphäre ausbreiteten. Während die drei basal abspaltenden Gattungen *Anisadenia*, *Reinwardtia* und *Tirpitzia* bzgl. ihrer Verbreitung auf Südostasien beschränkt sind, ist die Gattung *Linum* heute auf allen Kontinenten vertreten. Der Ursprung von *Linum* liegt wahrscheinlich in Südwestasien bzw. dem östlichen Mittelmeerraum, wo es im Oligozän zur Aufspaltung in zwei Entwicklungslinien kam ('Blaue Gruppe' und 'Gelbe Gruppe'). Während die überwiegend blaublühenden *Linum*-Arten ('Blaue Gruppe') vor allem in Europa und Südwestasien vorkommen, weisen die Vertreter der 'Gelben Gruppe' ein wesentlich größeres Verbreitungsgebiet auf. Gelbblühende *Linum* Arten findet man auf allen Kontinenten mit Diversitätszentren in Nordostamerika und Südwestasien. Interessanterweise wurde Amerika zweimal unabhängig voneinander besiedelt. Während die gelbblühenden Arten vor etwa 22-20 Mill. Jahren von Westeuropa über den Atlantik den amerikanischen Kontinent erreichten, wanderten Vertreter der 'Blauen Gruppe' im Pliozän (vor 3.78-3.33 Mill. Jahren) über die Bering-Landbrücke in die Neue Welt ein. Auch in Südafrika sind einige gelbblühende *Linum*-Arten zu verzeichnen, die nicht über Nordafrika (wo einige Arten der 'Gelben Gruppe' beheimatet sind) die südliche Spitze des Kontinents erreichten, sondern von Amerika aus.

Die molekularphylogenetischen Ergebnisse legen eine Eingliederung der Gattungen *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Radiola* und *Sclerolinon* in *Linum* nahe, die durch morphologische Merkmale gestützt wird. *Linopsis*, die artenreichste Sektion der Gattung *Linum*, bedarf einiger Umstrukturierungen auf der Basis der molekularen und morphologischen Daten.

Ein interessantes Phänomen innerhalb der Linaceae ist das Vorkommen von heterostylen und homostylen Arten innerhalb der Familie. Die Kombination der molekular-phylogenetischen Ergebnisse mit morphologischen Beobachtungen des Reproduktionssystems lassen darauf schließen, dass sich Homostylie innerhalb von *Linum* mehrfach unabhängig voneinander entwickelt hat. Das Modell von *Primula* wurde als Grundlage verwendet, um Aufschluss über die Entstehung der Homostylie innerhalb von *Linum* zu erlangen. Aus *Primula* ist bekannt, dass eine Kopplungsgruppe aus mindestens drei Genen an der Vererbung von Heterostylie beteiligt ist: *G/g* kodiert hierbei die Griffellänge und die Selbstinkompatibilitätsreaktion der Narbe, *A/a* die Länge der Filamente und *P/p* die Selbstinkompatibilitätsreaktion des Pollens. Umfangreiche Kreuzungs-experimente einer homostylen und einer heterostylen *Linum*-Art deuten darauf hin, dass die Genotypen der beiden Blütenformen in heterostylen *Linum*-Arten denen in *Primula* entsprechen. Langgriffel sind hiernach homozygot rezessiv (*gpa/gpa*), während die Kurzgriffel heterozygot sind (*GPA/gpa*). Selbstkompatible, homostyle Arten können theoretisch durch verschiedene Rekombinations-ereignisse entstehen. Erste Ergebnisse der rasterelektronen-mikroskopischen Betrachtung der Pollenkornoberflächen und Narbenpapillen deuten darauf hin, dass innerhalb von *Linum* Homostylie durch unterschiedliche Rekombinations-ereignisse mehrfach aus heterostylen Arten entstanden ist. So besitzt die homostyle *Linum leonii* den Genotyp *gPA/gPA*, während für die homostylen *L. tenuifolium* und *L. nodiflorum* der Genotyp *Gpa/Gpa* wahrscheinlich ist.

## 2 Einleitung

---

Die Gattung *Linum* L. spielt in unserem täglichen Leben eine wichtige Rolle. Zahlreiche Erzeugnisse aus verschiedenen Lein-Arten werden in unterschiedlichen Bereichen von den meisten Menschen regelmäßig verwendet. Bekanntestes Produkt dieser Gruppe ist der Flachs (*Linum usitatissimum* L.), wahrscheinlich eine der ersten Pflanzen, die für die Gewinnung von Fasern in der Alten Welt kultiviert wurde (ZOHARY & HOPF 2000). Es wird angenommen, dass Lein seit dem Mesolithikum verwendet wird (PENGILLY 2003). Dies stimmt mit Funden aus Ausgrabungsstätten im Nahen Osten überein, in denen Überreste von Leinsamen gefunden wurden, deren Alter auf 9200-8500 v. Chr. datiert wurde (HILLMAN 1975). In den letzten 100 Jahren nahm die Produktion von Flachsfasern jedoch durch die zunehmende Bedeutung von Baumwolle und der Entwicklung neuer synthetischer Fasern stetig ab (ZOHARY & HOPF 2000), so dass heute die Samen von *L. usitatissimum* das weitaus wichtigere Erzeugnis darstellen. Diese spielen in der Ernährung, in der Medizin und für die Produktion von Leinöl eine wichtige Rolle. Letzteres findet in zahlreichen Bereichen, u. a. als Bindemittel in Farben, zur Imprägnierung von Holz oder auch als Speiseöl, seinen Einsatz. Aber auch andere Lein-Arten haben Einzug in unsere Kultur erhalten, so werden z. B. zahlreiche *Linum*-Arten aufgrund ihrer lebhaften Farben und der attraktiven Blüten als Zierpflanzen angebaut. Hierzu zählen z. B. die rotblühende *L. grandiflorum* DESF., die blaublühende *L. perenne* L. oder die gelbblühende *L. flavum* L. In jüngerer Zeit wurden Lignane und  $\alpha$ -Linolensäuren aus verschiedenen *Linum*-Arten untersucht, um ihren Nutzen in der Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen sowie Krebs, vor allem Brustkrebs, zu erforschen (RICKARD-BON & THOMPSON 2003).

Betrachtet man die kulturhistorische und medizinische Bedeutung der Gattung *Linum*, so ist es verwunderlich, dass dieser phylogenetisch bislang wenig Aufmerksamkeit beigemessen wurde. Nur wenige Untersuchungen wurden in den letzten Jahren durchgeführt, die sich zudem stets auf eine äußerst geringe Anzahl an Arten beschränkten (COATES & CULLIS 1987, FU *et al.* 2002, ARMBRUSTER *et al.* 2006).

Aus blütenbiologischer Sicht, ist vor allem das Vorkommen von Heterostylie in den Linaceae von besonderem Interesse. Heterostylie ist in den Linaceae ein wohl bekanntes Phänomen, welches in verschiedenen Familien der Malpighiales beobachtet werden kann. In den Linaceae ist dieser Blütendimorphismus aus *Hugonia* L. (LLOYD *et al.* 1990), *Indorouchera* HALLIER F. (VAN HOOREN & NOOTEBOOM 1988), *Reinwardtia* DUMORT. (BAHADUR *et al.* 1996, SUGAWARA *et al.* 2002), *Tirpitzia* HALLIER F (SUKSATHAN & LARSEN 2006) und verschiedenen *Linum*-Arten (DARWIN 1864) bekannt. Interessanterweise ist Heterostylie in *Linum* auf die Alte Welt beschränkt, alle neuweltlichen Arten gelten als homostyl (ROGERS 1982). Obwohl CLUSIUS im 16. Jahrhundert in der Gattung *Primula* L. Heterostylie beobachtet und dokumentiert haben soll (ORNDUFF 1992), sind es vor allem HILDEBRAND (1864) und DARWIN (1864, 1877) die in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts von dem Phänomen der Heterostylie begeistert waren und verschiedene Bestäubungsversuche, vor allem in den Gattungen *Primula* und *Linum* durchführten. Aus seinen Kreuzungsexperimenten mit *Primula* schloss DARWIN (1864), dass dieser Polymorphismus in den Blüten eine physiologisch-morphologische Adaptation darstellt, um Bestäubung zwischen Individuen zu fördern. Ferner faszinierte ihn die Entdeckung, dass es augenscheinlich gesunde Pflanzen gab, die bei Selbstbestäubung keinen Samensatz zeigten. Selbstinkompatibilität war zu dieser Zeit noch nicht bekannt.

Die vorliegende Arbeit widmete sich vor allem zwei Aspekten der Linaceae. Der erste Teil beschäftigt sich mit der Biogeographie und Phylogenie der Linoideae, während im zweiten Teil der Schwerpunkt auf der Evolution von Heterostylie und Homostylie liegt.

**3 Phylogenie und Biogeographie der  
Linoideae (Linaceae) unter  
besonderer Berücksichtigung der  
Gattung *Linum***



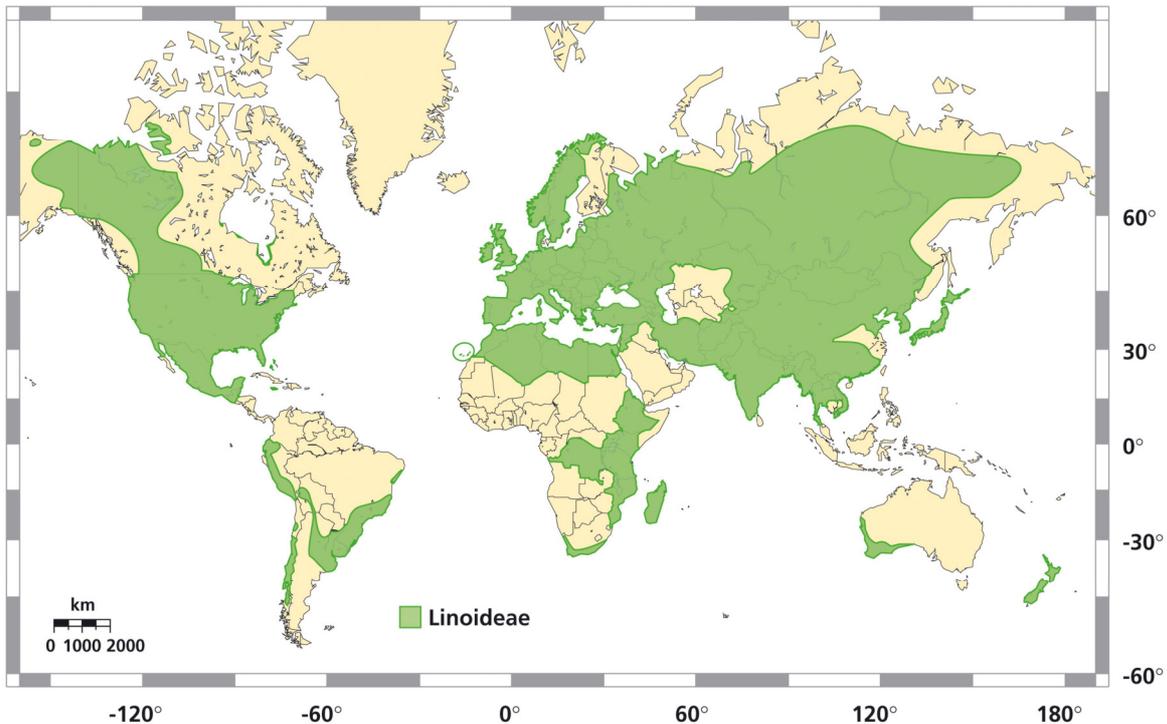
## 3.1 Einleitung

---

*Linum* ist die bei weitem größte Gattung in den Linaceae, welche in zwei Unterfamilien, Linoideae ARN. und Hugonioideae S. DRESSLER & C. BAYER unterteilt wird (VAN HOOREN & NOOTEBOOM 1984, DRESSLER *et al.* in Druck). In letzterer werden zurzeit fünf Gattungen (*Hebepetalum* BENTH., *Hugonia*, *Indorouchera*, *Philbornea* HALLIER F. und *Roucheria* PLANCH.) mit etwa 53 pantropisch verbreiteten Arten unterschieden (DRESSLER *et al.* in Druck). Die Linoideae haben hingegen ein weltweites Verbreitungsgebiet mit Schwerpunkt in den temperaten und subtropischen Gebieten der Nordhemisphäre (Abb. 1). Diversitätszentren finden sich in Nordamerika und Südwestasien. Die Linoideae bestehen aus etwa 200 Arten in acht Gattungen: *Anisadenia* WALL., *Cliococca* BAB., *Hesperolinon* (A. GRAY) SMALL, *Linum*, *Radiola* HILL, *Reinwardtia*, *Sclerolinon* C. M. ROGERS und *Tirpitzia* (Tab. 1).

Die Arten der Linoideae sind meist annuelle oder perennierende Kräuter, selten Sträucher und erreichen eine Wuchshöhe von weniger als 10 cm (*Radiola linoides* ROTH) bis zu 5 m (*Tirpitzia*). Die Blätter sind gestielt oder sitzend und in der Regel wechselständig. Gelegentlich ist die Blattstellung aber auch basal gegenständig (viele neuweltliche Arten) oder selten durchgehend dekussiert (*Linum catharticum* L., *Radiola linoides*). Stipeln können lediglich in *Anisadenia*, *Reinwardtia* und *Tirpitzia* beobachtet werden. Arten der Gattung *Linum* besitzen stattdessen sogenannte Stipulardrüsen. Die Blüten sind zwittrig, radiärsymmetrisch und fünfzählig mit Ausnahme der tetrameren *Radiola linoides* und *L. kenense* T. C. E. FR. Die Petalen sind oft genagelt und hinfällig. Die Stamina und Staminodien (+/- reduziert) sind basal zu einem Tubus verwachsen, an dessen Außenseite fünf bis eins Nektarien beobachtet werden können. Im Vergleich hierzu besitzen die Hugonioideae zehn, oder selten 15, Staubblätter. Das

oberständige Gynoeceum setzt sich aus fünf bis zwei Karpellen zusammen und die Griffel sind frei bzw. mehr oder weniger miteinander verwachsen. Die Anzahl der Griffel entspricht der Zahl der Narben. In den Linoideae finden sich in der Regel Kapseln, während die Hugonioideae Steinfrüchte besitzen.



**Abb. 1:** Verbreitung der Unterfamilie der Linoideae.

Von den zurzeit in den Linoideae akzeptierten Gattungen (*Anisadenia*, *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Linum*, *Radiola*, *Reinwardtia*, *Sclerolinon* und *Tirpitzia*; DRESSLER *et al.* in Druck), waren von PLANCHON (1847, 1848), der die erste detaillierte Klassifikation der Familie präsentierte, bereits *Anisadenia*, *Linum*, *Radiola* und *Reinwardtia* als Gattungen anerkannt (Tab. 2). *Hesperolinon* wurde später von SMALL (1907) hinzugefügt, *Tirpitzia* von HALLIER (1921), *Sclerolinon* von ROGERS (1966) und *Cliococca* von ROGERS & MILDNER (1971).

Die mit Abstand größte Gattung in den Linoideae ist *Linum*, mit etwa 180, gefolgt von *Hesperolinon* mit zwölf Arten. Die übrigen Gattungen beinhalten lediglich ein bis drei Arten (Tab. 1). Zahlreiche Publikationen bezüglich der Klassifikation von *Linum* wurden in der Vergangenheit veröffentlicht, so unterschied z. B. GRISEBACH (1843) in der ersten Einteilung der Gattung drei Sektionen: *Eulinum*, *Syllinum* und die monotypische Sektion *Cathartolinum*. PLANCHON (1847, 1848) stützte seine

intragenerische Gliederung vor allem auf der Berücksichtigung einiger charakteristischer Merkmale, wie das Fehlen bzw. Vorhandensein von Stipulardrüsen, Farbe der Petalen und die Form der Stigmata. Er unterteilte die Gattung in vier Sektionen, *Eulinum*, *Cliococca*, *Linastrum* und *Syllinum*. *Linum catharticum* ordnete er in die Sektion *Linastrum* ein. REICHE (1897) übernahm im Wesentlichen die Klassifikation von PLANCHON (1847), führte aber zusätzlich die neue Sektion *Hesperolinon* ein, die später von SMALL (1907) auf den Rang einer Gattung angehoben wurde. WINKLER (1931) gruppierte zahlreiche Arten in die bereits existierenden Sektionen und führte die Sektion *Cathartolinum* erneut ein, in der er neben *L. catharticum* zahlreiche nordamerikanische Arten integrierte. Die historische Entwicklung der Klassifikation von *Linum* wurde von NESTLER (1933) umrissen und diskutiert. Heute werden in *Linum* fünf Sektionen (*Cathartolinum*, *Dasylinum*, *Linopsis*, *Linum* und *Syllinum*) unterschieden, die im Wesentlichen auf der Arbeit von PLANCHON (1847, 1848) beruhen (Tab. 2).

**Tab. 1:** Klassifikation der Linoideae. Angabe der geographischen Verbreitung und der Anzahl der Arten in den aktuell anerkannten Gattungen.

<b>Aktuell anerkannte Gattungen</b>	<b>Geographische Verbreitung</b>	<b>Zahl der Arten</b>
<i>Anisadenia</i> WALL.	Zentralasien	2
<i>Cliococca</i> BAB.	Südamerika	1
<i>Hesperolinon</i> (A. GRAY) SMALL	Kalifornien	12
<i>Linum</i> L.	weltweit	ca. 180
<i>Radiola</i> HILL	Europa, Asien, Afrika	1
<i>Reinwardtia</i> DUMORT.	China, Südostasien	1
<i>Sclerolinon</i> C. M. ROGERS	zentrales bis westl. Nordamerika	1
<i>Tirpitzia</i> HALLIER F.	Indien, China	3

Vor der Einführung molekularphylogenetischer Untersuchungen wurden die nächst verwandten Taxa in den Familien der Ctenolophonaceae (H. WINKLER) EXELL & MENDONÇA, Erythroxyloaceae KUNTH, Humiriaceae A. JUSS., Irvingiaceae EXELL & MENDONÇA oder den Ixonanthaceae MIQUEL vermutet (NARAYANA & RAO 1978, VAN WELZEN & BAAS 1984). Zurzeit werden die Linaceae zu den Malpighiales gezählt, die nach STEVENS (2006) aus 39 Familien und der Gattung *Bhesa* BUCH. (eh. Celastraceae R. BROWN) bestehen.

**Tab. 2:** Vergleich ausgewählter intragenerischer Klassifikationen von *Linum* mit Angabe des Verbreitungsgebietes, der Artenzahl und der zurzeit anerkannten Gattungen bzw. Sektionen (Sekt.).

PLANCHON 1847/1848	REICHE 1897	WINKLER 1931	Aktuelle Einteilung	Geographische Verbreitung	Zahl der Arten
Sekt. <i>Syllinum</i>	Sekt. <i>Syllinum</i>				
<i>Limoniopsis</i>		Sekt. <i>Syllinum</i>	Sekt. <i>Syllinum</i>	SW-Asien, Europa	ca. 30
<i>Dasylinum</i>		Sekt. <i>Eulinum</i>	Sekt. <i>Dasylinum</i>	Mediterraneum, SW Asien	ca. 15
Sekt. <i>Eulinum</i>	Sekt. <i>Eulinum</i>	Sekt. <i>Eulinum</i>	Sekt. <i>Linum</i>	Nordamerika, N-Afrika, Eurasien, Australien	ca. 50
<i>Protolinum</i>					
<i>Adenolinum.</i>				Neuseeland	
Sekt. <i>Cliococca</i>	Sekt. <i>Cliococca</i>	Sekt. <i>Cliococca</i>	<i>Cliococca</i>	Südamerika	1
Sekt. <i>Linastrum</i>	Sekt. <i>Linastrum</i>		Sekt. <i>Linopsis</i>	Mitteleuropa, O & S-Afrika, Nordamerika	ca. 90
<i>Linopsis</i>		Sekt. <i>Cathartolinum</i> & <i>Linastrum</i>			
<i>Dichrolinum</i>		Sekt. <i>Eulinum</i>			
<i>Halolinum</i>		Sekt. <i>Linastrum</i>			
<i>Cathartolinum</i>		Sekt. <i>Cathartolinum</i>	Sekt. <i>Cathartolinum</i>	Europa	1
---	Sekt. <i>Hesperolinon</i>	<i>Hesperolinon</i>	<i>Hesperolinon</i>	Kalifornien	12
---		Sekt. <i>Cathartolinum</i>	<i>Sclerolinon</i>	Zentral- bis NW-Amerika	1

Trotz der Analyse verschiedener molekularer Marker ist bis heute wenig über die phylogenetischen Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Malpighiales bekannt (u. a. APG 1998, SAVOLAINEN *et al.* 2000, APG II 2003), und ein gut gestütztes Schwesterverhältnis der Linaceae zu einer der anderen Familien konnte bis heute nicht gefunden werden. Die Linaceae wurden in verschiedenen molekularphylogenetischen Arbeiten mal als Schwesterfamilie der Irvingiaceae (DAVIS *et al.* 2005), Picrodendraceae SMALL, (CHASE *et al.* 2002), Violaceae BATSCH, Passifloraceae KUNTH und Turneraceae KUNTH ex DC. (SAVOLAINEN *et al.* 2000) oder den Balanopaceae BENTH., Trigoniaceae ENDL., Dichapetalaceae BAILLON, Euphroniaceae MARC.-BERT. und Chrysobalanaceae R. BR. (DAVIS & CHASE 2004) angesehen.

Betrachtet man die Linaceae hinsichtlich ihrer derzeitigen Klassifizierung, ihres Verbreitungsgebietes und ihrer morphologischen Merkmale, ergeben sich in *Linum* bzw. den Linoideae eine Reihe von interessanten Fragen.

#### I) *Cliococca* / *Hesperolinon* / *Sclerolinon*

Einige Arten der Gattung *Linum* wurden auf Grundlage morphologischer Merkmale in die neu eingeführten Gattungen *Cliococca*, *Hesperolinon* und *Sclerolinon* umgruppiert. Auf der Basis molekularphylogenetischer Rekonstruktionen bzw. einer erneuten kritischen Betrachtung der vor allem blütenmorphologischen Merkmale soll die Richtigkeit dieser Klassifikation überprüft werden.

#### II) Biogeographie

Die kosmopolitische Verbreitung der Gattung *Linum* und der Unterfamilie Linoideae wirft interessante biogeographische Fragen auf. Da die Hugonioideae pantropisch verbreitet sind, stellt sich die Frage, ob die in Südamerika verbreitete Gattung *Cliococca* aus einem direkten Vorfahren der Hugonioideae aus den Tropen / Subtropen entstand oder eher ausgehend von temperaten Regionen der Neuen Welt nach Südamerika eingewandert ist.

Die Sektionen *Linum* und *Linopsis* zeigen beide eine kosmopolitische Verbreitung. Kam es innerhalb der Gattung *Linum* nur einmal zur Besiedlung der Neuen Welt oder wurde sie wenigstens zweimal unabhängig voneinander kolonisiert? Interessanterweise ist von den knapp 50 Arten in Nordamerika nur etwa ein Viertel im Osten Nordamerikas verbreitet, während die restlichen Taxa vor allem im Westen der Vereinigten Staaten wachsen. Berücksichtigt man die Tatsache,

dass die altweltlichen Arten vor allem im westlichen Eurasien vorkommen, ergibt sich die Möglichkeit, die West-Eurasien / Nordamerika Disjunktion genauer zu untersuchen. Solche Verbreitungsmuster waren in der Vergangenheit eher selten Schwerpunkt von Forschungen (HOHMANN *et al.* 2006) und versprechen neue Einblicke, um die rezente Biogeographie besser zu verstehen.

### III) Rekonstruktion ancestraler Merkmale

In der Vergangenheit wurden verschiedene morphologische Merkmale, u. a. Form der Narben, Vorhandensein von Stipulardrüsen oder auch Pollenmorphologie für die Klassifikation der Linoideae herangezogen. Neue Computerprogramme gestatten eine Rekonstruktion ursprünglicher Merkmalszustände, die es ermöglichen, die Evolution dieser Merkmale zu verstehen und auf ihre Eignung bezüglich der Gliederung der Unterfamilie zu prüfen.

Um die Phylogenie, Biogeographie und die Evolution morphologischer Merkmale in den Linoideae und *Linum* zu erforschen, wurden DNA-Sequenzen eines Chloroplastenmarkers (*rbcL*) und eines nukleären Markers (ITS Region) aller Gattungen der Unterfamilie und von 62 Arten der Gattung *Linum*, welche Vertreter aller Sektionen beinhalteten, untersucht. Eine *rbcL*-Phylogenie der Linaceae wurde zusätzlich verwendet, um mit Hilfe einer molekularen Uhr das Alter einzelner Monophyla und die historische Biogeographie der Familie zu rekonstruieren.

## 3.2 Material und Methoden

---

### 3.2.1 Pflanzenmaterial

#### 3.2.1.1 Molekulare Untersuchung

In der vorliegenden Arbeit wurden die intergenerischen Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Unterfamilie der Linoideae bzw. die intragenerischen Beziehungen der Gattung *Linum* untersucht. Für die molekulare Untersuchung der Leingewächse wurden Blätter von aus Samen gezogenen Pflanzen, von Wildmaterial oder von Herbarmaterial verwendet. Die Linaceae gehören zur Ordnung der Malpighiales, zu denen nach STEVENS (2006) 39 Familien sowie die Gattung *Bhesa* (eh. Celastraceae) gezählt werden. Da die verwandtschaftlichen Beziehungen innerhalb der Malpighiales weitgehend ungeklärt sind, wurde anhand von *rbcL*-Sequenzen, die in Online-Datenbanken (NCBI) erhältlich waren bzw. in unserem Labor neu generiert wurden (Anhang 1-Tab. 1), ein Datensatz erstellt, der bis auf die Rafflesiaceae DUMORTIER alle zurzeit in den Malpighiales befindlichen Familien umfasst. Mit Hilfe dieses Datensatzes sollte zum einen das Schwesterverhältnis der beiden Unterfamilien Linoideae und Hugonioideae überprüft und zum anderen geeignete Familien für einen Außengruppenvergleich gefunden werden.

Neben den Malpighiales wurde die Unterfamilie der Linoideae unter Verwendung des Chloroplastenmarkers *rbcL* und eines nukleären Markers, *internal transcribed spacer* (ITS), phylogenetisch untersucht. Anhand des *rbcL*-Datensatzes, der sowohl alle Gattungen der Linoideae, als auch alle Sektionen der Gattung *Linum*

umfasst (Tab. 2), sollten die intergenerischen Beziehungen innerhalb dieser Unterfamilie geklärt werden. Ein 70 Arten umfassender ITS-Datensatz wurde verwendet, um intragenerische Beziehungen innerhalb der Gattung *Linum* genauer zu beleuchten. Aufgrund von gravierenden Sequenzunterschieden zwischen den generierten ITS-Sequenzen in den Linaceae bzw. innerhalb der Gattung *Linum* wurde der ITS-Datensatz, basierend auf den Ergebnissen der *rbcl*-Untersuchung, in zwei Teilgruppen analysiert.

### **3.2.1.2 Morphologische Untersuchung**

Neben der Generierung von Sequenzen verschiedener Genabschnitte wurden die verschiedenen Arten auch morphologisch miteinander verglichen. Für diesen Zweck wurden verschiedene Merkmale herangezogen. Die Daten wurden aus der Literatur und aus eigenen Beobachtungen von Herbarmaterial bzw. aus Samen gezogenem Material erhoben.

## **3.2.2 Molekulare Daten**

### **3.2.2.1 DNA Isolierung**

Für die DNA Isolierung wurde in Silicagel getrocknetes Blattmaterial bzw. Herbarmaterial in einem sterilen Mörser mit sterilem Quarzsand und einem sterilen Stößel zerkleinert. Mit dem auf diese Weise erhaltenem Pulver wurde entsprechend dem Standardprotokoll des DNA-Isolations-Kits NucleoSpin<sup>®</sup> Extraktion (MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) verfahren. Bei einigen Arten wurde die Suspension während der Inkubation zähflüssig, so dass die Menge an zugegebenem C1-Puffer solange erhöht wurde, bis diese eine wässrige Konsistenz erlangte. In den folgenden Schritten wurden die verwendeten Puffervolumina entsprechend erhöht. Die DNA wurde aus der Säule durch zwei Zentrifugationsschritte mit je 35 µl *Aqua bidst.* eluiert. Die Eluate wurden bei -20°C aufbewahrt.

### 3.2.2.2 Amplifikation

#### 3.2.2.2.1 *rbcL*

Für die Frage nach den verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Familien der Malpighiales bzw. für die intergenerischen Beziehungen der Linoideae wurde der Chloroplastenmarker *rbcL* eingesetzt. Das *rbcL*-Gen kodiert für die große Untereinheit der Ribulose-1,5-Bisphosphat-Carboxylase / Oxygenase (RuBisCo). *RbcL*-Sequenzen gehören wahrscheinlich zu den am häufigsten phylogenetisch genutzten Markern und finden aufgrund ihrer konservierten Natur vor allem in Fragestellungen auf Familienniveau oder höherer taxonomischer Stufe Verwendung. Für die genauere Untersuchung der Gattung *Linum* stellte sich dieses Gen als ungeeignet heraus und eine schneller evolvierende DNA-Region wurde für weitere Untersuchungen herangezogen.

Das *rbcL*-Gen besteht aus 1428 Basenpaaren, wodurch eine Amplifikation des gesamten Stückes während einer PCR nahezu unmöglich ist. Aus diesem Grund wurde das *rbcL*-Gen in drei sich überlappenden Stücken amplifiziert und sequenziert. Die Sequenzen der verwendeten Primer sind in Tabelle 3 wiedergegeben.

**Tab. 3:** In der Amplifikations- bzw. Sequenzierungsreaktion verwendete *rbcL*-Primer. Diese beruhen auf Primern, die von CHASE *et al.* (1993) angewendet wurden.

Primer	Sequenz (5' → 3')
<i>rbcL</i> 1F	5'-ATG TCA CCA CAA ACA GAA ACT AAA GCA-3'
<i>rbcL</i> 579R	5'-AAA TCA AGT CCA CCR CG-3'
<i>rbcL</i> 507F	5'-TAY TGG GCT GTA CTA TTA AAC-3'
<i>rbcL</i> 994R	5'-CCT TCA AGT TTA CCT AC-3'
<i>rbcL</i> 995F	5'-CGT ATG TCT GGT GGA GAT C-3'
<i>rbcL</i> 1460R	5'-CCT TTA GTA AAA GAT TGG GCC GAG-3'

### 3.2.2.2.2 ITS

Ein häufig verwendeter nukleärer Marker ist die ITS-Region (*internal transcribed spacer*). Sie ist Teil der ribosomalen DNA. Die Gene, die für die rRNA kodieren, sind in zahlreichen Wiederholungen angeordnet. Eine Wiederholungseinheit ist immer durch den sogenannten *intergenic spacer* (IGS) getrennt und besteht aus dem *external transcribed spacer* (ETS), dem 18S-Gen, dem *internal transcribed spacer 1* (ITS 1), dem 5.8S-Gen, dem zweiten *internal transcribed spacer* (ITS 2) und dem 26S Gen. Für die vorliegende Untersuchung wurde nur die ITS-Region im engeren Sinne verwendet, die aus den beiden internen Spacerregionen und dem 5.8S-Gen besteht (BALDWIN *et al.* 1995, KELCH & BALDWIN 2003).

Für die Amplifikation wurden die als 18 S und 28 S bezeichneten Primer (Tab. , MUIR & SCHLÖTTERER 1999) bevorzugt verwendet. Vor allem bei der Verwendung von älterem Herbariummaterial kam es gelegentlich zu Problemen bei der Amplifikation, so dass ITS1 und ITS2 separat amplifiziert und sequenziert wurden. Hierfür wurden die Primerkombinationen ITS A / ITS C (ITS 1) bzw. ITS D / ITS 4 (ITS 2) verwendet (Tab. , WHITE *et al.* 1990, BLATTNER 1999).

**Tab. 4:** In der Amplifikations- bzw. Sequenzierungsreaktion verwendete ITS-Primer (WHITE *et al.* 1990, BLATTNER 1999, MUIR & SCHLÖTTERER 1999).

Primer	Sequenz (5' → 3')	
ITS A	5'-GGA AGG AGA AGT CGT AAC AAG G-3'	BLATTNER 1999
ITS C	5'-GCA ATT CAC ACC AAG TAT CGC-3'	BLATTNER 1999
ITS D	5'-CTC TCG GCA ACG GAT ATC TCG-3'	BLATTNER 1999
ITS 4	5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'	WHITE <i>et al.</i> 1990
18 S	5'-CCT TMT CAT YTA GAG GAA GGA G-3'	MUIR & SCHLÖTTERER 1999
28 S	5'-CCG CTT ATT KAT ATG CTT AAA-3'	MUIR & SCHLÖTTERER 1999

Der PCR-Ansatz wurde auf der Grundlage des Protokolls von PALUMBI (1996) in einem Thermocycler (PTC-100<sup>TM</sup> Programmable Thermal Controller, MJ Research, Inc., Watertown, MA, USA bzw. Whatman Biometra<sup>®</sup> TGradient<sup>TM</sup> Thermocycler, Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland) durchgeführt. Der Standard-PCR-Ansatz bestand aus 2,5 µl 10x BioTherm<sup>TM</sup> Puffer, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTPs, 1 pM primer, 0,025 U/µl Biotherm<sup>TM</sup> Polymerase (GeneCraft) und 2 µl DNA Extrakt. Mit *Aqua bidest.* wurde das Volumen auf 25 µl aufgefüllt. Das verwendete

Programm setzte sich wie folgt zusammen: Ein *Pretreatment* bei 94°C für 60 s, 35 Zyklen mit je 94°C für 18 s, 52°C für 30 s und 72°C für 60 s, abschließend ein *Posttreatment* bei 55°C für 78 s und 72°C für 8 min. Nach Beendigung des Programms wurden die Proben auf 4°C gekühlt.

### 3.2.2.3 Aufreinigung der PCR-Produkte

Das PCR-Produkt wurde auf einem 0,8 %igem Agarose-Gel aufgetragen und in einem 1 x Tris-Borat-EDTA-Puffer elektrophoretisch aufgetrennt (SAMBROOK *et al.* 1989). Durch die Zugabe von Ethidiumbromid konnten die PCR-Produkte auf einem UV-Tisch visualisiert und ausgewertet werden.

Die PCR-Produkte wurden mit Hilfe des NucleoSpin® Extract™ Purification Kit (MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) entsprechend dem Standardprotokoll aufgereinigt. Die Proben wurden anschließend bei -20°C aufbewahrt.

### 3.2.2.4 Sequenzierung

Nach der Aufreinigung wurde die DNA-Konzentration des PCR-Fragments anhand der Stärke der UV-Fluoreszenz abgeschätzt. Je nach Stärke der Bande wurde die Menge des Produkts für die nachfolgende Sequenzierungsreaktion bestimmt. Der 10 µl Ansatz setzte sich wie folgt zusammen: 2 µl Big-Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Mix Version 3.1 (Applied Biosystems, Norwalk, Connecticut, USA), 2 µl 5x Sequencing buffer (Version 3.1™), 1 µl des entsprechenden Primers (10 pmol/µl) und je nach Stärke der Bande zwischen 0,25 und 5,0 µl DNA-Template (35-70 ng Template). Mit *Aqua bidest.* wurde das Volumen auf 10 µl ergänzt.

Die Sequenzierungsreaktion wurde in den in Abschnitt 3.2.2.2 erwähnten Thermocyclern durchgeführt. Das verwendete Programm setzte sich wie folgt zusammen: 30 Zyklen mit je 96°C für 10 s und 55°C für 240 s. Die Proben wurden im Anschluss auf 4°C gekühlt.

Das so erhaltene Produkt wurde von der Firma GENterprise Genomics (Mainz, Deutschland) aufgereinigt und in einem Kapillarsequenzierer analysiert.

### 3.2.2.5 Bearbeitung der Chromatogramme

Die von der Firma GENterprise Genomics (Mainz, Deutschland) erhaltenen Chromatogramme wurden mit dem Programm Sequencer<sup>TM</sup> 4.1.2 (GeneCodes Corp., Ann Arbor, Michigan, USA) bearbeitet. Die Hin- und Rückreaktionen der einzelnen Individuen wurden jeweils miteinander verglichen, um uneindeutige Positionen in den Sequenzen nach Möglichkeit zu beheben. Für die einzelnen Taxa wurde je eine Konsensussequenz erstellt, die für die jeweiligen Alignierungen verwendet wurde.

### 3.2.2.6 Alignierung der Sequenzen

Die Alignierung der einzelnen Sequenzen für die entsprechenden Datensätze wurde mit Hilfe des Programms Sequencer<sup>TM</sup> 4.1.2 automatisch durchgeführt. Die so erhaltenen *Alignments* wurden im Programm MacClade 4 (release Version 4.08 für OS X; MADDISON & MADDISON 2005; Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA) manuell weiter bearbeitet.

## 3.2.3 Molekulare Phylogenie

Seit einigen Jahren ist es möglich, zahlreiche Analysemethoden anzuwenden, um aus Sequenzdaten verwandtschaftliche Beziehungen abzuleiten. Die Zahl der Auswertungsmöglichkeiten nimmt immer weiter zu. Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei Standard-Auswertungsmethoden verwendet, um die verwandtschaftlichen Beziehungen innerhalb der Linaceae zu rekonstruieren, die *Maximum Parsimony*- und die *Maximum Likelihood* Analyse.

### 3.2.3.1 Parsimonieanalyse (*Maximum Parsimony, MP*)

Das Prinzip der Parsimonieanalyse beruht darauf, dass für die Evolution von Merkmalen die einfachste (*most parsimonious*) Erklärung vorzuziehen ist. Vorteile dieser Methode sind unter anderem, dass sie auf einem einfachen Prinzip beruht und relativ wenig Rechenkapazität benötigt.

Betrachtet man nun verschiedene Merkmale in einem Alignment, so ist es recht wahrscheinlich, dass sich eine Reihe von Merkmalen widersprechen, d. h. verschiedene Merkmale werden zu unterschiedlichen Topologien führen. Aufgrund des Parsimonieprinzips wird der Baum bevorzugt, der über alle Merkmale hinweg die geringste Zahl an Merkmalstransformationen aufweist.

Für die Durchführung der Parsimonieanalyse stehen verschiedene Methoden zur Auswahl. In der vorliegenden Arbeit wurden alle Parsimonieanalysen mit Hilfe der Fitch-Parsimonie (FITCH 1971) berechnet. Dies bedeutet, dass alle Merkmals-transformationen gleich gewichtet werden und eine Transformierung von jedem Merkmalszustand in den anderen ohne Zwischenschritte möglich ist. Je nach Anzahl der Taxa wurden indes für die Datensätze unterschiedliche Algorithmen zur Parsimonieanalyse verwendet. In Tabelle 5 ist zu ersehen, welche Suchalgorithmen für die entsprechenden Untersuchungen verwendet wurden. Alle Parsimonieanalysen wurden mit dem Programm PAUP\* (Version 4.0b 10; SWOFFORD 2002) durchgeführt.

**Tab. 5:** Die verwendeten Algorithmen für die Parsimonieanalysen der unterschiedlichen Untersuchungsgruppen.

<b>Untersuchungsgruppe</b>	<b>Verwendeter Algorithmus</b>
Malpighiales ( <i>rbcl</i> )	Heuristische Suche ( <i>heuristic search</i> )
Linaceae ( <i>rbcl</i> )	Heuristische Suche ( <i>heuristic search</i> )
'Blaue Gruppe' (ITS)	<i>Branch-and-bound</i> -Suche
'Gelbe Gruppe' (ITS)	Heuristische Suche ( <i>heuristic search</i> )
<i>Linum perenne</i> Gruppe (ITS)	<i>Branch-and-bound</i> -Suche

Für die Heuristische Suche wurden in PAUP\* folgende Voreinstellungen gewählt: *random sequence addition* (100 replicates), *tree bisection and reconnection* (TBR), *steepest = off*, *multree = on*, *collapse = on*, *uninformative characters excluded*.

Bestand der Datensatz aus weniger als 25 Taxa, wurde der *branch-and-bound*-Algorithmus mit folgenden Standardeinstellungen verwendet: *addition taxon simple*, *tree bisection and reconnection* (TBR), *steepest = off*, *multree = on*, *collapse = on*, *uninformative characters excluded*.

Wurde in einer Suche mehr als ein kürzester Baum gefunden, wurde ein *Strict*-Konsensusbaum berechnet, in dem lediglich Äste dargestellt werden, die in allen *Maximum Parsimony*-(MP)-Bäumen vorkommen.

### 3.2.3.1.1 Bootstrap

Die *Bootstrap*-Analyse ist eine Möglichkeit, die Variabilität des phylogenetischen Signals von Merkmal zu Merkmal abzuschätzen (KNOOP & MÜLLER 2006). Grundlage ist eine Merkmalsmatrix, die der Größe der Originalmatrix entspricht. Allerdings werden die ursprünglichen Merkmale nach dem Prinzip des 'Ziehen und Zurücklegens' neu zusammengestellt. Jede dieser neuen Matrizen dient als Basis für eine erneute Rekonstruktion des optimalen Baumes. Die Ergebnisse dieser einzelnen Wiederholungen werden im *Bootstrap*-Baum in der Form zusammengefasst, dass er die Häufigkeit mit der bestimmte Knoten gefunden wurden angibt. In der vorliegenden Arbeit wurden stets die Einstellungen *bootstrap nreps = 100*, *addseq = random*, *nreps = 10* verwendet. Werte unter 50 % gelten als sehr schwache Unterstützung für die einzelnen Äste, so dass in der vorliegenden Arbeit lediglich *Bootstrap*-Werte über 50 % angegeben wurden.

### 3.2.3.1.2 Homoplasie

Anhand verschiedener Indices ist es möglich die Homoplasie in einem Datensatz zu ermitteln. Der *Consistency Index* (CI) vergleicht die kleinstmögliche Schrittzahl ( $m$ ), die ein Merkmal über einen beliebigen Baum zeigen könnte, mit der Anzahl an tatsächlichen Schritten ( $s$ ). Merkmale ohne Homoplasie würden folglich einen CI von 1 besitzen. In der Regel wird jedoch der CI für den gesamten Datensatz berechnet (*Ensemble Consistency Index*). Der Wert ergibt sich dann wie folgt (Formel 1):

$$CI_{\text{ensemble}} = \sum_j m_j / \sum_j s_j$$

Formel 1

Alternativ kann auch der *Homoplasy Index* (HI) angegeben werden, der sich aus dem *Consistency Index* berechnen lässt (Formel 2).

$$HI = 1 - CI \quad \text{Formel 2}$$

Der *Retention Index* (RI) berücksichtigt neben der minimal möglichen Anzahl an Schritten auch die größtmögliche Schrittzahl ( $g$ ) eines Merkmals (KNOOP & MÜLLER 2006). Der *Ensemble Retention Index* errechnet sich aus den Summen der Variablen über alle Merkmale hinweg (Formel 3). Im idealen Fall ist der RI gleich 1.

$$RI_{\text{ensemble}} = \sum_i (g_i - s_i) / \sum_i (g_i - m_i) \quad \text{Formel 3}$$

### 3.2.3.2 *Maximum Likelihood* (ML)

Mit Hilfe der *Maximum Likelihood* Methode wird nicht der kürzeste, sondern der Stammbaum errechnet, welcher die beobachteten Daten (das Alignment) am besten erklärt. Für die Berechnung der Wahrscheinlichkeiten einer Datenmatrix bezüglich eines phylogenetischen Baumes werden zunächst zwei Annahmen gemacht: 1) die Evolution der einzelnen Merkmale verläuft unabhängig voneinander und 2) die Evolution der einzelnen Linien verläuft nach ihrer Aufspaltung unabhängig voneinander. Aufgrund der Annahme, dass die Evolution der einzelnen Merkmale unabhängig verläuft, berechnet sich die Gesamt-*Likelihood*  $L$  als Produkt der einzelnen *Likelihoods* für die Einzeldaten.

Für die Berechnung des *Maximum Likelihood* Baumes kann eines von 56 Substitutionsmodellen (POSADA & CRANDALL 2001) gewählt werden, die sich hinsichtlich verschiedener Parameter unterscheiden. Diese Modelle variieren unter anderem in der Frequenz des Auftretens der einzelnen Basen und der Substitutionsraten, die für Mutationen von einer in die andere Base angenommen werden. Betrachtet man z. B. Transitionen und Transversionen, so treten Transitionen in den meisten Genen häufiger auf (KNOOP & MÜLLER 2006). Allerdings können auch Informationen über die Ratenheterogenität entlang der einzelnen Alignmentpositionen in den Modellen mit berücksichtigt werden. Anhand der Gamma-Verteilung ist es möglich, eine Annäherung an die Verteilung der

Substitutionen abzuschätzen. Wird dies in einem Modell zusätzlich berücksichtigt, wird das Modell durch '+G' ergänzt. Zusätzlich kann auch der Anteil an invariablen Positionen mit berücksichtigt werden, dies wird durch das Anhängen von einem '+I' an das jeweilige Modell gekennzeichnet.

Das einfachste und älteste Modell ist das Jukes-Cantor-Modell (JC), welches von gleichen Basenhäufigkeiten und gleichen Substitutionsraten ausgeht. Das allgemeinste Modell hingegen ist das General Time Reversible-Modell (GTR-Model; RODRIGUEZ *et al.* 1990).

Zur Bestimmung des Modells, welches die Daten am besten erklärt, wurde das Programm Modeltest (Version 3.06) von POSADA & CRANDALL (1998) verwendet. Dieses Programm vergleicht in einer hierarchischen Abfolge ein jeweils einfacheres Substitutionsmodell mit einem komplexeren, daher auch die Bezeichnung hierarchischer Likelihood Ratio-Test (hLRT). Alternativ berechnet Modeltest auch das geeignetste Modell über das sogenannte *Akaike Information Criterion* (AIC). POSADA & BUCKLEY (2004) berichten ausführlich über die Vor- und Nachteile dieser unterschiedlichen Ansätze. In den meisten Fällen sind die vorgeschlagenen Modelle von hLRT und AIC identisch oder sehr ähnlich. Modeltest bestimmt die Häufigkeit aller Basen und die unterschiedlichen Substitutionsraten für das entsprechende Modell. Diese Werte dienen anschließend in PAUP\* als Grundlage für die eigentliche *Maximum Likelihood*-Rechnung.

### 3.2.3.2.1 *Bootstrap*

Um eine Abschätzung über die Aussagekraft der einzelnen Äste zu erhalten, wurden die Datensätze der *Maximum Likelihood*-Untersuchung ebenfalls einer *Bootstrap*-Analyse unterzogen. Wie bereits zuvor bei der *Maximum Parsimony* Untersuchung wurde stets die Einstellung *bootstrap nreps* = 100, *addseq* = *random*, *nreps* = 10 gewählt. Auch hier wurden lediglich Werte über 50 % angegeben.

### 3.2.3.3 Molekulare Uhr

Für die Berechnung einer molekularen Uhr wird vorausgesetzt, dass Veränderungen in der Basenabfolge, auf einen kurzen Zeitraum bemessen, zufällig erscheinen, aber auf einen langen Zeitraum bezogen konstant bezüglich der Häufigkeit ihres Auftretens sind (ZUCKERKANDL & PAULING 1962, 1965). Die Annahme einer konstanten Substitutionsrate erlaubt die Datierung einzelner Äste im Baum, sofern ein Kalibrierungspunkt (z. B. ein Fossilbeleg oder ein geologisches Ereignis) oder eine Substitutionsrate bekannt ist.

Für die Berechnung einer molekularen Uhr wurde in der vorliegenden Arbeit der *rbcL*-Datensatz der Linaceae verwendet. Um zu prüfen, ob dieser Datensatz einer konstanten evolutionären Rate folgt, wurden ML-Kalkulationen mit bzw. ohne Annahme einer molekularen Uhr als Voreinstellung berechnet. Die so erhaltenen ML-Werte dieser beiden Berechnungen wurden einem modifizierten  $\chi^2$ -Test unterzogen ([http://www.fon.hum.uva.nl/Service/Statistics/ChiSquare\\_distribution.html](http://www.fon.hum.uva.nl/Service/Statistics/ChiSquare_distribution.html)). Die Anzahl der Freiheitsgrade entspricht in diesem Fall der Zahl der Taxa minus zwei. Die Annahme, dass der Datensatz eine konstante Substitutionsrate besitzt, entspricht der Nullhypothese. Ergibt der  $\chi^2$ -Test allerdings einen signifikanten Unterschied, wird die Ratenkonstanz für den entsprechenden Datensatz abgelehnt.

In diesem Fall muss für die weitere Berechnung eine Methode verwendet werden, welche unterschiedliche Raten akzeptiert. In den letzten Jahren wurden zahlreiche Methoden entwickelt, die sich mit dem Problem der Ratenheterogenität auf verschiedene Art und Weise beschäftigen (WELCH & BROMHAM 2005). In der vorliegenden Arbeit wurde das Programm *r8s* (SANDERSON 2002) verwendet. Ausgangspunkt für die Berechnung war das Phylogramm des *rbcL*-Datensatzes (Abb. 4), welches mit Hilfe der ML-Methode berechnet wurde und die Anzahl an Positionen, die das dem Baum zugrunde liegende *Alignment* umfasste. Anhand des semiparametrischen Ansatzes der *Penalized Likelihood* (PL, SANDERSON 1997, 2002) wurde eine 'Glättung' (*smoothing*) der Raten vorgenommen. Der Glättungsfaktor (*smoothing parameter*) wurde anhand einer Kreuzvalidierung (*cross-validation*) mit folgenden Grundeinstellungen berechnet: *divtime method = pl*, *crossv = yes*, *cvstart = 0*, *cvinc = 0.2*, *cvnum = 100*.

Als Kalibrierungspunkt wurden zwei verschiedene Altersangaben für die Entstehung der Linaceae verwendet (DAVIS *et al.* 2005). Die Altersschätzungen der Linaceae wurden in einer Analyse der Malpighiales mit Hilfe von verschiedenen Fossilfunden berechnet (DAVIS *et al.* 2005).

### 3.2.4 Konstruktion eines 'Supertrees'

Aufgrund der Probleme, ITS-Sequenzen aller vorhandener Linaceae Arten miteinander zu alinieren, wurde ein sogenannter 'Supertree' erstellt, der es ermöglicht, die Informationen verschiedener Phylogenien miteinander zu kombinieren. Voraussetzung hierfür ist, dass sich die unterschiedlichen Kladogramme wenigstens teilweise in ihrer Taxonzusammensetzung entsprechen. In der vorliegenden Arbeit wurden die *Maximum Likelihood*-Bäume dreier Datensätze (Linaceae, *rbcL*; 'Blaue Gruppe', ITS; 'Gelbe Gruppe', ITS) nach der *Matrix Representation using Parsimony* Methode (MRP; LOOMIS & SMITH 1990, BAUM 1992, RAGAN 1992) miteinander kombiniert. Hierfür werden alle internen Knoten der vorliegenden gewurzelten Bäume durchnummeriert und nacheinander genauer untersucht. Arten, die einen bestimmten Knoten als gemeinsamen Vorfahren besitzen, erhalten in einer Matrix den Wert '1', während Arten, die in dem Baum enthalten sind, aber nicht von dem entsprechenden Knoten abstammen, eine '0' zugewiesen bekommen. Taxa, die in diesem Kladogramm nicht enthalten sind, werden mit einem '?' versehen. Die Anzahl an Merkmalen in der auf diese Weise erstellten Matrix entspricht somit der Summe aller internen Knoten der vorliegenden Phylogramme. Der daraus resultierende Datensatz (Anhang 2) wurde anschließend mittels einer *Maximum Parsimony* Analyse ausgewertet (CREEVEY & MCINERNEY 2005).

### 3.2.5 *Dispersal-Vicariance Analyse (DIVA)*

Mit Hilfe des Programms DIVA (RONQUIST 1997) ist es zum einen möglich, die Verbreitung von gemeinsamen Vorfahren in einer Phylogenie zu rekonstruieren und zum anderen das Verhältnis von Vikarianz zu Fernausbreitungsereignissen zu bestimmen. Voraussetzung für die Verwendung dieses Programms ist ein bifurkater Baum und die geographische Verbreitung der integrierten Taxa. Um möglichst umfangreiche Informationen verarbeiten zu können, wurde für diese Untersuchung der zuvor konstruierte 'Supertree' verwendet. Da dieser allerdings mehrere Polytomien enthielt, wurde er leicht modifiziert. Die Arten *Linum aroanium* BOISS. & ORPH., *L. austriacum* L., *L. meletonis* HAND.-MAZZ., *L. persicum* BOISS., *L. sulcatum* RIDDELL, *L. macraei* BENTH. und *L. acuticarpum* C. M. ROGERS wurden aus dem Baum entfernt, ein Schwesterverhältnis von *Hesperolinon* und *Sclerolinon* wurde auf Grundlage von Ergebnissen von McDILL (persönliche Mitteilung) angenommen. Ferner wurde *Hugonia pentagyna* K. SCHUM. als Schwestergruppe zu *Hugonia / Roucheria calophylla* PLANCH., basierend auf den Ergebnissen des *rbcl*-Datensatzes der Malpighiales, angesehen. Die geographische Verbreitung wurde auf Grundlage eines Schemas von BRUMMIT (2001) vorgenommen. Es wurde zwischen Europa, Südafrika, Afrika (ohne Südafrika), temperatem Asien, tropischem Asien, Australasien, Nordamerika und Südamerika unterschieden. Die in diese Untersuchung eingeflossenen Arten und ihre entsprechende Verbreitung sind in Abbildung 9 wiedergegeben.

### 3.2.6 *Rekonstruktion ancestraler Merkmalszustände*

Verschiedene morphologische Merkmale wurden herangezogen, um ihre Evolution innerhalb der Linaceae zu ergründen. Der für die zuvor durchgeführte DIVA Analyse erstellte bifurkate Baum diente als Grundlage für die Rekonstruktion der ancestralen Merkmalszustände. Unter Verwendung des Programms MacClade 4.08 (MADDISON & MADDISON 2005) wurden die morphologischen Ausprägungen der unterschiedlichen Arten auf diesen Baum übertragen und die Evolution dieser Merkmale unter der Annahme des Parsimoniekriteriums berechnet. Da der Analyse eine vollständig aufgelöste Topologie zugrunde lag, konnte die Merkmalstransformation unter den verschiedenen Voreinstellungen 'acctran'

(*accelerated transformation*) und '*deltran*' (*delayed transformation*) optimiert werden. Durch die Einstellung *acctran* werden Merkmalsübergänge eher an der Basis des Baumes angenommen, was die Anzahl der Umkehrungen (*reversals*), also der Rückentwicklung des Merkmalszustands in seinen Ursprungszustand erhöht. Eine Verlagerung der Transformationen von der Basis des Baumes in Richtung der abgeleiteten Gruppen unter der Einstellung *deltran* führt hingegen zu einem Anstieg an Parallelismen. Für die Abbildungen wurde stets die sparsamste Erklärungsmöglichkeit ohne Berücksichtigung der soeben erwähnten Optimierungsmethoden gewählt.

## 3.3 Ergebnisse

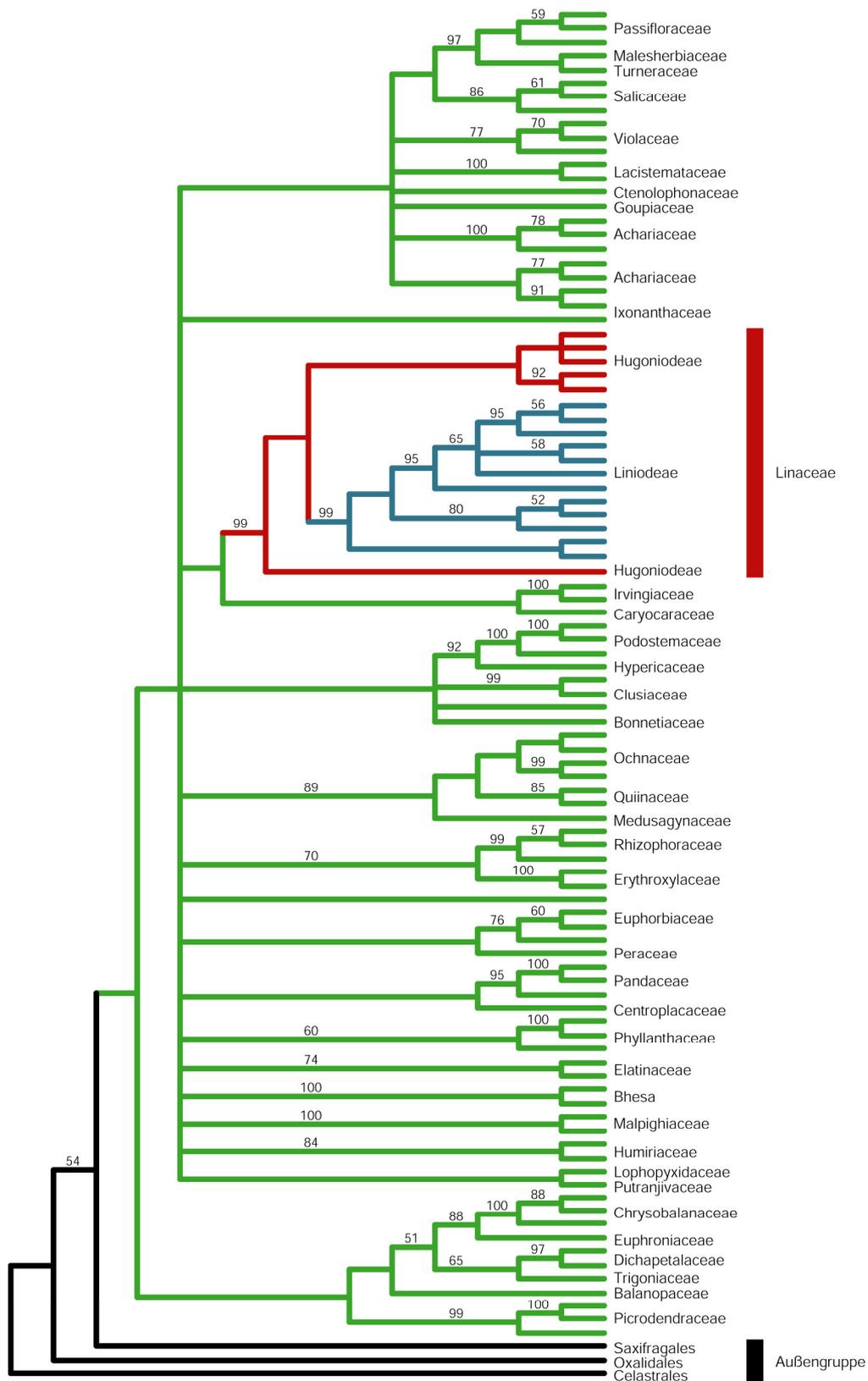
---

Die Informationen zur Baumstatistik der einzelnen molekularen Untersuchungen sind in den Abbildungsbeschreibungen der jeweiligen Bäume angegeben. Die Angaben zu den jeweiligen *Bootstrap*-Unterstützungen werden im folgenden Text mit 'BU' abgekürzt.

### 3.3.1 Phylogenie der Malpighiales

Die Linaceae zählen neben 38 weiteren Familien und der Gattung *Bhesa* (eh. Celastraceae) zur Ordnung der Malpighiales (STEVENS 2006), allerdings blieben die Beziehungen der einzelnen Familien zueinander bisher weitgehend ungeklärt (CHASE *et al.* 2002, APG II 2003, DAVIS *et al.* 2005). Um eine geeignete Außengruppe für die Untersuchung der Linaceae, vor allem für die Kalkulation einer molekularen Uhr, zu erhalten, wurde mittels online verfügbarer und eigenständig generierter *rbcL*-Sequenzen (Anhang 1-Tab. 2) ein Datensatz zusammengestellt, der alle Familien der Malpighiales umfasst. Ferner sollte dieser die Monophylie der Linaceae und ihrer beiden Unterfamilien bestätigen. Die Hugonioideae sind in diesem Datensatz mit sechs, die Linoideae mit zwölf Arten vertreten. Als Außengruppe wurde je ein Vertreter aus den Ordnungen Oxalidales, Celastrales und Saxifragales gewählt.

Die *Maximum Parsimony* Analyse ergab nur eine unzureichende Auflösung innerhalb der Malpighiales (Abb. 2), so dass es nicht möglich war, anhand dieser Untersuchung eine geeignete Außengruppe für die Analysen innerhalb der Linaceae zu bestimmen. Ein Schwesterverhältnis der Linaceae zu einer Gruppe aus Irvingiaceae und Caryocaraceae VOIGT konnte zwar in allen Bäumen gezeigt



**Abb. 2:** *Strict-Konsensusbaum (Maximum Parsimony Analyse)* aus 3018 kürzesten Bäumen basierend auf einem *rbcl*-Datensatz aus 101 Sequenzen und 1408 Merkmalen, davon sind 751 konstant, 216 variabel, aber parsimonie-uninformativ, 441 parsimonie-informativ (Länge = 2655 Schritte, CI = 0,337, RI = 0,544). Die Zahlen oberhalb der Äste geben die *Bootstrap*-Unterstützung an.

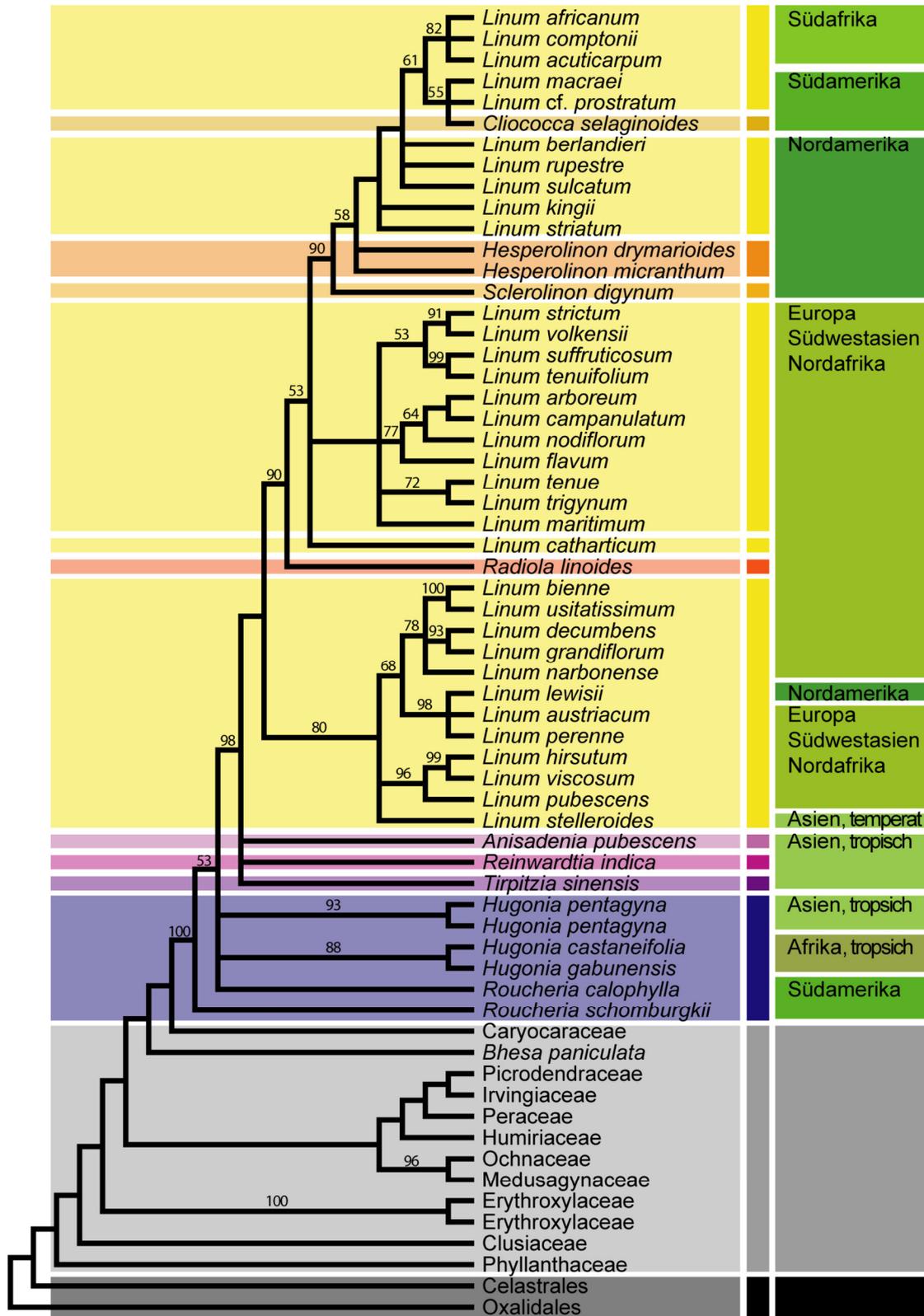
werden, erhält allerdings keine *Bootstrap*-Unterstützung. Aus den 3018 erhaltenen *most parsimonious* Bäumen wurde ein *Majority Rule*-Konsensusbaum erstellt (nicht abgebildet), anhand wessen zwölf Vertreter aus verschiedenen Familien der Malpighiales für die anschließende Untersuchung gewählt wurden.

Die Linaceae bilden innerhalb der Malpighiales eine monophyletische Gruppe mit einer *Bootstrap*-Unterstützung von 99 %. Das Verhältnis der beiden Unterfamilien zueinander bleibt ungeklärt. Die Familie verzweigt sich basal in eine Trichotomie bestehend aus den monophyletischen Linoideae (BU 99 %), einem ungestützten Ast verschiedener Hugonioideae und *Roucheria schomburgkii* PLANCH. Der Konsensusbaum (Abb. 2) deutet auf eine Paraphylie der Hugonioideae im Verhältnis zu den Linoideae hin, welche jedoch keine *Bootstrap*-Unterstützung erhält.

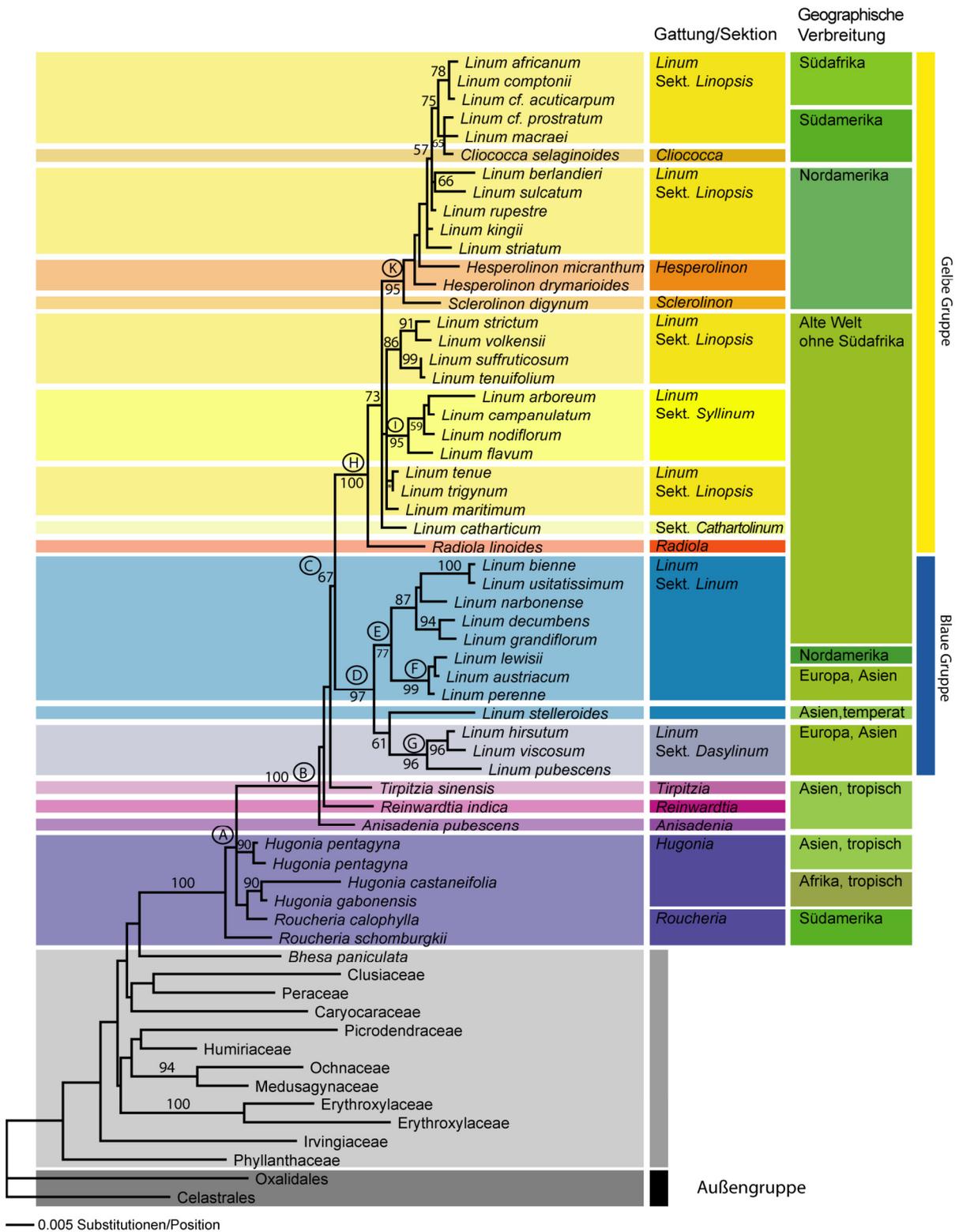
### 3.3.2 Intergenerische Untersuchung der Linoideae

Die intergenerische Untersuchung der Linoideae beruht auf der Basis eines *rbcl*-Datensatzes. Für diesen Zweck wurden 42 Sequenzen aus den Linoideae, 6 Sequenzen aus den Hugonioideae und zwölf Sequenzen aus verschiedenen Familien der Malpighiales und je ein Vertreter der Celestrales und Oxalidales (Außengruppe) verwendet.

Die *Maximum Parsimony* Untersuchung dieses Datensatzes ergab 8716 kürzeste Bäume. Der *Strict*-Konsensusbaum, der aus diesen Phylogrammen berechnet wurde, ist in Abbildung 3 dargestellt. Der *rbcl*-Datensatz wurde einer *Maximum Likelihood* Analyse unterzogen, welche in drei gleich wahrscheinlichen Bäumen ( $-\ln L = 8526,55458$ ) resultierte. Diese zeigten keine erkennbaren Unterschiede, so dass willkürlich einer gewählt wurde, der in Abbildung 4 dargestellt ist. Die Topologien der *Maximum Parsimony*- (MP) und der *Maximum Likelihood* Analyse (ML) weisen keine Widersprüche auf und werden daher im folgenden Abschnitt gemeinsam beschrieben.



**Abb. 3:** Strict-Konsensusbaum aus 8716 kürzesten Bäumen, basierend auf einem *rbcL*-Datensatz aus 62 Sequenzen und 1428 Merkmalen, davon sind 981 konstant, 208 variabel, aber parsimonie-uninformativ und 239 parsimonie-informativ. (Länge = 814, CI = 0,545, RI = 0,744). Die Zahlen oberhalb der Äste geben die *Bootstrap*-Unterstützung an.



**Abb. 4:** Einer von drei gleich wahrscheinlichen *Maximum Likelihood* Bäumen ( $-lnL = 8526.55458$ ), basierend auf einem *rbcl*-Datensatz aus 62 Sequenzen und 1428 Merkmalen. In der ersten Spalte ist die aktuelle taxonomische Einteilung nach OCKENDON & WALTERS (1968) und ROGERS (1984b) wiedergegeben, die zweite Spalte gibt die Verbreitung der einzelnen Gruppen wieder. Die Zahlen unterhalb der Äste geben die Bootstrap-Unterstützung an. Die Buchstaben markieren Knoten, die in einer späteren Analyse datiert wurden.

Die Monophylie der Linaceae wird in beiden Analysen mit einem *Bootstrap*-Wert von 100 % deutlich unterstützt. Das Verhältnis der beiden Unterfamilien zueinander kann jedoch nicht eindeutig geklärt werden. Die Linoideae sind monophyletisch (MP-BU 98 %, ML-BU 100 %) und stehen zusammen mit verschiedenen Vertretern der Hugonioideae in einer basalen Polytomie. Eine mögliche Paraphylie der Hugonioideae im Verhältnis zu den Linoideae findet lediglich in der *Maximum Parsimony* Analyse eine äußerst geringe Unterstützung (MP-BU 53 %, Abb. 3).

Die Linoideae verzweigen sich basal in einer Polytomie aus vier Ästen. Die drei asiatischen Gattungen *Anisadenia*, *Tirpitzia* und *Reinwardtia* zeigen ein unaufgelöstes Verhältnis zu einer monophyletischen Gruppe, bestehend aus Vertretern der Gattungen *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Linum*, *Radiola* und *Sclerolinon*. Diese im weiteren Verlauf der Arbeit als '*Linum* s. l.' bezeichnete Gruppe, findet lediglich in der *Maximum Likelihood* Analyse eine schwache *Bootstrap*-Unterstützung von 67 %.

*Linum* s. l. spaltet sich in zwei monophyletische Gruppen ('Gelbe Gruppe' und 'Blaue Gruppe'; die Bezeichnung basiert auf der, in diesen Gruppen jeweils dominierenden, Blütenfarbe), wobei die Gattung *Linum* mit verschiedenen Sektionen in beiden Gruppen vertreten ist. Die 'Blaue Gruppe' besteht lediglich aus Vertretern der Gattung *Linum*, genauer gesagt aus Arten der Sektionen *Linum* und *Dasylinum* (MP-BU 80 %, ML-BU 97 %), während sich die 'Gelbe Gruppe' aus Vertretern der Gattungen *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Linum*, *Radiola* und *Sclerolinon* (MP-BU 90 %, ML-BU 100 %) zusammensetzt. Die Gattung *Linum* ist somit paraphyletisch. *Radiola linoides* ist mit einer schwachen (MP-BU 53 %) bis moderaten Unterstützung (ML-BU 73 %) Schwester zu den übrigen Taxa der 'Gelben Gruppe'. Während die Vertreter der Neuen Welt und Südafrikas in einer sehr gut gestützten monophyletischen Gruppe vereint sind (MP-BU 90 %, ML-BU 95 %), entspringen die europäischen Vertreter einer Polytomie. Eine Monophylie der altweltlichen Taxa (exklusive *Linum catharticum* und der südafrikanischen Arten) der 'Gelben Gruppe' wird in beiden Analysen (MP & ML) angedeutet, erhält jedoch keine *Bootstrap*-Unterstützung.

### 3.3.3 Verwandtschaftliche Beziehungen innerhalb der Linoideae

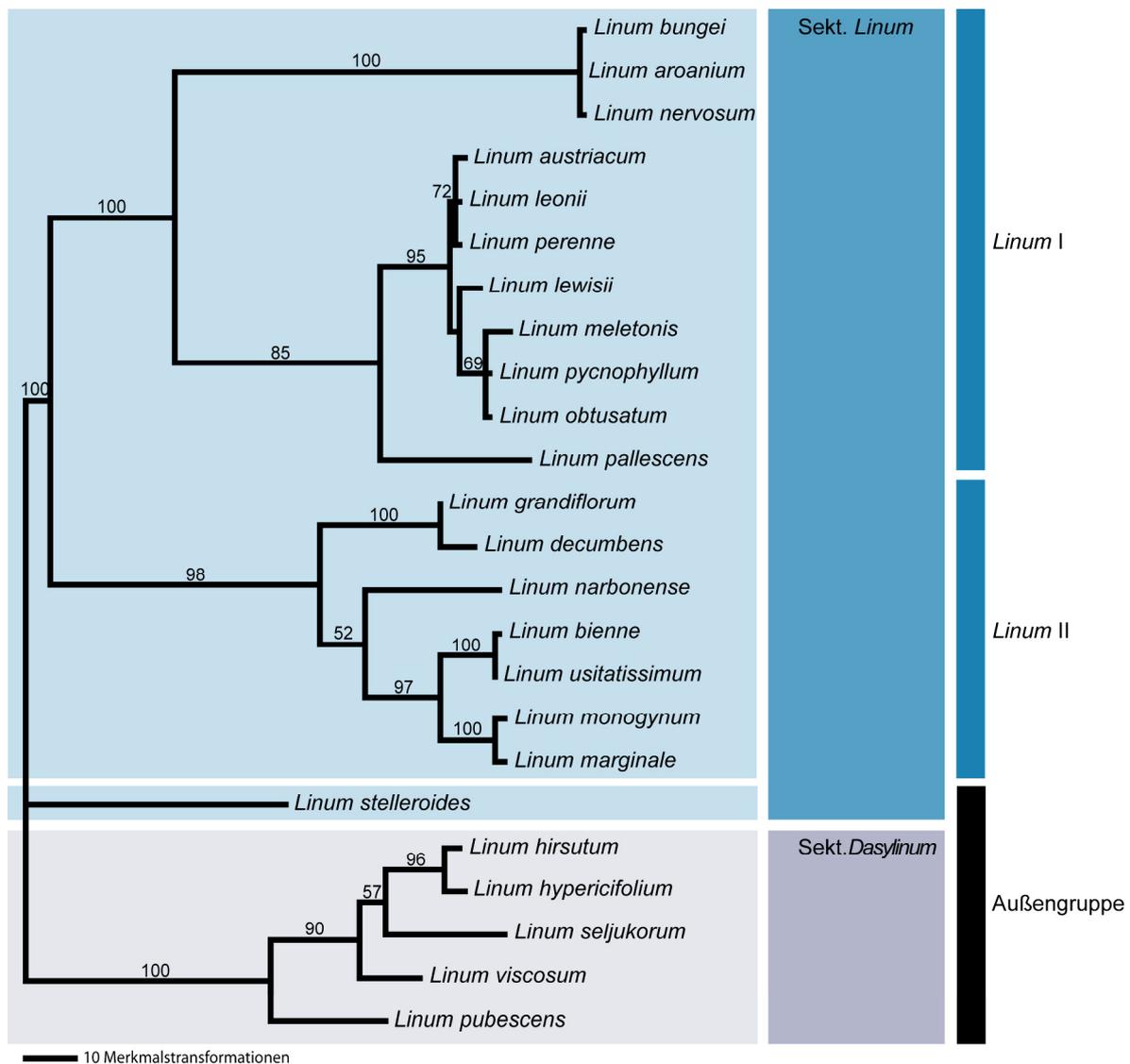
Aufgrund der unzureichenden Auflösung in den auf *rbcl*-Sequenzen basierenden Bäumen, wurden zusätzlich ITS-Sequenzen generiert. Eine zufriedenstellende Alinierung der ITS-Sequenzen auf Familienebene war aufgrund zu hoher Sequenzunterschiede zwischen Arten verschiedener Gattungen bzw. unterschiedlicher Sektionen innerhalb der Gattung *Linum* nicht möglich. Die mittels *rbcl*-Analyse ermittelten Gruppen 'Gelbe Gruppe' und 'Blaue Gruppe' (Abb. 4) wurden daher getrennt voneinander analysiert.

