

# Molekulare Phylogenie der Flechtenfamilie Peltulaceae (Lichinales, Ascomycota)

am Fachbereich Biologie der Technischen  
Universität Kaiserslautern eingereichte Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
»Doktor der Naturwissenschaften«

vorgelegt von

*Alexandra C. Rauhut*

1. *Gutachter*: Prof. Dr. Burkhard Büdel  
(Technische Universität Kaiserslautern)
2. *Gutachter*: Dr. Christian Printzen  
(Forschungsinstitut und Naturmuseum  
Senckenberg, Frankfurt/Main)

Kaiserslautern, im November 2006



Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Kaiserslautern, den 26. November 2006





*»Das Wesen der Dinge versteckt sich gern.«*

Heraklit, Fragmente [123]



# Danke!

Ganz besonders möchte ich Prof. Burkhard Büdel danken, dass er mir ermöglicht hat, meinem Interesse an Flechten und ihren Verwandtschaftsbeziehungen in seiner Arbeitsgruppe nachzugehen und vor allem, dass er mir »seine« Peltulaceen überlassen hat. Auch Wolf-Rüdiger Arendholz bin ich besonders für seine Ermutigung zu Beginn der Arbeit zu Dank verpflichtet. Der ganzen Arbeitsgruppe »Pflanzenökologie und Systematik« danke ich für das lockere Arbeitsklima. Besonderer Dank geht an Steffi und Kirstin vor allem für die nicht-fachliche Unterstützung, an Steffi auch für eine unvergessliche Sammelreise nach Indien. Bei Prof. François Lutzoni und seiner Arbeitsgruppe an der Duke-Universität in Durham, North Carolina, USA, bedanke ich mich sehr für die außerordentliche Hilfe und Gastfreundschaft während meines Aufenthaltes dort. Dr. Christian Printzen danke ich für die bereitwillige Annahme dieser Arbeit als Zweitgutachter und die unschätzbare Unterstützung bei der Erstellung der Dissertation. Für seine Bereitschaft, den Vorsitz der Promotionskommission zu übernehmen, danke ich Prof. Matthias Hahn. Extra-Dank geht an Dr. Frank Kauff und Dr. Matthias Schultz nicht zuletzt für die wertvolle Starthilfe auf dem Gebiet molekularer Phylogenien und der Flechtenkunde. Prof. Klaus Kalb gilt mein besonderer Dank für die Bereitstellung wertvollen Herbarmaterials. Ohne die finanzielle Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft DFG wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Schließlich bedanke ich mich bei meinem Mann Markus, nicht nur für seine Begleitung auf der Sammelreise nach Afrika, sondern auch für seine fortwährende Ermutigung und sein Verständnis vor allem im letzten Jahr.



# Inhalt

	Abkürzungsverzeichnis	xi
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	
1.1	Morphologie und Anatomie der Peltulaceae	1
1.2	Habitat und Verbreitung	5
1.3	Taxonomie und Phylogenie	8
1.4	Zielsetzung	11
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	
2.1	Untersuchte Taxa	13
2.2	Molekulare Methoden	13
2.3	Analyse der molekularen Daten	18
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	
3.1	Sequenzen und Alignments	25
3.2	Sättigung der proteinkodierenden Gene <i>RPB2</i> und <i><math>\beta</math>-Tub</i>	27
3.3	Das <i><math>\beta</math>-Tubulin</i> -Gen besitzt wahrscheinlich eine paraloge Kopie	28
3.4	Einzelgenanalysen	30
3.5	Kompatibilitätstests	39
3.6	<i>Mapping</i>	44
3.7	Rekombinationstests	51
3.8	Einzelgenanalysen von ITS und <i>RPB2</i> mit erweitertem Taxonset	57
3.9	<i>Phylogenetic species</i> nach Taylor et al.	60
3.10	ITS- und <i>RPB2</i> /7-11-Sequenzen aus einzelnen Thallusschuppen	64
3.11	Monophylie der Peltulaceae	66
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	
4.1	Allgemeine Verfahrenseigenschaften	71
4.2	Einzelgenanalysen, Kombinierbarkeit und topologische Inkongruenz	72
4.3	Individualität, Speziesabgrenzung und Artkonzepte	77
4.4	Systematik und Taxonomie	83
4.5	Biogeographie	85
4.6	Fazit und Ausblick	87
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	89
<b>6</b>	<b>Literatur</b>	
6.1	Zitierte Literatur	91
6.2	Literatur zur geographischen Verbreitung der Peltulaceae	104
6.3	Literatur zum morphologisch-anatomischen Merkmalspektrum	108
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	111



## Abkürzungsverzeichnis

AFLPs	<i>amplified fragment length polymorphisms</i>
Aftol	<i>Assembling the fungal tree of life</i>
$\beta$ -Tub	$\beta$ -Tubulin
BMCMC	Bayesian Monte Carlo Markov Chain
BS	Bootstrap
BSA	<i>bovine serum albumin</i> (Rinder-Serumalbumin)
$^{14}\text{C}$	Kohlenstoff-Isotop
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i> (Desoxyribonukleinsäure)
dNTPs	Desoxynucleotidtriphosphate
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
F81	Felsenstein-Modell von 1981
GTR	<i>general time reversible</i>
HKY	Hasegawa-Kishino-Yano-Modell von 1985
HMM	<i>hidden Markov model</i>
H <sub>2</sub> O	Wasser
I	Jod
$I_{ss}/I_{ss.c}$	Substitutionssättigungsindex/ kritischer Substitutionssättigungsindex
<i>indel</i>	Insertion-Deletion
ITS	<i>internal transcribed spacer</i>
IUBMB	<i>International Union of Biochemistry and Molecular Biology</i>
JC	Jukes-und-Cantor-Modell von 1969
K80	Kimura-Zweiparametermodell von 1980 (auch K2P)
KOH	Kaliumhydroxid
LBA	<i>long branch attraction</i>
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
ML	<i>Maximum Likelihood</i>
MP	<i>Maximum Parsimony</i>
mtSSU	<i>mitochondrial ribosomal small subunit</i> (mitochondriale ribosomale kleine Untereinheit)
nucLSU	<i>nuclear ribosomal large subunit</i> (nukleäre ribos. große Untereinheit)
nucSSU	<i>nuclear ribosomal small subunit</i> (nukleäre ribos. kleine Untereinheit)
PABA	<i>partition addition bootstrap alteration</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (Polymerase-Kettenreaktion)
PP	<i>posterior probabilities</i>
RAPDs	<i>random amplified polymorphisms</i>
RPB2	RNA-Polymerase II
rpm	<i>rounds per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
SDS	<i>sodium dodecyl sulfate</i> (Natriumdodecylsulfat)
TAE	Tris-Acetat-EDTA-Puffer
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminoethan
TrN93	Tamura-und-Nei-Modell von 1993 (auch TrN)





# 1 Einleitung

## 1.1 Morphologie und Anatomie der Peltulaceae

Die Familie der Peltulaceae besteht aus wenig mehr als 40 Spezies in drei Gattungen von Flechtenpilzen, die ausschließlich mit Cyanobakterien in Symbiose leben. Als Photobionten besitzen alle bisher untersuchten Peltulaceae einzellige Cyanobakterien der Ordnung Chroococcales *sensu* Komárek & Anagnostidis (1999). Häufig sind es Vertreter der Gattung *Chroococcidiopsis* (Bubrick & Galun 1984, Büdel 1991), die auch freilebend an den gleichen Standorten endolithisch vorkommen (Büdel et al. 1997, Büdel 1999a). Wie vielen Cyanobakterienflechten fehlen den Peltulaceen Flechtenstoffe – mit der einzigen Ausnahme von *Peltula langei*, für die Myeloconon D1 und D2 nachgewiesen sind (Büdel & Elix 1997), gelbe Pigmente, die mit Myeloconon C aus der Flechte *Myeloconis parva* verwandt sind. Infolgedessen hebt sich *P. langei* durch seine gelbliche Thallusfarbe von den ansonsten bei Peltulaceen vorherrschenden oliv-braunen, schwarzen oder grauen Thalli ab. Die Lager der Peltulaceen sind aus einzelnen Lagerschuppen aufgebaut und sehr klein. Sie erreichen selten mehrere Zentimeter im Durchmesser, wobei die Einzelschuppen in der Regel nur einige Millimeter groß sind. Die Gestalt der Einzelschuppen lässt sich in

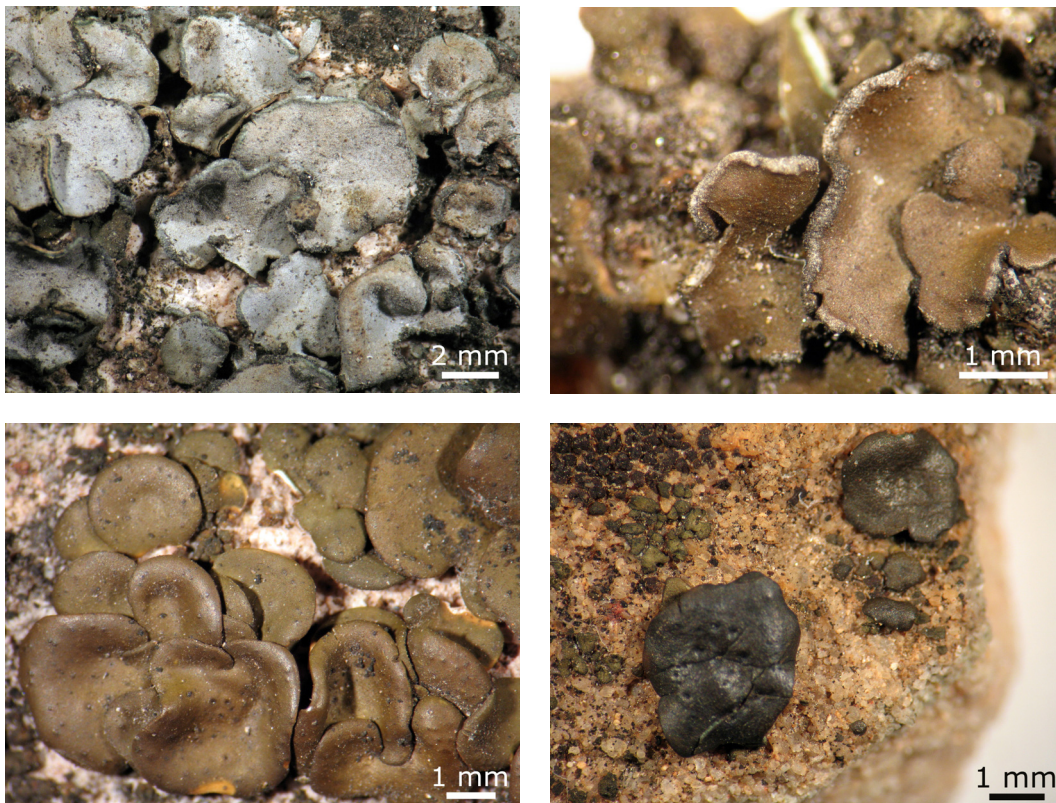


Abb. 1.1.1: *Peltula*-Spezies, deren Schuppen eine peltate Wuchsform aufweisen (von links) – oben: *P. farinosa*, *P. euploca* (beide mit randlichen Soralen), unten: *P. sonorensis*, *P. coriacea*.

fünf morphologische Grundtypen einteilen (Büdel 1987a), wobei Zwischenformen auftreten können: Die peltaten Formen (Abb. 1.1.1) haben unverzweigte, schildförmige Schuppen mit einer mehr oder weniger zentral ansitzenden Befestigung. In dieser Gruppe findet sich auch die Mehrzahl der sorediösen Spezies. Die squamulöse Wuchsform ist durch mehr oder weniger aufgetriebene Schuppen gekennzeichnet (Abb. 1.1.2), die in der Aufsicht abgerundet, eckig oder auch zerschlitzt erscheinen. Die Schuppen von Peltulaceen mit subfruticoser Wuchsform (Abb. 1.1.3) erheben sich wenige Millimeter über das Substrat und können verzweigt oder unverzweigt und drehrund sein. Die drei genannten Wuchsformtypen kommen innerhalb der Gattung *Peltula* vor. In den beiden anderen Gattungen der Peltulaceae – *Phyllopettula* und *Neoheppia* – finden sich zwei weitere Wuchsformen, die unter anderem als Merkmale für die Gattungsabgrenzung dienen. Die Gattung *Phyllopettula* (Büdel 1987a, Kalb 2001) beinhaltet lediglich zwei Spezies, die ein folioses Schuppenwachstum zeigen (Abb. 1.1.4 unten). Außerdem besiedeln sie Baumrinde, während alle anderen Peltulaceen-Arten auf Gestein oder Erdboden zu finden sind. Die *Neoheppia*-Arten schließlich – auch in dieser Gattung stehen nur zwei Spezies (Abb. 1.1.4 oben) – zeigen ein krustiges Wachstum ohne untere Rinde, wie sie bei den übrigen Peltulaceen-Arten die Regel ist.

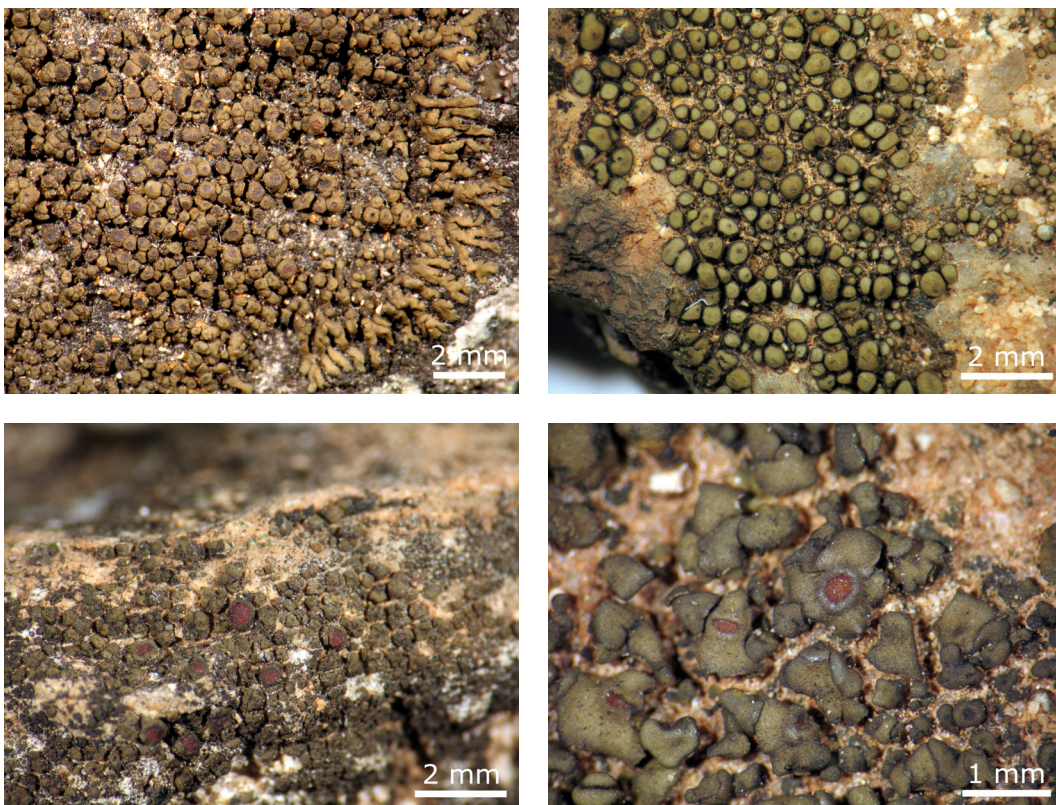


Abb. 1.1.2: *Peltula*-Spezies mit squamulöser Wuchsform (von links) – oben: *P. impressa* (mit effigierten Randloben), *P. marginata*, unten: *P. obscurans* var. *deserticola*, *P. obscurans* var. *hassei*.



Der Peltulaceen-Thallus ist nicht gallertig und geschichtet (Abb. 1.1.5). Zumeist ist er durchgehend paraplektenchymatisch im Aufbau, zuweilen besteht er auch aus mehr oder weniger locker verflochtenen Hyphen. Die Ausbildung von luftgefüllten Markhöhlen ist für einige Arten charakteristisch, wie *P. clavata*, die eine große Markhöhle in den apikal keulig aufgetriebenen Loben aufweist (Abb. 1.1.5). Eine obere Rinde ist allerhöchstens in Rudimenten vorhanden, dafür ist eine Epinekralschicht aus abgestorbenen Pilz- und Algenzellen ausgebildet (Abb. 1.1.5), deren Ausprägung je nach Strahlungsintensität am Standort unterschiedlich ist (Büdel 1990). Eine para- bis prosoplektenchymatische untere Rinde ist in den allermeisten Fällen vorhanden.

Die Verbreitung der Peltulaceen scheint überwiegend über Sporen zu geschehen. Fruchtkörper vom Apothecientyp sind die Regel, nur die beiden Arten *P. crispatula* und *P. lingulata* sind bisher ausschließlich steril gefunden worden. Vegetative Verbreitungsstadien sind eher selten: Sechs Arten haben neben Apothecien auch Sorale und nur eine Art (*P. clavata*) bildet Isidien aus. Die mit einem Thallusrand versehenen Apothecien sind im Lager eingesenkt bis halb aufsitzend. Ein Eigenrand ist in der Regel nur schwach bis sehr schwach ausgebildet. Die Scheiben sind punktförmig oder auch offen, je nach Spezies kann dies auch mit dem Reifegrad variieren. Die



Abb. 1.1.3: *Peltula*-Spezies mit subfruticoser Wuchsform (von links) – oben: *P. clavata* (die einzige bekannte *Peltula*-Art, die Isidien ausbildet), *P. boletiformis*, unten: *P. capensis*, *P. tortuosa*.

Fruchtkörperentwicklung verläuft sehr einheitlich: Die Apothecienanlage entsteht im Grenzbereich zwischen Algenschicht und Mark als kegelförmiges Hyphenknäuel aus Paraphysoiden und generativen Hyphen. Dort entwickeln sich mehrere spiralförmig gewundene Ascogone und Trichogynen, die über die Thallusoberfläche hinausragen. Mit der beginnenden Öffnung der Fruchtkörperanlage werden von den ascogenen Hyphen die ersten Asci gebildet, und es entstehen echte Paraphysen. Diese Fruchtkörperentwicklung findet sich in ähnlicher Form auch bei drei Gattungen der Flechtenfamilie Lichinaceae. Die Peltulaceen-Asci sind unitunicat und polyspor (32 bis weit über 100 Sporen) mit einer apikalen, inneren Wandauflagerung (*dome apical*) und deutlich ausgeprägter Schleimhülle (Abb. 1.1.5). Die einfachen, hyalinen Sporen haben oft eine rundlich-ellipsoide Form und sind selten größer als 8 µm. Sie werden aktiv ausgestoßen, indem der Ascus apikal aufreißt und sich der *dome apical* zu einem Rostrum verlängert, das bis an die Oberfläche des Hymeniums reicht.

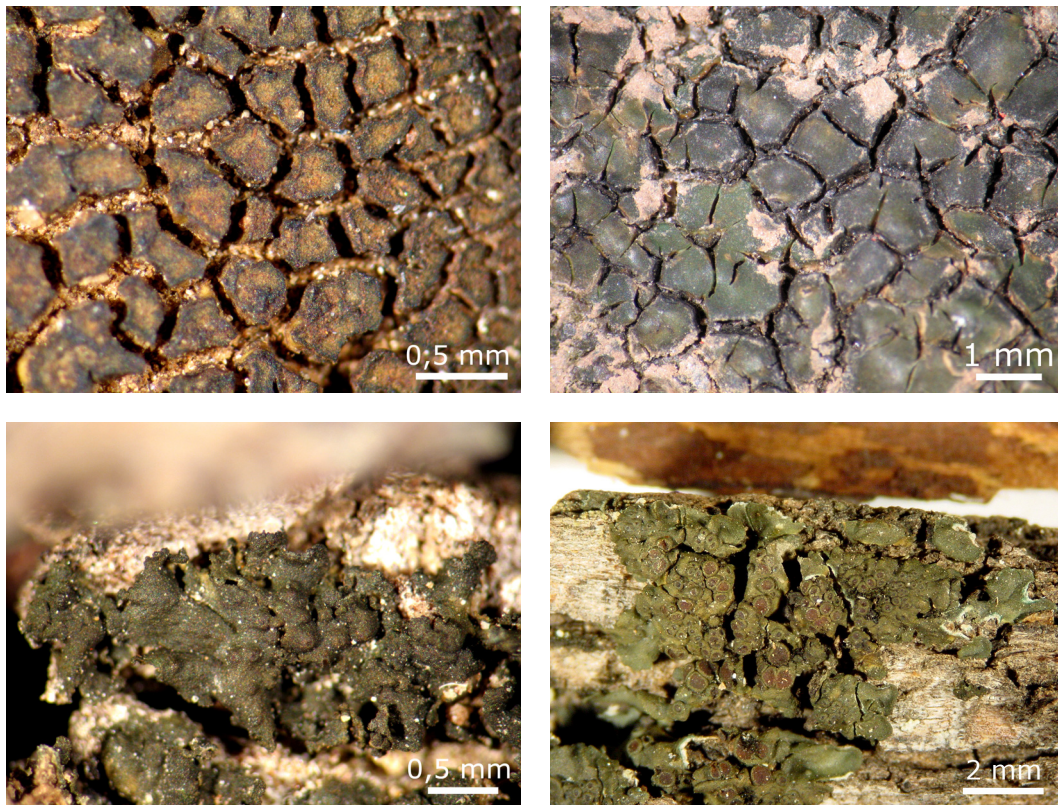


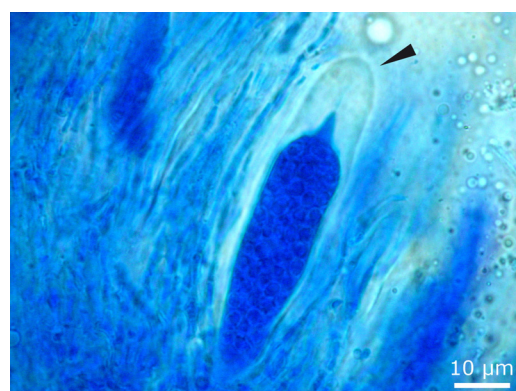
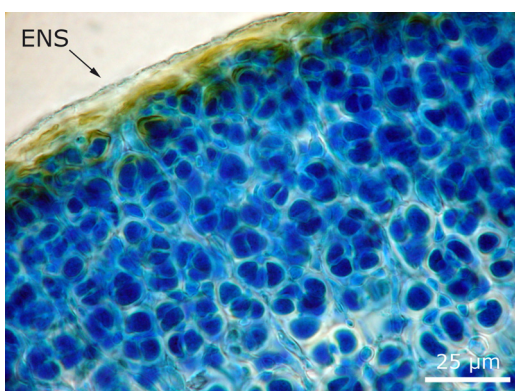
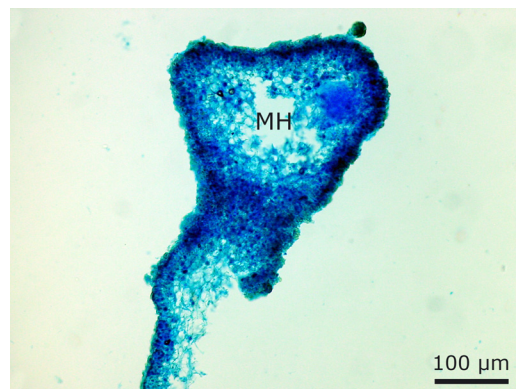
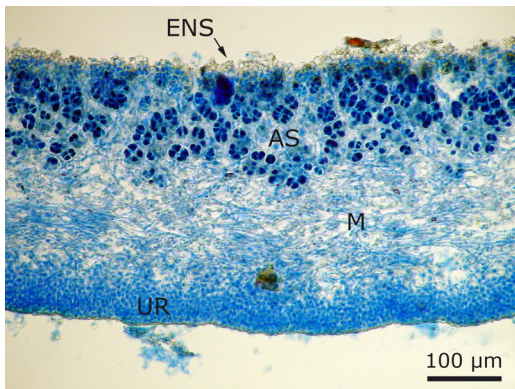
Abb. 1.1.4: Die Spezies der Gattungen *Neoheppia* mit krustiger Wuchsform und *Phyllopetula* mit folioser Wuchsform (von links) – oben: *N. brasiliensis*, *N. cataractae*, unten: *Ph. corticola*, *Ph. steppae* (beide Arten wachsen auf Baumrinde).

Abb. 1.1.5: Anatomische Merkmale einiger *Peltula*-Spezies (mit Lactophenol-Baumwollblau gefärbte Dünnschnitte) – von links, oben: Querschnitt des geschichteten Thallus von *P. farinosa* (ENS – Epinekralschicht, AS – Algenschicht, M – Mark, UR – untere Rinde), Thallusquerschnitt der subfruticosen *P. clavata* mit zentraler Markhöhle (MH). Unten: Epinekralschicht (ENS) von *P. euploca* mit coccalem Photobiont, polysporer Ascus von *N. brasiliensis* mit charakteristischer Schleimhülle (Pfeil).



## 1.2 Habitat und Verbreitung

Peltulaceen besiedeln vor allem Gestein und Erdboden in ariden und semi-ariden Klimaten, unter mikroklimatisch ariden/semi-ariden Bedingungen auch in humiden Klimaten. In diesen Regionen bilden Flechten der Gattung *Peltula* einen wesentlichen Bestandteil der Flechtenflora von Wüstenböden, Inselbergen und anderen offenen Felsflächen – oft in Form von Krusten (Büdel et al. 2000, Becker 2002). Das aride Habitat, auch gekoppelt mit hohen Strahlungsintensitäten, stellt für die Peltulaceen eine Herausforderung dar. Der cyanobakterielle Photobiont benötigt flüssiges Wasser zum Aufrechterhalten der Photosynthese – Tau oder Nebel, wie für Grünalgenflechten ausreichend, genügen für eine Hydratisierung der Cyanobakterien nicht. Gleichzeitig muss der cyanobakterielle Photosyntheseapparat vor zu hohen Strahlungsintensitäten geschützt werden. Die Wuchsform der Schuppen trägt dazu bei, flüssiges Wasser möglichst lange verfügbar zu halten (Büdel 1999b, Büdel et al. 2000). So kommen z. B. peltate Formen vorwiegend auf geneigten Felsflächen vor, wo das abfließende Wasser unterhalb des Thallus festgehalten wird, indem die gequollenen Schuppen den Raum zum Substrat hin abschließen. Für eine Reduzierung der Strahlungsintensität sorgt eine Pigmentierung der oberen Thallusschicht und die Epinekralschicht. Sie kann auch aufgefächert sein, so dass einfallendes Licht durch mehrmalige Reflexion abgeschwächt wird (Büdel 1990). Auch die Cyanobakterien selbst bilden UV-absorbierende Pigmente, z. B. Scytonemin



(Büdel et al. 1997). Insgesamt erreichen nur 0,1-1,4% des auftretenden Lichts die Cyanobakteriensicht (Büdel 1990), Verhältnisse wie sie auch im natürlichen cryptoendolithischen Habitat freilebender Cyanobakterien herrschen. Die limitierte Verfügbarkeit flüssigen Wassers am ariden Standort führt dazu, dass die Peltulaceen nur sehr langsam wachsen können: Eine  $^{14}\text{C}$ -Analyse zweier *P. umbilicata*-Proben aus Südafrika – und dort unterschiedlicher geographischer Herkunft – mit einer Fläche von je etwa  $1,5\text{ cm}^2$  ergab ein ungefähres Alter von 125 Jahren (Büdel, unveröffentlichte Ergebnisse).

Peltulaceen sind von allen Kontinenten außer der Antarktis bekannt (Abb. 1.2.1). Die Verteilung der einzelnen Spezies auf die verschiedenen Kontinente ist jedoch unterschiedlich. Afrika bildet mit 34 beschriebenen Arten den Schwerpunkt, gefolgt von Nordamerika und Asien mit jeweils 19 Arten. In Südamerika wurden bisher 17 Vertreter der Familie gefunden, in Australien 15 und in Europa neun. Fünfzehn der insgesamt 43 bekannten Peltulaceen-Spezies sind bisher in ihrem Vorkommen auf einen Kontinent beschränkt. Allein acht hiervon finden sich in Afrika, jeweils zwei in Australien, Nordamerika und Asien und eine in Südamerika. Die bisher bekannten Vorkommen einer Vielzahl von Peltulaceen-Spezies ähneln der rezenten Verbreitung von trockenheitsadaptierten Moospflanzen. Diese rezente Verbreitung ist das Produkt eines erdgeschichtlich wohl schon sehr früh etablierten Verbreitungsmusters, wie durch Fossilfunde nahegelegt wird (Frey & Kürschner 1988, Frey 1990). Demnach breitete sich im Perm (vor ca. 290 Mio. Jahren) mit dem Entstehen des Superkontinents Pangäa aus den Gondwana- und Laurasiakontinenten



Abb. 1.2.1: Derzeit bekannte weltweite Fundorte aller Peltulaceen-Spezies basierend auf Literaturangaben (siehe 6.2 Literatur zur geographischen Verbreitung der Peltulaceae)

eine xerophytische Moosflora (Marchantiales, Ricciales) gondwanischen Ursprungs über ganz Pangäa aus. Speziell die kontinentalen Bereiche Pangäas waren von einem ariden Klima geprägt, wie beispielsweise das Auftreten der xerophytischen Voltziales (Gymnospermen) zeigt. Diese in Perm und Trias existierende kontinentale Pangäaregion bildet das sogenannte *Xerotherm-Pangäische Element* (Abb. 1.2.2, Frey & Kürschner 1988). Es umfasste den größten Teil der Gondwana-Kontinente (Südamerika, Afrika, Indien, Australien, Antarktis) und einen Teil Nordamerikas. Mit dem Auseinanderdriften Pangäas schließlich entstand das rezente Verbreitungsmuster. Die Ausdehnung des rezenten *Xerotherm-Pangäischen Elements* und die in etwa diesem Muster ähnelnden Fundorte von 21 Peltulaceen-Spezies ist in Abbildung 1.2.3 zu sehen.

Betrachtet man die Verteilung der Peltulaceen auf die verschiedenen Kontinente, so fällt ein leichtes Ungleichgewicht zugunsten der ehemaligen Gondwanakontinente auf: 15 Arten sind ausschließlich von den ehemaligen Gondwanakontinenten und nur fünf von den ehemaligen Laurasiakontinenten beschrieben. 23 Spezies lassen sich sowohl auf den ehemaligen Gondwana- als auch Laurasiakontinenten finden. Diese Verteilung entspricht einem Sörensen-Koeffizienten von 0,697 was einer Florenähnlichkeit der beiden Gebiete von knapp 70 % gleichkommt.

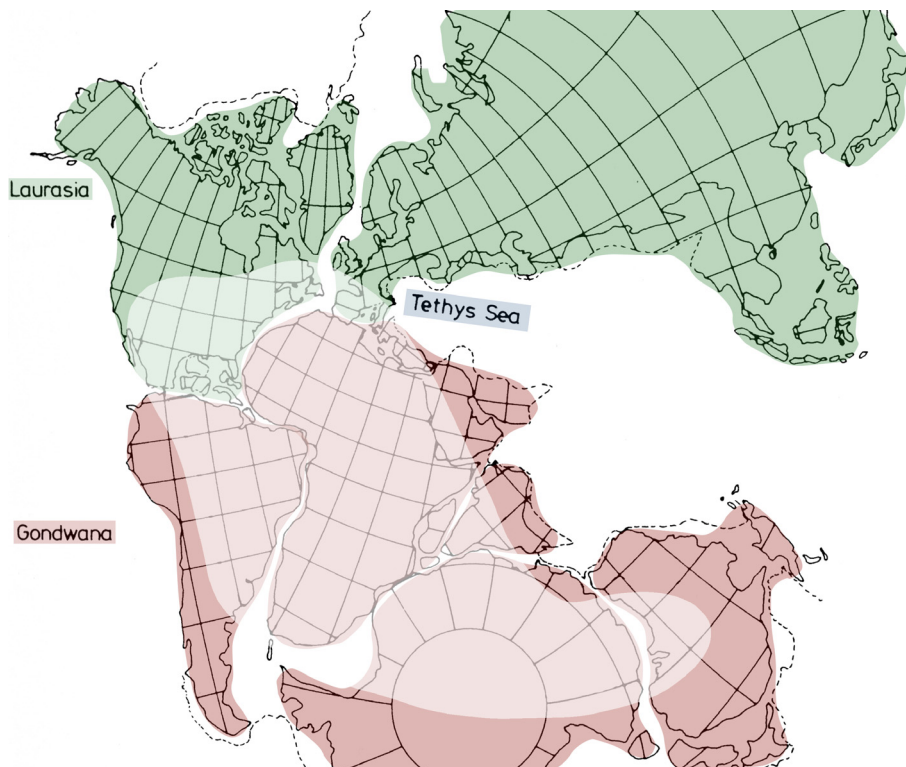


Abb. 1.2.2: Der Superkontinent Pangäa im beginnenden Mesozoikum (~ 250 Mio. Jahre) – die Bestandteile der Superkontinente Laurasia und Gondwana sind farbig markiert und die Grenzen des *Xerotherm-Pangäischen Elements* weiß überlagert (modifiziert aus Frey & Kürschner 1988).