#### 3.3.3.1 Beziehungen innerhalb der 'Blauen Gruppe'

Die 'Blaue Gruppe' setzt sich aus Vertretern der Gattung *Linum* Sektion *Linum* und Sektion *Dasylinum* zusammen. Für den ITS-Datensatz wurden 19 Vertreter der Sektion *Linum* und vier Arten der Sektion *Dasylinum* herangezogen. Eine geeignete Außengruppe konnte leider nicht gewählt werden, da Arten außerhalb dieser beiden Sektionen nur äußerst unzureichend aliniert werden konnten. Für die Darstellung der Bäume wurde daher eine basale Polytomie gewählt mit Sektion *Dasylinum* und *Linum stelleroides* als Außengruppe.

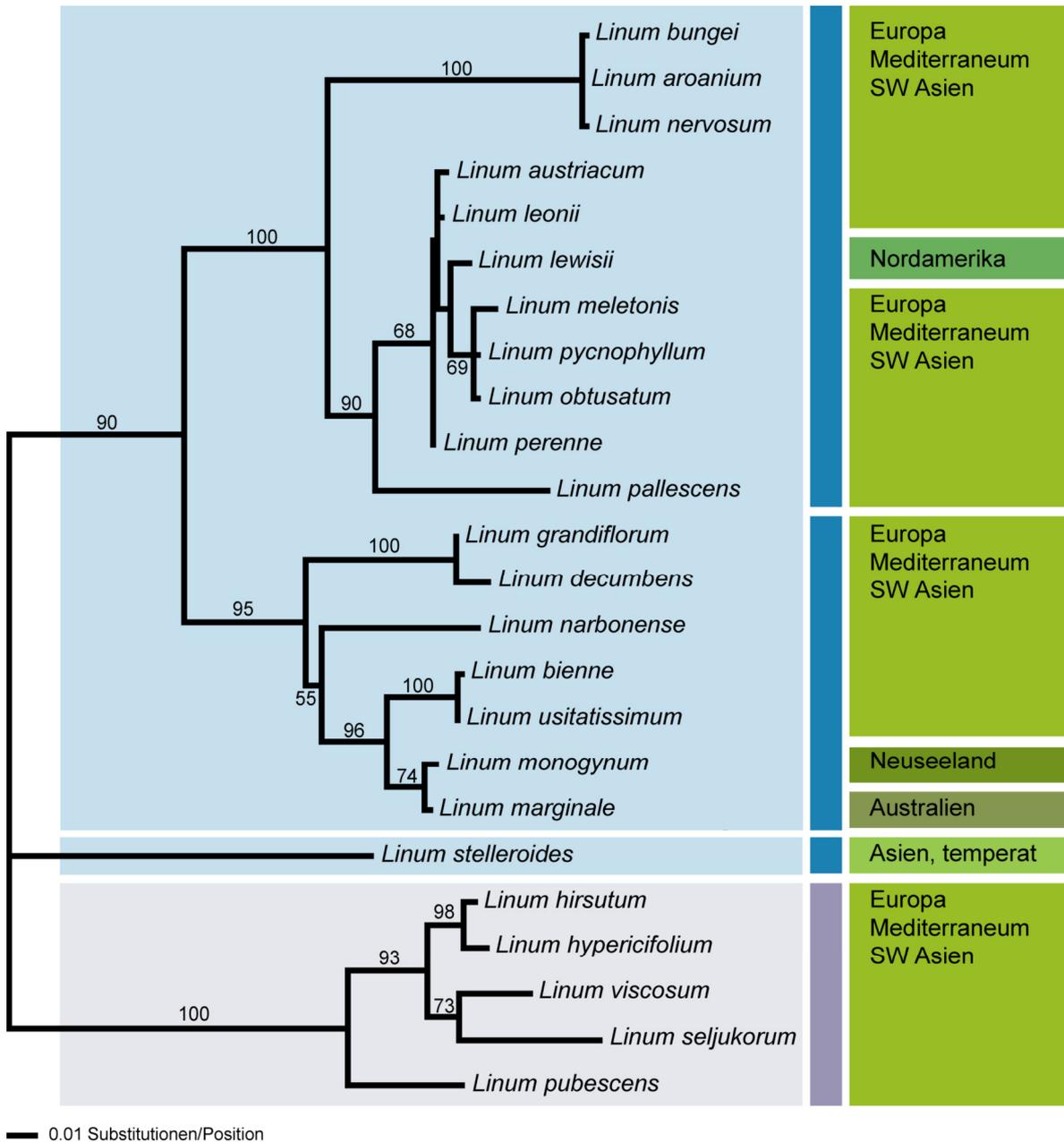
Die *Maximum Parsimony* Analyse resultierte in sechs kürzesten Bäumen, die sich hinsichtlich ihrer Topologie lediglich in der Positionierung der drei Arten *Linum bungei* BOISS., *L. aroanium* und *L. nervosum* WALDST. & KIT. unterschieden. Einer dieser Bäume ist in Abbildung 5 dargestellt.

Sektion *Dasylinum* bildet eine gut unterstützte (MP-BU 100 %) monophyletische Gruppe. Betrachtet man hingegen die Sektion *Linum*, so kann über eine mögliche Monophylie dieser Sektion keine gesicherte Aussage getroffen werden, da *Linum stelleroides* keiner der beiden Sektionen eindeutig zugeordnet werden kann (Abb. 3 & 4). Die übrigen Vertreter aus Sektion *Linum* (exklusive *L. stelleroides*) bilden eine gut gestützte monophyletische Gruppe (MP-BU 100 %) und spalten sich in zwei gut gesicherte Linien auf, '*Linum* I' (MP-BU 100 %) und '*Linum* II' (MP-BU 98 %).



**Abb. 5:** Einer der sechs kürzesten Bäume, basierend auf einem ITS-Datensatz aus 23 Sequenzen und 652 Merkmalen, davon waren 367 konstant, 72 variabel, aber parsimonie-uninformativ und 213 parsimonie-informativ (Länge = 445 Schritte, CI = 0,697, RI = 0,875). Die Zahlen oberhalb der Äste geben die *Bootstrap*-Unterstützung an.

In Ergänzung zu der *Maximum Parsimony* Analyse wurde eine *Maximum Likelihood* Untersuchung durchgeführt, welche in einem wahrscheinlichsten Baum (-lnL = 3456.14156) resultierte (Abb. 6). Bezüglich ihrer Topologie zeigen die Bäume keinen nennenswerten Unterschied. Die Gruppen, die in der *Parsimony* Analyse unterschieden wurden, konnten alle mit einer guten *Bootstrap*-Unterstützung auch in der *Maximum Likelihood* Analyse vorgefunden werden (Abb. 6).



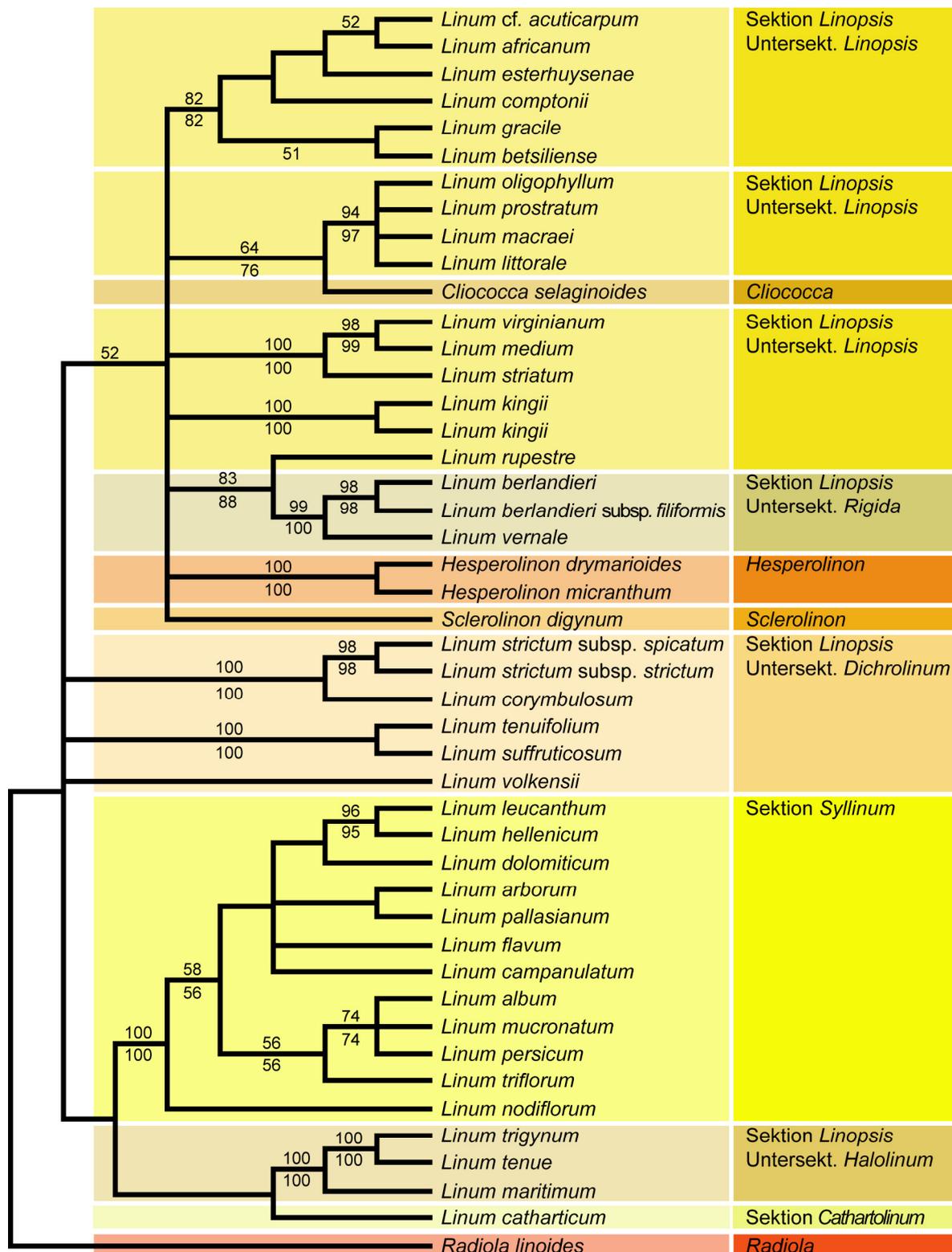
**Abb. 6:** *Maximum Likelihood* Baum (AIC, -lnL = 3456.14156), basierend auf einem ITS-Datensatz aus 23 Sequenzen und 652 Merkmalen. Zusätzlich ist die geographische Verbreitung der einzelnen Taxa angegeben.

### 3.3.3.2 Beziehungen innerhalb der 'Gelben Gruppe'

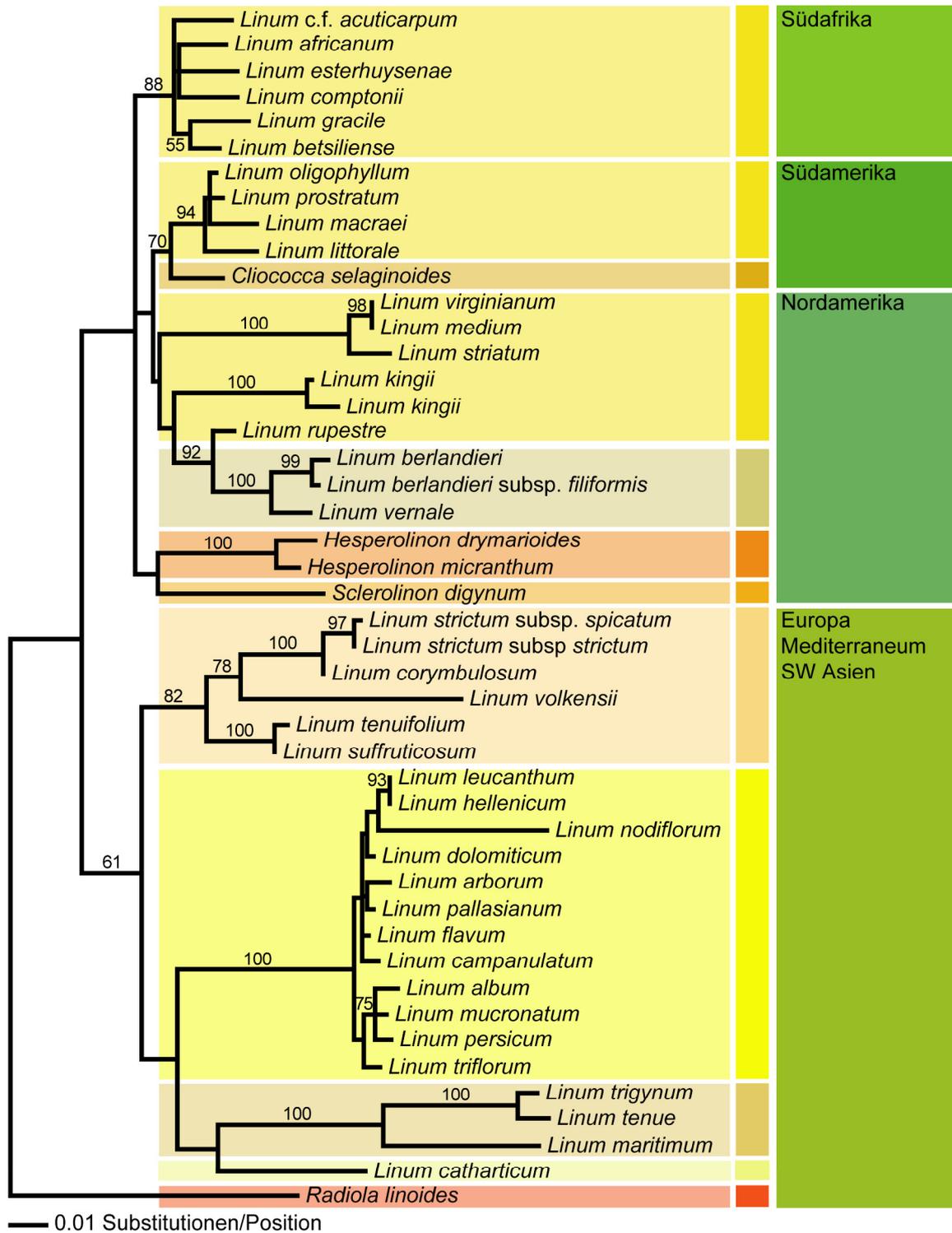
Die 'Gelbe Gruppe' setzt sich aus Vertretern der Gattungen *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Linum* (Sektionen *Cathartolinum*, *Linopsis* und *Syllinum*), *Radiola* und *Sclerolinon* zusammen. Aufgrund der Ergebnisse der *rbcL*-Untersuchung (Abb. 4) und Ergebnissen von McDILL *et al.* (2009) wurde *Radiola linoides* als Außengruppe gewählt. Wie zuvor bei den anderen Datensätzen wurde auch hier sowohl eine *Maximum Parsimony* Analyse (Abb. 7) als auch eine *Maximum Likelihood* Analyse (Abb. 8) durchgeführt. Die MP-Analyse resultierte in 22 kürzesten Bäumen. Der aus diesen errechnete Konsensusbaum ist in Abbildung 7 dargestellt. Dieser zeigt jedoch nur eine geringe Auflösung. Lediglich in den basalen Knoten existiert, wenn überhaupt, eine geringe *Bootstrap*-Unterstützung für die jeweiligen Äste. Der aus der ML-Analyse resultierende Baum zeigt zwar eine bessere Auflösung, allerdings sind auch hier nur wenige Äste gut unterstützt. Im ML-Baum ist es möglich, innerhalb der gelbblütigen Gruppe, zwei Gruppen zu erkennen, von welcher lediglich die eine - mit ausschließlich altweltlich verbreiteten Arten (*Linopsis* Alte Welt) - in der *Maximum Likelihood* Rekonstruktion (Abb. 8) eine schwache *Bootstrap*-Unterstützung (61 %) erhält. Eine monophyletische Gruppe aus neuweltlichen und südafrikanischen Arten wird im ML-Baum lediglich angedeutet und findet im MP-Baum auch nur eine äußerst geringe Unterstützung (MP-BU 52 %).

Die Sektion *Linopsis* ist paraphyletisch in Bezug zu der monotypischen Sektion *Cathartolinum* und der monophyletischen Sektion *Syllinum* (MP-BU 100 %, ML-BU 100 %). Innerhalb der mediterranen Vertreter der Sektion *Linopsis* lassen sich zwei gut unterstützte Gruppen erkennen, die den Untersektionen *Dichrolinum* (ML-BU 82 %) und *Halolinum* (MP-BU 100 %, ML-BU 100 %) entsprechen (Abb. 7 & 8). Den Arten der Untersektion *Dichrolinum* sind neben Indels aus ein bis zwei Basenpaaren zwei größere aus vier (Position 84-87) bzw. 16 Basen (Position 61-76) gemeinsam, was eine engere verwandtschaftliche Beziehung dieser Arten zusätzlich untermauert. Die genaue phylogenetische Zugehörigkeit von *Linum catharticum* (Sekt. *Cathartolinum*) bleibt im ITS-Datensatz ungeklärt, eine Beziehung zu den Vertretern der Untersektion *Halolinum* wird lediglich angedeutet (Abb. 7 & 8).

Betrachtet man die neuweltliche Gruppe, so fällt auf, dass es innerhalb der Sektion *Linopsis* fünf recht gut gestützte Gruppen gibt, deren Beziehung zueinander allerdings ungeklärt bleibt. Die südafrikanischen Arten erfahren mit 82 % (MP-BU) bzw. 88 % (ML-BU) eine recht gute *Bootstrap*-Unterstützung, ebenso wie die Taxa mit einer südamerikanischen Verbreitung (MP-BU 76 %, ML-BU 70 %). Die Gattung *Cliococca* ist mit einer moderaten *Bootstrap*-Unterstützung Schwester zu den südamerikanischen *Linum*-Arten (MP-BU 76 %, ML-BU 70 % / MP-BU 97 %, ML-BU 94 %). Die nordamerikanischen Vertreter verteilen sich auf mehrere, wenige Taxa umfassende, Gruppen, deren Beziehungen zueinander ungeklärt bleiben. Die untersuchten Arten der Untersektion *Rigida* bilden ebenso wie die beiden Arten der Gattung *Hesperolinon* eine sehr gut gestützte Gruppe (jeweils MP-BU 100 %, ML-BU 100 %). Ein Schwesternverhältnis der Gattung *Hesperolinon* zu *Sclerolinon* wird in den Ergebnissen der ML-Analyse lediglich angedeutet, findet jedoch in keiner der Untersuchungen eine *Bootstrap*-Unterstützung (Abb. 7 & 8). Die phylogenetische Zugehörigkeit von *Linum kingii* (Untersektion *Linopsis*) kann nicht genau bestimmt werden, eine Beziehung zu den Vertretern der Untersektion *Rigida* wird lediglich angedeutet (Abb. 8).



**Abb. 7:** *Strict*-Konsensusbaum der 'Gelben Gruppe' aus 422 kürzesten Bäumen basierend auf einem ITS-Datensatz aus 46 Sequenzen und 633 Merkmalen, davon sind 374 konstant, 65 variabel, aber parsimonie-uninformativ, 194 parsimonie-informativ. (Länge = 565, CI = 0,506, RI = 0,795). Die Zahlen oberhalb der Äste geben die *Bootstrap*-Unterstützung ohne Berücksichtigung der Indels an, die unterhalb der Äste die Unterstützung mit Berücksichtigung der Indels.



**Abb. 8:** Maximum Likelihood Baum (-lnL = 4279.0635), basierend auf einem ITS-Datensatz aus 46 Sequenzen und 633 Merkmalen. Die Farbgebung entspricht der taxonomischen Zuordnung in Abbildung 7, zusätzlich wurde die geographische Verbreitung der einzelnen Arten angegeben.

### 3.3.4 Kalkulierung einer molekularen Uhr

Unter der Verwendung des Programms *rs8*, wurde anhand des leicht gekürzten *rbcL*-Baumes der Linaceae (Abb. 4) das Alter der internen Knoten (gemeinsame Vorfahren) bestimmt. Die Kalkulation wurde mit zwei verschiedenen Altersschätzungen für die Linaceae (DAVIS *et al.* 2005) kalibriert. In Tabelle 6 sind die für die Diskussion relevanten Altersangaben angegeben.

**Tab. 6:** Ergebnisse der Berechnung einiger interner Knoten der *rbcL*-Phylogenie (Abb. 4) anhand einer molekularen Uhr. Die Altersangaben sind in Mill. Jahren angeführt.

	Linaceae fixiert	Linaceae fixiert
Linaceae (A)	105	94,50
Linoideae (B)	51.23	46,05
<i>Linum</i> (C)	46,24	41,63
'Blaue Gruppe' (D)	32,46	29,1
Sektion <i>Linum</i> (E)	25.2	22,53
<i>Linum</i> I (F)	3,78	3,33
Sektion <i>Dasylinum</i> (G)	14,46	12,92
'Gelbe Gruppe' (H)	36,02	32,44
Sektion <i>Syllinum</i> (I)	18,75	16,94
1. Besiedlung Amerikas (K)	22,3	20,12

### 3.3.5 Kombination verschiedener Datensätze zu einem 'Supertree'

Da es leider nicht möglich war eine ITS-Phylogenie der Linaceae zu berechnen, wurde aus den verschiedenen Datensätzen (Linaceae *rbcL*, 'Gelbe Gruppe' ITS und 'Blaue Gruppe' ITS) ein sogenannter 'Supertree' konstruiert (Abb. 9). Dieser Baum beinhaltet alle Taxa der einzelnen Untersuchungen und basiert auf der Topologie der einzelnen ML-Phylogramme. Der resultierende Konsensusbaum entspricht somit im Wesentlichen den Resultaten aus den Abbildungen 4, 6 und 8. Es ist zu berücksichtigen, dass diese Rekonstruktion auf den Ergebnissen der einzelnen *Maximum Likelihood* Analysen beruht und somit Gruppen, die in diesen

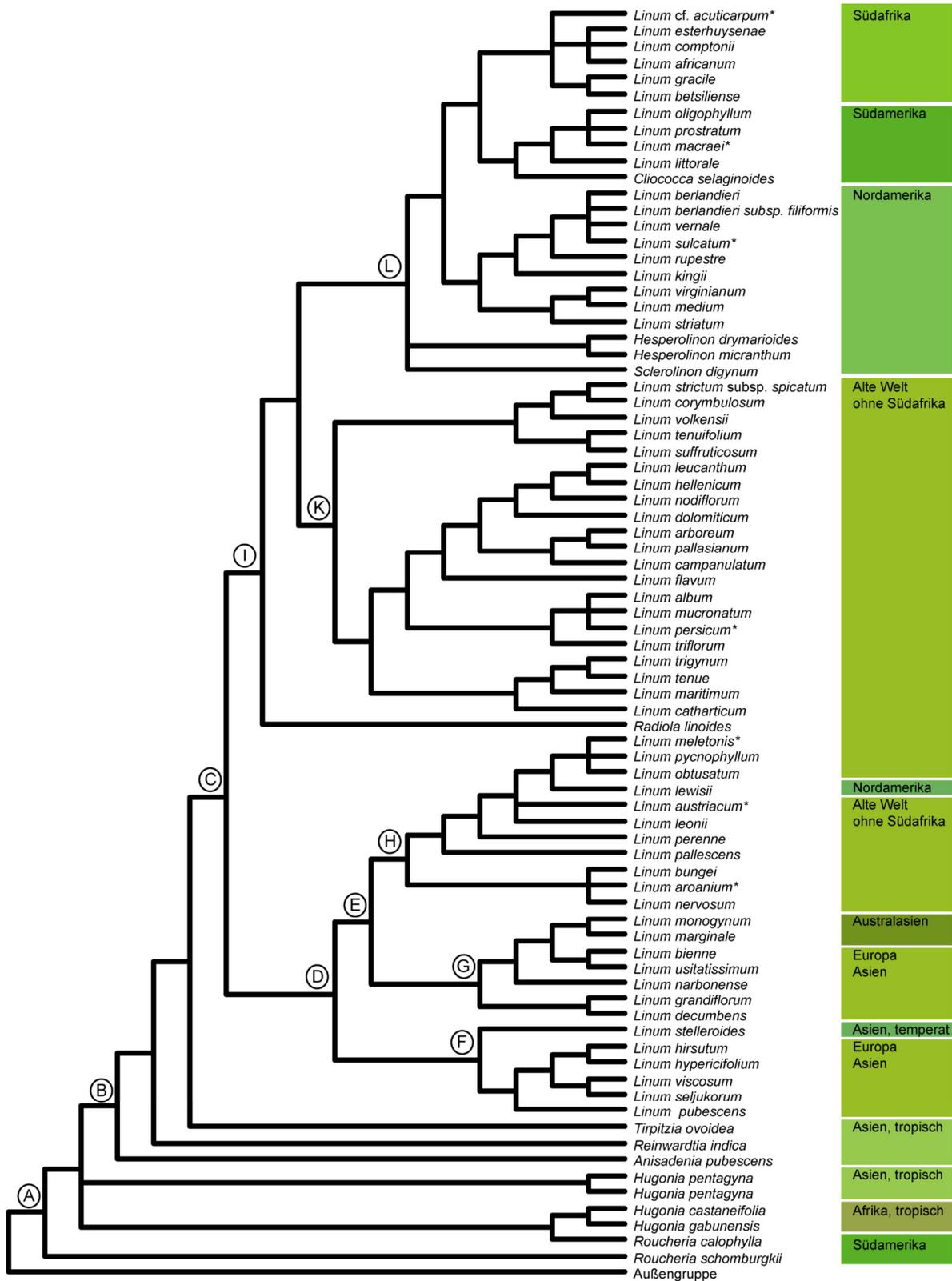
Bäumen eine schlechte *Bootstrap*-Unterstützung erhalten auch im '*Supertree*' entsprechend vorsichtig zu bewerten sind.

### 3.3.6 *Dispersal-Vicariance Analyse (DIVA)*

Unter Verwendung der *Dispersal-Vicariance Analyse (DIVA)* wurde die wahrscheinliche geographische Verbreitung der internen Knoten (gemeinsame Vorfahren) rekonstruiert. In Abbildung 9 sind die für die Diskussion wichtigsten Knoten mit ihrer Verbreitung wiedergegeben.

**Tab. 7:** Ergebnis der *Dispersal-Vicariance Analyse (DIVA)* für einige interne Knoten (gemeinsame Vorfahren) des '*Supertrees*'. Die genaue Position der einzelnen Knoten geht aus Abbildung 9 hervor.

<b>Knoten</b>	<b>Verbreitung</b>
A	Afrika – Asien, temperat – Asien, tropisch – Südamerika
B	Asien, temperat
C	Europa – Asien, temperat
D	Asien, temperat
E	Asien, temperat
F	Asien, temperat
G	Asien, temperat
H	Asien, temperat
I	Europa
K	Europa
L	Nordamerika



**Abb. 9:** Strict-Konsensusbaum der 'Supertree'-Analyse. Diesem Baum liegen die *Maximum Likelihood* Bäume der verschiedenen Datensätze (Linaceae *rbcl*, 'Gelbe Gruppe' ITS und 'Blaue Gruppe' ITS) zugrunde. Die Knoten A bis L stellen wichtige Vorfahren dar, deren wahrscheinliche Verbreitung mittels einer DIVA rekonstruiert wurde (s. Tab. 7). Die mit '\*' gekennzeichneten Arten wurden für die DIVA-Analyse aus dem Datensatz entfernt, um einen vollständig bifurkaten Baum zu erhalten.

### **3.3.7 Rekonstruktion ancestraler Merkmale**

Auf der Grundlage des '*Supertrees*' wurden die ancestralen Merkmalszustände verschiedener morphologischer Charaktere mit Hilfe des Programms MacClade 4.08 (MADDISON & MADDISON 2005) bestimmt und die Evolution dieser im Verlauf der Entwicklung der Linoideae graphisch dargestellt. Die Abbildungen und die jeweiligen Erläuterungen zu diesen Bäumen erfolgen im Rahmen der Diskussion.



## 3.4 Diskussion

---

### 3.4.1 Position der Linaceae innerhalb der Malpighiales

Die genaue Umschreibung, sowie die Position der Linaceae in den Angiospermen wurde lange Zeit kontrovers diskutiert. Nach Auffassung von TAKHTAJAN (1959) und SCHOLZ (1964) waren die Linaceae Teil der Ordnung Geraniales, wobei ihre Auffassungen bezüglich der Zusammensetzung der Ordnung nicht vollkommen übereinstimmten. Zwar zählten beide neben den Linaceae eine Reihe von Familien als zu den Geraniales gehörend (Ixonanthaceae, Ctenolophonaceae, Humiriaceae, Erythroxylaceae, Zygophyllaceae, Oxalidaceae, Geraniaceae, Tropaeolaceae und Limnanthaceae), aber während SCHOLZ (1964) lediglich noch die Euphorbiaceae und Daphniphyllaceae in diese Ordnung integrierte, ordnete TAKHTAJAN (1959) acht weitere Familien (u. a. Irvingiaceae, Malpighiaceae) in diesen Verwandtschaftskreis ein. Ende des 20. Jahrhunderts revidierte TAKHTAJAN (1997) seine Einordnung der Linaceae und platzierte die Leingewächse in die Ordnung Linales, welche neben den Linaceae die Ctenolophonaceae, Ixonanthaceae, Humiriaceae und Erythroxylaceae umfasste.

Erst seit der Einführung molekularer Untersuchungsmethoden ist die Lage der Linaceae in den Malpighiales (Eurosiden I) gesichert (APG II 2003, STEVENS 2006). Betrachtet man die Ergebnisse der *Maximum Parsimony* Analyse des *rbcl*-Datensatzes dieser Ordnung (Abb.2 ), so wird die Monophylie der Linaceae mit einer sehr guten Unterstützung (MP-BU 99 %) bestätigt. Ein Schwestergruppenverhältnis zu den Irvingiaceae kann zwar in allen Parsimonie Bäumen gezeigt werden, findet jedoch keine *Bootstrap*-Unterstützung (Abb. 2). Ein vier Marker umfassender Datensatz (*atpB*, *rbcl*, 18S und *nad1B-C*) von DAVIS *et al.* (2005) führte ebenso zu

einer phylogenetischen Rekonstruktion, in der ein ungestütztes Schwesterverhältnis zwischen Linaceae und Irvingiaceae ermittelt wurde. Diese Beziehung konnte von TOKUOKA & TOBE (2006), die ebenfalls nukleäre und plastidäre Marker kombinierten (*rbcL*, *atpB*, *matK* und 18s rDNA), schwach gestützt werden (BU 50 %). Trotz recht umfangreicher Datensätze bleiben die Beziehungen der verschiedenen Familien der Malpighiales zueinander weitgehend ungeklärt. Äste außerhalb der Familien zeigen in der Regel nur eine unzureichende Unterstützung (SOLTIS *et al.* 2000, CHASE *et al.* 2002, DAVIS *et al.* 2005, TOKUOKA & TOBE 2006).

Die Untersuchung der Flacourtiaceae von CHASE *et al.* (2002), die wie die Rekonstruktion der vorliegenden Arbeit lediglich auf *rbcL*-Sequenzen beruht, ergab ein Schwesterverhältnis von Linaceae und Picrodendraceae, welches jedoch nicht durch eine *Bootstrap*-Analyse unterstützt werden konnte. Die Arbeit von SUTTER *et al.* (2006), die sich vor allem mit der Morphologie der weiblichen Blüte der Picrodendraceae beschäftigt, konnte eine nahe verwandtschaftliche Beziehung dieser beiden Familien nicht bestätigen. Ihren Ergebnissen zufolge weisen die Picrodendraceae innerhalb der Malpighiales die meisten Gemeinsamkeiten mit den Pyllanthaceae auf. Die Ctenolophonaceae, Dichapetalaceae, Erythroxylaceae, Irvingiaceae, Ixonanthaceae, Linaceae, Rhizophoraceae und Trigonaceae weisen als morphologische Gemeinsamkeit eine Kombination von epitropen Samenanlagen und einem Obturator auf (SUTTER *et al.* 2006).

Aufgrund von morphologischen Merkmalen wurde in der Vergangenheit eine Reihe von heute anerkannten Familien in die Linaceae integriert. So hatte z. B. WINKLER (1931) eine recht weite Auffassung der Familie und zählte neben den heute akzeptierten Linaceae die Ctenolophonaceae, Ixonanthaceae, Humiriaceae, sowie die aktuell zu den Erythroxylaceae gezählte Gattung *Nectaropetalum* ENGL. zu den Linaceae. METCALFE & CHALK (1950) und HEIMISCH & TSCHABOLD (1972) bestätigten diese Auffassung zum Teil. Sie betrachten auf der Grundlage von holzanatomischen Merkmalen die Ixonanthaceae, Hugonioideae und Linoideae als zu einer Familie (Linaceae) gehörig. NARAYANA & RAO (1978), die Vertreter der oben genannten Familien blütenmorphologisch untersuchten, bekräftigen diese Ansicht. Nach ihren Ergebnissen ist eine Ausgliederung der Ixonanthaceae und auch der Ctenolophonaceae als eigenständige Familien nicht gerechtfertigt. Die Humiriaceae und Erythroxylaceae hingegen werden wegen ihres Blütenaufbaus als eigenständige

Familien betrachtet. Nach NARAYANA & RAO (1978) sind die Humiriaceae im Vergleich zu den Linaceae bezüglich ihrer Blütenmorphologie ursprünglicher, während die Erythroxylaceae ihrer Auffassung nach eine eigene Entwicklungslinie darstellen. In verschiedenen, die Malpighiales umgreifenden, molekularen Rekonstruktionen (CHASE *et al.* 2002, DAVIS *et al.* 2005, TOKUOKA & TOBE 2006) konnten engere verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den oben genannten Familien allerdings nicht bestätigt werden und unterstützen, wie zuvor erwähnt, die engere Auffassung der Linaceae. Dies könnte mit der Tatsache zusammenhängen, dass es sich bei dem größten Teil der Familien der Malpighiales um sehr alte Entwicklungslinien handelt. DAVIS *et al.* (2005) vermuten für die Malpighiales eine Entstehung in der mittleren Kreide, der schon bald eine Aufspaltung in die heute anerkannten Familien folgte.

Die Integration der manchmal als eigenständige Familie (Hugoniaceae) abgespaltenen Unterfamilie Hugonioideae in die Linaceae (z. B. VAN WELZEN & BAAS (1984) auf der Grundlage von blattanatomischen Merkmalen) ist heute Konsens.

Fasst man die oben genannten Ergebnisse zusammen, bleibt die Beziehung der Linaceae zu den übrigen Familien der Malpighiales weiterhin noch ungeklärt. Eine Beziehung zu den Irvingiaceae konnte auf Basis von Morphologie (SUTTER *et al.* 2006) und molekularbiologischen Ergebnissen (DAVIS *et al.* 2005, TOKUOKA & TOBE 2006) lediglich angedeutet werden und bedarf noch weiteren Untersuchungen. WURDACK & DAVIS (2005) erweiterten den Umfang der für phylogenetische Rekonstruktionen verwendeten Datensätze auf acht Gene (vier plastidäre, zwei nukleäre und zwei mitochondriale) und erhoffen sich dadurch, neue Einblicke in die interfamiliären Beziehungen der Malpighiales zu gewinnen.

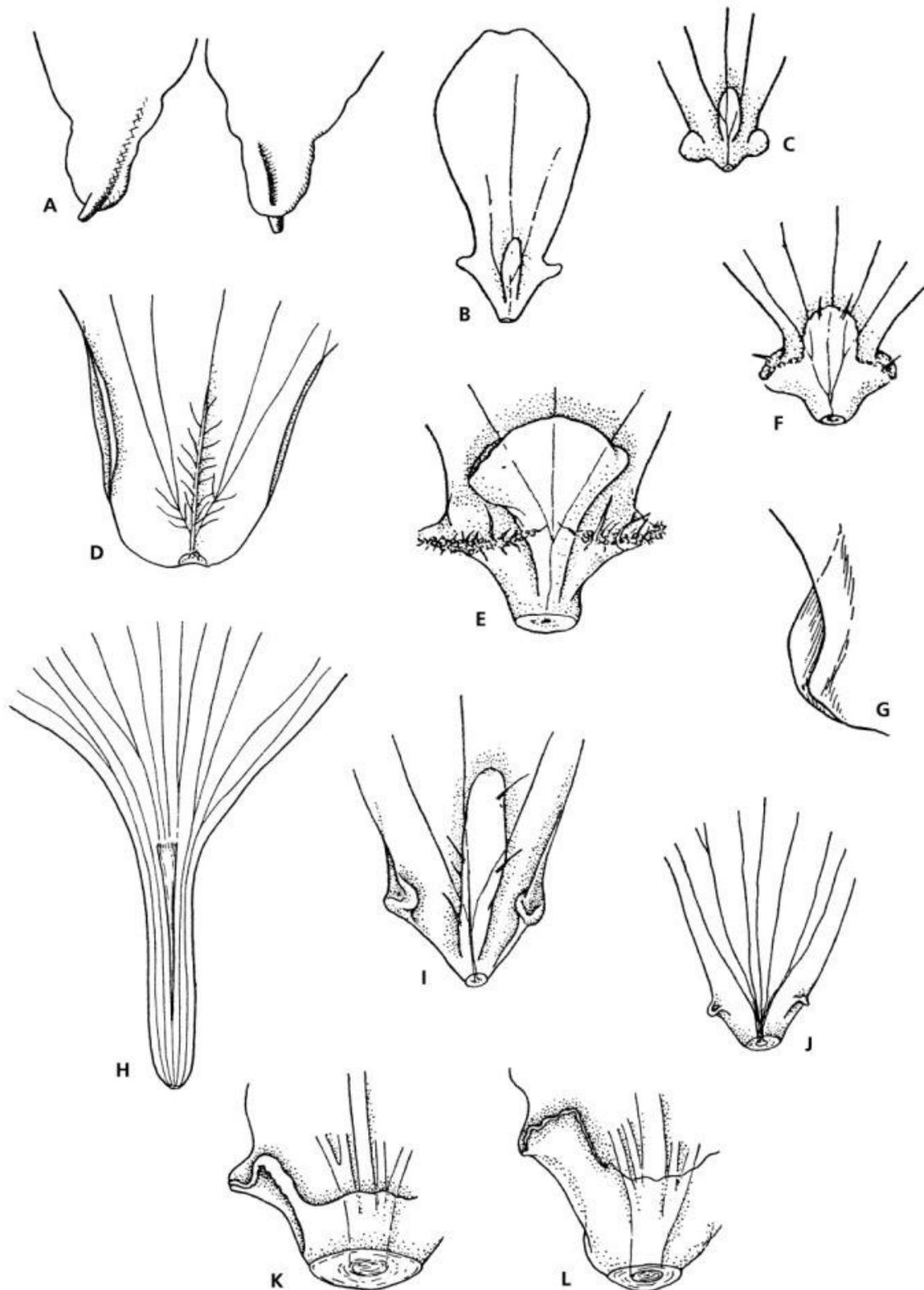
### 3.4.2 Intrafamiliäre Beziehungen der Linaceae

Die Monophylie der Familie wird in der Rekonstruktion der Familienverhältnisse innerhalb der Malpighiales bestätigt und mit einem *Bootstrap*-Wert von 99 % hervorragend unterstützt (Abb. 2). Diese Beziehung kann durch eine Reihe von morphologischen Merkmalen zusätzlich untermauert werden: überwiegende Fünzfähigkeit von Kalyx und Corolle, Hinfälligkeit der Petalen, basale Verwachsung der Filamente, Nektarien im Bereich des Androeceums, oberständiges Gynoeceum und die Anzahl der Griffel entspricht stets der der Karpelle.

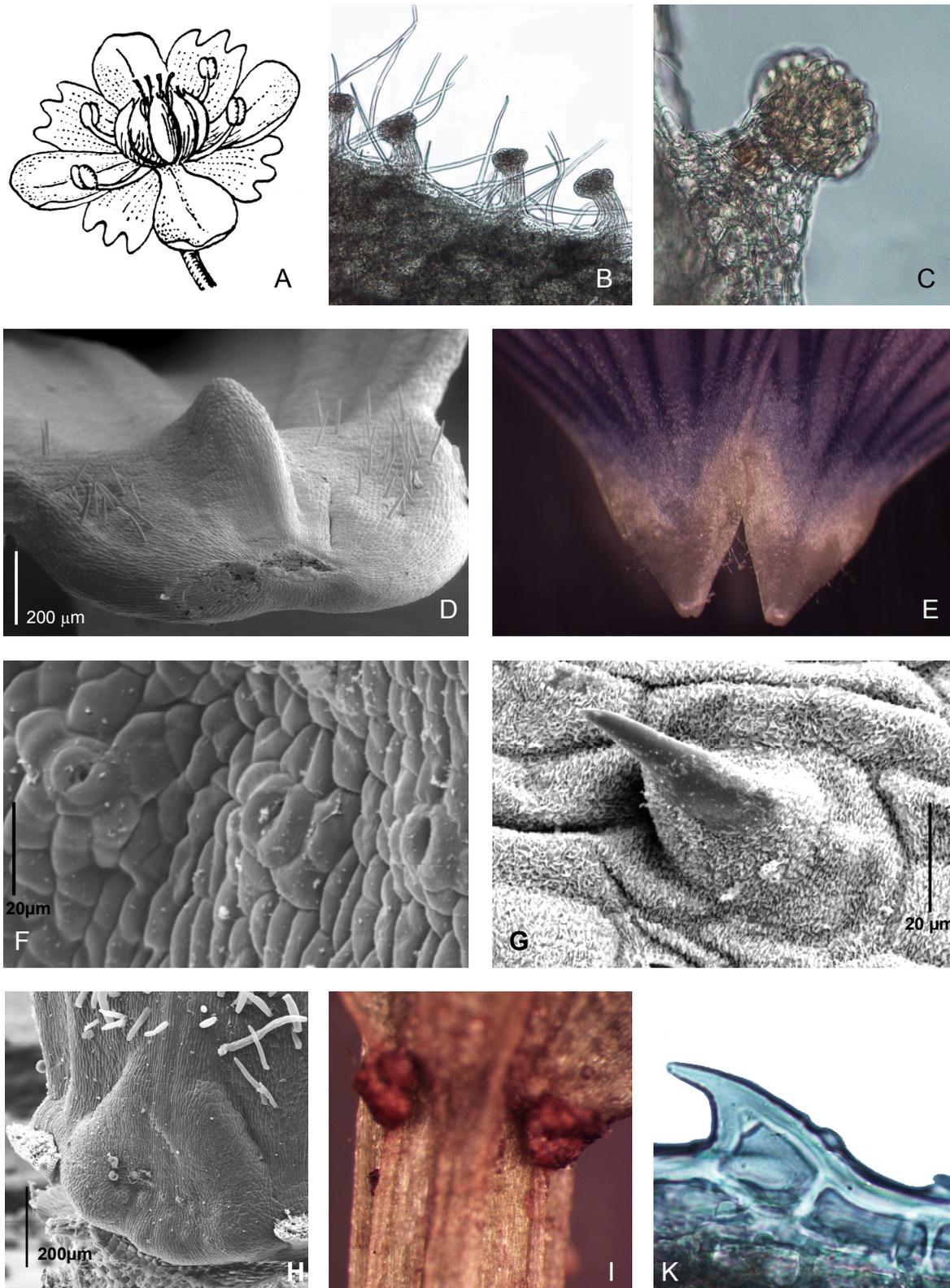
Betrachtet man die beiden Unterfamilien Hugonioideae und Linoideae, so ist lediglich die letztere eine natürliche Gruppe, die mit einem *Bootstrap*-Wert von 99 % (Abb. 2) unterstützt wird. Die Hugonioideae hingegen bilden keine monophyletische Einheit und stehen zusammen mit den Linoideae in einer basalen Trichotomie. Die MP-Rekonstruktion (Abb. 3) deutet eine sehr schwach gestützte Paraphylie der Hugonioideae im Verhältnis zu den Linoideae an (MP-BU 53 %). Diese Topologie entspricht der Auffassung von TAKHTAJAN (1997), welcher vermutet, dass die Linoideae aus den Hugonioideae entstanden sind.

Die Petalen der Gattungen *Hebepetalum* und *Hugonia* weisen eine Besonderheit auf. An der Rückseite der Blütenblätter entspringt ein Stielchen, so dass sie laut WINKLER (1931) mit einem peltaten Laubblatt zu vergleichen sind (Abb. 10 A). Eine solche Struktur ist bei den Vertretern der Linoideae nicht zu finden, allerdings können besondere Strukturen an der Basis der Blütenblätter bzw. am oberen Blütenblattrand des Nagels beobachtet werden. Viele Linoideae-Arten bilden eine Art Leiste, die sich in der Mitte des Nagels befindet und allmählich in den Mittelnerv des Petalums übergeht (Abb. 10 H, 11 D). Ebenso befindet sich eine besondere Struktur in der Übergangsregion von Platte und Nagel an den Rändern der Blütenblätter vieler altweltlicher Arten, die benachbarte Blütenblätter nach dem Nut und Feder Prinzip miteinander verbindet (Abb. 11 E). Durch diese Verbindung erhalten die Blüten der Linoideae einen glockigen Charakter. Die Gattung *Hesperolinon* weist an der Basis der Blütenblätter besondere Strukturen auf, die aus den zuvor erwähnten Merkmalen hervorgegangen sein könnten (Abb. 10 B, C, E, F & I). Für nähere Informationen bzgl. dieser Petalenanhängsel siehe vor allem SHARSMITH (1961).

Blütenmorphologisch betrachtet unterscheiden sich die beiden Unterfamilien im Besonderen durch die unterschiedliche Anzahl an Staubblättern. Die Hugonioideae zeichnen sich durch ein diplostemones Androeceum aus. Sie besitzen als plesiomorphes Merkmal zwei Kreise fertiler Staubblätter, während die Gattungen der Linoideae hingegen als Synapomorphie nur einen Kreis fertiler episeptaler Stamina aufweisen. In den meisten Arten der Linoideae können fünf Staminodien beobachtet werden, welche dem Staminaltubus zwischen den freien Filamenten entspringen (Abb. 12). Die genaue Identität dieser Strukturen wurde in der Literatur mehrfach diskutiert (u. a. URBAN 1877), aber nach den Entdeckungen von TAMMES (1918), die bei *Linum usitatissimum* an der Stelle dieser Zähnen Staubblätter mit Pollen gefüllten Antheren fand, wurde die Interpretation als Staminodien akzeptiert.

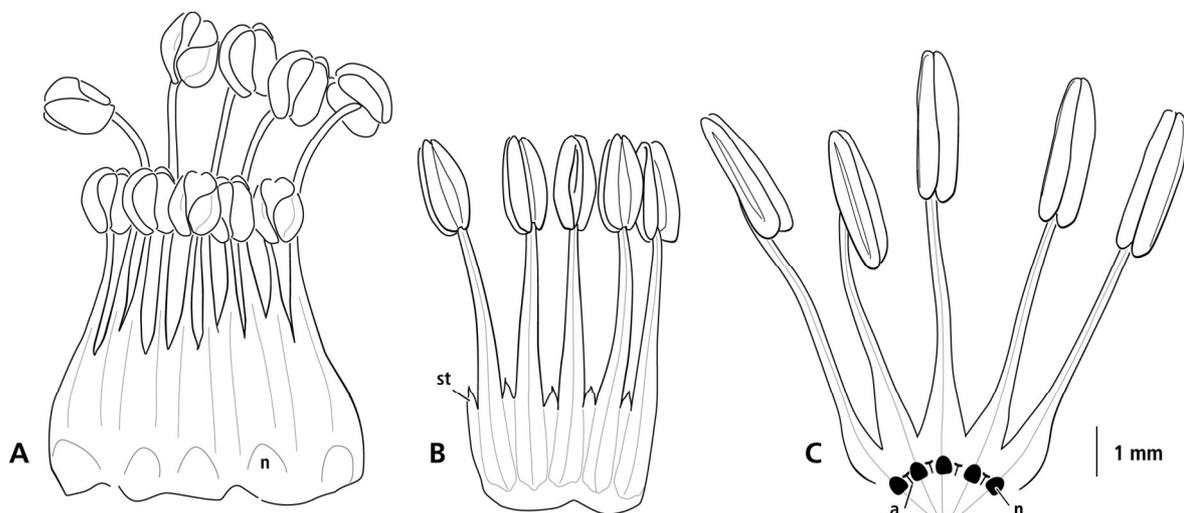


**Abb. 10:** Abbildung verschiedener Petalen bzw. Petalenbasen. A: *Hugonia* spec.; B: *Hesperolinon disjunctum*; C: *Hesperolinon micranthum*; D: *Linum rupestre*; E: *Hesperolinon* spec.; F: *Hesperolinon breweri*; G: *L. oligophyllum*; H: *L. grandiflorum*; I: *Hesperolinon bicarpellatum*; J – L: *L. kingii*. A aus LEINFELLNER (1955), B – L aus SHARSMITH (1961).



**Abb. 11:** A: *Radiola linoides* (aus WINKLER 1931); B: *Linum hirsutum*, Blattrand mit einzelligen Haaren und mehrzelligen Drüschuppen; C: *L. tenuifolium* L., Drüsenhaar am Rand der Sepalen; D: *L. c. f. flavum*, Leiste auf Petalenbasis (REM-Aufnahme); E: *L. perenne*, laterale Verknüpfung der Petalen nach Nut und Feder Prinzip; F: *L. perenne* Saftspalten in der Oberfläche der Nektarien (REM-Aufnahme); G: *L. strictum* L. Epidermispapille (Blatt, REM-Aufnahme); H: *L. perenne*, Nektarium (REM-Aufnahme); I: *L. flavum*, Stipulardrüsen; K: *L. tenuifolium*, Epidermispapille (Blatt).

Diese entsprechen somit dem inneren, epipetalen Staubblattkreis, welcher steril ist. Die Filamente einiger Linaceae weisen unterschiedlich lange Staubfäden auf. Während bei einigen *Linum*-Arten der Sektion *Dasylinum* innerhalb eines Kreises unterschiedliche Längen ausgebildet werden, ist in einigen Hugonioideae zu beobachten, dass einer der beiden Kreise längere bzw. kürzere Filamente ausbildet (Abb. 12). Inwiefern sich die Bemerkung WINKLERS (1931), dass die Filamente in den heutigen Hugonioideae ungleich lang seien, auf Unterschiede innerhalb oder zwischen den einzelnen Kreisen bezieht, ist leider unklar. Bestünden diese Unterschiede zwischen den Staubblattkreisen (Abb. 12), so wäre dies eventuell ein Hinweis auf Tristylie in den Hugonioideae (für nähere Informationen bzgl. Heterostylie siehe Abschnitt 3).



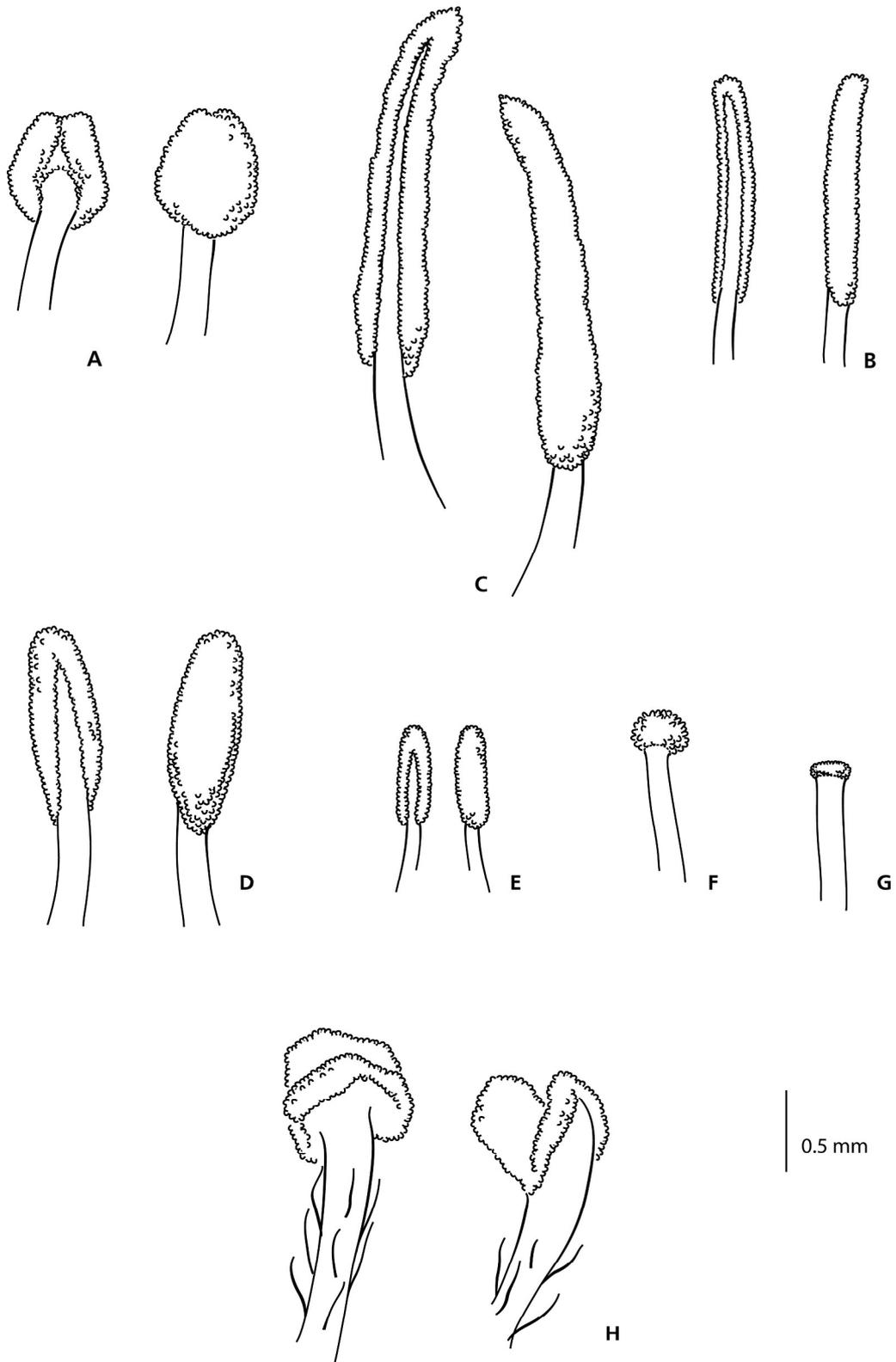
**Abb. 12:** Darstellung des Androeceums nach Freipräparation aus der Blüte. A: *Hugonia* spec.; B: *Linum flavum*; C: *L. kingii*. st = Staminodien, n = Nektarien, a = Ansatzstelle der Petalen.

Bei zahlreichen Arten der Hugonioideae (u. a. *Hebepetalum*, *Hugonia*) findet sich zuweilen ein Konnektivspitzchen an den Staubblättern, während eine solche Struktur in den Linoideae durchgehend fehlt.

Die Linaceae besitzen an der Basis des Staminaltubus Nektarien. Es handelt sich hierbei um lokal drüsig gewordene Filamentbasen der äußeren episepalen Stamina (LINK 1989). LINK (1989) beobachtete ferner, dass die Arten der Hugonioideae immer fünf Drüsen besitzen (Symplesiomorphie), während in den Linoideae sehr häufig eine Reduktion in der Anzahl zu beobachten ist. Ferner sind in den Gattungen *Indorouchera* und *Roucheria* die Drüsen unscharf begrenzt. Sie nehmen beinahe den

gesamten Staminaltubus ein (LINK 1989), während sie in den übrigen Gattungen eher lokal auf einen bestimmten Bereich begrenzt sind (Abb. 11 H).

Betrachtet man das Gynoeceum der Linaceae, so sind einige Unterschiede zwischen den Unterfamilien erkennbar. Während die Griffel in den Hugonioideae nur in wenigen Fällen eine äußerst kurze Verwachsung aufweisen, ist in vielen Linoideae eine Vereinigung (mit bis zu mehr als der Hälfte) zu beobachten (u. a. *Linum marginale* A. CUNN.). Aber auch freie Griffel sind in zahlreichen Arten der Linoideae zu beobachten (u. a. *L. tenuifolium* L.). Bezüglich der Form der Narben unterscheiden sich die beiden Unterfamilien deutlich. Während in den Hugonioideae stets scheibenförmige Narben mit einer Vertiefung bzw. Zweilappung zu beobachten sind, zeigen die Linoideae eine erstaunliche Diversität von unscheinbar kopfig, über keulig bis hin zu länglichen Formen (Abb. 13). Das Ovar ist in den Linaceae meist 5-zählig, jedoch kann Reduktion in beiden Unterfamilien beobachtet werden. Die Ausbildung von sogenannten falschen Scheidewänden wird hingegen nur in den Linoideae beobachtet (WINKLER 1931). Während die Linoideae in der Regel Kapseln ausbilden, sind für die Hugonioideae Steinfrüchte typisch (DRESSLER *et al.* in Druck). Die Monophylie der Linoideae in den phylogenetischen Rekonstruktionen (Abb. 2, 3 & 4) kann durch zahlreiche morphologische Merkmale gestützt werden. So unterscheiden sie sich von den Hugonioideae u. a. durch die Fünfzähligkeit des Androeceums, die Form der Narben und das Vorhandensein von Kapsel Früchten. Auch die Hugonioideae zeichnen sich durch eine Reihe von Gemeinsamkeiten aus, wie den Besitz eines 10-zähligen Androeceums, zweilappige Narben und der Ausbildung von Steinfrüchten. Ob es sich bei den beiden Unterfamilien der Linaceae um Schwestergruppen handelt oder ob die Hugonioideae paraphyletisch im Verhältnis zu den Linoideae sind, kann abschließend nicht geklärt werden. Zum einen deuten die molekularen Ergebnisse eine paraphyletische Beziehung nur sehr vage an (keine bis sehr geringe *Bootstrap*-Unterstützung) und zum anderen sind umfangreichere, morphologische und molekularbiologische Untersuchungen von Nöten, um die Beziehung der Unterfamilien zueinander besser beurteilen zu können. Gerade in Bezug auf die Hugonioideae wäre es wichtig, weitere Arten in eine Untersuchung einzuschließen.



**Abb. 13:** Narbenformen verschiedener Linaceae. A: *Linum perenne* (Sekt. *Linum*, 'Linum I'); B: *L. usitatissimum* (Sekt. *Linum*, 'Linum II'); C: *L. hirsutum* (Sekt. *Dasylinum*); D: *L. flavum* (Sekt. *Syllinum*); E: *L. maritimum* L. (Sekt. *Linopsis*, Untersekt. *Halolinum*); F: *L. tenuifolium* (Sekt. *Linopsis*, Subsekt. *Dichrolinum*); G: *L. kingii* (Sekt. *Linopsis*, Untersekt. *Linopsis*); H: *Hugonia* spec. (Hugonioideae). Maßstab = 0,5 mm.

### 3.4.3 Intergenerische Beziehungen innerhalb der Linoideae

#### 3.4.3.1 *Anisadenia* / *Reinwardtia* / *Tirpitzia*

Aktuell werden in den Linoideae auf Grund von morphologischen Merkmalen acht Gattungen unterschieden: *Anisadenia*, *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Linum*, *Radiola*, *Reinwardtia*, *Sclerolinon* und *Tirpitzia*. *Linum* ist mit etwa 180 Arten, die bei weitem größte Gattung, gefolgt von *Hesperolinon* mit 13 Arten, während die übrigen Gattungen monotypisch sind oder lediglich zwei bis drei Arten umfassen. Betrachtet man die Lage dieser Gattungen in den verschiedenen molekularphylogenetischen Rekonstruktionen, so fällt auf, dass sich die asiatisch verbreiteten Gattungen *Anisadenia*, *Reinwardtia* und *Tirpitzia* basal in einer Polytomie abspalten (Abb. 3 & 4). Nach TAKHTAJAN (1996), stellen *Tirpitzia* und *Reinwardtia* die ursprünglichsten Gattungen der Linoideae dar. Dies begründet er unter anderem durch den holzigen Wuchs dieser beiden Gattungen, der in der Regel als ursprünglicher Zustand angesehen wird. Auch die Vertreter der Hugonioideae sind durchweg perennierend und zeichnen sich durch die Ausbildung von Sträuchern und seltener Bäumen (*Indorouchera contestiana* HALLIER F.) aus. Die Linoideae hingegen sind meist krautig. Eine holzige Wuchsform ist somit in den Linaceae als Plesiomorphie zu deuten. Eine weitere Gemeinsamkeit der in den Linoideae basal abspaltenden Gattungen (*Anisadenia*, *Reinwardtia*, *Tirpitzia*) und den Hugonioideae ist das Vorhandensein von gestielten Blättern und blattartigen Stipeln (Plesiomorphie, Abb. 24). In den übrigen Gattungen der Linoideae sind die Blätter stets sitzend und die Nebenblätter sind zu bräunlichen, als Stipulardrüsen bezeichneten, Gebilden reduziert oder fehlen (Abb. 11 I & 24).

Betrachtet man die Petalen der Linoideae, so fällt auf, dass der Großteil der Arten eine mehr oder weniger deutliche Gliederung in Nagel und Platte (Abb. 10 H) zeigt. In *Reinwardtia*, *Tirpitzia* und *Anisadenia* sind besonders lange Nägel zu beobachten, was durch die zusätzliche Verklebung der Petalen zur Ausbildung typischer Stieltellerblüten führt.

Auffallend ist, dass in diesen drei Gattungen die Zahl der Karpelle reduziert ist, *Anisadenia* besitzt drei Karpelle, bei *Tirpitzia* finden sich vier oder fünf und bei *Reinwardtia* sind es drei, seltener vier (Abb. 26). Diese Art der Reduktion ist interessanterweise auch in den abgeleiteten Gattungen *Hesperolinon* und

*Sclerolinon* zu beobachten (Abb. 26). Dies kann somit als Plesiomorphie der Linoideae oder als mehrfach unabhängig entstandene Autapomorphie gedeutet werden.

*Anisadenia* wurde von WINKLER (1931) auf Grund von morphologischen Merkmalen in eine eigenständige Tribus (Linoideae-Anisadenieae) platziert. Als Autapomorphie dieser Gattung fallen besonders die traubigen Infloreszenzen und die ein bis zwei Reihen drüsiger Emergenzen auf den Sepalen auf. Ähnliche Drüsenhaare sind ebenfalls in *Linum* Sektion *Dasylinum* an Sprossachse, Blättern und Sepalen zu beobachten (Abb. 11 B, C). Bezüglich der Fruchtmorphologie zeichnet sich *Anisadenia* mit einer einsamigen Nuss als einzigartig für die Linoideae aus. Zwei der drei Lokulamente verkümmern und nur eine der zwei Samenanlagen in dem voll entwickelten Lokulament bildet einen Samen. Inwiefern diese Frucht den bei den Hugonioideae zu beobachtenden Steinfrüchten ähnelt, konnte aus Mangel an Material nicht geklärt werden. Eine eigenständige Tribus für *Anisadenia* scheint trotz der morphologischen Besonderheiten nicht gerechtfertigt, da wie bereits erwähnt die morphologischen Gemeinsamkeiten zwischen *Anisadenia* und den übrigen Vertretern der Linaceae deutlich überwiegen und eine Sonderstellung dieser Gattung nicht sinnvoll erscheint.

Die Ergebnisse der ML-Analyse (Abb. 4) deuten eine sukzessive Abspaltung der Gattungen *Anisadenia*, *Reinwardtia* und *Tirpitzia* an (ML-BU < 50 %). Aufgrund der morphologischen Merkmale lässt sich diese Reihenfolge nicht bestätigen. Lediglich die Frucht von *Anisadenia* deutet, wie bereits erwähnt, eventuell auf eine Verbindung zu den Hugonioideae hin.

#### **3.4.3.2 *Cliococca* / *Hesperolinon* / *Linum* / *Radiola* / *Sclerolinon***

Die Gattung *Linum* ist paraphyletisch in Bezug zu *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Radiola* und *Sclerolinon*. Zwar weisen die verschiedenen phylogenetischen Rekonstruktionen (Abb. 3 & 4) darauf hin, dass diese fünf Gattungen eine monophyletische Gruppe bilden, eine schwache *Bootstrap*-Unterstützung zur Absicherung dieses Astes konnte jedoch lediglich in der ML-Analyse gefunden werden (ML-BU 67 %). Betrachtet man die morphologischen Merkmale, so findet sich eine Reihe von Gemeinsamkeiten, welche die Monophylie dieser Gruppe, die im Folgenden als *Linum* s. l. bezeichnet wird, unterstützt. Die Blätter dieser Arten sind sitzend, weisen wie bereits erwähnt keine blattartigen Stipeln auf und die Blattstellung ist in der Regel wechselständig.

Die Infloreszenzen sind cymös, die Blütenorgankreise meist fünfzählig und die Petalen weisen sehr häufig eine Teilung in Nagel und Platte auf, wobei die Länge des Nagels in den Arten der Gattung *Linum* s. l. nie die der Gattungen *Anisadenia*, *Tirpitzia* und *Reinwardtia* erreicht.

Zurzeit wird *Linum* s. str. (ausschließlich Vertreter der Gattung *Linum*) aufgrund von morphologischen Merkmalen in fünf Sektionen (*Cathartolinum*, *Dasylinum*, *Linopsis*, *Linum* und *Syllinum*) unterteilt.

Betrachtet man die Ergebnisse der *rbcL*-Untersuchung (Abb. 3 & 4), so lässt sich *Linum* s. l. in zwei gut unterstützte Gruppen gliedern, zum einen in die blau- bis rosablühenden Arten der Sektionen *Linum* und *Dasylinum* ('Blaue Gruppe') und zum anderen in die überwiegend gelbblühenden Arten der Sektionen *Cathartolinum*, *Linopsis*, *Syllinum* inklusive *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Radiola* und *Sclerolinon* ('Gelbe Gruppe'). Diese beiden Gruppen unterscheiden sich jedoch nicht nur bezüglich der Färbung der Petalen. Die 'Blaue Gruppe' zeichnet sich zum Beispiel durch ein Fehlen von Stipulardrüsen aus und auch die den Blatträndern und Mittelnerven entspringenden Leisten, die entlang der Sprossachse verlaufen, können in diesen Arten nicht oder nur selten beobachtet werden. Beide Strukturen sind in zahlreichen Vertretern der 'Gelben Gruppe' vorhanden. Ein weiteres Charakteristikum vor allem bei neuweltlichen und südafrikanischen Vertretern der 'Gelben Gruppe' ist ein Wechsel in der Blattstellung. Viele Arten zeigen basal eine gegenständige Beblätterung die im Verlauf der Sprossachse in eine wechselständige übergeht (z. B. *Linum africanum* L.).

Angesichts der Rekonstruktion in Abbildung 4 wird deutlich, dass nicht alle Sektionen der Gattung *Linum* monophyletische Gruppen darstellen. Die Sektion *Syllinum* lässt sich zwar auf einen gemeinsamen Vorfahren zurückführen, liegt aber ebenso wie die monotypische Sektion *Cathartolinum*, in der paraphyletischen Sektion *Linopsis*. Folgt man dem Bestreben, dass Sektionen monophyletische Einheiten bilden, würde dies eine Umstrukturierung der Gattung *Linum* und ihrer Sektionen fordern. Die momentane Einteilung der Gattung *Linum* sowie eine mögliche Integration der Gattungen *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Radiola* und *Sclerolinon* soll im Folgenden diskutiert werden.

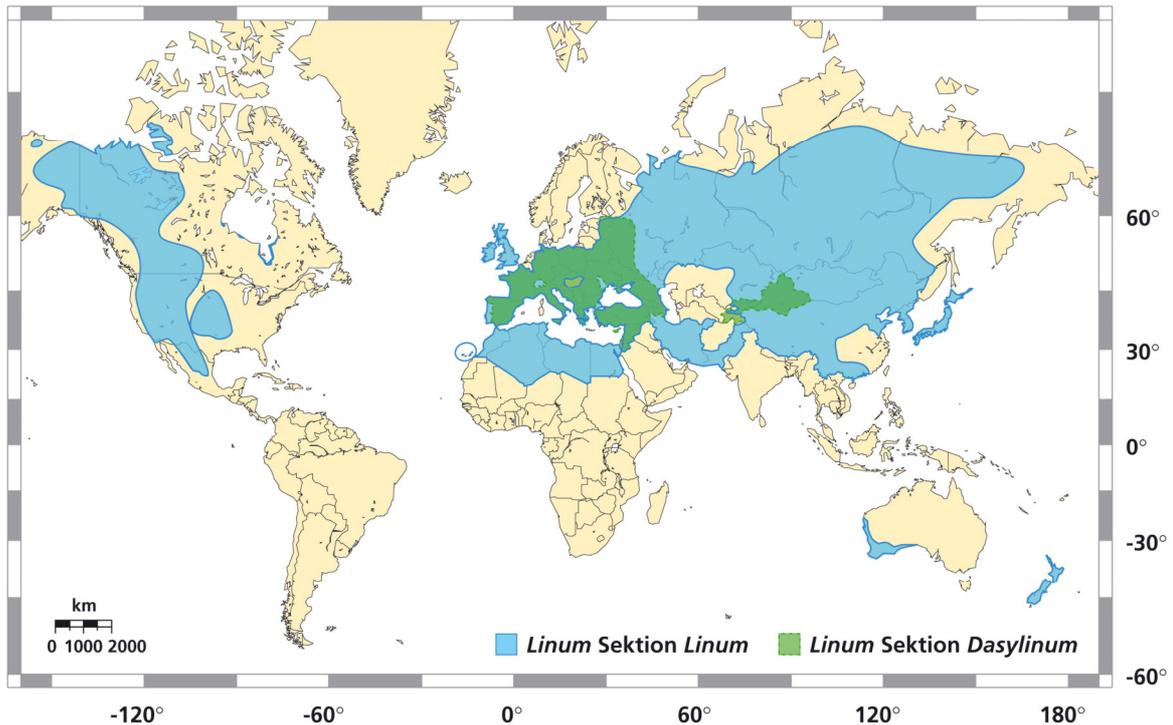
### 3.4.3.2.1 Sektion *Linum* (= Sekt. *Eulinum* GRISEB.)

Die Sektion *Linum* umfasst etwa 50 Arten, von denen in der vorliegenden Arbeit 19 berücksichtigt wurden. In allen molekularen Phylogenien bilden die Vertreter dieser Sektion mit Ausnahme von *Linum stelleroides* PLANCH. eine monophyletische Gruppe. Die genaue Position von *L. stelleroides* kann auf Grundlage der Rekonstruktion des *rbcl*-Datensatzes (Abb. 3 & 4) nicht genau bestimmt werden. Sie resultiert entweder als Schwester zur Sektion *Dasylinum* (Abb. 4) oder steht mit den übrigen Vertretern der Sektionen *Linum* und *Dasylinum* in einer Polytomie (Abb. 3). Gemeinsam sind den Arten der Sektion *Linum* die schmalen, lanzettlichen Blätter (Abb. 14), das Fehlen von Stipulardrüsen und Flügelleisten, sowie die oft lebhaft blaue Farbe der Petalen. Innerhalb dieser Sektion liegen zwei gut unterstützte Gruppen vor, '*Linum* I' (MP-BU & ML-BU 100 %) und '*Linum* II' (MP-BU 98 %, ML-BU 95 %; Abb. 5 & 6). Morphologisch können diese beiden nur durch wenige Merkmale, wie die Form bzw. Beschaffenheit der Narbe und der Sepalen, voneinander abgegrenzt werden. Die Arten der Gruppe '*Linum* I' besitzen meist kopfige Stigmata, während die Vertreter der Gruppe '*Linum* II' durch längliche Narben charakterisiert sind. Ausnahme ist hier der Ast bestehend aus *Linum aroanium*, *L. bungei* und *L. nervosum*. Diese Arten besitzen durchweg längliche Stigmata (Abb. 13 & 27). Betrachtet man die Kelchblätter, so fällt auf, dass die Arten von '*Linum* II' hautrandige Sepalen mit einer deutlichen Zerschlitzung aufweisen, während die Taxa der anderen Gruppe ganzrandige Sepalen besitzen (Abb. 16). Ferner beträgt die Basischromosomenzahl in '*Linum* I'  $n = 9$ . Der größte Teil dieser Arten ist diploid, allerdings werden in *Linum perenne* L. zwei tetraploide Unterarten (*L. perenne* subsp. *anglicum* (MILL) OCKENDON und *L. perenne* subsp. *montanum* (DC.) OCKENDON) beobachtet (OCKENDON 1968). Auch in den Arten *Linum nervosum* mit  $2n = 54$  (PETROVA 1972) und *L. aroanium* mit  $2n = 36$  (MUGNIER 1981) ist es zu Polyploidisierung gekommen. '*Linum* II' zeigt keine einheitliche Basischromosomenzahl; hier variieren die Angaben von  $2n = 16$  für *L. grandiflorum* (u. a. KIKUCHI 1929) bis zu  $2n = 84$  für *L. monogynum* G. FORST. (HAIR & BEUZENBERG 1959). Die Vertreter der Sektion *Linum* sind bis auf fünf Arten altweltlich verbreitet. Drei der Arten (*L. lewisii* PURSH, *L. pratense* SMALL und *L. rzedowskii* ARREGUÍN) kommen ausschließlich in Nordamerika vor, während *L. monogynum* in Neuseeland und *L. marginale* in Australien beheimatet sind (Abb. 15).



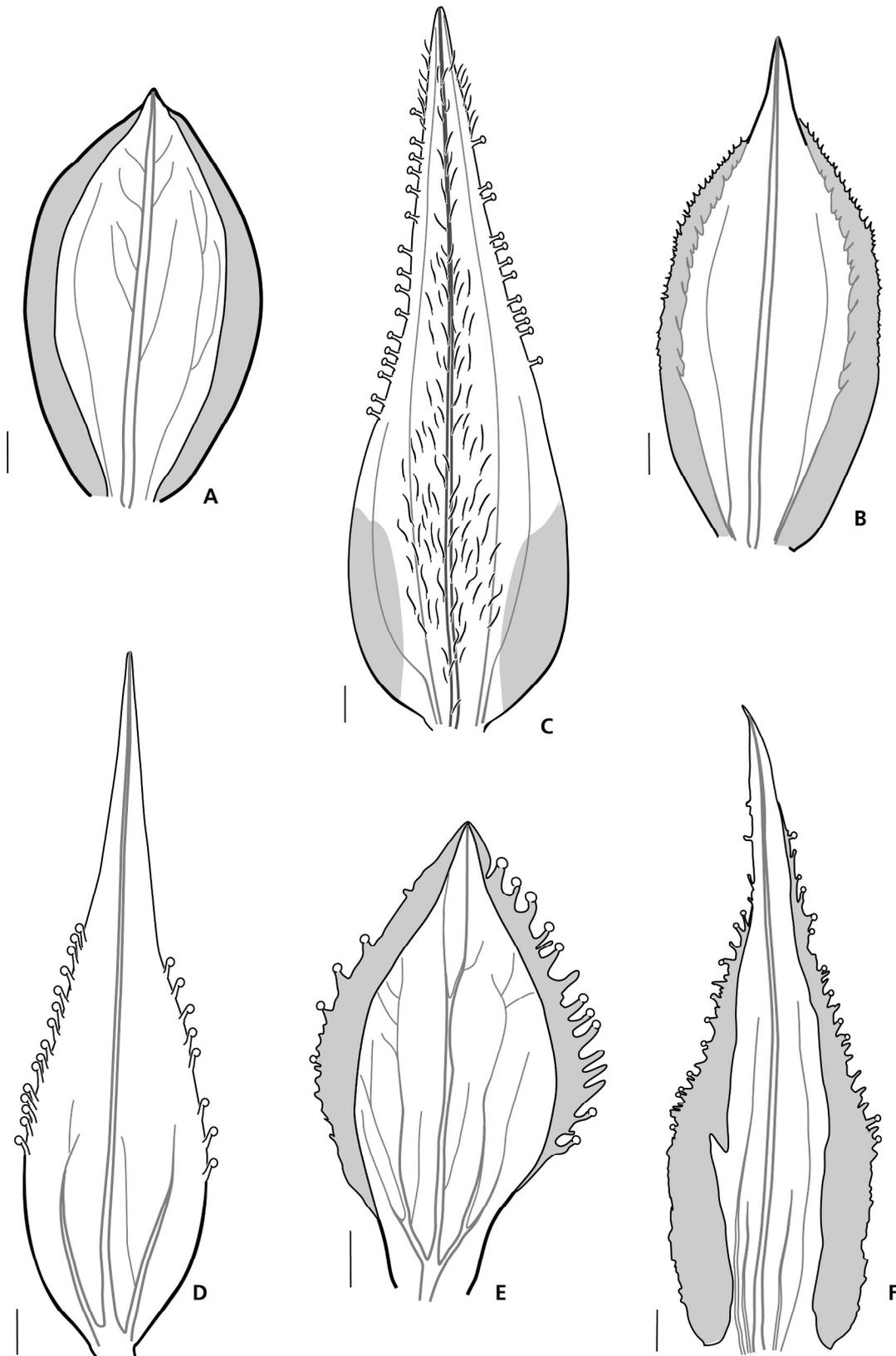
**Abb. 14:** Zeichnung von *Linum perenne* L. (Sektion *Linum*) angefertigt von L. KLÖCKNER anhand von Lebendmaterial vom Standort Gemarkungsgrenze Pfungstadt / Darmstadt. Links: Habitus, rechts oben: Frucht, rechts unten: Ausschnitt aus der Infloreszenz.

Inwiefern die als '*Linum* I' bezeichneten Arten mit der in der Literatur (OCKENDON 1968, 1971) als *Linum perenne* Gruppe bezeichneten Einheit übereinstimmt ist nicht genau zu sagen, da die vorliegenden Umschreibungen dieser Gruppe recht ungenau sind und häufig lediglich die kopfige Narbenform ansprechen. In diesem Fall würden zur *Linum perenne* Gruppe alle Arten der Klade '*Linum* I', außer *Linum aroanium*, *L. bungei* und *L. nervosum*, zählen.



**Abb. 15:** Verbreitungskarte der Sektionen *Dasylinum* und *Linum*.

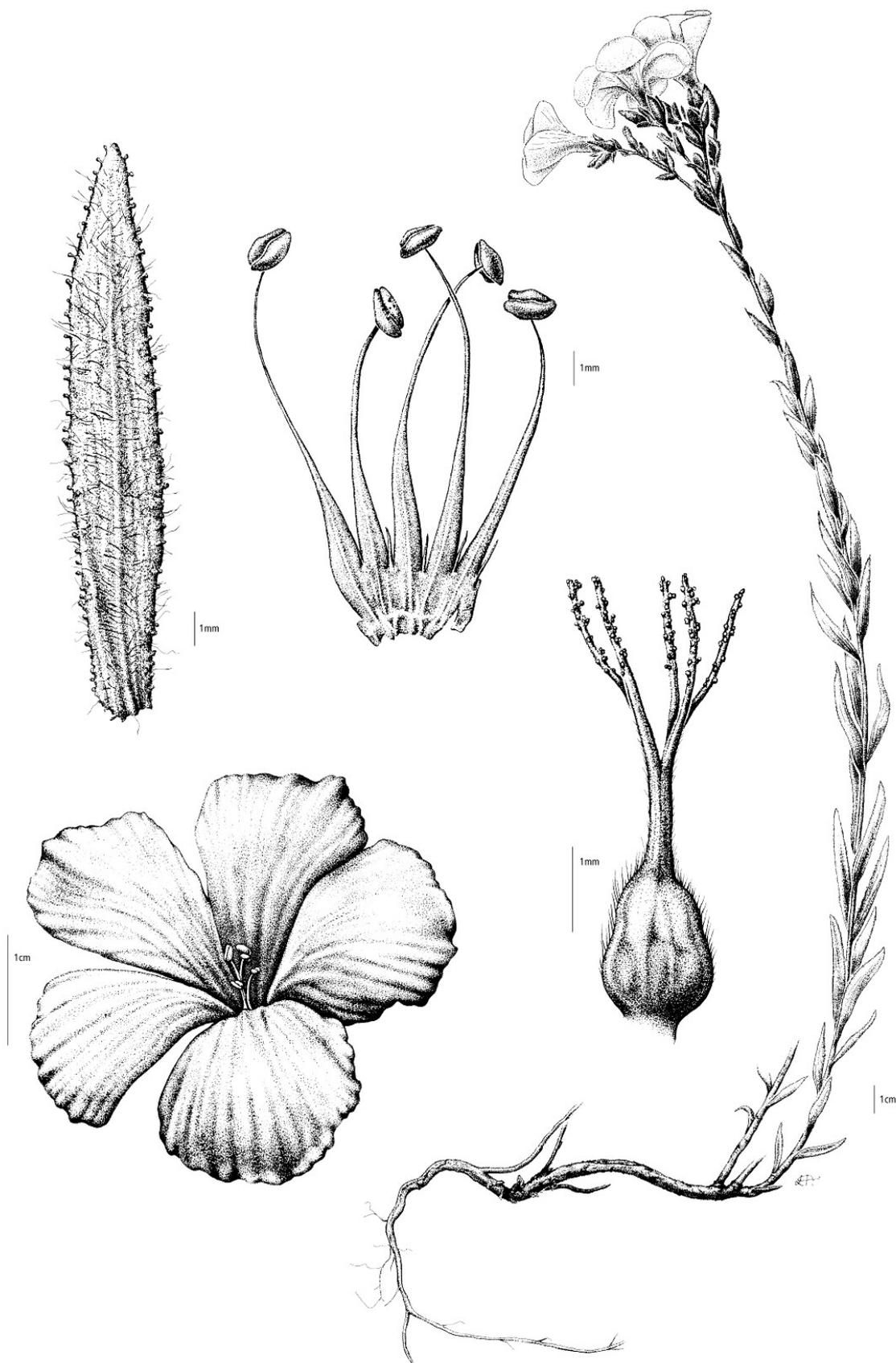
In die Sektion *Linum* fällt auch die eingangs erwähnte Kulturpflanze *Linum usitatissimum*. In der Literatur wurde der Ursprung dieser Art vielfach diskutiert, wobei schon HEER 1872, ebenso wie später ZOHARY (1999) *L. bienne* MILL. (*L. angustifolium* HUDS.) als wahrscheinlichste Wildpflanze annahmen. Eine RAPD-Studie mit sieben Arten der Sektion *Linum* (FU *et al.* 2002) sowie die vorliegende molekulare Untersuchung unterstützen ein Schwesterverhältnis beider Arten (MP-BU & ML-BU 100 %; Abb. 5 & 6).



**Abb. 16:** Darstellung der Sepalen verschiedener Linoideae. A: *Linum perenne* (Sekt. *Linum*, 'Linum I'), B: *L. usitatissimum* (Sekt. *Linum*, 'Linum II'), C: *L. hirsutum* (Sekt. *Dasylinum*), D: *L. tenuifolium* (Sekt. *Linopsis*, Untersekt. *Dichrolinum*), E: *L. kingii* (Sekt. *Linopsis*, Untersekt. *Linopsis*), F: *L. flavum* (Sekt. *Syllinum*). Maßstab = 1mm. Gezeichnet von D. FRANKE.

### 3.4.3.2.2 Sektion *Dasylinum* (PLANCH) JUZ.

*Dasylinum* ist eine Sektion der Gattung *Linum*, die etwa 20 verschiedene Arten umfasst, von welchen in der vorliegenden Arbeit fünf analysiert wurden. Diese Sektion stellt nicht nur morphologisch eine gut abgegrenzte Gruppe dar, sondern auch in den verschiedenen molekularen Untersuchungen wird die Monophylie dieser Arten mit einer sehr guten Unterstützung von 100 % in allen Analysen bestätigt (Abb. 5 & 6). Die meisten Arten dieser Sektion sind mehrjährig und zeigen eine deutliche Behaarung. Die Blätter sind wechselständig angeordnet, zuweilen recht breit und weisen basal keine Stipulardrüsen auf. Weder an den Blatträndern noch an den Mittelnerven der Blätter entspringen Flügelleisten. Die Sprossachsen sind somit mehr oder weniger stielrund. Die Sepalen weisen zwar eine Nervatur auf, diese ist aber nicht auf der Unterseite hervortretend, wodurch eine Kielung der Kelchblätter unterbleibt. Die Farbe der recht großen Petalen (sie können in *Linum hirsutum* eine Länge von bis zu 38 mm erlangen, Abb. 17) reicht von einem verwaschenen Blau-Lila bis zu einem leuchtenden Pink. Die Narben sind länglich und gehen allmählich in die Griffel über (Abb. 13 C). Die Monophylie kann ferner durch den Besitz von Drüsenhaaren im vegetativen Bereich gestützt werden. Diese sind stets aus einem mehrzelligen kugeligen Köpfchen und einem langen mehrzelligen Stiel aufgebaut (Abb. 11 B). Neben diesen Emergenzen besitzen die Arten dieser Gruppe in der Regel zahlreiche lange, einzellige Haare. Die Chromosomenzahlen der Arten, die aus diesem Verwandtschaftskreis in der Vergangenheit untersucht wurden, betragen durchgehend  $2n = 16$  (RAY 1944, PETROVA 1972). Die Sektion *Dasylinum* ist altweltlich verbreitet. Sie kommt jedoch in zwei disjunkten Arealen vor und weist einen Verbreitungsschwerpunkt in Südeuropa und Südwestasien auf (Abb. 15). Der größte Teil der Arten ist auf das westliche Verbreitungsgebiet dieser Sektion beschränkt, während *L. heterosepalum* REGEL und *L. olgae* JUZ. lediglich im östlichen Areal beobachtet werden. Auch morphologisch lassen sich diese beiden Arten von den übrigen unterscheiden: sie sind kahl und besitzen ungleich große Sepalen und kopfige Narben. YUZEPCCHUK (1974) ordnete sie aufgrund dieser beiden Merkmale in eine eigene Sektion, *Macrantholinum* JUZ, ein. Ob eine Ausgliederung dieser beiden Arten gerechtfertigt ist, bedarf einer weiteren Untersuchung, da diese beiden Arten in dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden konnten.



**Abb. 17:** Zeichnung von *Linum hirsutum* aus der Sektion *Dasylinum* (Blatt, Androeceum, Blüte, Gynoeceum, Habitus). Zeichnung: D. FRANKE (FURSE & SYNGE, 856, K; TEDD, 38L, K).

### 3.4.3.2.3 *Linum stelleroides* PLANCH.

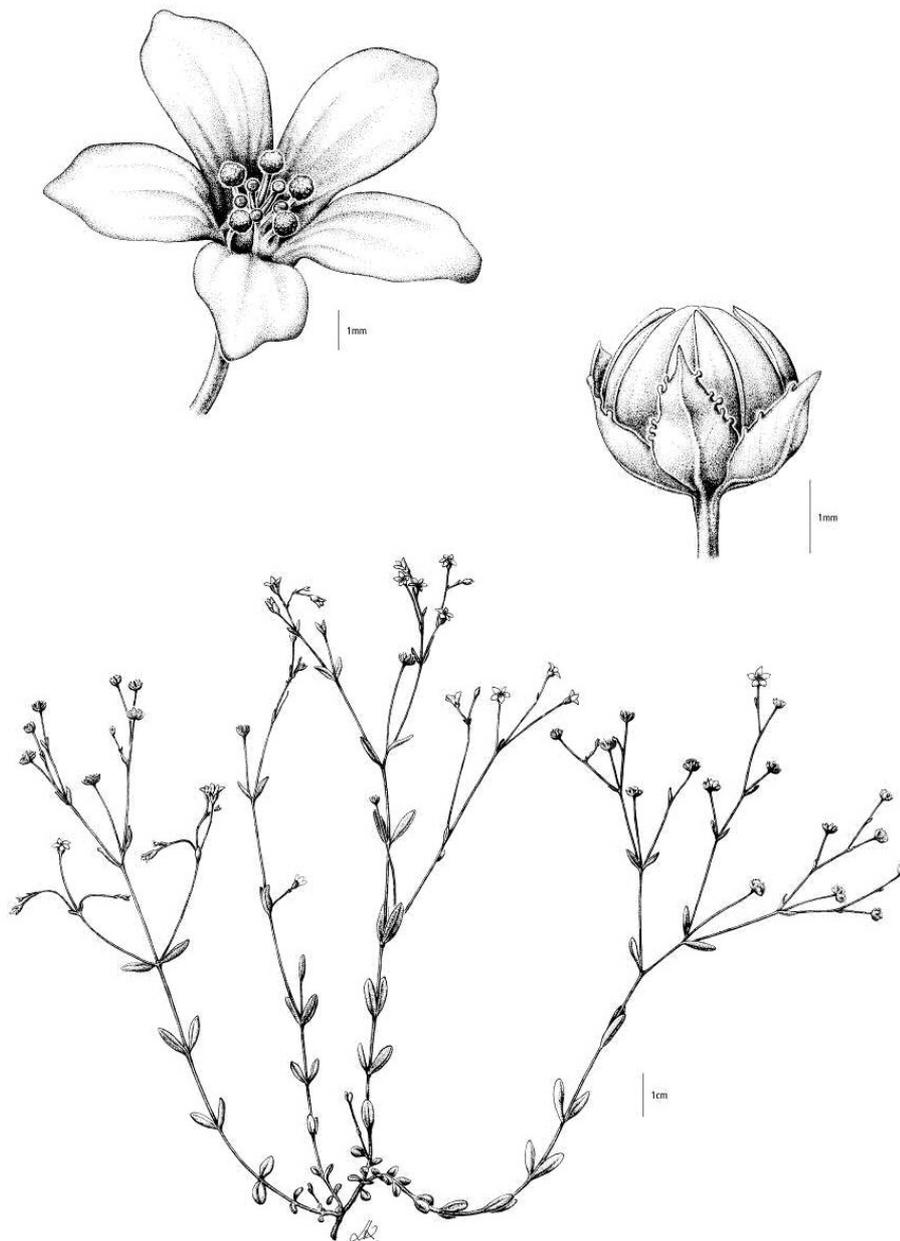
Die bereits erwähnte, ausschließlich in China vorkommende, *Linum stelleroides*, lässt sich molekularphylogenetisch nicht eindeutig der Sektion *Linum* zuordnen (Abb. 3 & 4). Morphologisch zeigt sie sowohl Gemeinsamkeiten mit '*Linum* I' (kopfige Narben) als auch mit '*Linum* II' (Drüsen an den Rändern der Sepalen). In den phylogenetischen Rekonstruktionen (Abb. 4) wird eine Beziehung von *L. stelleroides* zu den Arten der Sektion *Dasylinum* angedeutet, die morphologisch durchaus einige Bestätigung findet, wenn man die Besonderheiten von *L. heterosepalum* und *L. olgae* mit einbezieht, die in der vorliegenden molekularen Arbeit nicht berücksichtigt sind. Diese beiden Arten besitzen, ebenso wie *L. stelleroides*, kopfige Narben, pantoporate Pollenkörner und zeigen keinerlei Behaarung auf. Multiporate Pollenkörner werden innerhalb der Sektion *Linum* lediglich in den Arten *L. marginale*, *L. monogynum* und *L. hologynum* RCHB. beobachtet. Besonders auffallend ist die Chromosomenzahl von  $2n = 20$  in *L. stelleroides* (QUANRU & ZHOU 2008), die bisher weder in Vertretern der Sektion *Linum* noch der Sektion *Dasylinum* beobachtet wurde. Aufgrund der zytologischen und morphologischen Sonderstellung dieser Art führte bereits YUZEPCHUK (1974) die monotypische Sektion *Stellerolinum* JUZ. ein. ROGERS (1972) befürwortete eine eigene Sektion nicht nur aus morphologischer, sondern auch aus chemotaxonomischer Sicht, aufgrund des Gehaltes an Linolen- und Linolsäure.

Um die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen *Linum stelleroides* und den östlich vorkommenden Arten der Sektion *Dasylinum* (Sektion *Macrantholinum*) bzw. den übrigen Vertretern der Sektionen *Dasylinum* und *Linum* besser beurteilen zu können, bedarf es weiterer Untersuchungen, wie z. B. dem Einschluss von *L. heterosepalum* und *L. olgae* in molekularphylogenetische Analysen.

### 3.4.3.2.4 Sektion *Cathartolinum* (RCHB.) GRISEB.

Sektion *Cathartolinum* ist die einzige monotypische Sektion innerhalb der Gattung *Linum*. *Linum catharticum* grenzt sich von den übrigen Arten besonders durch die in *Linum* eher selten vorkommende durchgehend gegenständige Beblätterung und die kleinen (4-5 mm) weißen Blüten ab (Abb. 18). Eine besondere morphologische Ähnlichkeit zu den Arten *L. maritimum* L., *L. tenue* DESF. und *L. trigynum* L. der Sektion *Linopsis* Untersektion *Halolinum*, die nach der molekularen Rekonstruktion evtl. am nächsten mit *L. catharticum* verwandt sein könnten, wurde nicht gefunden

(Abb. 7 & 8). Die Chromosomenzahl von  $n = 8$  (u. a. HARRIS 1968, PETROVA 1972) bzw.  $2n \geq 57$  (MARTZENITZINA 1927, KIKUCHI 1929) weicht ebenso von der anderer europäischer Vertreter ab (Abb. 28). *Linum catharticum* ist vor allem altweltlich verbreitet, die neuweltlichen Vorkommen beruhen nach ROGERS (1984) wahrscheinlich auf einer jungen Einführung in das nordöstliche Nordamerika.



**Abb. 18:** Zeichnung von *Linum catharticum* L. (Sektion *Cathartolinum*). Oben links: Blüte, Mitte: Frucht, unten: Habitus. Zeichnung: L. KLÖCKNER (REPPLINGER, MR45, MJG).

### 3.4.3.2.5 Sektion *Syllinum* GRISEB.

Diese etwa 30 Arten umfassende Sektion, von deren zwölf in der vorliegenden Arbeit berücksichtigt wurden, stellt in allen molekularphylogenetischen Rekonstruktionen (Abb. 7 & 8) eine gut gestützte (MP-BU & ML-BU 100%) mono-phyletische Gruppe dar. Die Sektion *Syllinum* besteht vorwiegend aus perennierenden Arten. Mit wenigen Ausnahmen (u. a. *Linum pallasianum* SCHULT.) sind diese Arten kahl. Einige Arten weisen basal Blattrosetten auf und das Vorkommen von zahlreichen sterilen Sprossachsen ist nicht selten (DAVIS 1967). Die Blätter sind wechselständig, unterschiedlich geformt und im Vergleich zu den übrigen gelbblühenden Vertretern dieser Gattung recht breit und groß (Abb. 19). Die Mehrzahl der Arten weist Stipulardrüsen auf. Auffallend sind die Flügelleisten der Sprossachsen, die an den Blatträndern bzw. dem Blattmittelnerv entspringen (Abb. 11 I). Diese Leisten können je nach Art unterschiedlich stark ausgebildet sein. Die Sepalen weisen auch in dieser Sektion gefranste, oft häutige Ränder auf, die mehr oder weniger mit Drüsen besetzt sind (Abb. 16 F). Der Mittelnerv der Sepalen tritt meist deutlich auf der Unterseite hervor, wodurch die Sepalen als gekielt bezeichnet werden können. Mit Ausnahme der violetten *L. hellenicum* IATROÚ weisen alle Vertreter dieser Sektion eine leuchtend gelbe oder weiße Farbe der recht großen Petalen auf, die im Bereich der Nägel postgenital miteinander verklebt sind. Die Narben sind bei allen Arten dieser Gruppe länglich und gehen allmählich in den Griffel über (Abb. 13). Von den bisher untersuchten Arten ist lediglich *L. nodiflorum* homostyl.

Die meisten untersuchten Arten besitzen einen Chromosomensatz von  $2n = 28$  (RAY 1944), allerdings wurden in der Literatur auch davon abweichende Angaben gefunden: *Linum flavum* mit  $2n = 30$  (MARTZENITZINA 1927, RAY 1944) bzw. evtl.  $2n = 32$  (KIKUCHI 1929) und für *L. nodiflorum* L.  $2n = 24$  (MUGNIER 1981) bzw.  $2n = 26$  (PETROVA 1972).

Die Sektion *Syllinum* besitzt einen Verbreitungsschwerpunkt vom Mittelmeerraum bis nach Südwestasien (Abb. 20).



**Abb. 19:** Zeichnung von *Linum dolomiticum* (Sektion *Syllinum*). Oben links: Habitus, oben rechts: Frucht, unten (von links nach rechts): Petalum, Androeceum, Gynoeceum, äußeres Sepalum, inneres Sepalum, basales Blatt. Zeichnung: D. FRANKE (DEGEN, 3617, B; DEGEN, 3617, C).

### 3.4.3.2.6 Sektion *Linopsis* (PLANCH.) ENGELM.

Die Sektion *Linopsis* ist die am weitesten verbreitete und mit etwa 90 Arten die größte Sektion der Gattung *Linum*. ROGERS (1982) unterteilt die Sektion *Linopsis* in fünf Untersektionen (Tab. 8): *Dichrolinum* (PLANCH.) C. M. ROGERS, *Halolinum* (PLANCH.) C. M. ROGERS, *Keniense* C. M. ROGERS, *Linopsis* (RCHB.) C. M. ROGERS und *Rigida* (SMALL) C. M. ROGERS. Die Untersektion *Keniense* besteht lediglich aus einer Art, *Linum keniense*, welche in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt werden konnte. Die Art fällt aufgrund ihrer Vierzähligkeit in den Blütenorganen auf, welche lediglich in *Radiola linoides* bzw. gelegentlich in der madagassischen *Linum betsiliense* BAKER beobachtet wird (PERRIER DE LA BÂTHIE 1952, ROGERS 1981a). Auch bezüglich ihrer Wuchsform ist sie recht eigentümlich (ROGERS 1982) und ähnelt am ehesten der auf Madagaskar vorkommenden *L. marojejense* (HUMBERT) C. M. ROGERS. Eine nähere Verwandtschaft mit der vierzähligen *Radiola linoides* scheint unwahrscheinlich, da sich die morphologischen Gemeinsamkeiten auf die Vierzähligkeit beschränken. Ungewöhnlich für altweltliche Arten ist ferner die Ausbildung vollständiger Scheidewände im Bereich des Fruchtknotens. Ob allerdings dieses Merkmal und die Vierzähligkeit der Blütenorgane eine eigenständige Untersektion rechtfertigen, bedarf weiteren Untersuchung.

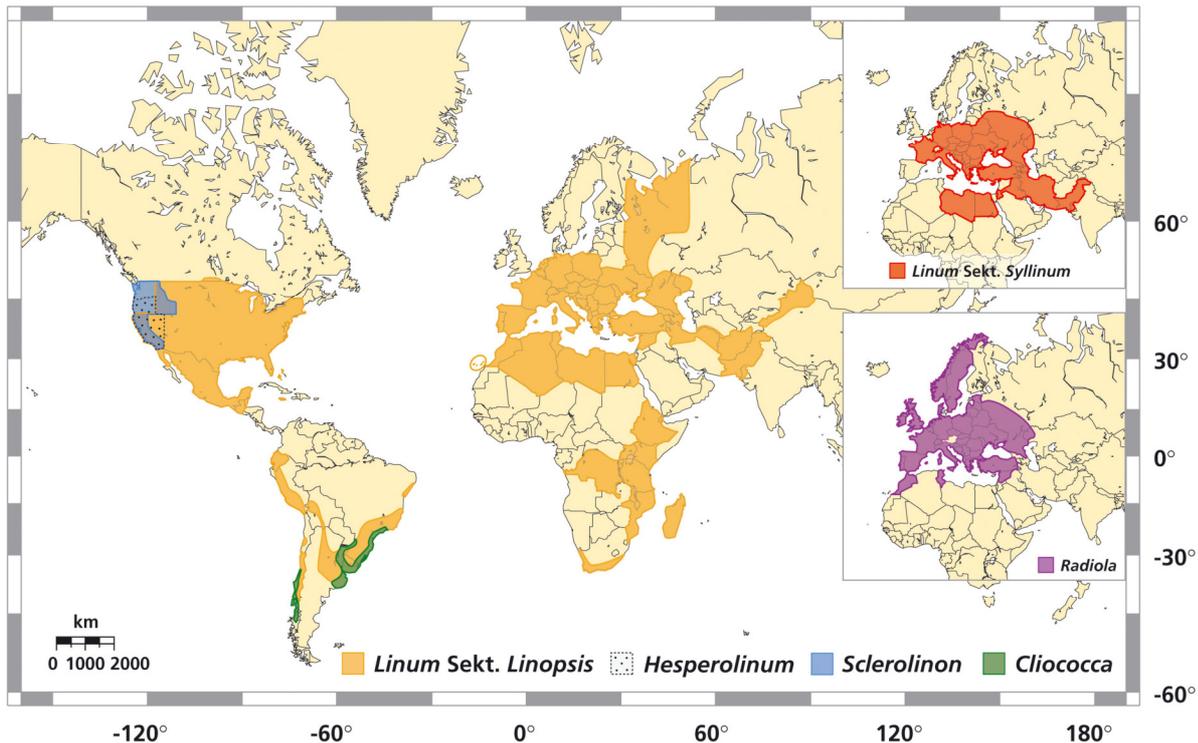
**Tab. 8:** Gliederung der Sektion *Linopsis* nach ROGERS (1982) auf der Grundlage von PLANCHON (1847, 1848).

Untersektion	Anzahl der Arten	in dieser Arbeit integriert
<i>Dichrolinum</i> (PLANCH.) C. M. ROGERS	5	5
<i>Halolinum</i> (PLANCH.) C. M. ROGERS	3	3
<i>Keniense</i> C. M. ROGERS	1	0
<i>Linopsis</i> (RCHB.) C. M. ROGERS	68	13
<i>Rigida</i> (SMALL) C. M. ROGERS	15	3

#### Untersektion *Linopsis* (RCHB.) C. M. ROGERS

Diese Gruppe stellt die größte Untersektion der Sektion *Linopsis* dar. Sie umfasst alle *Linum*-Arten Südafrikas und Südamerikas, sowie den größten Teil der nordamerikanischen und einige europäische Arten. Aufgrund der basalen Polytomie ist die Sektion *Linopsis* wenigstens paraphyletisch in Bezug zu *Cliococca* und Untersektion *Rigida* (evtl. auch zu *Hesperolinon* und *Sclerolinon*; Abb. 7 & 8).

Betrachtet man die phylogenetischen Rekonstruktionen (Abb. 7 & 8), so bilden Arten mit einer ähnlichen geographischen Verbreitung stets gut unterstützte Gruppen: Südafrika (MP-BU 82 %, ML-BU 88 %), Südamerika (MP-BU 76 %, ML-BU 70 %) und östliches Nordamerika (MP-BU & ML-BU 100 %). Ob sich diese Gruppen auch morphologisch voneinander unterscheiden, konnte im Rahmen dieser Arbeit aus Mangel an Material nicht untersucht werden.



**Abb. 20:** Geographische Verbreitung der 'Gelben Gruppe': *Linum* Sektion *Linopsis* inklusive *Linum catharticum*, *Linum* Sektion *Syllinum*, *Cliococca*, *Hesperolinum*, *Radiola* und *Sclerolinon*.

ROGERS erwähnt in seinen Publikationen (u. a. 1982, 1984 b), dass neben den südafrikanischen Arten zahlreiche europäische Arten morphologisch betrachtet in die Untersektion *Linopsis* einzuordnen sind. Einige dieser Arten sollten jedoch auf Grundlage der vorliegenden Ergebnisse aus dieser Gruppe ausgegliedert werden. Hierzu zählen unter anderem *Linum strictum*, *L. setaceum* BROT. (in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht), *L. volkensis* ENGL., *L. corymbulosum* RCHB. und *L. holstii* ENGL. EX R.WILCZEK (in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht), die sowohl morphologisch als auch molekularphylogenetisch der Untersektion *Dichrolinum* zuzuordnen sind (s. u.). Durch diese taxonomische Umordnung würde die Zahl der altweltlichen Arten in der Untersektion *Linopsis* auf *L. mysorensis* HEYNE EX WALL.

aus Indien reduziert werden, die ihm Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht werden konnte. Diese Art stellt nach ROGERS (1982) morphologisch eine Besonderheit dar. Die Griffel von *L. mysorensis* sind teilweise verwachsen (untypisch für altweltliche Vertreter der Untersektion) und der Chromosomensatz mit  $n = 30$  (ROGERS 1982) lässt sich am ehesten aus der Untersektion *Halolinum* (s. u.) herleiten.

Die Pflanzen der Untersektion *Linopsis* sind morphologisch durch die Gelbfärbung der Petalen und die kopfigen Narben charakterisiert. Hinsichtlich des Reproduktionssystems ist die Mehrzahl der Taxa homostyl. Lediglich zwei Vertreter der südafrikanischen Flora sind heterostyl (*L. comptonii* C. M. ROGERS & *L. heterostylum* C. M. ROGERS). Die Pollenkörner weisen in der Regel tricolpate Aperturen auf und die Basischromosomenzahl beträgt 9. Polyploidisierung kann innerhalb von *Linopsis* mehrfach beobachtet werden (Abb. 28).

#### *Untersektion Rigida (SMALL) C. M. ROGERS*

Zu dieser Gruppe werden nach ROGERS (1984b) 15 nordamerikanische Arten gezählt, von welchen in der vorliegenden Arbeit drei Individuen, *Linum berlandieri* HOOK, *L. berlandieri* subsp. *filiformis* (SHINNERS) C. M. ROGERS und *L. vernale* WOOTON, untersucht wurden. In den molekularen Phylogenien bilden diese drei Taxa eine gut gestützte Gruppe (MP-BU & ML-BU 100 %; Abb. 7 & 8), die durch zahlreiche morphologische Merkmale zusätzliche Unterstützung findet. Die Griffel dieser Arten sind stets verwachsen und es ist eine mehr oder weniger vollständige Ausbildung falscher Scheidewände in den Früchten zu beobachten. Die Kapseln zerfallen in dieser Untersektion in fünf 2-samige statt wie in den meisten anderen Arten in zehn 1-samige Segmente. Auch bezüglich der Pollenmorphologie lassen sich diese Arten gut abtrennen, alle besitzen multiporate Pollenkörner. Die Basischromosomenzahl beträgt in dieser Gruppe 15 (DILLMAN 1933, OSBORNE & LEWIS 1962, ROGERS 1984b).

#### *Untersektion Dichrolinum (PLANCH.) C. M. ROGERS*

Nach PLANCHON (1847, 1848) und ROGERS (1982) umfasst diese Gruppe einige wenige europäisch verbreitete Arten (*Linum tenuifolium*, *L. salsoloides* LAM., *L. suffruticosum* L., *L. ortegae* PLANCH.). Aufgrund der vorliegenden molekularen Ergebnisse und / oder morphologischer Merkmale sollte diese Untersektion, wie bereits zuvor erwähnt, um einige Taxa erweitert werden (*L. corymbulosum*, *L. holstii*, *L. setaceum*, *L. strictum* und *L. volkensisii*), die zuvor von PLANCHON (1847, 1848) in

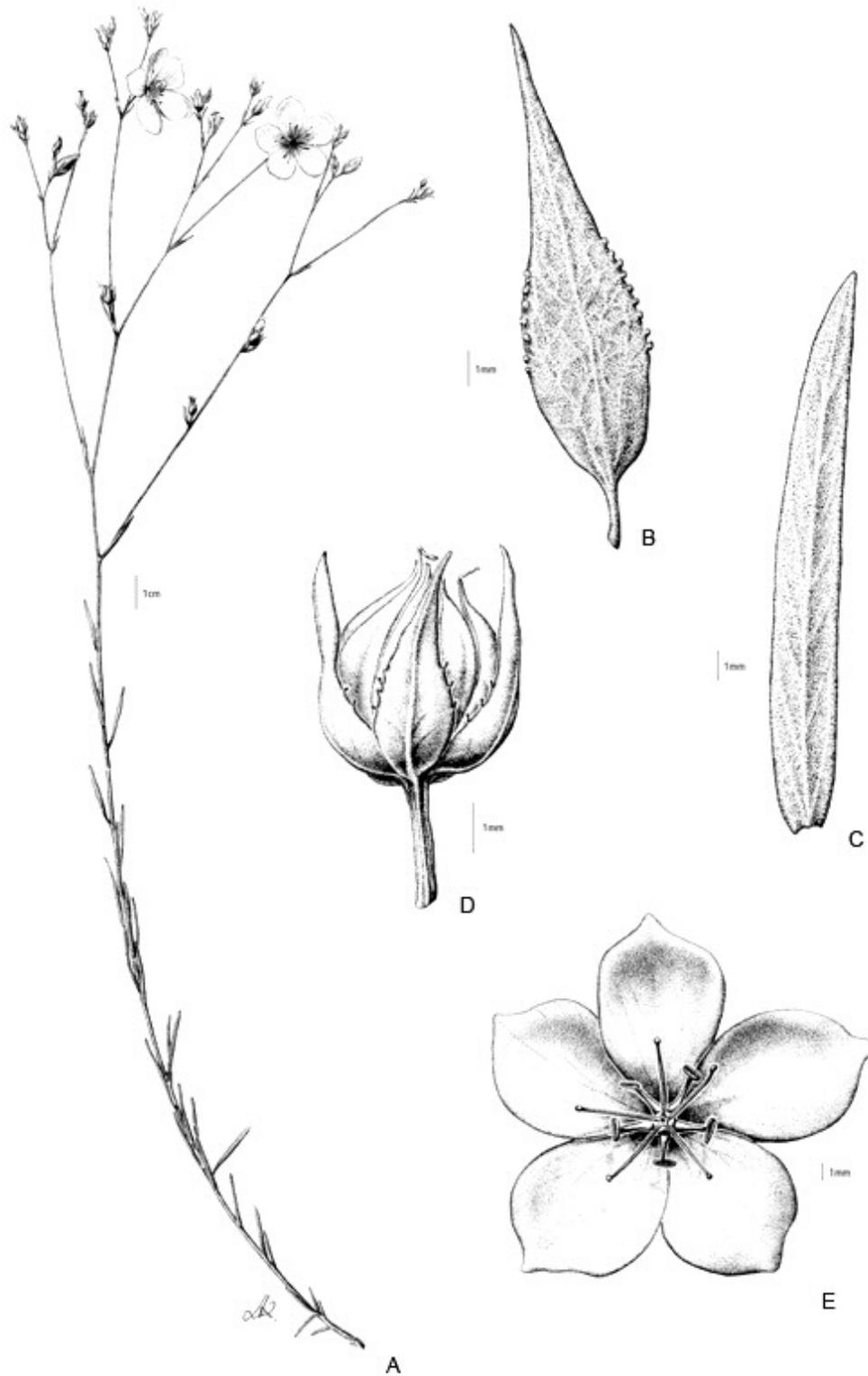
die Untersektion *Linopsis* (von PLANCHON als Serie bezeichnet) gezählt wurden. Diese Arten (sofern eingeschlossen) bilden in phylogenetischen Rekonstruktionen der *Maximum Likelihood* Analyse eine monophyletische Gruppe (Abb. 8), die durch einen moderaten *Bootstrap*-Wert (ML-BU 82%) Unterstützung findet. Im Konsensusbaum der MP-Analyse (Abb. 7) kann die Monophylie dieser Gruppe zwar nicht bestätigt werden, allerdings weisen diese Taxa im ITS *Alignment* zwei *Deletionen* mit einer Größe von vier bzw. 16 Basenpaaren auf, die einen gemeinsamen Ursprung dieser Arten zusätzlich unterstützen. WINKLER (1931), RECHINGER (1974) und DAVIS (1967) zählten *L. tenuifolium* und *L. suffruticosum* fälschlicherweise aufgrund morphologischer Ähnlichkeiten (u. a. lanzettliche Blätter) zu der Sektion *Linum*.

Einige Epidermiszellen der Blätter weisen eine besondere hakenförmige Struktur auf (Abb. 11 C & K), wodurch sich die Pflanzen sehr rau anfühlen. Die Untersektion grenzt sich vor allem durch das Vorhandensein kopfiger Narben von den übrigen europäischen Vertretern der Sektion *Linopsis* ab. Bezüglich des Reproduktionssystems können sowohl heterostyle (u. a. *Linum suffruticosum*) als auch homostyle Pflanzen (u. a. *L. strictum*) beobachtet werden. Die Chromosomenzahl der untersuchten Arten beträgt in der Regel  $n = 9$  (ROGERS *et al.* 1972, ROGERS 1980), wobei LORENZO & LORENZO (1950) auch eine Chromosomenzahl von  $2n = 72$  für *L. suffruticosum* nennen. Einzig die Art *L. volkensis* ist als hexaploide Art mit  $n = 27$  bekannt (LEWIS 1964).

Die Untersektion *Dichrolinum* ist vor allem im Mediterraneum und Südwestasien verbreitet. *Linum volkensis* und *L. holstii* reichen von Nordafrika ausgehend östlich bis nach Mosambik.

#### *Untersektion Halolinum (PLANCH.) C. M. ROGERS*

Diese Gruppe umfasst drei Arten, die alle in der vorliegenden Arbeit berücksichtigt wurden (*Linum tenue*, *L. maritimum* und *L. trigynum*). In den Rekonstruktionen der ITS-Phylogenen bilden diese Taxa stets eine hervorragend unterstützte monophyletische Gruppe (MP-BU & ML-BU 100 %; Abb. 7 & 8), während der Konsensusbaum des *rbcL*-Datensatzes lediglich *L. trigynum* und *L. tenue* als Schwesterarten unterstützt (Abb. 3 & 4). *Linum maritimum* ist in diesen Rekonstruktionen Teil einer Polytomie und wird innerhalb *Linum* s. l. keiner Gruppe eindeutig zugeordnet. Morphologisch betrachtet werden diese Beziehungen



**Abb. 21:** Zeichnung von *Linum tenuifolium* (Sektion *Linopsis* Untersektion *Dichrolinum*). A: Habitus; B: Sepalum, C: Blatt, D: Frucht, E: Blüte. Zeichnung: L. KLÖCKNER (REPLINGER, s.n., MJG).

bekräftigt. *Linum tenue* und *L. trigynum* weisen eine größere Ähnlichkeit zueinander auf als zu *L. maritimum* (u. a. bezüglich der Form der Blätter und Sepalen). Eine Abgrenzung dieser drei Arten von den übrigen europäischen Vertretern ist morphologisch gut möglich. Die Narben besitzen eine eher längliche Form (Abb. 13) und die Chromosomenzahl mit  $n = 10$  (ROGERS *et al.* 1972) ist einzigartig in der 'Gelben Gruppe'. In der Untersektion *Halolinum* lassen sich sowohl homostyle (*L. trigynum*) als auch heterostyle (*L. trigynum*, *L. maritimum*) Vertreter auffinden. Die Taxa sind hauptsächlich im Mediterraneum verbreitet.

#### 3.4.3.2.7 *Radiola* HILL

*Radiola* wurde von den meisten Bearbeitern als eigenständige monotypische Gattung beschrieben (u. a. ASHERSON & GRAEBNER 1913, WINKLER 1931). In den vorliegenden molekularphylogentischen Rekonstruktionen (Abb. 3 & 4) ist *Radiola* Schwester zu einer Gruppe aus *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Linum* (Sektionen *Cathartolinum*, *Linopsis* & *Syllinum*) und *Sclerolinon* (MP-BU 53%, ML-BU 73 %). *Radiola linoidea* lässt sich aufgrund von morphologischen Merkmalen gut von den übrigen Vertretern der Linaceae abgrenzen. Die Pflanzen dieser Art sind ausgesprochen klein, sie erreichen in der Regel eine Höhe von maximal 10 cm und zeichnen sich durch eine durchgehend gegenständige Beblätterung aus. Die Infloreszenz ist dichasial verzweigt, die Blütenorgane sind vierzählig und die Sepalen weisen eine ganz besondere, für die Linoideae einzigartige, dreilappige Zerschlitzung auf (Abb. 11 A). Die vier Griffel sind frei und enden in einer kopfigen Narbe. Die Chromosomenzahl beträgt  $2n = 18$  (ROGERS 1980a), eine Angabe, die man auch in einigen Vertretern der Sektionen *Linum* und *Linopsis* findet (Abb. 28). *Radiola linoidea* ist vor allem in Europa verbreitet (Abb. 20).

#### 3.4.3.2.8 *Cliococca* BAB.

Die Position von *Cliococca selaginoides* (LAM.) C. M. ROGERS & MILDNER wurde in der Literatur mehrfach diskutiert. LAMARCK wies sie in seiner Beschreibung der Gattung *Linum* zu, während BABINGTON (1842) die monotypische Gattung *Cliococca* gründete. PLANCHON (1848) integrierte die Gattung wiederum in *Linum* und wies der Art eine eigene Sektion mit Namen *Cliococca* zu, bis sie ROGERS & MILDNER (1971) wieder auf Gattungsniveau anhoben. In der Tat finden sich einige Merkmale, die diese Art von den übrigen Lein-Arten unterscheidet. Besonders auffallend sind die

sehr dicht stehenden, zahlreichen Blätter und die einzeln, am Ende von Haupt- oder Seitensprossen, stehenden Blüten. Einzelblüten sind in *Linum* eher selten, können aber in *L. hudsonioides* PLANCH. und *L. imbricatum* (RAF.) SHINNERS beobachtet werden. Einzigartig unter den südamerikanischen Vertretern sind auch die weiße Blütenfarbe und die Tatsache, dass die Sepalen die Blütenblätter nicht überragen. Des Weiteren besitzen die Vertreter der Gattung *Linum* durchweg convolvulate Korollen, während bei *Cliococca* imbricate Kronen beobachtet werden.

*Cliococca selaginoides* weist im Ovar vollständig entwickelte falsche Septen auf und zur Fruchtreife zerfällt die Kapsel in zehn Segmente (BABINGTON 1842, ROGERS & MILDNER 1971). Im Vergleich zu anderen Lein-Arten mit sich öffnenden Kapseln bleiben bei *Cliococca* diese einzelnen Segmente geschlossen.

Die für *Cliococca* beschriebene Basischromosomenzahl von  $n = 18$  (DARLINGTON & WYLIE 1955) stimmt mit Angaben für andere, in Südamerika verbreitete, Lein-Arten überein (ROGERS *et al.* 1972). Betrachtet man die molekularphylogenetischen Rekonstruktion der ITS-Datensätze (Abb. 7 & 8), so zeigt sich, dass *Cliococca* mit moderater Unterstützung mit den anderen südamerikanischen Arten gruppiert (MP-BU 76 %, ML-BU 70 %).

#### **3.4.3.2.9 *Sclerolinon* C. M. ROGERS**

*Sclerolinon digynum* (A.GRAY) C. M. ROGERS ist der einzige Vertreter der Gattung *Sclerolinon* und gruppiert in den verschiedenen molekularphylogenetischen Rekonstruktionen (Abb. 3, 4, 7 & 8) mit den gelbblühenden Vertretern aus Amerika und Südafrika. Die Ergebnisse des *rbcl*-Datensatzes deuten darauf hin, dass *Sclerolinon* Schwester zu allen neuweltlichen und südafrikanischen Arten ist, allerdings wird dieses Verhältnis nur sehr schwach gestützt (MP-BU 58 %). Eine basale Abspaltung der Gattung ist aus morphologischer Sicht allerdings eher unwahrscheinlich, da diese Art eine Reihe von Merkmalen besitzt die als abgeleitet gelten; u. a. Reduktion im Gynoeceum, eine mehr oder weniger vollständig entwickelte falsche Scheidewand im Ovar und eine annuelle Lebensweise. Historisch wurde *Sclerolinon digynum* zusammen mit den anderen gelbblühenden Arten aus Nordamerika zur Gattung *Cathartolinum* RCHB. gezählt. Aufgrund der Ähnlichkeit zu anderen annualen *Linum* Arten, die in Kalifornien vorkommen, wurde *Sclerolinon digynum* von TRELEASE (1887, 1897) mit diesen Arten gemeinsam in die Sektion *Hesperolinon* verschoben. SMALL (1907) erhob die Sektion auf Gattungsniveau,

während SHARSMITH (1961), die die Gattung *Hesperolinon* revidierte, *Sclerolinon digynum* wiederum aus dieser Gruppe ausschloss. ROGERS (1966), der sich in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts ausgiebig mit den Linaceae beschäftigte, sieht in dieser Art ein Bindeglied zwischen den Gattungen *Linum* und *Hesperolinon*, da *Sclerolinon* eine Reihe von Merkmalen mit beiden Gattungen teilt. Trotz dieser Gemeinsamkeiten sieht er jedoch eine monotypische Gattung *Sclerolinon* als gerechtfertigt, da diese Art eine Reihe von Autapomorphien besitzt. So weist *Sclerolinon digynum* als einzige Art in den Linaceae eine bikarpellat Frucht mit einer runzeligen Oberfläche auf, die entweder als Ganzes oder in vier einsamigen Teilfrüchten (Nüssen) zu Boden fällt (ROGERS 1966). Der Chromosomensatz beträgt  $2n = 12$  (RAVEN 1959, ROGERS *et al.* 1972).

*Sclerolinon* ist im Westen Nordamerikas verbreitet, vor allem in Kalifornien, Oregon und Washington (Abb. 15).

#### 3.4.3.2.10 *Hesperolinon* SMALL

Die Gattung *Hesperolinon* umfasst 13 sehr nah verwandte Arten mit einer einjährigen Lebensweise. Diese Arten wurden 1865 von GRAY in einer gemeinsamen Sektion *Hesperolinon* beschrieben und später von SMALL (1907) auf Gattungsniveau angehoben. SHARSMITH (1961) die diese Gruppe revidierte, hielt den Gattungsstatus aufrecht, entfernte allerdings wie bereits erwähnt *Sclerolinon digynum*. In den verschiedenen molekularphylogenetischen Rekonstruktionen der vorliegenden Arbeit (Abb. 3, 4, 7 & 8) gruppiert *Hesperolinon* mit den übrigen neuweltlichen und süd-afrikanischen Arten. Eine genaue Position innerhalb dieser Gruppe kann aufgrund mangelnder *Bootstrap*-Unterstützung nicht festgestellt werden. Ein Schwester-Verhältnis zu *Hesperolinon* wird lediglich in der ML-Rekonstruktion des ITS-Datensatzes angedeutet (Abb. 8, ML-BU < 50 %).

In der *Maximum Likelihood* Phylogenie des *rbcl*-Datensatzes wird eine basale Abspaltung der Gattung angedeutet, erhält aber keine Unterstützung (BU < 50%). Wie zuvor auch bei *Sclerolinon digynum* ist jedoch eine basale Abspaltung eher unwahrscheinlich, da sich auch *Hesperolinon* durch zahlreiche abgeleitete Merkmale auszeichnet (u. a. Reduktion im Bereich des Gynoeceums und Androeceum, Ausbildung verschiedener Anhängsel im Bereich der Petalen).

Morphologisch betrachtet zeichnen sich die Arten der Gattung *Hesperolinon* basal durch eine quirlige (4 Blätter pro Knoten) Blattstellung aus, die in eine

wechselständige übergeht. Die Blätter sind oft fleischig und basal befinden sich in der Regel ein Paar rötliche Stipulardrüsen. Am auffälligsten sind allerdings in dieser Gruppe die Petalen, die basal verschieden gestaltete Anhängsel besitzen können (Abb. 10; SHARSMITH 1961).

Der Basischromosomensatz mit  $n = 18$  (ROGERS *et al.* 1972) entspricht den Angaben, die für viele süd- und nordamerikanische Arten der Untersektion *Linopsis* gemacht wurden (u. a. HARRIS 1968, ROGERS *et al.* 1972).

Biogeographisch ist diese Gattung auf den westlichen Teil der USA beschränkt. Bis auf die nach Nevada und Oregon reichende Art *Hesperolinon micranthum* SMALL kommen alle *Hesperolinon*-Arten ausschließlich in Kalifornien vor.

### 3.4.4 Mögliche taxonomische Umstrukturierungen der Linoideae

Die vorliegenden Ergebnisse der molekularbiologischen Arbeit ermöglichen es, die Gliederung der Unterfamilie der Linoideae neben morphologischen, zytologischen und biogeographischen Merkmalen unter einem weiteren Gesichtspunkt, der molekularphylogenetischen Rekonstruktion, kritisch zu betrachten. Die in der Vergangenheit durchgeführten Untersuchungen sowie neue morphologische Beobachtungen bieten eine gute Grundlage, eine neue Einteilung der Linoideae vorzuschlagen (Tab. 9).

Angesichts der gegenwärtigen phylogenetischen Rekonstruktionen (Abb. 3 & 4) ist die Gattung *Linum* paraphyletisch in Bezug zu *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Radiola* und *Sclerolinon*. Folgt man dem Konzept, dass Gattungen monophyletische Gruppen umschreiben, so müssten entweder die oben genannten Gattungen in *Linum* integriert werden oder die ursprüngliche Gattung *Linum* müsste ihrerseits in mehrere Gattungen unterteilt werden.

In den Rekonstruktionen auf Basis des *rbcL*-Datensatzes findet die Gattung *Linum* s. l. (inklusive *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Radiola* und *Sclerolinon*) keine, bzw. lediglich eine schwache Unterstützung (MP-BU < 50 %, ML-BU 67 %). Dies würde für eine Aufteilung von *Linum* s. l. in die Gattungen *Linum* L. ('Blaue Gruppe': Sektionen *Linum* und *Dasylinum*), sowie *Cathartolinum* RCHB. (Sektionen *Cathartolinum*, *Linopsis*, *Syllinum*, inklusive *Cliococca*, *Hesperolinon* und *Sclerolinon*) sprechen (Tab. 9). Der Gattungsstatus der morphologisch von den übrigen Arten

stark abweichenden Gattung *Radiola* würde erhalten bleiben. Diese Gliederung würde der Auffassung von SMALL (1907) nahe kommen, der die nordamerikanischen Vertreter der Sektion *Linopsis* in der Gattung *Cathartolinum* gemeinsam mit *Linum catharticum* vereinte.

**Tab. 9:** Zwei Vorschläge für eine überarbeitete Einteilung der Linoideae, beruhend auf den vorliegenden molekularphylogenetischen und morphologischen Ergebnissen.

VORSCHLAG 1		VORSCHLAG 2	
Gattung	Sektion	Gattung	Sektion
<i>Anisadenia</i>		<i>Anisadenia</i>	
<i>Reinwardtia</i>		<i>Reinwardtia</i>	
<i>Tirpitzia</i>		<i>Tirpitzia</i>	
<i>Radiola</i>		<i>Linum</i>	<i>Radiola</i>
<i>Cathartolinum</i>	<i>Linopsis</i>		<i>Linopsis</i>
	<i>Hesperolinon</i>		<i>Hesperolinon</i>
	<i>Sclerolinon</i>		<i>Sclerolinon</i>
	<i>Syllinum</i>		<i>Syllinum</i>
	<i>Dichrolinum</i>		<i>Dichrolinum</i>
	<i>Halolinum</i>		<i>Halolinum</i>
	<i>Cathartolinum</i>		<i>Cathartolinum</i>
<i>Linum</i>	<i>Linum</i>	<i>Linum</i>	
	<i>Dasylinum</i>		<i>Dasylinum</i>
	<i>Stellerolinon</i> (?)		<i>Stellerolinon</i> (?)

Betrachtet man allerdings die morphologischen Ähnlichkeiten, zwischen den einzelnen Arten der blau- und gelbblühenden *Linum*-Arten, so würde sich eine Eingliederung der Gattungen *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Sclerolinon* und *Radiola* in die Gattung *Linum* anbieten. Bezüglich der Wiedereingliederung von *Cliococca*, *Hesperolinon* und *Sclerolinon* in *Linum* sind weder aus molekularphylogenetischer noch aus morphologischer Sicht Einwände zu erheben. Zwar zeichnen sich diese Segregatgattungen jeweils durch einige Apomorphien aus (s. o.), zeigen aber genügend gemeinsame Merkmale mit den übrigen Vertretern der Gattung *Linum*, so dass eine Auflösung des Gattungsstatus durchaus gerechtfertigt wäre.

Die zurzeit paraphyletische Sektion *Linopsis* bedarf ebenso einiger Veränderungen. Die bis dato als Untersektion von *Linopsis* behandelten Einheiten *Dichrolinum* und *Halolinum* sollten auf Sektionsniveau angehoben werden. Diese Gruppen sind sowohl morphologisch als auch molekularbiologisch (s. o.) gut charakterisiert. Die monophyletische Sektion *Syllinum* und *Cathartolinum* blieben somit weiterhin erhalten, was aufgrund ihrer äußerlichen Besonderheiten durchaus Unterstützung fände (s. o.).

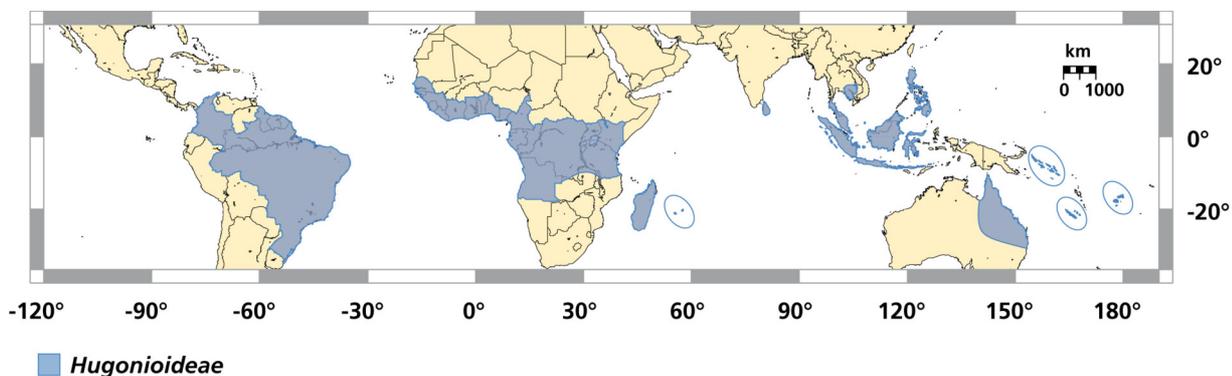
Inwiefern eine Zusammenlegung der ehemaligen Gattungen *Sclerolinon* und *Hesperolinon* in eine gemeinsame Sektion sinnvoll wäre, ist angesichts der Datenlage schwierig zu beurteilen. Ein Schwesterverhältnis dieser beiden Gruppen wird zwar in der ML-Rekonstruktion des ITS-Datensatzes angedeutet, findet aber in einer *Bootstrap*-Analyse keine Unterstützung (ML-BU < 50 %; Abb. 8). Morphologisch betrachtet zeigen beide Gattungen jedoch eine Reihe von Gemeinsamkeiten. So zeichnen sie sich u. a. durch eine annuelle Lebensweise, eine Reduktion im Gynoeceum und durch das Fehlen von Staminodien aus. Ferner ähneln sie sich in ihrer geographischen Verbreitung (Abb. 20). Eine endgültige Beurteilung kann aufgrund der Tatsache, dass im Rahmen dieser Arbeit kein Herbarmaterial dieser beiden Gattungen zur Verfügung stand, nicht getroffen werden, so dass beide Gattungen vorerst einen eigenen Sektionsstatus erhalten sollten (Tab. 9). Die Sektion *Linopsis* wurde in der Vergangenheit (SMALL 1907, ROGERS 1982, 1984b) in zahlreiche Untersektionen unterteilt. Inwieweit eine Aufrechterhaltung bzw. Erweiterung dieser Gliederung sinnvoll wäre, müsste vor allem für die neuweltlichen und südamerikanischen Arten geklärt werden. Eine umfangreiche morphologisch und molekularbiologische Untersuchung dieser Arten wäre für dieses Vorhaben von Vorteil und ist zurzeit in Bearbeitung (MCDILL persönl. Mitteilung).

Innerhalb der blaublühenden *Linum*-Arten (Sektionen *Linum* & *Dasylinum*) bleibt einzig die Platzierung von *Linum stelleroides* fragwürdig. Bislang wurde sie in die Sektion *Linum* integriert, aber eine Ausgliederung in eine monotypische Sektion *Stellerolinon* JUZ. wäre aufgrund morphologischer und molekularbiologischer Ergebnisse, wie bereits von ROGERS (1972) und YUZEPCHUK (1974) vorgeschlagen, denkbar. Da im Rahmen dieser Untersuchung keine Möglichkeit bestand, Material dieser Art morphologisch zu betrachten, kann dieses Vorhaben nicht abschließend unterstützt werden. Ferner sollte man berücksichtigen, dass *L. heterosepalum* und *L. olgae*, der Sektion *Dasylinum*, die hinsichtlich ihres Verbreitungsgebiets von den

übrigen Arten dieser Sektion abweichen, in diese Arbeit nicht integriert werden konnten. Eine mögliche Verbindung dieser beiden Arten zu *L. stelleroides* kann daher nicht ausgeschlossen werden.

### 3.4.5 Biogeographie

Die beiden Unterfamilien Hugonioideae und Linoideae lassen sich sowohl morphologisch als auch hinsichtlich ihrer aktuellen Verbreitung eindeutig voneinander unterscheiden. Während die Hugonioideae auf die tropischen und subtropischen Regionen der Welt beschränkt sind (Abb. 22), zeigen die Linoideae eine bevorzugt temperate Verbreitung (Abb. 1).

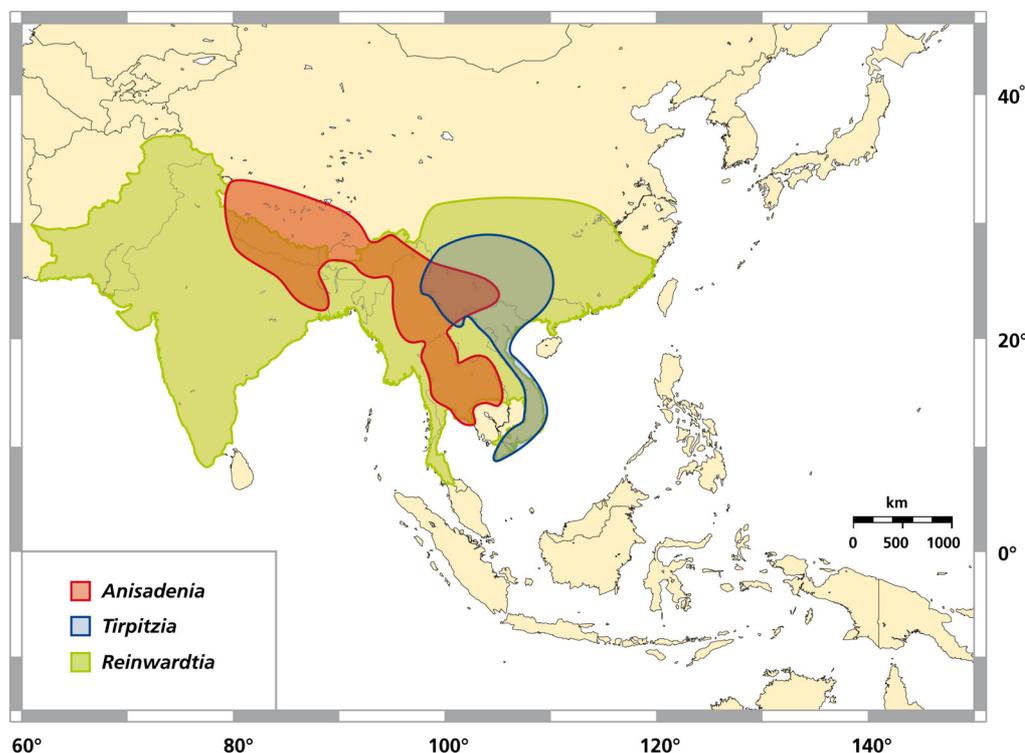


**Abb. 22:** Geographische Verbreitung der Unterfamilie der Hugonioideae.

Die Gattung *Hugonia* L. (inklusive *Durandea* PLANCH.) mit etwa 40 Arten zeigt innerhalb der Hugonioideae die weiteste Verbreitung. Die Arten dieser Gattung kommen in Afrika, auf Madagaskar, im tropischen Asien, Queensland und auf den Inselstaaten Fidschi, Neukaledonien und den Salomonen vor. Die beiden Gattungen *Philbornea* HALLIER F. (monotypisch) und *Indorouchera* HALLIER F. (zwei Arten) sind südostasiatisch verbreitet und sind vor allem auf Inseln des indonesischen Archipels beheimatet, während die Gattungen *Hebepetalum* BENTH. (3 Arten) und *Roucheria* PLANCH. (7 Arten) auf Südamerika beschränkt sind (DRESSLER *et al.* in Druck). Eine Entstehung der Hugonioideae in den Tropen oder Subtropen ist wahrscheinlich. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Untersuchung von DAVIS *et al.* (2005), die für die gesamten Malpighiales eine Entstehung in frühen tropischen Regenwäldern der mittleren Kreide (vor 112-93 Mill Jahren) annehmen. Neben den Ericales dominieren die Malpighiales noch heute im Unterwuchs der tropischen Regenwälder (DAVIS *et al.*

2005). Interessanterweise besiedelten neben den Linaceae nur wenige Familien der Malpighiales auch temperate Regionen (u. a. Euphorbiaceae, Hypericaceae, Salicaceae, Violaceae).

Die Linoideae sind nach den Ergebnissen der molekularen Uhr vor etwa 51-46 Mill. Jahren aus den Hugonioideae hervorgegangen (Abb. 4) und haben sich vor allem in den temperaten Regionen der Nordhemisphäre verbreitet. *Anisadenia*, *Reinwardtia* und *Tirpitzia* zeigen im Vergleich zu der kosmopolitischen Gattung *Linum* (Abb. 1) ein geographisch eingeschränktes Verbreitungsgebiet (Abb. 23); von Pakistan bis Thailand und Vietnam. Die intergenerischen Beziehungen der Linoideae konnten auf der Basis des Chloroplastenmarkers *rbcL* mangels Auflösung nicht genau rekonstruiert werden. Die *Maximum Likelihood* Analyse (Abb. 4) lässt jedoch eine basale, sukzessive Abspaltung der Gattungen *Anisadenia*, *Reinwardtia* und *Tirpitzia* vermuten, welche durch den Besitz zahlreicher plesiomorpher Merkmale (u. a. Besitz gestielter Blätter und Stipeln) zusätzlich Unterstützung findet. Ergebnisse von McDILL *et al.* (2009) auf der Grundlage verschiedener plastidärer Marker bestätigen eine basale Abspaltung der drei ostasiatischen Gattungen. Dies würde eine Entstehung der Linoideae im südostasiatischen Raum bedeuten, was durch die Ergebnisse der DIVA (Tab. 7 & Abb. 9 zusätzlich unterstützt wird (temperates Asien).



**Abb. 23:** Geographische Verbreitung der Gattungen *Anisadenia*, *Tirpitzia* und *Reinwardtia*.

### 3.4.5.1 *Linum* / *Cliococca* / *Hesperolinon* / *Radiola* / *Sclerolinon*

*Linum* s. l. (*Linum* inklusive *Cliococca*, *Hesperolinon*, *Radiola* und *Sclerolinon*) zeigt heute eine sehr weite geographische Verbreitung. Vergleicht man dieses Vorkommen mit den molekularphylogenetischen Ergebnissen, so wird temperates Asien bzw. Südwestasien / östlicher Mittelmeerraum als Ursprungsregion für *Linum* s. l. wahrscheinlich, da sowohl aus der Gruppe der blaublühenden als auch der gelbblühenden Leinarten vor allem die basal abspaltenden Taxa aus diesen Regionen stammen. Dies stimmt mit den Ergebnissen der DIVA überein, die Europa bzw. temperates Asien als Entstehungsregion für *Linum* s. l. postuliert. Die Gattung *Linum* s. l. entstand wahrscheinlich im Eozän vor etwa 46-42 Mill. Jahren und spaltete sich bald in zwei sich separat entwickelnde Linien auf ('Blaue Gruppe', 'Gelbe Gruppe'). Aufgrund der schlechten *Bootstrap*-Unterstützung bezüglich der Monophylie von *Linum* s. l. wäre es auch denkbar, dass diese beiden Gruppen unabhängig voneinander aus gemeinsamen Vorfahren mit einer oder mehreren der asiatischen Gattungen (*Anisadenia*, *Tirpitzia*, *Reinwardtia*) hervorgegangen sind.

#### 'Blaue Gruppe'

Die Gruppe der blaublühenden *Linum*-Arten (Sektionen *Dasylinum* und *Linum*) entstand wahrscheinlich vor etwa 32-29 Mill. Jahren im temperaten Asien. Interessanterweise zeigen die etwa 20 Vertreter der Sektion *Dasylinum* eine Verbreitung, die auf den südwestasiatischen Raum und das Mittelmeergebiet beschränkt ist, während die Sektion *Linum* eine weitaus größere Ausbreitungstendenz zeigt und sich über die gesamte temperate Nordhemisphäre erstreckt (Abb. 15).

Die Vorkommen in Australien (*Linum marginale*) und Neuseeland (*L. monogynum*), legen die Vermutung nahe, dass diese Arten aus dem Ursprungsgebiet der Unterfamilie in diese Region eingewandert sind. Dies ist aber unwahrscheinlich, da diese beiden Taxa phylogenetisch betrachtet abgeleitet in einer Gruppe aus europäischen Arten stehen (Abb. 5 & 6). Eine Kolonisierung Australiens und Neuseelands durch ein oder mehrere Fernausbreitungsereignisse scheint weitaus wahrscheinlicher. Morphologisch grenzen sich *L. marginale* und *L. monogynum* vor allem durch die Verwachsung ihrer Griffel von der Mehrheit der Vertreter der Sektion ab. Lediglich die von der Balkanhalbinsel stammende *Linum hologynum* zeigt ebenfalls eine Verwachsung der Griffel. Auch zytologisch stellt diese Art eine

mögliche Verbindung zwischen den europäisch / südwestasiatischen und den Vertretern aus Australien und Neuseeland dar. Während *L. monogynum* einen diploiden Chromosomensatz von  $2n = 84$  (HAIR & BEUZENBERG 1959) aufweist, besitzt *L. hologynum*  $2n = 42$  Chromosomen (PETROVA 1972). Leider stand für die vorliegende Untersuchung kein Pflanzenmaterial von *L. hologynum* zu Verfügung, so dass die Vermutung, dass diese Art ein Verbindungsglied für eine mögliche Ausbreitung von Zentraleuropa nach Australasien darstellt, rein spekulativ bleibt. ROGERS & XAVIER (1971) und ROGERS (1984a) sehen in der von den übrigen blaublühenden Arten abweichenden Morphologie dieser drei Arten genügend Argumente, die Gründung einer eigenen Sektion zu rechtfertigen.

Die Sektion *Linum* breitete sich aber nicht nur Richtung Südosten aus, sondern ist auch mit drei Arten in Nordamerika vertreten. *Linum lewisii* ist in der Neuen Welt weit verbreitet und erstreckt sich in ihrem Vorkommen von Nordmexiko in nördlicher Richtung entlang der Rocky Mountains und der Manitoba Ebene westlich bis nach Kalifornien und Alaska. Weiter östlich gelegene Populationen in Kanada sind nach MOSQUIN (1971) auf erst kürzliche Einführungen durch den Menschen zurückzuführen. Neben dieser Art wächst auch die annuelle *L. pratense* in Nordamerika, deren Verbreitungsgebiet vor allem auf Texas und Oklahoma begrenzt ist. *Linum rzedowskii* ist auf Mexiko beschränkt. *Linum lewisii* und *L. pratense* ähneln morphologisch der in Europa und in weiten Teilen Russlands vorkommenden *Linum perenne* Gruppe. Auch zytologisch stimmen diese Arten überein, sie besitzen alle einen Chromosomensatz von  $2n = 18$ . Aufgrund der Beobachtung, dass *L. lewisii* vor allem westlich in Amerika verbreitet ist und verschiedene Vertreter der *Linum perenne* Gruppe in Ostsibirien beobachtet werden können, ist - wie auch bereits von HARRIS (1968) vermutet - eine Einwanderung eines Vorfahrens von *Linum lewisii* von Sibirien über Alaska und Kanada nach Nordamerika denkbar. Für die Entstehung der *Linum perenne* Gruppe wird ein Alter von etwa 3 Mill. Jahren angenommen, was eine Kolonisierung Amerikas über die Bering Landbrücke, die bis ins Pliozän existierte (MARINCOVICH & GLADENKOV 1999), als mögliche Besiedlungsrouten in Betracht zieht. Eine Besiedlung Nordamerikas über die Bering Landbrücke kam zu dieser Zeit nach TIFFNEY & MANCHESTER (2001) lediglich für temperate und laubwerfende Arten, die eine gewisse Kältetoleranz aufwiesen, in Frage. In ihrer Zusammenstellung zählen sie verschiedene Arten auf, für die eine Verbreitung über die Bering Landbrücke während des Pliozäns angenommen wird (u. a. *Aralia*, *Boykinia*, *Calycanthus*,

*Caulophyllum*, *Gleditsia* und *Magnolia*). DONOGHUE & SMITH (2004), die sich mit der historischen Phylogeographie der Nordhemisphäre beschäftigten, zeigten, dass es im Vergleich zu anderen Disjunktionen auffallend wenige zwischen Ostasien und westlichen Nordamerika gibt. In einem Vergleich von 100 verschiedenen Untersuchungen konnten sie lediglich innerhalb der Gattung *Ribes* eine Disjunktion zwischen Ostasien und dem westlichen Nordamerika ausfindig machen. Allerdings ist in diesem Fall, anders als bei *Linum*, Nordamerika als Ursprungsgebiet zu betrachten. HOHMANN *et al.* (2006) vermuten für die Disjunktion von *Oreobliton* (Mediterraneum) und *Aphanisma* (Kalifornien), dass ein gemeinsamer Vorfahre vor 15,4-8,1 Mill. Jahren über die Bering Landbrücke nach Amerika einwanderte. SCHEEN *et al.* (2004) zeigten, dass innerhalb der Gattung *Cerastium* (Caryophyllaceae) Amerika zweimal von Eurasien aus besiedelt wurde. Während für die eine Gruppe eine recht junge Entstehung im Quartär mit einer anschließenden zirkumpolaren Ausbreitung angenommen wird, ist für die Gruppe um *Cerastium nutans* eine Besiedlung Amerikas über die Bering Landbrücke wahrscheinlich (SCHEEN *et al.* 2004).

#### 'Gelbe Gruppe'

Die gelbblühenden *Linum* s. l.-Arten (*Cliococca*, *Hesperolinon*, *Radiola*, *Sclerolinon* & Sektionen *Cathartolinum*, *Linopsis* & *Syllinum*) entstanden wahrscheinlich vor etwa 36-32 Mill. Jahren in Europa und verbreiteten sich von dort mehr oder weniger über die gesamte Nordhemisphäre. Dies deckt sich mit den molekularen und morphologischen Ergebnissen, wonach vor allem die mediterranen Arten Merkmale aufweisen, die als ursprünglicher angesehen werden, u. a. freie Griffel, unvollständige falsche Septen. Im Gegensatz zu den blaublühenden Vertretern zeigen die Vertreter der 'Gelben Gruppe' aktuell eine weitaus geringere Ausbreitung in östliche Richtung. Sie sind lediglich bis zum Kaukasus bzw. dem Iran zu beobachten, haben sich aber auf dem amerikanischen Kontinent und in Afrika weitaus stärker differenziert als die Vertreter der Sektionen *Dasylinum* und *Linum* (Abb. 15 & 20).

Die sowohl morphologisch als auch molekularphylogenetisch gut abgegrenzten Vertreter der Sektion *Syllinum* entstanden vor etwa 19-17 Mill. Jahren und zeigen heute eine Verbreitung die vom Mediterraneum über Südwestasien in den Kaukasus reicht. Die übrigen altweltlichen Arten der 'Gelben Gruppe' kommen zwar ebenfalls in diesen Regionen vor, zeigen aber eine weitaus stärkere Verbreitung in Richtung

Mittel- und Nordeuropa und sind ebenso im südlichen Mittelmeerraum und mit 13 endemischen Arten in Südafrika anzutreffen.

Auffallend ist die disjunkte Verbreitung der gelbblühenden Arten auf dem afrikanischen Kontinent. *Linum* besiedelt vor allem den südlichsten und nördlichsten Teil Afrikas. Lediglich *Linum volkensis* und *L. holstii* kommen ausschließlich in Ostafrika vor und erstrecken sich von Äthiopien südlich bis nach Mosambik, wo sie hinsichtlich ihrer Verbreitung mit *L. thunbergii* ECKL. & ZEYH. überlappen. Diese Art ist die einzige von 14 südafrikanischen Vertretern, die nicht auf den südlichsten Teil der Kapprovinz beschränkt ist (ROGERS 1981b). Der hohe Anteil an Endemiten in dieser Region war und ist Grund für viele Untersuchungen, die sich mit der historischen Biogeographie in Südafrika verbreiteter Taxa beschäftigen. Eine Entstehung von *Linum* in Südafrika mit einer anschließenden Migration nach Norden, wie für die Saniculoideae gezeigt (KADEREIT *et al.* 2008), ist auf Grundlage der vorliegenden molekularphylogenetischen Ergebnisse ebenso unwahrscheinlich, wie eine Einwanderung von Europa / Südwestasien nach Afrika, wie es kürzlich für die Gattung *Erica* gezeigt wurde (MCGUIRE & KRON 2005). Morphologisch betrachtet ähneln *L. volkensis* und *L. holstii* eher Pflanzen aus dem Mittelmeergebiet als den südafrikanischen Vertretern der Gattung *Linum* (ROGERS 1981b). Dies deckt sich mit den molekularphylogenetischen Ergebnissen (Abb. 7 & 8), wonach *L. volkensis* mit den im Mediterraneum verbreiteten Arten der Untersektion *Dichrolinum* gruppiert. Die südafrikanischen Vertreter hingegen lassen sich mit den amerikanischen Arten der 'Gelben Gruppe' auf einen gemeinsamen nordamerikanischen Vorfahren zurückführen (Tab. 7 & Abb. 9). Eine Einwanderung der Linaceae nach Südafrika vom Mittelmeergebiet ausgehend über Ostafrika, wie von ROGERS (1981b) angenommen, erscheint äußerst unwahrscheinlich. Betrachtet man die verschiedenen phylogenetischen Rekonstruktionen der vorliegenden Arbeit, so zeigt lediglich der *rbcL*-Baum eine schlecht gestützte Auflösung (MP-BU 58 %) in der Gruppe der neuweltlichen und südafrikanischen Vertreter der gelbblühenden *Linum*-Arten. Hiernach ist der gemeinsame Vorfahre dieser Arten vor 23-20 Mill. Jahren im westlichen Nordamerika zu suchen, von wo aus sich eine Verbreitung nach Südamerika und Südafrika und über den restlichen nordamerikanischen Kontinent anschloss. Dieses Ergebnis deckt sich nur teilweise mit den Hypothesen von ROGERS (1968). Er vermutet den Ursprung der neuweltlichen Arten im östlichen Teil Zentralmexikos. In dieser Gegend sind nicht nur die größte Dichte an Arten, sondern

auch eine beachtliche Diversität, mit eher ursprünglichen und abgeleiteten gelbblühenden *Linum*-Arten zu beobachten. Eine von dort ausgehende Ausbreitung in Richtung Südamerika und in die übrigen Regionen Nordamerikas hält ROGERS von dieser Region aus am wahrscheinlichsten. Schwesterverhältnisse von neu- und altweltlichen Arten, deren gemeinsamer Vorfahre auf ein Alter von etwa 30-40 Mill. Jahren datiert wurde, sind aus verschiedenen Familien bekannt. RICHARDSON *et al.* (2004) erwähnen z. B. innerhalb der Annonaceae gleich zwei disjunkte Verbreitungen zwischen afrikanischen und neuweltlichen Arten. Inwiefern für *Linum* eine ähnliche Besiedlungsrouten in Frage kommt ist fraglich, da es sich bei den Arten der Annonaceae um tropische Pflanzen handelt, während die *Linum*-Arten ein trockenes, warmes Klima bevorzugen. In den Rhamnaceae findet sich ebenfalls eine Afrika / Neue Welt Disjunktion (Ampelozoiziphoid group) deren Split auf 32,8-31,2 Mill. Jahre zurück datiert wurde. RICHARDSON *et al.* (2004) erwähnen zwar die Möglichkeit einer Besiedlung Amerikas von Afrika aus über GAARlandia (Große Antillen und Aves Ridge), bevorzugen aber die Erklärung über Fernverbreitung. Disjunktionen dieser Art können ferner in *Liquidambar* (Hamamelidaceae, LI & DONOGHUE 1999) und *Cercis* (Fabaceae DAVIS *et al.* 2001) beobachtet werden. Eine Kolonisierung der Neuen Welt von Europa ausgehend, könnte über die Nordatlantik-Brücke, deren Existenz man bis in das frühe Tertiär vermutet, erfolgt sein. Diese Landmasse verband Nordamerika und Südeuropa über Schottland und Südgrönland oder über Nordgrönland und Fennoskandinavien (TIFFNEY 1985). Es wird jedoch vermutet, dass diese Verbindungen bereits vor 50 bzw. 40 Mill. Jahren getrennt wurden, so dass für *Linum* eine Ausbreitung über diese Landbrücken eher nicht in Frage kommt (TIFFNEY & MANCHESTER 2001). Vielmehr scheint ein Fernverbreitungsereignis innerhalb der 'Gelben Gruppe' von der Alten zur Neuen Welt wahrscheinlich, wobei nicht auszuschließen ist, dass es zu dieser Zeit verschiedene Inseln zwischen den Kontinenten gab, so dass der Atlantische Ozean auch über mehrere Zwischenschritte überwunden werden konnte (TIFFNEY & MANCHESTER 2001). Ein Erreichen des amerikanischen Kontinents über die Bering Landbrücke, wie für die Kolonisierung Amerikas innerhalb der blauen Gruppe angenommen, scheint wenig glaubhaft, da keine gelbblühenden Arten im Osten Asiens verbreitet sind. Ein Aussterben dieser Arten kann zwar nicht ausgeschlossen werden, ist aber eher unwahrscheinlich.

### *Verbreitung von Linum in Amerika*

Auffallend ist, dass von den etwa 41 nordamerikanischen *Linum* Vertretern der 'Gelben Gruppe' lediglich elf im östlichen Nordamerika verbreitet sind. Hierzu zählen alle sieben Arten der Sektion *Linopsis* Untersektion *Linopsis* Serie *Virginiana* (SMALL) ROGERS (*L. medium* (PLANCH.) BRITTON, *L. striatum* WALTER & *Linum virginianum* L.; Abb. 7 & 8), die unter den Vertretern der Untersektion *Linopsis* als am stärksten abgeleitet gelten (ROGERS 1963). Sie besitzen unter anderem vollständig entwickelte Scheidewände, keine Staminodien und zeichnen sich durch ein Fehlen der Stipulardrüsen aus. Zwei der übrigen vier im östlichen Teil Nordamerikas vorkommenden Arten (*L. arenicola* (SMALL) WINKL. & *L. bahamense* NORTHR.), sind wahrscheinlich aus dem Westen in dieses Gebiet eingewandert, da der größte Teil der mit ihnen nah verwandten Arten dort beheimatet ist (ROGERS 1963). Die verbleibenden Arten (*L. rigidum* PURSH, *L. sulcatum* RIDDELL) werden zur Untersektion *Rigida* gezählt, die als am stärksten abgeleitet in den Linaceae gilt (ROGERS 1968). Auch der größte Teil dieser Arten kommt im Westen des nordamerikanischen Kontinents vor. Da aber *L. sulcatum* morphologisch betrachtet, als Übergangsart zwischen den Vertretern der Untersektionen *Linopsis* und *Rigida* gilt, wäre aus biogeographischer Sicht auch denkbar, dass die Sektion *Rigida* in Zentralamerika bzw. im westlichen Nordamerika ihren Ursprung hat.

### *Südamerika / Südafrika*

Das in der *rbcL*-Phylogenie angedeutete Schwesterverhältnis von südamerikanischen und südafrikanischen *Linum*-Arten (Abb. 4) findet durch die ITS-Phylogenie keine Bestätigung. Jedoch deutet MILDNER & ROGERS (1978) auf morphologische Ähnlichkeiten zwischen Lein-Arten dieser beiden Regionen hin. Eine ähnliche Disjunktion zeigt sich innerhalb der aus zwei Gattungen bestehenden Familie der Thurniaceae, die aus der südafrikanisch verbreiteten Gattung *Prionium* und der südamerikanischen *Thurnia* besteht (GIVNISH *et al.* 1999). Die vorliegenden molekularen Rekonstruktionen geben keinen genauen Aufschluss über die Beziehungen der *Linum*-Arten der Neuen Welt und Südafrikas. Somit kann nicht endgültig geklärt werden, wie es zu einer Besiedlung der Kapregion kam. Ein mehr Arten umfassender Datensatz, vor allem mit nordamerikanischen Arten, die morphologisch betrachtet als ursprünglich gelten (Sektion *Linopsis* Untersektion *Linopsis* Serie *Linopsis*) wäre zu empfehlen, um die verwandtschaftlichen

Beziehungen zwischen südafrikanischen und südamerikanischen *Linum*-Arten zu klären, bzw. gegebenenfalls ein neues Szenario für die Besiedlung dieser Gebiete zu postulieren.

### 3.4.6 Merkmalsevolution innerhalb der Linaceae

#### 3.4.6.1 Blattmorphologie

Viele Lein-Arten sind bezüglich ihrer Blattmorphologie sehr variabel und nicht selten sind die innerartlichen Unterschiede größer als die zwischen Arten. Eine Einteilung verschiedener Gruppen bezüglich der Blattform oder -größe gestaltet sich daher recht schwierig. Betrachtet man allerdings den Blattstiel bzw. die Ausbildung von Stipeln, lassen sich evolutionäre Tendenzen innerhalb der Linaceae feststellen. Hinsichtlich der Ausbildung von Nebenblättern fällt auf, dass lediglich die Vertreter der Hugonioideae und die sich basal in den Linoideae abspaltenden Gattungen *Anisadenia*, *Reinwardtia* und *Tirpitzia* laubig entwickelte, oft hinfällige Nebenblätter aufweisen (Abb. 24). In den übrigen Linoideae sind blattartige Stipeln nicht zu beobachten. Allerdings weisen einige Arten an der Basis der Blätter ein paar bräunlich-schwarze Strukturen auf, die in der Literatur als Stipulardrüsen (Abb. 11 I) bezeichnet werden. Ob diese Gebilde eine sekretorische Funktion übernehmen, ist bislang nicht geklärt. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit konnten jedoch keine Stomata an der Oberfläche dieser Strukturen erkennen. Weitere Analysen sind erforderlich, um eine Aussage über die mögliche Funktion der Stipulardrüsen treffen zu können. Betrachtet man die Evolution dieser Strukturen, so scheinen sie in den Linoideae mindestens fünfmal in der Gruppe der gelbblühenden Lein-Arten entstanden zu sein. Die Vertreter der 'Blauen Gruppe' zeichnen sich hingegen stets durch das Fehlen von Stipulardrüsen aus.