Abb. 1.2.3: Die Ausdehnung des ehemaligen *Xerotherm-Pangäisches Elements* heute (weiß überlagert) und die Verteilung der Fundorte von 21 *Peltulaceen*-Spezies, die ein ähnliches Muster zeigt.

### 1.3 Taxonomie und Phylogenie

Es war Nylander (1853), der als erster den Namen *Peltula* an eine Flechte vergab und mit *P. radicata* als Typus die Gattung begründete. *Peltula* wurde lange Zeit als Sektion innerhalb der Gattung *Heppia* von den Heppiaceen aufgefasst (Vainio 1890, Zahlbruckner 1906, 1926 – die Heppiaceen besiedeln dasselbe Habitat wie die Peltulaceen). In der Folge wurden etliche *Peltula*-Spezies anhand ihrer Wuchsform in vier verschiedene Sektionen von *Heppia* eingereiht, bis Gyelnik (1935) die Sektionen in Gattungen innerhalb der Heppiaceae überführte, so dass *Peltula* den Gattungsrang zurückerhielt. Wetmore (1970) erkannte einen fundamentalen Unterschied zwischen *Heppia* und *Peltula*: den polysporen Ascus mit der charakteristischen Schleimhülle von *Peltula* und den octosporen Ascus ohne Schleimhülle von *Heppia*. Die Gattung *Peltula* führte Wetmore (1970) immer noch innerhalb der Heppiaceae. Die Integrität der Heppiaceen wurde allerdings bald von Henssen und Jahns (1973) in Zweifel gezogen. Sie wiesen auf Unterschiede in der Fruchtkörperentwicklung zwischen *Heppia* und *Peltula* hin. Büdel (1987a) konnte einen einheitlichen Entwicklungsgang für eine Reihe von *Peltula*-Spezies zeigen. Außerdem ist die Thallusanatomie zwischen beiden Gattungen verschieden. Die Fruchtkörperentwicklung bei *Peltula* verläuft zwar ähnlich wie bei einigen Lichinaceae, diese haben jedoch einen prototunicaten, octosporen Ascus. Aufgrund dieser Merkmale erhob Büdel (1987a) *Peltula* in den Familienrang. Die Peltulaceae stehen in der Ord-



nung der Lichinales (Eriksson et al. 2006), welche vier Familien – Gloeophepiaceae, Heppiaceae, Lichinaceae und Peltulaceae – umfasst. Die Heppiaceae im Familienrang werden allerdings bezweifelt (Schultz et al. 2001, Schultz & Büdel 2003), die Gattung scheint vielmehr Teil der Lichinaceae zu sein. Diese Lichinaceae *sensu* Schultz sind auch die mutmaßliche Schwestergruppe zu den Peltulaceae (Schultz 2000). Reeb et al. (2004) definierten schließlich die Klasse Lichinomycetes, mit den Lichinales als einziger Ordnung. Aktuelle molekularphylogenetische Arbeiten (Miadlikowska et al. 2006, Spatafora et al. 2006) sehen die Geoglossaceae (Leotiomycetes) als am engsten verwandte Gruppe zu den Lichinomyceten an.

So klar die morphologisch-anatomische Abgrenzung der Peltulaceae nach außen hin ist, so wenig ist bekannt, wie die einzelnen Spezies phylogenetisch zusammenhängen. Egea (1989) machte den Versuch, Arten zu gruppieren, die vermutlich eng verwandt sind. Er identifizierte zwei »Hauptevolutionslinien« innerhalb der Familie, die auf dem Modus der Substratanheftung basieren: zum einen Spezies, die einen Umbilicus ausbilden (z. B. *P. euploca* oder *P. africana*) und zum anderen Spezies, die über ein Rhizohyphenbüschel am Substrat ansitzen (z. B. *P. patellata* oder *P. psammophila*). Darüber hinaus betrachtete er subfruticose Spezies als am höchsten evolviert, er stellte jedoch keine explizite phylogenetische Hypothese auf. Auch Büdel (1987a) beschrieb zwei Artengruppen mutmaßlich verwandter Spezies: die »Formgruppe«, bestehend aus den subfruticosen Arten *P. congregata*, *P. capensis*, *P. cylindrica* und *P. tortuosa* sowie die »kritische Gruppe« aus den Arten *P. impressa*, *P. marginata*, *P. placodizans*, *P. umbilicata* und *P. zahlbruckneri*. Letztere Spezies lassen sich laut Büdel (1987a) speziell im Jugendstadium nur schwer voneinander unterscheiden.

Ein Grund für das bisherige Fehlen einer phylogenetischen Hypothese für die Peltulaceae dürfte in der relativ uniformen Ausprägung der anatomischen Merkmale – insbesondere der Fruchtkörper – zu suchen sein. Zur Artabgrenzung dienen vielmehr morphologisch-ökologische Merkmale. Im Rahmen einer Staatsexamensarbeit wurde dennoch der Versuch unternommen, das vorhandene morphologisch-anatomische Merkmalspektrum der Peltulaceen-Spezies für eine phylogenetische Analyse nutzbar zu machen (Abb. 1.3.1, Arendholz 2005). Die *Maximum-Parsimony*-Analyse zeigte innerhalb der Peltulaceae lediglich zwei Beziehungen, die eine Bootstrap-Unterstützung von mehr als 75 % erhalten. Die Merkmale, die zur Gruppierung der beiden *Neoheppia*-Arten führen, hängen sämtlich mit der krustig-areolierten Thallusform zusammen, während *P. crispatula* und *P. lingulata* alleine aufgrund der fehlenden (bisher nicht beschriebenen) Apothecien als Schwestertaxa erscheinen. Verschiedene Taxon- und Merkmalsätze änderten das Ergebnis nur unwesentlich (Arendholz 2005). Mit der phylogenetischen Analyse des morphologischen Merkmalskomplexes war es also nicht möglich, Synapomorphien zu identifizieren, die die Abgrenzung von Gruppierungen innerhalb der Peltulaceae rechtfertigen.

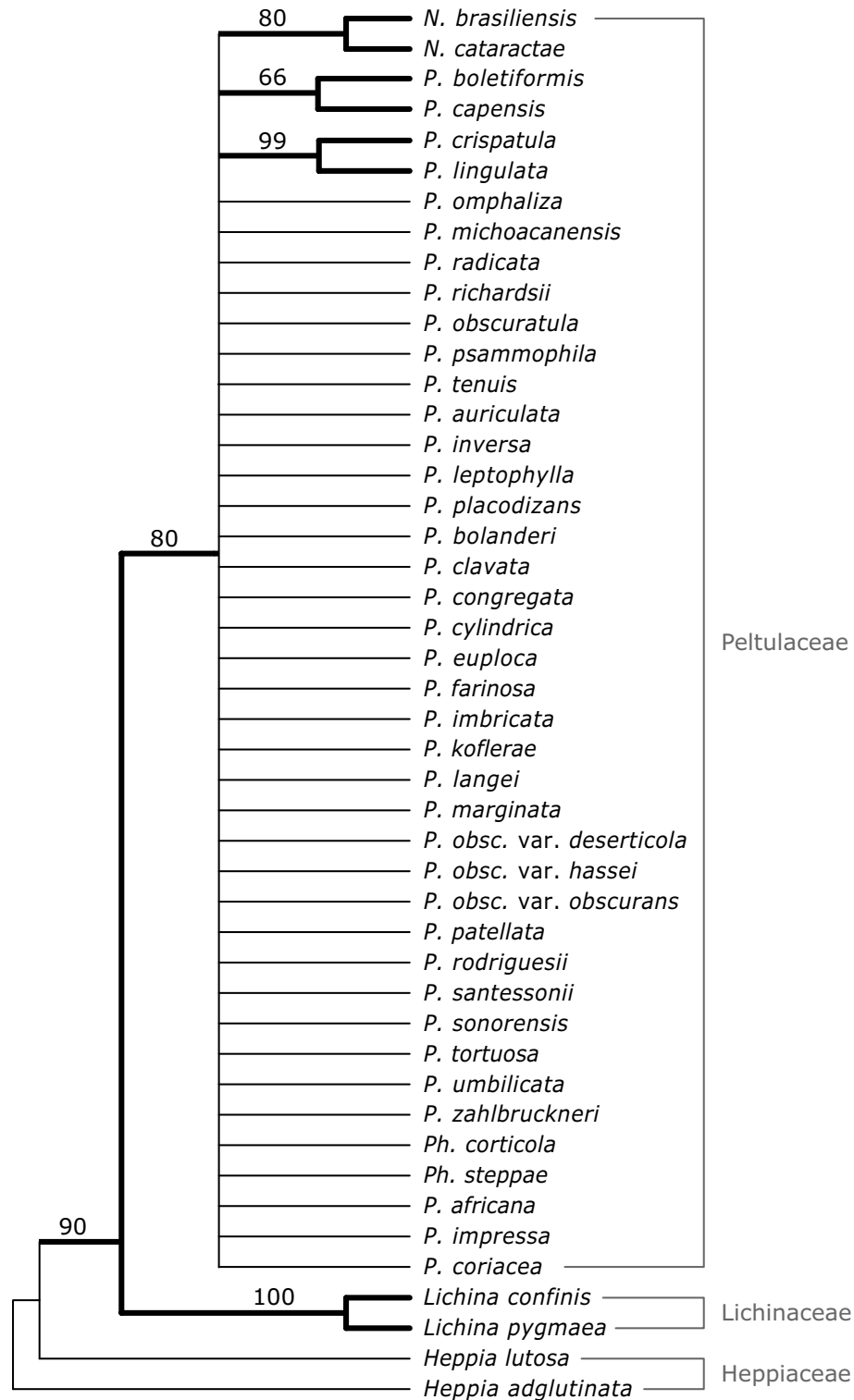


Abb. 1.3.1: MP-Analyse von 35 morphologischen, anatomischen und ökologischen Merkmalen (modifiziert aus Arendholz 2005) – *strict-consensus*-Baum aus 396 gleich sparsamen Bäumen, in dem nur Äste mit BS-Unterstützung  $\geq 50\%$  aufgelöst sind (dicker gezeichnet, BS-Wert über dem Ast angegeben). *Heppia adglutinata* diente als Wurzel.

## 1.4 Zielsetzung

Die in Abschnitt 1.2 dargelegten Besonderheiten der Verbreitung der Peltulaceae führten zu der Frage nach dem geographischen Ursprung der Familie. Das bevorzugte Auftreten auf den südhemisphärischen Kontinenten in Verbindung mit den Ähnlichkeiten zum *Xerotherm-Pangäischen Element* der Marchantiales und Ricciales legen ähnlich wie für die Moose einen gondwanischen Ursprung der Peltulaceae nahe. Mit dem Entstehen Pangäas im Mesozoikum konnten die Peltulaceen sich dann über die gesamten Landmassen ausbreiten, begünstigt durch das aride Klima. Auch wenn fossile Belege von Flechten rar sind, so gibt es doch frühe Hinweise auf lichenisierte Pilze, wie *Winfrenatia reticulata* aus dem Devon (~ 400 Mio. Jahre), wahrscheinlich ein Zygomycet, der mit Cyanobakterien vergesellschaftet war (Taylor et al. 1997). Aber auch ein Ascomycet aus dieser Zeit ist beschrieben (Taylor et al. 1999) und ebenso Photobionten, die Cyanobakterien ähneln (Taylor et al. 1995). Die Existenz von Cyanobakterien reicht sogar noch viel weiter zurück – man geht davon aus, dass sie 3 bis 3,5 Mrd. Jahre alt sind. Die Peltulaceen (-Vorläufer) könnten also ohne Weiteres Teil der xerophytischen Pangäa-Flora gewesen – und somit gondwanischen Ursprungs – sein. Diese Vermutung sollte mit Hilfe einer phylogenetischen Analyse der Familie geklärt werden, indem durch darauf aufbauende geographische Analysen – *ancestral area analysis* (Bremer 1992) und *dispersal vicariance analysis* (Ronquist 1996) – das Ursprungsareal auf kontinentalem Niveau identifiziert wird.

Morphologie und Anatomie der Peltulaceae haben sich bisher als gut geeignet erwiesen, um die Familie von anderen Taxa abzugrenzen. Wie die Ergebnisse von Arendholz (2005) zeigten, ist dieser Merkmalskomplex jedoch nicht ausreichend zur Auflösung der Verwandtschaftsverhältnisse der einzelnen Spezies zueinander. Aus diesem Grunde wurde ein molekularer Ansatz verfolgt, um zusätzliche Daten für möglichst alle derzeit bekannten Peltulaceae zu erheben. Dabei wurden sechs Gene von unterschiedlichem Konservierungsgrad gewählt, denn die resultierende Phylogenie sollte in jedem Fall komplett aufgelöst sein – eine Voraussetzung für die geographische Analyse zur Klärung des Ursprungskontinents. Außerdem lassen sich die von Büdel (1987a) und Egea (1989) postulierten Artengruppen überprüfen. Auch einige Vertreter der Lichinaceae wurden in diese Arbeit einbezogen, um Schultz' (2000) These zum Schwestergruppenverhältnis zwischen Peltulaceae und Lichinaceae näher zu beleuchten. Schließlich dienen die Daten auch noch dem Zweck, die morphologisch-anatomisch begründete Monophylie der Peltulaceae mittels molekularer Merkmale nachzuvollziehen.



## 2 Material und Methoden

### 2.1 Untersuchte Taxa

Von den bisher bekannten 43 Spezies der Peltulaceae wurden 37 in der vorliegenden Arbeit berücksichtigt. Für die Arten *Peltula applanata*, *P. hawaiiensis*, *P. minuta* und *P. tenuis* konnte kein Material beschafft werden, während das verfügbare Material der Spezies *P. koflerae* und *P. langei* nicht ausreichte, um molekularbiologische Untersuchungen vorzunehmen. Ein Teil des verwendeten Materials wurde während eines Feldaufenthalts in Südafrika im Oktober 2003 gesammelt, der andere Teil stammt aus B. Büdels Herbarium. Einige wenige Proben wurden aus Herbarien entliehen. Eine komplette Liste des molekularbiologisch bearbeiteten Materials befindet sich im Anhang ab S. 111. Nach Möglichkeit wurde DNA von mindestens zwei Vertretern jeder Spezies gewonnen. Vertreter der Flechtenfamilie Lichinaceae (Lichinales) als mutmaßliche Schwestergruppe der Peltulaceae (Schultz 2000) sollten ebenfalls in diese Arbeit einbezogen werden. Die Sequenzgewinnung von Lichinaceen-Spezies erwies sich jedoch als überaus schwierig im Verhältnis zu den Peltulaceen, da die Lichinaceen viel stärker von Kontaminationen betroffen zu sein scheinen. Auch eine Klonierung führte oft nicht zur Lichinaceen-Zielsequenz, so dass insgesamt nur drei Lichinaceen-Vertreter berücksichtigt werden konnten, und für keine der drei Spezies wurden alle sechs gewünschten Gene gewonnen (siehe Sequenztafel im Anhang, S. 120). Das Flechtenmaterial wurde zur Identifikation zunächst mit Hilfe eines Stereomikroskops (Stemi 2000-C, Zeiss, Oberkochen) untersucht, anschließend mittels eines Gefriermikrotoms (Reichert-Jung Frigomobil 1206, Leica, Bensheim) in 16–20 µm dicke Schnitte zerteilt, mit Lactophenol-Baumwollblau gefärbt und versiegelt, um permanente Präparate zu erhalten. Die Mikroskopie erfolgte an einem Mikroskop mit differenzieller-Interferenzkontrast-(DIC)-Ausstattung (Zeiss Axioskop, Zeiss). Der Dokumentation an Stereomikroskop und Axioskop diente eine aufmontierte Digitalkamera (Canon Powershot G6, Canon). Wenn zur Speziesabgrenzung nötig, wurden die Farbreaktionen der Ascusgewebe mit Kaliumhydroxid (K/KOH, Riedel de Haën, Seelze), Jod (I/Lugol'sche Lösung, Merck KGaA, Darmstadt) und I nach KOH-Vorbehandlung an Handschnitten von Apothecien getestet und in Quetschpräparaten mikroskopisch kontrolliert.