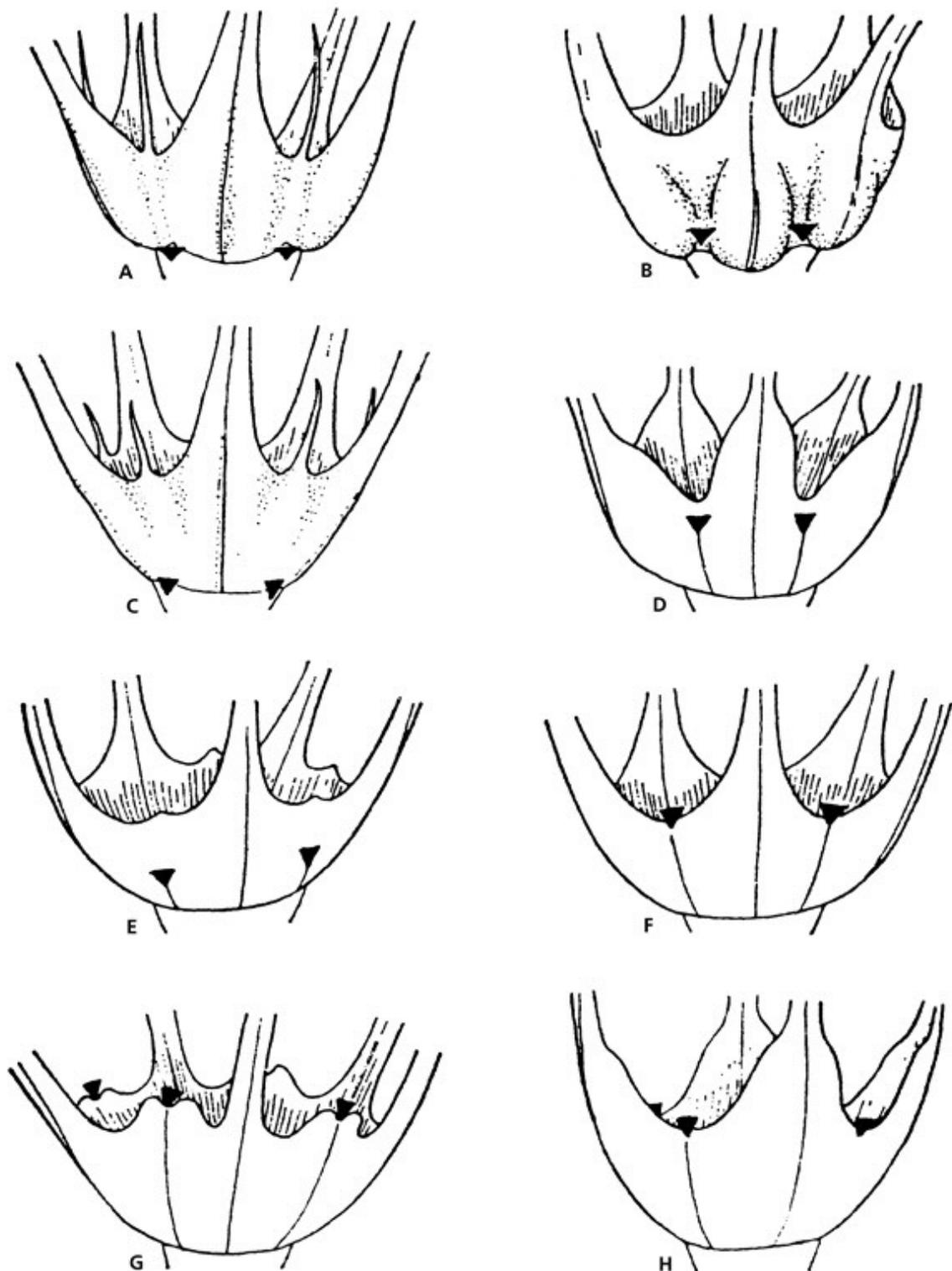
In der Evolution des Blattstiels in den Linoideae, ist ein Trend in Richtung Reduktion des Petiolus zu beobachten. Die Vertreter der Hugonioideae und die der Gattungen *Anisadenia*, *Reinwardtia* und *Tirpitzia* zeichnen sich durch den Besitz eines Blattstiels aus, während alle übrigen Linoideae sitzende Blätter besitzen (Abb. 24). Sowohl der Besitz eines Blattstiels als auch der von laubig entwickelten Nebenblättern kann in den Linaceae als plesiomorphes Merkmal angesehen werden.



**Abb. 24:** Evolution von Stipulardrüsen in den Linoideae. Dargestellt ist ein 'Supertree' welcher auf der Basis der Topologien des *rbcl*-Datensatzes und zweier ITS-Datensätze ('Gelbe Gruppe', 'Blaue Gruppe') beruht. Die Äste und die sich im Anschluss befindlichen Ovale stellen die Evolution von Nebenblättern / Stipulardrüsen dar, während die Ovale hinter den Artnamen den Besitz oder das Fehlen von Blattstielen dokumentieren.

### 3.4.6.2 Androeceum

In den Hugonioideae lässt sich in der Regel ein diplostemones, im Falle von *Roucheria* ein triplostemones Androeceum beobachten (Plesiomorphie), welches in den Linoideae eine Reduktion auf einen Staubblattkreis erfährt (Synapomorphie). Im Falle vieler Linoideae kommt es jedoch nicht zu einem vollständigen Verlust des zweiten, inneren Kreises. Vielmehr können an dieser Position Staminodien beobachtet werden (Abb. 12). In *Reinwardtia*, *Tirpitzia* und zahlreichen *Linum*-Arten sind diese fadenförmig und befinden sich zwischen den unverwachsenen Bereichen der Filamente. Vor allem in den Arten der Neuen Welt erfahren diese Strukturen jedoch erneut eine starke Reduktion. Während die Arten in Südamerika und Südafrika kleine, dreieckig geformte Staminodien besitzen, fehlen diese in vielen nordamerikanischen Arten, wie z. B. *Hesperolinon micranthum*, *Sclerolinon digynum*, *Linum kingii* oder *L. berlandieri* (Abb. 25) vollständig. Interessanterweise ist mit der Reduktion der Staminodien eine einhergehende Verschiebung der Ansatzstelle der Petalen zu beobachten. In den basal abspaltenden Arten der Linaceae sitzen die Blütenblätter basal an der Außenseite des Filamenttubus zwischen den Staubblättern an, während in abgeleiteten Arten (z. B. *L. kingii*, *Radiola linoides*; Abb. 25) eine Verschiebung der Ansatzstelle bis zum oberen Rand des Tubus beobachtet werden kann. Der Verlust der Staminodien und die damit einhergehende Verschiebung der Ansatzstelle der Petalen sind innerhalb der Linaceae mehrfach entstanden. Diese Form der Reduktion kann in Vertretern der Sektion *Linum* (*L. usitatissimum*, *L. bienne*), *Radiola linoides* und zahlreichen nordamerikanischen Arten beobachtet werden.



**Abb. 25:** Verschiedene Darstellungen des Androeceums in den Linaceae. A: *Linum lewisii* (Sekt. *Linum*), B: *L. usitatissimum*, (Sekt. *Linum*), C: *L. catharticum*, (Sekt. *Cathartolinum*, D: *Sclerolinon digynum*, E: *L. rupestre*, *L. aristatum* oder *L. berlandieri* (Sekt. *Linopsis*), F: *L. kingii* oder *L. neomexicanum* (Sekt. *Linopsis*), G: *Hesperolinon clelandii*, H: *Radiola linoides*. Die Dreiecke markieren die Ansatzstellen der Petalen. Abbildungen aus SHARSMITH (1961).

### 3.4.6.3 Gestaltung des Gynoeceums

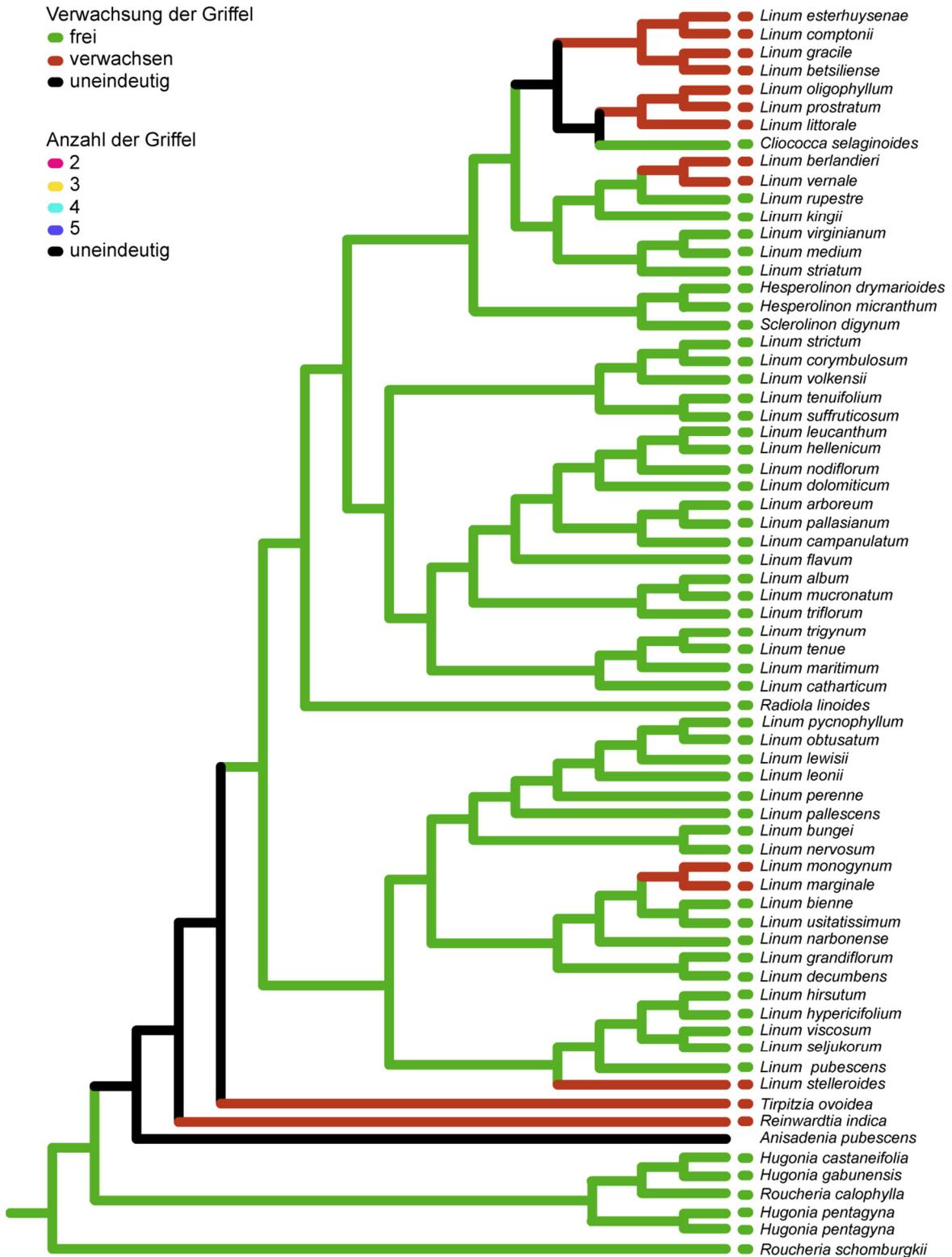
#### *Anzahl und Verwachsung der Griffel*

Das Gynoeceum der meisten Linaceae besteht aus fünf Fruchtblättern. Innerhalb der Familie können jedoch bezüglich der Zahl der Griffel und ihrer Verwachsung generelle evolutionäre Tendenzen beobachtet werden. Betrachtet man die Verwachsung der Griffel, so sind freie Griffel plesiomorph und innerhalb der Familie kam es wenigstens fünfmal zu einer mehr oder weniger vollständigen Verwachsung dieser (Abb. 26). Interessanterweise ist eine Vereinigung sowohl in den basal abspaltenden Gattungen *Reinwardtia* und *Tirpitzia* als auch in den abgeleiteten neuweltlichen und südafrikanischen Arten zu beobachten.

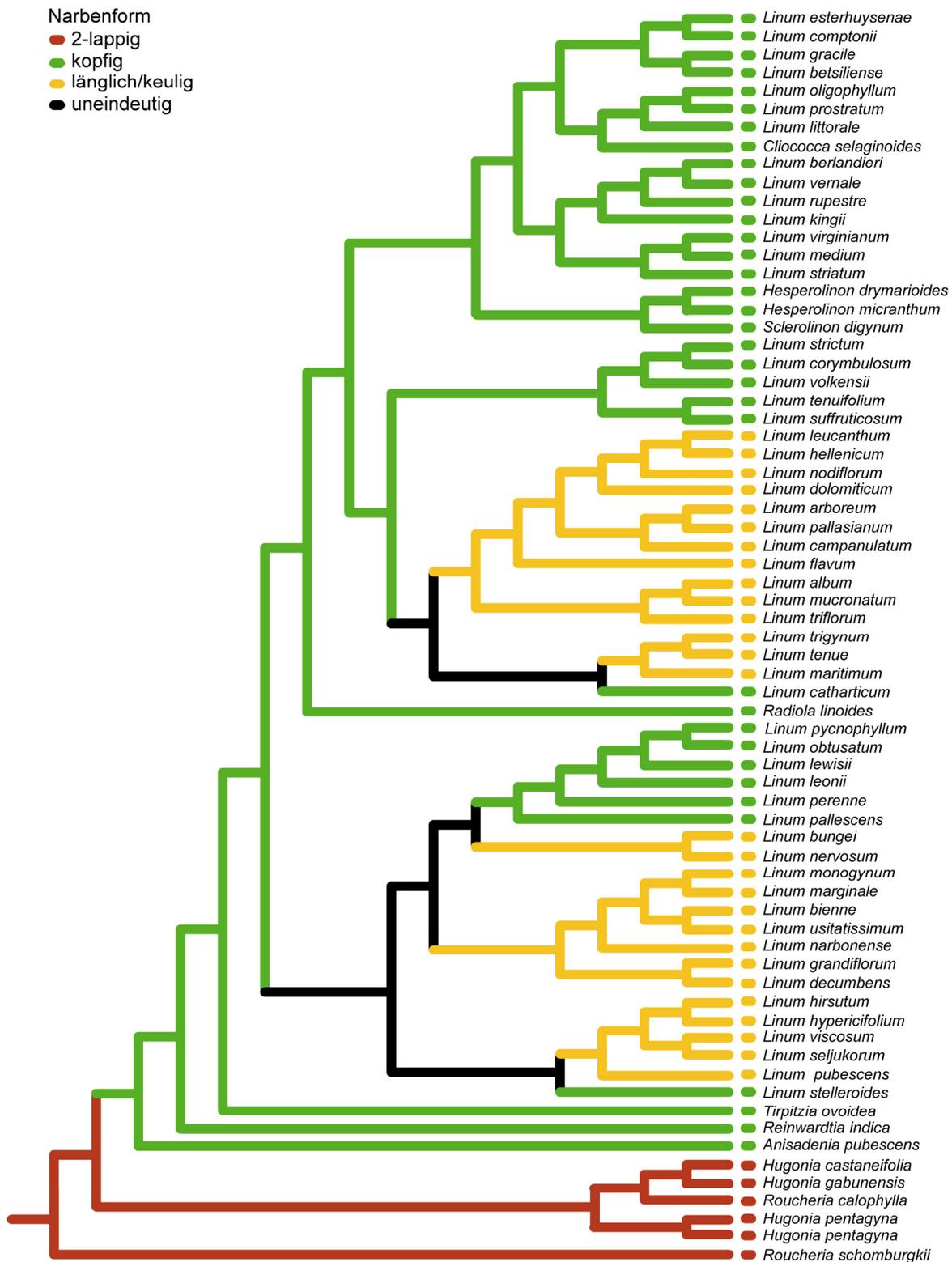
Betrachtet man die Anzahl der Fruchtblätter in den Linaceae, so ist ein ähnliches Bild zu beobachten. Die Mehrheit der Arten besitzt ein fünfzähliges Gynoeceum, welches in den basal abspaltenden Gattungen *Anisadenia* und *Reinwardtia*, sowie in *Radiola*, *Sclerolinon* und *Hesperolinon* eine Reduktion erfährt (Abb. 26).

#### *Form der Narben*

Die Narben der Linaceae zeigen eine erstaunliche Variabilität, die sich unter anderem in der Ausbildung von verschieden geformten und unterschiedlich großen Stigmata bemerkbar macht (Abb. 13). Für die Rekonstruktion der Evolution der Narbengestalt wurden drei verschiedene Grundformen unterschieden: +/- zweilappig, kopfig und länglich. Während die Vertreter der Hugonioideae eine einheitliche Gestaltung der Narbe zeigen - die Narben sind entweder scheibenförmig mit einer länglichen Vertiefung bzw. zweilappig - können in den Linoideae verschiedene Formen beobachtet werden. Eine rundliche Struktur der Stigmata ist in den Linoideae als ursprünglicher Zustand anzusehen, aus dem sich mindestens zweimal eine länglichere Form entwickelt hat (Abb. 27). Nimmt man für die Merkmalsevolution eine *accelerated transformation* an, wird eine längliche Form der Narben als plesiomorphes Merkmal für die Sektion *Linum* gewertet, welches in '*Linum* I' eine Umwandlung in kopfige Narben erfuhr (*Linum perenne* Gruppe).



**Abb. 26:** Evolution der Verwachsung der Griffel in den Linoideae. Dargestellt ist ein 'Supertree' welcher auf der Basis der Topologien des *rbcl*-Datensatzes und zweier ITS-Datensätze ('Gelbe Gruppe', 'Blaue Gruppe') beruht. Die Äste und die sich im Anschluss befindlichen Ovale stellen die Evolution der Griffelverwachsung dar, während die Ovale hinter den Artnamen die Anzahl der Griffel wiedergeben.



**Abb. 27:** Evolution der Narbenform in den Linoideae. Dargestellt ist ein 'Supertree' welcher auf der Basis der Topologien des *rbcl*-Datensatzes und zweier ITS-Datensätze ('Gelbe Gruppe', 'Blaue Gruppe') beruht. Die Äste und die sich im Anschluss befindlichen Ovale stellen die Evolution der Narbenform in den Linaceae dar.

### 3.4.7 Pollenkörner und Chromosomenzahl

Die Pollenkörner der Linaceae weisen eine recht große Variabilität auf. Neben den am häufigsten vorkommenden tricolpaten findet sich eine Reihe von multiaperturaten Formen, die innerhalb der Gattung *Linum* wohl mehrfach unabhängig voneinander entstanden sind (Abb. 28). Während in der Alten Welt fast ausschließlich tricolpate Pollenkörner beobachtet werden können, finden sich in Australasien (*Linum marginale*, *L. monogynum*) und einigen Linien in Nordamerika (Sekt. *Linopsis*, Untersektion *Rigida* und Untersektion *Linopsis* Serie *Linopsis*) solche mit multiporaten bzw. multicolporaten Aperturen.

Interessanterweise scheint sich in einigen Taxa die Zahl und Form der Öffnungen in Folge von Polyploidisierung zu ändern. So können in der sonst tricolpaten Art *L. perenne*, zwei tetraploide Unterarten (*L. perenne* subsp. *anglicum* & *L. perenne* subsp. *montanum*) beobachtet werden, die sich vor allem durch ihre jeweilige Verbreitung und den sechsporigen Pollenkörnern von den übrigen Unterarten unterscheiden.

Die ursprünglichsten Pollenkörner sind nach SAAD (1961) und XAVIER *et al.* (1980) tricolpate Pollenkörner mit langen und breiten Colpi, die am Ende zugespitzt sind. Sie sind besonders charakteristisch für Vertreter der Alten Welt, dem südöstlichen Südamerika und Mexiko. Doch nicht nur hinsichtlich der Keimporen zeichnen sich evolutionäre Tendenzen ab. XAVIER *et al.* (1980) vermuten ebenso eine Zunahme in der Dicke der Exine, sowie eine Zunahme der Komplexität in der Oberflächenskulpturierung in den als abgeleitet geltenden Gruppen der Linaceae. Aufgrund der mangelnden Auflösung in den molekularen Phylogenien lassen sich diese Hypothesen leider nicht überprüfen.

Soweit Chromosomenzahlen in der Gattung *Linum* bekannt sind, zeigt sich, dass die niedrigsten Chromosomenzahlen mit  $n = 8$ ,  $9$  oder  $10$ , mit Ausnahme von *Sclerolinon digynum* ( $n = 6$ , westl. Nordamerika), grundsätzlich in Arten des Mediterraneums zu finden sind. In den Arten der Neuen Welt wurden bislang stets deutlich höhere Chromosomenzahlen mit  $n = 15$ ,  $18$  oder  $36$  angegeben, die auf ein oder mehrere Polyploidisierungsereignisse in der Evolution dieser Arten deuten.

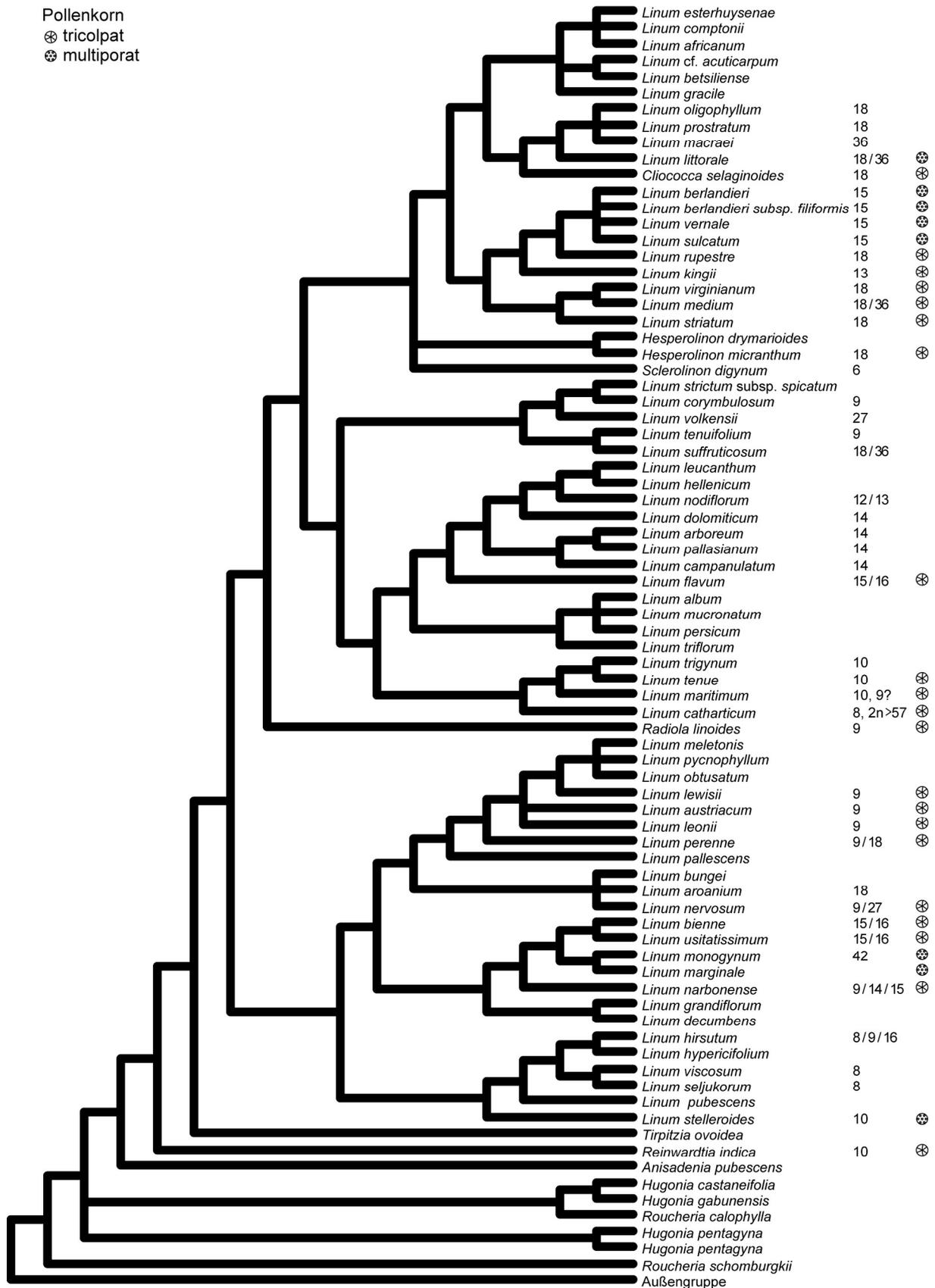


Abb. 28: Evolution der Chromosomenzahl und der Anzahl der Aperturen in den Linoideae. Dargestellt ist ein 'Supertree' welcher auf der Basis der Topologien des *rbcl*-Datensatzes und zweier ITS-Datensätze ('Gelbe Gruppe', 'Blaue Gruppe') beruht.

**4 Evolution von Reproduktions-  
systemen in den Linoideae (Linaceae)  
unter besonderer Berücksichtigung  
der Heterostylie**



## 4.1 Einleitung

---

Zwittrige (hermaphrodite) Blüten sind in den Spermatophyten die am häufigsten zu beobachtende Form der Geschlechterverteilung. In den Angiospermen sind etwa 71 % der Arten durch Zwitterigkeit charakterisiert (RICHARDS 1997). Das gemeinsame Vorkommen von Staub- und Fruchtblättern innerhalb einer Blüte erleichtert die Möglichkeit der Selbstbestäubung und dadurch auch die einer sich anschließenden Selbstbefruchtung. Regelmäßige Autogamie innerhalb von Populationen führt jedoch zu einer anwachsend homozygoten Nachkommenschaft, wodurch es innerhalb dieser Populationen einerseits zu einer Verringerung der genetischen Variabilität, andererseits zu einer erhöhten Expression rezessiver Allele kommt. Besitzen diese rezessiven Allele schadhafte Eigenschaften, führt dies unter Umständen zu einer erheblichen Reduktion der Fitness (Inzuchtdepression, CHARLESWORTH & CHARLESWORTH 1987).

In den Spermatophyta entwickelten sich verschiedene Strategien, um Selbstbestäubung zu verringern bzw. Selbstbefruchtung zu verhindern. Die effektivste Möglichkeit Selbstbestäubung zu entgehen ist die Diözie. Innerhalb diözischer Arten kann zwischen Individuen mit ausschließlich männlichen bzw. weiblichen Blüten unterschieden werden. Eine Selbstbestäubung ist demnach nicht möglich. Diözie ist in Pflanzen, anders als in Tieren, eher selten und kann innerhalb der Angiospermen nur in etwa 5% der Arten beobachtet werden (RICHARDS 1997). Da die Mehrheit der Bedecktsamer, wie bereits erwähnt, im Besitz zwittriger Blüten ist, entwickelten sich weitere strukturelle Besonderheiten, um die Selbstbestäubung zu verringern. Generell können zwei grundlegende Strategien unterschieden werden: eine zeitliche und eine räumliche Trennung.

Im Falle der Dichogamie (zeitliche Trennung) reifen die Antheren bzw. die Narben zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Je nachdem, ob zuerst die Narbe rezeptiv ist oder die Staubbeutel gereift sind, spricht man von Proterogynie (Vorweiblichkeit, z. B. in

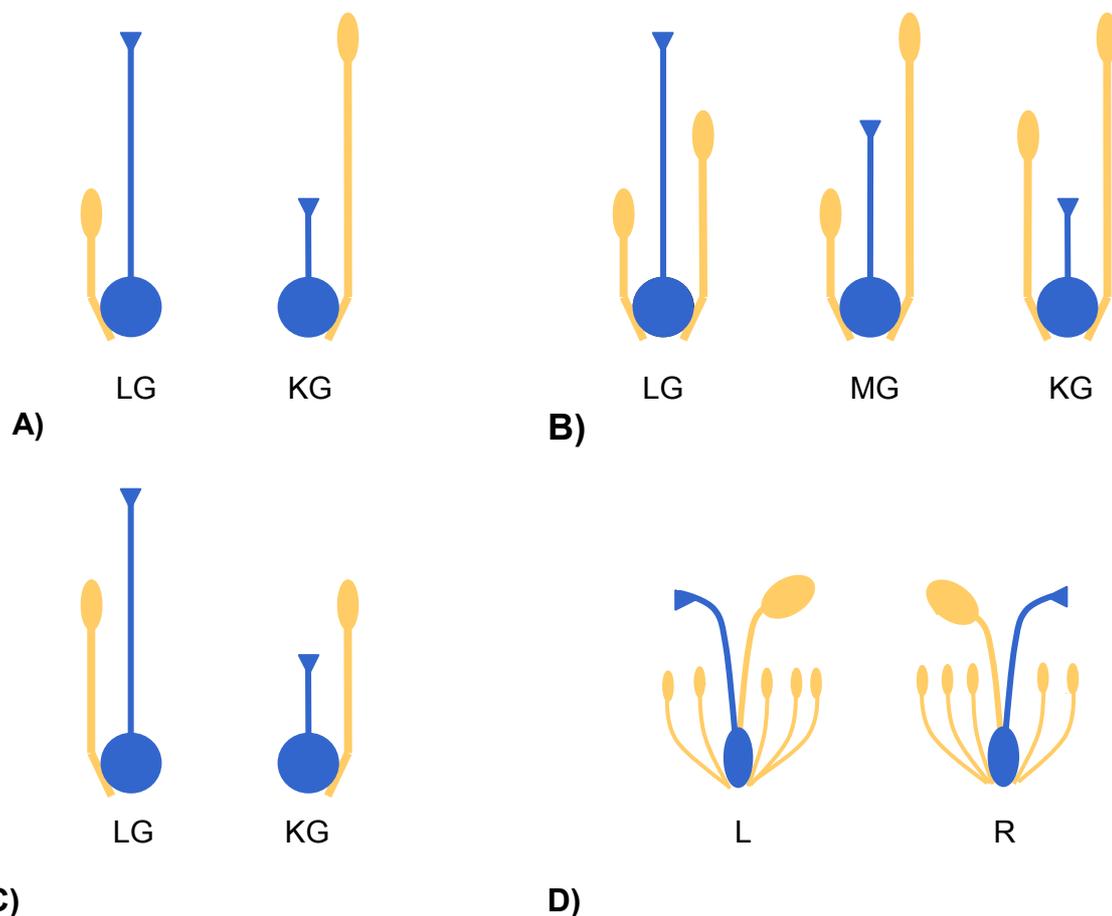
*Magnolia grandiflora* und *Aristolochia gigantea*) oder Proterandrie (Vormännlichkeit, z. B. in *Geranium pratense* und *Epilobium angustifolium*, LEINS 2000).

Unter Herkogamie hingegen versteht man die räumliche Trennung von Narben und Antheren innerhalb der Blüte. Zahlreiche Strategien, unter anderem 'approach' oder 'reverse herkogamy', werden hier beobachtet. In Arten, die sich durch 'approach herkogamy' auszeichnen, sind die Griffel gegenüber den Filamenten deutlich verlängert, während in Arten mit 'reverse herkogamy' ein umgekehrtes Längenverhältnis zu beobachten ist. 'Approach herkogamy' ist in den Angiospermen wesentlich häufiger als 'reverse herkogamy' und kommt in etwa 15 % aller Blütenpflanzen vor (WEBB & LLOYD 1986), unter anderem in *Passiflora*, *Yucca*, *Lilium* (FRYXELL 1957) und *Oenothera* (RAVEN 1979). 'Reverse herkogamy' ist aus *Tulbaghia violacea* (Alliaceae) und *Dracophyllum* (Epacridaceae, WEBB & LLOYD 1986) bekannt.

Besonders interessant ist aber der Griffeldimorphismus, bei welchem innerhalb einer Art Individuen mit verschiedenen Blütentypen ausgebildet werden. Die Ausprägung vier spezieller Phänomene (Abb. 29) dieses Dimorphismus und ihre Evolution waren in der Vergangenheit vermehrt im Fokus zahlreicher Untersuchungen. Hierzu zählen Distylie, Tristylie, Narben-Höhen-Dimorphismus und Enantiostylie (JESSON & BARRETT 2002, BARRETT & HARDER 2005).

In distylen Pflanzen unterscheidet man generell zwischen zwei verschiedenen Formen: Individuen mit langgriffeligen bzw. kurzgriffeligen Blüten. Während bei Langgriffeln die Narben die Antheren überragen, findet sich bei Kurzgriffeln ein reziprokes Verhältnis bezüglich Filament- und Griffellänge; hier überragen die Antheren die Narben (Abb. 29 A). Liegen zwei Kreise von Staubblättern vor, so kann wie z. B. im Falle von *Lythrum salicaria* Tristylie beobachtet werden. Im Gegensatz zu distylen Arten können in diesen drei verschiedene Positionen innerhalb der Blüten unterschieden werden, auf denen sich Narben und Antheren befinden (Abb. 29 B). Die Besonderheit im Vergleich zu distylen Pflanzen besteht darin, dass in diesen Blüten stets zwei von drei Positionen von den Antheren besetzt sind. Des Weiteren werden auch Arten beobachtet, in denen sich Individuen lediglich in der Länge der Griffel unterscheiden, während sich die Antheren in allen Pflanzen auf etwa der gleichen Höhe befinden. In diesem Fall spricht man von einem Narben-Höhen-Dimorphismus ('*stigma height dimorphism*', Abb. 29 C). Ein besonderer Fall des Griffeldimorphismus ist die sogenannte Enantiostylie. Hier unterscheiden sich die

verschiedenen Formen nicht in der Länge der Griffel, sondern in der Orientierung einer oder aller Narben innerhalb der Blüten (Abb. 29 D). So werden z. B. in *Wachendorfia paniculata* Individuen mit ausschließlich 'linksgriffeligen' bzw. 'rechtsgriffeligen' Blüten beobachtet (JESSON & BARRETT 2002). Diese Form der Enantiostylie wird als dimorphe Enantiostylie bezeichnet und ist ausgesprochen selten. Bisher konnte sie lediglich in den Haemodoraceae (JESSON & BARRETT 2002), den Pontederiaceae (BARRETT *et al.* 2000) und den Tecophilaeaceae (DULBERGER & ORNDUFF 1980) beobachtet werden. Häufiger hingegen ist die monomorphe Enantiostylie, die aus zahlreichen Familien u. a. Fabaceae, Gesneriaceae und Solanaceae (JESSON & BARRETT 2003) bekannt ist. Hier kommen innerhalb eines Individuums sowohl linksgriffelige als auch rechtsgriffelige Individuen vor.



**Abb. 29:** Schematische Darstellung verschiedener Formen der Heterostylie. A: Distylie; B: Tristylie; C: Narben-Höhen-Dimorphismus; D: Enantiostylie. LG = Langgriffel, MG = mittellanger Griffel, KG = Kurzgriffel, L = Linksgriffel, R = Rechtsgriffel. Verändert nach BARRETT *et al.* (2000).

In den Linaceae kann jeder dieser vier Fälle des Griffeldimorphismus beobachtet werden, wobei Enantiostylie lediglich in *Linum suffruticosum* in abgewandelter Form in Erscheinung tritt (ARMBRUSTER *et al.* 2006). Distylie wird hingegen in den Leingewächsen häufig beobachtet, ist jedoch interessanterweise, zumindest innerhalb der Linoideae, auf die Alte Welt beschränkt. Bezüglich der Verteilung von Heterostylie innerhalb der Gattung *Linum* ist diese in allen Sektionen, außer der monotypischen *Cathartolinum*, vertreten. Tristylie hingegen ist überwiegend aus den Hugonioideae bekannt und wurde bislang lediglich in *L. subbiflorum* JUZ. innerhalb der Linoideae beobachtet (YUZEPCCHUK 1974).

Doch nicht nur bzgl. des Griffeldimorphismus ist innerhalb der Linaceae eine beachtliche Variation zu beobachten. Auch homostyle Arten sind durchaus variabel. Neben Blüten, in denen sich Antheren und Narben auf etwa der selben Höhe befinden (z. B. *Linum leonii*, *L. tenuifolium*, *Radiola linoides*), sind auch solche mit 'approach herkogamy' bekannt (z. B. *L. lewisii*, *L. monogynum*). 'Reverse herkogamy' konnte in den Linaceae bislang nicht beobachtet werden.

#### *Begleitende Polymorphismen*

Neben der unterschiedlichen Position von Antheren und Narben gibt es eine Reihe von Merkmalen, die häufig mit dem vorgestellten Längenpolymorphismus assoziiert sind, die sogenannten begleitenden Polymorphismen oder 'ancillary polymorphisms' (DULBERGER 1992). Diese sind je nach Art unterschiedlich ausgeprägt und betreffen in erster Linie die Struktur der Pollenkörner sowie die der Narben. Während im Aufbau der Stigmata sehr häufig Unterschiede in der Länge und der Oberflächenstruktur der Narbenpapillen zu beobachten sind, variieren die Pollenkörner vor allem in der Struktur der Exine (DULBERGER 1992). In den Linaceae sind oben genannte Polymorphismen in zahlreichen heterostylen Arten beschrieben worden (DULBERGER 1973, 1974, 1981, ROGERS 1979, 1980b). Farbpolymorphismen der Pollenkörner bzw. Variation ihrer Durchmesser sind aus verschiedenen Familien (u. a. SCHILL *et al.* 1985, SCHOU 1983) bekannt, wurden jedoch bislang in den Linaceae nicht beobachtet. Bezüglich der Selbstinkompatibilitätsreaktion ist die Mehrheit der distylen Arten, so auch die der Linaceae, durch heteromorphe sporophytische Selbstinkompatibilität (heteromorphe SSI) gekennzeichnet (DULBERGER 1992). Vegetative Unterschiede wurden zwischen lang- und kurzgriffeligen Pflanzen bislang nicht beobachtet (LLOYD & WEBB 1992).

### *Evolution heterostyler Systeme*

Das Vorkommen von sowohl hetero- als auch homostylen Arten in den Linaceae wirft die Frage auf, wie diese unterschiedlichen Formen innerhalb der Familie entstanden sind. Bezüglich der Frage nach der Evolution von Heterostylie haben sich in den vergangenen Jahren vor allem zwei Theorien (Abb. 30) etabliert: das 'Modell zur Verhinderung von Selbstbefruchtung' (*'selfing avoidance model'*, CHARLESWORTH & CHARLESWORTH 1979) und das 'Pollentransfer-Modell' (*'pollentransfer model'*, LLOYD & WEBB 1992). Diese beiden Modelle unterscheiden sich vor allem in der Reihenfolge, in der Selbstinkompatibilität und räumliche Trennung von Antheren und Narben im Zuge der Evolution heterostyler Systeme entstanden sind.

#### Modell zur Verhinderung von Selbstbefruchtung (*'selfing avoidance model'*)

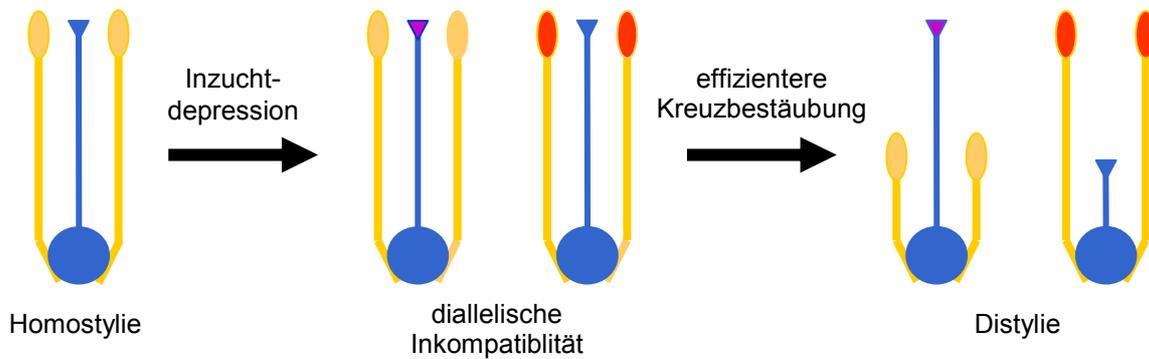
Nach Auffassung von CHARLESWORTH & CHARLESWORTH (1979) entwickelte sich zuerst die Selbstinkompatibilität durch gekoppelte Mutationen in Pollenkörnern und Narben aus einem homostylen Vorfahren. Der erste Schritt wäre die Mutation zu einem neuen Pollentyp, der weder in der Lage ist, die Pflanze von der er gebildet wurde, noch Pflanzen mit dem gleichen Pollenkorntyp zu befruchten. Darauf folgt eine gekoppelte Mutation im Bereich der Narbe, die inkompatibel bezüglich des Originalpollens, aber kompatibel bzgl. des neugebildeten Pollens wäre. Erst später entwickelte sich in einem weiteren Schritt das reziproke Längenverhältnis von Griffeln und Filamenten in den unterschiedlichen Blütentypen, um die Bestäubung mit inkompatiblen Pollen zu reduzieren, bzw. mit kompatiblen Pollen zu erhöhen (Abb. 30)

#### Pollentransfer-Modell (*'pollentransfer model'*)

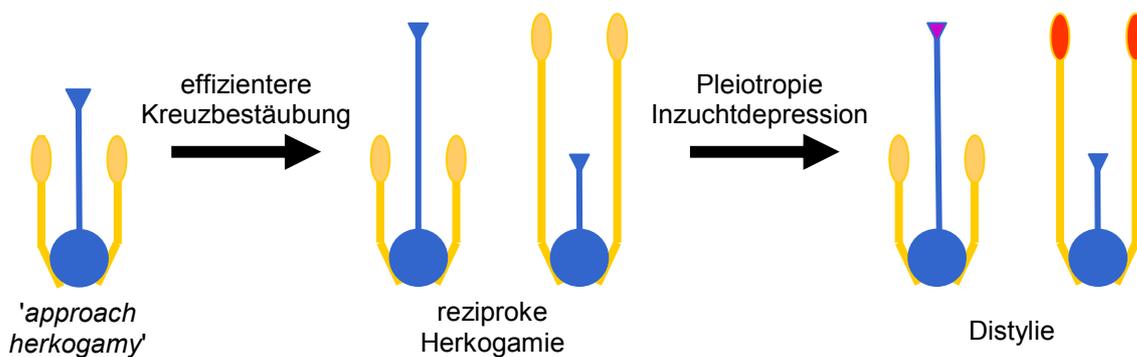
LLOYD & WEBB (1992) griffen DARWINS (1877) Erklärungen für die Evolution von Heterostylie auf und entwickelten diese weiter. Ihrer Meinung nach gingen heterostyle Arten aus solchen mit *'approach herkogamy'* hervor. Begründet wird diese These von LLOYD & WEBB (1992) vor allem durch das Parsimonie-Prinzip, wonach in ihrem Modell nur ein Schritt in der Evolution von Homo- zu Heterostylie vonnöten wäre. Ferner sehen sie in der Häufigkeit von *'approach herkogamy'* in den Angiospermen ein Argument für die Richtigkeit ihrer Annahmen. Durch die Entstehung der reziproken Anordnung von Antheren und Narben wird ein präziserer Pollentransfer zwischen Individuen unterschiedlicher morphologischer Ausprägung gewährleistet. Dieser ist, ihrer und DARWINS Meinung nach, die treibende Kraft für die Entstehung der Heterostylie. Im Zuge der weiteren Evolution entwickelte sich

schließlich das Selbstinkompatibilitätssystem und später erst die weiteren Polymorphismen, die mit der Heterostylie assoziiert sind.

#### Modell zur Verhinderung von Selbstbefruchtung



#### Pollentransfer Modell



**Abb. 30:** Schematische Darstellung der zwei meistdiskutierten Evolutionsmodelle der Heterostylie. A: Modell zur Verhinderung von Selbstbefruchtung (*'selfing avoidance model'*, CHARLESWORTH & CHARLESWORTH 1979). B: Pollentransfer-Modell (*'pollen transfer model'*, LLOYD & WEBB 1992). Abbildung verändert nach BARRETT (1992).

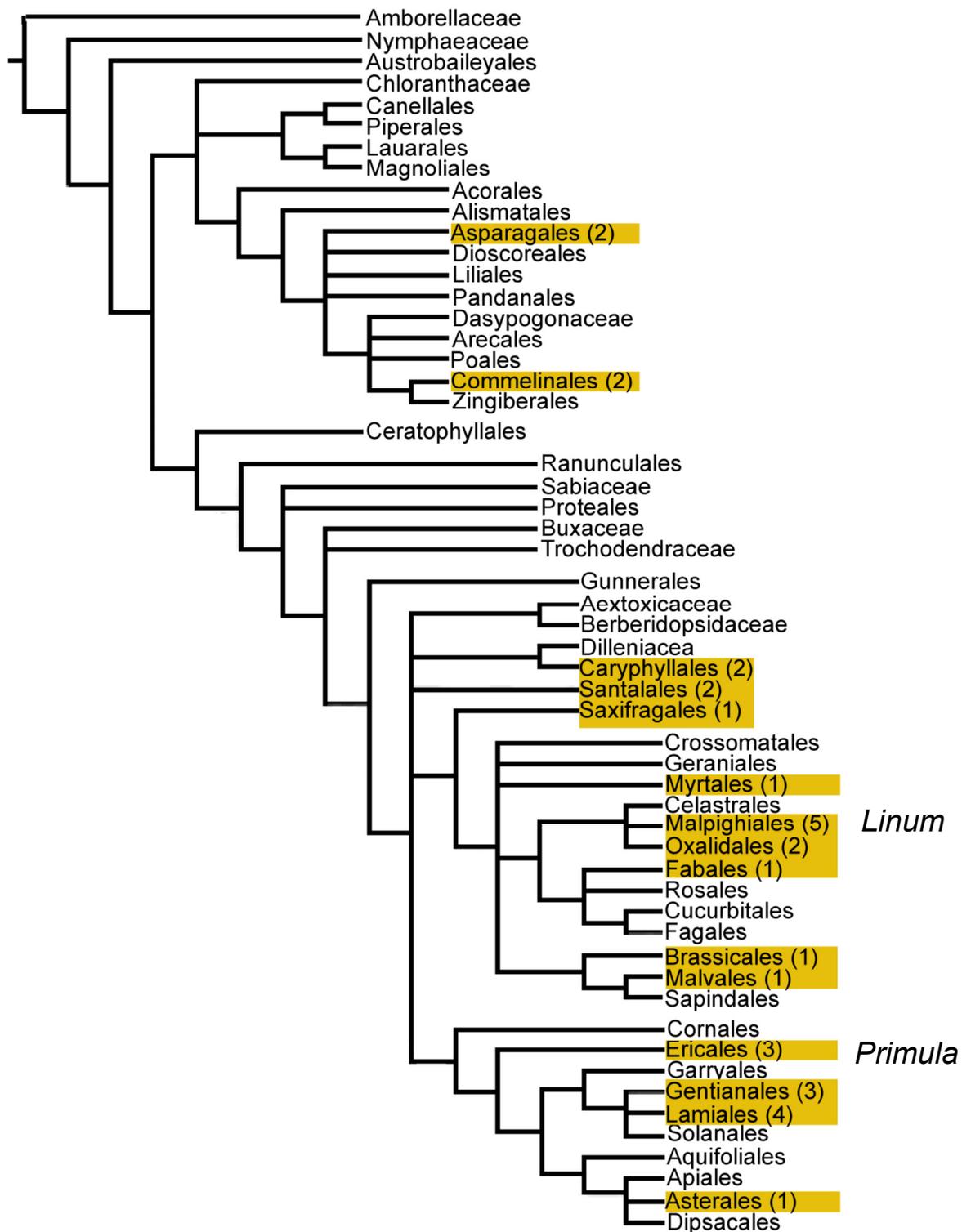
MATHER & DEWINTON diskutierten 1941 noch eine weitere Möglichkeit der Evolution von Heterostylie, die jedoch keinen großen Zuspruch erlangte. Sie nahmen an, dass morphologische und physiologische Merkmale des Polymorphismus simultan entstanden.

Betrachtet man die Verteilung von Familien mit heterostylen Vertretern in den Angiospermen (Abb. 31), so scheint Heterostylie mehrfach unabhängig in den Blütenpflanzen entstanden zu sein. Um die Frage der Entstehung der Heterostylie samt begleitenden Polymorphismen in den einzelnen Familien zu klären, ist es wichtig, den diesbezüglich ancestralen Zustand für die einzelnen Familien auf der

Basis von molekularen Phylogenien zu rekonstruieren. Bislang wurde dieser Ansatz nur für wenige Familien verfolgt, u. a. innerhalb der Pontederiaceae (KOHN *et al.* 1996), Primulaceae (CONTI *et al.* 2000, MAST *et al.* 2004, MAST *et al.* 2006) und Amaryllidaceae (PÉREZ *et al.* 2003, GRAHAM & BARRETT 2004, BARRETT & HARDER 2005). ARMBRUSTER *et al.* (2006) rekonstruierten die Entwicklung von Heterostylie in den Linaceae, wobei sie vor allem europäische Vertreter der Sektion *Linopsis* berücksichtigten. Ihren Ergebnissen zufolge ist Heterostylie mehrfach unabhängig in den Linaceae entstanden.

### *Genetische Grundlagen der Heterostylie*

Mitte des 20. Jahrhunderts befasste sich ERNST (u. a. 1936, 1943, 1957) umfangreich mit der Vererbung der Heterostylie und der mit ihr verbundenen begleitenden Polymorphismen. Durch zahlreiche Kreuzungsexperimente, vor allem mit *Primula hortensis* und *P. viscosa*, zeigte ERNST, dass mindestens drei enggekoppelte Gene an der Vererbung dieser Merkmale beteiligt sind. Diese, häufig auch als 'supergene' (RICHARDS 1997) bezeichnete Kopplungsgruppe, setzt sich aus den mit G/g, P/p und A/a bezeichneten Genen zusammen. Diese kodieren für die folgenden Eigenschaften: G/g für die Länge des Griffels, die Form und Beschaffenheit der Narbenpapillen und die SI-Reaktion des Gynoeceums, P/p für die Pollenkornoberfläche bzw. -größe und SI-Reaktion des Pollens und A/a für die Höhe der Antheren (RICHARDS 1997). Kurzgriffelige Pflanzen sind in Bezug auf diese Gene heterozygot (GPA/gpa), während langgriffelige Pflanzen bzgl. der Kopplungsgruppe homozygot rezessiv (gpa/gpa) sind (WEDDERBURN & RICHARDS 1992). Die am häufigsten in *Primula* zu beobachtenden Rekombinanten sind selbstfertile Homostyle mit den Genotypen Gpa/gpa bzw. gPA/gpa (RICHARDS 1997).



**Abb. 31:** Phylogenie der Angiospermen, verändert nach APG II (2003). Ordnungen mit heterostylen Vertretern sind gelb hervorgehoben. Die Zahl in Klammern gibt die Zahl der Familien mit heterostylen Arten innerhalb der jeweiligen Ordnung an. Nicht abgebildet sind die Boraginaceae, die ebenfalls heterostyle Vertreter aufweisen, da sie innerhalb der Euasteriden 2 nicht eindeutig zugeordnet werden können.

*Ziele der vorliegenden Arbeit*

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit verschiedenen Aspekten der Herkogamy innerhalb der Linoideae und soll vor allem Aufschluss über die Evolution von Reproduktionssystemen und Heterostylie / Homostylie geben. Um dieser Fragestellung nachzugehen, wurden verschiedene Ansätze gewählt.

I) In einem ersten Schritt wurden die Blüten verschiedener *Linum*-Arten aus unterschiedlichen Sektionen bezüglich der Anordnung von Antheren und Narben und im Hinblick auf die begleitenden Polymorphismen, vor allem die der Pollenkornoberfläche, untersucht und entsprechend ihrer Morphologie charakterisiert. Ziel war es, herauszufinden, ob der in Narben und Pollen heterostyler Arten zu beobachtende Polymorphismus in allen Sektionen einheitlich ausgeprägt ist oder ob diesbezüglich Unterschiede zwischen oder innerhalb von Sektionen zu verzeichnen sind. Ferner interessierte, ob die Pollenkornoberfläche von homostylen Arten eher der kurzgriffeliger oder langgriffeliger Individuen nahverwandter, heterostyler Arten ähnelt oder eine davon abweichende Skulpturierung aufweist.

II) Sechs *Linum*-Arten wurden auf die Ausprägung ihres SI-Systems hin untersucht. Anhand von Kreuzungsexperimenten sollte festgestellt werden, inwieweit sich Arten unterschiedlicher Sektionen diesbezüglich unterscheiden.

III) Eine phylogenetische Rekonstruktion der Linoideae bzw. Linaceae wurde anhand von ITS und *rbcL*-Sequenzen erstellt, um die Evolution von Heterostylie / Homostylie innerhalb der Familie bzw. Unterfamilie nachzuvollziehen. Ist Homo- oder Heterostylie in den Linaceae bzw. den Linoideae der anzestrale Zustand? Stellt sich Homostylie als ursprünglicher Zustand in den Linaceae bzw. Linoideae heraus, wäre es möglich, diese Familie / Unterfamilie heranzuziehen, um die Frage nach der Evolution von Heterostylie, Selbstinkompatibilität und begleitenden Polymorphismen zu klären. Entwickelte sich zuerst die diallelische Inkompatibilität (Modell zur Verhinderung von Selbstbefruchtung) oder die reziproke Herkogamie (Pollentransfer-Modell)?

IV) Um die Entstehung von Heterostylie / Homostylie in der Gattung *Linum* besser zu verstehen, wurden zwei nahverwandte *Linum*-Arten herangezogen, die sich bezüglich ihres Fortpflanzungssystems voneinander unterscheiden. Während es sich bei *Linum perenne* um eine heterostyle, kreuzbestäubte Art handelt, ist *L. leonii* homostyl und selbstfertil. Auffallend ist jedoch, dass die Blüten von *L. leonii* eine

erstaunliche Ähnlichkeit zu denen von *L. perenne* aufweisen. Diese werden von verschiedenen Insekten-Arten bestäubt. Kreuzbestäubung kann somit in *L. leonii* nicht ausgeschlossen werden. Um eine Aussage über die genetische Variabilität von heterostylen und homostylen Populationen treffen zu können, wurden jeweils zwei Populationen von *L. perenne* und *L. leonii* mittels AFLPs untersucht.

Ferner interessierte es, wie es im Falle von *Linum leonii* zur erneuten Entstehung von Homostylie innerhalb der Sektion *Linum* kommen konnte. Aufgrund von morphologischen Untersuchungen ist bekannt, dass die Pollenkornoberfläche von *L. leonii* starke Ähnlichkeit zu der kurzgriffeliger Individuen von *L. perenne* aufweist, während die Narbenpapillen stärkere Ähnlichkeiten mit der langgriffeliger Pflanzen von *L. perenne* zeigen (OCKENDON 1968). Des Weiteren weiß man, aufgrund früherer Untersuchungen (LAIBACH 1930), dass Selbstbestäubung bzw. Bestäubung innerhalb einer Blütenmorphie (Intramorphbestäubung) in *Linum* nicht zu Samenansatz führten. Dies entspricht beeindruckender Weise den Beobachtungen, die in der nicht nahverwandten Gattung *Primula* gemacht wurden (Abb. 31, RICHARDS 1997). Aufgrund dieser auffallenden Parallelen zu *Primula* wurden zahlreiche Kreuzungsexperimente durchgeführt, um herauszufinden, ob die genetische Grundlage der Heterostylie sowie die der begleitenden Polymorphismen und der SI-Reaktion mit der in *Primula* vergleichbar sind. Ferner sollte untersucht werden, ob *L. leonii* durch Rekombination in der oben beschriebenen Kopplungsgruppe aus einem gemeinsamen Vorfahren mit *L. perenne* entstanden sein könnte. Dies würde bedeuten, dass für die morphologischen Ausprägungen folgende Genotypen angenommen werden: *L. perenne* (Langgriffel): gpa/gpa, *L. perenne* (Kurzgriffel): GPA/gpa, *L. leonii* (homostyl): gPA/gPA.

## 4.2 Material und Methoden

---

### 4.2.1 Untersuchungsgruppe

Die Gattung *Linum* zeigt eine Reihe verschiedener Reproduktionssysteme, die sich hinsichtlich der Position von Antheren und Narben zueinander unterscheiden. So werden sowohl zwei verschiedene Formen der Heterostylie als auch der Homostylie innerhalb von *Linum* beobachtet. Im Rahmen dieser Arbeit wurde sich vor allem auf die Vertreter der Sektion *Linum* konzentriert, da hier eine erstaunliche Variation der Reproduktionssysteme zu beobachten ist. Zweiundzwanzig verschiedene Arten der Linaceae wurden morphologisch untersucht, um das Reproduktionssystem an sich, bzw. die Ausprägungen der mit der Heterostylie in Zusammenhang stehenden begleitenden Polymorphismen zu charakterisieren. Zusätzlich wurden von 28 Arten der Sektion *Linum* ITS-Sequenzen generiert, um Aufschluss über die Evolution dieser Systeme innerhalb der Sektion *Linum* zu erlangen.

### 4.2.2 Charakterisierung der Reproduktionssysteme

Zweiundzwanzig Arten der Linoideae wurden blütenmorphologisch untersucht. Neben der Messung der Länge der Petalen wurden vor allem die Narben und die Pollenkornoberflächen der einzelnen Arten charakterisiert. Ferner wurde das Längenverhältnis von Filamenten und Griffeln bestimmt.

Bei einigen Arten wurden zusätzlich Versuche zur Selbstfertilität und Intra- bzw. Intermorph(in)kompatibilität durchgeführt. Von einigen ausgewählten Arten wurde der P/O-Wert bestimmt.

#### 4.2.2.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Aus der Literatur (DULBERGER 1973, 1974, 1981) ist bekannt, dass sich kurz- und langgriffelige Individuen heterostyler *Linum*-Arten morphologisch vor allem in der Strukturierung der Pollenkornoberfläche und der Form der Narbenpapillen unterscheiden. Da der genaue Aufbau dieser Strukturen unter einem herkömmlichen Lichtmikroskop nur unzulänglich zu beobachten war, wurden diese Strukturen von einigen Linoideae-Arten unter einem Rasterelektronenmikroskop betrachtet.

Vorzugsweise wurde frisches, in 70 %igem Ethanol aufbewahrtes, Pflanzenmaterial verwendet, da die entsprechenden Merkmale daran am besten zu beobachten sind. Stand kein lebendes Material zur Verfügung, wurde mit Hilfe der von ERBAR (1995) beschriebenen Methode vorhandenes herbarisiertes Material rehydriert und anschließend in 70 %igem Ethanol konserviert. Die Präparate wurden einer täglich um 5 % aufsteigenden Ethanolreihe unterzogen, bis sie schließlich in 96 %igen Ethanol überführt wurden. Anschließend wurden die Objekte für 24 h in Aceton eingelegt.

Die auf diese Weise vorbehandelten Präparate wurden in einem Kritisch-Punkt Apparat (BAL-TEC, CPD 030) unter der Verwendung von CO<sub>2</sub> kritisch-punkt getrocknet. Die Objekte wurden mittels eines herkömmlichen Nagellacks auf Tischchen befestigt und mit einem Sputtergerät (BAL-TEC, SCD 005) unter Argon-Atmosphäre einer Goldbedampfung unterzogen. Die Sputterzeit betrug 360 s. Anschließend konnten die Proben unter Verwendung eines Siemens XL30 ESEM TMP™ Rasterelektronenmikroskops betrachtet und gewünschte Ausschnitte als Bilddateien auf einem Computer gespeichert.

#### 4.2.2.2 Test auf Selbstinkompatibilität

Selbstinkompatibilität bzw. Intramorphinkompatibilität ist aus verschiedenen heterostylen *Linum*-Arten bekannt (LAIBACH 1930), während homostyle *Linum*-Arten - soweit bekannt - stets selbstkompatibel sind. Um zu testen, ob Selbst(in)-kompatibilität in Arten verschiedener Sektionen gleichermaßen ausgebildet ist, wurden sieben *Linum*-Arten, welche drei verschiedene Reproduktionssysteme repräsentieren, mittels Kreuzungsexperimenten auf ihre Selbstinkompatibilität getestet. Für diese Versuche wurden Samen dieser Arten (Tab. 10) im Gewächshaus

ausgesät. Nach erfolgreicher Keimung wurden mehrere Individuen einer Art ins Freiland gesetzt.

**Tab. 10:** Auflistung der *Linum*-Arten, die bzgl. des Auftretens von Selbstinkompatibilität bzw. Intramorphinkompatibilität überprüft wurden.

<b>Art</b>	<b>Sektion</b>	<b>Reproduktionssystem</b>
<i>Linum cf. flavum</i> L.	<i>Syllinum</i>	heterostyl
<i>Linum grandiflorum</i> DESF.	<i>Linum</i>	Narben-Höhen-Dimorphismus
<i>Linum leonii</i> SCHULTZ	<i>Linum</i>	homostyl
<i>Linum maritimum</i> L.	<i>Linopsis</i>	heterostyl
<i>Linum narbonense</i> L.	<i>Linum</i>	heterostyl
<i>Linum perenne</i> L.	<i>Linum</i>	heterostyl
<i>Linum tenuifolium</i> L.	<i>Linopsis</i>	homostyl

Die Kreuzungsexperimente wurden im Sommer 2004 im Freiland des Botanischen Gartens der Johannes Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt. Um Aufschluss über die Selbstinkompatibilität der einzelnen Arten zu erhalten, wurde ein Kreuzungsschema entworfen (Tab. 11), nach welchem verschiedene Bestäubungsmöglichkeiten innerhalb und zwischen Individuen einer Art auf mögliche Inkompatibilitätsreaktionen getestet wurden.

**Tab. 11:** Kreuzungsschema, welches den Bestäubungsexperimenten zu Grunde lag.

<b>heterostyle Arten</b>	<b>homostyle Arten</b>
Emaskulierung	Emaskulierung
Selbstbestäubung, Abbinden der Blüten	Selbstbestäubung, Abbinden der Blüten
manuelle Selbstbestäubung	manuelle Selbstbestäubung
Kreuzbestäubung innerhalb des selben Blütentyps (illegitime Bestäubung)	---
Kreuzbestäubung zwischen beiden Blütentypen (legitime Bestäubung)	---
---	Kreuzbestäubung

Für die Bestäubungsexperimente wurden Blüten generell mit sauberen Pinzetten präpariert und anschließend mit Linsenpapier (MN 13 B der Firma Macherey und Nagel) durch Zukleben der offenen Seiten für Bestäuber unzugänglich verpackt und

codiert. Um die Gefahr einer Kontamination mit Fremdpollen zu minimieren, wurden Blüten, die als Pollendonoren dienen sollten, bereits im Knospenstadium verpackt.

Für die Emaskulierung wurden von Knospen, die sich etwa einen Tag vor der Anthese befanden, die Petalen abpräpariert, anschließend die noch geschlossenen Antheren entfernt und die Blüte in Linspapier verpackt. Für die einfache Selbstbestäubung wurden Knospen ohne vorherige Präparation in Linspapier verpackt und sich selbst überlassen. Für die manuelle Selbstbestäubung dienten späte Knospenstadien, bei denen Petalen und die geschlossenen Antheren entfernt wurden, als weiblicher Elter. Als Pollendonoren dienten Blüten desselben Individuums, die, wie bereits beschrieben, wenige Tage zuvor als Knospe verpackt wurden. Um Pollen zu transferieren, wurden die geöffneten Antheren dieser Blüten mit einer Pinzette entfernt und über die Narben des weiblichen Elter getupft. Für die Kreuzbestäubungen wurde in gleicher Weise verfahren, nur diente hier ein anderes Individuum als Pollendonor. Bei heterostylen Arten musste, aufgrund des Vorhandenseins von Individuen unterschiedlicher Morphologie, darauf geachtet werden, zwei verschiedene Formen der Kreuzbestäubung vorzunehmen, sogenannte legitime und illegitime Bestäubungen. Unter legitimen Bestäubungen versteht man die Kreuzung von Individuen mit verschiedener Morphologie, während bei der illegitimen Bestäubung Blüten des gleichen Blütentyps von verschiedenen Individuen miteinander gekreuzt werden. Kreuzbestäubungen heterostyler Arten wurden so durchgeführt, dass sowohl kurzgriffelige als auch langgriffelige Individuen als weiblicher bzw. männlicher Elter fungierten.

Für die Auswertung der Experimente wurde bis zur Fruchtreife im Spätsommer gewartet. Es wurde notiert, ob es zur Ausbildung einer Kapsel kam und wie viele Samen gebildet wurden. Es wurden nur Samen gezählt, die voll entwickelt waren, d. h. eine dunkle, glänzende Färbung aufwiesen.

#### **4.2.2.3 Bestimmung des P/O-Wertes**

Der P/O-Wert gibt die Zahl der Pollenkörner pro Samenanlage an. Der P/O-Wert ist in der Regel bei Blüten mit Allogamie (Fremdbestäubung) recht hoch, während er bei solchen mit Autogamie (Selbstbefruchtung) deutlich geringer ist (CRUDEN 1977). Um die Reproduktionssysteme in den Linoideae besser zu charakterisieren, wurde von 15 *Linum*-Arten aus unterschiedlichen Sektionen und mit verschiedenen Reproduktionssystemen der P/O-Wert bestimmt. Während die genaue Anzahl der

Samenanlagen in den untersuchten *Linum*-Arten recht einfach zu bestimmen war (sie beträgt in jeder der 15 untersuchten Arten zehn), wurde die Anzahl der Pollenkörner geschätzt. Zu diesem Zweck wurde eine Lösung aus 70 %igem Ethanol, ein paar Tropfen Methylenblau und Glycerol (die Menge variierte je nach Gewicht der Pollenkörner) hergestellt. Ein Milliliter dieser Lösung wurde zusammen mit ein oder zwei noch geschlossenen Antheren in ein Eppendorfgefäß gegeben. Nach dem Öffnen der Antheren mit Hilfe einer Präpariernadel wurde die Lösung auf einem 'Vortexer' gründlich durchmischt. Um die Zahl der Pollenkörner in der Lösung möglichst genau zu schätzen, wurde zehnmal je 1 µl der Lösung entnommen. Die in dem Tropfen enthaltenen Pollenkörner wurden unter Verwendung eines Mikroskops gezählt. Aus dem Mittelwert der zehn Einzelwerte wurde die Zahl der Pollenkörner in der Lösung errechnet und anschließend für die Ermittlung der Pollenkornanzahl pro Blüte herangezogen. Nach Möglichkeit wurde diese Schätzung für mehrere Individuen einer Art wiederholt, wobei der P/O-Wert in heterostylen Arten jeweils für lang- und kurzgriffelige Individuen bestimmt wurde.

### 4.2.3 Phylogenetische Rekonstruktion der Linoideae

Die Phylogenie der Linoideae wurde auf einem *rbcL*- und zwei ITS-Datensätzen basierend ('Gelbe Gruppe', 'Blaue Gruppe') rekonstruiert (s. Abschnitt 2.2.2-2.2.3). Mit Hilfe eines sogenannten 'Supertrees' wurden die Informationen der drei Phylogenien miteinander kombiniert (s. Kapitel 2.2.4) und für die Rekonstruktion der Entwicklung der Merkmale Heterostylie und Homostylie herangezogen (Abschnitt 2.2.6). Da vor allem die Sektion *Linum* eine erstaunliche Variation bezüglich der Reproduktionssysteme aufweist, wurde zusätzlich eine Rekonstruktion dieser Gruppe auf Basis eines ITS-Datensatzes, der lediglich die Sektionen *Linum* und *Dasylinum* umfasst, vorgenommen.

### 4.2.4 Bestimmung der genetischen Diversität

In heterostylen Arten ist, wie bereits erwähnt, Selbstbefruchtung aufgrund der SI innerhalb eines Individuums bzw. innerhalb einer Blütenmorphe in der Regel nicht möglich, während homostyle Arten durchaus in der Lage sind, sich selbst zu befruchten. Zwei nahverwandte *Linum*-Arten, die sich hinsichtlich ihres

Reproduktionssysteme unterscheiden, wurden herangezogen, um die Auswirkungen dieser unterschiedlichen Systeme auf die genetische Diversität einzelner Populationen zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurden je zwei Populationen der heterostylen *Linum perenne* subsp. *perenne* und der homostylen *L. leonii* verwendet (Tab. 12) und mittels einer AFLP-Analyse wurde ihre genetische Diversität untersucht.

**Tab. 12:** Populationen von *Linum perenne* L. subsp. *perenne* und *L. leonii*, die für die AFLP-Analyse herangezogen wurden.

<b>Art</b>	<b>Standort</b>
<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i>	Weißer Berg bei Darmstadt und Pfungstadt (DA)
<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i>	NSG Garchinger Heide, Garching bei München (GH)
<i>Linum leonii</i>	NSG Apfelberg, nördlich von Tauberbischofsheim (A)
<i>Linum leonii</i>	Dockendorf, Raum Bitburg (DO)

#### 4.2.4.1 AFLP-Fingerprint-Technik

Unter AFLPs (Amplified Eragment Length Polymorphisms) versteht man eine Fingerprint-Technik, die RFLPs (Restriction Eragment Length Polymorphisms) mit der PCR-Technik verbindet (Vos *et al.* 1995). Der Vorteil dieser Methode besteht darin, dass ohne vorheriges Wissen über die Sequenz eine große Zahl an Fragmenten unterschiedlicher Länge generiert werden kann. Ein weiterer Vorteil ist die bessere Reproduzierbarkeit gegenüber anderen Fingerprintmethoden wie z. B. RAPDs. Allerdings birgt diese Methode auch einige Nachteile, z. B. die Dominanz des Markersystems oder eventuelle Längen-Homoplasien (MUELLER & WOLFENBARGER 1999, WOLFE & LISTON 1998).

Das AFLP-Protokoll wurde im Wesentlichen nach dem Protokoll von Vos *et al.* (1995) unter Verwendung von Modifikationen von KROPF *et al.* (2003) durchgeführt. Die Zusammensetzung der einzelnen Ansätze und die verwendeten Protokolle sind im Anhang ausführlich wiedergegeben (Anhang 1-Tab. 7-19). Im Wesentlichen können bei der Durchführung von AFLPs drei Schritte unterschieden werden:

- 1) Restriktion und Ligation
- 2) Präselektive PCR
- 3) Selektive PCR

Im ersten Schritt wurde die gesamte genomische DNA mit Hilfe von Enzymen verdaut. Hierfür wurden ein häufig schneidendes Enzym (MseI: 5'-T<sup>^</sup>TAA-3') und ein seltener schneidendes (EcoRI: 5'-G<sup>^</sup>AATTC-3') verwendet. Parallel wurden spezifische Nukleotidsequenzen, sogenannte Adaptoren, an die Schnittstellen der Fragmente ligiert. Die Restriktion-Ligation wurde für 14 h bei 23°C durchgeführt.

Durch die Kenntnis der Sequenzabfolge der Adaptoren und der Schnittstellensequenz können für die nachfolgende Präselektive PCR-Primer konzipiert werden, die die Sequenz der ligierten Adaptoren und den verbliebenen Teil der Schnittstellensequenz enthalten. Um die Menge an generierten Fragmenten zu reduzieren, wurden die Primer für diese Reaktion um eine Base verlängert. Die sogenannte Selektive PCR verringert die Anzahl an Fragmenten ein weiteres Mal, indem die Primer um zwei zusätzliche Basen verlängert werden. Lediglich die Primer des selten schneidenden Enzyms wurden fluoreszenzmarkiert, wodurch die Anzahl an auswertbaren Banden erneut reduziert wurde. Auf diese Weise werden lediglich die Fragmente markiert, die über mindestens eine EcoRI-Schnittstelle verfügen. Fragmente mit zwei MseI-Schnittstellen werden durch diesen Schritt ausgesondert.

Für die vorliegende Untersuchung wurden drei verschiedene Primerkombinationen verwendet (E39 / M61, E45 / M54, E37 / M54), die sowohl inner- als auch zwischenartlich eine angemessene Variation aufwiesen. Anschließend wurden die generierten AFLP-Fragmente auf einem 6 %igen Polyacrylamid-Gel aufgetrennt. Hierfür wurden die PCR-Produkte drei verschiedener Primerkombinationen mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen in einem spezifischen Verhältnis unter Zugabe eines internen Längenstandard (GeneScan ROX<sup>™</sup> 500 (ABI) zu einem Multiplex-Ansatz gemischt. Die Gele liefen in einer automatischen Sequenziermaschine (ABI 377<sup>™</sup>) unter Benutzung der Software Genescan (v3.1, ABI) etwa vier Stunden. AFLP-Fragmente mit einer Länge von 75 bis 500 Basen wurden mit Hilfe des Programms Genotyper<sup>™</sup> (v2.1, ABI) automatisch als fehlend (0) oder vorhanden (1) ausgewertet. Die so erhaltene Datenmatrix wurde anschließend manuell überprüft und gegebenenfalls verändert. Uneindeutige Fragmente wurden als fehlende Datenpunkte gewertet und in der Datenmatrix mit (?) gekennzeichnet.

#### 4.2.4.1.1 Auswertung der AFLP-DATEN

Für die verschiedenen Auswertungsmethoden der AFLP-Daten wurden die 1/0 Matrizen herangezogen. Die genetische Diversität innerhalb von Populationen wurde anhand des Anteils polymorpher Banden und den folgenden Indices bestimmt.

##### *Genetische Distanz*

Die genetischen Distanzen (D) wurden auf der Basis des Ähnlichkeitskoeffizienten (SC) von NEI & LI (1979) berechnet.

$$D_{\text{Nei\&Li}} = 1 - SC_{\text{Nei\&Li}} = 1 - [2n_{xy} / n_x + n_y] \quad \text{Formel 1}$$

$n_{xy}$ : Zahl der gemeinsamen Fragmente zweier Proben x und y

$n_x, n_y$ : Zahl aller Fragmente der Proben x bzw. y

##### *Shannon Index (SI)*

Der Shannon Index (SHANNON & WEAVER 1949) ist ebenfalls ein Maß für die genetische Diversität. Er beschreibt die Vielfalt betrachteter Daten und berechnet sich wie folgt:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i \quad \text{Formel 2}$$

s: Gesamtzahl der zu betrachtenden Fragmente

$p_i$ : relative Häufigkeit des Fragments ( $p_i = n_i/N$ )

$n_i$ : Anzahl der vorkommenden Fragmente i in den untersuchten Individuen

N: Anzahl der Individuen

## 4.2.5 Ermittlung der genetischen Grundlagen der Heterostylie / Homostylie in *Linum perenne* subsp. *perenne* und *L. leonii*

### 4.2.5.1 Kreuzungsexperimente

#### *Generierung der F1-Generation*

Im Oktober 2004 wurden die Kreuzungsexperimente mit *Linum perenne* subsp. *perenne* und *L. leonii* durchgeführt, um genaueres über die Vererbung und die Evolution der Heterostylie und der damit in Zusammenhang stehenden Polymorphismen zu erfahren. Da die *L. leonii*-Standorte unter Naturschutz stehen und keine Sammelgenehmigung für Samenmaterial vom Standort Apfelberg vorlag, wurden für diesen Versuch Samen des Botanischen Garten Marburg verwendet, welcher von einer Wildaufsammlung vom Warmberg bei Liebenau stammte. *Linum perenne* Samen wurden an einem Naturstandort in der Gemarkungsgrenze Darmstadt / Pfungstadt (Weißer Berg) gesammelt. Die Samen wurden nach Arten getrennt in Petrischalen mit gut durchfeuchtetem Filterpapier ausgesät. Die Schalen wurden abgedeckt, da vorangegangene Experimente zeigten, dass die Samen im Dunkeln eine höhere Keimungsrate aufweisen als unter Lichteinfluss. *Linum leonii* wurde mit einem Monat Zeitverzögerung ausgesät, da diese Art in der Natur früher als *L. perenne* zur Blüte gelangt. Sobald sich die Keimblätter entfaltet hatten, wurden die Keimlinge in Multitopfpaletten überführt und nach ausreichender Wurzelbildung in Einzeltöpfe gepflanzt. Alle Pflanzen wurden im Gewächshaus bei einer Tagestemperatur von 20°C und einer Nachttemperatur von 15°C kultiviert. Zusätzlich wurden die Pflanzen zwischen November und April während des Tages mit Hochdruck-Natrium-Dampflampen (SON-T AGRO 400, Philips) bestrahlt, um ein Blühen der Pflanzen auch während der Wintermonate zu gewährleisten. Mit Einsatz der Anthese wurde mit den Bestäubungsexperimenten begonnen. Insgesamt wurden vier verschiedene Kreuzungsexperimente vorgenommen (Tab. 13), wobei sowohl die homostyle *L. leonii* als auch beide morphologischen Ausprägungen von *L. perenne* subsp. *perenne* jeweils als 'Mutter' bzw. 'Vater' fungierten. Die Kreuzungsexperimente wurden wie im Abschnitt 3.2.2.2 beschrieben durchgeführt, allerdings wurden die Papiertüten durch Gartenvlies ersetzt. Der zugeschnittene Stoff wurde gefaltet und an zwei weiteren Seiten zugeschweißt. Die offene Seite wurde

schließlich mit einem Wollfaden fest verschlossen. Diese Methode stellte sich als wesentlich geeigneter heraus, da die Pflanzen zum einen nicht mehr durch den Klebstoff in Mitleidenschaft gezogen wurden und zum anderen es innerhalb der Beutel nicht mehr zu einem Feuchtigkeitsstau kam. Nach Reifung der Kapseln wurden die Tüten abgeschnitten und auf Frucht- und Samenansatz hin untersucht. Bei Ausbildung einer Kapsel wurde die Zahl der gebildeten Samen notiert. Es wurden nur solche Samen gezählt, die in Größe, Form und Farbe den Eindruck erweckten, voll entwickelt zu sein. Die Samen wurden nach Kapseln sortiert in Papiertüten bei Raumtemperatur aufbewahrt.

#### *Rückkreuzung der F1-Generation mit *Linum perenne**

Nach dem Abschluss der ersten Kreuzungsexperimente wurden die Samen, die in der F1-Generation geerntet wurden, in Petrischalen auf feuchtem Filterpapier ausgesät. Die Keimlinge wurden wie im Abschnitt zuvor beschrieben behandelt. Gelangten die F1-Hybriden zur Blüte, wurde notiert welche Morphologie diese aufwiesen. Aufgrund von Problemen bei der Kultivierung von *Linum leonii* wurden die verschiedenen F1-Hybride lediglich mit lang- und kurzgriffeligen Vertretern von *L. perenne* subsp. *perenne* zurückgekreuzt. Die Kreuzungen und die entsprechende Auswertung wurde analog zu der Herstellung der F1-Generation durchgeführt.

**Tab. 13:** Die vier verschiedenen Kreuzungen, die zur Erstellung der F1-Generation durchgeführt wurden. LG = Langgriffel, KG = Kurzgriffel.

<b>weiblicher Elter</b>	<b>männlicher Elter</b>
<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , LG	<i>Linum leonii</i>
<i>Linum leonii</i>	<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , LG
<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , KG	<i>Linum leonii</i>
<i>Linum leonii</i>	<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , KG

#### *Bestimmung des Reproduktionssystems*

Obwohl die Eltern bezüglich ihres Fortpflanzungssystems eindeutig einer bestimmten Morphologie zuzuordnen waren, stellte sich eine genaue Zuordnung bei einigen F1-Hybriden als schwierig heraus. Um auch im Nachhinein die Blütenmorphologie bzw. Merkmale wie Pollenkornoberfläche bzw. Struktur der Narbenpapillen eindeutig

bestimmen zu können, wurden von jedem Individuum (Elterngeneration, F1-Generation, Rückkreuzung) - soweit möglich - zehn Blüten und fünf Knospen in 70 %igem Alkohol aufbewahrt.

Ein Teil dieser Blüten wurde präpariert und vermessen. Hierfür wurden die Länge der Filamente, die Länge der Antheren, der Griffel, des Ovars sowie der Narben bestimmt. Wenn möglich, wurde die Länge eines Petalums bestimmt. Ferner wurde eine Anthere in einen Tropfen Methylenblau gegeben, um die Oberflächenstruktur des Pollens zu bestimmen. Die Knospen wurden zum Teil für REM-Aufnahmen herangezogen.

#### *Bestimmung der Pollenvitalität*

Mit Hilfe von verschiedenen Reagenzien ist es möglich, die Vitalität von Pollenkörnern zu ermitteln. Auf diese Weise können verschiedene Fragestellungen auf einmal überprüft werden. Zum einen, ob die Hybriden überhaupt in der Lage sind, vitalen Pollen auszubilden und zum anderen, ob der Pollen eine mit den Elternarten vergleichbare Vitalität aufweist. Die Keimungsfähigkeit des Pollens ist überdies eine essentielle Voraussetzung für eine erfolgreiche Befruchtung. Um sicher zu gehen, dass die F1-Hybriden für eine Rückkreuzung mit den Elternarten überhaupt geeignet sind, wurde der Pollen ebenfalls auf Vitalität getestet.

Hierfür wurde jeweils eine Blüte von zehn verschiedenen Individuen der Elternarten und der verschiedenen F1-Typen herangezogen. Existierten F1-Hybriden mit verschiedener morphologischer Ausprägung, so wurden von jedem Typ zehn Blüten bezüglich ihrer Pollenvitalität getestet.

Pollen wurde mit Hilfe einer Thiazolylblau-Lösung auf Vitalität überprüft. Hierfür wurde eine 1 %ige Lösung von 2,5-Diphenyl Tetrazolium Bromid (MTT oder Thiazolylblau) in 5 %iger Saccharose hergestellt. Anhand dieser Mischung ist es möglich, die Anwesenheit von Dehydrogenasen zu überprüfen (RODRIGUEZ-RIANO & DAFNI 2000). Liegen diese vor, färbt sich das Pollenkorn tief violett. Es wurden nur Pollenkörner als vital gewertet, bei denen sich eine dunkle Färbung einstellte oder ein Auskeimen des Pollenschlauchs zu erkennen war. In letzterem Fall erschien die Farbe in der Regel heller. Bei un- oder nur schwach gefärbten Pollenkörnern wurde ferner erhoben, wie viele eine Deformation aufwiesen, d. h. deutlich von der üblichen Form und/oder Größe abwichen. Um sicher zu gehen, dass mit diesem Farbstoff auch nur vitale Pollenkörner gefärbt werden, wurden zusätzlich 14 Negativproben

durchgeführt. Hierfür wurden sowohl von den Elternarten als auch den verschiedenen F1-Hybriden Pollenkörner für 30 min in *Aqua dest.* bzw. 70 %igen Ethanol gegeben. Anschließend wurde ein Tropfen der MTT-Lösung hinzugegeben und die Anzahl der gefärbten Pollenkörner ermittelt.

## 4.2.6 Statistische Auswertungsmethoden

Alle statistischen Auswertungen wurden mit dem Programm SPSS 14.0 für Windows, Version 14.02 (© SPSS Inc.) durchgeführt.

### *Kolmogorov-Smirnov-Test*

Mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests kann überprüft werden, ob eine Datenreihe normalverteilt ist. Hierfür wird ermittelt, ob sich die Daten von denen einer theoretisch festgelegten Normalverteilung mit gleichem Mittelwert und Varianzen unterscheiden (DYTHAM 2003).

### *Einfaktorielle ANOVA*

Eine einfaktorielle ANOVA wurde angewandt, um zu überprüfen, ob die Mittelwerte verschiedener Gruppen gleich sind. Voraussetzung für diesen Test ist, dass es sich um ungepaarte Stichproben handelt. Das bedeutet, jedes Individuum wurde nur einmal auf ein bestimmtes Merkmal hin überprüft. Die Daten müssen normalverteilt sein und aus Grundgesamtheiten mit gleichen Varianzen stammen (DYTHAM 2003). Letzteres kann mit Hilfe des Levene Tests überprüft werden, der in dem verwendeten Programm SPSS 14.0 für Windows, Version 14.02 in der einfaktoriellen ANOVA implementiert ist.

### *Mann-Whitney-U-Test*

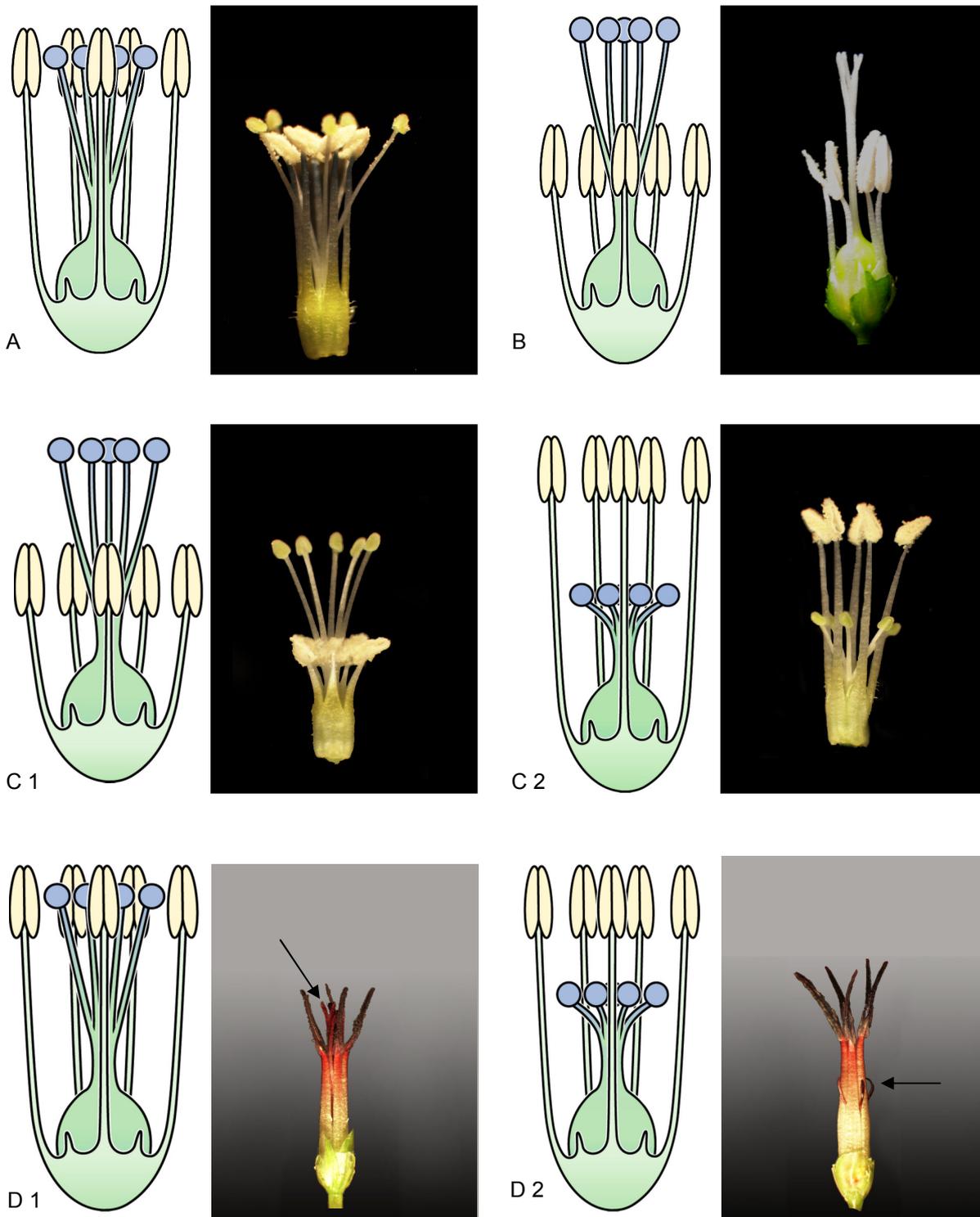
Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests kann überprüft werden, ob zwei unabhängige Stichproben aus derselben Grundgesamtheit stammen. Anders als bei einem t-Test oder einer ANOVA macht dieser Test keine Voraussetzung hinsichtlich Normalverteilung oder Homogenität der Varianzen. Bei dem Mann-Whitney-U-Test handelt es sich um einen Rang Test, das bedeutet, die Daten werden vor der Berechnung in Ränge konvertiert (DYTHAM 2003).

## 4.3 Ergebnisse

---

### 4.3.1 Charakterisierung der Reproduktionssysteme

Linoideae-Arten mit unterschiedlichen Reproduktionssystemen wurden hinsichtlich ihres Blütenaufbaus, der Struktur der Pollenkornoberfläche, ihres SI-Systems und ihres P/O-Wertes untersucht. Innerhalb der Gruppe der monomorphen *Linum*-Arten werden zwei verschiedene Formen beobachtet. Homostyle Arten wie *Linum bienne*, *L. trigynum* oder *L. leonii* (Abb. 32 A) dominieren innerhalb der Gattung, während bislang lediglich in zwei Arten, *L. monogynum* (Abb. 32 B) und *L. lewisii*, die sogenannte 'approach herkogamy' beobachtet wurde, in der die Stigmata stets deutlich über den Antheren gelegen sind. Innerhalb der Arten mit zwei verschiedenen Ausprägungen bezüglich der Blüten werden die eigentliche Heterostylie (Abb. 32 C) und ein Narben-Höhen-Dimorphismus (Abb. 32 D) beobachtet. In den meisten untersuchten *Linum*-Arten, die einen Blütendimorphismus aufweisen, können kurz- und langgriffelige Individuen unterschieden werden, die sich hinsichtlich Filament und Griffellänge unterscheiden (u. a. *L. maritimum*, *L. narbonense* und *L. perenne*). Lediglich in *L. grandiflorum* stehen die Antheren in lang- und kurzgriffeligen Blüten etwa auf derselben Position, während die Länge der Griffel deutlich variiert (Narben-Höhen-Dimorphismus, Abb. 32 D). Die jeweiligen Reproduktionssysteme der untersuchten Arten sind im Phylogramm (Abb. 43) und in Tabelle 14 ersichtlich.



**Abb. 32:** Schematische Abbildung und Photographien von verschiedenen Reproduktionssystemen innerhalb der Gattung *Linum*. Um die Positionen von Narben und Antheren besser betrachten zu können, wurden die Sepalen und Petalen zuvor entfernt. A: Homostylie in *Linum leonii*; B: 'approach herkogamy' in *Linum monogynum*; C: Heterostylie in *Linum perenne*, C 1: Langgriffel, C 2: Kurzgriffel; D: Narben-Höhen-Dimorphismus in *Linum grandiflorum*, D 1: Langgriffel, D 2: Kurzgriffel (die Pfeile zeigen auf die Narben).



randständige Spitzchen. Den untersuchten heterostylen Arten der Gattung *Linum* ist gemeinsam, dass sich die kurz- und die langgriffeligen Individuen bezüglich ihrer Pollenkörner voneinander unterscheiden. So sind z. B. in Langgriffeln von *Linum perenne* Pollenkörner mit einer heterogenen Oberfläche zu beobachten, da die Sexine aus Bacula mit größeren und kleineren Durchmessern besteht (Abb. 33 B & 44 G). Der Pollen kurzgriffeliger Individuen dieser Art ist durch eine mehr oder weniger homogene Strukturierung der Sexine gekennzeichnet; alle Säulen besitzen in etwa den selben Durchmesser. Betrachtet man die eben erwähnten Spitzchen, die auf den Bacula beobachtet werden, so werden diese in Langgriffeln von *Linum perenne* auf den Säulen mit größerem Durchmesser sowohl am Rand als auch in der Säulenmitte beobachtet, während die schmalere Säulen lediglich ein zentrales Spitzchen aufweisen. Kurzgriffel zeigen deutlich ausgeprägte Spitzchen am Rand der Bacula, ein mittleres fehlt jedoch oder ist lediglich sehr undeutlich ausgebildet (Abb. 33). Die genaue Strukturierung der Pollenkornoberfläche weiterer untersuchter Vertreter der Linoideae sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

**Tab. 14:** Zusammenfassung der Ergebnisse der Untersuchungen der Narbenpapillen und der Pollenkornoberflächen. Die Angaben für die kurzgriffeligen Individuen sind grau hinterlegt. Für die mit \* markierten Arten wurden die Daten aus der Literatur entnommen bzw. gegebenenfalls ergänzt. \*<sup>1</sup> DULBERGER (1973), \*<sup>2</sup> DULBERGER (1974), \*<sup>3</sup> ROGERS (1980 b), \*<sup>4</sup> DULBERGER (1981), \*<sup>5</sup> PUNT, W. & D. BREEJEN (1981), \*<sup>6</sup> Rogers (1985), \*<sup>7</sup> Yunus (1986) & \*<sup>8</sup> SUGAWARA *et al.* (2002).

Art	Sektion	homostyl / heterostyl	Narbenpapillen	Pollenkornoberfläche	Apertur
<i>Tirpitzia ovoidea</i> CHUN & F.C.HOW ex W.L.SHA	---	heterostyl	---	heterogen, viele Säulen mit kleinem Ø, wenige mit großem Ø, diese mit sehr kleinen peripheren und einem mittleren Spitzchen	pantoporat (erscheinen inaperturat) * <sup>7</sup>
<i>Tirpitzia sinensis</i> HALLIER F.	---	heterostyl	---	heterogen, viele Säulen mit kleinem Ø, wenige mit großem Ø, alle Säulen ohne auffällige Spitzchen (Abb. 38 A, B)	pantoporat (erscheinen inaperturat) * <sup>7</sup>
<i>Radiola linoides</i> ROTH * <sup>5</sup>	---	homostyl	---	+/- homogen mit 3-5 randständigen Spitzchen, selten mit mittlerem Spitzchen	
<i>Reinwardtia indica</i> DUMORT. * <sup>8</sup>	---	heterostyl	kurze, breite Papillen, Oberfläche strukturiert	heterogen, 2 Typen von Säulen mit unterschiedlichen Ø (Abb. 38 C)	pantoporat (erscheinen inaperturat) * <sup>7</sup>
Langgriffel					
Kurzgriffel			lange, schmale Papillen	Pollenkörner größer als in Langgriffeln, heterogen, 2 Typen von Säulen mit unterschiedlichen Ø	pantoporat (erscheinen inaperturat) * <sup>7</sup>

Art	Sektion	homostyl / heterostyl	Narbenpapillen	Pollenkornoberfläche	Apertur
<i>Linum catharticum</i> L. * <sup>5</sup>	<i>Cathartolinum</i>	homostyl	---	Säulen variieren im Durchmesser graduell, keine Einteilung in zwei Klassen möglich	tricolpat
<i>Linum heterosepalum</i> REGEL * <sup>6</sup> Langgriffel	<i>Dasylinum</i>	heterostyl	---	heterogen, 2 Typen von Säulen mit unterschiedlichen Ø	multiportat
<i>Linum olgae</i> JUZ. * <sup>6</sup> Kurzgriffel	<i>Dasylinum</i>	heterostyl	---	heterogen, 2 Typen von Säulen mit unterschiedlichen Ø	multiportat
<i>Linum pubescens</i> * <sup>4</sup> Langgriffel	<i>Dasylinum</i>	heterostyl	lange Papillen	heterogen, Säulen mit größerem Ø mit 5-8 undeutlich ausgebildeten, randständigen Spitzchen und deutlich ausgebildetem zentralen Spitzchen; Säulen mit kleinem Ø enden in ein zentrales Spitzchen	tricolpat
Kurzgriffel			kurze Papillen	Säulen mit unterschiedlichen Ø, aber keine deutliche Unterscheidung in solche mit kleinem und größerem Ø. Säulen mit 5-9 randständigen Spitzchen; Säulen mit größerem Ø zuweilen mit undeutlichem mittleren Spitzchen	tricolpat

Art	Sektion	homostyl / heterostyl	Narbenpapillen	Pollenkornoberfläche	Apertur
<i>Linum viscosum</i> WILLD. EX SCHULT. * <sup>5</sup> Langgriffel	<i>Dasylinum</i>	heterostyl	---	heterogen, Säulen mit großem Ø meist mit je 5-6 Spitzchen, diese +/- randständig, mittleres Spitzchen vorhanden	tricolpat
Kurzgriffel			---	homogen, Säulen meist mit je 5-6 randständigen Spitzchen	
<i>Linum maritimum</i> L.* <sup>3</sup> Langgriffel	<i>Linopsis</i>	heterostyl	---	heterogen, Säulen mit größerem Ø mit 3-5 randständige Spitzchen, Säulen mit kleinerem Ø enden in einer Spitze; Spitzchen relativ groß und deutlich ausgeprägt (Abb. 36 G, J)	tricolpat
Kurzgriffel	<i>Linopsis</i>	heterostyl	glatte Oberfläche, Papillen unterschiedlich groß und unterschiedlich weit hervorragend	+/- heterogen, Säulen mit unterschiedlichen Ø (jedoch nicht in zwei unterschiedliche Klassen einteilbar), je nach Ø der Säulen 4-6 schwach ausgeprägte, randständige Spitzchen (Abb. 36 H, K)	tricolpat
<i>Linum suffruticosum</i> L. Langgriffel	<i>Linopsis</i>	heterostyl	Papillen unterschiedlich groß mit glatter Oberfläche (Abb. 36 D)	Säulen meist mit je 2 oder 3 Spitzchen, diese +/- randständig (Abb. 36 A)	tricolpat
Kurzgriffel			Papillen unterschiedlich groß, unebene Oberfläche (Abb. 36 E)	Säulen meist mit je 4 oder 5 Spitzchen, diese +/- randständig (Abb. 36 B)	tricolpat

Art	Sektion	homostyl / heterostyl	Narbenpapillen	Pollenkornoberfläche	Apertur
<i>Linum tenue</i> DESF. * <sup>3</sup> Langgriffel	<i>Linopsis</i>	heterostyl	---	heterogen, Säulen mit größerem Ø mit 3-5 randständigen Spitzchen, Säulen mit kleinerem Ø enden in einer Spitze, Spitzchen deutlich ausgebildet	tricolpat
Kurzgriffel			---	+/- homogen, 4-5 randständige Spitzchen je Säule	tricolpat
<i>Linum tenuifolium</i> L.	<i>Linopsis</i>	homostyl	Papillen unterschiedlich groß, Oberfläche uneben (Abb. 36 F)	Säulen mit je 2, 3 oder 4 Spitzchen, diese +/- randständig (Abb. 36 C)	tricolpat
<i>Linum trigynum</i> L.	<i>Linopsis</i>	homostyl	---	Säulen mit leicht unterschiedlichen Ø, meist mit 2-4 randständigen Spitzchen, mittleres Spitzchen nicht vorhanden (Abb. 36 I, L)	tricolpat
<i>Linum austriacum</i> L. * <sup>5</sup> Langgriffel	<i>Linum</i>	heterostyl	---	heterogen, Säulen mit großem Ø meist mit je 5-6 Spitzchen, diese +/- randständig, mittleres Spitzchen vorhanden	tricolpat
Kurzgriffel			---	homogen, Säulen meist mit je 5-6 randständigen Spitzchen	
<i>Linum bienne</i> MILL.	<i>Linum</i>	homostyl	---	heterogen, Säulen mit großem Ø meist mit 5-6 randständigen Spitzchen mittleres Spitzchen vorhanden, viele Säulen mit	tricolpat

Art	Sektion	homostyl / heterostyl	Narbenpapillen	Pollenkornoberfläche	Apertur
<i>Linum bienne</i> MILL.				kleinem Ø, die in einer Spitze enden (Abb. 34 I, L)	
<i>Linum decumbens</i> DESF.	<i>Linum</i>	homostyl	---	heterogen, Säulen mit unterschiedlichen Ø, Unterschied jedoch wesentlich geringer als bei vielen anderen <i>Linum</i> -Arten, Säulen mit kleinem Ø meist mit lediglich einem mittleren Spitzchen, Säulen mit größerem Ø mit 4-6 randständigen Spitzchen, meist auch mit mittlerem Spitzchen (Abb. 35 F, I)	tricolpat
<i>Linum grandiflorum</i> DESF. Langgriffel	<i>Linum</i>	Narben-Höhen-Dimorphismus	Oberfläche +/- glatt (Abb. 35 J)	heterogen, Säulen mit großem Ø meist mit 6-7 Spitzchen am Rand und einem in der Mitte, viele Säulen mit kleinem Ø, die in einer Spitze enden (Abb. 35 D, G)	tricolpat
Kurzgriffel			Oberfläche uneben (Abb. 35 K)	homogen, Säulen mit meist 6-9 Spitzchen am Rand (Abb. 35 E, H)	tricolpat
<i>Linum leonii</i> SCHULTZ	<i>Linum</i>	homostyl	+/- gleich große Papillen (Abb. 44 L), Oberfläche glatt (Abb. 39 F)	homogen, Säulen meist mit je 4-6 randständigen Spitzchen, ein mittleres Spitzchen ist, wenn überhaupt, nur sehr schwach ausgeprägt (Abb. 44 I)	tricolpat

Art	Sektion	homostyl / heterostyl	Narbenpapillen	Pollenkornoberfläche	Apertur
<i>Linum lewisii</i> PURSH	<i>Linum</i>	'approach herkogamy'	---	homogen, Säulen meist mit je 4-7 Spitzchen, diese +/- randständig	tricolpat
<i>Linum marginale</i> A. CUNN.	<i>Linum</i>	homostyl	Narbenpapillen rundlich, Oberfläche glatt	keine besonderen Strukturen, +/- glatt mit zahlreichen kleinen Papillen (Pollenkörner wahrscheinlich noch nicht vollständig entwickelt)	pantoporat
<i>Linum monogynum</i> G. FORST.	<i>Linum</i>	'approach herkogamy'	---	heterogen, Säulen mit 2 unterschiedlichen Ø. Beide Säulentypen mit einem mittleren und zahlreichen randständigen Spitzchen. Randständige Spitzchen über 'Rippen' mit mittlerem Spitzchen verbunden (Abb. 34 C, F)	pantoporat
<i>Linum narbonense</i> L. Langgriffel	<i>Linum</i>	heterostyl	Oberfläche glatt (Abb. 39 G)	heterogen, Säulen mit großem Ø meist mit mehreren sehr undeutlich ausgeprägten Spitzchen am Rand und einem sehr deutlich ausgeprägten in der Mitte, randständige Spitzchen mit dem mittleren über schwach ausgeprägte 'Rippen' verbunden; viele Säulen mit kleinem Ø, die in einer Spitze enden (Abb. 34 A, D)	tricolpat

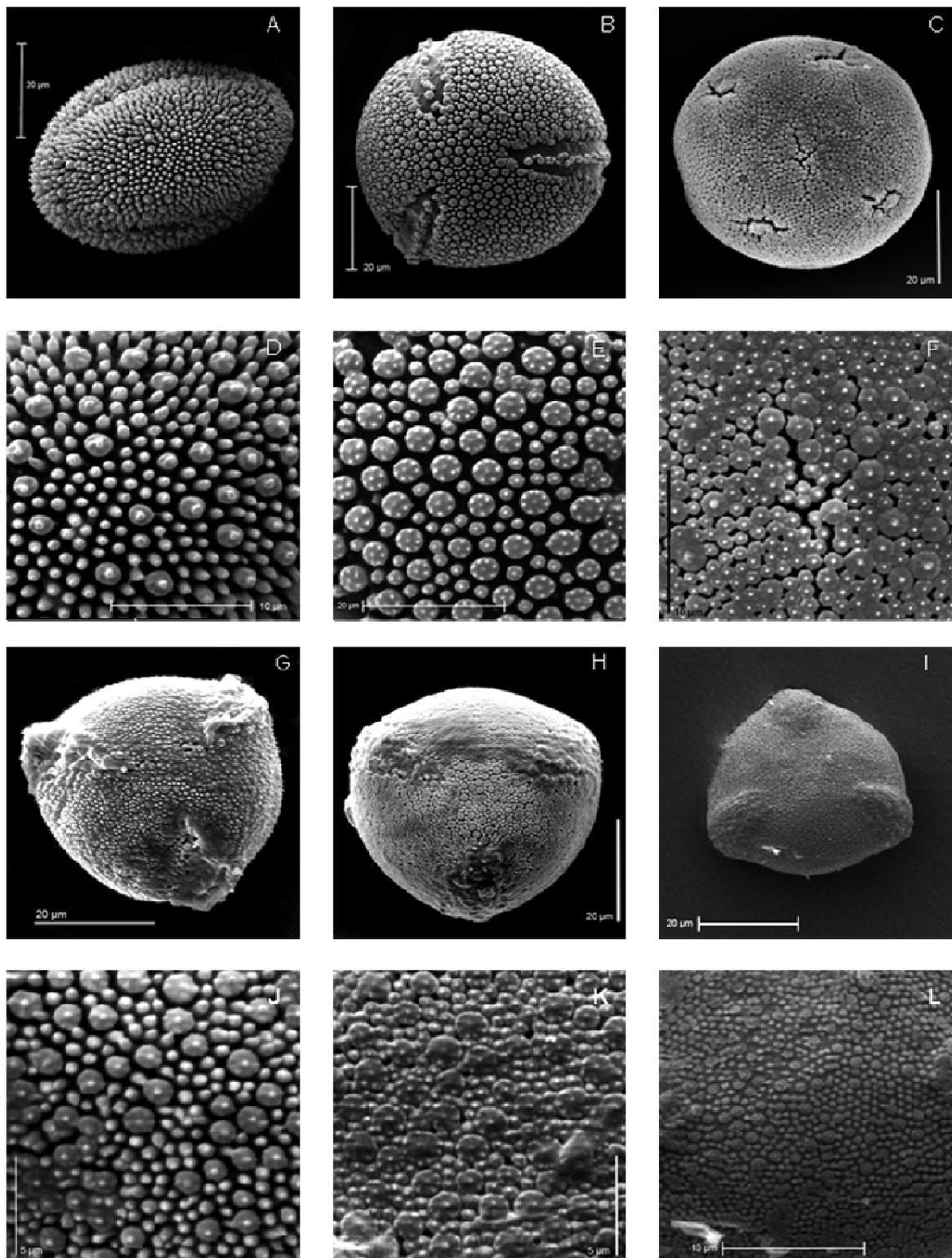
Art	Sektion	homostyl / heterostyl	Narbenpapillen	Pollenkornoberfläche	Apertur
<i>Linum narbonense</i> L. Kurzgriffel			Oberfläche mit auf- gelagerten Substanzen (Abb. 39 H)	heterogen, Säulen mit großem Ø meist mit 6-8 Spitzchen am Rand und einem in der Mitte, am Rand stehende Spitzchen mit dem mittleren über 'Rippen' verbunden; Säulen mit kleinem Ø mit 0-5 randständigen Spitzchen und einem mittleren (Abb. 34 B, E)	tricolpat
<i>Linum nervosum</i> WALDST. & KIT. Langgriffel	<i>Linum</i>	heterostyl	---	heterogen, Säulen mit großem Ø meist mit 6-8 undeutlichen Spitzchen am Rand und einem deutlich ausgeprägtem in der Mitte, am Rand stehende Spitzchen mit dem mittleren über 'Rippen' verbunden; viele Säulen mit kleinem Ø, die in einer Spitze enden (Abb. 34 G, J)	tricolpat
Kurzgriffel			---	heterogen, Säulen mit großem Ø meist mit 6-12 Spitzchen am Rand und einem in der Mitte, am Rand stehende Spitzchen mit dem mittleren über 'Rippen' verbunden; viele Säulen mit kleinem Ø, die in einer Spitze enden (Abb. 34 H, K)	tricolpat

Art	Sektion	homostyl / heterostyl	Narbenpapillen	Pollenkornoberfläche	Apertur
<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> L. Langgriffel	<i>Linum</i>	heterostyl	+/- gleich große Papillen (Abb. 44 J), Oberfläche glatt (Abb. 39 D)	heterogen, Säulen mit großem Ø meist mit je 5-6 Spitzchen, diese +/- randständig, mittleres Spitzchen vorhanden (Abb. 35 A & 44 G)	tricolpat
Kurzgriffel			lange und kurze Papillen (Abb. 44 K), Oberfläche mit aufgelagerten Substanzen (Abb. 39 E)	homogen, Säulen meist mit je 5-7 randständigen Spitzchen, mittleres Spitzchen wenn vorhanden sehr undeutlich (Abb. 35 B & 44 H)	tricolpat
<i>Linum usitatissimum</i> L.	<i>Linum</i>	homostyl	---	heterogen, Säulen mit großem Ø mit Spitzchen in der Mitte, Spitzchen am Rand evtl. vorhanden, aber nicht genau zu erkennen, viele Säulen mit kleinem Ø	tricolpat
<i>Linum flavum</i> L. *5 Langgriffel	<i>Syllinum</i>	heterostyl	Oberfläche glatt (Abb. 39 A)	heterogen, Säulen mit großem Ø mit Spitzchen in der Mitte, von der Mitte zum Rand ziehen Rippen, Säulen mit kleinerem Ø mit nur einer Spitze in der Mitte	tricolpat
Kurzgriffel			Oberfläche mit aufgelagerten Substanzen (Abb. 39 B)	homogen, Säulen mit randständigen Spitzchen	tricolpat

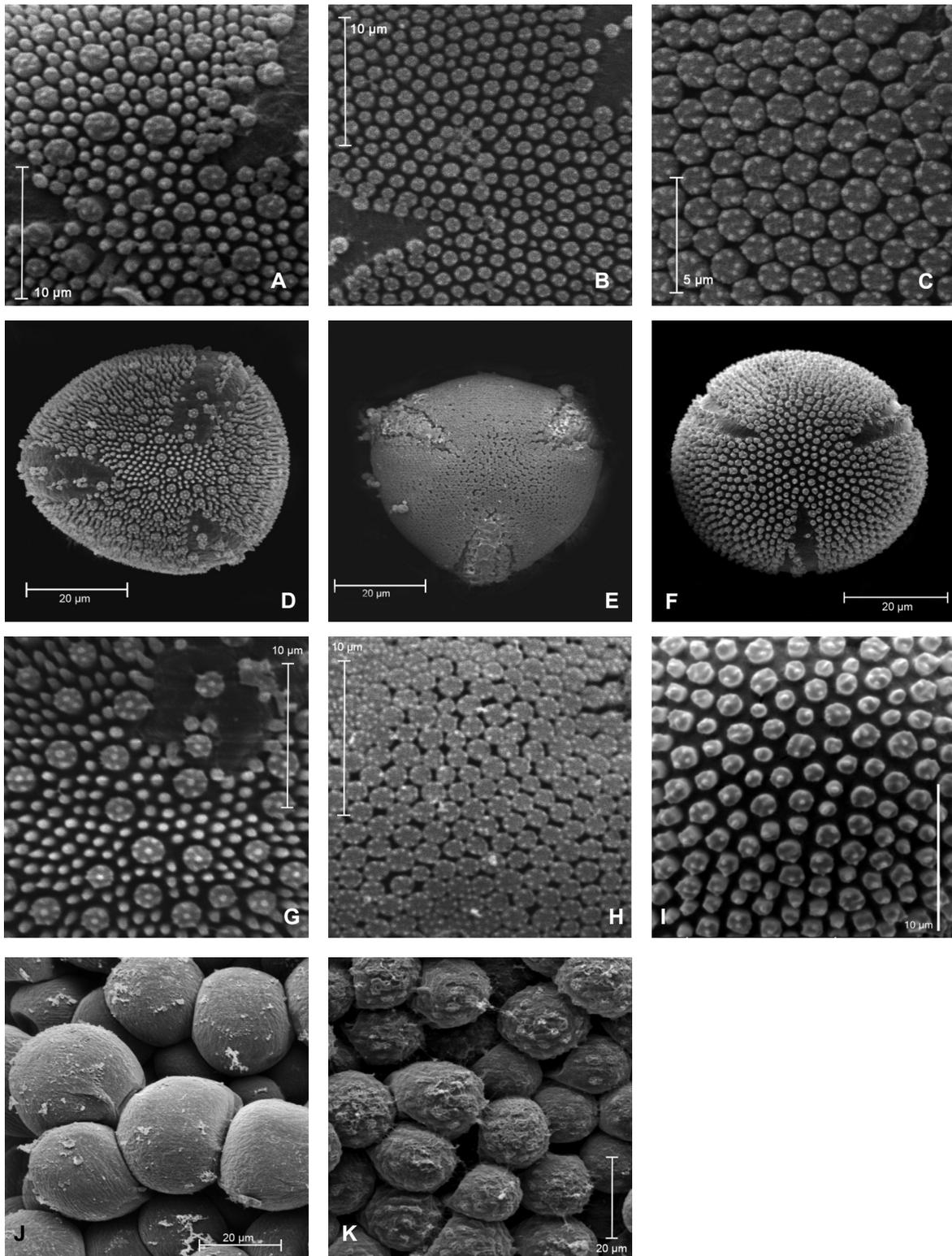
Art	Sektion	homostyl / heterostyl	Narbenpapillen	Pollenkornoberfläche	Apertur
<i>Linum mucronatum</i> BERTOL.*4,5 Langgriffel	<i>Syllinum</i>	heterostyl	lange Papillen	heterogen, Säulen mit größerem Ø mit 5-8 Spitzchen am Rand und eines in der Mitte, Säulen mit kleinerem Ø mit nur einer Spitze in der Mitte	tricolpat
Kurzgriffel			kurze Papillen	homogen, Säulen meist mit 4-6 undeutlich ausgebildeten, randständigen Spitzchen	tricolpat
<i>Linum nodiflorum</i> L.	<i>Syllinum</i>	homostyl	Oberfläche mit aufgelagerten Substanzen (Abb. 39 C)	heterogen, Säulen mit größerem Ø mit deutlichem mittleren Spitzchen und 3-4 randständigen, Säulen mit kleinerem Ø meist nur mit deutlichem mittleren Spitzchen, gelegentlich zusätzlich mit 1-2 randständigen Spitzchen (Abb. 37 C, F)	tricolpat
<i>Linum triflorum</i> P. H. DAVIS Langgriffel	<i>Syllinum</i>	heterostyl	---	heterogen, Säulen mit größerem und kleinerem Ø mit jeweils einem deutlichen mittleren Spitzchen, randständige Spitzchen kaum zu erkennen (Abb. 37 A, D)	tricolpat
Kurzgriffel			---	heterogen, Säulen mit größerem Ø mit 5-7 randständigen Spitzchen, Säulen mit kleinerem Ø mit 1-4 randständigen Spitzchen (Abb. 37 B, E)	tricolpat

#### 4.3.1.2 Untersuchung der Narbenstruktur

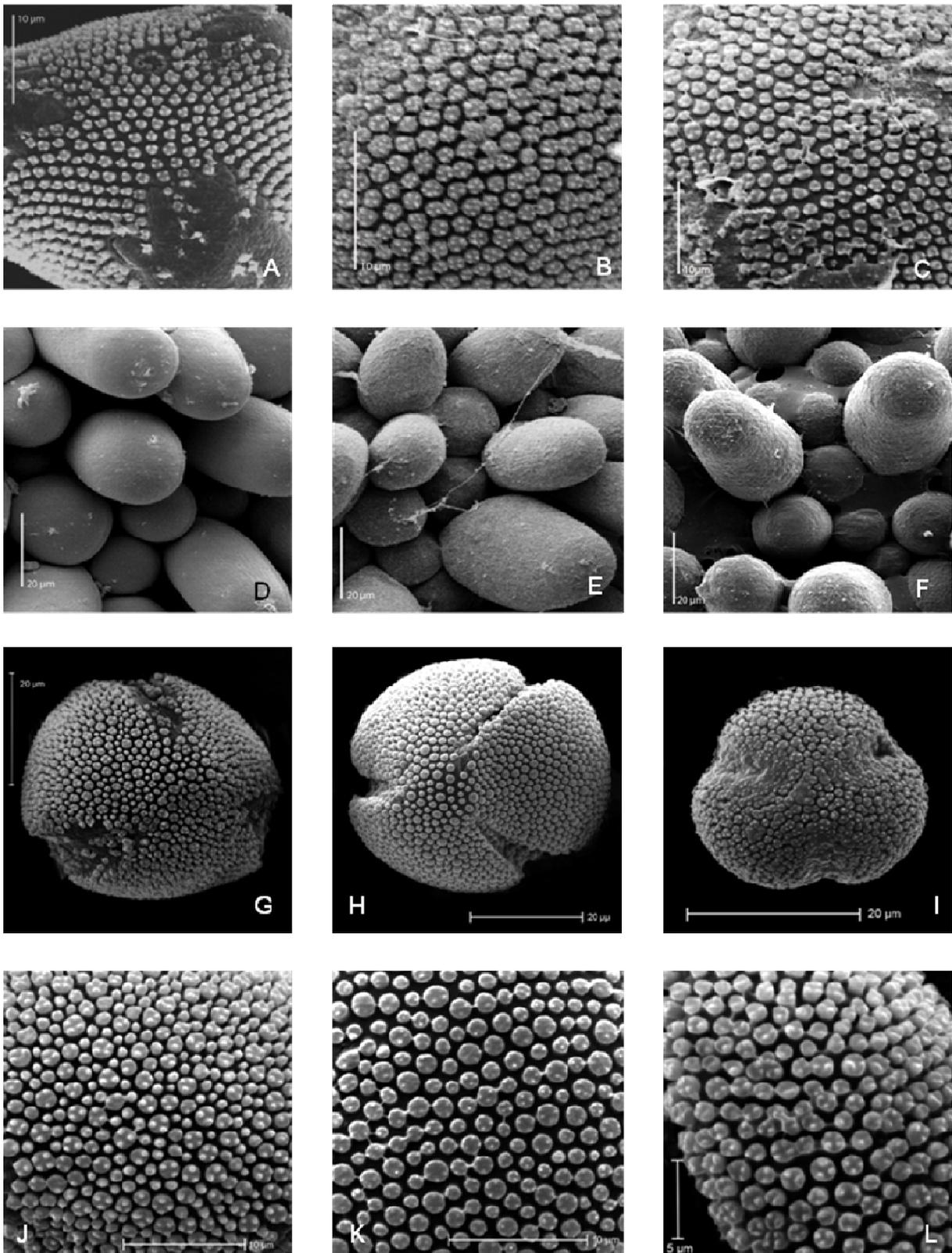
Neben den Pollenkörnern weisen auch die Narben in heterostylen Arten einen Polymorphismus bezüglich lang- und kurzgriffeligen Individuen auf. Leider erwies sich herbarisiertes Material als nicht geeignet, um die Struktur der Narbenpapillen zu analysieren, da die Zellen trotz besonderer Behandlung nach ERBAR (1995) nicht in ihren ursprünglichen, turgeszenten Zustand versetzt werden konnten. Daher war es lediglich möglich, von einigen wenigen Arten der Linaceae eine Untersuchung der Stigmata vorzunehmen. Die Beobachtungen wurden durch Literaturdaten, soweit diese vorhanden waren, ergänzt. In Tabelle 14 sind die entsprechenden Ergebnisse zusammengefasst. In einigen *Linum*-Arten, wie z. B. *L. perenne* unterscheiden sich die Papillen der Narben von kurz- und langgriffeligen Individuen vor allem in ihrer Länge. Die Narbenpapillen der langgriffeligen Blüten sind alle mehr oder weniger gleich lang, während in kurzgriffeligen Narben, Papillen unterschiedlicher Länge beobachtet werden (Abb. 44 J & K). In *L. grandiflorum* (Abb. 35 J & K) und *L. suffruticosum* (Abb. 36 E & F) tritt eine andere Art von Polymorphismus auf. Hier unterscheiden sich die Narben der beiden Blütentypen weniger durch die Form der Papillen, als durch deren Oberflächenstruktur.



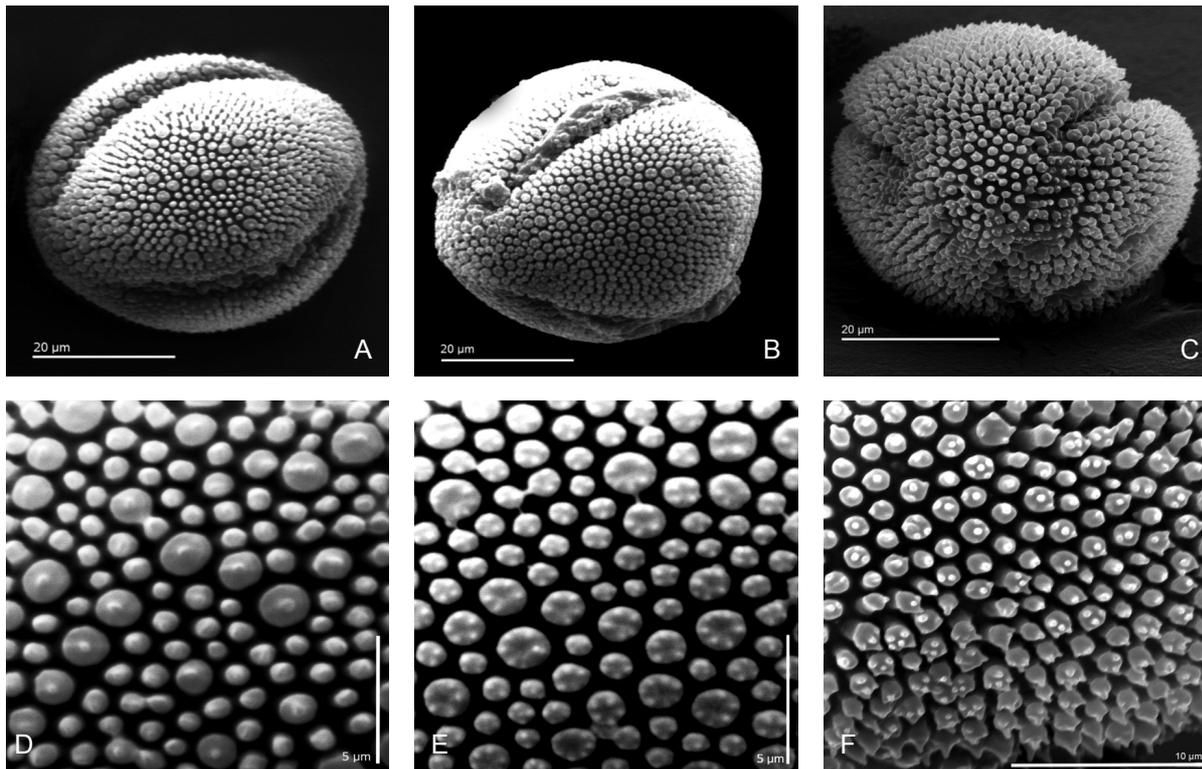
**Abb. 34:** REM-Aufnahmen des Pollenkorn- und Narbendimorphismus in verschiedenen *Linum*-Arten der Sektion *Linum*. Linke Spalte: Langgriffel, mittlere Spalte: Kurzgriffel, rechte Spalte: homostyle. A, D: *Linum narbonense*, Langgriffel; A: Pollenkorn; D: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; B, E: *L. narbonense*, Kurzgriffel; B: Pollenkorn; E: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; C, F: *L. monogynum*, homostyl; C: Pollenkorn; F: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; G, J: *L. nervosum*, Langgriffel; G: Pollenkorn; J: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; H, K: *L. nervosum*, Kurzgriffel; H: Pollenkorn; K: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; I, L: *L. bienne*, homostyl; I: Pollenkorn; L: Ausschnitt Pollenkornoberfläche.



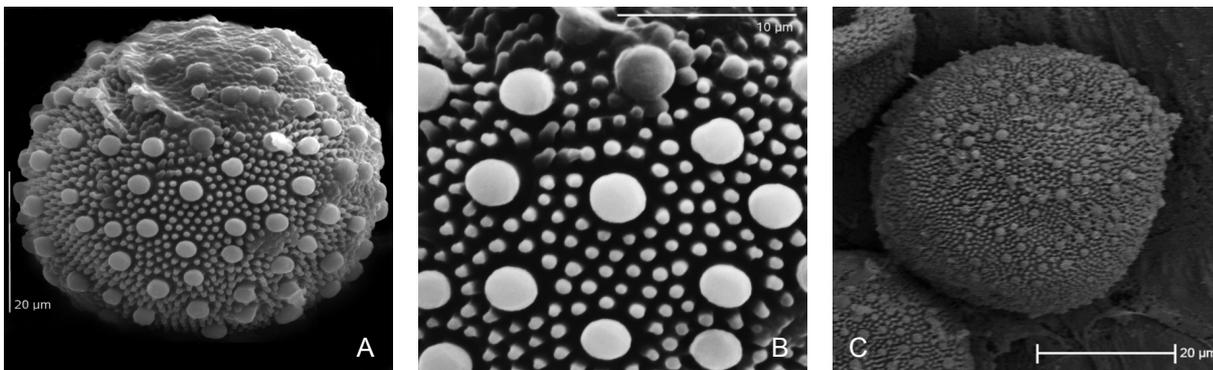
**Abb. 35:** REM- Aufnahmen des Pollenkorn- und Narbendimorphismus in verschiedenen *Linum*-Arten der Sektion *Linum*. Linke Spalte: Langgriffel, mittlere Spalte: Kurzgriffel, rechte Spalte: homostyle. A: *L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel, Ausschnitt Pollenkornoberfläche; B: *L. perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel, Ausschnitt Pollenkornoberfläche; C: *L. leonii*, homostyl, Ausschnitt Pollenkornoberfläche; D, G, J: *L. grandiflorum*, Langgriffel; D: Pollenkorn; G: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; J: Narbenpapillen; E, H, K: *L. grandiflorum*, Kurzgriffel; E: Pollenkorn; H: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; K: Narbenpapillen; F, I: *L. decumbens*, homostyl; F: Pollenkorn; I: Ausschnitt Pollenkornoberfläche.



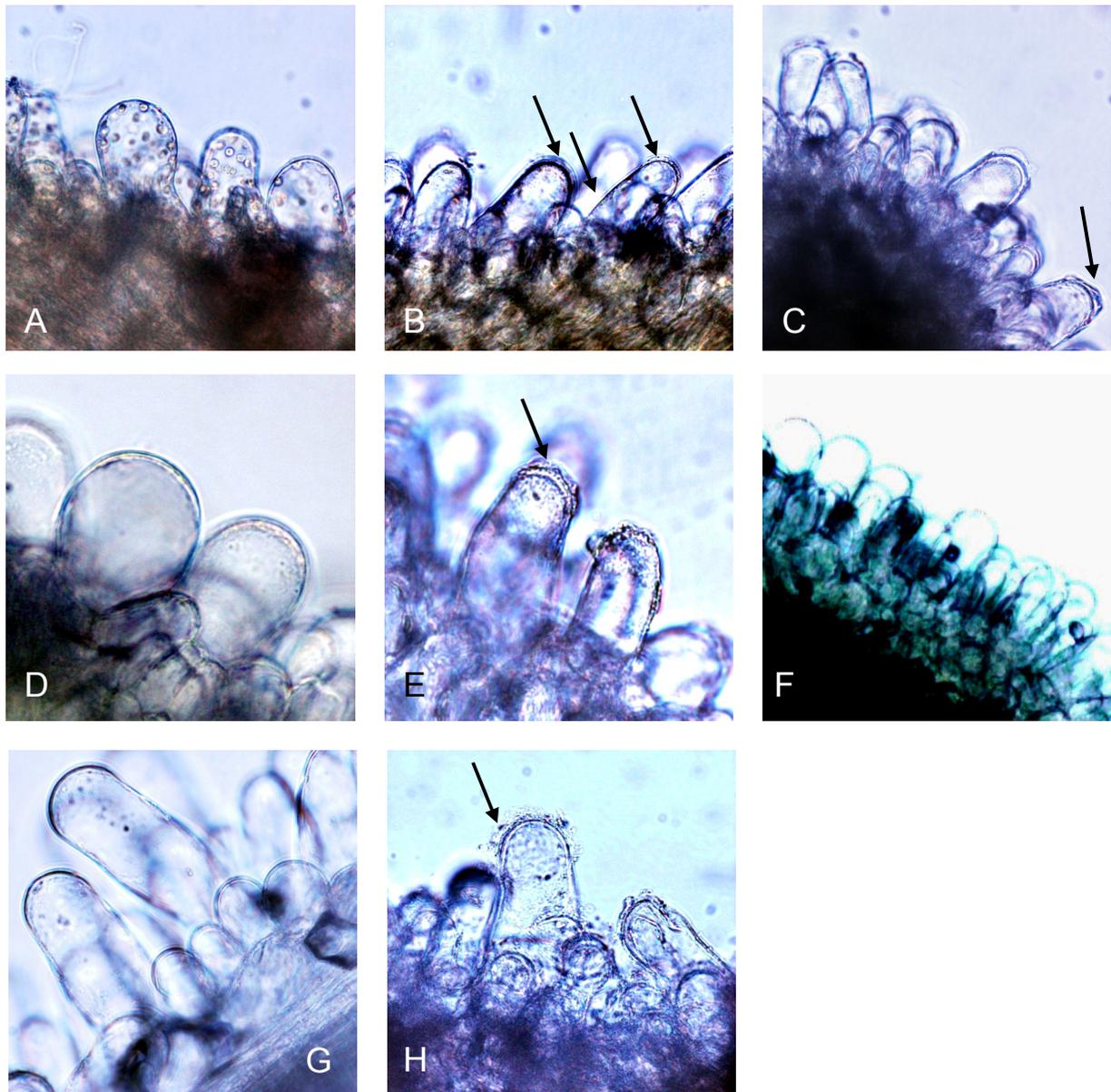
**Abb. 36:** REM-Aufnahmen des Pollenkorn- und Narbendimorphismus in verschiedenen *Linum*-Arten der Sektion *Linopsis*. Linke Spalte: Langgriffel, mittlere Spalte: Kurzgriffel, rechte Spalte: homostyle. A, D: *L. suffruticosum*, Langgriffel; A: Pollenkornoberfläche; D: Narbenpapillen; B, E: *L. suffruticosum*, Kurzgriffel; B: Pollenkornoberfläche; E: Narbenpapillen; C, F: *L. tenuifolium*, homostyl; C: Pollenkornoberfläche; F: Narbenpapillen; G, J: *L. maritimum*, Langgriffel; G: Pollenkorn; J: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; H, K: *L. maritimum*, Kurzgriffel; H: Pollenkorn; K: Pollenkornoberfläche; I, L: *L. trigynum*, homostyl; I: Pollenkorn; L: Pollenkornoberfläche.



**Abb. 37:** REM- Aufnahmen des Pollen- und Narbendimorphismus in zwei *Linum*-Arten der Sektion *Syllinum*. Linke Spalte: Langgriffel, mittlere Spalte: Kurzgriffel, rechte Spalte: homostyle. A, D: *L. triflorum*, Langgriffel; A: Pollenkorn; D: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; B, E: *L. triflorum*, Kurzgriffel; B: Pollenkorn; E: Ausschnitt Pollenkornoberfläche; C, F: *L. decumbens*, homostyl; C: Pollenkorn; F: Ausschnitt Pollenkornoberfläche.



**Abb. 38:** REM- Aufnahmen des Pollens von *Tirpitzia* und *Reinwardtia*. A: Pollenkorn von *Tirpitzia sinensis* B: Ausschnitt der Pollenkornoberfläche von *Tirpitzia sinensis*; C: Pollenkorn von *Reinwardtia indica*, Langgriffel.



**Abb. 39:** Photographien der Narbenpapillen verschiedener *Linum*-Arten. Linke Spalte: Langgriffel, mittlere Spalte: Kurzgriffel, rechte Spalte: homostyle. A: *L. flavum*, Langgriffel; B: *L. flavum*, Kurzgriffel; C: *L. nodiflorum*, homostyl; D: *L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel; E: *L. perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel; F: *L. leonii*, homostyl; G: *L. narbonense*, Langgriffel; H: *L. narbonense*, Kurzgriffel. Die Pfeile markieren die Ablagerungen auf den Narbenpapillen.

### 4.3.1.3 Selbstinkompatibilität

Sieben *Linum*-Arten wurden anhand verschiedener Kreuzungsexperimente auf die Form bzw. Ausprägung der Selbstinkompatibilität überprüft. In Tabelle 15 sind die Ergebnisse zusammenfassend dargestellt. In der Tabelle wurde bei der Kreuzbestäubung nicht unterschieden, ob langgriffelige oder kurzgriffelige Individuen als weiblicher bzw. männlicher Elter dienten. Zusätzlich wurden die Ergebnisse in einem Diagramm zusammengefasst (Abb. 40).

#### *Linum narbonense*

Für *Linum narbonense* konnten insgesamt 157 Bestäubungen ausgewertet werden. Wie aus Tabelle 15 ersichtlich, zeigte keine der Blüten nach Emaskulierung einen Fruchtansatz. Betrachtet man die beiden Formen der Selbstbestäubung, so fällt auf, dass lediglich in einer Blüte nach manueller Selbstbestäubung die Ausbildung einer Kapsel zu verzeichnen war. Hierbei handelte es sich um eine langgriffelige Blüte, die allerdings nur zwei schlecht ausgebildete Samen aufwies. Kreuzbestäubung zwischen Individuen derselben Blütenmorphie führte in keiner der 20 bestäubten Blüten zur Ausbildung von Früchten, während bei der Bestäubung von langgriffeligen Pflanzen mit kurzgriffeligen und umgekehrt, 13 von 20 Bestäubungen zur Samenbildung führten. Langgriffelige Pflanzen zeigten gegenüber kurzgriffeligen einen besseren Kapselansatz und bildeten im Durchschnitt mehr Samen pro Kapsel (2,62 im Vergleich zu 1,57 Samen).

#### *Linum perenne*

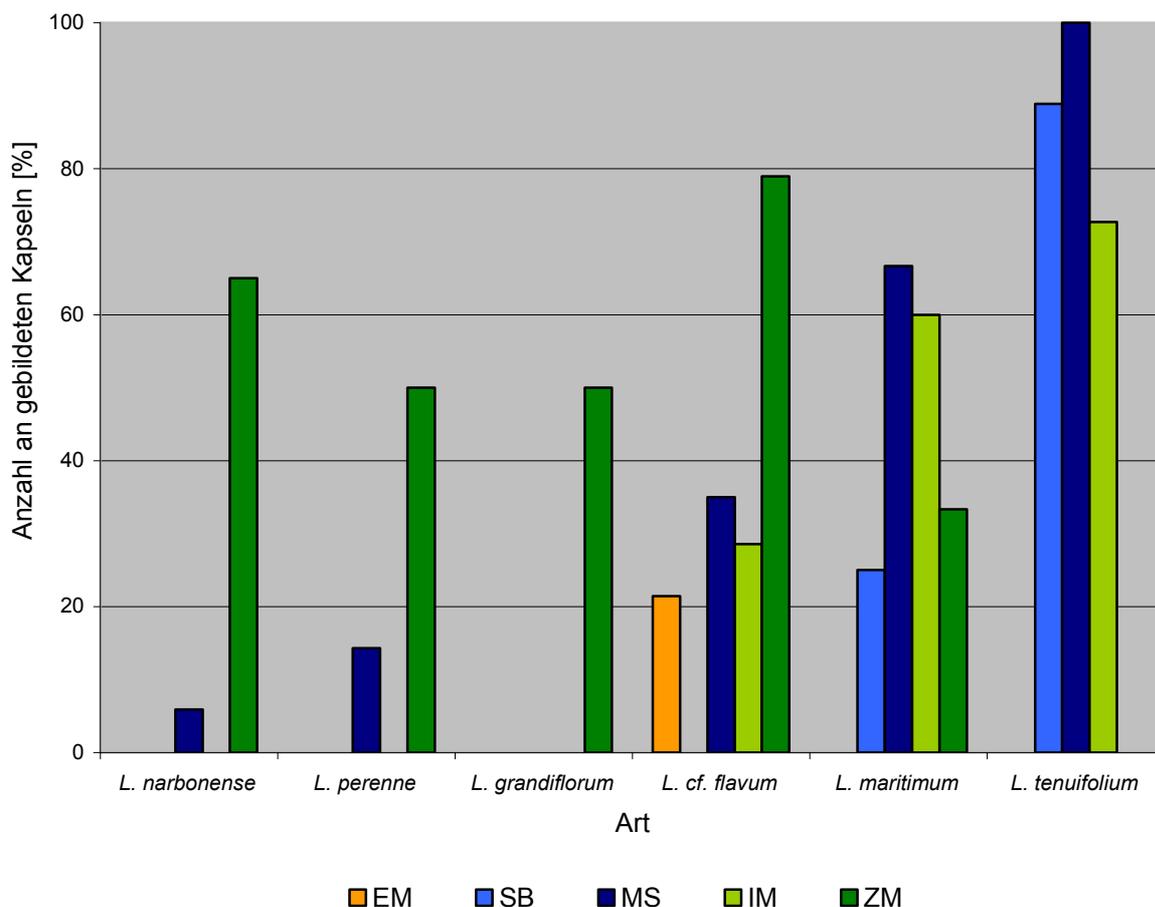
Die Ergebnisse der 90 Bestäubungen in *Linum perenne* entsprechen im Wesentlichen denen von *L. narbonense*. Auch hier konnte in emaskulierten Blüten kein Fruchtansatz verzeichnet werden (Tab. 15). Selbstbestäubung führte nur in einem von 53 Bestäubungen zur Ausbildung einer Kapsel, auch hier handelte es sich um eine langgriffelige Blüte, die manuell selbstbestäubt wurde. Diese Kapsel enthielt fünf gut ausgebildete Samen. Bestäubungen zwischen Individuen derselben Blütenmorphie führte zu keinem Fruchtansatz, während Bestäubung zwischen den verschiedenen Blütenformen zur Ausbildung von Kapseln führte. Im Vergleich zu *L. narbonense* wurden in *L. perenne* mehr Samen in Früchten von Kurzgriffeln gebildet (3,2 im Vergleich zu 2,43).

**Tab. 15:** Ergebnisse der insgesamt 476 durchgeführten Bestäubungen. IM = Kreuzbestäubung von Individuen einer Blütenmorphie, ZM = Kreuzbestäubung von Individuen verschiedener Blütenmorphen, n = Anzahl der durchgeführten Bestäubungen.

	n	Kapselbildung [%]	Ø Anzahl an Samen pro
<b><i>Linum narbonense</i></b>			
Emaskulierung	18	0	0
Selbstbestäubung	82	0	0
Manuelle Selbstbestäubung	17	5,88	2
Kreuzbestäubung IM	20	0	0
Kreuzbestäubung ZM	20	65	3,46
<b><i>Linum perenne</i></b>			
Emaskulierung	9	0	0
Selbstbestäubung	46	0	0
Manuelle Selbstbestäubung	7	14,29	5
Kreuzbestäubung IM	11	0	0
Kreuzbestäubung ZM	12	50	5,5
<b><i>Linum grandiflorum</i></b>			
Emaskulierung	14	0	0
Selbstbestäubung	22	0	0
Manuelle Selbstbestäubung	10	0	0
Kreuzbestäubung IM	16	0	0
Kreuzbestäubung ZM	12	50	4,33
<b><i>Linum cf. flavum</i></b>			
Emaskulierung	14	21,43	1,67
Selbstbestäubung	17	0	0
Manuelle Selbstbestäubung	20	35	2,86
Kreuzbestäubung IM	14	28,57	1,5
Kreuzbestäubung ZM	19	78,95	5,6
<b><i>Linum maritimum</i></b>			
Emaskulierung	2	0	0
Selbstbestäubung	4	25	8
Manuelle Selbstbestäubung	6	66,67	4,5
Kreuzbestäubung IM	10	60	0,83
Kreuzbestäubung ZM	3	33,33	4
<b><i>Linum tenuifolium</i></b>			
Emaskulierung	5	0	0
Selbstbestäubung	9	88,89	6,875
Manuelle Selbstbestäubung	8	100	6,125
Kreuzbestäubung IM	11	72,72	5,875

*Linum grandiflorum*

Für *Linum grandiflorum* konnten insgesamt 75 Bestäubungen ausgewertet werden (Tab. 15). Die Ergebnisse entsprechen denen der beiden bereits vorgestellten *Linum*-Arten. Es konnten keine Fruchtbildung in selbstbestäubten oder innerhalb der Morphe bestäubten Blüten festgestellt werden. Der Samenansatz pro Kapsel war bei langgriffeligen Vertretern etwas höher als in kurzgriffeligen (4,67 gegenüber 3,6 Samen).



**Abb. 40:** Graphische Zusammenfassung der Ergebnisse der Kreuzungsexperimente zur Überprüfung der Selbstinkompatibilität in verschiedenen *Linum*-Arten. Angegeben ist der Prozentsatz an gebildeten Kapseln pro Kreuzungstyp. EM = Emaskulierung, SB = Selbstbestäubung, MSB = manuelle Selbstbestäubung, IM = Kreuzbestäubung von Individuen einer Blütenmorphe, ZM = Kreuzbestäubung von Individuen verschiedener Blütenmorphen.

*Linum cf. flavum*

Für die heterostyle Art *Linum cf. flavum* wurden 84 Bestäubungen ausgewertet. Nach Emaskulierung zeigten drei Blüten einen Kapselansatz, zwei kurzgriffelige und eine

langgriffelige. Während die Kapseln der langgriffeligen Blüten einen bzw. keine Samen hervorbrachten, konnten in der Frucht der ehemals langgriffeligen Blüte drei Samen gefunden werden. Unbeeinflusste Selbstbestäubung führte gegenüber der manuellen zu keinem Fruchtansatz. Auffallend ist, dass in den Kapseln der Langgriffel mehr Samen gebildet wurden als in denen der Kurzgriffel. In den Früchten von langgriffeligen Individuen befanden sich im Schnitt fünf Samen, während Kapseln von Kurzgriffeln nur einen Samen ausbildeten. Zwischen Individuen derselben Blütenmorphie wurden 14 Bestäubungen vorgenommen. Interessanterweise konnte bei keiner der bestäubten kurzgriffeligen Blüten ein Fruchtansatz gefunden werden, während alle vier bei Langgriffeln vorgenommenen Bestäubungen zur Ausbildung einer Kapsel mit mäßigem Samenansatz (1-4 Samen pro Kapsel) führten. Bestäubung zwischen Blüten mit verschiedener Morphologie führte in der Regel zur Ausbildung von Kapseln und Samen, in Kurzgriffeln im Durchschnitt mit 4,5 Samen und in Langgriffeln mit 2,6.

#### *Linum maritimum*

Die Anzahl der auswertbaren Kreuzungsexperimente für *Linum maritimum* war gering, zeigte jedoch interessante Ergebnisse (Tab. 15). Emaskulierung führte wie in den meisten zuvor beschriebenen Arten zu keiner Ausbildung von Früchten. Unbeeinflusste Selbstbestäubung führte in einer langgriffeligen Blüte zur Ausbildung einer Kapsel mit acht Samen, während von den sechs manuell durchgeführten Selbstbestäubungen alle vier der in Kurzgriffeln durchgeführten zu Frucht- und Samenbildung führten (neun Samen im Durchschnitt). Auch die Kreuzungen zwischen Individuen einer Blütenmorphologie zeigten einen deutlichen Ansatz von Kapseln, vier von sechs Kreuzungen innerhalb der Kurzgriffel und zwei von vier innerhalb der Langgriffel.

#### *Linum tenuifolium*

Bei der homostylen *Linum tenuifolium* wurden 32 Bestäubungen ausgewertet. Emaskulierung führte in keiner der Bestäubungen zu Fruchtansatz. Manuelle Selbstbestäubung führte bei dieser Art in jeder durchgeführten Bestäubung zur Bildung einer Kapsel. Auch Blüten, die sich selbst überlassen wurden, zeigten in acht von neun Fällen einen Fruchtansatz. Kreuzbestäubung zeigte keinen höheren Fruchtansatz, acht von elf Bestäubungen führten zur Ausbildung einer Kapsel.

Vergleicht man die Menge an gebildeten Samen, so zeigte sich der höchste Samenansatz bei manueller Selbstbestäubung (im Durchschnitt 6,71 Samen) und der niedrigste bei Kreuzbestäubung, 4,63 pro entwickelter Kapsel.

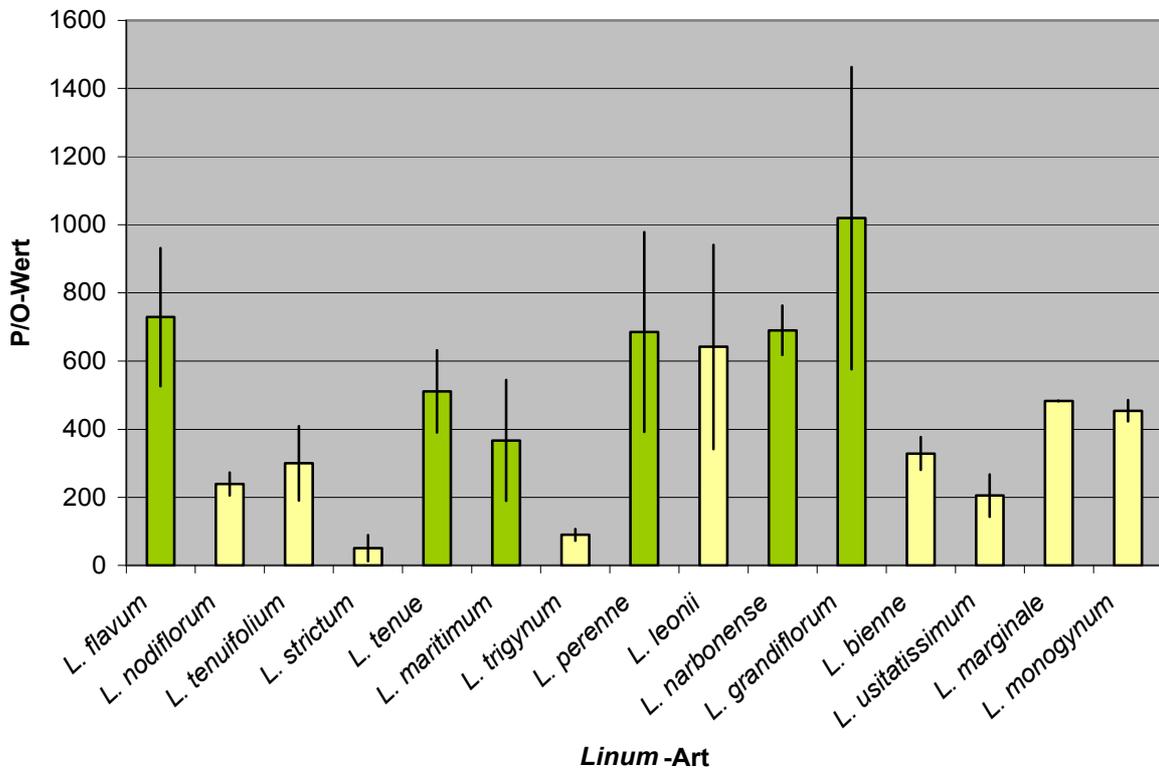
#### 4.3.1.4 Bestimmung des P/O-Wertes

Um das Reproduktionssystem der beiden Lein-Arten *Linum leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* genauer zu charakterisieren, wurden die P/O-Werte von verschiedenen Arten der Gattung *Linum* bestimmt. Es wurden sowohl homostyle als auch heterostyle Arten verschiedener Sektionen innerhalb der Gattung berücksichtigt, um *L. leonii* und *L. perenne* mit verschiedenen Arten zu vergleichen. In Abbildung 41 sind die Mittelwerte der berechneten P/O-Werte für 15 verschiedene Lein-Arten mit Standardabweichung angegeben. Der niedrigste P/O-Wert (50,83) war in der homostylen Art *L. strictum* zu verzeichnen, während die heterostyle *L. grandiflorum* mit einem Wert von 1019,27 den höchsten Wert erreicht.

**Tab. 16:** P/O-Werte verschiedener Lein-Arten. Angegeben sind die Mittelwerte (m) der errechneten P/O-Werte mit der jeweiligen Standardabweichung (s). RS = Art des Reproduktionssystems, n = Anzahl der Stichproben.

<i>Linum</i> -Art	Sektion	RS	n	m	s
<i>Linum flavum</i>	<i>Syllinum</i>	heterostyl	4	728,75	202,98
<i>Linum grandiflorum</i>	<i>Linum</i>	heterostyl	11	1019,27	443,65
<i>Linum maritimum</i>	<i>Linopsis</i>	heterostyl	12	366,88	177,76
<i>Linum narbonense</i>	<i>Linum</i>	heterostyl	2	690,00	72,48
<i>Linum perenne</i>	<i>Linum</i>	heterostyl	52	684,90	292,97
<i>Linum tenue</i>	<i>Linopsis</i>	heterostyl	7	510,71	120,85
<i>Linum bienne</i>	<i>Linum</i>	homostyl	2	328,75	48,17
<i>Linum leonii</i>	<i>Linum</i>	homostyl	22	641,36	299,53
<i>Linum marginale</i>	<i>Linum</i>	homostyl	1	483,33	---
<i>Linum monogynum</i>	<i>Linum</i>	homostyl	2	453,95	31,43
<i>Linum nodiflorum</i>	<i>Syllinum</i>	homostyl	6	239,58	33,67
<i>Linum strictum</i>	<i>Linopsis</i>	homostyl	6	50,83	38,00
<i>Linum tenuifolium</i>	<i>Linopsis</i>	homostyl	11	299,77	109,26
<i>Linum trigynum</i>	<i>Linopsis</i>	homostyl	2	90,00	17,5
<i>Linum usitatissimum</i>	<i>Linum</i>	homostyl	10	205,05	62,11

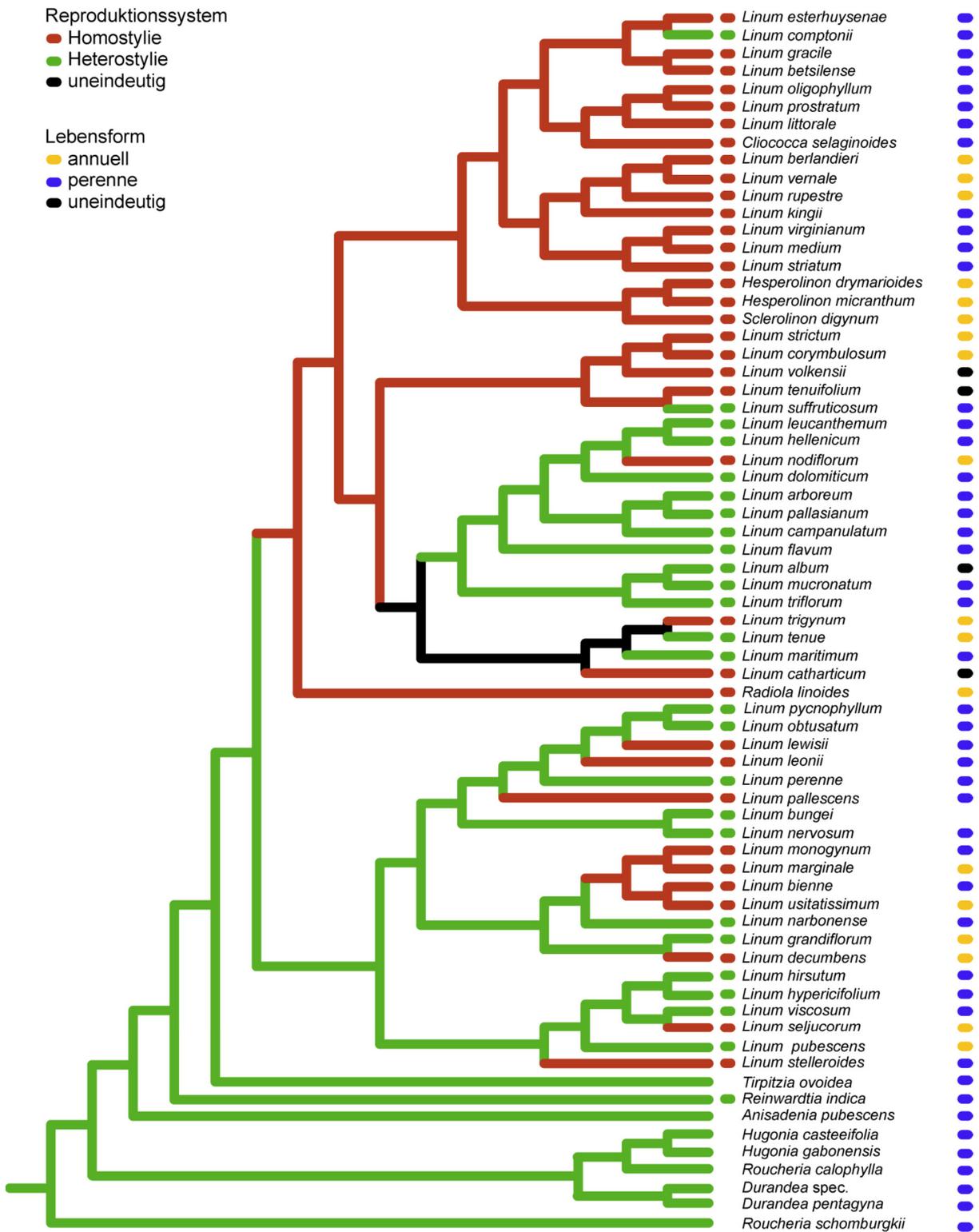
Um die einzelnen Werte besser miteinander vergleichen zu können, wurden die ermittelten Werte zusätzlich in einem Balkendiagramm dargestellt (Abb. 41).



**Abb. 41:** Darstellung des P/O-Wertes verschiedener *Linum*-Arten. Heterostyle Arten sind in grün, homostyle Arten in gelb dargestellt.

### 4.3.2 Evolution der Reproduktionssysteme in den Linaceae

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde auf der Basis verschiedener molekularer Phylogenien der Linaceae ein 'Supertree' erstellt, der als Grundlage für die Rekonstruktion der Evolution der Reproduktionssysteme in den Leingewächsen genutzt wurde (Abschnitt 3.2.4). Heterostylie wird in dieser Rekonstruktion ('*most parsimonious states*') sowohl für die Linaceae als auch die Linoideae als ursprünglich angesehen (Abb. 42). Homostylie ist mindestens neunmal unabhängig voneinander entstanden. In der Literatur wird *Linum tenuifolium* sowohl als heterostyl als auch als homostyl beschrieben, weshalb die Merkmalsrekonstruktion mehrmals mit unterschiedlichen Annahmen für *L. tenuifolium* durchgeführt wurde. Dies änderte jedoch nichts an den errechneten Zuständen für die basalen Knoten der Familie bzw. Unterfamilie. Lediglich die Merkmalsausprägungen für den gemeinsamen Vorfahren

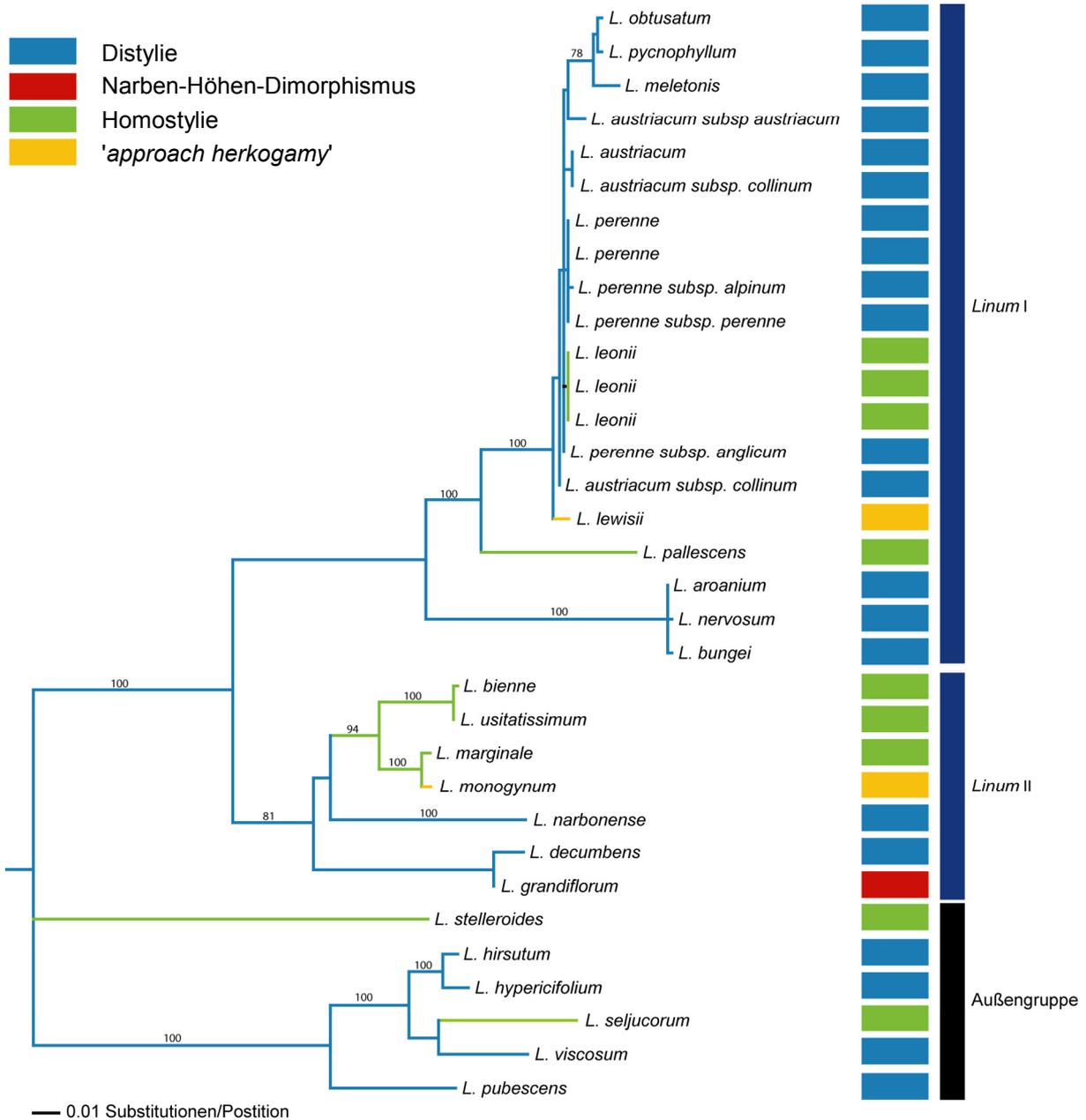


**Abb. 42:** 'Supertree' errechnet auf der Basis der Topologie des *rbcl*-Datensatzes und zweier ITS-Datensätze ('Gelbe Gruppe', 'Blaue Gruppe'). Die Äste und die sich im Anschluss befindlichen Ovale stellen die Evolution von Homostylie / Heterostylie dar, während die Ovale hinter den Artnamen die entsprechende Lebensform der Arten darstellen.

der 'Gelben Gruppe', der europäischen Vertreter der 'Gelben Gruppe' und der Untersektion *Dichrolinum* ändert sich von homostyl (*L. tenuifolium* homostyl) zu uneindeutig (*L. tenuifolium* heterostyl). Die 'Blaue Gruppe' lässt sich stets auf einen heterostylen Vorfahren zurückführen (Abb. 42).