### 2.2 Molekulare Methoden

#### *DNA-Extraktion*

Das trockene Flechtenmaterial wurde mechanisch soweit wie möglich von sichtbaren Kontaminationen (meist Cyanobakterien) befreit. Genomische DNA wurde für die Mehrheit der Proben nach folgendem Protokoll isoliert:

- ▶ feines Zermahlen des Materials mit einem Mikropistill (ohne Einsatz von flüssigem Stickstoff)

- ▶ Aufnahme des Pulvers in 250-400 µl (je nach Ausgangsmenge) 2 %igem SDS und nochmaliges kurzes Mörsern
- ▶ Zugabe derselben Menge Phenol-Chloroform, kurzes Schütteln im Vortexer
- ▶ Zentrifugation bei 14 000 rpm für 10 Minuten
- ▶ Überführen der oberen Phase in ein frisches Gefäß und fällen mit Isopropanol (60 % der Volumenmenge), vorsichtiges Durchmischen
- ▶ Zentrifugation bei 14 000 rpm für 5 Minuten, vorsichtiges Abgießen des Überstands
- ▶ Waschen des Pellets mit 200 µl Ethanol 70 %, vorsichtiges Abgießen des Überstands
- ▶ 10 Minuten Trocknen in der Vakuumzentrifuge oder im Exsikkator
- ▶ Suspendieren in 100 µl sterilem H<sub>2</sub>O bidest.

Für die DNA-Extraktion einzelner Schuppen aus der Gattung *Peltula* wurde das *Invisorb Spin Plant Mini Kit* (Invitek, Berlin) verwendet, dem Kit-eigenen Protokoll folgend. Ein mit SYBRGreen I (Cambrex, East Rutherford, NJ, USA) oder GelStar (Biozym, Hessisch Oldendorf) gefärbtes 1 %iges TAE-Agarosegel diente zur Qualitätskontrolle der Extrakte, die anschließend bei -20 °C gelagert wurden. Für die DNA-Amplifikation via PCR (*polymerase chain reaction*) wurden die DNA-Extrakte 10-fach verdünnt und diese Verdünnungen dann bei 4 °C aufbewahrt.

#### *DNA-Amplifikation und Sequenzierung*

Die symmetrischen PCR-Reaktionen hatten insgesamt sechs Gene zum Ziel: die nucleäre kleine ribosomale Untereinheit (nucSSU), die nucleäre große ribosomale Untereinheit (nucLSU), die mitochondriale kleine ribosomale Untereinheit (mtSSU), die *internal transcribed spacer* ITS1 und ITS2 inklusive der 5.8S ribosomalen DNA (ITS), die konservierte Region 7-11 (Liu et al. 1999) der zweitgrößten RNA-Polymerase-Untereinheit (*RPB2/7-11*) und ein Teil des *β-Tubulin*-Gens (*β-Tub*). Da etwa

<b>Promega-PCR</b>	<b>Abgene-PCR</b>	<b>Sequenzierungs-PCR</b>
12,5 µl Mastermix	2,5 µl PCR-Puffer N	1 µl BigDye
0,625 µl BSA	1 µl BSA	2 µl Primer (5 mM)
je 2,5 µl Primer (10 mM)	je 1,25 µl Primer (10 mM)	3 µl Seq-Puffer
1,875 µl H <sub>2</sub> O	4,7 µl H <sub>2</sub> O	4 µl PCR-Produkt
5 µl Template-DNA	10 µl Template-DNA	
	4 µl dNTPs	
	0,3 µl TAQ-Polymerase	
Endvolumen: 25 µl	Endvolumen: 25 µl	Endvolumen: 10 µl

*Tabelle 2.2.1:* Zusammensetzung einer PCR-Reaktion je nach verwendetem PCR-Kit (Promega, Abgene) und die Zusammensetzung einer Sequenzierungs-PCR (Seq-Puffer: 5 ml 1M MgCl<sub>2</sub>, 200 µl 1M Tris pH 9, 795 µl steriles, doppelt destilliertes H<sub>2</sub>O). Gelegentlich wurden der Reaktion 0,5 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM) zugesetzt, um schwache Amplifikationen zu verstärken. Demselben Zweck diente eine Erhöhung der Zyklenzahl im PCR-Programm (siehe Tabelle 2.2.3).

die Hälfte der molekularen Arbeiten an der Duke University in Durham (NC, USA) durchgeführt wurden, kamen zwei verschiedene PCR-Kits zum Einsatz. Zum einen das Kit der Fa. Promega (Mannheim, #M7505), dessen Mastermix bereits Puffer,

Gen	Primer	Sequenz 5´-3´	bp	Referenz
<b>nucSSU</b>				
	<b>nssu131</b>	CAG TTA TCG TTT ATT TGA TAG TAC C	25	Kauff & Lutzoni 2002
	nssu1088	TGA TTT CTC GTA AGG TGC CG	20	Kauff & Lutzoni 2002
	nssu1088R	CGG CAC CTT ACG AGA AAT CA	20	Kauff & Lutzoni 2002
	nssu634	CCC CAG AAG GAA AGI CCC GIC C	15	Kauff & Lutzoni 2002
	nssu897R	AGA GGT GAA ATT CTT GGA	18	Kauff & Lutzoni 2002
	sr6	TGT TAC GAC TTT TAC TT	17	Vilgalys unveröffentlicht <sup>a</sup>
	sr7	GTT CAA CTA CGA GCT TTT TAA	21	Vilgalys unveröffentlicht <sup>a</sup>
	sr7R	TTA AAA AGC TCG TAG TTG AAC	21	Vilgalys unveröffentlicht <sup>a</sup>
	sr10	CCC GTG TTG AGT CAA A	16	Vilgalys unveröffentlicht <sup>a</sup>
	sr10R	TTT GAC TCA ACA CGG G	16	Vilgalys unveröffentlicht <sup>a</sup>
	sr11	GTA GCC GTT TCT CAG GCT CC	20	Spatafora et al. 1995
	sr11R	GGA GCC TGA GAA ACG GCT AC	20	Spatafora et al. 1995
	ns6	GCA TCA CAG ACC TGT TAT TGC CTC	24	White et al. 1990
	<b>ns24</b>	AAA CCT TGT TAC GAC TTT TA	20	Gargas & Taylor 1992
<b>nucLSU</b>				
	<b>lr0R</b>	GTA CCC GCT GAA CTT AAG	18	Rehner & Samuels 1994
	lr2	TTT TCA AAG TTC TTT TC	17	Rehner & Samuels 1994
	lr2R	AAG AAC TTT GAA AAG AG	17	Rehner & Samuels 1994
	lr3	GGT CCG TGT TTC AAG AC	17	Vilgalys & Hester 1990
	lr3R	GTC TTG AAA CAC GGA CC	17	Vilgalys & Hester 1990
	lr5	ATC CTG AGG GAA ACT TC	17	Vilgalys & Hester 1990
	lr5R	GAA GTT TCC CTC AGG AT	17	Vilgalys & Hester 1990
	lr6	CGC CAG TTC TGC TTA CC	17	Vilgalys & Hester 1990
	lr6R	GGT AAG CAG AAC TGG CG	17	Vilgalys & Hester 1990
	<b>lr7</b>	TAC TAC CAC CAA GAT CT	17	Vilgalys & Hester 1990
<b>mtSSU</b>				
	<b>mrssu1</b>	AGC AGT GAG GAA TAT TGG TC	20	Zoller et al.1999
	mrssu2R	CCT TCG TCC TTC AAC GTC AG	20	Zoller et al.1999
	<b>mrssu3R</b>	ATG TGG CAC GTC TAT AGC CC	20	Zoller et al.1999
<b>ITS</b>				
	<b>its1</b>	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G	19	White et al. 1990
	its4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	20	White et al. 1990
	<b>lr5</b>	ATC CTG AGG GAA ACT TC	17	Vilgalys & Hester 1990
<b>RPB2</b>				
	<b>rpb2-7F</b>	ATG GGK AAG CAR GCW ATG GG	20	Liu et al. 1999
	<b>rpb2-11aR</b>	GTG WAT YTT RTC RTC MAC C	19	Liu et al. 1999
	rpb2-11bR	CAA TCW CGY TCC ATY TCW CC	20	Liu et al. 1999
	frpb2-7cF	ATG GGY AAR CAA GCY ATG GG	20	Liu et al. 1999
	frpb2-11aR	GCR TGG ATC TTR TCR TCS ACC	21	Liu et al. 1999
<b>β-Tub</b>				
	<b>bt3-LM</b>	GAA CGT CTA CTT CAA CGA G	18	Myllys et al. 2001
	<b>bt10-LM</b>	TCG GAA GCA GCC ATC ATG TTC TT	23	Myllys et al. 2001
	Bt2a	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC	24	Glass & Donaldson 1995
	Bt2b	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC	24	Glass & Donaldson 1995
	T1	AAC ATG CGT GAG ATT GTA AGT	21	O'Donnell & Cigelnik 1998
	T2	TAG TGA CCC TTG GCC CAG TTG	21	O'Donnell & Cigelnik 1997
	T10	ACG ATA GGT TCA CCT CCA GAC	21	O'Donnell & Cigelnik 1997
	T12	AAC AAC TGG GCC AAG GGT CAC	21	O'Donnell & Cigelnik 1997
	T22	TCT GGA TGT TGT TGG GAA TCC	21	O'Donnell & Cigelnik 1998
	T222	GAC CGG GGA AAC GGA GAC AGG	21	O'Donnell & Cigelnik 1997
	bt698F	TCC GTT CGG TCA ACT CTT C	19	diese Arbeit (A. Rauhut)
	bt705R	TCA ACT TTT CCG TCC CGA	18	diese Arbeit (A. Rauhut)

<sup>a</sup>[www.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm](http://www.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm)

*Tabelle 2.2.2:* Primersequenzen der für Amplifikation und Sequenzierung verwendeten Primer – diejenigen Primer, die hauptsächlich für die Amplifikation eingesetzt wurden, sind fett gedruckt (siehe Text für andere verwendete Primerkombinationen). Die Amplifikationsprimer wurden auch für die Sequenzierung genutzt.

dNTPs und TAQ-Polymerase enthält. Zum anderen wurden Reaktionskomponenten von Abgene (Rochester, NY, USA) verwendet. *Bovine serum albumin* (BSA) wurde in unterschiedlichen Konzentrationen zugesetzt: in 20 mg/ml beim Promega-Kit und in 10 mg/ml für die Abgene-Variante. Die finale Zusammensetzung der PCR-Reaktionen findet sich in Tabelle 2.2.1.

Eine Vielzahl unterschiedlicher Primerkombinationen wurde verwendet, da die Amplifikation einiger Gene Schwierigkeiten bereitete. Hier war unter Umständen die Amplifikation in Teilschritten erfolgreich, oder aber es konnte zumindest die Hälfte einer Sequenz gewonnen werden. Tabelle 2.2.2 gibt Auskunft über alle verwendeten Primer, wobei hauptsächlich die fett gedruckten Primerpaare der Amplifikation dienen. Darüber hinaus fanden folgende Primerkombinationen Verwendung: nsu131/nsu1088 und nsu1088R/ns24 (nucSSU), lr0R/lr5 und lr5R/lr7 (nuLSU), mrssu1/mrssu2R (mtSSU), its1/its4 (ITS), rpb2-7F/rpb2-11bR und frpb2-7cF/frpb2-11aR (*RPB2*/7-11), T1/T22, T1/Bt2b und Bt2a/T22 ( $\beta$ -*Tub*). Eine Primerkarte und Informationen zur Länge der erzielten PCR-Produkte findet sich in Abbildung 2.2.1. Anfänglich wurde die ITS-Region mit den Primern its1/its4 amplifiziert, die Identität der entstandenen Produkte konnte jedoch durch eine BLAST-Suche in GenBank (Altschul et al. 1997, [www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/)) nicht verifiziert werden, da es keinerlei ITS-Sequenzen von Lichinales-Arten in GenBank gab. Die ITS-Sequenzen waren darüber hinaus recht variabel, so dass die BLAST-Ergebnisse höchst unterschiedlich ausfielen. Daraufhin wurde die ITS-Region zusammen mit dem ersten Teil der nuLSU amplifiziert (Primer its1/lr5). Zwei Sequenzen der nuLSU waren in GenBank vorhanden, so dass vor einer Sequenzierung der ITS zunächst das kurze anhängende nuLSU-Fragment als *Peltula*-Sequenz verifiziert werden konnte. Die Amplifizierungsbedingungen (PCR-Protokoll) sind in Tabelle 2.2.3 aufgelistet. Länge und Qualität der PCR-Produkte wurden durch Gelelektrophorese auf einem 1 %igen Agarose-TAE-Gel bestimmt, ebenso wie die Güte der DNA-Extraktionen. Die DNA wurde hierbei mit SYBRGreen oder GelStar gefärbt. PCR-Produkte, die mehrfache Banden oder ein schwaches Signal aufwiesen, wurden mit Hilfe des TOPO TA Cloning Kits (Invitrogen, Karlsruhe und Carlsbad, CA, USA)

PCR-Programm			Klonierungs-PCR		Sequenzierungs-PCR			
1x:	3'	95 °C	1x:	10'	94 °C	1x:	2'	96 °C
34x:	1'	95 °C	34x:	1'	94 °C	24x:	30''	96 °C
	45''	50-60 °C		1'	55 °C		15''	50 °C
	2'	72 °C		1'30''	72 °C		4'	60 °C
1x:	10'	72 °C	1x:	10'	72 °C	1x:	10'	72 °C
halten:		8 °C	halten:		8 °C	halten:		4 °C

Tabelle 2.2.3: PCR-Bedingungen für die verschiedenen Anwendungen: Die Annealingtemperatur für die Amplifikation der ribosomalen Gene (nucSSU, nuLSU, ITS, mtSSU) lag bei 50 °C. Die *RPB2*- und die  $\beta$ -*Tub*-T-Primer benötigten eine Annealingtemperatur von 52 °C, das bt3-LM/bt10-LM-Primerpaar hingegen eine Temperatur von 60 °C. Die Elongationszeit von 2 Minuten bei 72 °C war für die beiden proteinkodierenden Gene *RPB2* und  $\beta$ -*Tub* auf 1,5 Minuten reduziert.