### 4.3.3 Phylogenetische Rekonstruktion der Sektion *Linum*

Um eine Aussage bezüglich der Evolution verschiedener Reproduktionssysteme in der Sektion *Linum* treffen zu können, wurde mittels einer *Maximum Likelihood* Analyse ein Phylogramm dieser Gruppe berechnet. Im Vergleich zu der Untersuchung der blaublühenden *Linum*-Arten im ersten Teil der vorliegenden Arbeit (Abschnitt 2.3.3.1), wurde der Umfang der Taxa erweitert. Unterarten von *Linum austriacum* und *L. perenne* fanden ebenso Berücksichtigung, wie verschiedene *L. leonii* Aufsammlungen. Die Rekonstruktion ist in Abbildung 43 ersichtlich. Homostylie ist fünfmal unabhängig von einander entstanden. 'Approach herkogamy' ist im Falle von *L. lewisii* aus einer heterostylen Art hervorgegangen, während *L. monogynum* einen homostylen Vorfahren besaß. *Linum grandiflorum*, die einzige Art mit einem Narben-Höhen-Dimorphismus, ging aus einer heterostylen Art hervor.



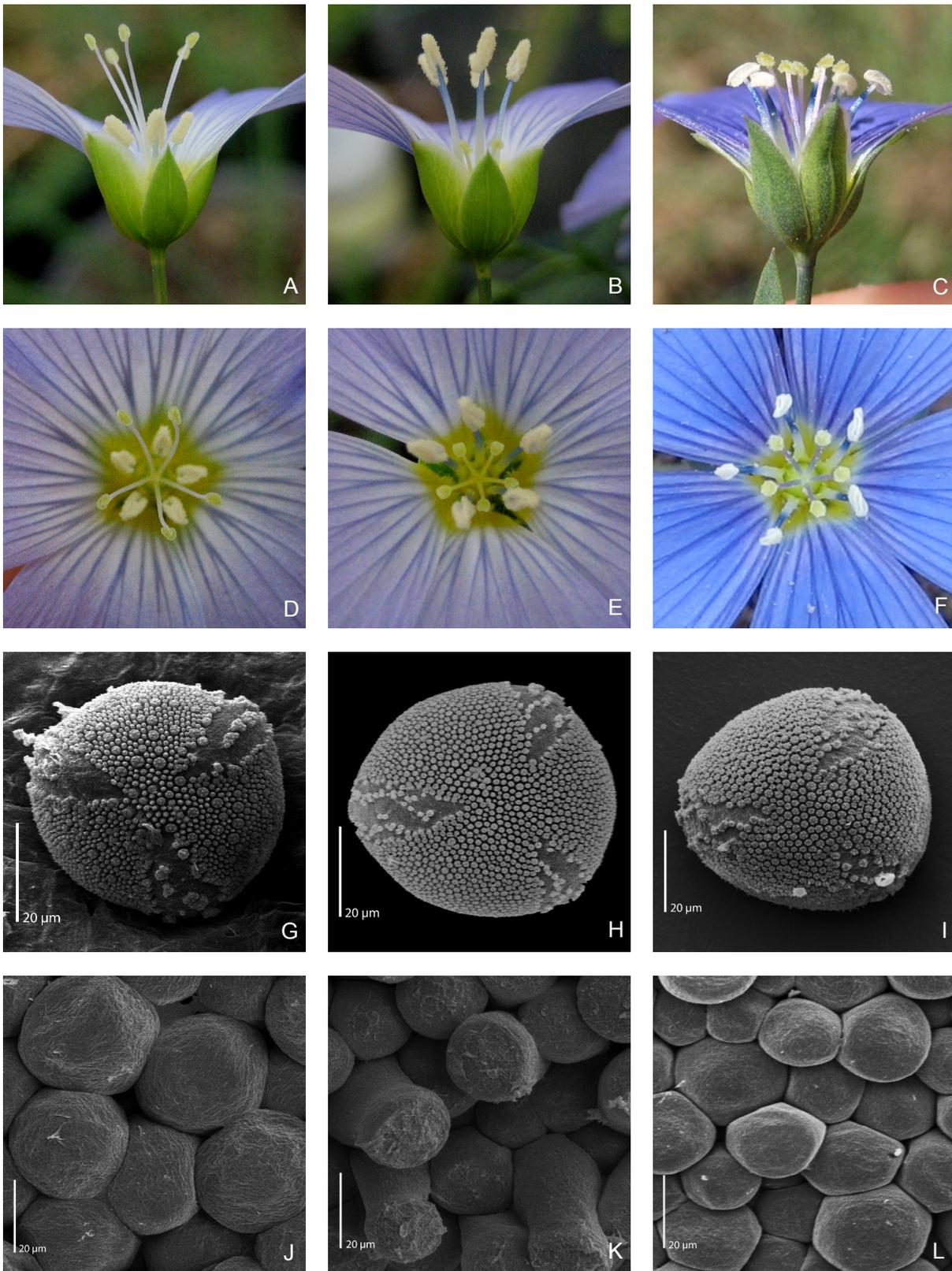
**Abb. 43:** Phylogramm der *Maximum Likelihood* Analyse basierend auf einem ITS-Datensatz der Sektion *Linum*. *Linum stelleroides* und die Vertreter der Sektion *Dasylinum* wurden als Außengruppe verwendet. Die Einteilung in '*Linum* I' und '*Linum* II' basiert auf den Ergebnissen in Abschnitt 3.3.3.1. Über den Ästen ist die *Bootstrap*-Unterstützung in Prozent angegeben, es wurden lediglich Werte über 75 % berücksichtigt.

#### 4.3.4 *Linum perenne* subsp. *perenne* und *Linum leonii*

Die homostyle *Linum leonii* und die heterostyle *L. perenne* subsp. *perenne* wurden im Rahmen dieser Arbeit eingehender untersucht, um die Ausprägungen der unterschiedlichen Reproduktionssysteme genauer zu analysieren. Zu diesem Zweck wurden jeweils zwei Populationen dieser Arten, sofern möglich, sowohl morphologisch als auch mittels einer AFLP-Analyse untersucht, um Aufschluss über die Art der Fortpflanzung und die genetische Diversität dieser beiden Arten zu erhalten.

##### 4.3.4.1 Charakterisierung der verschiedenen Blütentypen

Die Blüten der *Linum leonii*-Population bei Gamburg und der *L. perenne* subsp. *perenne*-Population bei Darmstadt wurden morphologisch untersucht und miteinander verglichen. *Linum perenne* subsp. *perenne* ist heterostyl (Abb. 44). Charakteristisch ist hierfür zum einen die reziproke Anordnung von Stamina und Stigmata und zum anderen die Ausbildung verschiedener Pollenkornoberflächen und Narbenpapillen (Abb. 35, 39 & 44; Tab. 14). In den Blüten von *L. leonii* hingegen sind Antheren und Narben immer in etwa derselben Position zu finden. Diese befindet sich im Vergleich zu *L. perenne* subsp. *perenne* in etwa der Mitte der beiden Positionen, die für diese Art beobachtet werden. Um dies genauer zu bestimmen, wurden Filamentlänge, Griffellänge und für *L. perenne* subsp. *perenne* zusätzlich die Petalenlänge bestimmt. Eine Vermessung der Blütenblätter bei *L. leonii* war für die der Untersuchung zugrunde liegenden Blüten nicht möglich, da die Individuen zum Sammelzeitpunkt bereits ihre Petalen abgeworfen hatten. In Tabelle 17 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen für die einzelnen Parameter angegeben. Um die Längenverhältnisse des Gynoeceums und des Androeceums besser zu veranschaulichen, wurde die Länge der Filamente in einem Diagramm gegen die Griffellänge aufgetragen (Abb. 45).



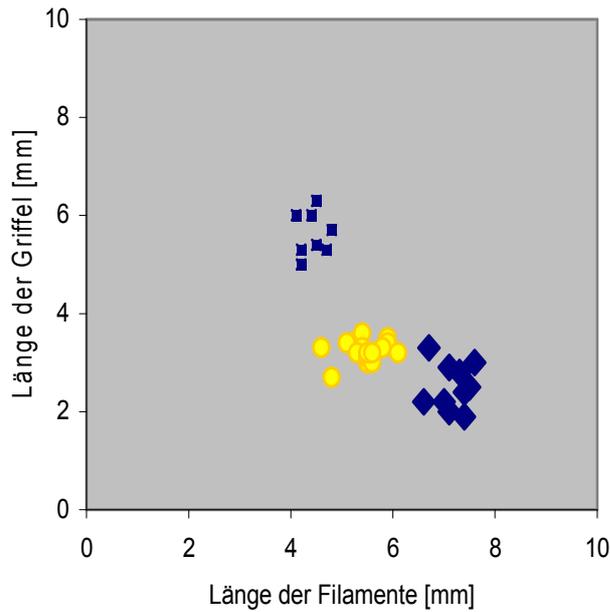
**Abb. 44:** Heterostylie in der *Linum perenne*-Gruppe. Linke Spalte: *Linum perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel, mittlere Spalte: *L. perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel, rechte Spalte: *L. leonii*. A-C: Seitenansicht einer Blüte nach Entfernung einiger Petalen; D-F: Blick in eine Blüte; G-I: Struktur der Pollenkornoberfläche (REM-Aufnahme); J-L: Form und Oberfläche der Narbenpapillen (REM-Aufnahme).

Die Länge der Filamente betrug bei kurzgriffeligen *Linum perenne* subsp. *perenne*-Individuen im Mittel 7,17 mm und war somit im Schnitt 2,77 mm länger als die langgriffeliger Blüten ( $m = 4,40$  mm, Tab. 17). Die Staubfäden der homostylen Art *L. leonii* lagen mit einem Mittelwert von 5,46 mm Länge zwischen denen der beiden Blütentypen der heterostylen *L. perenne* subsp. *perenne*. Ein Mann-Whitney-U-Test ergab hochsignifikante Unterschiede (Tab. 18) bezüglich der verschiedenen Ausprägungen (Kurzgriffel, Langgriffel, homostyle Blüte).

**Tab. 17:** Darstellung der Mittelwerte ( $m$ ) und Standardabweichungen ( $s$ ) der einzelnen Messdaten. KG = Kurzgriffel, LG = Langgriffel, HO = homostyl,  $n$  = Anzahl der Stichproben.

Linum-Art	Filamentlänge [mm]		Griffellänge [mm]		Petalenlänge [mm]	
	m +/- s		m +/- s		m +/- s	
<i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , KG n = 10	7,17 +/- 0,33		2,52 +/- 0,46		16,00 +/- 1,25	
<i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , LG n = 9	4,40 +/- 0,25		5,56 +/- 0,47		16,11 +/- 1,27	
<i>Linum leonii</i> , HO n = 20	5,46 +/- 0,36		3,22 +/- 0,21		---	

Betrachtet man die Griffellänge, so zeichnen sich langgriffelige *Linum perenne* subsp. *perenne* Individuen durch eine durchschnittliche Länge von 5,56 mm aus. Kurzgriffel derselben Art weisen im Schnitt um 3,03 mm kürzere Griffel ( $m = 2,52$  mm, Tab. 17) auf. Die für *L. leonii* gemessenen Werte liegen auch hier mit einer mittleren Länge von 3,22 mm zwischen denen der Lang- und Kurzgriffel von *L. perenne* subsp. *perenne*. Auch hier waren die beobachteten Unterschiede hochsignifikant (Tab. 18).



**Abb. 45:** Darstellung der Filament- und Griffellänge. Blaues Quadrat: *Linum perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel; blaue Raute: *Linum perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel; gelber Kreis: *L. leonii*, homostyl.

Für *Linum perenne* subsp. *perenne* wurde zusätzlich die Länge der Petalen in lang- und kurzgriffeligen Individuen untersucht. Die beiden morphologischen Ausprägungen unterschieden sich kaum bzgl. der Blütenblattlänge. Für Kurzgriffel wurde ein Mittelwert von 16,00 mm bestimmt, welcher nur 0,11 mm unter dem für Langgriffel bestimmten Wert lag (16,11 mm, Tab. 17). Auch diese Werte wurden mit einem Mann-Whitney-U-Test auf Signifikanz getestet. Hier konnten allerdings keine bedeutsamen Unterschiede festgestellt werden ( $p = 0,780$ ).

**Tab. 18:** Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests. Die Länge der Filamente und der Griffel wurden auf die Signifikanz der beobachteten Unterschiede getestet. Oberhalb der Diagonalen die Ergebnisse bzgl. der Filamentlänge, unterhalb der Diagonalen die Ergebnisse bzgl. der Griffellänge. KG = Kurzgriffel, LG = Langgriffel, HO = homostyl, n = Anzahl der Stichproben, \*\*\* =  $p < 0,001$ .

	<i>Linum perenne</i> , KG n = 10	<i>Linum perenne</i> , LG n = 9	<i>Linum leonii</i> , HO n = 20
<i>Linum perenne</i> , KG		***	***
<i>Linum perenne</i> , LG	***		***
<i>Linum leonii</i> , HO	***	***	

#### 4.3.4.2 Bestimmung des P/O-Wertes

Die im Abschnitt 3.3.1.4 ermittelten P/O-Werte wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests miteinander verglichen und auf Signifikanz getestet. Da in *Linum perenne* subsp. *perenne* sowohl langgriffelige als auch kurzgriffelige Blüten vorkommen, wurde *L. leonii* beiden morphologischen Ausprägungen gegenübergestellt. *Linum leonii* zeigte keinen signifikanten Unterschied in der Pollenmenge pro Samenanlage zu kurzgriffeligen oder langgriffeligen Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne* (Tab. 19).

**Tab. 19:** Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests. Die P/O-Werte von *Linum perenne* subsp. *perenne* und *L. leonii* wurden auf Signifikanz getestet. In diesem Vergleich wurde innerhalb von *L. perenne* subsp. *perenne* zwischen Kurzgriffeln und Langgriffeln unterschieden. KG = Kurzgriffel, LG = Langgriffel, HO = homostyl, n = Anzahl der Stichproben.

	<i>Linum perenne</i> , KG n = 27	<i>Linum perenne</i> , LG n = 25	<i>Linum leonii</i> , HO n = 22
<i>Linum perenne</i> , KG		0,128	0,748
<i>Linum perenne</i> , LG	---		0,107
<i>Linum leonii</i> , HO	---	---	

Die ermittelten P/O-Werte von *Linum leonii* wurden auch mit denen anderer homostyler *Linum*-Arten verglichen. Mit etwa 641 Pollenkörnern pro Samenanlage besitzt *L. leonii* innerhalb der hier untersuchten homostylen *Linum*-Arten den höchsten P/O-Wert gefolgt von *L. marginale* mit einem Wert von 483,33 (Tab. 16). Die P/O-Werte von *L. leonii* zeigten zu allen untersuchten homostylen *Linum*-Arten hoch signifikante Unterschiede (Tab. 20).

**Tab. 20:** Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests. Die P/O-Werte von *Linum leonii* wurden mit denen anderer homostyler *Linum*-Arten verglichen und auf Signifikanz getestet; n = Anzahl der Stichproben; \*\*\* =  $p < 0,001$ .

	<i>L. nodiflorum</i>	<i>L. tenuifolium</i>	<i>L. strictum</i>	<i>L. trigynum</i>	<i>L. usitatissimum</i>
	n = 6	n = 11	n = 5	n = 7	n = 10
<i>Linum leonii</i>	***	***	***	***	***
n = 22					

Der Vergleich der P/O-Werte von *Linum leonii* mit heterostylen Vertretern der Gattung *Linum* ergab unterschiedliche Ergebnisse (Tab. 21), wobei in dieser Untersuchung nicht zwischen langgriffeligen und kurzgriffeligen Individuen unterschieden wurde. *Linum leonii* zeigte bezüglich des P/O-Wertes keine bedeutsamen Unterschiede zu *L. perenne* und *L. tenue*, jedoch auffällige Unterschiede zu *L. maritimum* und hoch signifikante zu *L. grandiflorum* (Tab. 21).

**Tab. 21:** Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests. Die P/O-Werte von *Linum leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* wurden mit denen verschiedener heterostyler *Linum*-Arten verglichen. n = Anzahl der Stichproben; \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$ .

	<i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i>	<i>L. maritimum</i>	<i>L. grandiflorum</i>	<i>L. tenue</i>
	n = 52	n = 12	n = 11	n = 7
<i>Linum leonii</i>	0,279	*	***	0,469
n = 22				
<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i>	---	***	***	*
n = 52				

*Linum perenne* wurde ebenso mit den drei untersuchten heterostylen Arten verglichen. Es zeigten sich hoch signifikante Unterschiede zwischen *L. perenne* subsp. *perenne* und *L. maritimum* bzw. *L. grandiflorum*. *Linum tenue* und *L. perenne* unterschieden sich bzgl. ihres P/O-Wertes nur leicht (Tab. 21).

#### 4.3.4.3 AFLP-Untersuchung

Je zwei Populationen von *Linum leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* wurden unter Verwendung von drei verschiedenen Primerkombinationen mit Hilfe von AFLPs auf ihre genetische Diversität untersucht. Je nach Population konnten zwischen 157 und 197 Fragmente beobachtet werden (Tab. 22). Die *L. leonii*-Populationen wiesen mit 6,37 % bzw. 8,93 % eine geringere Zahl an polymorphen Loci auf als die beiden *L. perenne* subsp. *perenne*-Populationen (61,54 % und 80,20 %). Die genetische Diversität ( $H_j$ ) beträgt in *L. perenne* subsp. *perenne* 0,1865 bzw. 0,2150 und ist im Mittel etwa elfmal so hoch wie die in *L. leonii* (0,0166 bzw. 0,0198, Tab. 22).

**Tab. 22:** Ergebnisse der AFLP-Untersuchung von je zwei *Linum leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne*-Populationen; *L.* = *Linum*; n = Anzahl der Individuen pro Population,  $H_j$  = Genetische Diversität, I = Shannon Index.

Population	Art	n	Fragmente	Polymorphe loci [%]	$H_j$	I
Dockendorf	<i>Linum leonii</i>	5	157	6,37	0,0166	0,0268
Apfelberg	<i>Linum leonii</i>	18	168	8,93	0,0198	0,0328
Darmstadt	<i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i>	19	182	61,54	0,1865	0,2829
Garching Heide	<i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i>	17	197	80,20	0,2150	0,3363

### 4.3.5 Ermittlung der genetischen Grundlagen der Heterostylie / Homostylie in *Linum perenne* subsp. *perenne* und *Linum leonii*

#### 4.3.5.1 Generierung der F1-Generation

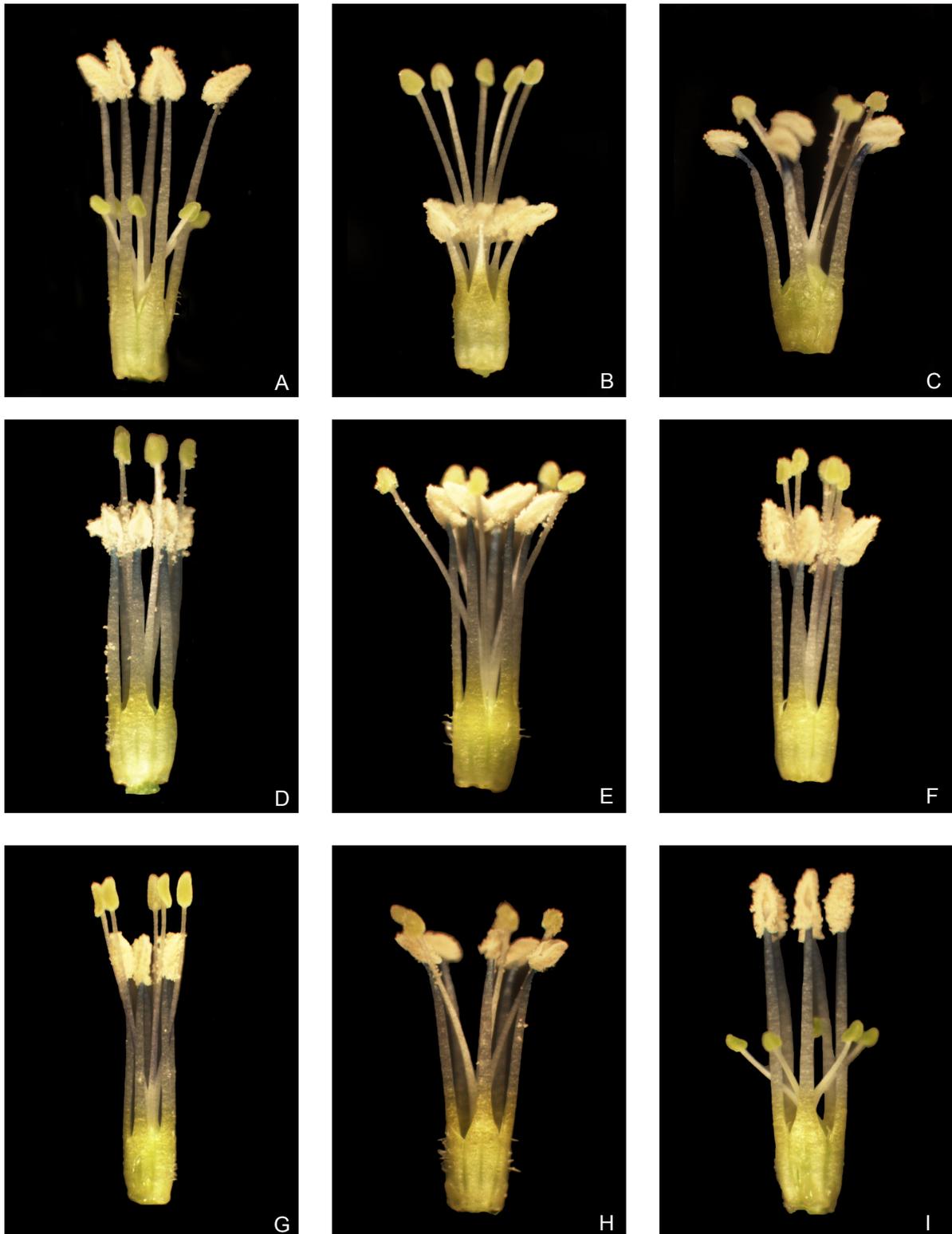
Durch Kreuzung der homostylen *Linum leonii* und der heterostylen *L. perenne* subsp. *perenne* soll Aufschluss über die genetischen Grundlagen der Heterostylie bzw. Homostylie in diesen beiden Arten gewonnen werden. Zu diesem Zweck wurden vier verschiedene Bestäubungsexperimente durchgeführt, deren Ergebnisse in Tabelle 23 zusammengefasst sind.

**Tab. 23:** Ergebnisse der 464 durchgeführten Bestäubungen. Kreuzung der heterostylen *Linum perenne* subsp. *perenne* (A) mit der homostylen *L. leonii* (B). KG = Kurzgriffel, LG = Langgriffel, HO = homostyl. Im Anschluss an die Individuen sind in Klammern die vermuteten Genotypen angegeben (G/g kodiert die Griffellänge und die Selbstinkompatibilitätsreaktion der Narbe, A/a die Länge der Filamente und P/p die Selbstinkompatibilitätsreaktion des Pollens).

♀ X ♂	Anzahl der Kreuzungen	Anzahl der Kapseln	Kapselansatz [%]	Samen pro Kapsel (Median)
A-KG (GPA/gpa) X B-HO (gPA/gPA)	156	0	0	0
B-HO (gPA/gPA) X A-KG (GPA/gpa)	96	39	40,63	5
A-LG (gpa/gpa) X B-HO (gPA/gPA)	118	36	30,51	2
B-HO (gPA/gPA) X A-LG (gpa/gpa)	94	32	34,04	2

Kreuzungen, in denen ein kurzgriffeliges Individuum von *Linum perenne* subsp. *perenne* als Mutter und *L. leonii* als Vater fungierten, führten in keiner der 156 durchgeführten Bestäubungen zur Ausbildung einer Kapsel. Die übrigen drei Experimente zeigten in 30-40 % der Bestäubungen einen Fruchtansatz. Der Samenansatz pro Kapsel war in Kreuzungen von *L. leonii* und langgriffeligen Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne* geringer als in solchen zwischen *L. leonii* (♀) und Kurzgriffeln von *L. perenne* subsp. *perenne* (♂).

Die Samen, die aus den oben beschriebenen Kreuzungen hervorgegangen sind, wurden ausgesät und bis zur Blüte im Gewächshaus des Botanischen Gartens der



**Abb. 46:** Darstellung von Androeceum und Gynoeceum der Eltern *Linum leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne*, sowie die aus Kreuzungen dieser Arten resultierenden F1-Hybriden. A: *L. perenne* subsp. *perenne*, (KG); B: *L. perenne* subsp. *perenne* (LG); C: *L. leonii*; D: *L. perenne* subsp. *perenne* (LG) X *L. leonii*, 'homostyl'; E: *L. perenne* subsp. *perenne* (LG) X *L. leonii*, homostyl; F: *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (LG), 'homostyl'; G: *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (KG), 'homostyl'; H: *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (KG), homostyl; I: *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (KG), Kurzgriffel.

Johannes Gutenberg-Universität kultiviert. Die Blüten der F1-Generation zeigten im Vergleich zu dem in den Elternarten zu beobachtenden Verhältnis von Antheren zu Stigmata eine gewisse Variation (Abb. 46). Während in *L. leonii* ausschließlich homostyle Blüten beobachtet wurden (in denen sich Narben und Staubbeutel in etwa derselben Position befanden) und *L. perenne* subsp. *perenne* entweder deutliche Kurzgriffel bzw. Langgriffel hervorbrachte, wies die F1-Generation neben 'normaler' Homostylie eine leicht abgewandelte Form auf, in der die Narben die Antheren ein wenig überragten (Abb. 46 D).

Sowohl die Nachkommen der Kreuzung *Linum perenne* subsp. *perenne* (LG) X *L. leonii* als auch die der Kreuzung *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (LG) waren ausschließlich homostyl. Die F1-Generation aus der Kreuzung *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (KG) setzte sich zu 34 % aus homostylen und zu 66 % aus kurzgriffeligen Individuen zusammen.

#### **4.3.5.2 Rückkreuzung der F1-Generation mit *Linum perenne* subsp. *perenne***

##### **4.3.5.2.1 Bestimmung der Pollenvitalität**

Die F1-Individuen, die zur Blüte gelangten, wurden mit kurzgriffeligen und langgriffeligen Individuen von *Linum perenne* subsp. *perenne* rückgekreuzt. Um sicher zu gehen, dass der Pollen der generierten Hybriden überhaupt keimfähig ist, wurden sowohl die beiden Elternarten, *L. leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne*, als auch die F1-Hybriden auf ihre jeweilige Pollenvitalität getestet. In Tabelle 24 sind die Mittelwerte mit Standardabweichung für die Elternarten und die Hybriden zusammengefasst. In *L. leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* verfärbten sich nahezu alle Pollenkörner (96,33 % im Mittel), während in der F1-Generation eine Abnahme der Pollenvitalität zu verzeichnen war (79,68 % im Mittel). Eine einfaktorielle ANOVA ergab signifikante Unterschiede zwischen den Elternarten und den Hybriden (Tab. 25). Auffallend war, dass vor allem die Hybriden aus langgriffeligen *Linum perenne* subsp. *perenne* Individuen und *L. leonii* eine recht hohe Zahl an deformierten Pollen aufwiesen (10,5 % bzw. 14 %). Des Weiteren zeigten die *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (LG)-Hybriden eine höhere Sterblichkeitsrate bei den Keimlingen als die Hybriden aus den anderen Kreuzungen und blühten weniger reichhaltig. Sowohl zwischen den Elternarten als auch zwischen

den F1-Hybriden konnten bezüglich der Pollenvitalität keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Tab. 25).

**Tab. 24:** Ergebnisse der Prüfung auf Pollenvitalität. Für je zehn Individuen wurde gezählt wie viel Prozent des Pollens sich mit Thiazolylblau dunkelviolet färbten. Angegeben sind der Mittelwert (m) und die Standardabweichung (s).

Art	Ausprägung	m [%]	s [%]
<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i>	Langgriffel	97,2	+/- 4,984
<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i>	Kurzgriffel	95,1	+/- 6,506
<i>Linum leonii</i>	homostyl	96,7	+/- 2,406
<i>Linum perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , Langgriffel X <i>L. leonii</i>	homostyl	81,25	+/- 12,332
<i>Linum leonii</i> X <i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , Langgriffel	homostyl	76,025	+/- 15,647
<i>Linum leonii</i> X <i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , Kurzgriffel	homostyl	82,15	+/- 9,655
<i>Linum leonii</i> X <i>L. perenne</i> subsp. <i>perenne</i> , Kurzgriffel	Kurzgriffel	79,3	+/- 13,614

**Tab. 25:** Ergebnisse der einfaktoriellen ANOVA. Die für die Pollenvitalität ermittelten Werte (n = 10) wurden mittels einer ANOVA auf signifikante Unterschiede getestet; \* = p 0,05; \*\* = p < 0,01; \*\*\* = p < 0,001; A = *Linum perenne* subsp. *perenne*, B = *L. leonii*, C = *L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel X *L. leonii*, D = *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel, E = *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel, KG = Kurzgriffel, LG = Langgriffel, HO = Homostyl.

	A-LG	A-KG	B-HO	C-HO	D-HO	E-HO	E-KG
A-LG		0,428	0,778	**	**	***	**
A-KG			0,475	**	**	**	**
B-HO				**	**	***	**
C-HO					0,418	0,858	0,741
D-HO						0,306	0,624
E-HO							0,596
E-KG							

#### 4.3.5.2.2 *Linum perenne* subsp. *perenne* (LG) X *L. leonii* – F1-Hybrid C-HO

Insgesamt wurden mit der homostylen Hybride *Linum perenne* subsp. *perenne* (LG) X *L. leonii* 188 Bestäubungsversuche durchgeführt. Die Pflanzen wurden zum einen mit langgriffeligen und kurzgriffeligen Vertretern von *Linum perenne* subsp. *perenne* gekreuzt und zum anderen wurden 13 Selbstbestäubungen durchgeführt, um auf Selbstinkompatibilität zu testen. Der Fruchtansatz war in den Rückkreuzungen am höchsten, in denen dieser Hybrid als Mutter und kurzgriffelige Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne* als Vater fungierten oder der Hybrid als Pollendonor und langgriffelige *Linum perenne* subsp. *perenne* Vertreter als Mutter verwendet wurden (Tab. 26). Alle durchgeführten Selbstbestäubungen führten zur Ausbildung von Kapseln.

**Tab. 26:** Ergebnisse der Bestäubungsexperimente. Rückkreuzung der homostylen F1-Hybriden (C-HO) aus der Kreuzung *Linum perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel (A-LG) X *L. leonii* (B-HO). Bei der Angabe der gebildeten Samen handelt es sich um den Median aus den Bestäubungen mit Kapselansatz. A = *Linum perenne* subsp. *perenne*, C = *L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel X *L. leonii*, KG = Kurzgriffel, LG = Langgriffel, HO = Homostyl.

♀ X ♂	Anzahl der Kreuzungen	Anzahl der Kapseln	Bestäubungen mit Kapselansatz [%]	Samen pro Kapsel (Median)
C-HO X A-KG	46	37	80,43	6
A-KG X C-HO	63	6	9,52	1
C-HO X A-LG	19	2	10,53	0,5
A-LG X C-HO	47	39	82,98	2
C-HO X C-HO	13	13	100	3

#### 4.3.5.2.3 *Linum leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (KG) – F1-Hybrid E-KG

Aus der Kreuzung *Linum leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (Kurzgriffel) gingen Individuen mit verschiedenen morphologischen Ausprägungen hervor, homostyle (E-HO) und kurzgriffelige Individuen (E-KG). Beide Typen wurden sowohl mit sich selbst bestäubt als auch mit beiden Blütentypen der Elternart *Linum perenne* subsp. *perenne* rückgekreuzt.

Betrachtet man die Ergebnisse der Rückkreuzung für den kurzgriffeligen Hybriden (E-KG), so fällt auf, dass die Kreuzungen mit langgriffeligen *Linum perenne* subsp. *perenne* Exemplaren (A-LG) in den meisten Fällen zur Ausbildung von Kapseln führten (92,59 % bzw. 74,63 %; Tab. 27). Der höchste Samenansatz war in Kreuzungen zu verzeichnen, in denen der Hybrid als Mutter und langgriffelige Individuen von *Linum perenne* subsp. *perenne* als Vater verwendet wurden.

**Tab. 27:** Ergebnisse der Bestäubungsexperimente. Rückkreuzung der kurzgriffeligen F1-Hybriden (E-KG) aus der Kreuzung *Linum leonii* (B-HO) X *L. perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel (A-KG) Bei der Angabe der gebildeten Samen handelt es sich um den Median aus den Bestäubungen mit Kapselansatz. A = *Linum perenne* subsp. *perenne*, E = *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel, KG = Kurzgriffel, LG = Langgriffel, HO = Homostyl.

♀ X ♂	Anzahl der Kreuzungen	Anzahl der Kapseln	Bestäubungen mit Kapselansatz [%]	Samen pro Kapsel (Median)
E-KG X A-KG	35	3	8,57	2
A-KG X E-KG	66	7	10,61	0
E-KG X A-LG	54	50	92,59	8
A-LG X E-KG	67	50	74,63	2,5
E-KG X E-KG	20	2	10,00	5

#### 4.3.5.2.4 *Linum leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (KG) – F1-Hybrid E-HO

Die Rückkreuzungen der homostylen Hybriden aus der Kreuzung *Linum leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne* (HO) resultierten in ähnlichen Ergebnissen wie sie für die homostyle Hybride aus *L. perenne* subsp. *perenne* (LG) X *L. leonii* zu beobachten war. Auch hier zeigten die Bestäubungen den höchsten Fruchtansatz, in denen der homostyle Hybrid als Mutter verwendet wurde und die kurzgriffelige *L. perenne* subsp. *perenne* als Vater, bzw. die langgriffelige *L. perenne* subsp. *perenne* als Mutter und der Hybrid als Pollendonator (Tab. 28). Selbstbestäubung führe in etwa der Hälfte der Fälle (54,55 %) zur Bildung von Kapseln.

**Tab. 28:** Ergebnisse der Bestäubungsexperimente. Rückkreuzung der homostylen F1-Hybriden (E-HO) aus der Kreuzung *Linum leonii* (B-HO) X *L. perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel (A-KG). Bei der Angabe der gebildeten Samen handelt es sich um den Median aus den Bestäubungen mit Kapselansatz. A = *Linum perenne* subsp. *perenne*, E = *L. leonii* X *L. perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel, KG = Kurzgriffel, LG = Langgriffel, HO = Homostyl.

♀ X ♂	Anzahl der Kreuzungen	Anzahl der Kapseln	Bestäubungen mit Kapselansatz [%]	Samen pro Kapsel (Median)
E-HO X A-KG	26	24	92,31	7
A-KG X E-HO	36	1	2,78	1
E-HO X A-LG	6	1	16,67	3
A-LG X E-HO	27	24	88,89	3
E-HO X E-HO	11	6	54,55	5

## 4.4 Diskussion

---

### 4.4.1 Evolution von Heterostylie / Homostylie

Heterostylie ist ein interessantes blütenmorphologisches Phänomen, welches spätestens durch die von DARWIN (1864) veröffentlichten Ergebnisse zu zahlreichen Spekulationen führte. Viele Biologen beschäftigten sich im Laufe der letzten 100 Jahre mit verschiedenen Aspekten dieses Polymorphismus. Während sich einige auf morphologische Beobachtungen konzentrierten (z. B. DULBERGER, 1964, 1970, THOMPSON & DOMMÉE 2000, Narbendimorphismus, u. a. SCHILL *et al.* 1985; Pollenkornmorphologie, u. a. NAIKI & NAGAMASU 2003) versuchten andere die Vererbung (u. a. ERNST 1957) oder die Evolution dieser Systeme zu erforschen (u. a. CHARLESWORTH & CHARLESWORTH 1979, LLOYD & WEBB 1992, BARRETT & HARDER 2005, MAST *et al.* 2006). Die Linaceae waren in den vergangenen Jahrzehnten Objekt zahlreicher oben genannter Untersuchungen (u. a. LAIBACH 1929, HEITZ 1973, DULBERGER 1974, 1981, ARMBRUSTER *et al.* 2006), deren Ergebnisse eine gute Basis für die vorliegende Arbeit bildeten. Um die Evolution von Reproduktionssystemen in den Linaceae verstehen zu können, ist es wichtig sich mit den verschiedenen Aspekten der Heterostylie zu beschäftigen. Daher werden im folgenden Abschnitt zuerst die verschiedenen morphologischen Beobachtungen diskutiert und anschließend mit den molekularphylogenetischen Ergebnissen kombiniert, um ein besseres Verständnis für die komplexe Evolution von Reproduktionssystemen in den Linaceae zu erlangen.

#### 4.4.1.1 Variabilität von Reproduktionssystemen in den Linaceae

Die Linaceae lassen sich in zwei Unterfamilien (Hugonioideae und Linoideae) gliedern, die sich hinsichtlich ihrer Verbreitung und einiger vegetativer Merkmale voneinander unterscheiden (s. Kapitel 1). Die Blüten der Familie weisen einen recht einheitlichen Bau auf; sie sind monoklin und sowohl der Kalyx als auch die Corolla sind in der Regel 5-zählig (Ausnahmen sind die durchweg vierzähligen Arten *Radiola linoidea* und *Linum keniense*). Im Gynoeceum ist hingegen in beiden Unterfamilien gelegentlich eine Reduktion von fünf auf drei oder auch zwei Fruchtblättern zu beobachten. Bezüglich des Androeceums weisen Hugonioideae und Linoideae im Aufbau einen für die Charakterisierung der Reproduktionssysteme entscheidenden Unterschied auf: während in den Linoideae lediglich ein Kreis von fertilen Staubblättern beobachtet wird, besitzen die Hugonioideae ein diplostemones Androeceum. Dies ermöglicht das Vorkommen von Tristylye in den Hugonioideae, für welche der Besitz von zwei Kreisen von Stamina mit unterschiedlich langen Filamenten Voraussetzung ist. Da für die Arbeit leider kein Material von Vertretern der Hugonioideae zur Verfügung stand, wurde der Fokus der vorliegenden Arbeit auf die Linoideae gerichtet. In Bezug auf die Hugonioideae wurde versucht, möglichst viele Informationen aus der Literatur, z. B. Floren tropischer Regionen, zu gewinnen, um das Reproduktionssystem in dieser Unterfamilie zu charakterisieren.

##### *Herkogamie in den Linoideae*

In den Blüten der Gattung *Linum* können verschiedene Ausprägungen bezüglich der Position von Antheren und Narben zueinander beobachtet werden. Innerhalb der Gruppe von homostylen *Linum*-Arten, welche lediglich eine morphologische Ausprägung je Art aufweisen, werden zwei verschiedene Typen beobachtet: Homostylie und 'approach herkogamy'. Im Fall der gewöhnlichen Homostylie stehen beide Strukturen etwa auf derselben Höhe, wie es z. B. in *Linum leonii*, *L. trigynum* oder *L. catharticum* der Fall ist (Abb. 32 A), während in Arten wie *L. monogynum* und *L. lewisii* die Narben über den Antheren gelegen sind (Abb. 32 B). Diese Form der räumlichen Trennung wird als 'approach herkogamy' bezeichnet und kommt in den Angiospermen wesentlich häufiger als die sogenannte 'reverse herkogamy' vor, bei welcher die Antheren die Narben überragen (u. a. *Tulbaghia violacea* (Alliaceae) und *Dracophyllum* (Ericaceae), WEBB & LLOYD 1986). Ein Hinweis auf 'reverse

*herkogamy*' innerhalb der Linaceae konnte weder im Rahmen der vorliegenden Arbeit noch in der Literatur gefunden werden.

Auch innerhalb der heterostylen *Linum*-Arten können zwei verschiedene Formen beobachtet werden. Am häufigsten trifft man innerhalb der Linoideae auf Distylie, d. h. Filamente und Griffel unterscheiden sich bezüglich ihrer Länge reziprok voneinander (Abb. 32 C 1 und C 2). In *Linum grandiflorum* werden zwar ebenso Lang- und Kurzgriffel unterschieden, jedoch variiert in beiden morphologischen Ausprägungen lediglich die Länge der Griffel, während die Filamentlänge in beiden Formen etwa konstant ist (Griffeldimorphismus, Abb. 32 D 1 & D 2). Diese Art der Herkogamie kann u. a. auch in *Villarsia parnassiifolia* (Menyanthaceae, ORNDUFF 1986), *Anchusa officinalis* (Boraginaceae, PHILIPP & SCHOU 1981) und *Epacris impressa* (Epacridaceae, O'BRIEN & CALDER 1989) beobachtet werden.

Tristylie ist in den Linoideae bislang nur in einer Art, *Linum subbiflorum*, beschrieben worden (YUZEPCHEK 1974). Neben lang- und kurzgriffeligen Individuen beobachtete YUZEPCHEK (1974) auch solche, in denen sich Narben und Antheren etwa auf demselben Niveau innerhalb der Blüte befanden. Ob es sich hierbei wirklich um eine tristyle Art handelt ist zweifelhaft, da man eigentlich zwei Kreise von Staubblättern erwarten würde. Es ist wahrscheinlicher, dass in *L. subbiflorum* ein oder mehrere Rekombinationsereignisse innerhalb der Kopplungsgruppe zu einem Zusammenbruch oder der Entstehung von Heterostylie führten oder aber, dass es sich bei den homostylen Individuen lediglich um eine Ausnahmerecheinung im Rahmen der natürlichen Variation handelt. Solch ein extremer Phänotyp ist aus *L. austriacum* bekannt (LAIBACH 1925, 1929). LAIBACH führte zahlreiche Experimente mit einem vermeintlichen homostylen Individuum durch, welches sich nach der Auswertung dieser Versuche als eine extreme Form eines Langgriffels herausstellte (1925, 1929).

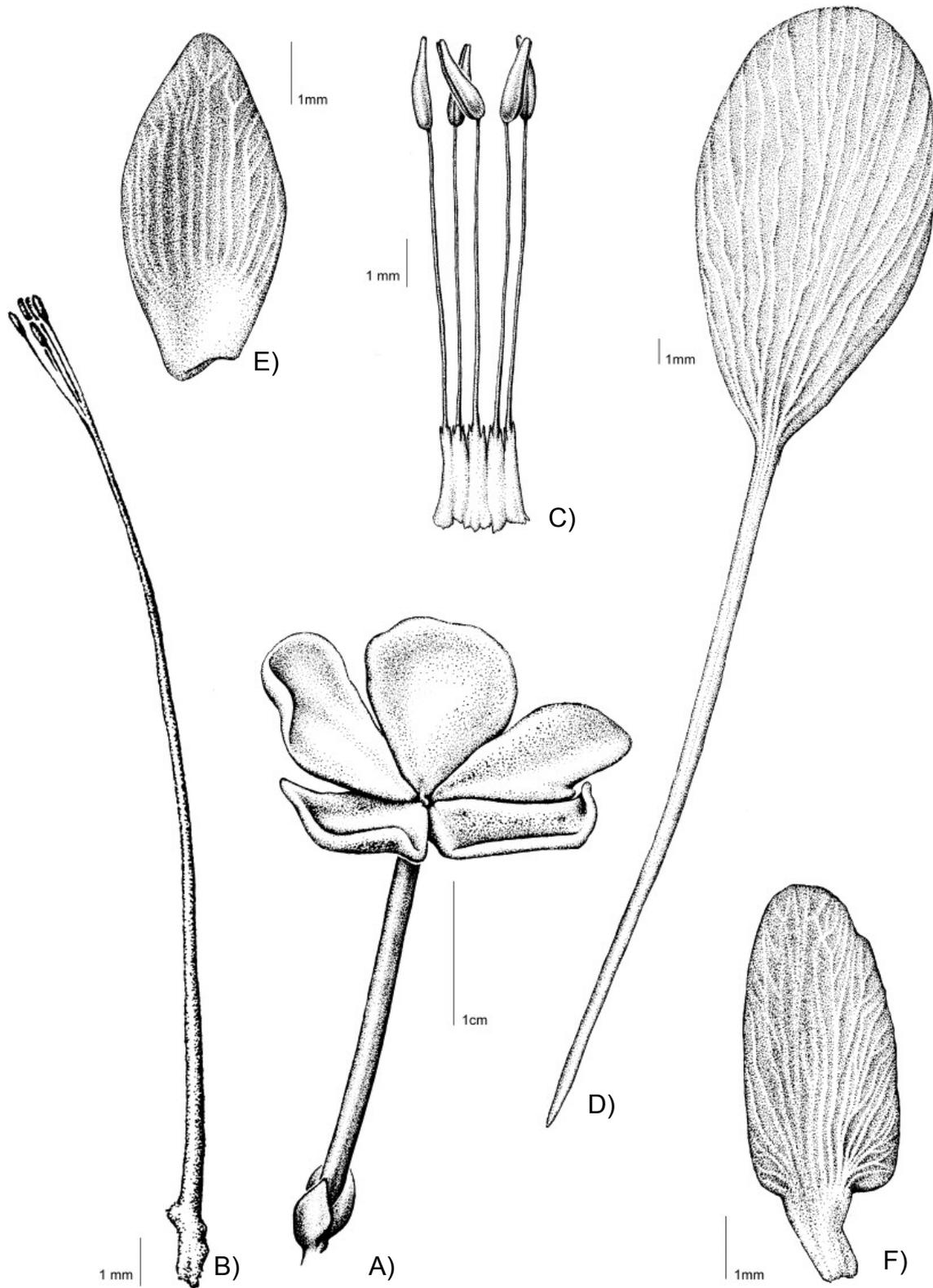
In *Linum perenne* wird eine Besonderheit in der Ausprägung der Heterostylie beobachtet, die ARMBRUSTER *et al.* (2006) aufgrund ihrer Beobachtungen in *Linum suffruticosum* als dreidimensionale Heterostylie bezeichnen. In den Blüten von *L. perenne* unterscheiden sich die Positionen von Narben und Antheren nicht nur in der Höhe, sondern auch bzgl. ihrer Ausrichtung im Raum. Die Narben von *L. perenne* sind keulenförmig, weisen jedoch die Besonderheit auf, dass die Papillen nicht gleichmäßig über die Narbenfläche verteilt sind. Der Bereich des Stigmas, der

in das Blüteninnere zeigt, ist vollständig mit Papillen überzogen, während der nach außen weisende Teil der Narbe lediglich im Randbereich Papillen besitzt (Abb. 13, Kapitel 1). Durch eine Torsion, die die Griffel von langgriffeligen Individuen bereits in der geschlossenen Blüte kurz vor dem Öffnen vollführen, weisen die papillösen Bereiche der Narben während der Anthese nach außen. Interessanterweise ist eine solche Drehung der Griffel in Blüten kurzgriffeliger Individuen nicht zu beobachten. Hier spreizen sich die Griffel lediglich nach außen und nähern sich den Petalen, so dass die papillenreicheren Seiten der Stigmata ins Blüteninnere weisen. Überraschenderweise ist die Torsion der Griffel von langgriffeligen Blüten nicht immer in allen fünf Griffeln gleich stark ausgeprägt. Oft zeigen lediglich zwei bis drei Narben mit der papillenreicheren Seite nach außen (Abb. 44 D). Auch DARWIN (1877) beobachtete diese Besonderheit in der Stellung von Gynoeceum und Androeceum in *L. perenne*. Da er seine Untersuchungen jedoch im Oktober durchführte, vermutete er, dass aufgrund der späten Blüte (*L. perenne* blüht in Wildpopulationen im Frühjahr) nur bei zwei bis drei Griffeln eine Torsion mit einer Drehung der Narben um 180° zu beobachten war. Die Abhängigkeit von der Jahreszeit bzw. niedrigeren Temperaturen kann durch eigene Beobachtungen ausgeschlossen werden. Die Vermutung von ARMBRUSTER *et al.* (2006), dass durch die Drehung eine Optimierung des Pollentransfers durch Insekten erlangt wird, klingt durchaus plausibel. Gerade in Arten wie *L. perenne*, bei denen die Narben langgriffeliger Individuen sehr weit aus der Blüte herausragen, wird eine Positionierung von Pollen auf den Stigmata durch Insekten erschwert. Weist der rezeptive Teil der Narbe durch eine Torsion jedoch nach außen, besteht eine erhöhte Wahrscheinlichkeit, dass das Insekt beim Entlanglaufen bzw. dem Landen auf den Petalen dorsal befindlichen Pollen passiv am Stigma abstreift.

In den übrigen Gattungen der Linoideae weisen die neuweltlich verbreiteten Gattungen *Cliococca*, *Hesperolinon* und *Sclerolinon*, ebenso wie *Radiola linoides* aus Europa, ausschließlich homostyle Arten auf (ROGERS 1982). Interessanterweise sind alle neuweltlichen *Linum* s. l.-Arten homostyl, während in der Alten Welt sowohl homo- als auch heterostyle Arten in Vielzahl zu beobachten sind. Bezüglich der Verteilung von Homostylie / Heterostylie in den einzelnen Sektionen der Gattung *Linum* ergeben sich deutliche Unterschiede in der Verteilung. Während die Sektion *Syllinum* mit etwa 30 Arten lediglich eine homostyle Art, *Linum nodiflorum*, umfasst,

überwiegen in der Sektion *Linopsis* deutlich die Arten mit Homostylie (etwa fünf heterostyle und 80 homostyle Arten). In der ca. 50 Arten umfassenden Sektion *Linum* ist etwa die gleiche Zahl an homostylen wie heterostylen Arten zu beobachten. Für die Sektion *Dasylinum* kann bezüglich des Vorkommens von Hetero- und Homostylie keine gesicherte Aussage getroffen werden, da nur wenige Arten der Sektion diesbezüglich untersucht wurden. Heterostyle Arten scheinen jedoch nach ersten Untersuchungen auch in dieser Sektion zu überwiegen (eigene Beobachtungen).

In den sich basal abspaltenden Gattungen aus Südostasien (*Anisadenia*, *Tirpitzia* und *Reinwardtia*) ist sowohl Heterostylie als auch Homostylie zu beobachten. Die monotypische *Reinwardtia* ist heterostyl (BAHADUR *et al.* 1996, SUGAWARA *et al.* 2002), während für *Anisadenia* in der Literatur keine Hinweise auf Heterostylie gefunden werden konnten. Die genaue Charakterisierung des Reproduktionssystems der Gattung *Tirpitzia* stellt sich als schwierig heraus. Während in der Literatur keine Anzeichen für Heterostylie in *Tirpitzia ovoidea* CHUN & F. C. HOW ex W. L. SHA und *T. sinensis* HALLIER F. gefunden wurden, zeigen Herbarbelege aus dem Herbarium Mainz (MJG) eindeutig kurz- bzw. langgriffelige Individuen. Leider war sowohl von *T. ovoidea* (MJG RG10) als auch von *T. sinensis* (MJG RG02) lediglich ein Beleg mit jeweils einem Individuum vorhanden. Im Falle von *T. ovoidea* handelt es sich um einen Seitenast einer Pflanze, deren Blüten lange Griffel und kurze Filamente besitzen. Bezüglich des Längenverhältnisses von Androeceum zu Gynoeceum entspricht dieses Individuum folglich der langgriffeligen Form, wie sie in der Gattung *Linum* (Abb. 47) beobachtet wird. In dem Individuum von *T. sinensis* wird das umgekehrte Verhältnis von Filament- zu Griffellänge beobachtet. Dieses Exemplar entspricht somit einem Kurzgriffel der Gattung *Linum*. Durch das Vorhandensein von nur jeweils einem Exemplar pro Art lässt sich das Reproduktionssystem der entsprechenden Arten nicht genau bestimmen. Es könnte sich bei beiden Arten um distyle Vertreter der Gattung *Tirpitzia* handeln, allerdings kann 'approach herkogamy' für *T. ovoidea* und 'reverse herkogamy' für *T. sinensis* nicht ausgeschlossen werden. Interessanterweise wurde kürzlich eine weitere *Tirpitzia*-Art, *T. bilocularis* SUKSATHAN & LARSEN, beschrieben (SUKSATHAN & LARSEN 2006). Die Autoren bezeichnen die Art als heterostyl und dokumentieren dies auch mit entsprechenden Zeichnungen von lang- und kurzgriffeligen Formen. Folglich existiert in *Tirpitzia* wenigstens eine gesichert distyle Art.



**Abb. 47:** Zeichnung eines Individuums von *Tirpitzia ovoidea* (LINK, RG10, MJG) mit langen Griffeln und kurzen Filamenten. A: Blüte von *Tirpitzia ovoidea*, B: Gynoecium, C: Androecium, D: Petalum, E & F: Sepalum. Gezeichnet von L. KLÖCKNER.

*Herkogamie in den Hugonioideae*

Auffallend ist, dass innerhalb der Hugonioideae ein Merkmal beobachtet wird, welches für tristyle Arten (z. B. *Lythrum salicaria* L.) typisch ist: ein diplostemones Androeceum. In der Regel unterscheiden sich in tristylen Arten die beiden Staubblattkreise in der Länge der Filamente, so dass innerhalb dieser Arten drei Positionen unterschieden werden können, auf denen sich Antheren und Narben befinden (Abb. 29 B). Bezüglich der Vertreter der Hugonioideae ist in der Literatur jedoch sehr häufig keine genaue Beschreibung des Gynoeceums bzw. Androeceums in Bezug auf die jeweiligen Längenverhältnisse von Filamenten und Griffeln zu finden, so dass der Status dieser Arten bezüglich des Reproduktionssystems häufig nicht beurteilt werden kann. Viele Abbildungen von Hugonioideae-Arten in verschiedenen Floren deuten jedoch auf das Vorhandensein von Heterostylie hin, obwohl sich in den jeweiligen Beschreibungen keine Hinweise auf die Existenz von Individuen mit unterschiedlichen Griffel- und Filamentlängen finden. Gelegentlich widersprechen sich sogar die Beschreibungen und die jeweiligen Abbildungen. So ist *Hugonia micans* ENGL. der Beschreibung nach ein Langgriffel (lange und kurze Filamente abwechselnd, 4-8 mm; die Griffel sind 8-10 mm lang, das Ovar 2 mm, BADRÉ 1973), während sich die Narben in der Abbildung auf der Höhe der Antheren der kürzeren Staubblätter befinden (BADRÉ 1973). Auch THOMPSON *et al.* (1996) bemerkten diese Widersprüche und fassten für 27 *Hugonia*-Arten die Ergebnisse von Beschreibungen und Abbildungen aus neun verschiedenen Publikationen zusammen. Die Berücksichtigung der von THOMPSON *et al.* (1996) zitierten Literatur und weiteren Quellen (BADRÉ 1973, HEYWOOD 1985, VAN HOOREN & NOOTEBOOM 1988, WINKLER 1931) führt zu dem Schluss, dass etwa die Hälfte der *Hugonia*-Arten Blüten mit Ausprägungen zeigen, die man in di- bzw. tristylen Arten erwarten würde. Doch lediglich in *H. c.f. penicillanthemum* BAILL. ex PANCHER & SEBERT, *H. jenkinsii* F. MUELL. und *H. serrata* LAM. wurden in der Vergangenheit Individuen mit verschiedenen Blütenformen sowohl beobachtet als auch beschrieben. Unter diesen ist die auf den Maskarenen vorkommenden *H. serrata* die einzige Art innerhalb der Hugonioideae, die als tristyl beschrieben wurde (THOMPSON *et al.* 1996). Blüten, die wenigstens mit einer der drei morphologischen Formen dieser tristylen Art übereinstimmen, wurden u. a. in *H. longipes* H. PERRIER (PERRIER DE LA BÂTHIE 1952; Abbildung zeigt einen Langgriffel), *H. castaneifolia* ENGL. (HEYWOOD 1985, Abbildung zeigt eine Blüte mit

einem mittellangen Griffel) und *H. obtusifolia* C. H. WRIGHT (BADRÉ 1973, Abbildung zeigt einen Kurzgriffel) beobachtet. LLOYD *et al.* (1990) beschrieben wie bereits erwähnt eine distyle *Hugonia*-Art, *H. c. f. penicillanthemum*. Diese Art weist zwei Blütenformen auf (Lang- und Kurzgriffel), in welcher sich die beiden Staubblattkreise einer Form bezüglich der Filamentlänge nicht unterscheiden. Alle zehn Filamente weisen dieselbe Länge auf und verhalten sich in den beiden Blütenformen reziprok im Hinblick auf die Griffellänge. Ähnliche Beobachtungen spiegeln sich in der Abbildung von *H. mystax* L. und *H. planchonii* HOOK. F. wider. Während WINKLER (1931) ein Individuum von *H. mystax* mit langen Griffeln und zehn kürzeren Staubblättern abbildete, ist in der 'Flora of West Tropical Africa' (HUTCHINSON & DALZIEL 1958) ein kurzgriffeliges Individuum von *H. planchonii* zu sehen. Es bleibt fraglich, ob es sich bei diesen Arten um distyle Arten handelt, von denen lediglich eine morphologische Form untersucht wurde, oder ob es sich um Arten mit 'approach' bzw. 'reverse herkogamy' handelt. *Hugonia jenkinsii* wird von VAN HOOREN & NOOTEBOOM (1988) ebenfalls als distyl beschrieben, im Vergleich zu *H. c. f. penicillanthemum* befinden sich die Antheren allerdings nicht alle auf dem gleichen Niveau, sondern die beiden Staubblattkreise unterscheiden sich bezüglich ihrer Filamentlänge innerhalb einer Blütenform.

*Hugonia* ist jedoch nicht die einzige Gattung innerhalb der Hugonioideae, in der Arten mit Blütenpolymorphismen vorkommen. Während in *Philbornea magnifolia* (STAPF) HALL. F. lediglich von zwei unterschiedlich langen Kreisen von Staubblättern gesprochen wird, werden in *Indorouchera griffithiana* (PLANCH.) HALL. F. lang- und kurzgriffelige Individuen unterschieden (VAN HOOREN & NOOTEBOOM 1988). Interessanterweise unterscheiden sich in *I. griffithiana* die beiden Staubblattkreise hinsichtlich ihrer Filamentlänge. So können, ähnlich wie bei *Hugonia jenkinsii*, Antheren und Narben auf drei verschiedenen Niveaus beobachtet werden. Die Narben sind jedoch lediglich auf der unteren (Kurzgriffel) oder der oberen Ebene (Langgriffel) zu finden.

Es ist auffallend, dass innerhalb der Hugonioideae zahlreiche Formen beobachtet werden, die für di- oder tristyle Arten charakteristisch sind, jedoch die Beschreibungen der einzelnen Arten die Möglichkeit von Heterostylie nicht zu berücksichtigen scheinen. Diese Beobachtungen erwecken den Anschein, dass bislang versäumt wurde, die Arten dieser Unterfamilie bezüglich ihres Reproduktionssystems genauer zu untersuchen. Um gesicherte Aussagen über die

Evolution von Heterostylie / Homostylie in den Linaceae treffen zu können, ist es erforderlich, deren Ausprägung in den Hugonioideae genauer zu untersuchen.

#### *Evolution der Reproduktionssysteme in den Linaceae*

Die Familie der Linaceae ist eine von 31 Familien in den Angiospermen, in denen ein Blütendimorphismus bzw. -trimorphismus beobachtet werden kann. Betrachtet man die Verteilung dieser Familien in der Phylogenie der Bedecktsamer (Abb. 31), so wird deutlich, dass Heterostylie wahrscheinlich mehrfach unabhängig voneinander in den Angiospermen entstanden ist. Innerhalb der Malpighiales gibt es fünf Familien (Clusiaceae, Erythroxylaceae, Hypericaceae, Linaceae und Turneraceae) mit einem Blütendimorphismus bezüglich Griffel- und Filamentlänge. Ob der Ursprung der Heterostylie in den Malpighiales auf einen gemeinsamen Vorfahren zurückzuführen ist, ist aufgrund mangelnder Auflösung innerhalb dieser Ordnung ungewiss (Abb. 2). Bezüglich der Linoideae ergab die Merkmalsrekonstruktion (Abb. 42) Heterostylie als anzestralen Zustand, mit einer mehrfach unabhängigen Entstehung von Homostylie (mindestens neunmal). Dieses Ergebnis ist allerdings kritisch zu betrachten, da die Ausprägungen des Reproduktionssystems der integrierten Hugonioideae und für *Tirpitzia ovoidea* und die Gattung *Anisadenia* nicht bestimmt werden konnten. Für einige Vertreter der Hugonioideae ist zwar bekannt, dass sie di- bzw. tristyl sind, diese konnten aber in der vorliegenden Arbeit nicht eingeschlossen werden, da kein Material zur Verfügung stand. Berücksichtigt man jedoch, dass wahrscheinlich mehr Arten der Hugonioideae als bisher vermutet heterostyl sind, wird das Ergebnis von Heterostylie als ancestraler Zustand zusätzlich unterstützt. Auch ROGERS (1981b) nimmt Heterostylie als den ursprünglichen Zustand an, da die mediterranen (ursprünglichen) Arten der Gattung *Linum* überwiegend einen Blütendimorphismus aufweisen. Auch für *Primula* gilt Distylie als ancestraler Zustand und alle homostylen Entwicklungslinien dieser Gattung entstanden aus einem heterostylen Vorfahren (MAST *et al.* 2006). GRAHAM & BARRETT (2004) postulieren hingegen für *Narcissus* einen homostylen Vorfahren aus welchem sich mehrmals unabhängig ein Griffeldimorphismus entwickelte.

*Evolution von Homostylie / Heterostylie in der 'Blauen Gruppe'*

Interessant ist die Evolution von Homo- und Heterostylie innerhalb der Gattung *Linum* s.l. Während davon ausgegangen werden kann, dass der gemeinsame Vorfahre der 'Gelben Gruppe' homostyle Blüten besaß, ist für die 'Blaue Gruppe' ein heterostyler Vorfahre wahrscheinlich. Berücksichtigt man jedoch, dass die Lage von *Linum stelleroides* im 'Supertree' (Abb. 9) vor allem auf der Position dieser Art in der ML-Rekonstruktion des *rbcl*-Datensatzes beruht, ist dieses Ergebnis mit einer gewissen Skepsis zu betrachten. Nimmt man an, dass *L. stelleroides* nicht Schwester zu Sektion *Dasylinum*, sondern Schwester zu den Sektionen *Dasylinum* und *Linum* ist, bleibt der ursprüngliche Zustand sowohl von *Linum* s.l. als auch der der 'Blauen Gruppe' uneindeutig.

Geht man von Heterostylie als anzestralem Zustand der 'Blauen Gruppe' aus, ist Homostylie im Laufe der Evolution mindestens siebenmal in dieser Gruppe entstanden. Erweitert man den Umfang der Arten in Sektion *Linum* und differenziert zusätzlich zwischen den unterschiedlichen Formen von Heterostylie und Homostylie ergeben sich vergleichbare Ergebnisse (Abb. 43). Nimmt man *Linum stelleroides* als Schwester zu Sektion *Dasylinum* und Heterostylie als anzestralen Zustand an (nicht abgebildet), ergibt sich Heterostylie als anzestraler Zustand für '*Linum* I' und Sektion *Dasylinum*, während der ursprüngliche Zustand für '*Linum* II' nicht eindeutig rekonstruiert werden kann. Wird *L. stelleroides* als Schwester zu allen übrigen Vertretern der 'Blauen Gruppe' angenommen erhält man bzgl. der Rekonstruktion die gleichen Ergebnisse.

*Evolution von Homostylie / Heterostylie in der 'Gelben Gruppe'*

In der Neuen Welt werden ausschließlich homostyle Vertreter beobachtet und auch in Südafrika dominieren diese (zwölf von 14 Arten). Für die beiden heterostylen Arten *Linum comptonii* und *L. heterostylum* aus der Kapprovinz scheint eine Rückentwicklung zu Distylie, wie bereits von ROGERS (1981b) vermutet, am wahrscheinlichsten, kann aber aufgrund mangelnder *Bootstrap*-Unterstützung (Abb. 7 & 8) nicht als gesichert angesehen werden. Ebenso wäre es auf Grundlage der phylogenetischen Rekonstruktionen möglich, dass sich diese beiden Arten innerhalb der 'Gelben Gruppe' basal abspalten und alle übrigen Vertreter dieser Gruppe von einem gemeinsamen homostylen Vorfahren abstammen (Abb. 7 & 8). Eine unabhängige Besiedlung von Südafrika und Amerika wäre ebenfalls denkbar. In diesem Fall könnten alle homostylen Vertreter Nordamerikas von einem

gemeinsamen homostylen Vertreter abstammen, während es in der Kapproviz zu einem Zusammenbruch oder aber zu der erneuten Entstehung von Heterostylie kam. Um die Evolution der Reproduktionssysteme in den gelbblühenden *Linum*-Arten besser verstehen zu können, ist eine bessere phylogenetische Auflösung in den Rekonstruktionen erforderlich.

Auch die madagassische *L. emirnense* BOJER wurde in der Vergangenheit (PERRIER DE LA BÂTHIE 1952) als heterostyl beschrieben. Untersuchungen von ROGERS (1981a) zeigten jedoch, dass Früchte kurzgriffeliger Pflanzen von *L. emirnense* stets mit einem Pilz infiziert waren, bei welchem sich das Myzel an der Spitze des Ovariums befand. Ferner waren in langgriffeligen Blüten die Narben nur ein wenig über den Antheren gelegen, was für viele homostyle *Linum*-Arten typisch ist. Dies und die Tatsache, dass grundsätzlich keine Pilzinfektion in Langgriffeln beobachtet wurde, ließ ROGERS (1981a) folgern, dass es sich bei *L. emirnense* um eine homostyle Art handelt und kurzgriffelige Individuen lediglich als Artefakte auf Grund der Infektion zu verstehen sind.

Zusammenfassend verstärken die vorgetragenen Ergebnisse ROGERS Hypothese (1981b), dass Heterostylie zumindest in den Linoideae der ursprünglichere Zustand ist. Um diese Vermutung zusätzlich zu untermauern, sind Untersuchungen des Reproduktionssystems von *Anisadenia* und den beiden oben genannten *Tirpitzia*-Arten unabdingbar. Sollten sich diese Arten als homostyl herausstellen, wäre Homostylie als ursprünglicher Zustand nicht auszuschließen. Es ist allerdings zu bedenken, dass es sich aufgrund der zahlreichen Beobachtungen von Heterostylie in den Hugonioideae durchaus um sekundäre Homostylie handeln kann, d. h. dass sich homostyle Arten aufgrund des Zusammenbruchs von Heterostylie entwickelten, wie es für homostyle *Primula*-Arten gezeigt wurde (MAST *et al.* 2006). Bezüglich des ancestralen Zustands der Linaceae lassen sich nur vage Vermutungen anstellen. Zwar spricht die kritische Betrachtung der Literatur für einen wesentlich höheren Anteil an heterostylen Arten in den Hugonioideae als bisher angenommen, abschließend kann jedoch nur eine phylogenetische Rekonstruktion der Linaceae inklusive aller in den Hugonioideae vorkommenden Gattungen Aufschluss über die Evolution der Reproduktionssysteme in dieser Familie geben. Sollte die Vermutung eines heterostylen Vorfahren bestätigt werden, ist Heterostylie schon vor Entwicklung der Linaceae entstanden und der Ursprung der Heterostylie ist in den Malpighiales zu suchen.

Die eingangs vorgestellten theoretischen Modelle (Pollentransfer-Modell, Modell zur Verhinderung von Selbstbefruchtung) zur Erklärung der Entwicklungsprozesse von Heterostylie setzten Homostylie als Ausgangszustand voraus. In den Linoideae ist Heterostylie als ancestraler Zustand jedoch wahrscheinlicher, so dass sich keines der beiden Modelle für die Betrachtung von Evolutionsprozessen in dieser Unterfamilie eignet. Da Homostylie dessen ungeachtet als ursprünglicher Zustand der Linoideae nicht ausgeschlossen werden kann, soll ein kurzer Blick auf diese theoretischen Modelle geworfen werden, um zu prüfen, ob die vorliegenden Ergebnisse mit einer der beiden Hypothesen (Abb. 30) in Einklang zu bringen sind. LLOYD & WEBB (1992, Pollentransfer-Modell) nehmen an, dass sich in einem ersten Entwicklungsprozess Arten mit '*approach herkogamy*' entwickelt haben, aus denen schließlich selbstkompatible distyle Arten hervorgegangen sind. In einem letzten Schritt kam es abschließend zur Ausbildung eines Selbstinkompatibilitätssystems. Sollte das Modell von LLOYD & WEBB (1992) für die Linoideae zutreffen, würde man erwarten, dass sich die beiden Arten mit '*approach herkogamy*' basal in der Phylogenie abspalten und sich aus diesen schließlich heterostyle Arten entwickelten. In *Linum* Sektion *Linum* gibt es zwei Arten mit '*approach herkogamy*'. Während *Linum monogynum* einen homostylen Vorfahren besaß, wird für *L. lewisii* ein heterostyler angenommen (Abb. 43). *Linum monogynum* könnte folglich als erster Schritt in der Entwicklung von Homo- zu Heterostylie gesehen werden. LLOYD & WEBB (1992) nehmen an, dass im Laufe der Evolution als nächstes eine Mutation auftritt, die sich in einer deutlichen Verkürzung der Griffel äußert, wodurch es zur Entstehung von Populationen mit Griffeldimorphismus kommen würde. *Linum monogynum* ist jedoch Teil einer recht abgeleiteten Gruppe, welche lediglich aus homostylen Vertretern besteht. Ob diese Art einen ersten Schritt in Richtung Heterostylie darstellt kann somit nicht beantwortet werden. Ähnliches gilt für die in Nordamerika verbreitete *L. lewisii*. Diese Art ist Schwester zu den europäischen Vertretern der *Linum perenne* Gruppe, die abgesehen von *L. leonii* alle heterostyl sind. Um die Hypothese von LLOYD & WEBB (1992) bestätigen zu können, wären weitere Übergangsformen, wie z. B. heterostyle Arten ohne ausgebildete Selbstinkompatibilität in dieser Gruppe wünschenswert. Selbstinkompatibilität konnte jedoch in heterostylen Vertretern der *Linum perenne* Gruppe bislang nicht gezeigt werden (eigene Beobachtungen; OCKENDON 1986), so dass es auch hier keinen Hinweis darauf gibt, dass *L. lewisii* als eine primär homostyle Art zu betrachten ist,

aus der die heterostylen Vertreter der *Linum perenne* Gruppe hervorgegangen sind. Auch *L. grandiflorum* eignet sich aufgrund seiner abgeleiteten Stellung in der Phylogenie nicht für die Untersuchung der Evolution von Heterostylie in den Linaceae (Abb. 43). CHARLESWORTH & CHARLESWORTH (1979) gehen von einer anderen Form der Entwicklung von Heterostylie aus. Sie nehmen an, dass sich zuerst ein Selbstinkompatibilitätssystem in homostylen Arten entwickelte und es erst später zur Ausbildung von einem reziproken Längenverhältnis von Filamenten und Griffeln kam. Würde dieses Evolutionsmodell für die Entstehung von Heterostylie in den Linaceae in Betracht kommen, würde man selbstinkompatible homostyle *Linum*-Arten erwarten. Die untersuchten Lein-Arten mit Homostylie waren jedoch stets selbstkompatibel; u. a. *L. leonii*, *L. decumbens* (eigene Beobachtungen), *L. lewisii* (BAKER 1961), *L. usitatissimum* (GÜRBÜZ 1999, ALLABY et al. 2005). Weitere Untersuchungen homostyler Arten sind in diesem Zusammenhang nur bedingt sinnvoll, da es sich nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit bei den homostylen Vertretern der Linoideae eher um sekundär entstandene Homostylie handelt. Da sich diese Arten nicht für die Frage nach der Entstehung von Heterostylie eignen, wäre es sinnvoller, das erste Auftreten von Heterostylie in den Linaceae bzw. in den Malpighiales zu bestimmen und sich die Reproduktionssysteme der entsprechenden Schwestergruppe näher anzusehen.

#### 4.4.1.2 Strukturierung der Pollenkornoberfläche

Der Pollendimorphismus in heterostylen Arten wurde bereits von DARWIN (1877) beschrieben und ist aus einer Vielzahl von Arten aus verschiedenen Familien bekannt (DULBERGER 1992). Für die meisten dieser Arten ist neben einem Polymorphismus in der Gestaltung der Exine ein Größenpolymorphismus bzgl. der Pollenkörner zwischen lang- und kurzgriffeligen Individuen zu beobachten (DULBERGER 1992). In den Linaceae ist jedoch ein Unterschied in der Größe lediglich aus *Reinwardtia indica* bekannt (SUGAWARA et al. 2002, BAHADUR et al. 1996), während der Aufbau der Exine zwischen Lang- und Kurzgriffeln stets zu variieren scheint (u. a. DULBERGER 1992, 1981, ROGERS 1980b, 1985, PUNT & BREEJEN 1981). Sowohl DULBERGER (1981) als auch PUNT & BREEJEN (1981) wiesen bereits darauf hin, dass sich gewisse Unterschiede zwischen Sektionen der Gattung *Linum* bzgl. ihres Pollens beobachten lassen. So unterschieden PUNT & BREEJEN (1981) in *Linum* - vor allem auf der Basis von Merkmalen der Apertur und der Gestaltung der Exine -

fünf Pollenkorn-Typen: *Linum usitatissimum*-, *L. perenne* subsp. *anglicum*-, *Radiola linoidea*-, *L. austriacum*- und *L. catharticum*-Typus. In der vorliegenden Arbeit wurde das Hauptaugenmerk auf den Aufbau der Exine, im Besonderen auf die Gestaltung der einzelnen Bacula, der altweltlichen Vertreter der Linoideae gerichtet. Ziel dieser Untersuchung war es vor allem, die Pollenkörner homostyler Arten mit denen nahverwandter heterostyler Arten zu vergleichen, um die Entstehung unterschiedlicher Reproduktionssysteme zu verstehen. Sollte es in *Linum*, ähnlich wie in *Primula* (ERNST 1936, RICHARDTS 1997) durch Rekombination in einer der Heterostylie / Homostylie zugrunde liegenden Kopplungsgruppe zur Entstehung von Homostylie kommen, wäre zu erwarten, dass der Pollen entweder eher langgriffeligen oder kurzgriffeligen Individuen ähnelt. Der besseren Übersicht halber werden die Ergebnisse nach den jeweiligen Sektionen zusammengefasst diskutiert.

#### *Linum* Sektion *Linum*

Innerhalb der Sektion *Linum* unterscheiden PUNT & BREEJEN (1981) drei verschiedene Pollenkorn Typen: *Linum usitatissimum*-, *L. perenne* subsp. *anglicum*- und *L. austriacum*-Typus. Die beiden Vertreter des *L. usitatissimum*-Typus (*L. usitatissimum* und *L. bienne*) werden von den Autoren durch den Besitz eines +/- geschlossenen Tektums von denen des *L. austriacum*-Typus abgegrenzt. Diese Beobachtung konnte nicht bestätigt werden. Sowohl bei *L. bienne* als auch bei *L. usitatissimum* waren die Bacula deutlich voneinander getrennt und eine Berührung oder Überlappung der oberen Bereiche der Säulen wurde nicht festgestellt (Abb. 34). Die abweichenden Ergebnisse von PUNT & BREEJEN (1981) könnten durch die Beobachtung von noch nicht vollständig entwickeltem Pollen zu erklären sein. Die Bacula scheinen in jungen Pollenkornstadien oft zusammenhängend und weichen erst später in der Entwicklung auseinander (*L. nervosum*, Abb. 34; *L. grandiflorum*, Abb. 35).

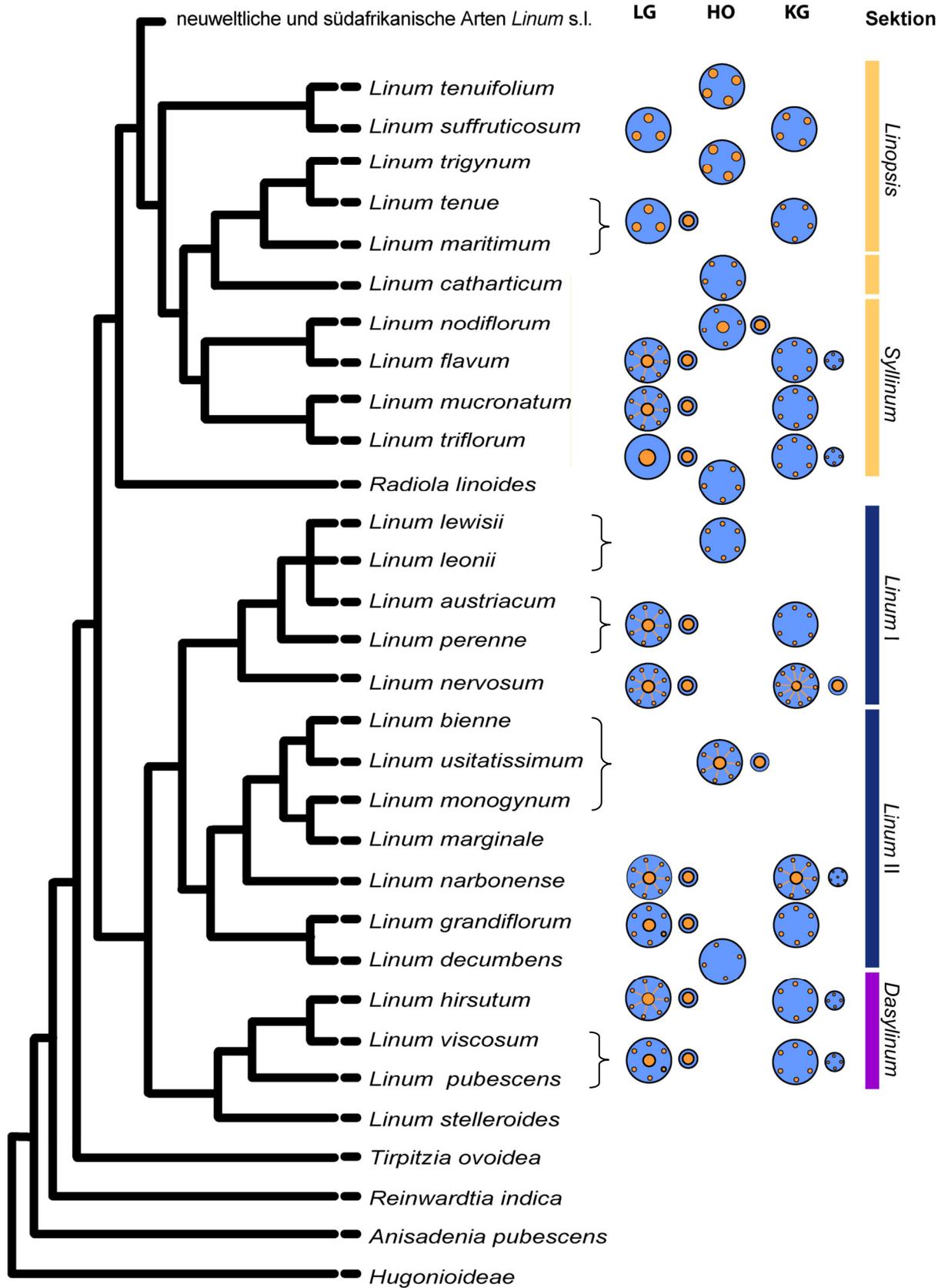
PUNT & BREEJEN (1981) richteten ferner für die tetraploide *Linum perenne* subsp. *anglicum* einen eigenen Pollenkorn-Typus (*L. perenne* subsp. *anglicum*-Typus) ein. Diese Abgrenzung begründeten sie vor allem durch den pantoporaten Pollen, der im Gegensatz zu den tricolpaten Arten des *L. austriacum*-Typus sechs Keimporen besitzt. Bezüglich des Aufbaus der Exine gleicht *L. perenne* subsp. *anglicum* jedoch den übrigen heterostylen Arten der *L. perenne* Gruppe (eigene Beobachtungen,

OCKENDON 1967). Die Gründung eines eigenen Pollenkorn-Typus auf Grundlage von Anzahl und Form der Aperturen ist daher fragwürdig.

Der Pollen von heterostylen Arten der Sektion *Linum* zeichnet sich durch eine Reihe von Gemeinsamkeiten aus. So besitzen die langgriffeligen Individuen stets Pollen, dessen Exine aus zwei verschiedenen Typen von Bacula besteht (Abb. 48). Zum einen Säulen mit einem größerem Durchmesser, die in der Regel zwischen 5 und 6 randständige sowie ein zentrales Spitzchen aufweisen und zum anderen Säulen mit einem geringen Durchmesser, die lediglich ein zentrales Spitzchen besitzen (Abb. 34, 35 & 44). Abgesehen von *Linum grandiflorum* bilden alle untersuchten Arten der Sektion 'Linum II' im Langgriffel-Pollen Rippen aus, die das zentrale Spitzchen mit den randständigen verbinden (Abb. 34 & 44). Der Pollen von kurzgriffeligen Individuen der Sektion *Linum* weist keinen einheitlichen Aufbau auf. In *L. perenne*, *L. austriacum* und *L. grandiflorum* ist lediglich ein Typ von Säulen zu beobachten, der 4-7 randständige Spitzchen aufweist. Ein mittleres Spitzchen fehlt. Ferner werden auf den Säulen dieser Arten auch keine Rippen ausgebildet. In *L. nervosum* und *L. narbonense* hingegen sind, wie in langgriffeligen Individuen, zwei Typen von Säulen mit unterschiedlichen Durchmessern zu beobachten (Abb. 34). Die mit dem größeren Umfang weisen jeweils ein mittleres Spitzchen auf, welches durch Rippen mit den 6-12 randständigen Spitzchen verbunden ist. Die Säulen mit dem geringeren Durchmesser unterscheiden sich in den beiden Arten. Bei *L. nervosum* besitzen diese lediglich ein mittleres Spitzchen, während bei *L. narbonense* neben einem mittleren Spitzchen auch randständige beobachtet werden.

Die Exine von homostylen Vertreter der Sektion *Linum* zeigt keinen einheitlichen Aufbau. So weisen *Linum leonii* (Abb. 35) und *L. lewisii* lediglich eine Form von Säulen auf, während die Pollenkornwand von *L. bienne*, *L. usitatissimum* und *L. monogynum* aus Bacula mit verschiedenen Durchmessern aufgebaut ist (Abb. 48). Der Pollen von *L. leonii* und *L. lewisii* ähnelt dem Pollen kurzgriffeliger Individuen der Sektion *Linum*. Die Säulen weisen zwischen 4-7 randständige Spitzchen auf. Ein mittleres Spitzchen fehlt in der Regel, kann jedoch gelegentlich in *L. lewisii* sehr schwach ausgeprägt sein. In *L. lewisii* variiert zudem der Durchmesser der Säulen. Eine Unterscheidung in verschiedene Bacula-Typen kann jedoch nicht vorgenommen werden, da sich die Säulen diesbezüglich graduell unterscheiden. In *L. bienne*, *L. usitatissimum* und *L. monogynum* ähnelt der Pollen eher dem langgriffeliger Individuen der Sektion *Linum*. Es werden jeweils zwei Typen von Bacula beobachtet,

die im Aufbau denen der Langgriffel entsprechen. In *L. monogynum* werden zudem auf den Säulen mit geringem Durchmesser Rippen beobachtet, die das mittlere Spitzchen mit den randständigen verbinden. Auffallend ist jedoch, dass in kurzgriffeligen Pollen von *L. narbonense* und *L. nervosum* auch zwei Typen von Säulen beobachtet werden, die Ähnlichkeiten mit denen in *L. bienne*, *L. usitatissimum* und *L. monogynum* zeigen. *Linum narbonense* ist zudem Schwester zu der Gruppe, der die drei genannten homostylen Arten angehören (Abb. 48). Vergleicht man den Pollen von *L. narbonense* eingehender mit dem der drei homostylen, fällt es schwer, zu beurteilen, ob der Pollen von *L. bienne*, *L. usitatissimum* und *L. monogynum* größere Ähnlichkeit zu dem von Lang- oder Kurzgriffeln hat. Pollen der homostylen *L. decumbens* (Abb. 35) weist weder deutliche Ähnlichkeit mit dem langgriffeliger noch mit dem kurzgriffeliger Individuen der Sektion *Linum* auf. Er zeigt sowohl Charakteristika von Langgriffel-Pollen (mittleres Spitzchen) als auch von Kurzgriffel-Pollen (Säulen mit graduell variierendem Durchmesser (Abb. 35). Vergleicht man die vorgestellten morphologischen Beobachtungen mit den phylogenetischen Ergebnissen (Abb. 43), so fällt auf, dass die homostylen Arten, die einen ähnlichen Typ von Pollenkörnern zeigen, auch phylogenetisch betrachtet näher miteinander verwandt sind. Homostylie ist in der Sektion *Linum* mehrfach unabhängig voneinander entstanden (Abb. 42 & 43), so dass der Entwicklung evtl. unterschiedliche Prozesse zugrunde lagen. So wäre es durchaus denkbar, dass es durch verschiedenartige Rekombinationsereignisse in der Kopplungsgruppe zur Entstehung von Homostylie kam (s. u.).



**Abb. 48:** Phylogenie der europäischen Linoideae-Arten. Als Grundlage diente der 'Supertree' (Abb. 42). Die unterschiedlichen Typen an Bacula wurden schematisch für die untersuchten bzw. in der Literatur beschriebenen Pollenkörner dargestellt. LG = Langgriffel, KG = Kurzgriffel, HO = Homostylie.

*Linum* Sektion *Dasylinum*

Im Rahmen dieser Arbeit war es leider nicht möglich, Pollen von Vertretern der Sektion *Dasylinum* zu untersuchen, so dass lediglich auf Literaturdaten zurückgegriffen wurde. Pollen von *Linum hirsutum* (ROGERS 1985, *L. pubescens* (DULBERGER, 1981) und von *L. viscosum* (PUNT & BREEJEN 1981) entspricht im Aufbau der Exine weitestgehend dem Pollen von *L. perenne* und *L. austriacum* bzw. dem von *L. grandiflorum*. Pollenkörner von langgriffeligen Individuen weisen zwei im Durchmesser unterschiedliche Typen von Säulen in der Exine auf. Die Bacula mit großem Durchmesser besitzen ein zentrales Spitzchen, welches durch Rippen mit den randständigen Spitzchen verbunden ist. Sowohl die Rippen als auch die randständigen Spitzchen sind z. T. nur sehr schwach ausgebildet (ROGERS 1985) Die Säulen mit dem geringen Durchmesser besitzen nur ein zentrales Spitzchen. Die Pollenkörner von kurzgriffeligen Individuen weisen Bacula mit Durchmessern auf, die sich graduell unterscheiden. Hier sind lediglich, je nach Umfang der Säulen, 3-9 randständige Spitzchen zu beobachten (DULBERGER 1981, PUNT & BREEJEN 1981). PUNT & BREEJEN ordneten die Pollenkörner von *L. viscosum* dem *L. austriacum*-Typus zu, mit welchem auch die Pollenkörner von *L. hirsutum* und *L. pubescens* große Ähnlichkeiten zeigen. Diese Auffassung kann durch die vorliegenden Daten gestützt werden. Es existiert kein Merkmal, durch welches die Sektionen *Linum* und *Dasylinum* bezüglich der Pollenkornwand klar voneinander unterschieden werden könnten.

ROGERS (1985) untersuchte ferner sowohl Pollenkörner von einem langgriffeligen Individuum von *Linum heterosepalum* als auch von einem kurzgriffeligen Individuum von *L. olgae*. Diese beiden Arten wurden von YUZEPCHUK (1974) vor allem aufgrund des Fehlens von Behaarung zu der lediglich diese beiden Taxa umfassenden Sektion *Macrantholinum* gezählt. Ein weiteres Merkmal, welches diese beiden Arten von den übrigen der Sektion *Dasylinum* abgrenzt, ist der pantoporate Pollen (ROGERS 1985). Der Pollen des langgriffeligen Individuums von *L. heterosepalum* entspricht morphologisch dem Pollen, der in *L. hirsutum*, *L. pubescens* und *L. viscosum* beobachtet wurde, während Pollen des kurzgriffeligen Individuums von *L. olgae* einige Unterschiede zu diesen Arten aufweist. Neben den typischen Säulen mit relativ großem Umfang und zahlreichen Spitzchen am Rand sind in *L. olgae* auch Bacula mit geringem Durchmesser zu beobachten (ähnlich wie in *L. narbonense* und *L. nervosum*), die in einem zentralen Spitzchen enden (ROGERS, 1985). Aufgrund der

geringen Abweichung im Aufbau der Pollenkornwand zu den Arten der Sektionen *Linum* und *Syllinum* erscheint ein eigener Pollenkorn-Typus nicht sinnvoll.

#### *Linum* Sektion *Linopsis*

Alle untersuchten Vertreter der Sektion *Linopsis* Untersektion *Halolinum* (*L. maritimum*, *L. tenue*, *L. trigynum*) und Untersektion *Dichrolinum* (*L. suffruticosum*, *L. tenuifolium*) weisen, wie bereits von DULBERGER (1981) beobachtet, Pollenkörner auf, die auf den säulenartigen Strukturen mit dem größeren Durchmesser lediglich randständige Spitzchen ausbilden (Abb. 48). Ein zentrales Spitzchen fehlt sowohl bei Pollen von langgriffeligen als auch kurzgriffeligen Blüten (Abb. 36).

Die Pollenkornwand von Pollenkörnern langgriffeliger Blüten der Untersektion *Halolinum* (*L. maritimum*, *L. tenue*) setzt sich aus Bacula mit zwei unterschiedlichen Durchmessern zusammen (Abb. 36 G, J; ROGERS 1980b). Während die Säulen mit dem größeren Durchmesser zwischen 3-5 randständige Spitzchen besitzen, zeichnen sich die Säulen mit dem geringeren Durchmesser lediglich durch ein zentrales Spitzchen aus. Pollenkörner kurzgriffeliger Blüten besitzen in *L. tenue* lediglich Bacula mit +/- demselben Durchmesser (ROGERS 1980b), während in *L. maritimum* Säulen mit zahlreichen unterschiedlichen Radien beobachtet werden, so dass eine Differenzierung in unterschiedliche Typen von Säulen nicht möglich ist (Abb. 36 H, K). Auf den Bacula werden in *L. tenue* 4-5 (Rogers, 1980b) und in *L. maritimum* 2-6 randständige Spitzchen beobachtet, die jedoch wesentlich weniger deutlich ausgebildet sind, als die der Langgriffel (Abb. 36 J, K).

Der Pollen der homostylen *L. trigynum* zeichnet sich durch das Vorhandensein von Säulen mit graduell unterschiedlichen Durchmessern aus und ähnelt in diesem Punkt dem Pollen kurzgriffeliger Individuen der Untersektion *Halolinum*. Allerdings sind die 2-5 randständigen Spitzchen deutlich ausgebildet und gleichen eher denen, die in Pollen langgriffeliger Individuen der Sektion beobachtet werden. Eine eindeutige Ähnlichkeit des Pollens zu langgriffeligen oder kurzgriffeligen Individuen, wie in Sektion *Linum* für *L. lewisii* und *L. leonii*, ist hier nicht möglich.

In der Untersektion *Dichrolinum* konnte in Pollen langgriffeliger Individuen von *Linum suffruticosum* nicht zwischen zwei verschiedenen Typen von Bacula unterschieden werden, der Durchmesser variierte lediglich geringfügig (Abb. 36 A). Diese Beobachtung weicht von den Ergebnissen ROGERS (1979) ab, der durchaus Säulen mit unterschiedlichen Radien in langgriffeligen Blüten von *L. suffruticosum* ausmachte. Inwieweit es sich hierbei um innerartliche Variation handelt, bedarf einer

genaueren Studie, da in *L. suffruticosum* zahlreiche Unterarten beschrieben sind (NICHOLLS 1985a). In kurzgriffeligen Individuen besteht die Exine aus Säulen mit etwa dem gleichen Durchmesser, welche am Rand zwischen 3 und 5 Spitzchen aufweisen (Abb. 36B), die etwas weniger stark ausgebildet sind, als die 2-5 Spitzchen, die in langgriffeligen Individuen beobachtet werden. Die homostyle Schwesterart *L. tenuifolium* (Abb. 36 C) ähnelt im Aufbau der Exine eher den langgriffeligen Individuen von *L. suffruticosum*. Hier werden Säulen mit variierenden Radien beobachtet, die zwischen 2-5 deutlich ausgebildete, randständige Spitzchen besitzen (Abb. 36 C). Auch ROGERS (1979) hebt hervor, dass die Spitzchen auf den Säulen in *L. tenuifolium* stärkere Ähnlichkeiten mit denen von langgriffeligen Pollen in *L. suffruticosum* aufweisen.

#### *Linum* Sektion *Syllinum*

Die Vertreter der Sektion *Syllinum* lassen sich bezüglich der Pollenmorphologie deutlich von denen der Sektion *Linopsis* abgrenzen. In Pollen langgriffeliger Blüten heterostyler Arten sind in der Exine stets zwei Typen von Säulen zu beobachten. Solche mit einem größeren Radius, auf denen stets ein sehr deutliches zentrales Spitzchen steht und Säulen mit geringem Durchmesser, die in einer Spitze enden. In *Linum flavum* (PUNT & BREEJEN 1981) und *L. mucronatum* werden auf den Bacula mit großen Radien zusätzlich zwischen 5 und 8 randständige Spitzchen beobachtet, die jedoch nur sehr schwach ausgebildet sind. Für *L. triflorum* kann das Vorhandensein von randständigen Spitzchen weder gesichert noch negiert werden, da es anhand der Präparate nicht eindeutig zu erkennen war (Abb. 37 D). Kurzgriffelige Individuen weisen in *L. triflorum* und *L. flavum* Säulen mit unterschiedlichen Durchmessern auf, wobei der Unterschied zwischen solchen mit großem und kleinem Radius geringer ist als der, der in langgriffeligen Individuen beobachtet wird. Laut DULBERGER (1981) werden in kurzgriffeligen Individuen von *L. mucronatum* lediglich Säulen mit etwa demselben Durchmesser beobachtet. Auf den Bacula mit großem Durchmesser sitzen je nach Art 4-7 randständige Spitzchen, während die mit kleinerem Durchmesser 1-4 marginale Spitzchen aufweisen. Die homostyle *L. nodiflorum* besitzt Pollenkörner, deren Exine durch Säulen charakterisiert ist, die sich graduell in ihrem Durchmesser unterscheiden (Abb. 37 F). Die Bacula besitzen in der Regel ein zentrales und 0-5 randständige Spitzchen, die stets sehr deutlich ausgebildet sind. Aufgrund des deutlichen mittleren Spitzchens ähneln sie eher dem Pollen langgriffeliger Individuen der Sektion *Syllinum*.

Betrachtet man die Variation der Exine sektionenübergreifend in *Linum*, so wird deutlich, dass sich die einzelnen Sektionen kaum in der Gestaltung der Pollenkornwand unterscheiden. Lediglich die europäischen Vertreter der Sektion *Linopsis* setzen sich deutlich von den übrigen untersuchten Arten ab, da sie weder in Lang-, noch in Kurzgriffeln ein mittleres Spitzchen auf den Bacula mit großem Durchmesser aufweisen. Die Einteilung von PUNT & BREEJEN (1981) in fünf Pollenkorn Typen kann anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigt werden. Die von ihnen beschriebenen Pollenkörner von *L. catharticum* und *Radiola linoides* unterscheiden sich nicht auffallend von den hier untersuchten Arten und lassen sich vom Aufbau durchaus mit dem Pollen anderer homostyler Arten aus der Alten Welt der Gattung *Linum* vergleichen.

DULBERGER (1981) folgerte aus ihren Beobachtungen, dass der Pollen kurzgriffeliger Individuen innerhalb der Gattung *Linum* nur eine geringe Variation zeigt. Betrachtet man jedoch die Pollenkörner der einzelnen Arten etwas genauer, so fällt auf, dass in Kurzgriffeln durchaus eine enorme Vielfalt zu beobachten ist. Gerade in den Sektionen *Syllinum* und *Linum* lassen sich zahlreiche Unterschiede zwischen den einzelnen Arten im Aufbau der Exine erkennen. So weisen u. a. Pollenkörner von *L. narbonense*, *L. nervosum*, *L. olgae*, *L. triflorum* oder *L. flavum* in Kurzgriffeln ebenso wie in Langgriffeln zwei verschiedene Typen von Bacula auf. Die Behauptung DULBERGERS (1981), dass es sich bei den Pollenkörnern der Kurzgriffel der Gattung *Linum* aufgrund der geringen morphologischen Variation um die ursprünglichere Form handelt, kann nicht bestätigt werden und scheint vor allem im Vergleich mit den basal abspaltenden Linoideae-Arten (*Anisadenia*, *Reinwardtia*, *Tirpitzia*) und Hugonioideae-Arten eher unwahrscheinlich. In *Reinwardtia* bilden sowohl lang- als auch kurzgriffelige Individuen Pollen mit einer heterogenen Oberfläche aus. Die Exine setzt sich somit aus Säulen mit unterschiedlichen Durchmessern zusammen. Besonders interessant ist, dass sich die Pollenkörner in *Reinwardtia* bzgl. der Größe voneinander unterscheiden. Während Pollen von Kurzgriffeln im Schnitt einen Durchmesser von etwa 83  $\mu\text{m}$  besitzt, erreicht der von Langgriffeln nur etwa 59  $\mu\text{m}$  (SUGAWARA *et al.* 2002). Auch *Tirpitzia* weist eine heterogene Strukturierung der Exine auf (Abb. 38). In Pollenkörnern der kurzgriffeligen *Tirpitzia sinensis* sind deutlich Bacula mit verschiedenen Durchmessern zu erkennen. Spitzchen am Rand oder in der Mitte der Säulen konnten nicht beobachtet werden. Diese Beobachtungen in *Tirpitzia* und *Reinwardtia* zeigen, dass

die Ausbildung von Bacula mit unterschiedlichen Durchmessern durchaus als ursprünglich für die Gattung *Linum* betrachtet werden kann.

Die Arten der Hugonioideen sind in Hinblick auf ihre Pollenmorphologie bisher nur unzureichend untersucht worden. CARREIRA *et al.* (2005) bilden in ihrer Publikation zwar Pollenkörner einiger Vertreter dieser Unterfamilie ab, jedoch ist der genaue Aufbau der Exine kaum zu erkennen. Während *Hebepetalum humirifolium* (PLANCH.) BENTH. und *H. roraimensis* R. SECCO & M. SILVA eine scheinbar homogene Pollenkornoberfläche aufweisen, sind auf den Säulen von *Roucheria calophylla* PLANCH und *R. punctata* DUCKE zusätzliche Strukturen zu erkennen (CARREIRA *et al.* 2005). Eine genaue Untersuchung verschiedener Hugonioideae-Arten (homo- und heterostyle) und der Gattung *Anisadenia* wäre von besonderem Interesse, um die Evolution verschiedener Pollenkorntypen in den Linaceae besser zu verstehen.

#### 4.4.1.3 Beschaffenheit der Narbenpapillen

Die beiden morphologischen Ausprägungen heterostyler *Linum*-Arten lassen sich auch durch den Aufbau der Narbenpapillen unterscheiden. Während die Oberfläche der Papillen in langgriffeligen Individuen glatt erscheint, ist die in kurzgriffeligen Blüten stets strukturiert (Abb. 35, 36, 39 & 44). DULBERGER (1974) untersuchte die Zellwände der Narbenpapillen verschiedener *Linum*-Arten, um die unterschiedliche Beschaffenheit dieser Zellen genauer zu charakterisieren. Laut DULBERGER (1974) bestehen diese aus einer Schicht aus Zellulose und Pektin, die in Langgriffeln im apikalen Teil der Zellwand besonders stark ausgeprägt ist. In kurzgriffeligen Individuen ist eine Einlagerung von Körnchen zwischen der Zellulose-Pektin Schicht und der Kutikula zu beobachten. Zusätzlich werden in Kurzgriffeln Lipide auf der Kutikula beobachtet, die in Langgriffeln stets fehlen (DULBERGER 1974). Die Oberfläche der Papillen ist daher in Langgriffeln glatt, während die Papillen in kurzgriffeligen Individuen eine Oberfläche von körnig (*Linum suffruticosum*, Abb. 36) bis zu runzelig (*L. grandiflorum*, Abb. 35) aufweisen. Die Narbenpapillen der Kurzgriffel haben laut DULBERGER (1974) Ähnlichkeiten mit Drüsenzellen, wie sie aus Trichomen oder Drüsengewebe bekannt sind. Die Beobachtungen von DULBERGER (1974) und SCHILL *et al.* (1985) bzgl. der morphologischen Unterschiede der Narbenpapillen von Lang- und Kurzgriffeln in *Linum* konnten weitgehend bestätigt werden. Die heterostylen Arten *L. perenne*, *L. grandiflorum*, *L. narbonense*, *L. suffruticosum* und *L. c. f. flavum* weisen alle glatte Narbenpapillen in langgriffeligen

Individuen auf, während die der kurzgriffeligen unterschiedlich stark strukturiert sind (Abb. 35, 36, 39 & 44). Interessant ist auch hier der Vergleich der Narben homostyler Arten mit denen nahverwandter, heterostyler Arten.

Die Narbenpapillen von *L. leonii* (Abb. 44) weisen eine stärkere Ähnlichkeit zu denen langgriffeliger Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne* auf (Abb. 44). Die Stigmata der beiden Arten sind aus Papillen mit glatter Oberfläche zusammengesetzt, während in kurzgriffeligen Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne* Papillen mit einer strukturierten Oberfläche zu beobachten sind, die auf eine Auflagerung von Lipiden auf der Kutikula hindeutet (Abb. 39). Ferner unterscheiden sich die Papillen in ihrer Form. Während in langgriffeligen Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne* und *L. leonii* Zellen zu beobachten sind, die sich zur Außenseite birnenartig erweitern (Abb. 39), sind diese in Kurzgriffeln von *L. perenne* subsp. *perenne* eher länglich (Abb. 39). Ähnliche Beobachtungen konnte HEITZ (1973) in der nahverwandten *L. austriacum* machen.

Innerhalb der Sektion *Linopsis* Untersektion *Dichrolinum* wurden die homostyle *Linum tenuifolium* und die nahverwandte heterostyle *L. suffruticosum* untersucht. Allerdings ähneln hier die Narbenpapillen der homostylen Art nicht denen langgriffeliger Individuen, sondern denen von Kurzgriffeln. Die Papillen der Langgriffel weisen eine glatte Oberfläche auf (Abb. 36 D), während sowohl die Papillen der Kurzgriffel (Abb. 36 E) als auch die der homostylen *L. tenuifolium* (Abb. 36 F) eine deutlich körnige Oberfläche besitzen.

Ähnliches ist in Sektion *Syllinum* zu beobachten. Die Narbenpapillen der homostylen *L. nodiflorum* (Abb. 39) und der kurzgriffeligen Individuen von *L. cf. flavum* weisen deutliche Ablagerungen auf der Kutikula auf, während die kurzgriffeliger Individuen von *L. cf. flavum* eine glatte Oberfläche zeigen (Abb. 39). Diese Ergebnisse decken sich mit den Beobachtungen von DULBERGER (1974), die auf die Ähnlichkeit der Narbenpapillen der homostylen *L. nodiflorum* mit denen kurzgriffeliger Individuen von *L. pubescens* hinwies.

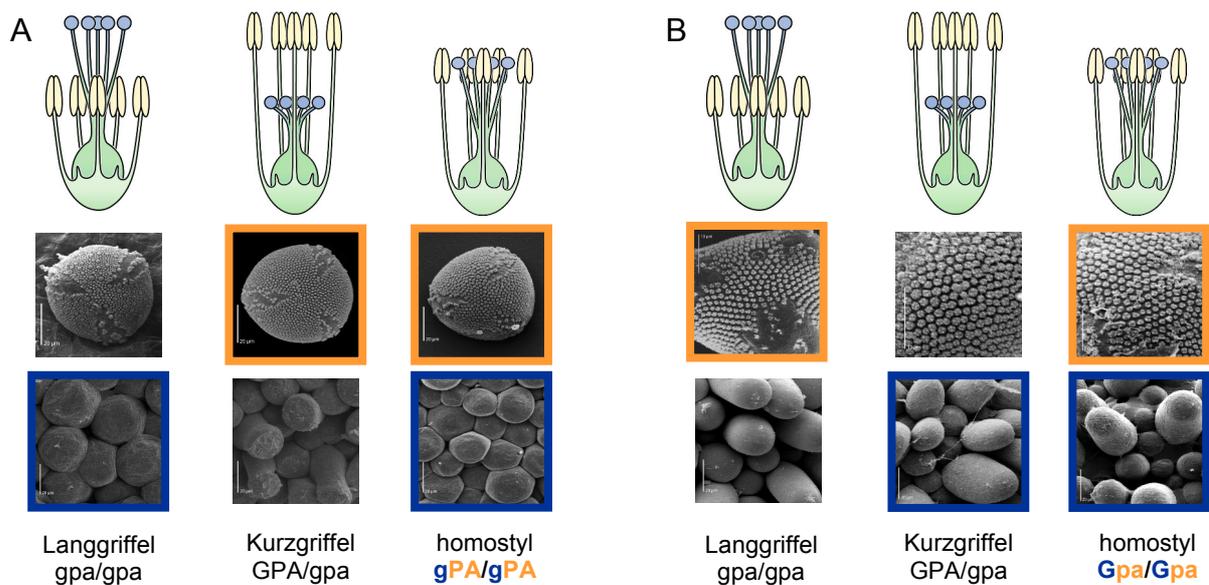
#### 4.4.1.4 Evolution von Homostylie / Heterostylie in *Linum*

Wie bereits erwähnt interessieren vor allem die Beobachtungen in nahverwandten Arten, die sich hinsichtlich ihres Reproduktionssystems unterscheiden. Doch welche Erkenntnisse können aus den vorangegangenen drei Kapiteln gewonnen werden? Zu diesem Zweck sollen die untersuchten homostylen Arten unter Berücksichtigung der morphologischen Ergebnisse bzgl. Exine und Narbenstruktur mit nahverwandten heterostylen Arten verglichen werden, um die Entstehung von Reproduktionssystemen in *Linum* zu erklären.

*Linum leonii* / *L. lewisii* (Sektion *Linum*, 'Linum I')

*Linum leonii* ist eine homostyle Art der Sektion *Linum*, bei der sich die Narben auf derselben Höhe wie die Antheren befinden. Der Pollen zeigt große Ähnlichkeit mit dem kurzgriffeliger Individuen der Gruppe 'Linum I' (exklusive *L. nervosum*), während die Narbenpapillen denen der Langgriffel gleichen. Auch zeigten zahlreiche Kreuzungen, dass *L. leonii* in hohem Maße selbstkompatibel ist. Diese Erkenntnisse sprechen dafür, dass *L. leonii* ähnlich wie *Primula* (MAST *et al.* 2006) durch eine auftretende Rekombination in der dem Reproduktionssystem zugrunde liegenden Kopplungsgruppe entstanden ist. Nimmt man für die heterostylen Vertreter der 'Linum I' Gruppe die gleichen Genotypen wie für *Primula* an, würden die folgenden Genotypen erwartet werden: Langgriffel: gpa/gpa, Kurzgriffel: GPA/gpa, *L. leonii* (homostyl): gPA/gPA. In dieser Kopplungsgruppe kodiert G/g wie bereits erwähnt die Griffellänge und die Selbstinkompatibilitätsreaktion der Narbe, A/a die Länge der Filamente und P/p die Selbstinkompatibilitätsreaktion des Pollens (Abb. 49).

Die nahverwandte *Linum lewisii* unterscheidet sich morphologisch nur leicht von *L. leonii*. Größter Unterschied ist das Fortpflanzungssystem; *L. lewisii* ist durch 'approach herkogamy' charakterisiert. Wie in *L. leonii* ähnelt auch in *L. lewisii* der Pollen dem von kurzgriffeligen Individuen der Sektion *Linum*. Die Narbenpapillen konnten für *L. lewisii* nicht näher untersucht werden, da sich Herbarmaterial als nicht geeignet herausstellte. Auch *L. lewisii* ist selbstkompatibel (BAKER 1961), auch wenn es unter Gewächshausbedingungen nicht zum Ansatz von Früchten kommt (KERNS & INOUE 1994). Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Narben über den Antheren gelegen sind und es ohne Wind oder Insekten kaum zur Übertragung von Pollen kommt. Ob für die Entstehung von *L. lewisii* ähnliche Prozesse wie für *L. leonii* angenommen zugrunde liegen, kann zurzeit noch nicht beurteilt werden.



**Abb. 49:** Theoretische Genotypen von heterostylen *Linum*-Arten und nahverwandten homostylen Arten zur Erklärung der Entstehung von Homostylie in *Linum*. A: Mögliche Entstehung von Homostylie in *Linum leonii*, Sektion *Linum*; B: Mögliche Rekombination in der Kopplungsgruppe in der 'Gelben Gruppe'. G/g kodiert die Griffellänge und die Selbstinkompatibilitätsreaktion der Narbe, A/a die Länge der Filamente und P/p die Selbstinkompatibilitätsreaktion des Pollens

*Linum bienne* / *L. usitatissimum* / *L. monogynum* (Sektion *Linum*, 'Linum II')

Auch diese drei Arten sind Teil der Sektion *Linum*, gehören allerdings im Gegensatz zu *Linum lewisii* und *L. leonii* zu der Gruppe 'Linum II' (Abb. 48). *Linum bienne* und *L. usitatissimum* unterscheiden sich bzgl. ihres Reproduktionssystems nur geringfügig voneinander. Bei beiden Arten stehen Antheren und Narben auf etwa der gleichen Position in der Blüte, und beide Arten sind selbstkompatibel. Die Pollenkornoberflächen sind sehr ähnlich und weisen zwei Typen von Bacula mit unterschiedlichem Durchmesser auf, wie es für langgriffelige Vertreter der Sektion *Linum* typisch ist. Allerdings besitzen kurzgriffelige Individuen von *L. narbonense* (die am nächsten zu diesen Arten verwandte heterostyle Art) auch Säulen mit unterschiedlichem Durchmesser, so dass nicht eindeutig bestimmt werden kann, welchem Typ der heterostylen Arten die homostylen in diesem Merkmal stärker ähneln. Die Narbenpapillen von *L. usitatissimum* gleichen denen langgriffeliger Individuen der Sektion *Linum* und zeigen keine Ablagerung von Lipiden (eigene Beobachtungen). Anhand der vorliegenden Beobachtungen kann die Entstehung von *L. usitatissimum* nicht genau geklärt werden. Es wäre denkbar, dass eine ähnliche Rekombination in der Kopplungsgruppe, wie bei *L. leonii* vermutet, zu einem

Zusammenbruch der Heterostylie führte. Aufgrund der Pollenkornmorphologie von *L. usitatissimum* wäre es allerdings auch denkbar, dass sich sowohl die Eigenschaften des Pollens als auch die der Narben von einem langgriffeligen Individuum ableiten lassen. Wäre dies der Fall, wäre es im Laufe der Entwicklung von *L. usitatissimum* zu einer Veränderung des Längenverhältnisses von Filamenten und Griffeln gekommen, sowie zu einem Verlust der Selbstinkompatibilität, sofern der Vorfahre wie angenommen heterostyl und selbstinkompatibel war. Aufgrund der nahen Verwandtschaft von *L. usitatissimum* und *L. bienne* ist anzunehmen, dass beide von einem gemeinsamen Vorfahren abstammen, der bereits die erwähnten Eigenschaften bzgl. des Reproduktionssystems zeigte. Der Aufbau der Narbenpapillen von *L. monogynum* ist nicht bekannt, so dass nicht beurteilt werden kann, ob ähnliche Entwicklungsprozesse, wie in *L. bienne* und *L. usitatissimum* vermutet, zugrunde liegen.

*Linum trigynum* (Sektion *Linopsis*, Untersektion *Halolinum*)

*Linum trigynum* ist Schwesterart zu der heterostylen *L. tenue* (Abb. 48). Der Pollen der homostylen *L. trigynum* zeigt sowohl Ähnlichkeiten zu dem kurzgriffeliger als auch zu dem langgriffeliger Individuen von *L. tenue*, so dass nicht beurteilt werden kann, ob er sich eher aus lang- oder kurzgriffeligen Individuen entwickelt hat. Die Narbenpapillen von *L. trigynum* konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht genau untersucht werden, da nur solche vorlagen, die vollständig mit Pollen belegt waren, so dass die Form der Papillen nicht erkannt werden konnte. Eine Hypothese für die Entstehung dieser Art ist somit nicht möglich.

*Linum tenuifolium* (Sektion *Linopsis*, Untersektion *Dichrolinum*)

*Linum tenuifolium* ist Schwesterart zu *L. suffruticosum* und gehört zur Sektion *Linopsis* Untersektion *Dichrolinum*. Die homostyle *L. tenuifolium* gleicht im Aufbau der Exine langgriffeligen Individuen von *L. suffruticosum*, während die Narbenpapillen denen von Langgriffeln ähneln (Abb. 36). Diese Ergebnisse lassen sich, ähnlich wie in *L. leonii*, durch Rekombination in der Kopplungsgruppe erklären. Allerdings mit dem entscheidenden Unterschied, dass *L. tenuifolium* bzgl. des Pollens und der Narben immer der anderen Form ähnelt, die für *L. leonii* gezeigt wurde. Folglich könnte auch für die Entstehung von *L. tenuifolium* eine Rekombination im 'Supergen' verantwortlich sein, allerdings würde man in *L. tenuifolium* einen anderen Genotypen als in *L. leonii* erwarten, sofern die Genotypen

von *L. suffruticosum* mit denen der für die heterostylen Arten der Gruppe '*Linum I*' in der Sektion *Linum* angenommenen übereinstimmen. In diesem Fall würde man für die homostyle *L. tenuifolium* den Genotypen Gpa/Gpa erwarten (Abb. 49).

Durch innerartliche Kreuzungen konnte gezeigt werden, dass *L. tenuifolium* selbstkompatibel ist (Tab. 15). Interessant wäre es, zu erfahren, ob sich der Pollen von *L. tenuifolium* auch wie der von langgriffeligen Individuen verhält, d. h. ob er auf Narben von Kurzgriffeln von *L. suffruticosum* keimt, während es auf Narben langgriffeliger Individuen zu einer Selbstinkompatibilitätsreaktion kommt.

#### *Linum nodiflorum* (Sektion *Syllinum*)

Die Beobachtungen in *Linum nodiflorum* lassen sich mit denen in *L. tenuifolium* vergleichen. Pollenkörner ähneln denen langgriffeliger Individuen, während die Narbenpapillen denen von Kurzgriffeln gleichen. Diese deutet auf ein ähnliches Rekombinationsereignis in der Kopplungsgruppe hin, wie es zuvor für *L. tenuifolium* postuliert wurde. Vergleicht man die Ergebnisse, scheint es, als ob sowohl in der 'Gelben Gruppe' und der 'Blauen Gruppe' homostyle Arten durch Rekombination in der Kopplungsgruppe entstanden sind. Allerdings mit unterschiedlichen Resultaten. Während für *L. leonii* ein Genotyp mit der Ausprägung gPA/gPA angenommen werden kann, ist für *L. tenuifolium* und *L. nodiflorum* Gpa/Gpa wahrscheinlicher. Ob diese Genotypen tatsächlich dieser Annahme entsprechen, kann nur durch umfangreiche Kreuzungsexperimente gezeigt werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde sich auf die Sektion *Linum* konzentriert und versucht die genetische Grundlage der Reproduktionssysteme in *L. perenne* subsp. *perenne* und *L. leonii* genauer zu untersuchen.

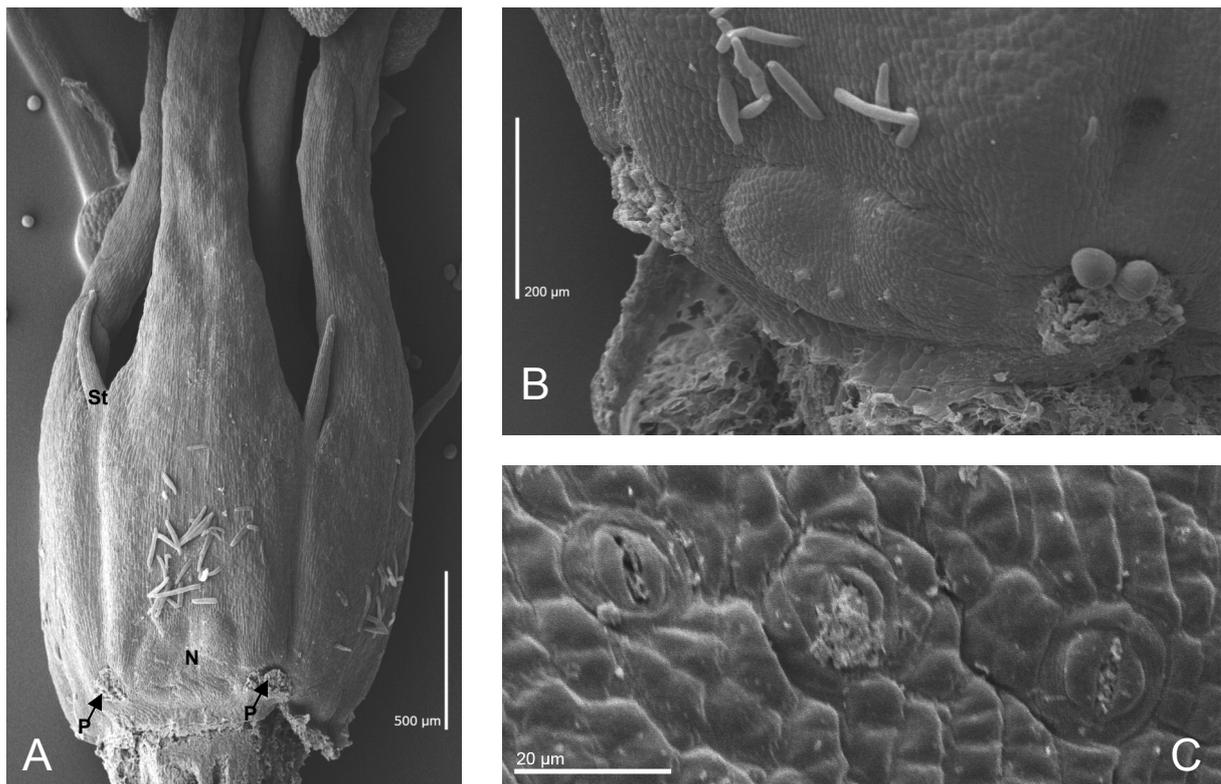
#### **4.4.2 *Linum leonii* & *L. perenne* subsp. *perenne***

Bei *Linum leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* handelt es sich um zwei nahverwandte Arten innerhalb der *Linum perenne* Gruppe (Abb. 43), zu welcher in Mitteleuropa neben *L. leonii* und den verschiedenen Unterarten von *L. perenne* ferner *L. austriacum* und *L. punctatum* PRESL zählen (OCKENDON 1967). Eine ITS-Phylogenie, in der verschiedene Vertreter der Sektion *Linum* eingeschlossen wurden, zeigt eine Aufspaltung der Sektion *Linum* in zwei gut gestützte Gruppen, '*Linum I*' und '*Linum II*', (Abb. 43). Innerhalb der Gruppe '*Linum I*' wird nur eine geringe Auflösung beobachtet, so dass durch die vorliegende molekulare Rekonstruktion das

zuvor angenommene Schwestergruppenverhältnis von *L. leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* nicht bestätigt werden konnte. Neben *L. perenne* kommt auch *L. austriacum* als nächster Verwandter zu *L. leonii* in Frage. Für eine engere Beziehung von *L. leonii* zu *L. perenne* sprechen jedoch andere Erkenntnisse. Morphologisch betrachtet unterscheiden sich *L. austriacum* und *L. perenne* v. a. durch die Position der Kapselstiele voneinander. Während in *L. austriacum* hängende Fruchtstiele besitzt, weisen die von *L. perenne* und *L. leonii* einen aufrechten Wuchs auf. Ferner konnte OCKENDON (1967) durch zahlreiche Kreuzungen zwischen den einzelnen Unterarten von *L. perenne*, *L. austriacum* und *L. leonii* zeigen, dass Kreuzungen zwischen *L. leonii* und *L. austriacum* in der Regel nicht zur Ausbildung von Kapseln führten, während sich bei Kreuzungen zwischen *L. leonii* und *L. perenne* durchaus Kapseln mit gut ausgebildeten Samen entwickelten. OCKENDON (1967) schloss daraus, dass sich *L. leonii* eventuell aus einem Vorfahren mit aufrechten Fruchtstielen entwickelte. Aufgrund dieser Ergebnisse und eigener Beobachtungen bzgl. der Morphologie wird eine nähere Verwandtschaft von *L. leonii* zu *L. perenne* als zu *L. austriacum* angenommen. Im Folgenden sollen die beiden Arten und die mögliche Entwicklung von *L. leonii* aus *L. perenne* subsp. *perenne* bzw. einem gemeinsamen Vorfahren genauer betrachtet werden.

*Linum leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* sind sich morphologisch sehr ähnlich und am einfachsten durch das Vorhandensein von Homostylie (*L. leonii*) bzw. Heterostylie (*L. perenne* subsp. *perenne*) zu unterscheiden. Aufgrund ihrer unterschiedlichen reproduktiven Systeme gilt *L. perenne* subsp. *perenne* als xenogam und *L. leonii* als autogam, wobei Kreuzbestäubung durch Insekten in Letzteren nicht ausgeschlossen werden kann. Interessanterweise besitzt *Linum leonii* zahlreiche blütenmorphologische Eigenschaften, die als typisch für xenogame Arten gelten. So sind die Petalen von *L. leonii* im Vergleich zu denen anderer homostyler Vertreter der Gattung *Linum* recht groß und durch die blaue Färbung attraktiv für verschiedene Bestäubergruppen, wie z. B. Bienen oder Schwebfliegen. Die Blütenblätter von *L. leonii* erreichten im Botanischen Garten Mainz eine Länge von bis zu 15 mm (eigene Beobachtungen), während die der homostylen *L. strictum* und *L. trigynum* lediglich 6 bzw. 5 mm erreichten (eigene Beobachtungen). Im Vergleich hierzu entwickelten heterostyle Arten wie *L. perenne* subsp. *perenne* und *L. flavum* Petalen mit einer Länge von 18 bzw. 20 mm. Aber nicht nur bzgl. der Blütengröße ähnelt *L. leonii* der heterostylen *L. perenne*. Interessanterweise bildet *L. leonii* auch

ähnliche Mengen an Pollen wie heterostyle *Linum*-Arten. Mit einem P/O-Wert von etwa 641 liegt *L. leonii* in einem Bereich, der für zahlreiche heterostyle *Linum*-Arten ermittelt wurde (*L. perenne*: 685, *L. narbonense*: 690, *L. flavum*: 729, Tab. 16) und besitzt innerhalb der untersuchten homostylen *Linum*-Arten den höchsten ermittelten P/O-Wert, gefolgt von *L. marginale* mit einem P/O-Wert von 483 (Abb. 41, Tab. 10). Laut CRUDEN (1977) liegt ein P/O-Wert von 641 in dem Bereich, der für xenogame Blüten erwartet werden würde. Eine weitere Auffälligkeit bei *L. leonii* sind die Nektarien, die sich an der Basis des Androeceums befinden (Abb. 50 A, B) und durch zahlreiche Saftspalten charakterisiert sind (Abb. 50 C). Diese erstaunliche Zahl von Merkmalen in *L. leonii*, die für xenogame Arten typisch sind, ist überraschend. Gerade die Bildung von Nektar ist für die Pflanze recht aufwändig und stellt für eine selbstbestäubte/selbstbefruchtende Art eine Ressourcenverschwendung dar, da eine Anlockung von Bestäubern nicht notwendig ist.



**Abb. 50:** REM-Aufnahmen des Androeceums von *Linum leonii*. A: Blick auf den basalen Teil des Androeceums. Die Sepalen und Petalen wurden entfernt (P = Ansatzstelle der Petalen). Die Filamente sind an der Basis miteinander verwachsen. Zwischen zwei Filamenten ist je ein fadenförmiges Staminodium (St) erkennbar. Das dreieckig geformte Nektarium wird an der Basis eines Filaments gebildet (N), B: Vergrößerte Darstellung eines Nektariums, C: Ausschnitt aus einem Teil des Nektariums. Erkennbar sind drei Saftspalten.

Die homostyle ('*approach herkogamy*') *L. lewisii* aus Nordamerika zeigt morphologische Ähnlichkeiten zu *L. leonii*. Auch sie besitzt recht große Blüten mit einer Petalenlänge von etwa 23 mm (eigene Beobachtung) und besitzt Nektarien an der Basis der Filamente (eigene Beobachtungen). Im Gegensatz zu *L. leonii* stehen bei *L. lewisii* jedoch Antheren und Narben nicht auf der gleichen Höhe in der Blüte, sondern die Narben überragen die Antheren deutlich um etwa 3,19 mm (KEARNS & INOUE 1994). Generell gelten homostyle *Linum*-Arten, sowie Arten mit '*approach herkogamy*' als selbstkompatibel. Während BAKER (1961) bestätigte, dass es sich im Falle von *L. lewisii* um eine selbstkompatible Art handelt, zeigten KEARNS und INOUE (1994), dass *L. lewisii* unter Ausschluss von Insekten keine Früchte bildet. Diese Entdeckung führte die Autoren zu dem Schluss, dass es sich bei *L. lewisii* um eine fakultativ autogame Art handelt. Tatsächlich zeigten Freilandexperimente, dass *L. lewisii* von über 45 Insekten-Arten besucht wurde (KEARNS & INOUE 1994). Der größte Teil der Bestäuber waren Dipteren aus den Familien Anthomyiidae (Blumenfliegen), Muscidae (Echte Fliegen), Empididae (Tanzfliegen) und Syrphidae (Schwebfliegen), jedoch auch einige Hymenopteren wie Bienen (Megachilidae, Halictidae, Andrenidae) und selten Hummeln (Apidae, KEARNS & INOUE 1994). Für *L. leonii* bestand im Rahmen dieser Arbeit nicht die Möglichkeit, eine natürliche *L. leonii*-Population kontinuierlich während der Blütezeit zu beobachten. Zwar konnten im Botanischen Garten Mainz regelmäßig Blütenbesucher (u. a. Schwebfliegen und Hummeln) an *L. leonii* beobachtet werden, doch ob Individuen dieser Art auch unter natürlichen Bedingungen von diesen Bestäubern besucht werden, bleibt bislang ungeklärt. Untersuchungen in der homostylen *L. usitatissimum* zeigten, dass es durchaus zu einem gewissen Anteil an Kreuzbestäubung innerhalb von Populationen kommt (bis zu 5 %, GÜRBÜZ 1999). Windbestäubung konnte von GUBIN (1945) u. a. wegen des hohen Gewichts in Experimenten ausgeschlossen werden. Um dennoch Aufschluss darüber zu erhalten, ob es innerhalb von *L. leonii*-Populationen regelmäßig zu Kreuzbestäubung kommt, wurde die genetische Variabilität zweier *L. leonii*-Populationen anhand von AFLPs mit der zweier *L. perenne* subsp. *perenne*-Populationen verglichen. Die beiden *L. leonii*-Populationen zeigten eine äußerst geringe genetische Variation ( $H_j = 0,0166$  bzw.  $H_j = 0,0198$ ). Im Vergleich hierzu war die in *L. perenne* subsp. *perenne* zu beobachtende genetische Diversität etwa elfmal so hoch (Tab. 22). Vergleicht man die Anzahl an polymorphen AFLP-Banden mit Daten aus der Literatur, so entspricht

der für *L. perenne* subsp. *perenne* ermittelte Wert dem anderer xenogamer Arten. So wiesen z. B. 13 *Pedicularis palustris*-Populationen im Schnitt 64 % polymorphe Loci auf (SCHMIDT & JENSEN 2000), was in etwa der Anzahl der in *L. perenne* subsp. *perenne* zu beobachtenden polymorphen Banden entspricht (61 bzw. 80 %). In pseudogamen Apomikten wie *Rubus bifrons* und *R. armeniacus* wurden hingegen lediglich 7,6 bzw. 14,3 % polymorphe Loci beobachtet (KOLLMANN *et al.* 2000). Dieser geringe Prozentsatz an Polymorphismus stimmt in etwa mit den Werten überein, die in *L. leonii* beobachtet wurde (zwischen 6 und 9 %). KOLLMANN *et al.* (2000) schließen für beide *Rubus*-Arten sexuelle Reproduktion nicht aus. SUN & WONG (2001) verglichen drei Orchideen-Arten der Region Hongkong, die sich hinsichtlich ihres Bestäubungssystems unterscheiden, anhand von RAPDs und kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Die genetische Diversität war in den beiden xenogamen Arten *Zeuxine gracile* und *Eulophila sinensis* deutlich höher (bis zu siebenmal) als in der apomiktischen Art *Zeuxine strateumatica*. Die vorliegenden Ergebnisse bekräftigen die Annahme, dass *Linum leonii* eine autogame Art ist, in welcher es nur sehr selten zu Kreuzbestäubung zwischen Individuen einer Population kommt. Dies ist nicht weiter verwunderlich, wenn man bedenkt, dass Stigmata und Antheren in *L. leonii* in enger Nachbarschaft zueinander stehen. Lediglich in den frühen Morgenstunden sind Antheren und Narben von *L. leonii* deutlich räumlich voneinander getrennt (Abb. 51). Im Verlauf des Vormittags führen die Filamente eine Bewegung in Richtung Mitte der Blüte aus, so dass es zu einer Berührung von Staubbeuteln und Narben kommt (Abb. 51). Dadurch wird eine Belegung der Narbe mit eigenem Pollen gewährleistet, der nach Keimung zur Befruchtung der Eizellen führen kann. Diese Bewegung der Filamente wurde bereits von HEGI (1965) für *L. catharticum* beobachtet und stellt für die Pflanze eine Sicherung der Fortpflanzung dar.



**Abb. 51:** Vergleich der Blüten zweier homostyler *Linum*-Arten. A: *Linum leonii*, B: *L. bienne*. Die Blüte von *L. leonii* wurde in den frühen Morgenstunden aufgenommen und zeigt eine räumliche Trennung von Antheren und Narben. Die Blüte von *L. bienne* wurde am späten Vormittag photographiert. Hier erkennt man deutlich, dass sich Antheren und Narben berühren.

Berücksichtigt man die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, wäre es denkbar, dass *L. leonii* aus *L. perenne* bzw. einem unmittelbarem Vorfahren vor relativ kurzer Zeit hervorgegangen ist. Rekombination in der dem Reproduktionssystem zugrunde liegenden Kopplungsgruppe könnte zu einem Zusammenbruch der Heterostylie geführt haben, die zur Entstehung der homostylen *L. leonii* führte. Um die genetische Basis des Fortpflanzungssystem der beiden Arten inklusive der sie begleitenden Polymorphismen (Pollenkornoberfläche, Narbenpapillen, Selbstinkompatibilität) zu ergründen, wurden zahlreiche Kreuzungsexperimente durchgeführt, die im folgenden Abschnitt näher erläutert werden.

#### 4.4.3 Genetische Grundlage der Heterostylie

Im vergangenen Jahrhundert versuchten zahlreiche Wissenschaftler die genetische Grundlage verschiedener heterostyler Arten zu entschlüsseln. Während sich z. B. BAKER (1966) eingehend mit den Plumbaginaceae beschäftigte, widmete sich ERNST (u. a. 1936, 1957) in seinen Studien ausführlich verschiedenen *Primula*-Arten. ERNST richtete sein Augenmerk im Besonderen auf morphologisch abweichende (verschiedenartige homostyle) Individuen und kreuzte sie mit 'normalen' Kurz- und Langgriffeln dieser Arten, um Aufschluss über die Vererbung der Heterostylie und der mit ihr in Verbindung stehenden morphologischen Merkmale zu erlangen. ERNST

(1943) weitete seine Untersuchungen auch auf zwischenartliche Kreuzungen zwischen homostylen und heterostylen *Primula*-Arten aus und kam zu dem Erkenntnis, dass verschiedene Loci, die in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander stehen, für die Vererbung dieser Merkmale verantwortlich sind. Er vermutete für *Primula* drei Loci, die für die Vererbung der Heterostylie-Merkmale verantwortlich sind. Locus G kodiert nach ERNST (1957) für die Griffellänge, Locus A für die Antherenstellung und Locus P für die Pollengröße. Innerhalb der Gattung *Linum* sind selten homostyle Individuen in heterostylen Population zu beobachten. Lediglich LAIBACH (1929) entdeckte während seiner Studien mit *L. austriacum* einen homostylen Langgriffel, welchen er für zahlreiche Kreuzungsexperimente nutzte. Unter anderem führte er mit diesem Individuum 466 Selbstbestäubungen durch, welche zum Teil zur Ausbildung von Früchten und Samen führten. Von den ausgesäten Samen keimten 386 und 139 Individuen gelangten im Laufe ihrer Entwicklung zur Blüte. Interessanterweise handelte es sich bei allen Nachkommen um normale Langgriffel. Der Pollen der vermeintlichen Homostylen besaß nach LAIBACH (1929) die Exinenstruktur von Langgriffeln, woraus er schloss, dass es sich um eine extreme Form eines Langgriffels handelte und nicht um homostyle Individuen, wie sie für *Primula* von ERNST beschrieben wurden. Auch eigene Beobachtungen von einer *Linum perenne* subsp. *perenne*-Population bei Darmstadt konnten keine abweichenden Phänotypen entdecken. Um die genetische Grundlage der Heterostylie in der Sektion *Linum* genauer untersuchen zu können, mussten daher zwischenartliche Kreuzungsexperimente durchgeführt werden. Nachteil dieses Ansatzes ist, dass Hybride häufig durch postzygotische Isolationsmechanismen weniger lebensfähig bzw. steril sein können (ARNOLD 1997). Interspezifische Hybridisierungen wurden bereits von SEETHARAM (1972) zwischen verschiedenen *Linum*-Arten vorgenommen und führten, wenn beide Eltern die gleiche Zahl an Chromosomen besaßen, zu Kapselansatz mit keimfähigen Samen. Auch OCKENDON (1967) führte zahlreiche innerartliche Kreuzungen innerhalb der *Linum perenne* Gruppe durch und zeigte, dass Hybridisierung zwischen *L. perenne* und *L. leonii* zu fertiler Nachkommenschaft führt. Als ein geeignetes Artenpaar für die Untersuchungen erwiesen sich die heterostyle *L. perenne* subsp. *perenne* sowie die nahverwandte homostyle *L. leonii*. Wie bereits in den vorangegangenen Abschnitten dieser Arbeit erwähnt (4.4.1.2-4.4.1.3) ähnelt der Pollen der homostylen *L. leonii* morphologisch dem der kurzgriffeligen Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne*, während die Narbenoberfläche

von *L. leonii* größere Ähnlichkeiten mit denen langgriffeliger Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne* aufweist. Nimmt man an, dass die genetische Grundlage der Heterostylie / Homostylie in *Linum* vergleichbar ist mit der, die man in *Primula* beobachtet hat (ERNST 1936, 1957) würde man für *L. leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* folgende Genotypen annehmen: Kurzgriffel von *Linum perenne* subsp. *perenne* wären heterozygot bzgl. der drei eingangs erwähnten Loci (GPA/gpa), Langgriffel homozygot rezessiv (gpa/gpa), während für *L. leonii* von einer Rekombination in der Kopplungsgruppe ausgegangen wird, die zu einem homozygoten Genotypen mit der Zusammensetzung gPA/gPA führte (Abb. 49). Von einem homozygoten Genotyp für *L. leonii* muss ausgegangen werden, da nur auf diese Weise gewährleistet ist, dass alle Individuen einer Population den selben Phänotypen haben. Um die Richtigkeit der angenommen Genotypen zu zeigen, wurden diese beiden Arten miteinander gekreuzt und die F1-Generation bzgl. der Ausprägung von Homostylie / Heterostylie sowie der morphologischen Eigenschaften von Pollenkörnern und Narbenpapillen untersucht.

### *Generierung der F1-Generation*

Vier verschiedenen Kreuzungsmöglichkeiten wurden zwischen der homostylen *Linum leonii* und der heterostylen *L. perenne* subsp. *perenne* durchgeführt (Tab. 23). Interessanterweise war lediglich in der Bestäubung von Narben kurzgriffeliger Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne* (GPA/gpa) mit Pollen von *L. leonii* (gPA/gPA) kein Kapselansatz zu verzeichnen (Tab. 23). Alle übrigen Kreuzungen zeigten in 30-40 % der Bestäubungen einen Fruchtansatz. Dieses Ergebnis war sehr überraschend, da angenommen wurde, dass der Pollen von langgriffeligen Individuen nicht auf den Narben der homostylen *L. leonii* keimen würde, da das Gynoeceum von *L. leonii* (gPA/gPA) genetisch dem der Langgriffel (gpa/gpa) gleicht. Die Kreuzung *L. leonii* (♀) x *L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel (♂) wäre somit gleichbedeutend mit einer Bestäubung zweier Langgriffel und sollte durch die Selbstinkompatibilitätsreaktion nicht zu einer erfolgreichen Befruchtung führen. Die von BAKER (1975) durchgeführten zwischenartlichen Kreuzungen innerhalb der *Linum perenne* Gruppe resultierten in ähnliche Ergebnisse. Er kreuzte die homostyle ('*approach herkogamy*') *L. lewisii* mit lang- und kurzgriffeligen Individuen von *L. austriacum* und *L. perenne* und beobachtete vor allem das Pollenschlauchwachstum nach erfolgter Bestäubung. Während der Pollen von *L. lewisii* lediglich auf den Narben langgriffeliger Individuen Pollenschläuche ausbildete, führte sowohl die Bestäubung der Narben von *L. lewisii* mit Pollen kurzgriffeliger als auch mit dem langgriffeliger Individuen von *L. austriacum* und *L. perenne* zur Ausbildung von Pollenschläuchen, die Narbe und Griffel durchdrangen. BAKER (1975) erklärte diese Beobachtungen durch eine mögliche Schwächung der Inhibierungsfunktion im Gynoeceum, die nach dem Auftreten einer Rekombination in der Kopplungsgruppe auftritt. Die Ergebnisse BAKERS (1975) und der vorliegenden Arbeit decken sich mit Beobachtungen von LAIBACH (1923, 1930), wonach Bestäubung von Langgriffeln mit Langgriffeln in *L. austriacum* und *L. perenne* durchaus zu Fruchtansatz und der Ausbildung von Samen führte. Die Bestäubung von Kurzgriffeln untereinander führte hingegen nicht zur Bildung von Kapseln. Diese auf den ersten Blick überraschende Beobachtung könnte dadurch erklärt werden, dass die Wahrscheinlichkeit geringer ist, dass die Narben von Langgriffeln mit Pollen langgriffeliger Individuen bestäubt werden, als die, dass Narben von Kurzgriffeln mit Kurzgriffel-Pollen bestäubt werden. In kurzgriffeligen Blüten ist es recht wahrscheinlich, dass Pollen, der aus den Antheren rieselt, auf die Narben der selben Blüte gelangt, während dies bei

langgriffeligen Blüten sehr unwahrscheinlich ist, da die Griffel weit aus der Blüte herausragen. Es wäre daher durchaus möglich, dass sich in kurzgriffeligen Individuen eine stärker wirksame Selbstinkompatibilität (bzw. Intramorph-Inkompatibilität) ausgebildet hat als in Langgriffeln. Auf den ersten Blick widersprüchliche Ergebnisse erzielte LAIBACH (1930) jedoch mit Kreuzungsexperimenten in *L. grandiflorum* (Sektion *Linum*). Ebenso wie zuvor DARWIN (1877) konnte LAIBACH keinen Fruchtansatz nach Bestäubung von Langgriffeln untereinander feststellen, während die Bestäubung von Kurzgriffeln untereinander gelegentlich zur Ausbildung von Kapseln führte. Dies scheint den oben angestellten Vermutungen bzgl. der Pollenpositionierung zu widersprechen. Jedoch unterscheidet sich die Lage von Antheren und Narben in *L. grandiflorum* beträchtlich von der in heterostylen Arten der *L. perenne* Gruppe. In *L. grandiflorum* stehen in langgriffeligen Individuen Staubbeutel und Stigmata auf etwa derselben Höhe, so dass es ohne ein stark ausgeprägtes Selbstinkompatibilitätssystem häufig zur Selbstbefruchtung kommen würde (Abb. 32 D). In kurzgriffeligen Individuen hingegen überragen die Antheren die Narben deutlich und Selbstbestäubung würde in einem geringeren Umfang erwartet werden. Die Beobachtungen bei diesen Lein-Arten deuten darauf hin, dass die Stärke der Ausprägung des Selbstinkompatibilitätssystems mit dem Ausmaß an zu erwartender Selbstbestäubung korreliert ist. Umfangreichere Untersuchungen der Pollenpositionierung auf potentiellen Bestäubern und die Übertragung durch diese, könnten die oben aufgestellten Theorien evtl. bekräftigen. Hinweise auf unterschiedlich stark ausgebildete Selbstinkompatibilitätsreaktionen in Lang- und Kurzgriffeln konnten auch in anderen *Linum*-Arten gefunden werden (*L. c.f. flavum* und *L. maritimum*, siehe 4.3.1.3).

Während sich die vorliegenden Ergebnisse mit denen von DARWIN (1877), BAKER (1975), LAIBACH (1929, 1939) und OCKENDON (1967) decken, stimmen sie nur bedingt mit den Resultaten von GHOSH & SHIVANNA (1984) überein, die drei heterostyle *Linum*-Arten (*L. austriacum*, *L. grandiflorum* und *L. perenne*) mit vier homostylen Arten (*L. africanum*, *L. angustifolium*, *L. gallicum* und *L. usitatissimum*) kreuzten. Der Pollen homostyler *Linum*-Arten keimte nach GHOSH & SHIVANNA (1984) zwar auf den Narben von lang- und kurzgriffeligen Formen der heterostylen Arten, das Pollenschlauchwachstum wurde aber bei allen durchgeführten Bestäubungen im Griffel unterbrochen, so dass es nicht zu einer erfolgreichen Befruchtung kam. Umgekehrt zeigte sowohl Pollen von kurz- als auch von langgriffeligen Individuen auf

homostylen Narben Wachstum von Pollenschläuchen, die bis zu den Ovarien reichten. Allerdings kam es bei GHOSH & SHIVANNA (1984) in keiner der Kreuzungen zur Ausbildung von gut entwickelten Samen, was nicht unbedingt verwunderlich ist, da die verwendeten Arten nicht immer aus der gleichen Sektion stammten. Während die drei heterostylen *Linum*-Arten und *L. angustifolium* und *L. usitatissimum* zu der Sektion *Linum* zählen, handelt es sich bei *L. africanum* und *L. gallicum* um Vertreter der Sektion *Linopsis*. *Linum leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* entsprachen den Ergebnissen in soweit, als dass auch auf den Narben der homostylen *L. leonii* sowohl Pollenkörner von Lang- als auch von Kurzgriffeln von *Linum perenne* subsp. *perenne* keimten und Pollenschläuche entwickelt wurden, die bis zur Samenanlage wuchsen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von GHOSH & SHIVANNA (1984) zeigte aber auch die Bestäubung von langgriffeligen Blüten mit Pollen der homostylen *L. leonii* in etwa 30% der durchgeführten Bestäubungen einen Kapselansatz. Die erfolgreicher innerartlichen Kreuzungen können darauf zurückgeführt werden, dass *L. leonii* und *L. perenne* enger miteinander verwandt sind, als die Arten die von GHOSH & SHIVANNA (1984) verwendet wurden. Alle drei Kreuzungsexperimente der vorliegenden Arbeit die Fruchtansatz zeigten, produzierten auch zu einem gewissen Anteil keimungsfähige Samen. GHOSH & SHIVANNA (1984) erklären die grundsätzliche Keimung von Pollen beider morphologischen Formen heterostyler Arten auf Narben homostyler Arten ähnlich wie BAKER (1975) durch einen Funktionsverlust der S-Allele im Pistill homostyler Arten.

#### *Phänotypen der F1-Generation*

Die durch die Kreuzungen gewonnenen Samen wurden ausgesät und bis zur Blüte kultiviert, um die F1-Generation mit den beiden Elternarten zurückzukreuzen. Sowohl die Samen aus der Hybridisierung *L. leonii* (gPA/gPA, ♀) X *L. perenne* subsp. *perenne*, Kurzgriffel (GPA/gpa, ♂) als die aus der Kreuzung von *L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel (gpa/gpa, ♀) X *L. leonii* (gPA/gPA, ♂) keimten zu einem hohen Prozentsatz und gelangten zahlreich zur Blüte. Die Samen aus der Kreuzung *L. leonii* (gPA/gPA, ♀) X *L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel (gpa/gpa, ♂) wiesen hingegen eine geringere Keimungsrate bzw. eine höhere Keimlingssterblichkeit auf. Die wenigen Individuen, die bis zur Blütezeit überdauerten, bildeten zudem im Vergleich zu den übrigen F1-Individuen aus den beiden anderen Kreuzungen weniger Blüten. Diese Beobachtungen, sowie die geringere Pollenvitalität dieser

Individuen (Tab. 24), können evtl. auf postzygotische Isolationsmechanismen zurückzuführen sein (ARNOLD 1997).

Betrachtet man die Phänotypen, die in der F1-Generation ausgebildet wurden (Abb. 46), so fällt auf, dass neben Kurzgriffeln und homostylen Individuen Pflanzen beobachtet werden, in deren Blüten sich die Narben etwas über den Antheren befinden. Im ersten Moment wäre man versucht, diese Individuen als etwas abweichende Langgriffel zu bezeichnen, da sich neben dieser morphologischen Form sowohl 'normale' Kurzgriffel als auch 'normale' Homostyle in der F1-Generation entwickelten. Untersucht man jedoch die Pollenkornoberfläche, wird deutlich, dass es sich um homostyle Individuen handelt, da die Exine dieser morphologisch abweichenden Individuen eindeutig der von Kurzgriffeln in *Linum perenne* gleicht. Bezüglich der phänotypischen Aufspaltung der F1-Generation entsprechen die Ergebnisse in etwa den Erwartungen. Die Kreuzungen von *L. leonii* (gPA/gPA) und *L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel (gpa/gpa) führten in allen Fällen zur Ausbildung von homostylen Individuen, wobei sowohl 'normale' als auch homostyle Individuen (gPA/gpa), in denen die Narben die Antheren überragen, in größeren Mengen gebildet wurden. Das genaue Verhältnis dieser beiden Formen in der F1-Generation wurde noch nicht bestimmt. Dass sich die F1-Generation dieser Hybridisierung lediglich aus homostylen Individuen zusammensetzt war zu erwarten, da die Kreuzungen der angenommenen Genotypen gpa/gpa (*L. perenne* subsp. *perenne*, Langgriffel) und gPA/gPA (*L. leonii*) lediglich zu Individuen mit dem Genotypen gPA/gpa führen. Diese F1-Hybriden besitzen somit bzgl. des Gynoeceums die Eigenschaften eines Langgriffels und bzgl. des Androeceums die eines Kurzgriffels. Ob auch die Selbstinkompatibilitätsreaktion den Erwartungen entspricht, kann allerdings nur durch Rückkreuzungen mit den Eltern gezeigt werden. Die F1-Generation aus der Kreuzung *L. leonii* (gPA/gPA, ♀) X *L. perenne* subsp. *perenne*, KG (gpa/gpa, ♂) zeigte eine Aufspaltung in verschiedene Phänotypen. Neben kurzgriffeligen Individuen (gPA/GPA) wurden auch homostyle (gpa/gPA) beobachtet, die, wie bereits bei den anderen Kreuzungen, eine gewisse Variation bzgl. des Abstandes zwischen Narben und Antheren zeigten (Abb. 46 G, H, I). Das Verhältnis von homostylen Individuen zu Kurzgriffeln betrug in der F1-Generation etwa 1:2 (34% homostyle, 66% Kurzgriffel) und entsprach somit nicht dem erwarteten Verhältnis von 1:1. Dies ist aber eventuell durch eine unterschiedlich stark ausgeprägte Keimungsfähigkeit bzw. Keimlingssterblichkeit in den beiden morpho-

logischen Typen erklärbar. Die in der F1-Generation generierten Kurzgriffel (gPA/GPA) entsprachen auch bzgl. der Gestaltung der Narbenpapillen und dem Aufbau der Exine kurzgriffeligen Individuen wie sie in *L. perenne* subsp. *perenne* (GPA/gpa) beobachtet werden. Ihr vermuteter Genotyp (gPA/GPA) sollte sich jedoch von dem 'normaler' Kurzgriffel (GPA/gpa) unterscheiden. Um genaueren Aufschluss über den vermeintlichen Genotypen bzw. die Selbstinkompatibilität von Pollenkörnern und Gynoeceum zu erlangen, ist jedoch die Generierung einer F2-Generation und/oder einer Rückkreuzung vonnöten. Die homostylen F1-Individuen (gPA/gpa) glichen denen, die aus den anderen Kreuzungen hervorgegangen waren und besaßen bzgl. der Narbenpapillen den Phänotypen der Langgriffel (gpa/gpa) und bzgl. der Pollenkörner den von Kurzgriffeln von *L. perenne* subsp. *perenne* (GPA/gpa). Der erwartete Genotyp entspricht dem der anderen homostylen Individuen der F1-Generation (gPA/gpa).

#### *Rückkreuzung der F1-Generation mit Linum perenne subsp. perenne*

Wie bereits erwähnt kann die Eigenschaft der F1-Generation bzgl. der Inkompatibilitätsreaktion nur durch Rückkreuzungen mit den Elternarten erfolgreich getestet werden. Hiefür sollten die generierten F1-Hybriden mit *Linum leonii* und *L. perenne* subsp. *perenne* rückgekreuzt werden. Allerdings stellte sich die Kultivierung von *L. leonii* während des Winters im Gewächshaus als sehr schwierig heraus. Nur wenige Individuen keimten und von diesen gelangte nur ein geringer Prozentsatz zur Blüte. Die F1-Generation wurde daher lediglich mit *L. perenne* subsp. *perenne* rückgekreuzt.

Die Bestäubung der homostylen F1-Individuen aus den Kreuzungen *L. leonii* (♀) X *L. perenne* subsp. *perenne*, KG (♂) und *L. perenne* subsp. *perenne*, LG (♀) X *L. leonii* (♂) mit unterschiedlichen Pollen führte zu ähnlichen Ergebnissen. Die homostylen Hybride (gPA/gpa) verhielten sich bzgl. des Gynoeceums wie langgriffelige Individuen (gpa/gpa) und erzielten einen hohen Fruchtansatz, wenn sie mit Pollen von kurzgriffeligen *L. perenne* subsp. *perenne* Individuen (GPA/gpa) bestäubt wurden. Wie zu erwarten war, verhielt sich der Pollen der Hybriden (gPA/gpa) hingegen wie der von Kurzgriffeln (GPA/gpa) und keimte zu einem erheblich höheren Prozentsatz auf Narben von Langgriffeln (Tab. 26 & 28). Bestäubte man die homostylen Individuen mit sich selbst, erhielt man in 55 % bzw. 100 % der Fälle Kapseln.

Die kurzgriffeligen F1-Hybriden (gPA/GPA) verhielten sich ebenfalls wie erwartet und entsprachen in ihrer Reaktion den herkömmlichen Kurzgriffeln von *Linum perenne* subsp. *perenne* (GPA/gpa). Ihr Pollen keimte fast ausschließlich auf den Narben langgriffeliger Individuen von *L. perenne* subsp. *perenne* (gpa/gpa), während auf den Narben der kurzgriffeligen F1-Generation (gPA/GPA) der Pollen von Langgriffeln (gpa/gpa) den höchsten Kapselansatz erzielte (Tab. 27).

Um die hypothetischen Genotypen der Elternarten, aber vor allem auch die der Hybriden, belegen zu können, ist die Auswertung der morphologischen Merkmale der durch die Rückkreuzung der F1-Generation mit *L. perenne* subsp. *perenne* entstandenen Individuen von besonderem Interesse. Leider konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit das vorhandene Material diesbezüglich nicht mehr untersucht werden. Eine zukünftige Bearbeitung des Alkoholmaterials wird jedoch zeigen, ob die Genotypen der heterostylen *L. perenne* subsp. *perenne* und der homostylen *L. leonii* tatsächlich denen von *Primula* gleichen. Vergleicht man die vorläufigen Ergebnisse in *Linum* mit denen von ERNST (1936, 1957) in *Primula*, erlangt man durchaus den Eindruck, dass sich die genetische Grundlage der Heterostylie / Homostylie in *Linum* und in *Primula* auf bemerkenswerte Weise ähneln. Dass sich die Heterostylie der beiden Gattungen auf einen gemeinsamen Ursprung zurückführen lässt, erscheint jedoch als recht unwahrscheinlich, da sie aus sehr unterschiedlichen Verwandtschaftsverhältnissen stammen (Abb. 31). Allerdings scheint nach den momentanen Erkenntnissen der Mechanismus für die Ausbildung von Heterostylie / Homostylie in beiden Gattungen identisch zu sein.

## 5 Literatur

---

- ALLABY, R.G., G.W. PETERSON, D.A. MERRIWETHER & Y.-B. Fu (2005): Evidence of the domestication history of flax (*Linum usitatissimum* L.) from genetic diversity of the sad2 locus. *Theoretical and Applied Genetics*, 112: 58-65.
- APG (1998): An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 85: 531-553.
- APG II (2003): An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141: 399-436.
- ARMBRUSTER, W.S., R. PÉREZ-BARRALES, J. ARROYO, M.E. EDWARDS & P. VARGAS (2006): Three-dimensional reciprocity of floral morphs in wild flax (*Linum suffruticosum*): a new twist on heterostyly. *New Phytologist*, 171: 581-590.
- ARNOLD, M.L. (1997): *Natural Hybridization and Evolution*. Oxford University Press, New York, Oxford.
- ASCHERSON, P. & P. GRAEBNER (1913): Linaceae, pp: 166-225. In: *Synopsis der Mitteleuropäischen Flora*, Bd. 7. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig und Berlin.
- BABINGTON, C.C. (1842): Description of a new genus of Lineae. *The Transactions of the Linnean society of London*, 19: 33-35.
- BADRE, F. (1973). Linaceae. In: AUBREVILLE, A. & J.-F. LEROY [Hrsg.], *Flore du Gabon*. Muséum Nationale d'Histoire Naturelle, Paris.
- BAHADUR, B., N.P. REDDY & N. RAMASWAMY (1996): Heterostyly and pollen dimorphism in *Reinwardtia indica* DUM. (Linaceae). *Journal of Palynology*, 32: 67-77.

- BAKER, H.G. (1961): Pollination mechanisms and inbreeders – Rapid speciation in relation to changes in the breeding systems of plants, pp: 881-885. In: *Recent Advances in Botany*, University of Toronto Press, Toronto.
- BAKER H.G. (1966): The evolution, functioning, and breakdown of heteromorphic incompatibility systems. I. The Plumbaginaceae. *Evolution* 20: 349-368.
- BAKER, H.G. (1975): Sporophyte-gametophyte interaction in *Linum* and other genera with heteromorphic incompatibility, pp: 191-199. In: MULCAHY, D.L. [Hrsg.], *Gamete Competition in Plants and Animals*. North Holland Publishing Co., Amsterdam.
- BALDWIN, B.G., M.J. SANDERSON, J.M. PORTER, M.F. WOJCIECHOWSKI, C.S. CAMPBELL & M.J. DONOGHUE (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.
- BARRETT, S.C.H. (1992): Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. In: BARRETT, S.C.H. [Hrsg.], *Evolution and function of heterostyly*. Springer Verlag, Berlin.
- BARRETT, S.C.H. & L.D. HARDER. 2005. The evolution of polymorphic sexual systems in daffodils (*Narcissus*). *New Phytologist*, 165: 45-53.
- BARRETT, S.C.H., L.K. JESSON & A.M. BAKER (2000): The evolution of stylar polymorphisms in plants. *Annals of Botany*, 85 Suppl. A: 253-265.
- BAUM, B.R. (1992): Combining trees as a way of combining data sets for phylogenetic inference, and the desirability of combining gene trees. *Taxon*, 41: 3-10.
- BLATTNER, F.R. (1999): Direct amplification of the entire ITS region from poorly preserved plant material using recombinant PCR. *Biotechniques*, 27: 1180-1186.
- BRUMMITT, R.K. (2001): World Geographical Scheme for Recording Plant Distributions, Aufl. 2. Hunt Institute for Botanical Documentation, Carnegie-Mellon University, Pittsburgh, Penna. [<http://www.tdwg.org/geo2.htm>]
- CARREIRA, L.M.M., F.C.A. BARATA, R.C.O. RAPOSO & E.S.P. LOBATO (2005): Linaceae pollen morphology in Brazilian Amazon. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Série Ciências Naturais* Vol.1: 49-59.