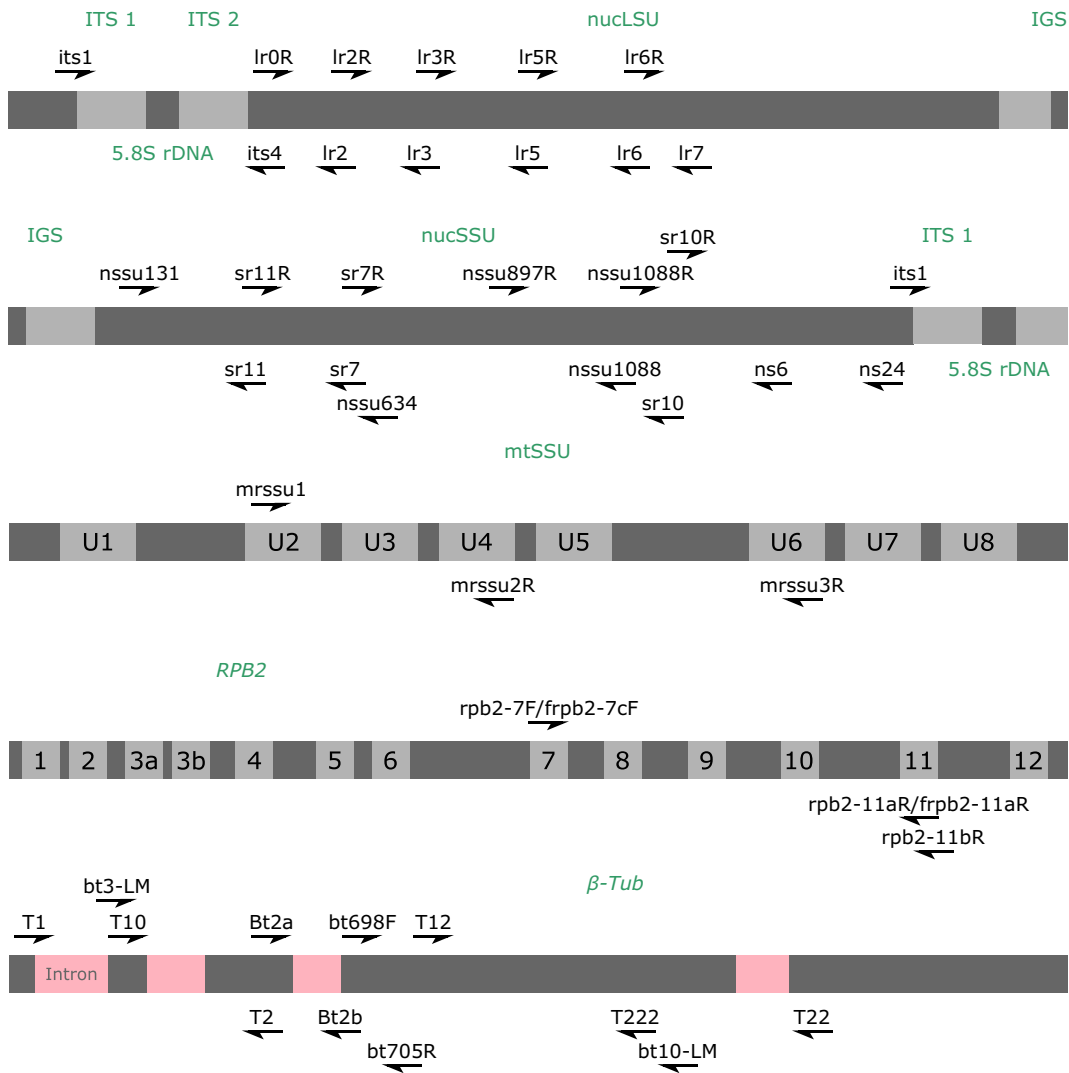


Abb. 2.2.1: Übersichtskarte der verwendeten Primer (modifiziert aus Zhou & Stanosz 2001 und [www.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm](http://www.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm)) – die Größe der amplifizierten Produkte (fett gedruckte Primer in Tabelle 2.2.2) schwankt insbesondere für die nuLSU (~1 300 bp bis ~1 900 bp) und die nucSSU (~1 600 bp bis ~3 000 bp) durch das Auftreten von Introns bei einigen aber nicht allen untersuchten Spezies. Die ITS-Region inklusive der 5.8S rDNA kommt auf eine Länge von etwa 550 bp. Die Größe des mtSSU-PCR-Produkts beträgt ca. 750 bp; die universellen konservierten Regionen U1-U8 sind eingezeichnet. Ebenso repräsentieren die mit Zahlen markierten Blöcke im RPB2-Gen konservierte Bereiche bei Eukaryoten. Für diese Arbeit wurde lediglich der Abschnitt 7-11 sequenziert, da die anderen verfügbaren Primer bei den Peltulaceen kein PCR-Produkt ergaben. Die Produktlänge ist hier ca. 850 bp. Introns treten keine auf, im Gegensatz zum  $\beta$ -Tubulin-Gen. Die PCR-Produktlänge beträgt für das Primerpaar bt3/bt10 etwa 800 bp, für das Primerpaar T1/T22 etwa 1 300 bp.

kloniert. Die Klonierungs-PCR-Ansätze hatten dabei die Zusammensetzung der Original-PCR (siehe Tabelle 2.2.1) mit dem Unterschied, dass die Template-DNA durch dieselbe Menge Wasser ersetzt wurde; anschließend wurden die inserttragenden Bakterien zugesetzt. Mindestens vier *Escherichia-coli*-Klonkolonien pro PCR-

Produkt wurden amplifiziert (Klonierungs-PCR-Protokoll siehe Tabelle 2.2.3). Alle PCR-Produkte wurden mit dem Montage-Kit der Fa. Millipore (Schwalbach und Billerica, MA, USA) entsprechend der Anleitung aufgereinigt. Die Sequenzierung erfolgte auf einem automatischen Sequenziergerät (ABI, Perkin-Elmer, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) mit dem BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Abi Prism, Perkin-Elmer, Applied Biosystems). Die Sequenzierungsansätze und -bedingungen sind den Tabellen 2.2.1 und 2.2.3 zu entnehmen.

## 2.3 Analyse der molekularen Daten

### *Sequenzanalyse und Alignment*

Sequenzfragmente wurden mit Hilfe der Software Sequencher 4.2/4.5 (GeneCodes, Ann Arbor, MI, USA) assembliert und manuell korrigiert. Zur Identifikation wurde BLAST genutzt (Altschul et al. 1997, [www.ncbi.nlm.nih.gov/blast](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast)). Bei Studienbeginn waren jedoch lediglich vier Sequenzen (nucSSU und nuLSU) zweier *Peltula*-Arten in GenBank gespeichert, so dass anhand des BLAST-Ergebnisses die *Peltula*-Identität der neu gewonnenen Sequenzen zunächst nicht verifiziert werden. Erst nachdem mindestens zehn Sequenzen eines Gens sequenziert waren, konnte durch eine phylogenetische Analyse geklärt werden, welche BLAST-Ergebnisse den Peltulaceen-Sequenzen entsprechen beziehungsweise Kontaminationen zuzuordnen sind. Mit zunehmender Peltulaceen-Datenbasis wurde die BLAST-Suche auf eine lokale Datenbank beschränkt, die mit BioEdit 7.04.1 (Hall 1999) erstellt wurde. Die lokale Datenbank enthielt neben den Peltulaceen-Sequenzen auch mehrere Fremdsequenzen, vor allem von häufiger vorkommenden Kontaminationen.

Das Alignment der ribosomalen Gene (nucSSU, nuLSU, mtSSU und ITS) geschah mit Hilfe der Software SAM 3.5 (Karplus et al. 1998). SAM nutzt ein *Hidden Markov Model* (HMM), das eine Abfolge von Knoten hat, welche drei Zustände annehmen können: *match*, *insert* und *delete*. Die Abfolge der *match*-Zustände bildet das HMM, also die Spalten des Alignments. Indels werden mittels der *insert*- und *delete*-Zustände modelliert. Das HMM wird anhand von Trainingssequenzen entwickelt. Für diese Arbeit wurden die Modelle anhand eines mit BioEdit generierten ClustalW-Alignments entworfen und dann entlang dieses Modells das Alignment durchgeführt. Anschließend wurden die SAM-Alignments auf Introns und in ihrer Positionshomologie zweifelhafte Regionen (*ambiguous regions*) hin untersucht. Introns und *ambiguous regions* wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die Alignments der beiden proteinkodierenden Gene *RPB2/7-11* und  $\beta$ -*Tub* wurde unter Beachtung des Aminosäurencodes mit BioEdit durchgeführt. Das  $\beta$ -*Tub*-Alignment enthielt keine *ambiguous regions*, Introns wurden für die Analysen entfernt. Das *RPB2/7-11*-Alignment enthielt weder Introns noch *ambiguous regions* und konnte dementsprechend komplett analysiert werden.

## *Datensets und phylogenetische Analysen*

Die Kombination von Datensätzen verschiedener Gene verspricht im Allgemeinen eine verbesserte Auflösung in der phylogenetischen Analyse, also eine höhere Zahl statistisch signifikant gestützter Äste. Vor der Kombination der Daten sollte allerdings überprüft werden, ob die Datensätze kongruent sind, d.h. dasselbe phylogenetische Signal enthalten (z. B. Huelsenbeck et al. 1996, Review). Um auf mögliche Konflikte zwischen den Genen zu testen, wurden zunächst alle sechs Gene einzeln analysiert. Die Wahl der Außengruppe war bestimmt von dem kürzlich veröffentlichten »*Assembling the fungal tree of life*«-(Aftol)-Baum (Lutzoni et al. 2004) und der Sequenzverfügbarkeit der verschiedenen in Frage kommenden Taxa. Drei Taxa wurden als potenzielle Außengruppentaxa getestet: *Cudonia circinans* (Cudoniaceae, Leotiomycetes), *Diaporthe phaseolorum* (Valsaceae, Sordariomycetes) und *Trichoglossum hirsutum* (Geoglossaceae, Leotiomycetes). *T. hirsutum* erwies sich hierbei als beste Außengruppenwahl und wurde also zum Wurzeln der Bäume verwendet. Alle phylogenetischen Analysen wurden ausschließlich unter dem *Maximum-Likelihood*-(ML)-Optimierungskriterium durchgeführt. ML erlaubt es, ein konkretes Evolutionsmodell zu verwenden, anstatt von impliziten Annahmen auszugehen, wie es z. B. bei *Maximum Parsimony* (MP) der Fall ist. Auch werden unter dem ML-Kriterium im Gegensatz zu MP alle vorhandenen Daten zur Phylogenieabschätzung genutzt, und es ist in der Regel auch keine *long branch attraction* (LBA, die fälschliche Gruppierung von Taxa aufgrund von Analogien in Stammlinien mit einer hohen Substitutionszahl, siehe z. B. Felsenstein 2004) zu erwarten, wenn das Modell die Daten korrekt beschreibt. Das Evolutionsmodell für jedes Gen und für das kombinierte Datensatz aus allen Genen wurde mit Hilfe von Modeltest 3.7 (Posada & Crandall 1998) geschätzt und durch den hierarchischen *Likelihood-Ratio*-Test ausgewählt. Für jede der drei Codonpositionen der proteinkodierenden Gene, ebenso wie für eine Kombination der ersten und zweiten Position wurden außerdem separate Modelle gewählt. Im Wesentlichen werden dabei die folgenden Parameter berücksichtigt: die Häufigkeit der verschiedenen Basen im Alignment, das Verhältnis von Transitionen zu Transversionen, die Anzahl unveränderlicher Positionen und das Auftreten heterogener Veränderungsrate von Merkmalen. Diese Ratenheterogenität lässt sich als stete Häufigkeitsverteilung aller beobachteten Raten darstellen ( $\gamma$ -Verteilung). Da die exakte Modellierung der  $\gamma$ -Verteilung bei weitem zu rechenintensiv ist, wurde die  $\gamma$ -Verteilung für alle Analysen in vier Kategorien aufgeteilt. Die Beschreibung der Form der  $\gamma$ -Verteilung geschieht über die Angabe des sogenannten *shape*-Parameters  $\alpha$ .

Die ML-Analysen wurden mit der Software PHYML (Guindon & Gascuel 2003) durchgeführt, die im Vergleich zu der ML-Implementierung in PAUP (Swofford 2002) erheblich weniger rechenintensiv ist, da vor allem die Parameter »Topologie« und »Astlängen« parallel optimiert werden. PHYML bietet bisher nicht die Möglichkeit, einen Datensatz zu partitionieren, um z. B. verschiedene Evolutionsmodel-

le für Codonpositionen anzunehmen, weswegen immer nur ein Modell verwendet wurde. Die erforderlichen Angaben zu den Modellparametern stammten aus Modeltest. Die Analyse wurde mit einem distanzbasierten *Bio-Neighbour-Joining*-Baum (BioNJ, Gascuel 1997) und voller Optimierung aller Parameter (Topologie, Astlängen, Ratenparameter) gestartet.

Neben PHYML wurden Bayes'sche Analysen, die u. a. auf ML beruhen mit der Software MrBayes 3.1.1 und 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001) durchgeführt. Bayes'sche Methoden nutzen eine mit dem Metropolis-Hastings-Algorithmus gekoppelte Monte-Carlo-Markov-Kette. Gegenüber den ML-Greedy-Algorithmen (siehe Felsenstein 2004) hat dies den Vorteil, dass bei der Baumsuche auch Schritte im Parameterraum ausgeführt werden können (mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit), die zu einem schlechteren *Likelihood*-Niveau führen, als das aktuelle (Lewis 2001, Review). Dies verringert die Wahrscheinlichkeit auf einem lokalen Maximum zu terminieren, wie es bei ML-Greedy-Algorithmen vorkommen kann. Lässt man eine Markov-Kette lange genug laufen, so wird nach und nach der gesamte Parameterraum besucht. Dies lässt sich durch den Einsatz mehrerer Ketten mit unterschiedlichen Startpunkten überprüfen. Die ersten *n* Stichproben einer Markov-Kette werden als *burnin* verworfen, da bei den ersten Ketten-Schritten mit hoher Wahrscheinlichkeit noch Bäume mit vergleichsweise niedrigem *Likelihood*-Niveau gesammelt werden. Die statistische Unterstützung ist beim Bayes'schen Verfahren in die Analyse eingeschlossen (*posterior probabilities*, PP), da die Häufigkeit einer bestimmten Topologie in den von den Markov-Ketten gesammelten Stichproben einer Wahrscheinlichkeitsverteilung entspricht. Im Gegensatz zu PHYML erlaubt es MrBayes, für verschiedene Teile eines Datensatzes unterschiedliche Evolutionsmodelle anzunehmen. Für die proteinkodierenden Gene wurde sowohl die Variante mit einem einzigen Modell für alle Codonpositionen, als auch separate Modelle für jede Codonposition gerechnet. Die Phylogenien aus der Ein-Modell-Variante erwiesen sich dabei als besser aufgelöst und besser statistisch unterstützt (Daten nicht gezeigt) als die Variante der drei Evolutionsmodelle, weshalb für die proteinkodierenden Gene in den weiteren Analysen nur ein einziges Modell angenommen wurde. Vier Markov-Ketten liefen in der Bayes'schen Analyse parallel in zwei unabhängigen Instanzen des Programms, so dass final acht Markov-Ketten genutzt wurden, um den Parameterraum zu durchlaufen. Die Generationenzahl betrug 6 000 000, und jede 500ste Generation wurde gespeichert. Die *sump*-Option mit dem Parameter *burnin=0* von MrBayes wurde benutzt, um eine Schranke für das Erreichen der stationären Phase der Markov-Ketten zu ermitteln. Das *sump*-Kommando wurde anschließend mit einem passenden *burnin*-Wert wiederholt und das Ergebnis überprüft. Für die Analysen erwies sich ein *burnin*-Wert von 2 000 als geeignet: Die ersten 2 000 der gesammelten Bäume werden verworfen, da die Markov-Ketten ab diesem Wert stationäre Phasen erreicht hatten. Aus den übrigen 10 000 Bäumen – insgesamt 20 000 aus den zwei unabhängigen Läufen – generiert MrBayes anschließend einen Konsensus-Baum. Die statistische Unterstützung einzelner Äste wurde zum einen durch nicht-parametrisches Bootstrapping (BS, 300 Replikationen)

mit PHYML bewertet, zum anderen durch die Verteilung der Bayes'schen *posterior probabilities* (PP). Hierbei wurden BS-Werte  $\geq 75\%$  (Hillis & Bull 1993, Taylor & Piel 2004) sowie PP-Werte  $\geq 95\%$  (Alfaro et al. 2003) als signifikant betrachtet. Konsensusbäume wurden in Paup 4.0b10 (Swofford 2002) erstellt. Zur Validierung molekularer Phylogenien wurden morphologisch-anatomische und geographische Merkmale mit Hilfe von Mesquite 1.06 (Maddison & Maddison 2005) auf einige der berechneten Bäume aufgetragen (*Mapping*). Die Daten wurden aus der verfügbaren Literatur entnommen (siehe 6.3 *Literatur zum morphologisch-anatomischen Merkmalspektrum*).

### ***Likelihood Mapping***

Für alle Einzelalignments der sechs Gene wurde mittels TreePuzzle 5.2 (Strimmer & von Haeseler 1997) eine *Likelihood-Mapping*-Analyse durchgeführt, um das vorhandene phylogenetische Signal zu visualisieren. *Likelihood Mapping* beruht auf Quartetten von Sequenzen: Ein Taxonset eines gegebenen Alignments wird in alle möglichen Subsets von vier Sequenzen zerlegt. Es gibt drei mögliche Topologien (voll aufgelöst) für diese Taxonsubsets. Die *Likelihood*-Werte dieser Topologien werden mittels Bayes' Theorem in Wahrscheinlichkeiten  $p$  (*posterior probabilities*) überführt. Diese drei  $p$ -Werte schließlich bilden einen *probability vector*  $\mathcal{P}$  in einem gleichseitigen Dreieck ab, welches in drei Regionen unterteilt ist. Eine Region steht für voll aufgelöste Topologien, eine für komplett unaufgelöste Topologien und in einer Region kann keine Entscheidung für oder gegen eine bestimmte Topologie getroffen werden. Die Verteilung der  $\mathcal{P}$ -Vektoren aller Sequenzquartette im Dreieck ergibt schließlich einen Eindruck der zu erwartenden Auflösung eines Datensets in einer phylogenetischen Analyse. Für die hier durchgeführten *Likelihood-Mapping*-Analysen wurden alle möglichen Sequenzquartette betrachtet: 123 410 für nucSSU, nucLSU, mtSSU und ITS, 135 751 für *RPB2* und 111 930 für  $\beta$ -*Tub*. Das verwendete Evolutionsmodell war dasselbe wie für die PHYML-Analysen (Modeltest-Abschätzung) mit einer  $\gamma$ -Verteilung in vier Kategorien.

### ***Kompatibilitätstest mittels constraint-basierter Filter***

*Constraint*-basierte Filter (Ihlen & Ekman 2002) dienen dazu, die Kongruenz verschiedener Datensätze zu überprüfen. Hierzu macht man sich die Stichprobe (ohne *burnin*-Bäume) einer Bayes'schen Analyse zunutze. Die zu prüfenden Beziehungen (die unterstützten Äste einer bestimmten Phylogenie) werden in eine Baumdefinition (*constraint*) geschrieben. Alle Bäume einer Bayes'schen Stichprobe werden mit Hilfe von Paup 4.0b10 auf diesen *constraint* hin durchsucht. Ist der *constraint* in mindestens 5% der Bäume vorhanden, so wird eine Kongruenz der Datensätze angenommen. Erst wenn er in weniger als 5% der Stichprobenbäume vorkommt, wird die Kongruenz abgelehnt. Für alle Einzelgenanalysen wurden *constraints* sowohl für die gesamte Topologie als auch für jeden einzelnen unterstützten Ast definiert und in Paup gefiltert.

### ***Kompatibilitätstest mit dem PABA-Ansatz***

Im PABA- (*partition addition bootstrap alteration*)-Ansatz (Struck et al. 2006) wird die Unterstützung der einzelnen Genpartitionen für die Äste einer kombinierten Analyse aller Gene untersucht. Hierzu berechnet man neben dem kombinierten Baum Phylogenien für jede mögliche Kombination von  $n$  Genen beginnend bei der Kombination zweier Gene bis zu  $n-1$  Genen. Für jeden Ast des kombinierten Baums notiert man anschließend, wie sich die BS-Unterstützung ändert, wenn einzelne Gene hinzugefügt werden, auch abhängig von der Position der hinzugefügten Gene. Vergrößert sich der BS-Wert, so unterstützt das Gen den entsprechenden Ast, verringert er sich, so liegt eine Inkongruenz vor. Die erhaltenen BS-Werte werden als Mittelwerte zusammengefasst (ohne Standardabweichung), um Tendenzen zu erkennen. Für diese Arbeit wurde mit PHYML eine kombinierte Analyse der sechs Gene nucSSU, nuLSU, mtSSU, ITS, *RPB2/7-11* und  $\beta$ -*Tub* durchgeführt. Des Weiteren wurden die 56 möglichen Kombinationen von zwei, drei, vier und fünf Genen analysiert und die BS-Unterstützung der einzelnen Äste notiert.

### ***Test auf inkongruente Signale im Alignment: Likewind***

In einer *Likewind*-Analyse (Archibald & Roger 2002) wird untersucht, ob einzelne Abschnitte eines gegebenen Alignments ein signifikant anderes phylogenetisches Signal aufweisen, als das gesamte Alignment. Dies kann z. B. auf Rekombinationsprozessen beruhen, da die gängigen Methoden der Stammbaumrekonstruktion solche Prozesse derzeit nicht berücksichtigen (können). Für die *Likewind*-Analyse werden nur jeweils 100 bp eines Alignments auf einmal betrachtet. Dieses »Fenster« wird in 10-bp-Schritten über das Alignment geschoben, bis es ganz durchlaufen ist. Es werden also zunächst die Basen 1-100, dann die Basen 10-110, dann 20-120 usw. betrachtet. Für jedes Fenster wird eine eigene Phylogenie gesucht, die dann mit derjenigen verglichen wird, die für das gesamte Alignment gefunden wurde. Die Differenz lässt sich grafisch auftragen, und man erhält das *Likewind*-Profil. Um ein signifikant inkongruentes Signal eines Alignment-Abschnitts erkennen zu können, werden  $n$  Datensätze entsprechend dem Evolutionsmodell erzeugt, für die ebenfalls eine *Likewind*-Analyse durchgeführt wird. Je nach Anzahl der simulierten Datensätze bilden dann die  $m$  höchsten Vergleichswerte den  $p \leq 0,01$ -Signifikanzwert. Immer wenn im *Likewind*-Profil dieser Wert überschritten ist, enthält der unterliegende Alignment-Abschnitt ein vom Gesamtalignment abweichendes phylogenetisches Signal.

Die *Likewind*-Analysen für alle sechs Gene wurden in Paup 4.0b10 durchgeführt. Anstelle eines ML-Ansatzes, der für dieses Analysenausmaß bei weitem zu rechenintensiv ist, wurde eine ML-Distanz-Approximation gewählt. Archibald & Roger (2002) haben die prinzipielle Vergleichbarkeit beider Ansätze gezeigt. Es kann allerdings zu Negativausschlägen im *Likewind*-Profil kommen, an denen vermutlich die Distanz-Approximation und der reine ML-Ansatz unterschiedliche Ergebnisse liefern. Aus Gründen der Vergleichbarkeit wurde auch die Phylogenie des gesamt-

ten Alignments mit einer Distanz-Approximation erzeugt, anstatt eine vorhandene PHYML-Analyse einzulesen. Zum Einstellen des Signifikanzniveaus wurden mit SeqGen 1.3.2 (Rambaut & Grassly 1997) 300 Datensets desselben Umfangs wie die Originaldaten unter demselben Evolutionsmodell erzeugt und *Likewind*-Analysen für jedes Datenset durchgeführt. Bei 300 Vergleichswerten stellt der dritthöchste den  $p \leq 0,01$ -Signifikanzwert dar, und dieser wurde benutzt, um die Signifikanzlinie ins *Likewind*-Profil einzutragen. Für Alignment-Abschnitte, die über der Signifikanzlinie lagen wurde unter einem eigenen Evolutionsmodell (Modeltest) eine separate phylogenetische Analyse mit PHYML durchgeführt. Für Alignmentabschnitte, die ein negatives Signal im *Likewind*-Plot zeigten, wurden zusätzlich ML-Distanz-Bootstrapwerte ermittelt. Für einige wenige Abschnitte des *RPB2/7-11*-Alignments war dies aufgrund eines Paup-internen Fehlers allerdings nicht möglich (siehe auch *Likewind*-Manual).

### *Geneconv*

Als Folge von Rekombinationsprozessen kann Genkonversion dazu beitragen, dass phylogenetische Methoden problematische Ergebnisse liefern, da solche Prozesse nach wie vor nicht Bestandteil von Evolutionsmodellen sind. Mit Hilfe von *Geneconv* 1.8.1 (Sawyer 1999) wurden die Alignments der sechs Gene auf Hinweise für Genkonversion untersucht. *Geneconv* untersucht dabei, ob es gleichartige Fragmente im Alignment gibt (nicht-variable Positionen ausgeschlossen), die von zwei Sequenzen geteilt werden. Je besser die Fragmente übereinstimmen, desto höher wird ihr *score* bewertet. Mittels Permutation der Spalten des Alignments (10 000 Permutationen) werden dann globale P(ermutations)-Werte zugewiesen. Sie entsprechen dem Anteil der permutierten Alignments, für die ein Fragment- und Taxonpaar einen gleichen oder höheren *score* aufweisen. Ein Fragment ist dann ein signifikanter Kandidat für Genkonversion wenn der P-Wert kleiner als 0,05 ist. Grob gesagt sucht *Geneconv* nach übereinstimmenden Abschnitten (Fragmenten) zwischen zwei Sequenzen, die mehr Polymorphismen (abweichende Basen) aufweisen, als man alleine durch Zufall erwarten könnte. Für die vorliegende Arbeit waren keine Abweichungen innerhalb eines Fragments (*mismatches*) gestattet, so dass die Sequenzabschnitte zu 100 % übereinstimmen mussten, um Kandidaten für Genkonversion zu werden. Des Weiteren wurden alle Positionen mit fehlenden Daten, Lücken (*gaps*) und nach der IUBMB-Nomenklatur kodierte Basen ([www.chem.qmul.ac.uk/iubmb](http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb)) von der Analyse ausgeschlossen, da *Geneconv* zwischen diesen Positionen nicht unterscheidet und sie alle gleichermaßen als *indel* einstuft. Übereinstimmende *indels* können als Fragmente eingestuft werden, was zu zweifelhaften Ergebnissen führen kann.

### *Sättigung der proteinkodierenden Gene*

Proteinkodierende Gene zeigen eine besondere Form der Ratenheterogenität. Auf den drei Nucleotiden, die eine Aminosäure kodieren, liegt ein höchst unterschiedlicher Selektionsdruck, da in der Regel die ersten beiden Codonpositionen über die resultierende Aminosäure entscheiden. Dementsprechend weist die dritte Position

eines Triplets häufig eine wesentlich höhere Zahl an Mutationen auf, als die ersten beiden Positionen. Hier kann ein Sättigungseffekt auftreten, so dass die tatsächliche Zahl an Mutationen durch mehrmalige Hin- und Rückmutationen überlagert ist. Das phylogenetische Signal einer solchen Position kann unter Umständen nicht die korrekte Phylogenie widerspiegeln, und die Verwendung eines mit Mutationen gesättigten Datensatzes zur Phylogenierekonstruktion sollte vermieden werden. Für die beiden proteinkodierenden Gene  $\beta$ -*Tub* und *RPB2* wurden mit Hilfe von PHYML Phylogenien für jede einzelne Codonposition erstellt, sowie für eine Kombination der ersten beiden Codonpositionen. Die Datensätze galten als nicht kombinierbar, wenn widersprüchliche monophyletische Beziehungen mit mehr als 75 % BS-Unterstützung auftraten. Des Weiteren wurde ein Sättigungstest nach Xia et al. (2003) durchgeführt, der in der Software DAMBE (Xia & Xie 2001) implementiert ist. Der Xia-Test beruht auf der Betrachtung der Entropie (der Anzahl an Substitutionen) der einzelnen Alignmentpositionen. Die beobachtete Entropie wird zur (maximalen) Entropie einer mit Substitutionen gesättigten Position in Bezug gesetzt. Ist die beobachtete Entropie signifikant kleiner, so ist die Position nicht übersättigt. Da ein Datensatz allerdings schon vor Erreichen der maximalen Sättigung nicht mehr für eine phylogenetische Analyse taugt, wird im Xia-Test ein kritischer Sättigungswert errechnet, bis zu dem ein Datensatz verwendbar ist.



## 3 Ergebnisse

### 3.1 Sequenzen und Alignments

Für diese Arbeit wurden insgesamt 333 neue DNA-Sequenzen erzeugt: 40 nucSSU- und nucLSU-Sequenzen, 42 mtSSU-Sequenzen, 81 ITS- und *RPB2/7-11*-Sequenzen sowie 49 Sequenzen des  $\beta$ -*Tubulin*-Gens (acht davon paraloge Sequenzen, eine Übersicht findet sich im Anhang). Die Sequenzen haben äußerst unterschiedliche Längen (Tabelle 3.1.1), abhängig vom Gen und den verwendeten Primern (siehe 2.2 *Molekulare Methoden*). Die nucSSU weist an sieben Positionen innerhalb des Alignments Introns für ein oder mehrere Taxa auf. Nach Ausschluss dieser Introns und einiger weniger *ambiguous regions* ist das längste der zu analysierenden Alignments dasjenige der nucSSU. Allerdings ist auch nahezu die Hälfte der Positionen konstant (48%), der höchste Anteil aller analysierten Gene. Die nucLSU weist nur ein einziges Intron auf, hat dafür aber deutlich mehr Positionen, die aufgrund unklarer Homologieverhältnisse ausgeschlossen werden müssen. Dies trifft in noch stärkerem Maße auf die mtSSU zu, dafür enthält sie nur zwei eher kurze Introns. Die mtSSU hat auch prozentual die wenigsten konstanten Positionen (28%). Für die ITS-Region (ITS I und II) war es nahezu unmöglich, eine Positionshomologie herzustellen, da die einzelnen Sequenzen eine unter den betrachteten Genen einmalige Längen- und Basenvariabilität aufwiesen. Das Alignment beschränkt sich daher im Wesentlichen auf die wenig variablen Bereiche an Anfang und Ende der ITS-Region und die konservierte 5.8S rDNA, welche die ITS I und II voneinander trennt. Das Alignment der proteinkodierenden Gene *RPB2/7-11* und  $\beta$ -*Tub* ist dank des überlagerten Aminosäurencodes problemlos möglich, so dass für beide Gene keine *ambiguous regions* auszuschließen waren. Im  $\beta$ -*Tub*-Alignment finden sich allerdings zwei kurze Introns. Der geringste Anteil konstanter Positionen ist bei der dritten Codonposition der proteinkodierenden Gene zu finden. Dies ist zu erwarten, da in der Regel die ersten beiden Codonpositionen über die resultierende Aminosäure entscheiden, so dass sich in der dritten Position Mutationen anhäufen können.

Das gewählte Evolutionsmodell (Modeltest, Posada & Crandall 1998) ist in der Regel das *general time reversible model* (GTR) oder eine Einschränkung hiervon (Tamura & Nei 1993, TrN93), das nur drei anstatt sechs unterschiedliche Substitutionsraten annimmt. Der  $\alpha$ -Parameter für die Beschreibung der positionsspezifischen Substitutionsraten weist für die ribosomalen Gene auf eine heterogene Ratenverteilung hin, d. h. die meisten Positionen zeigen eine langsame Substitutionsrate, einige wenige haben eine schnelle. Für die proteinkodierenden Gene wird das Bild durch die dritte Codonposition verzerrt, die eine relativ hohe Substitutionsrate mit geringeren Ratenunterschieden aufweist, wie die Einzeldiagnose der Codonpositionen zeigt (gewähltes Evolutionsmodell und -parameter, Tabelle 3.1.1). Die drei Codonpositionen der beiden proteinkodierenden Gene wurden zunächst getrennt analysiert, um eventuelle Widersprüche des phylogenetischen Signals aufzudecken. Für jede Position wurde unter einem eigenen Evolutionsmodell eine PHYML-Analyse durchgeführt. Dasselbe geschah für die erste und zweite Codonposition zu-

sammen. Die verschiedenen Positionen zeigten bei beiden Genen keine signifikant unterstützten (BS-Wert  $\geq 75\%$ ) konfliktären Beziehungen, wobei die ersten beiden Positionen eine erheblich schwächere Auflösung zeigten, also insgesamt eine geringere Anzahl an unterstützten Ästen aufwiesen (ohne Abbildung).