- CHARLESWORTH, D. & B. CHARLESWORTH (1979): The Evolutionary Genetics of Sexual Systems in Flowering Plants. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 205: 513-530
- CHARLESWORTH, D. & B. CHARLESWORTH (1987): Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 237-268.
- CHASE, M.W., D.E. SOLTIS, R.G. OLMSTEAD, D. MORGAN, D. H. LES, B.D. MISHLER, M.R. DUVALL, R.A. PRICE, H.G. HILLS, Y.-L. QIU, K.A. KRON, J.H. RETTIG, E. CONTI, J.D. PALMER, J.R. MANHART, K.J. SYTSMA, H.J. MICHAELS, W.J. KRESS, K.G. KAROL, W.D. CLARK, M. HEDRÉN, B.S. GAUT, R.K. JANSEN, K.-J. KIM, C.F. WIMPEE, J.F. SMITH, G.R. FURNIER, S.H. STRAUSS, Q.-Y. XIANG, G.M. PLUNKETT, P.S. SOLTIS, S.M. SWENSEN, S.E. WILLIAMS, P.A. GADEK, C.J. QUINN, L.E. EGUIARTE, E. GOLENBERG, G.H. LEARN JR, S.W. GRAHAM, S.C.H. BARRETT, S. DAYANANDAN & V.A. ALBERT (1993): Phylogenetics of seed plants: An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 80: 528-580.
- CHASE, M.W., S. ZMARZTY, M.D. LLEDÓ, K.J. WURDACK, S.M. SWENSEN & M.F. FAY (2002): When in doubt, put in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid *rbcL* DNA sequences. *Kew Bulletin*, 57: 141-181.
- COATES, D. & C.A. CULLIS (1987): Chloroplast DNA Variability among *Linum* species. *American Journal of Botany*, 74: 260-268.
- CONTI, E., E. SURING, D. BOYD, J. JORGENSEN, J. GRANT & S. KELSO (2000): Phylogenetic relationships and character evolution in *Primula* L.: the usefulness of ITS sequence data. *Plant Biosystems*, 134: 385-392.
- CREEVEY, C.J. & J.O. MCINERNEY (2005): Clann: investigating phylogenetic information through supertree Analyses. *Bioinformatics*, 21: 390-392.
- CRUDEN, R.W. (1977): Pollen-Ovule Ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, 31: 32-46.
- DARLINGTON C.D. & A.P. WYLIE (1955): *Chromosome atlas of flowering plants*. George Allen & Unwin, London.

- DARWIN, C. (1864): On the existence of two forms, and on their reciprocal sexual relations, in several species of the genus *Linum*. *Journal of the Linnean Society London, Botany*, 7: 69-83.
- DARWIN, C. (1877): *The different forms of flowers on plants of the same species*. London.
- DAVIS, C.C. & M.W. CHASE (2004): Elatinaceae are sister to Malpighiaceae; Peridiscaceae belong to Saxifragales. *American Journal of Botany*, 91: 262-273.
- DAVIS, C.C., P.W. FRITSCH, J. LI & M.J. DONOGHUE (2001): Phylogeny and biogeography of *Cercis* (Fabaceae): evidence from chloroplast *ndhF* and nuclear ribosomal ITS sequences. *Systematic Botany*, 27: 289-302.
- DAVIS, C.C., C.O. WEBB, K.J. WURDACK, C.A. JARAMILLO & M.J. DONOGHUE (2005): Explosive Radiation of Malpighiales supports a mid-Cretaceous origin of modern tropical rain forests. *The American Naturalist*, 165: E 36-E 65.
- DAVIS, P.H. (1967): Linaceae. In: Davis, P.H. [Hrsg.], *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 2: 425-450. Edinburgh University Press.
- DILLMAN, A.C. (1933): Chromosome numbers in flax (*Linum*). *Science*, 78: 409.
- DONOGHUE, M.J. & S.A. SMITH (2004): Patterns in the assembly of temperate forests around the Northern Hemisphere. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 359: 1633-1644.
- DRESSLER, S., C. BAYER & M. REPPLINGER (in Druck): Linaceae. In: KUBITZKI, K. [Hrsg.], *Families and genera of the vascular plants*. Springer-Verlag GmbH.
- DULBERGER, R (1964): Flower dimorphism and self-incompatibility in *Narcissus terzetta* L. *Evolution*, 18: 361-363.
- DULBERGER, R (1970): Floral dimorphism in *Anchusa hybrida* TEN. *Israel Journal of Botany*, 19: 37-41.
- DULBERGER, R. (1973): Distyly in *Linum pubescens* and *L. mucronatum*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 66: 117-126.
- DULBERGER, R. (1974): Structural dimorphism of stigmatic papillae in distylous *Linum* species. *American Journal of Botany*, 61: 238-243.

- DULBERGER, R. (1981): Dimorphic exine sculpturing in three distylous species of *Linum* (Linaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 139: 113-119.
- DULBERGER, R. (1992): Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome, pp. 41-84. In: BARRETT, S.C.H [Hrsg.], *Evolution and function of heterostyly*. Springer-Verlag, New York.
- DULBERGER, R. & R. ORNDUFF (1980): Floral morphology and reproductive biology of four species of *Cyanella* (Tecophilaeaceae). *New Phytologist*, 86: 45-56.
- DYTHAM, C. (2003): *Choosing and Using Statistics: a Biologist's Guide*. Blackwell Science, Oxford.
- ERBAR, C. (1995): On the floral development of *Sphenoclea zeylanica* (Sphenocleaceae, Campanulales) – SEM-investigations on herbarium material. *Botanische Jahrbücher für Systematik*, 117: 469-483.
- ERNST, A. (1936): Heterostylie-Forschung Versuche zur genetischen Analyse eine. Organisations- und "Anpassungs"merkmals. *Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre*, 46:156-230.
- ERNST, A. (1943): Kreuzungen zwischen dimorphen und monomorphen *Primula*-Arten und ihre Aufschlüsse zum Heterostylieproblem. *Archiv der Julius-Klaus-Stiftung für Vererbungsforschung, Sozialanthropologie und Rassenhygiene*, Bd. 18: 88-233.
- ERNST, A. (1953): Primärer und sekundärer Blütenmonomorphismus bei Primeln. *Osterreichische Botanische Zeitschrift*, 100: 235-255.
- ERNST, A. (1957): Austausch und Mutation im Komplex-gen für Blütenplastik und Inkompatibilität bei *Primula*. *Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre*, 88: 517-599.
- ERBAR, C. (1995): On the floral development of *Sphenoclea zeylanica* (Sphenocleaceae, Campanulales) – SEM-investigations on herbarium material. *Botanische Jahrbücher für Systematik*, 117: 469-483.
- FITCH, W.M. (1971): Toward defining the course of evolution: minimum changes for a specific tree topology. *Systematic Zoology*, 20: 406-416.
- FRYXELL, P.A. (1957): Mode of reproduction of higher plants. *Botanical Review*, 23: 135-233.

- FU, Y.-B., G. PETERSON, A. DIETRICHSEN & K.W. RICHARDS (2002): RAPD analysis of genetic relationships of seven flax species in the genus *Linum* L. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49: 253-259.
- GHOSH, S. & K.R. SHIVANNA (1984): Interspecific incompatibility in *Linum*. *Phytomorphology*, 34: 128-135.
- GRAHAM, S.W. & S.C.H. BARRETT (2004). Phylogenetic reconstruction of the evolution of styler polymorphisms in *Narcissus* (Amaryllidaceae). *American Journal of Botany*, 91: 1007-1021.
- GRAY, A. (1865): Characters of some new plants of Carlifornia and Nevada. *Proceedings of the American Academy*, 6: 519-556.
- GRISEBACH, A. 1843. Lineae, pp: 115-119. In: *Spicilegium florum rumelicae et bithynicae*. Braunschweig, Vieweg.
- GIVNISH, T.J., T.M. EVANS, J.C. PIRES & K.J. SYTSMA (1999): Polyphyly and convergent morphological evolution in Commelinales and Commelinidae: evidence from *rbcL* sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12: 360-385.
- GUBIN, A.F. (1945): Cross pollination of fibre flax. *Bee World*, 26: 30-31.
- GÜRBÜZ, B. (1999): Determination of cross-pollination in flax (*Linum usitatissimum*) using different experimental designs. *Journal of Agricultural Science*, 133: 31-35.
- HAIR, J.B. & E.J. BEUZENBERG (1959): Contributions to a chromosome atlas of the New Zealand flora. *New Zealand Journal of Science*, 2: 148-156.
- HALLIER, H. (1921): Beiträge zur Kenntnis der Linaceae (DC. 1819) DUMORT. *Beihefte zum Botanischen Centralblatt Abt. II*, 39 2: 1-178.
- HARRIS, B.D. (1968): Chromosome numbers and evolution in North American species of *Linum*. *American Journal of Botany*, 55: 1197-1204.
- HEER, O. (1872): Über den Flachs und die Flachskultur im Altertum. *Neujahrsblatt der Naturforschenden Gesellschaft Zürich*, 74: 1-26.
- HEGI, G (1965): Linaceae. In: *Flora von Mitteleuropa*, Bd. V/1, Dicotyledones, 3. Teil, Linaceae - Violaceae. Carl Hanser Verlag, München.

- 
- HEIMISCH, C. & E.E. TSCHABOLD (1972): Xylem studies in the Linaceae. *Botanical Gazette*, 133: 242-253.
- HEITZ, B. (1973): Hétérostylie et spéciation dans le groupe *Linum perenne*. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique*, 12: 385-406.
- HEYWOOD, V. H. (1985). Linaceae, pp: 207-208. In: *Flowering plants of the world*. Equinox, Oxford.
- HILDEBRAND, F. (1864): Experimente über den Dimorphismus von *Linum perenne* und *Primula sinensis*. *Botanische Zeitung*, 1: 1-5.
- HILLMAN, G. (1975): The plant remains from Tell Abu Hureyra: A preliminary report. *Proceedings of the Prehistoric Society*, 41: 70-73.
- HOHMANN, S., J.W. KADEREIT & G. KADEREIT (2006): Understanding Mediterranean-Californian disjunctions: molecular evidence from Chenopodiaceae-Betuloideae. *Taxon*, 55: 67-78.
- HUTCHINSON, J. & J.M. DALZIEL (1958): Linaceae. In: *Flora of West Tropical Africa*. Crown Agents, London.
- JESSON, L.K. & S.C.H. BARRETT (2002): Enantiostyly in *Wachendorfia* (Haemodoraceae): the influence of reproductive systems on the maintenance of the polymorphism. *American Journal of Botany*, 89: 253-262.
- JESSON, L.K. & S.C.H. BARRETT (2003): The comparative biology of mirror-image flowers. *International Journal of Plant Science*, 164 (5 Suppl.): S237-S249.
- KADEREIT, J.W., M. REPLINGER, N. SCHMALZ, C. UHINK & A. WÖRZ (2008): The phylogeny and biogeography of Apiaceae subf. Saniculoideae tribe Saniculeae: from south to north and south again. *Taxon*, 57: 365-382.
- KEARNS, C.A. & D.W. INOUE (1994): Fly pollination of *Linum lewisii* (Linaceae). *American Journal of Botany*, 81: 1091-1095.
- KELCH, D.G. & B.G. BALDWIN (2003): Phylogeny and ecological radiation of new World thistles (*Cirsium*, Cardueae – Compositae) based on ITS and ETS rDNA sequence data. *Molecular Ecology*, 12: 141-151.
- KIKUCHI, M. (1929): Cytological studies of the genus '*Linum* l'. *Japanese Journal of genetics*, 4: 202-212.

- KNOOP, V. & K. MÜLLER (2006): *Gene und Stammbäume. Ein Handbuch zur molekularen Phylogenetik*. Spektrum Akademischer Verlag.
- KOHN, J.R., S.W. GRAHAM, B. MORTON, J.J. DOYLE & S.C.H. BARRETT (1996): Reconstruction of the evolution of reproductive characters in Pontederiaceae using phylogenetic evidence from chloroplast DNA restriction-site variation. *Evolution*, 50: 1454-1469.
- KOLLMANN, J., T. STEINGER & B.A. ROY (2000): Evidence of sexuality in European *Rubus* (Rosaceae) species based on AFLP and allozyme analysis. *American Journal of Botany*, 87: 1592-1598.
- KROPF, M., J.W. KADEREIT, H.P. COMES (2003): Differential cycles of range contraction and expansion in European high mountain plants during the Late Quaternary: insights from *Pritzelago alpina* (L.) O. KUNTZE (Brassicaceae). *Molecular Ecology*, 12: 931-949.
- LAIBACH, F. (1923): Die Abweichungen vom 'mechanischen' Zahlenverhältnis der Lang- und Kurzgriffel bei heterostylen Pflanzen. *Biologisches Zentralblatt*, 43: 148-157.
- LAIBACH, F. (1925): Zum Heterostylieproblem. *Biologisches Zentralblatt*, 45: 170-179.
- LAIBACH, F. (1928): Zur Vererbung der physiologischen Heterostylieunterschiede. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 46: 181-189.
- LAIBACH, F. (1929): Die Bedeutung der homostylen Formen für die Frage nach der Vererbung der Heterostylie. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 47: 584-596.
- LAIBACH, F. (1930a): Die Heterostylie und ihre Bedeutung für die Pflanzenzüchtung. *Der Züchter*, 5: 113-120.
- LAIBACH, F. (1930b): Entwicklungsphysiologische Unterschiede zwischen Lang- und Kurzgriffeln bei einer heterostylen Pflanze (*Linum austriacum* L.). *Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre*, 55: 157-184.
- LEINFELLNER, W. (1955): Beiträge zur Kronblattmorphologie. VII. Die Kronblätter einiger Linaceen. *Österreichische Botanische Zeitschrift*, 102: 322-338.

- 
- LEINS, P. (2000): *Blüte und Frucht. Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Phylogenie, Funktion. Ökologie.* Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- LEWIS, W. (1964): A hexaploid *Linum* (Linaceae) from eastern Ethiopia. *Sida*, 1: 383-384.
- LI J. & M.J. DONOGHUE (1999): More molecular evidence for interspecific relationships in Liquidambar (Hamamelidaceae). *Rhodora*, 101: 87-91.
- LINK, D.A. (1989): *Die Nektarien der Geraniales. Morphologie, Anatomie, Histologie, Blütenökologische Bedeutung und Konsequenzen für die Systematik.* Dissertation Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.
- LLOYD, D.G. & C.J. WEBB (1992): The evolution of heterostyly. In: BARRETT, S.C.H [Hrsg.], *Evolution and function of heterostyly*: 151-178. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- LLOYD, D.G., C.J. WEBB & R. DULBERGER (1990): Heterostyly in species of *Narcissus* (Amaryllidaceae) and *Hugonia* (Linaceae) and other disputed cases. *Plant Systematics and Evolution*, 172: 215-227.
- LOOMIS, W.F. & D.W. SMITH (1990): Molecular phylogeny of *Dictyostelium discoideum* by protein sequence comparison. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87: 9093-9097.
- MADDISON, D.R. & W.P. MADDISON (2005): MacClade: Analysis of phylogeny and character evolution. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland.
- MARINCOVICH, L. JR. & A.Y. GLADENKOV (1999): Evidence for an early opening of the Bering Strait. *Nature*, 397: 149-151.
- MARTZENITZINA, K.K. (1927): The chromosomes of some species of the genus *Linum*. *Bulletin of applied botany, of genetics, and plant-breeding*, 17: 253-262.
- MAST, A.R., D.M.S. FELLER, S. KELSO & E. CONTI (2004): Buzz-pollinated *Dodecatheon* originated from within the heterostylous *Primula* subgenus *Auriculastrum* (Primulaceae): a seven-region cpDNA phylogeny and its implications for floral evolution. *American Journal of Botany*, 91: 926-942.
- MAST, A.R., S. KELSO & E. CONTI (2006): Are any primroses (*Primula*) primitively monomorphic? *New Phytologist*, 171: 605-616.

- MATHER, K. & D. DEWINTON (1941): Adaption and counter-adaption of the breeding system in *Primula*. *Annals of Botany*, 5: 297-311.
- MCDILL, J., M. REPLINGER, B.B. SIMPSON & J.W. KADEREIT (2009): The phylogeny of *Linum* and Linaceae subfamily Linoideae, with Implications for their systematics, biogeography, and evolution of heterostyly. *Systematic Botany*, 34: 386-405.
- MCGUIRE, A.F. & K.A. KRON (2005): Phylogenetic relationships of European and African Ericas. *International Journal of Plant Science*, 166: 311-318.
- METCALFE, C.R. & L. CHALK (1950): *Anatomy of the dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford.
- MILDNER, R.A. & C.M. ROGERS (1978): Revision of the native South American species of *Linum* (Linaceae). *Phytologia* 39: 343-390.
- MOSQUIN, T. (1971): Biosystematic studies in North American species of *Linum*, section *Adenolinum* (Linaceae). *Canadian Journal of Botany*, 49: 1379-1388.
- MUELLER, U.G. & L.L. WOLFENBARGER (1999): AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends in Ecology and Evolution*, 14: 389-394.
- MUGNIER, C. (1981): Linaceae. In: LÖVE, Á. [Hrsg.], IOPB chromosom number reports LXXIII. *Taxon*, 30: 831.
- MUGNIER, C. (1983): Linaceae. In: LÖVE, Á. [Hrsg.], IOPB chromosom number reports LXXIX. *Taxon*, 32: 323.
- MUIR, G. & C. SCHLÖTTERER (1999): Limitations to the phylogenetic use of ITS sequences in closely related species and populations: a case study in *Quercus petraea* (MATT.) LIEBL., Kapitel 11. In: GILLET, E.M. [Hrsg.], *Which DNA marker for which purpose?* Wiedebusch, Hamburg.  
[<http://webdoc.sub.gwdg.de/ebook/y/1999/whichmarker/index.htm>]
- NAIKI, A. & H. NAGAMASU (2003): Distyly and pollen dimorphism in *Damnacanthus* (Rubiaceae). *Journal of Plant Research*, 116: 1005-113.
- NARAYANA, L.L. & D. RAO (1978): Systematic position of Humiriaceae, Linaceae and Erythroxylaceae in the light of their comparative floral morphology and embryology – a discussion. *Journal of the Indian Botanical Society*, 57: 258-266.

- NEI & LI (1979): Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 76: 5269-5273.
- NESTLER, H. (1933): Beiträge zur systematischen Kenntnis der Gattung *Linum*. *Beihefte zum Botanischen Centralblatt Abt. II*, 50: 497-551.
- NICHOLLS, M.S. (1985a): A systematic study of the *Linum tenuifolium* group (Linaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 91: 473-490.
- O'BRIEN, S.P. & D.M. CALDER (1989): The breeding biology of *Epacris impressa*. Is this species heterostylous? *Australian Journal of Botany*, 37: 43-54.
- OCKENDON, D.J. (1967): The experimental taxonomy of the *Linum perenne* group in Europe. PhD thesis, University of Cambridge.
- OCKENDON, D.J. (1968): Biosystematic studies in the *Linum perenne* group. *New Phytologist*, 67: 787-813.
- OCKENDON, D.J. (1971): Taxonomy of the *Linum perenne* group in Europe. *Watsonia*, 8: 205-235.
- OCKENDON, D.J. & S.M. WALTERS (1968): Linaceae, pp: 206-211. In: TUTIN, T.G., V.H. HEYWOOD, N.A. BURGESS, D.M. MOORE, D.H. VALENTINE, S.M. WALTERS & D.A. WEBB [Hrsg.], *Flora Europaea*, Vol. 2. University Press, Cambridge.
- ORNDUFF, R. (1986): Comparative fecundity and population composition of heterostylous and nonheterostylous species of *Villarsia* (Menyanthaceae) in Western Australia. *American Journal of Botany*, 73: 282-286.
- ORNDUFF, R. (1992): Historical perspectives on heterostyly, pp: 31-89. In: BARRETT, S.C.H. [Hrsg.], *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, New York.
- OSBORNE, W.P. & W.H. LEWIS (1962): Chromosome numbers of *Linum* from the southern United States and Mexico. *Sida*, 1: 63-68.
- PALUMBI, S. (1996): Nucleic Acids II: The polymerase chain reaction, pp: 407-514. In: HILLIS, D.M., C. MORITZ & B.K. MABLE [Hrsg.]: *Molecular Systematics*, 2. Auflage, Sinauer Associates, Sunderland, USA.

- PENGILLY, N.L. (2003): Traditional food and medicinal uses of flaxseed, pp: 252-267.  
In: MUIR, A.D. & N.D. WESTCOTT [Hrsg.], *Flax – The genus Linum*. Taylor & Francis, London & New York.
- PÉREZ, R., P. VARGAS & J. ARROYO (2003): Convergent evolution of flower polymorphism in *Narcissus* (Amaryllidaceae). *New Phytologist*, 161: 235-252.
- PERRIER DE LA BATHIE, H. (1952): Linacées. In: HUMBERT, H. [Hrsg], *Flore de Madagascar et des Comores*. Firmin-Didot, Paris.
- PETROVA, A.V. (1972): In: LÖVE A. [Hrsg.], IOPB Chromosom number reports XXXV. *Taxon*, 21: 161-166.
- PHILIPP, M. & O. SCHOU (1981): An unusual heteromorphic incompatibility system III. On the genetic control of distyly and self-incompatibility in *Anchusa officinalis* L. (Boraginaceae). *Theoretical and Applied Genetics*, 68: 139-144.
- PLANCHON, J.E. (1847): Sur la famille des Linées. *The London Journal of Botany*, 6: 589-603.
- PLANCHON, J.E. (1848): Sur la famille des Linées. *The London Journal of Botany*, 7: 165-186, 473-501, 507-528.
- POSADA, D. & K.A. CRANDALL (1998): Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14: 817-818.
- POSADA, D & K.A. CRANDALL (2001): Selecting models of nucleotide substitution: An application to the human immunodeficiency virus 1 (HIV-1). *Molecular Biology and Evolution*, 18: 897-906.
- POSADA, D. & T.R. BUCKLEY (2004): Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of akaike information criterion and bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*, 53: 793-808.
- PUNT, W. & D. BREEJEN (1981): The Northwest European Pollen Flora, Linaceae. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 33: 75-115.
- QUANRU, L. & L. ZHOU (2008): Linaceae. In: WU, Z. Y., P. H. RAVEN & D. Y. HONG [Hrsg.], *Flora of China. Bd. 11 (Oxalidaceae through Aceraceae)*. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- RAGAN, M.A. (1992): Matrix representation in reconstructing phylogenetic relationships among the eukaryotes. *Biosystems*, 28: 47-55.

- RAVEN, P.H. (1959): Documented chromosome numbers in plants. *Madrono*, 15: 49.
- RAVEN, P.H. (1979): A survey of reproductive biology in Onagraceae. *New Zealand Journal of Botany*, 17: 575-593.
- RAY, C. (1944): Cytological studies in the flax genus, *Linum*. *American Journal of Botany*, 31: 241-248.
- RECHNINGER, K.H. (1974): LINACEAE. In: *Flora Iranica*, 106. Akademische Druck- und Verlagsanstalt, Graz.
- REICHE, K. (1897): Linaceae. In: ENGLER, A. & K. PRANTL [Hrsg.], *Die natürlichen Pflanzenfamilien 3. Teil, Abt. 4 & 5*, 27-35. Engelmann, Leipzig.
- RICHARDS, A.J. (1997): *Plant Breeding Systems*, 2.Ed. Chapman & Hall, London.
- RICHARDSON, J.E., L.W. CHATROU, J.B. MOLS, R.H.J. ERKENS & M.D. PIRIE (2004): Historical biogeography of two cosmopolitan families of flowering plants: Annonaceae and Rhamnaceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 359: 1495-1508.
- RICKARD-BON, S.E. & L.U. THOMPSON, (2003): The role of flaxseed lignans in hormone-dependent and independent cancer. In: MUIR, A.D. & N.D. WESTCOTT [Hrsg.], *Flax: The genus Linum*. Taylor and Francis. London.
- RODRIGUEZ-RIANO, T. & A. DAFNI (2000): A new procedure to assess pollen viability. *Sexual Plant Reproduction*, 12: 241-244.
- RODRIGUEZ, R., J.L. OLIVER, A. MARINA & J.R. MEDINA. (1990): The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology*, 142: 485-501.
- ROGERS, C.M. (1963): Yellow-flowered species of *Linum* in Eastern North America. *Brittonia*, 15: 97-122.
- ROGERS, C.M. (1966): *Sclerolinon*, a new genus in the Linaceae. *Madroño*, 18: 181-184.
- ROGERS, C.M. (1968): Yellow-flowered species of *Linum* in Central America and Western North America. *Brittonia*, 20: 107-135.
- ROGERS, C.M. (1972): The taxonomic significance of the fatty acid content of seeds of *Linum*. *Brittonia*, 24: 415-419.
- ROGERS, C.M. (1979): Distyly and pollen dimorphism in *Linum suffruticosum* (Linaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 131:127-132.

- ROGERS, C.M. (1980a): Linaceae. In: LÖVE, Á. [Hrsg.], IOPB chromosome number reports LXVII. *Taxon*, 29: 347.
- ROGERS, C.M. (1980b): Pollen dimorphism in distylous species of *Linum* sect. *Linastrum* (Linaceae). *Grana*, 19: 19-20.
- ROGERS, C.M. (1981a): Notes on the genus *Linum* in Madagascar. *Plant Systematics and Evolution*, 139: 155-157.
- ROGERS, C.M. (1981b): A revision of the genus *Linum* in southern Africa. *Nordic Journal of Botany*, 1: 711-722.
- ROGERS, C.M. (1982): The systematics of *Linum* sect. *Linopsis* (Linaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 140: 225-234.
- ROGERS, C.M. (1984a): A further note on the relationships of the European *Linum hologynum* and the Australian species of *Linum* (Linaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 147: 327-328.
- ROGERS, C.M. (1984b): Linaceae. In: ROGERSON, C.T. & W.R. BUCK [Hrsg.] *North American Flora*. Series II, Teil 12. The New York Botanical Garden, Bronx, New York.
- ROGERS, C.M. (1985): Pollen morphology in *Linum* sect. *Macrantholinum*. *Plant Systematics and Evolution*, 149: 65-69.
- ROGERS, C.M. & B.D. HARRIS (1966): Some chromosome numbers in *Linum*. *Madroño*, 18:179-180.
- ROGERS, C.M. & R. MILDNER (1971): The reevaluation of the genus *Cliococca* (Linaceae) of South America. *Rhodora*, 73: 561-565.
- ROGERS, C.M. & K.S. XAVIER (1971): Pollen morphology as an aid in determining relationships among some widely separated old world species of *Linum*. *Grana*, 11: 55-57.
- ROGERS, C.M., R. MILDNER & B.D. HARRIS (1972): Some additional chromosome numbers in the Linaceae. *Brittonia* 24: 313-316.
- RONQUIST, F. (1997): Dispersal-vicariance analysis: A new approach to the quantification of historical biogeography. *Systematic Biology*, 46: 193-201.
- SAAD, S. (1961): Phylogenetic development in the apertural mechanism of *Linum* pollen grains. *Pollen et Spores*, 3: 33-43.

- 
- SAMBROOK, J. FRITSCH, E.F. FRITSCH & T. MANIATIS (1989): *Molecular Cloning, a laboratory manual* (Buch 1), 2. Auflage. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, USA.
- SANDERSON, M.J. (1997): A nonparametric approach to estimating divergence times in the absence of rate constancy. *Molecular Biology and Evolution*, 14: 1218-1231.
- SANDERSON, M.J. (2002): Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: a penalized likelihood approach. *Molecular Biology and Evolution*, 19: 101-109.
- SAVOLAINEN, V., M.W. CHASE, S.B. HOOT, C.M. MORTON, D.E. SOLTIS, C. BAYER, M.F. FAY, A.Y. DE BRUIJN, S. SULLIVAN & Y. QIU. 2000. Phylogenetics of flowering plants based on a combined analysis of plastid *atp $\beta$*  and *rbcL* gene sequences. *Systematic Botany*, 49: 306-362.
- SCHEEN, A.C., C. BROCHMANN, A.K. BRYSTING, R. ELVEN, A. MORRIS, D.E. SOLTIS, P.S. SOLTIS & V.A. ALBERT (2004): Northern hemisphere biogeography of *Cerastium* (Caryophyllaceae): Insights from phylogenetic analysis of noncoding plastid nucleotide sequences. *American Journal of Botany*, 91: 943-952.
- SCHILL, R., A. BAUMANN, M. WOLTER (1985): Vergleichende Mikromorphologie der Narbenoberflächen bei den Angiospermen; Zusammenhänge mit Pollenoberflächen bei heterostylen Sippen. *Plant Systematics and Evolution*, 148: 185-214.
- SCHMIDT, K. & K. JENSEN (2000): Genetic structure and AFLP variation of remnant populations in the rare plant *Pedicularis palustris* (Scrophulariaceae) and its relation to population size and reproductive components. *American Journal of Botany*, 87: 678-689.
- SCHOLZ, H. (1964): Linaceae, pp: 246-261. In: MELCHIOR, H. [Hrsg.], *Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien*, Bd. 2, 12. Auflage. Gebrüder Borntraeger, Berlin-Nikolassee:
- SCHOU, O. (1983): The distyly in *Primula elatior* (L.) HILL (Primulaceae), with a study of flowering phenology and pollen flow. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 86: 261-274.
- SEETHARAM, A. (1972): Interspecific hybridization in *Linum*. *Euphytica*, 21: 489-195.

- SHANNON, C.E. & W. WEAVER (1949): *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana.
- SHARSMITH, H.K. (1961): The genus *Hesperolinon* (Linaceae), pp: 235-314. In: PAPPENFUSS, G.F., A.S. FOSTER & J. PROSKAUER [Hrsg.], *University of California Publications in Botany*, Bd. 32. California, Berkeley & Los Angeles.
- SMALL, J. K. (1907): Linaceae. In: *North American Flora*, 25: 67-87.
- SOLTIS, D.E., P.S. SOLTIS, M.W. CHASE, M.E. MORT, D.C. ALBACH, M. ZANIS, V. SAVOLAINEN, W.H. HAHN, S.B. HOOP, M.F. FAY, M. AXTELL, S.M. SWENSEN, L.M. PRINCE, W.J. KRESS, K.C. NISON & J.S. FARRIS (2000): Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *vbcl*, and *atpB* sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 133: 381-461.
- STEVENS, P.F. (2006): *Angiosperm Phylogeny Website*. Version 7, Mai 2006. [<http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/welcome.html>]
- SUGAWARA, T., T. NOBUYUKI, J. MURATA & K.M. ZAW (2002): Dimorphism of pollen grains and stigmas in the heterostylous subshrub, *Reinwardtia indica* (Linaceae) in Myanmar. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, 53: 173-180.
- SUKSATHAN, P. & K. LARSEN (2006): A new species of *Tirpitzia* (Linaceae) from Thailand. *Thai Forest Bulletin*, 34: 201-205.
- SUN, M. & K.C. WONG (2001): Genetic structure of three orchid species with contrasting breeding systems using RAPD and allozyme markers. *American Journal of Botany*, 88: 2180-2188.
- SUTTER, M.D., P.I. FORSTER & P.K. ENDRESS (2006): Female flowers and systematic position of Picrodendraceae (Euphorbiaceae s.l., Malpighiales). *Plant Systematics and Evolution*, 261: 187-215.
- SWOFFORD, D.L. 2002. PAUP\*, Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). Version 4.0. Sinauer Associates Sunderland.
- TAKHTAJAN, A. (1959): Geraniales. In: *Die Evolution der Angiospermen*, Gustav Fischer Verlag, Jena.
- TAKHTAJAN, A. (1997): *Diversity and classification of flowering plants*. Columbia University Press, New York, Chichester, West Sussex.

- 
- TAMMES, T. (1918): Die Flachsblüte. *Recueil travaux Botaniques Néerlandais*, Bd. 15, Groningen.
- THOMPSON & DOMMÉE (2000): Morph-specific patterns of variation in stigma height in natural populations of distylous *Jasminum fruticans*. *New Phytologist*, 148: 303-314.
- THOMPSON, J.D., T. PAILLER, D. STRASBERG & D. MANICACCI (1996). Tristyly in the endangered Mascarene Island endemic *Hugonia serrata* (Linaceae). *American Journal of Botany*, 83: 1160-1667.
- TIFFNEY, B.H. (1985): The Eocene North Atlantic land bridge: its importance in Tertiary and modern phytogeography of the northern hemisphere. *Journal of the Arnold Arboretum*, 66: 243-273.
- TIFFNEY, B.H. & S.R. MANCHESTER (2001): The use of geological and paleontological evidence in evaluating plant phytogeographic hypotheses in the Northern Hemisphere Tertiary. *International Journal of Plant Science*, 162 (supplement): S3-S17.
- TOKUOKA, T. & H. TOBE (2006): Phylogenetic Analyses of Malpighiales using plastid and nuclear DNA sequences, with particular reference to the embryology of Euphorbiaceae sens. str. *Journal of Plant Research*, 119: 599-616.
- TRELEASE, W. (1887): A revision of North american Linaceae. The transactions of the Academy of Science of Saint Louis, 5: 7-20.
- TRELEASE, W. (1897): Linaceae. In: Gray, A. [Hrsg.], Synoptical Flora of North America, 1: 344-349.
- URBAN, G. (1877): Die *Linum*-Arten des westlichen Südamerika. *Linnaea*, 41: 609-646.
- VAN HOOREN, A.M.N. & H.P. NOOTEBOOM (1984): Linaceae and Ctenolophonaceae especially of Malesia, with notes on their demarcation and the relationships with Ixonanthaceae. *Blumea*, 29: 547-563.
- VAN HOOREN, A.M.N. & H.P. NOOTEBOOM (1988): Linaceae, pp: 608-619. In: VAN STEENIS, C.G.G.J. & W.J.J.O. DE WILDE [Hrsg.], *Flora Malesiana*, 10. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.

- VAN LOON, C. & C.M. SNELDERS (1979): **In:** LÖVE, Á., [Hrsg.], IOPB chromosom number reports LXV. *Taxon* 28: 633.
- VAN WELZEN, P.C. & P. BAAS (1984): A leaf anatomical contribution to the classification of the Linaceae complex. *Blumea*, 29: 453-479.
- VOS, P., R. HOGERS, M. BLEEKER, M. REIJANS, T. VAN DE LEE, M. HORNES, A. FRIJTERS, J. POT, J. PELEMAN, M. KUIPER & M. ZABEAU (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Research*, 23: 4407-4414.
- WEBB, C.J. & D.G. LLOYD (1986): The avoidance of interferences between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany*, 24: 163-178.
- WEDDERBURN, F.M. & A.J. RICHARDS (1992): Secondary homostyly in *Primula* L.; evidence for the model of the 'S' supergene. *New Phytologist*, 121: 649-655.
- WELCH J.J. & L. BROMHAM (2005): Molecular dating when rates vary. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 320-327.
- WEN, J. (2001): Evolution of Eastern Asian – Eastern North American Biogeographic disjunctions: a few additional issues. *International Journal of Plant Science*, 62: S 117-S 122.
- WHITE, T.J., T. BURNS, S. LEE & J. TAYLOR (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, pp: 315-322. **In:** INNIS, M., D. GELFAND, J. SNINSKY & T. WHITE [Hrsg.], *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, CA.
- WINKLER, H. (1931): Linaceae, pp: 82-130. **In:** ENGLER and PRANTL [Hrsg.], *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, Bd. 19a. Leipzig. Engelmann.
- WOLFE, A.D. & A. LISTON (1998): Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology. **In:** SOLTIS, D.E., P.S. SOLTIS & J.J. DOYLE [Hrsg.], *Molecular systematics of plants II*. Kluwer Academic Publishers: 43-86.
- WURDACK K. J., DAVIS C. C. (2005): Progress in Malpighiales phylogeny: new insights from eight genes. *XVII International Botanical Congress, Abstracts*: 219.
- XAVIER, K.S., R.A. MILDNER & C.M. ROGERS (1980): Pollen morphology of *Linum*, sect. *Linastrum* (Linaceae). *Grana*, 19: 183-188.

- YUNUS, D. (1986): A study of the pollen morphology of Indian Linaceae. *Journal of Palynology*, 22: 137-146.
- YUZEPCHUK, S.V. (1974): Linaceae, pp: 67-112. **In:** SHISHKIN, B.K & E.G. BOBROV [Hrsg.], Flora of the U.S.S.R., Vol. 14. Leningrad.
- ZOHARY, D. (1999): Monophyletic vs. polyphyletic origin of the crops on which agriculture was founded in the Near East. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46: 133-142.
- ZOHARY, D. & HOPF, M. (2000): *Domestication of plants in the Old World*. 125-132. Oxford University Press.
- ZUCKERKANDL, E. & L. PAULING (1962): Molecular disease, evolution, and genetic heterogeneity, pp: 189-225. **In:** KASHA, M. & B. PULLMAN [Hrsg.], Horizons in Biochemistry, Academic Press, New York.
- ZUCKERKANDL, E. & L. PAULING (1965): Evolutionary divergence and convergence in proteins, pp: 97-166. **In:** BRYSON, V. & H.J. VOGEL [Hrsg.], Evolving Genes and Proteins, Academic Press, New York.



# Anhang

**Anhang-Tab. 1:** Liste der Arten, die in der *rbcL*-Analyse der Malpighiales integriert wurden. Neben der Familienzugehörigkeit wurde die Akzessionsnummer angegeben unter der die verwendete Sequenz in der Gendatenbank gespeichert ist.

Art	Familie	Akzessionsnummer
<i>Acalypha californica</i>	Euphorbiaceae	AY794943
<i>Acharia tragodes</i>	Achariaceae	AF530819
<i>Acioa guianensis</i>	Chrysobalanaceae	AF089759
<i>Adenia digitata</i>	Passifloraceae	Z75687
<i>Adriana tomentosa</i>	Euphorbiaceae	AY794917
<i>Austrobuxus megacarpus</i>	Picrodendraceae	AY380343
<i>Balanops vieillardii</i>	Balanopaceae	AF089760
<i>Bergia texana</i>	Elatinaceae	AY380344
<i>Bhesa robusta</i>	<i>incertae sedis</i>	AY935723
<i>Bhesa paniculata</i>	<i>incertae sedis</i>	AY935722
<i>Blumeodendron tokbrai</i>	Euphorbiaceae	AJ418805
<i>Bonnetia roraimae</i>	Bonnetiaceae	AJ402930
<i>Carallia brachiata</i>	Rhizophoraceae	AF530898
<i>Carycar glabrum</i>	Carycaraceae	AF206745
<i>Centropacus glaucinus</i>	Centropacaceae	AY663646
<i>Cespedesia bonplandii</i>	Ochnaceae	AJ420168
<i>Clusia leprantha</i>	Clusiaceae	AF518397
<i>Clutia angustifolia</i>	Euphorbiaceae	AB233861
<i>Couepia robusta</i>	Chrysobalanaceae	AF089757
<i>Ctenolophon englerianus</i>	Ctenolophonaceae	AJ402940
<i>Desbordesia glaucescens</i>	Achariaceae	AY663631
<i>Dichapetalum macrocarpum</i>	Dichapetalaceae	AF089764
<i>Elatine triandra</i>	Elatinaceae	AY380349
<i>Erythroxyllum confusum</i>	Erythroxyllaceae	L13183
<i>Euonymus alatus</i>	Celastraceae	L13184
<i>Euphorbia polychroma</i>	Euphorbiaceae	L13185
<i>Euphronia guianensis</i>	Chrysobalanaceae	AF089762
<i>Flabellaria paniculata</i>	Malpighiaceae	AF344472
<i>Galearia filiformis</i>	Pandaceae	AJ418818

Art	Familie	Akzessionsnummer
<i>Goupia glabra</i>	Goupiaceae	AJ235780
<i>Guthriea capensis</i>	Achariaceae	AJ402956
<i>Heywoodia lucens</i>	Phyllanthaceae	AJ418814
<i>Hirtella bicornis</i>	Chrysobalanaceae	AF089756
<i>Humiria balsamifera</i>	Humiriaceae	L01926
<i>Hybanthus enneaspermus</i>	Violaceae	AF530902
<i>Hydnocarpus heterophylla</i>	Achariaceae	AF206778
<i>Hypericum perforatum</i>	Hypericaceae	AF206779
<i>Irvingia malayana</i>	Irvingiaceae	AF206782
<i>Ixonanthes icosandra</i>	Ixonanthaceae	AF206783
<i>Kandelia candel</i>	Rhizophoraceae	AF006755
<i>Kayea stylosa</i>	Clusiaceae	AY625025
<i>Kiggelaria africana</i>	Achariaceae	AF206786
<i>Lacistema aggregatum</i>	Lacistemataceae	AF206787
<i>Leonia glycyarpa</i>	Violaceae	Z75693
<i>Lindackeria spec.</i>	Achariaceae	AJ418800
<i>Lophopyxis maingayi</i>	Lophopyxidaceae	AY663643
<i>Lozania pittieri</i>	Lacistemataceae	AJ418804
<i>Luxemburgia ciliosa</i>	Ochnaceae	Z75685
<i>Mahurea exstipulata</i>	Clusiaceae	AF518389
<i>Malesherbia linearifolia</i>	Malesherbiaceae	Z75683
<i>Malpighia emarginata</i>	Malpighiaceae	AF344493
<i>Marathrum rubrum</i>	Podostemaceae	U68085
<i>Margaritaria tetracocca</i>	Phyllanthaceae	Z75675
<i>Medusagyne oppositifolia</i>	Medusagynaceae	Z75670
<i>Micrantheum hexandrum</i>	Picrodendraceae	AJ418816
<i>Microdesmis puberula</i>	Pandaceae	AJ403029
<i>Nectaropetalum zuluense</i>	Erythroxylaceae	AJ402976
<i>Ochna serrulata</i>	Ochnaceae	Z75273
<i>Ochthocosmus spec.</i>	Ixonanthaceae	Z75680
<i>Ouratea duparquetiana</i>	Ochnaceae	Z75684
<i>Oxalis dillenii</i>	Oxalidaceae	L01938
<i>Panda oleosa</i>	Pandaceae	AY663644
<i>Paropsia madagascariensis</i>	Passifloraceae	AF206802
<i>Passiflora quadrangularis</i>	Passifloraceae	L01940
<i>Peridiscus lucidus</i>	Peridiscaceae	AY380356
<i>Phyllanthus liebmannii</i>	Phyllanthaceae	Z75676
<i>Podostemon ceratophyllum</i>	Podostemaceae	U68088
<i>Poliothyrsis sinensis</i>	Salicaceae	AJ402991
<i>Putranjiva formosana</i>	Phyllanthaceae	AY663640
<i>Quiina pteridophylla</i>	Quiinaceae	AF206815
<i>Rhizophora mucronata</i>	Rhizophoraceae	AF006753
<i>Rinorea crenata</i>	Violaceae	AJ237591
<i>Salix przewalski</i>	Salicaceae	AJ418838
<i>Scyphostegia borneensis</i>	Salicaceae	AJ403000
<i>Tapura amazonica</i>	Dichapetalaceae	AF089763

Art	Familie	Akzessionsnummer
<i>Tetracoccus dioicus</i>	Picrodendraceae	AY788190
<i>Touroulia guianensis</i>	Quiinaceae	Z75690
<i>Trigonia nivea</i>	Trigoniaceae	AF089761
<i>Tristicha trifaria</i>	Podostemaceae	AB113754
<i>Turnera ulmifolia</i>	Turneraceae	Z75691
<i>Vantanea guianensis</i>	Humiriaceae	Z75679
<i>Xylothea kraussiana</i>	Achariaceae	AJ418803

**Anhang-Tab. 2:** Liste der Arten, die in der *rbcL*-Analyse der Linaceae integriert wurden. Neben Sammler und der entsprechenden Sammelnummer wurde die Akzessionsnummer angegeben unter der die verwendete Sequenz in der Gendatenbank gespeichert ist.

Art	Sammler, Sammelnummer (Herbarium)	Akzessionsnummer
<i>Anisadenia pubescens</i> Griff.	1984 Sino-Amer. Bot. Exp., 1011 (US)	FJ169557
<i>Cliococca selaginoides</i> (LAM.) C.M.ROGERS & MILDNER	Krapovickas & Cristóbal, 34169 (MO)	FJ169558
<i>Durandea pentagyna</i> K.SCHUM.	Takeuchi, 7103 (MO)	AY788173
<i>Durandea pentagyna</i> K.SCHUM.	Takeuchi, 4523 (MO)	FJ169559
<i>Hesperolinon drymarioides</i> SMALL	Dibble & Griggs, 14 (MO)	FJ169560
<i>Hesperolinon micranthum</i> SMALL	Chambers, 5177 (SRP)	FJ169561
<i>Hugonia castaneifolia</i> Engl.	Gereau <i>et al.</i> , 6206 (MO)	FJ169562
<i>Hugonia gabunensis</i> ENGL.	White, 0908 (MO)	FJ169563
<i>Linum africanum</i> L.	Quint, 29 (MJG)	FJ169564
<i>Linum arboreum</i> L.	Hecker, TR0191 (MJG)	FJ169565
<i>Linum austriacum</i> L.	Repplinger, MR14 (MJG)	FJ169566
<i>Linum berlandieri</i> HOOK.	Turner, 21-427 (TEX)	FJ169567
<i>Linum bienne</i> MILL.	Repplinger, MR17 (MJG)	FJ169568
<i>Linum campanulatum</i> L.	Kropf, s.n. (MJG)	FJ169570
<i>Linum catharticum</i> L.	Repplinger, MR21 (MJG)	FJ169571
<i>Linum comptonii</i> C.M.ROGERS	Esterhuysen, 35882 (MO)	FJ169572
<i>Linum decumbens</i> DESF.	Repplinger, MR08 (MJG)	FJ169573
<i>Linum flavum</i> L.	Weber, R00024 (MJG)	FJ169574
<i>Linum gracile</i> PLANCH.	Quint, 31 (MJG)	FJ169587
<i>Linum grandiflorum</i> DESF.	Repplinger, MR13 (MJG)	FJ169575
<i>Linum hirsutum</i> L.	Repplinger, MR10 (MJG)	FJ169583
<i>Linum kingii</i> S.WATSON	Davis & Long, 502 (SRP)	FJ169576
<i>Linum lewisii</i> PURSH	McDill, 312 (TEX)	FJ169577
<i>Linum macraei</i> subsp. <i>macraei</i> BENTH.	Aravena, 33388 (MO)	FJ169578
<i>Linum maritimum</i> L.	Repplinger, MR18 (MJG)	FJ169579
<i>Linum narbonense</i> L.	Repplinger, MR03 (MJG)	FJ169580
<i>Linum nodiflorum</i> L.	Repplinger, MR22 (MJG)	FJ169581
<i>Linum perenne</i> L.	McDill, 313 (TEX)	FJ169582
<i>Linum c.f. prostratum</i> DOMB. EX LAM.	Weigend, 7324	FJ169569

Art	Sammler, Sammelnummer (Herbarium)	Akzessionsnummer
<i>Linum pubescens</i> BANKS & SOL.	Licht, SYR351 (MJG)	FJ169585
<i>Linum rupestre</i> (A.GRAY) ENGELM. ex A.GRAY	Turner, 21-589 (TEX)	FJ169586
<i>Linum stelleroides</i> PLANCH.	Guan et al., 5 (PE)	FJ169588
<i>Linum striatum</i> WALTER	McNeilus, 98-404 (TEX)	FJ169589
<i>Linum strictum</i> L.	Licht, s.n. (MJG)	FJ169590
<i>Linum suffruticosum</i> L.	Navarro et al., CN 2339 (TEX)	FJ169591
<i>Linum sulcatum</i> RIDDELL	Saunders, 1343 (TEX)	FJ169592
<i>Linum tenue</i> Desf.	Schmalz, s.n. (MJG)	FJ169593
<i>Linum tenuifolium</i> L.	Kropf, s.n. (MJG)	FJ169594
<i>Linum trigynum</i> L.	Repplinger, MR15 (MJG)	FJ169595
<i>Linum usitatissimum</i> L.	Repplinger, MR12 (MJG)	FJ169596
<i>Linum viscosum</i> L.	Repplinger, MR19 (MJG)	FJ169584
<i>Linum volkensii</i> ENGL.	Gereau & Kayombo, 4662 (MO)	FJ169597
<i>Radiola linooides</i> ROTH.	Egeröd, 6935 (MO)	FJ169598
<i>Reinwardtia indica</i> DUM.	McDill, s.n. (TEX)	FJ169599
<i>Roucheria calophylla</i> PLANCH.	Alencar, 593 (NY)	FJ169600
<i>Roucheria schomburgkii</i> PLANCH.	Rimachi, 8416 (MO)	FJ169603
<i>Sclerolinon digynum</i> (A.GRAY) C.M.ROGERS	Taylor, 3935 (MO)	FJ169601
<i>Tirpitzia sinensis</i> HALLIER F.	Link, XIII/112 (MJG)	FJ169602
<i>Austrobuxus megacarpus</i> P.I.FORST. (Picrodendraceae)	---	AY380343
<i>Bhesa paniculata</i> Arn.	---	AY935722
<i>Carycar glabrum</i> PERS. (Carycaraceae)	---	AF206745
<i>Clusia rosea</i> JACQ. (Clusiaceae)	---	AB233849
<i>Clutia angustifolia</i> KNAUF (Euphorbiaceae)	---	AB233861
<i>Erythroxylum confusum</i> BRITTON (Erythroxylaceae)	---	L13183
<i>Euonymus alatus</i> (Celastraceae)	---	L13184
<i>Humiria balsamifera</i> AUBL. (Humiriaceae)	---	L01926
<i>Irvingia malayana</i> OLIVER (Irvingiaceae)	---	AF206782
<i>Medusagyn oppositifolia</i> BAKER (Medusagynaceae)	---	Z75670
<i>Nectaropetalum zuluense</i> (SCHÖNLAND) CORBISHLEY (Erythroxylaceae)	---	AJ402976
<i>Ochna serrulata</i> (HOCHST.) WALP. (Ochnaceae)	---	Z75273
<i>Oxalis dillenii</i> JACQ. (Oxalidaceae)	---	L01938
<i>Phyllanthus liebmannianus</i> MÜLL.ARG. (Phyllanthaceae)	---	Z75676

**Anhang-Tab. 3:** Liste der Arten, die in der ITS-Analyse der 'Blauen Gruppe' integriert wurden. Angegeben sind der Sammler und der entsprechenden Sammelnummer, sowie das Herbarium, in welchem der Beleg zurzeit aufbewahrt wird.

Art	Sammler, Sammelnummer (Herbarium)
<i>Linum aroanium</i> Boiss. & Orph.	Albach & Özgökce, s.n.
<i>Linum austriacum</i> L.	Repplinger MR14 (MJG)
<i>Linum bienne</i> MILL.	Repplinger, MR17 (MJG)
<i>Linum bungei</i> BOISS.	Repplinger, MR20 (MJG)
<i>Linum decumbens</i> DESF.	Repplinger, MR08 (MJG)
<i>Linum grandiflorum</i> DESF.	Repplinger, MR13 (MJG)
<i>Linum hirsutum</i> L.	Repplinger, MR10 (MJG)
<i>Linum hypericifolium</i> SALISB.	Merello <i>et al.</i> , 2116 (MO)
<i>Linum leonii</i> SCHULTZ	Repplinger, MR11 (MJG)
<i>Linum lewisii</i> PURSH	Wester, PW501 (MJG)
<i>Linum marginale</i> A.CUNN. ex PLANCH.	Repplinger, MR01(MJG)
<i>Linum meletonis</i> HAND.-MAZZ.	Tweraser, s.n. (MJG)
<i>Linum narbonense</i> L.	Repplinger, MR03 (MJG)
<i>Linum nervosum</i> WALDST. & KIT.	Albach & Özgökce, 938
<i>Linum monogynum</i> G.FORST.	Repplinger, MR16 (MJG, Alkoholsammlung)
<i>Linum obtusatum</i> Boiss.	Mummenhoff, s.n. (MJG)
<i>Linum pallescens</i> BUNGE	Quing-Zang Exp. Veg., 3612 (PE)
<i>Linum perenne</i> L.	MJG 040929
<i>Linum pubescens</i> BANKS & SOL.	Licht, SYR351 (MJG)
<i>Linum pycnophyllum</i> BOISS. & HELDR.	
<i>Linum seljukorum</i> P.H.DAVIS	Yurdakulol & Demirkuş s.n.
<i>Linum stelleroides</i> Planch.	Guan <i>et al.</i> , 5 (PE)
<i>Linum usitatissimum</i> L.	Repplinger MR12 (MJG)
<i>Linum viscosum</i> L.	Repplinger, MR19 (MJG)

**Anhang-Tab. 4:** Liste der Arten, die in der ITS-Analyse der 'Gelben Gruppe' integriert wurden. Angegeben sind der Sammler und der entsprechenden Sammelnummer, sowie das Herbarium, in welchem der Beleg zurzeit aufbewahrt wird.

Art	Sammler, Sammelnummer (Herbarium)
<i>Hesperolinon drymarioides</i> SMALL	Dibble & Griggs, 14 (MO)
<i>Hesperolinon micranthum</i> SMALL	Chambers, 5177 (SRP)
<i>Linum</i> cf. <i>acuticarpum</i>	Quint, Q29 (MJG)
<i>Linum africanum</i> L.	Hanekom, 2630 (MO)
<i>Linum album</i> KOTSCHY ex BOISS.	Mehregan, s.n. (MJG)
<i>Linum arboreum</i> L.	Hecker, TR0191 (MJG)
<i>Linum berlandieri</i> HOOK.	Wester, PW384 (MJG)
<i>Linum berlandieri</i> subsp. <i>filiformis</i> (SHINNERS) C.M.ROGERS	Wester, PW360
<i>Linum catharticum</i> L.	Repplinger, MR21 (MJG)
<i>Linum campanulatum</i> L.	Kropf, s.n. (MJG)
<i>Linum comptonii</i> C.M.ROGERS	Esterhuysen, 35882 (MO)
<i>Linum corymbulosum</i> RCHB.	Meheregan, s.n. (MJG)
<i>Linum esterhuysenae</i> C.M.ROGERS	Link, XVI/3 (MJG)

Art	Sammler, Sammelnummer (Herbarium)
<i>Linum flavum</i> L.	Weber, R00024 (MJG)
<i>Linum gracile</i> PLANCH.	Quint, Q31 (MJG)
<i>Linum kingii</i> S.WATSON	Davis & Long, 502 (SRP)
<i>Linum littorale</i> A.ST.-HIL.	Schinini & Quarín, 14510 (MO)
<i>Linum macraei</i> ssp. <i>macraei</i> BENTH.	Aravena, 33388 (MO)
<i>Linum maritimum</i> L.	Repplinger, MR18 (MJG)
<i>Linum mucronatum</i> BERTOL.	Tweraser, s.n. (MJG)
<i>Linum nodiflorum</i> L.	Repplinger, MR22 (MJG)
<i>Linum oligophyllum</i> WILLD.	Smith et al., 9426 (MO)
<i>Linum persicum</i> BOISS.	Meheregan, s.n. (MJG)
<i>Linum</i> cf. <i>prostratum</i> DOMB. ex LAM.	Weigend, 7324
<i>Linum rupestre</i> (A.Gray) ENGELM.	Turner, 21-589 (TEX)
<i>Linum striatum</i> WALTER	Thomas, 20,998 (SRP)
<i>Linum strictum</i> L. susp <i>spicatum</i>	Quint, s.n. (MJG)
<i>Linum strictum</i> L. susp <i>strictum</i>	Licht, s.n. MJG
<i>Linum tenue</i> DESF.	Schmalz, s.n. (MJG)
<i>Linum tenuifolium</i> L.	Kropf, s.n. (MJG)
<i>Linum triflorum</i> P.H.DAVIS	Mummenhoff, s.n. (MJG)
<i>Linum trigynum</i> L.	Repplinger, MR15 (MJG)
<i>Linum vernale</i> WOOTON	Spellenberg, 5955 (MJG)
<i>Linum volkensisii</i> ENGL.	Gereau & Kayombo, 4662 (MO)
<i>Radiola linoides</i> ROTH.	Hartl, D09242 (MJG)
<i>Sclerolinon digynum</i> (A.GRAY) C.M.ROGERS	Taylor, 3935

**Anhang-Tab. 5:** Angabe der Modelle, die als Grundlage für die *Maximum Likelihood* Berechnung verwendet wurden. Die Modelle (POSADA & CRANDALL 2001) wurden mit dem Programm Modeltest (Version 3.06) berechnet.  $\Phi$  = Substitutionsrate;  $\pi$  = Basenfrequenz, I = invariable Positionen;  $\Gamma$  = Gamma-Verteilung.

Untersuchungsgruppe	<i>Maximum Likelihood</i> Modell mit entsprechenden Parametern
Linaceae rbcl Datensatz	<p><u>hLRT: TIM + I + G</u></p> <p><math>\Phi_{A-C} = 1,0</math>; <math>\Phi_{A-G} = 2,1698</math>; <math>\Phi_{A-T} = 0,5974</math>; <math>\Phi_{C-G} = 0,5974</math>; <math>\Phi_{C-T} = 3,2708</math>; <math>\Phi_{G-T} = 1,0</math>  <math>\pi_A = 0,2716</math>; <math>\pi_C = 0,1990</math>; <math>\pi_G = 0,2410</math>; <math>\pi_T = 0,2884</math>; I = 0,5211; <math>\Gamma = 0,8115</math></p> <p><u>AIC: GTR + I + G</u></p> <p><math>\Phi_{A-C} = 1,2904</math>; <math>\Phi_{A-G} = 2,4317</math>; <math>\Phi_{A-T} = 0,5586</math>; <math>\Phi_{C-G} = 0,8572</math>; <math>\Phi_{C-T} = 3,7185</math>; <math>\Phi_{G-T} = 1,0</math>  <math>\pi_A = 0,2721</math>; <math>\pi_C = 0,1909</math>; <math>\pi_G = 0,2405</math>; <math>\pi_T = 0,2965</math>; I = 0,5217; <math>\Gamma = 0,8214</math></p>
Blaue Gruppe ITS Datensatz	<p><u>hLRT: TrNef + G</u></p> <p><math>\Phi_{A-C} = 1,0</math>; <math>\Phi_{A-G} = 2,0551</math>; <math>\Phi_{A-T} = 1,0</math>; <math>\Phi_{C-G} = 1,0</math>; <math>\Phi_{C-T} = 4,4953</math>; <math>\Phi_{G-T} = 1,0</math>  <math>\pi_A = \pi_C = \pi_G = \pi_T = 0,25</math>; I = 0; <math>\Gamma = 0,5924</math></p> <p><u>AIC: GTR + G</u></p> <p><math>\Phi_{A-C} = 0,9263</math>; <math>\Phi_{A-G} = 1,7677</math>; <math>\Phi_{A-T} = 1,4345</math>; <math>\Phi_{C-G} = 0,3469</math>; <math>\Phi_{C-T} = 3,9710</math>; <math>\Phi_{G-T} = 1,0</math>  <math>\pi_A = 0,2252</math>; <math>\pi_C = 0,2547</math>; <math>\pi_G = 0,2854</math>; <math>\pi_T = 0,2347</math>; I = 0; <math>\Gamma = 0,5895</math></p>
Gelbe Gruppe ITS Datensatz	<p><u>hLRT: TrN + G</u></p> <p><math>\Phi_{A-C} = 1,0</math>; <math>\Phi_{A-G} = 2,4376</math>; <math>\Phi_{A-T} = 1,0</math>; <math>\Phi_{C-G} = 1,0</math>; <math>\Phi_{C-T} = 6,3764</math>; <math>\Phi_{G-T} = 1,0</math>  <math>\pi_A = 0,2618</math>; <math>\pi_C = 0,2245</math>; <math>\pi_G = 0,2394</math>; <math>\pi_T = 0,2742</math>; I = 0; <math>\Gamma = 0,3820</math></p> <p><u>AIC: SYM + I + G</u></p> <p><math>\Phi_{A-C} = 0,6913</math>; <math>\Phi_{A-G} = 2,0701</math>; <math>\Phi_{A-T} = 1,6931</math>; <math>\Phi_{C-G} = 0,3043</math>; <math>\Phi_{C-T} = 5,3252</math>; <math>\Phi_{G-T} = 1,0</math>  <math>\pi_A = \pi_C = \pi_G = \pi_T = 0,25</math>; I = 0,2470; <math>\Gamma = 0,6767</math></p>
Sektion <i>Linum</i> ITS Datensatz	<p><u>hLRT: TrNef + G</u></p> <p><math>\Phi_{A-C} = 1,0</math>; <math>\Phi_{A-G} = 2,0551</math>; <math>\Phi_{A-T} = 1,0</math>; <math>\Phi_{C-G} = 1,0</math>; <math>\Phi_{C-T} = 4,4953</math>; <math>\Phi_{G-T} = 1,0</math>  <math>\pi_A = \pi_C = \pi_G = \pi_T = 0,25</math>; I = 0; <math>\Gamma = 0,5924</math></p> <p><u>AIC: GTR + G</u></p> <p><math>\Phi_{A-C} = 0,9263</math>; <math>\Phi_{A-G} = 1,7677</math>; <math>\Phi_{A-T} = 1,4345</math>; <math>\Phi_{C-G} = 0,3469</math>; <math>\Phi_{C-T} = 3,9710</math>; <math>\Phi_{G-T} = 1,0</math>  <math>\pi_A = 0,2252</math>; <math>\pi_C = 0,2547</math>; <math>\pi_G = 0,2854</math>; <math>\pi_T = 0,2347</math>; I = 0; <math>\Gamma = 0,5895</math></p>

**Anhang-Tab. 6:** Morphologische Merkmale der untersuchten Arten der Linoideae. Die Chromosomenzahlen wurden der Literatur entnommen. <sup>\*1</sup> Martzenitzina (1927), <sup>\*2</sup> VILMORIN & SIMONET (1927 B), <sup>\*3</sup> KIKUCHI (1929), <sup>\*4</sup> DILLMAN (1933), <sup>\*5</sup> HAGERUP (1941B), <sup>\*6</sup> NAGAO (1941), <sup>\*7</sup> RAY (1944), <sup>\*8</sup> MASIMA (1947), <sup>\*9</sup> COVAS (1949B), <sup>\*10</sup> LORENZO, A & G. 1950, <sup>\*11</sup> KISHORE (1951), <sup>\*12</sup> DARLINGTON AND WYLIE (1955), <sup>\*13</sup> RAVEN (1959), <sup>\*14</sup> OSBORNE & LEWIS (1962), <sup>\*15</sup> LEWIS (1964), <sup>\*16</sup> ROGERS & HARRIS (1966), <sup>\*17</sup> HARRIS (1968), <sup>\*18</sup> OCKENDON & WALTERS (1968), <sup>\*19</sup> PETROVA (1972), <sup>\*20</sup> ROGERS *et al.* (1972), <sup>\*21</sup> MILDNER & ROGERS (1978), <sup>\*22</sup> VAN LOON & SNELDERS (1979), <sup>\*23</sup> ROGERS (1980a), <sup>\*24</sup> MUGNIER (1981), <sup>\*25</sup> MUGNIER (1983), <sup>\*1</sup> ROGERS (1984b), <sup>\*26</sup> GONZÁLEZ ZAPATERO *et al.* (1988), <sup>\*27</sup> QUANRU & ZHOU (2008)

Art	Nebenblätter	Blattstiel	Griffel	Karpelle	Narbe	Chromosomenzahl (n)	Pollen	Reproduktionssystem	Lebensform
<i>Linum esterhuysenae</i>	drüsig	fehlend	verwachsen	5	Kopfig			homostyl	perenn
<i>Linum comptonii</i>	drüsig	fehlend	verwachsen	5	Kopfig			heterostyl	perenn
<i>Linum gracile</i>	drüsig	fehlend	verwachsen	5	Kopfig			homostyl	perenn
<i>Linum betsilense</i>		fehlend	verwachsen	5	Kopfig			homostyl	perenn
<i>Linum oligophyllum</i>	drüsig	fehlend	verwachsen	5	Kopfig	18 <sup>*20</sup>		homostyl	perenn
<i>Linum prostratum</i>	drüsig	fehlend	verwachsen	5	Kopfig	18 <sup>*20</sup>		homostyl	perenn
<i>Linum littorale</i>	drüsig	fehlend	verwachsen	5	Kopfig	18 <sup>*20</sup> / 36 <sup>*20, *21</sup>	multiporate	homostyl	perenn
<i>Cliococca selaginoides</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	18 <sup>*9, *12</sup>	tricolpat	homostyl	perenn
<i>Linum berlandieri</i>	drüsig	fehlend	verwachsen	5	Kopfig	15 <sup>*26</sup>	multiporate	homostyl	annuel
<i>Linum vernale</i>	drüsig	fehlend	verwachsen	5	Kopfig	15 <sup>*26</sup>	multiporate	homostyl	annuell
<i>Linum rupestre</i>	drüsig	fehlend	frei	5	Kopfig	18 <sup>*17</sup>	tricolpat	homostyl	annuell
<i>Linum kingii</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	13 <sup>*20</sup>	tricolpat	homostyl	perenn
<i>Linum virginianum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	18 <sup>*14, *26</sup>	tricolpat	homostyl	perenn
<i>Linum medium</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	18 <sup>*14</sup> / 36 <sup>*16, *17</sup>	tricolpat	homostyl	perenn
<i>Linum striatum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	18 <sup>*16</sup>	tricolpat	homostyl	perenn
<i>Hesperolinon drymarioides</i>	fehlend	fehlend	frei	3	Kopfig			homostyl	annuell
<i>Hesperolinon micranthum</i>	drüsig	fehlend	frei	3	Kopfig	18 <sup>*20</sup>	tricolpat	homostyl	annuell
<i>Sclerolinon digynum</i>	fehlend	fehlend	frei	2	Kopfig	6 <sup>*13, *20</sup>		homostyl	annuell
<i>Linum strictum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	9 <sup>*26</sup>		homostyl	annuell
<i>Linum corymbulosum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	9 <sup>*3, *20</sup>		homostyl	annuell
<i>Linum volkensis</i>	drüsig	fehlend	frei	5	Kopfig	27 <sup>*15</sup>		homostyl	?

Art	Nebenblätter	Blattstiel	Griffel	Karpelle	Narbe	Chromosomenzahl (n)	Pollen	Reproduktionssystem	Lebensform
<i>Linum tenuifolium</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	9 <sup>*1, *3, *19, *20, *22, *23, *24</sup>		homostyl	?
<i>Linum suffruticosum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	9 <sup>*25</sup> / 18 <sup>*20, *23</sup> / 36 <sup>*10</sup>		heterostyl	perenn
<i>Linum leucanthemum</i>		fehlend	frei	5	länglich/keulig			heterostyl	perenn
<i>Linum hellenicum</i>		fehlend	frei	5	länglich/keulig			heterostyl	perenn
<i>Linum nodiflorum</i>	drüsig	fehlend	frei	5	länglich/keulig	12 <sup>*24</sup> / 13 <sup>*19</sup>		homostyl	annuell
<i>Linum dolomiticum</i>		fehlend	frei	5	länglich/keulig	14 <sup>*18</sup>		heterostyl	perenn
<i>Linum arboreum</i>	drüsig	fehlend	frei	5	länglich/keulig	14 <sup>*7</sup>		heterostyl	perenn
<i>Linum pallasianum</i>	drüsig	fehlend	frei	5	länglich/keulig	14 <sup>*18</sup>		heterostyl	perenn
<i>Linum campanulatum</i>	drüsig	fehlend	frei	5	länglich/keulig	14 <sup>*7</sup>		heterostyl	perenn
<i>Linum flavum</i>	drüsig	fehlend	frei	5	länglich/keulig	15 <sup>*1, *3, *8</sup> / 16 <sup>? *3</sup>	tricolpat	heterostyl	perenn
<i>Linum album</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig			heterostyl	?
<i>Linum mucronatum</i>	drüsig	fehlend	frei	5	länglich/keulig			heterostyl	perenn
<i>Linum triflorum</i>	drüsig	fehlend	frei	5	länglich/keulig			heterostyl	perenn
<i>Linum trigynum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	10 <sup>*7, *19, *20, 26</sup>		homostyl	annuell
<i>Linum tenue</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	10 <sup>*20</sup>	tricolpat	heterostyl	annuell
<i>Linum maritimum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	10 <sup>*2, *20, *23</sup> / 9 <sup>? *6</sup>	tricolpat	heterostyl	perenn
<i>Linum catharticum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	Kopfig	8 <sup>*2, *17, *19</sup> / 2n > 57 <sup>*3</sup>	tricolpat	homostyl	?
<i>Radiola linoides</i>	fehlend	fehlend	frei	4	Kopfig	9 <sup>*5, *23</sup>	tricolpat	homostyl	annuell
<i>Linum pycnophyllum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	kopfig			heterostyl	perenn
<i>Linum obtusatum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	kopfig			heterostyl	perenn
<i>Linum lewisii</i>	fehlend	fehlend	frei	5	kopfig	9 <sup>*14, *16</sup>	tricolpat	<i>approach herkogamy</i>	perenn
<i>Linum leonii</i>	fehlend	fehlend	frei	5	kopfig	9	tricolpat	homostyl	perenn
<i>Linum perenne</i>	fehlend	fehlend	frei	5	kopfig	9 <sup>*1, *3, *4, *7</sup>	tricolpat	heterostyl	perenn
<i>Linum pallescens</i>	fehlend	fehlend	frei	5	kopfig			homostyl	perenn
<i>Linum bungei</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig			heterostyl	
<i>Linum nervosum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	9 <sup>*18</sup> / 27 <sup>*19</sup>	tricolpat	heterostyl	perenn
<i>Linum monogynum</i>	fehlend	fehlend	verwachsen	5	länglich/keulig	42 <sup>*20</sup>	multiporat	<i>approach herkogamy</i>	perenn
<i>Linum marginale</i>	fehlend	fehlend	verwachsen	5	länglich/keulig		multiporat	homostyl	annuell

Art	Nebenblätter	Blattstiel	Griffel	Karpelle	Narbe	Chromosomenzahl (n)	Pollen	Reproduktionssystem	Lebensform
<i>Linum bienne</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	15 <sup>*19, *24; *26</sup> / 16 <sup>*1, *3</sup>	tricolpat	homostyl	perenn
<i>Linum usitatissimum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	15 <sup>*4, *14, *26</sup> / 16 <sup>*1, *3</sup>	tricolpat	homostyl	annuell
<i>Linum narbonense</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	9 <sup>*3</sup> / 14 <sup>*23, *26</sup> / 15 <sup>*18</sup>	tricolpat	heterostyl	perenn
<i>Linum grandiflorum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	8 <sup>*1, *3, *7, *14</sup>	tricolpat	<i>stigma-height dimorphism</i>	annuell
<i>Linum decumbens</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig		tricolpat	homostyl	annuell
<i>Linum hirsutum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	8 <sup>*7, *19, *20</sup> / 9 <sup>*6</sup> / 16 <sup>*20</sup>	tricolpat	heterostyl	perenn
<i>Linum hypericifolium</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig			heterostyl	perenn
<i>Linum viscosum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	8 <sup>*7, *23</sup>		heterostyl	perenn
<i>Linum seljukorum</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig	8 <sup>*20</sup>	tricolpat	homostyl	annuell
<i>Linum pubescens</i>	fehlend	fehlend	frei	5	länglich/keulig			heterostyl	annuell
<i>Linum stelleroides</i>	fehlend	fehlend	verwachsen	5	kopfig	10 <sup>*27</sup>	multiporat	homostyl	perenn
<i>Tirpitzia ovoidea</i>	baltartig	vorhanden	verwachsen	5	kopfig				perenn
<i>Reinwardtia indica</i>	baltartig	vorhanden	verwachsen	3 / 4	kopfig	10 <sup>*11</sup>	tricolpat	heterostyl	perenn
<i>Anisadenia pubescens</i>	baltartig	vorhanden		3	kopfig				perenn
<i>Hugonia casteeifolia</i>	baltartig	vorhanden	frei	5	2-lappig				perenn
<i>Hugonia gabunensis</i>	baltartig	vorhanden	frei	5	2-lappig				perenn
<i>Roucheria callophylla</i>	baltartig	vorhanden	frei		2-lappig				perenn
<i>Durandea spec</i>	baltartig	vorhanden	frei	5	2-lappig				perenn
<i>Durandea pentagyna</i>	baltartig	vorhanden	frei	5	2-lappig				perenn
<i>Roucheria schomburgkii</i>	baltartig	vorhanden	frei		2-lappig				perenn

## AFLP-Protokoll

### *Restriktion-Ligation*

**Anhang-Tab. 7:** RLR-Mastermix: Zusammensetzung des RLR-Mastermix für 36 Proben.

<b>Bestandteile</b>	<b>Volumen [µl]</b>
<i>Aqua bidest.</i>	23,67
T4 DNA Ligasepuffer (Biolabs) 10x	31,68/
0,5 M NaCl	31,68
BSA (10 mg/ml, Biolabs) 100x	3,17
MseI Adaptorenpaar	18,9
EcoRI Aaptorenpaar	18,9

**Anhang-Tab. 8:** RLM-Mastermix: Zusammensetzung des RLM-Mastermix für 36 Proben.

<b>Bestandteile</b>	<b>Volumen [µl]</b>
<i>Aqua bidest.</i>	23,67
T4 DNA Ligasepuffer (Biolabs) 10x	31,68/
0,5 M NaCl	31,68
BSA (10 mg/ml, Biolabs) 100x	3,17
MseI (4 U/µl, Biolabs)	18,9
EcoRI (20 U/µl, Biolabs)	
T4 DNA Ligase (400 U/µl, Biolabs)	18,9

Pro Probe wurden 3,1 µl des RLR-Mastermixes mit 1,8 µl des RLM-Mastermixes und 5 µl DNA (auf 20 ng/µl standardisiert) gemischt. Die Restriktion/Ligation erfolgte über Nacht für 14 h bei 22°C. Vor Durchführung der Präselektive Amplifikation wurden pro Probe 30 µl *Aqua bidest.* hinzugefügt.

*Präselektive Amplifikation*

**Anhang-Tab. 9:** Mastermix der Präselektiven Amplifikation: 25 µl Ansatz für 36 Proben. Die Reaktion wurde in dem Thermocycler PTC-100™ Programmable Thermal Controller (MJ Researc, Inc., Watertown, USA) durchgeführt.

<b>Bestandteile</b>	<b>Volumen [µl]</b>
<i>Aqua bidest.</i>	616,0
PCR-Puffer 10x	100,0
MgCl <sub>2</sub> (50 mM)	0,0
dNTPs (20 mM)	10,0
Primer M02 (50 ng/µl)	10,0
Primer E01 (50 ng/µl)	10,2
Taq-Polymerase (5 U/µl, BioTherm))	4,0

Pro Probe wurden je 20 µl des Mastermixes (Präselektive Amplifikation) mit 5 µl Produkt des Restriktion/Ligation-Ansatzes gemischt. Anschließend wurde die Präselektive Amplifikation mit folgendem Programm durchgeführt.

**Anhang-Tab. 10:** Aufbau des Cyclerprogramms für die Präselektive Amplifikation.

<b>Temperatur [°C]</b>	<b>Zeit</b>	<b>Wiederholungen</b>
72	2 min	1
94	10 sec	
56	30 sec	20
72	2 min	
60	30 min	
4		

Anschließend wurden 5 µl des PCR-Produktes mit 45 µl *Aqua bidest.* verdünnt.

*Selektive Amplifikation*

**Anhang-Tab. 11:** Mastermix der Selektiven Amplifikation: 15 µl Ansatz für 36 Proben. Die E- und M-Primer entsprechen jeweils denen der gewählten Kombinationen (E39 / M61, E45 / M54, E37 / M54).

<b>Bestandteile</b>	<b>Volumen [µl]</b>
<i>Aqua bidest.</i>	284,8
MgCl <sub>2</sub> 50mM (Genecraft)	30,0
BioTherm™ Puffer 10X	60,0
dNTPs	6,0
Primer Exx (50 ng/µl)	10,0
Primer Mxx (50 ng/µl)	7,2
BioTherm™ Polymerase (Genecraft)	2,0

Pro Ansatz wurden 10 µl des Mastermixes mit 5 µl des Produktes der Präselektiven Amplifikation gemischt.

**Anhang-Tab. 12:** PCR Protokoll der Selektiven Amplifikation.

<b>Schritte der einzelnen Wiederholungen (Temperatur und Zeit)</b>	<b>Wiederholungen</b>
94°C - 2 min	
94°C - 10 sec      64°C - 30 sec      72°C - 2 min	1
94°C - 10 sec      63°C - 30 sec      72°C - 2 min	1
94°C - 10 sec      62°C - 30 sec      72°C - 2 min	1
94°C - 10 sec      61°C - 30 sec      72°C - 2 min	1
94°C - 10 sec      59°C - 30 sec      72°C - 2 min	1
94°C - 10 sec      58°C - 30 sec      72°C - 2 min	1
94°C - 10 sec      57°C - 30 sec      72°C - 2 min	1
94°C - 10 sec      56°C - 30 sec      72°C - 2 min	24
60°C – 30 min	
4°C	

### Vorbereitung der Proben für die Sequenziermaschine

**Anhang-Tab. 13:** Zusammensetzung des Ladepuffers für 36 Proben.

Bestandteile	Volumen [ $\mu$ l]
Formamid	72,00
Ladepuffer (ABI)	28,00
GS 500 ROX <sup>TM</sup> -Standard (ABI)	19,50

**Anhang-Tab. 14:** Zusammensetzung des Probenmixes für die Multiplexanalyse.

Produkt	Volumen [ $\mu$ l]
6-FAM <sup>TM</sup> markierte Produkte der selektiven Amplifikation	1,50
HEX <sup>TM</sup> markierte Produkte der selektiven Amplifikation	2,25
NED <sup>TM</sup> markierte Produkte der selektiven Amplifikation	2,25

Zwei  $\mu$ l dieses Ansatzes wurden mit 3  $\mu$ l des Ladepuffers gemischt.

**Anhang-Tab. 15:** Zusammensetzung des PAA-Gels für die ABI-Sequenziermaschine (36 cm Trennstrecke)

Bestandteile	Menge
Harnstoff	18 g
Acrylamidlösung (30%)	7,5 ml
TBE 10x	6,0 ml
Aqua bidest.	23 ml

Laufpuffer: TBE 1x

*Adaptoren und Primer***Anhang-Tab. 16:** Liste der verwendeten AFLP Adaptoren (GenTech).

EcoRI -	5'- CTG GTA GAC TGC GTA CC -'3
EcoRI +	5'- AAT TGG TAC GCA GTC -'3
MseI -	5'- GAC GAT GAG TCC TGA G -'3
MseI +	5'- TAC TCA GGA CTC AT -'3

**Anhang-Tab. 17:** Basenfolge der für die Präselektive Amplifikation verwendeten Primer.

EcoRI + 1	5'-GAC TGC CGT ACC AAT TCA-3'	E01
MseI + 1	5'-GAT GAG TCC TGA GTA AC-3'	M02

**Anhang-Tab. 18:** Basenfolge der für die Selektive Amplifikation verwendeten Primer.

EcoRI + AGA	5'-GAC TGC CGT ACC AAT TCA <b>GA</b> -3'	E39
EcoRI + ATG	5'-GAC TGC CGT ACC AAT TCA <b>TG</b> -3'	E45
EcoRI + ACG	5'-GAC TGC CGT ACC AAT TCA <b>CG</b> -3'	E37
MseI + CTG	5'-GAT GAG TCC TGA GTA <b>ACT G</b> -3'	M61
MseI + CCT	5'-GAT GAG TCC TGA GTA <b>ACC T</b> -3'	M54

**Anhang-Tab. 19:** Verwendete Primerkombinationen für die Selektive Amplifikation. Angabe der Fluoreszenzmarkierung der verschiedenen EcoRI Primer.

<b>EcoRI + 3 Primer</b>	<b>MseI + 3 Primer</b>	<b>Fluoreszenzmarkierung der EcoRI + 3 Primer</b>	
E39	M61	6-FAM <sup>TM</sup>	blau
E45	M54	HEX <sup>TM</sup>	grün
E37	M54	NED <sup>TM</sup>	gelb