	<b>1. nucSSU (43 Taxa)</b>	<b>2. nuLSU (43 Taxa)</b>	<b>3. mtSSU (43 Taxa)</b>	<b>4. ITS (43 Taxa)</b>	<b>5. RPB2/7-11 (44 Taxa)</b>
<b>Gesamtlänge des Alignments [bp]</b>	4445	1936	997	1027	876
<b># ausgeschlossene Pos. (ambig. regions)</b>	36	129	167	743	—
<b># ausgeschlossene Pos. (Introns)</b>	2778	455	123	—	—
<b># analysierte Pos. [bp]</b>	1631	1352	707	284	876
<b>% invariante Pos. (#)</b>	0,48 (788)	0,38 (518)	0,28 (199)	0,34 (97)	0,39 (341)
<b>für 1. Codonpos.</b>	—	—	—	—	0,52 (153)
<b>für 2. Codonpos.</b>	—	—	—	—	0,62 (180)
<b>für 3. Codonpos.</b>	—	—	—	—	0,03 (8)
<b>Evolutionsmodell*</b>	TrNef+I+G	TrNef+I+G	GTR+I+G	TrNef+I+G	TrN+I+G
<b>für 1. Codonpos.</b>	—	—	—	—	GTR+I+G
<b>für 2. Codonpos.</b>	—	—	—	—	JC+I+G
<b>für 3. Codonpos.</b>	—	—	—	—	HKY+I+G
<b>Formparameter* <math>\alpha</math></b>	0,60	0,47	0,55	0,44	1,55
<b>für 1. Codonpos.</b>	—	—	—	—	0,57
<b>für 2. Codonpos.</b>	—	—	—	—	1,11
<b>für 3. Codonpos.</b>	—	—	—	—	3,52
	<b>6. <math>\beta</math>-Tub (42 Taxa)</b>	<b>7. ITS (82 Taxa)</b>	<b>8. RPB2/7-11 (81 Taxa)</b>	<b>1.–6. (41 Taxa)</b>	<b>1.,2.,5.,6. (41 Taxa)</b>
<b>Gesamtlänge des Alignments [bp]</b>	924	1058	876	10205	8181
<b># ausgeschlossene Pos. (ambig. regions)</b>	—	776	—	1075	165
<b># ausgeschlossene Pos. (Introns)</b>	124	—	—	3480	3357
<b># analysierte Pos. [bp]</b>	795	282	876	5645	4654
<b>% invariante Pos. (#)</b>	0,36 (290)	0,33 (92)	0,38 (331)	0,42 (2380)	0,44 (2067)
<b>für 1. Codonpos.</b>	0,49 (131)	—	0,51 (149)	—	—
<b>für 2. Codonpos.</b>	0,58 (153)	—	0,60 (175)	—	—
<b>für 3. Codonpos.</b>	0,04 (10)	—	0,02 (7)	—	—
<b>Evolutionsmodell*</b>	GTR+I+G	TrNef+I+G	TrN+I+G	GTR+I+G	GTR+I+G
<b>für 1. Codonpos.</b>	TrNef+I+G	—	GTR+I+G	—	—
<b>für 2. Codonpos.</b>	K80	—	F81+I+G	—	—
<b>für 3. Codonpos.</b>	TrN+I+G	—	HKY+I+G	—	—
<b>Formparameter* <math>\alpha</math></b>	1,27	0,47	1,54	0,50	0,59
<b>für 1. Codonpos.</b>	0,13	—	0,53	—	—
<b>für 2. Codonpos.</b>	—	—	0,88	—	—
<b>für 3. Codonpos.</b>	2,34	—	3,73	—	—

\* Abschätzung aus Modeltest

### 3.2 Sättigung der proteinkodierenden Gene *RPB2* und $\beta$ -*Tub*

Um den Sättigungsgrad der proteinkodierenden Gene *RPB2* und  $\beta$ -*Tub* zu überprüfen, wurde ein Sättigungstest nach Xia et al. (2003) durchgeführt. Des Weiteren wurde ein Sättigungsdiagramm erstellt, in dem die Rate der Transitionen und Transversionen gegen die TrN93-Distanz aufgetragen ist. *RPB2* zeigt keinerlei Sättigungseffekte (Abb. 3.2.1) und auch der *Substitutionssättigungs-Index*  $I_{SS}$  nach Xia et al. (2003) ist signifikant kleiner ( $p < 0,01$ ) als der *kritische Substitutionssättigungs-Index*  $I_{SS,C}$ , ab dem ein Alignment wegen zu starker Sättigung nicht mehr für phylogenetische Analysen verwendbar ist. Das  $\beta$ -*Tub*-Gen zeigt für Transitionen und Transversionen der dritten Codonposition einen leichten Übergang in den Sättigungsbereich (Abb. 3.2.2). Auch hier ist jedoch der  $I_{SS}$  signifikant kleiner ( $p < 0,01$ ) als der  $I_{SS,C}$ . Von der Sättigungsanalyse her spricht also prinzipiell nichts gegen eine Verwendung beider Gene in der phylogenetischen Analyse.

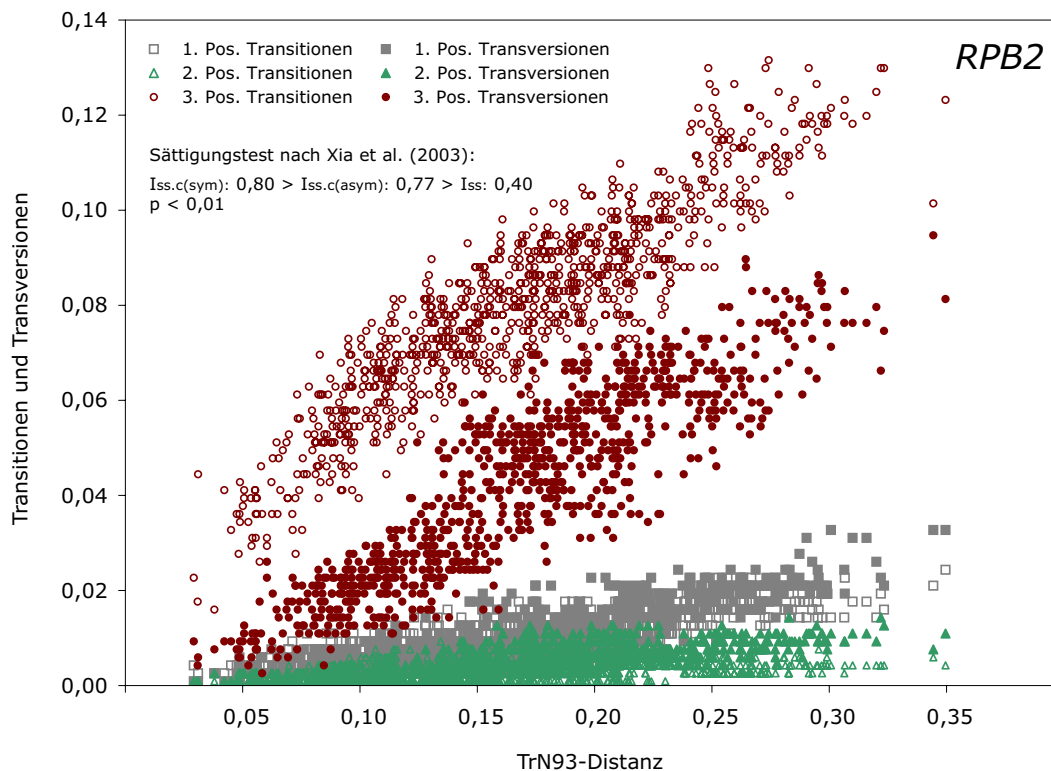


Abb. 3.2.1: Sättigungsdiagramm der drei Codonpositionen des *RPB2*-Gens – die Transitions- und Transversionsrate ist gegen die TrN93-Distanz aufgetragen. Das Ergebnis des Sättigungstests nach Xia et al. (2003) ist ebenfalls angegeben.

◀ Tab. 3.1.1: Übersicht über die verschiedenen für die Analysen verwendeten Alignments und deren Evolutionsmodelle – für die Multigenanalysen mit MrBayes wurde jedem Gen das den Einzelanalysen entsprechende Evolutionsmodell zugewiesen. PHYML gestattet nur ein einziges Modell pro Datensatz, so dass hier das gemeinsame Modell verwendet wurde.

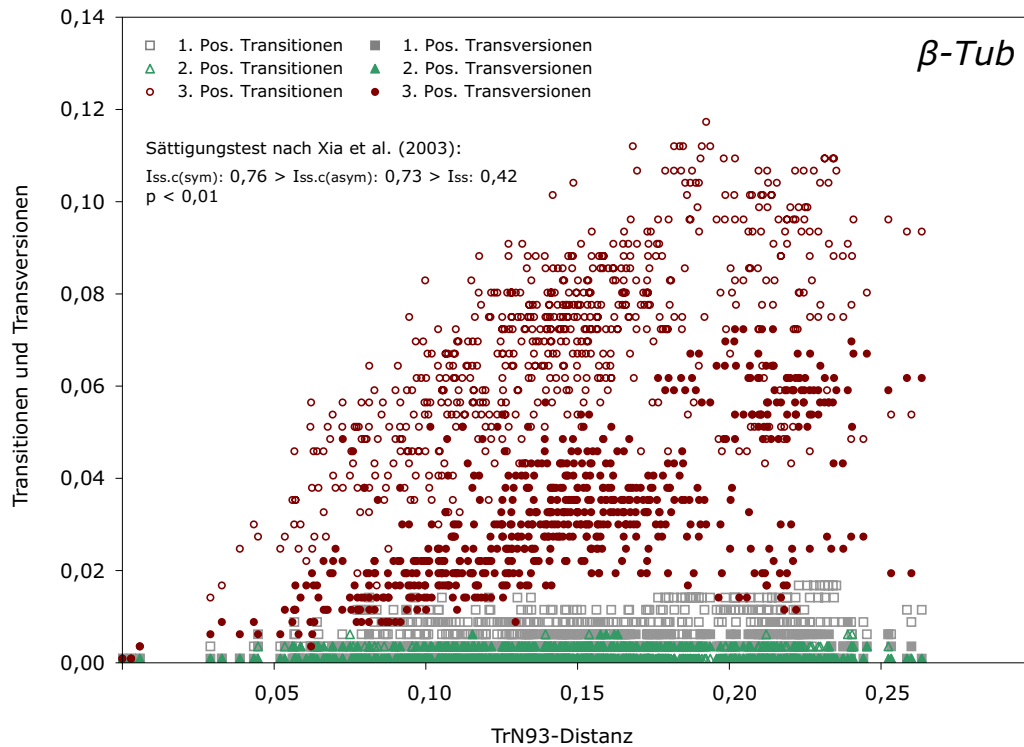


Abb. 3.2.2: Sättigungsdiagramm der drei Codonpositionen des  $\beta$ -Tub-Gens – die Transitions- und Transversionsrate ist gegen die TrN93-Distanz aufgetragen. Das Ergebnis des Sättigungstests nach Xia et al. (2003) ist ebenfalls angegeben.

### 3.3 Das $\beta$ -Tubulin-Gen besitzt wahrscheinlich eine paraloge Kopie

Bei der Amplifikation und Sequenzierung des  $\beta$ -Tub-Gens fielen immer wieder abweichende Sequenzen auf, die nicht ohne Weiteres als Kontaminationssequenzen klassifiziert werden konnten. Die errechneten Phylogenien zeigen eine deutliche Aufspaltung in zwei Cluster I und II, die durch das Außengruppentaxon *Trichoglossum hirsutum* getrennt sind (ohne Abbildung). Diese Topologie ist ausschließlich bei den  $\beta$ -Tub-Sequenzen zu beobachten. Auch das Alignment zeigt Be-

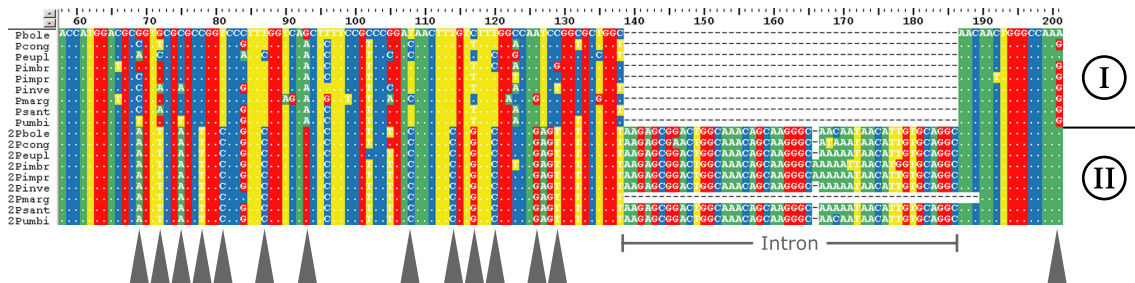


Abb. 3.3.1: Ausschnitt aus dem Alignment für Typ-I- und Typ-II- $\beta$ -Tubulin-Sequenzen von acht *Peltula*-Spezies – sieben der acht Taxa besitzen ein Intron, das ausschließlich bei den mutmaßlich paralogen Sequenzen vorkommt. Außerdem treten vor allem an der dritten Codonposition charakteristische Mutationen auf (graue Pfeile).

sonderheiten (Abb. 3.3.1): Die Nucleotidsequenzen vom Typ II sind einander sehr viel ähnlicher als die vom Typ I. Außerdem besitzen fast alle Typ-II-Sequenzen ein in hohem Maße konserviertes Intron, das in Typ-I-Sequenzen nicht zu finden ist. Ein weiteres Intron ist in beiden Gruppen an identischer Position zu finden, allerdings ist die Typ-II-Intronsequenz erheblich konservierter als die von Typ I. Die Aminosäuresequenzen der Typ-I- und Typ-II-Nucleotidsequenzen unterscheiden sich kaum voneinander.

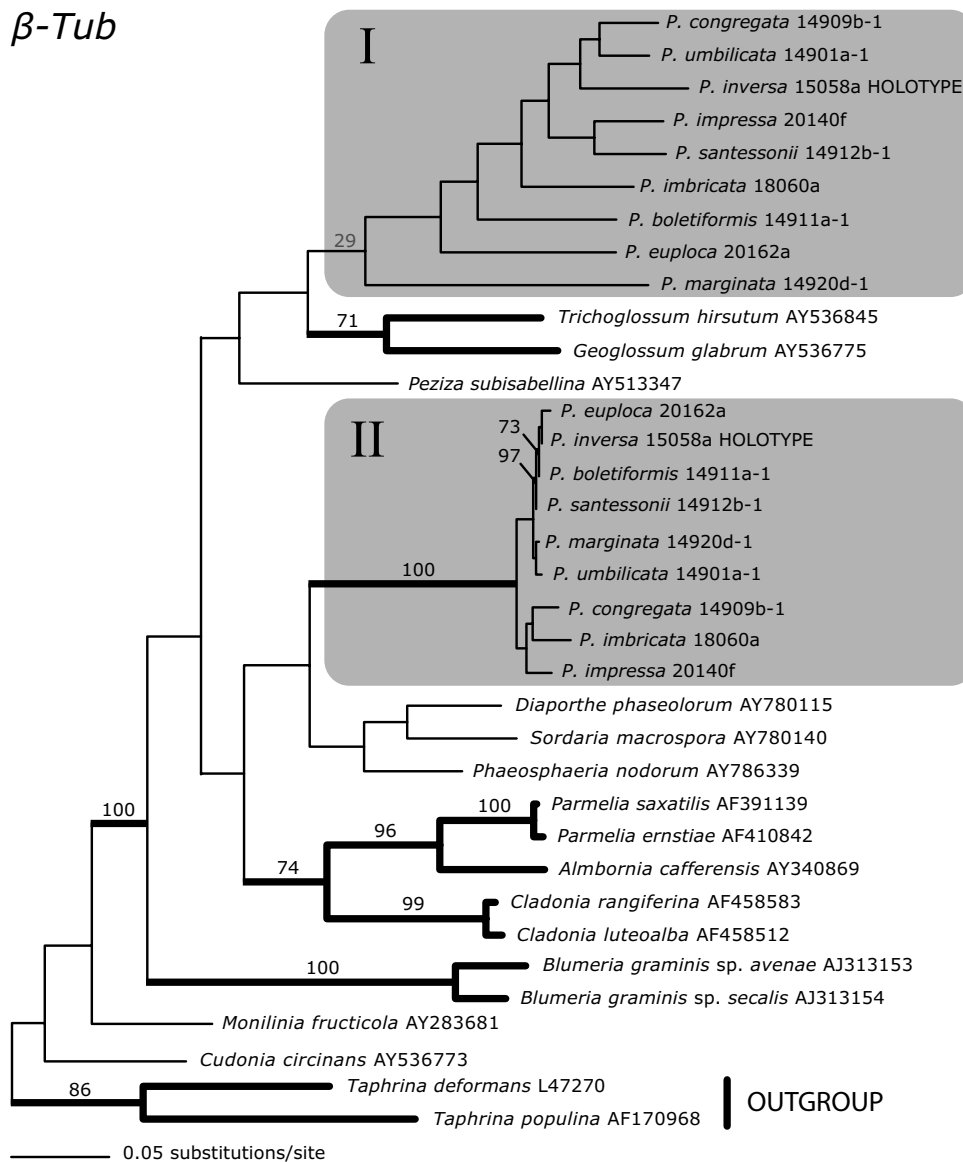


Abb. 3.3.2: ML-Analyse (PHYML) von 16 aus acht *Peltula*-Taxa isolierten Teilsequenzen des *β-Tubulin*-Gens sowie 17 Ascomyceten-Sequenzen aus GenBank (Zugangsnummer hinter dem Taxonnamen). Äste, die mehr als 70 % BS-Unterstützung erhalten sind dicker gezeichnet, der BS-Wert ist über dem Ast angegeben. Der graue Kasten I beinhaltet *β-Tub*-Sequenzen, deren Phylogeniehypothese Übereinstimmungen zu den anderen Genen zeigt, während der Kasten II mutmaßlich paraloge *β-Tub*-Sequenzen umfasst.

Ein GenBank-BLAST-Vergleich der Typ-II-Sequenzen lieferte eine Vielzahl von Organismen, die eine hohe Ähnlichkeit mit den Typ-II-Sequenzen aufweisen. Die  $\beta$ -*Tub*-Sequenzen dieser Taxa wurden aus GenBank geladen und zusammen mit den Typ-I- und Typ-II-Sequenzen einer ML-Analyse unterzogen (Abb. 3.3.2). Alle Sequenzen vom Typ II bilden eine monophyletische Einheit, die 100 % BS-Unterstützung erhält. Auch die Typ-I-Sequenzen kommen in einem eigenen Clade zu liegen, die Unterstützung für diesen Ast liegt allerdings weit unter 75 %. Die Typ-II-Sequenzen repräsentieren vermutlich ein Paralog des  $\beta$ -*Tub*-Gens. Unterzieht man alle Typ-I-Sequenzen einer ML-Analyse, so zeigt der Baum Übereinstimmungen zu den Topologien, die man mit den anderen untersuchten Genen erzielt (ohne Abbildung). Die Typ-I-Sequenzen lassen sich auch durch eine lokale BLAST-Suche von denjenigen von Typ II separieren. Daher wurden die Typ-I-Sequenzen zur Verwendung für die kombinierte Analyse ausgewählt. Nicht von allen untersuchten Taxa konnten beide Sequenztypen gewonnen werden. In der Regel sind, wenn überhaupt, nur Fragmente der Typ-II-Sequenz vorhanden.

### 3.4 Einzelgenanalysen

#### *Likelihood Mapping*

Die Alignments der einzelnen Gene wurden einer auf Sequenzquartetten basierenden *Likelihood-Mapping*-Analyse unterzogen, die dazu diente den phylogenetischen Informationsgehalt *a priori* festzustellen (Abb. 3.4.1). Die *Likelihood-Mapping*-Analyse sagt für das RPB2/7-11-Datenset die beste Auflösung voraus: 97,1 % aller Quartette finden sich in den Regionen, die für ein voll aufgelöste Baumstruktur stehen und nur 0,5 % in den Bereichen für eine komplett unaufgelöste Baumstruktur. Die ribosomalen Gene nucSSU, nuLSU und mtSSU sowie  $\beta$ -*Tub* zeigen zwischen 80,9 % und 90,8 % Quartette für voll aufgelöste Baumstrukturen, wobei bei diesen Genen die mtSSU mit 10,4 % den höchsten Wert für eine komplett unaufgelöste Baumstruktur zeigt. Die geringste Auflösung wird allerdings für das ITS-Datenset vorausgesagt, das mit 284 bp auch das kürzeste aller Alignments ist: 33,6 % aller Quartette stehen für eine komplett unaufgelöste Baumstruktur und nur 58,3 % für eine komplett aufgelöste Baumstruktur.

#### *Bayes'sche und ML-Analysen*

Alle Datensets der Einzelgene wurden zunächst separat analysiert, um eventuelle Konflikte in der phylogenetischen Information zwischen den Genen aufzudecken. Alle Einzeldatensets wurden sowohl einer Bayes'schen Analyse (MrBayes) als auch einer ML-Analyse mit PHYML unterzogen. Die resultierenden Bäume sind in den Abbildungen 3.4.2 bis 3.4.7 zu sehen. Die Auflösung der verschiedenen Gene – die Anzahl derjenigen Äste, die signifikante Unterstützung hat – ist höchst unterschiedlich: Die nucSSU kommt auf neun unterstützte Äste (Abb. 3.4.2), die nuLSU auf

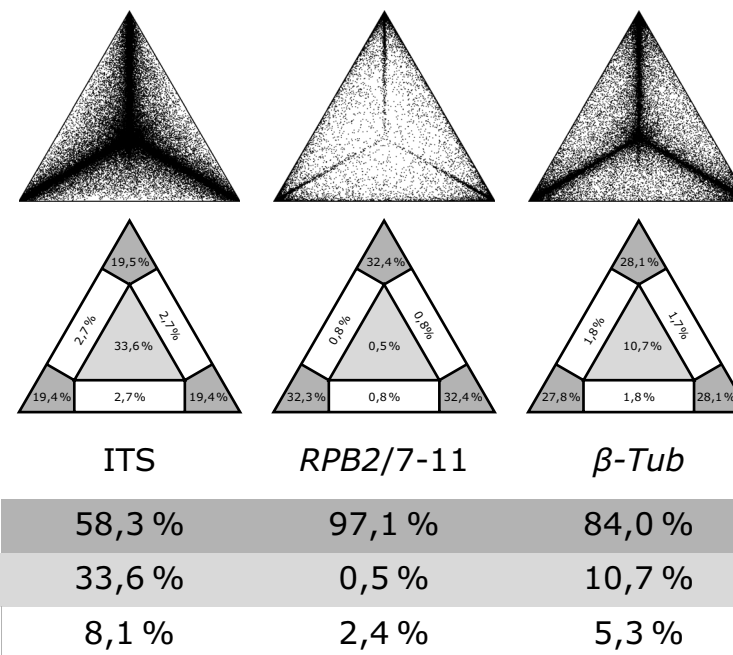
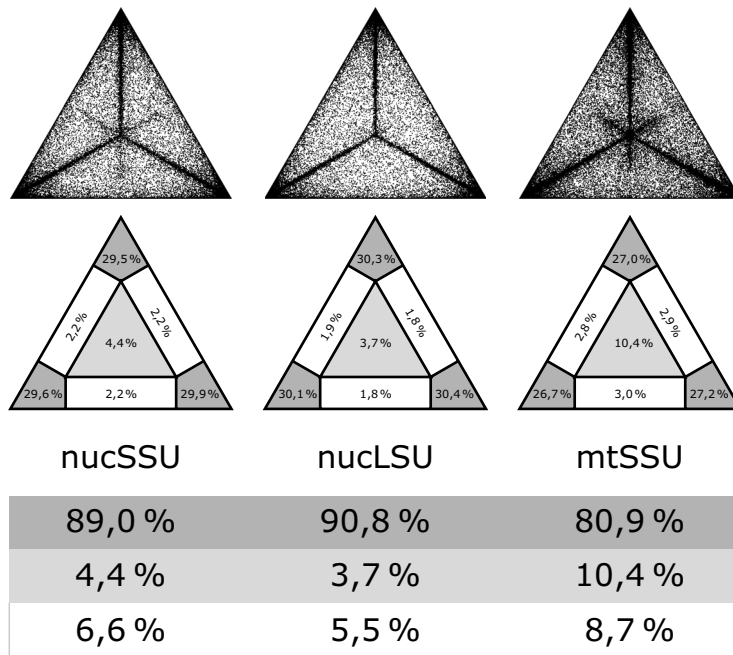


Abb. 3.4.1: Likelihood-Mapping-Analyse der sechs Einzelalignments – (obere Dreiecks-Reihen) Verteilung der *probability vectors*  $\mathcal{P}$ , von denen jeder eine ML-Topologie eines bestimmten Sequenz-Quartetts repräsentiert. (untere Dreiecks-Reihen) Prozentsatz der  $\mathcal{P}$ -Vektoren in den sieben Dreiecksregionen, die für verschieden aufgelöste Baumstrukturen stehen: In den dunkelgrauen Abteilungen befinden sich die voll aufgelösten Bäume, die hellgraue Dreiecksmitte repräsentiert die komplett unaufgelösten Bäume, und in den weißen Bereichen ist eine Entscheidung für eine bestimmte Topologie nicht möglich. (Tabellen) Die Prozentsätze für die drei Topologieregionen sind zusammengefasst und in der entsprechenden Farbe unterlegt.

14 (Abb. 3.4.3). Die mtSSU (Abb. 3.4.4) zeigt zwölf, ITS (Abb. 3.4.5) lediglich sechs unterstützte Äste, während das *RPB2/7-11*-Datenset (Abb. 3.4.6) mit 28 die höchste Zahl an unterstützten Ästen aufweist, gefolgt von *β-Tub* (Abb. 3.4.7, 17 unterstützte Äste). Nicht alle Beziehungen haben jedoch gleichermaßen PP wie ML-BS-Unterstützung. Im Allgemeinen ist die BS-Unterstützung geringer als die PP und erreicht auch nicht immer das verlangte 75 %-Niveau, oder aber der entsprechende von PP unterstützte Ast geht in der ML-Analyse in einer Polytomie unter. Seltener zu beobachten ist, dass BS-Unterstützung vorliegt, die PP allerdings nicht signifikant ist.

Betrachtet man die unterstützten Äste der verschiedenen Gene, so fällt die hohe Zahl der sich widersprechenden Beziehungen auf. Lediglich eine einzige Beziehung (*P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa*) findet sich gleichermaßen in den Topologien aller sechs Gene, wobei bei der ITS die Beziehung nicht signifikant gestützt ist, allerdings besteht hier auch kein Widerspruch in Form einer anderen monophyletischen Beziehung für eines der beiden Taxa. Die Beziehung *P. africana*—*P. obscuratula* z. B. wird von drei Genen gestützt (*nucSSU*, *RPB2/7-11*, *β-Tub*), aber auch von der mtSSU widersprochen: Dort findet sich *P. africana* in einer monophyletischen Einheit mit *Ph. corticola*. In der nuLSU-Topologie erreicht der Ast keine signifikante Unterstützung. Die enge Verwandtschaft der drei Taxa *P. crispatula*—*P. michoacensis*—*P. obscurans* var. *hassei* wird von drei Genen gestützt (wiederum *nucSSU*, *RPB2/7-11*, *β-Tub*). Auch hier widerspricht die mtSSU-Topologie diesem Clade, indem die drei Taxa mit anderen Taxa zu einer monophyletischen Einheit zusammengefasst werden. Bei der nuLSU ist der Clade vorhanden, aber nicht signifikant. Ohne weiter auf Details einzugehen, kann man feststellen, dass die von den Einzelgenen unterstützten Topologien untereinander massive Konflikte aufweisen, was die von PP und/oder MS-BL signifikant unterstützten monophyletischen Beziehungen angeht.

Abb. 3.4.2 bis 3.4.7 (auf den Folgeseiten): Phylogramme der Einzelanalysen der sechs Gene *nucSSU*, *nuLSU*, *mtSSU*, *ITS*, *RPB2/7-11*, *β-Tub* – *Majority-Rule*-Konsensusbäume aus 20 000 *post-burnin*-BMCMC-Bäumen aus zwei unabhängigen Läufen (über alle Bäume gemittelte Astlängen, MrBayes-Kommando `sumt`). Äste, die Unterstützung durch  $\geq 0,95$  Bayes'sche-PP oder  $\geq 75\%$  ML-BS (PHYML) erhalten – in den meisten Fällen trifft beides zu –, sind dicker gezeichnet. PP- und BS-Werte sind oberhalb der Äste angegeben und durch einen Schrägstrich getrennt. Fehlt eine der beiden Angaben (--), so ist der entsprechende Ast in der zugehörigen Analyse nicht vorhanden. Sehr lange Äste sind aus Platzgründen um die Hälfte kürzer gezeichnet (//). Der *Likelihood*-Wert der Bäume (arithmetisches Mittel, MrBayes-Kommando `sump`) ist jeweils in der Unterzeile angegeben. ▶



nucSSU

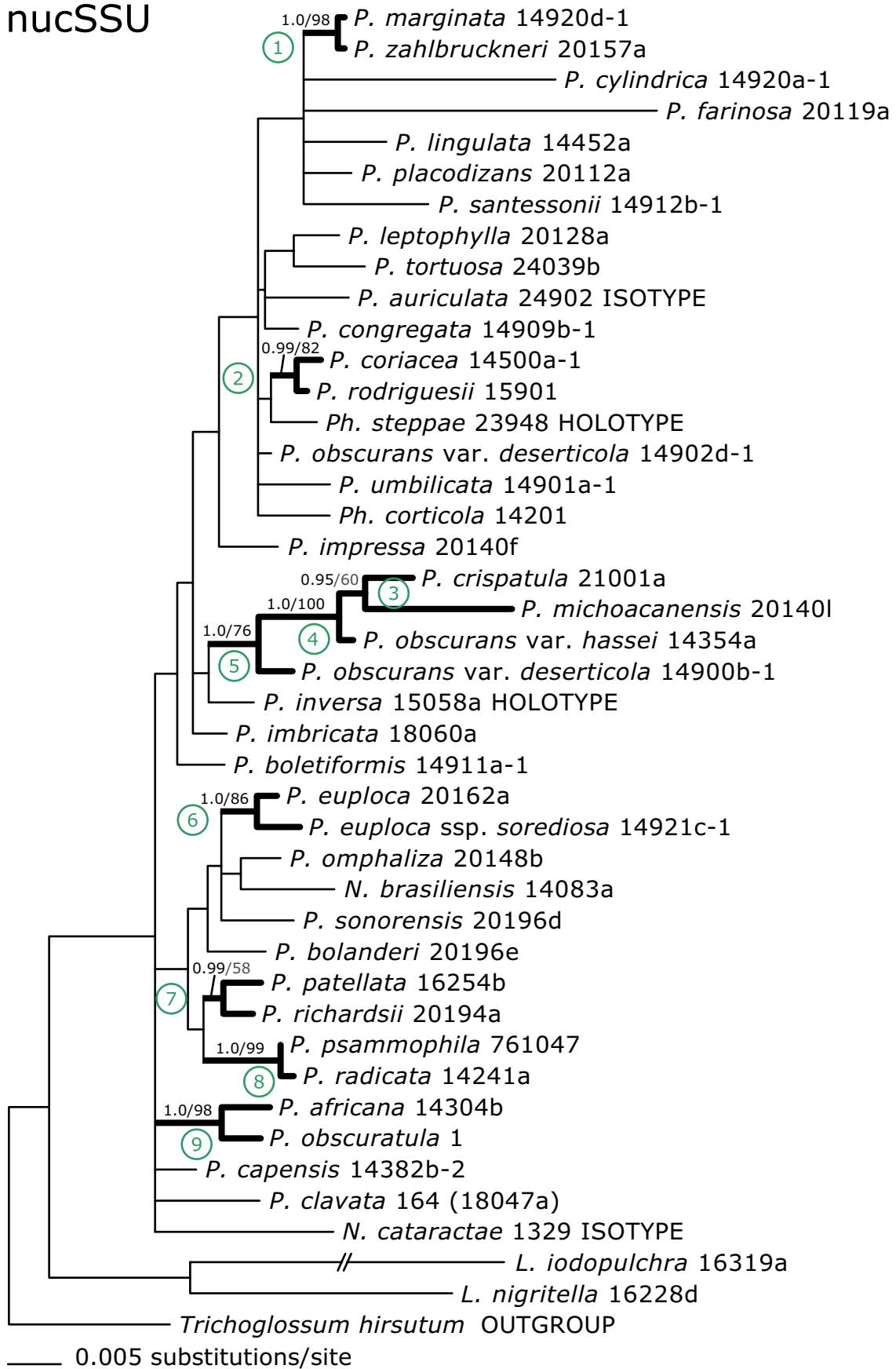


Abb. 3.4.2: BMCMC-Phylogramm der nucSSU, Likelihood-Wert -6176,14 (ausführliche Bildzeile siehe S. 32)

nucLSU

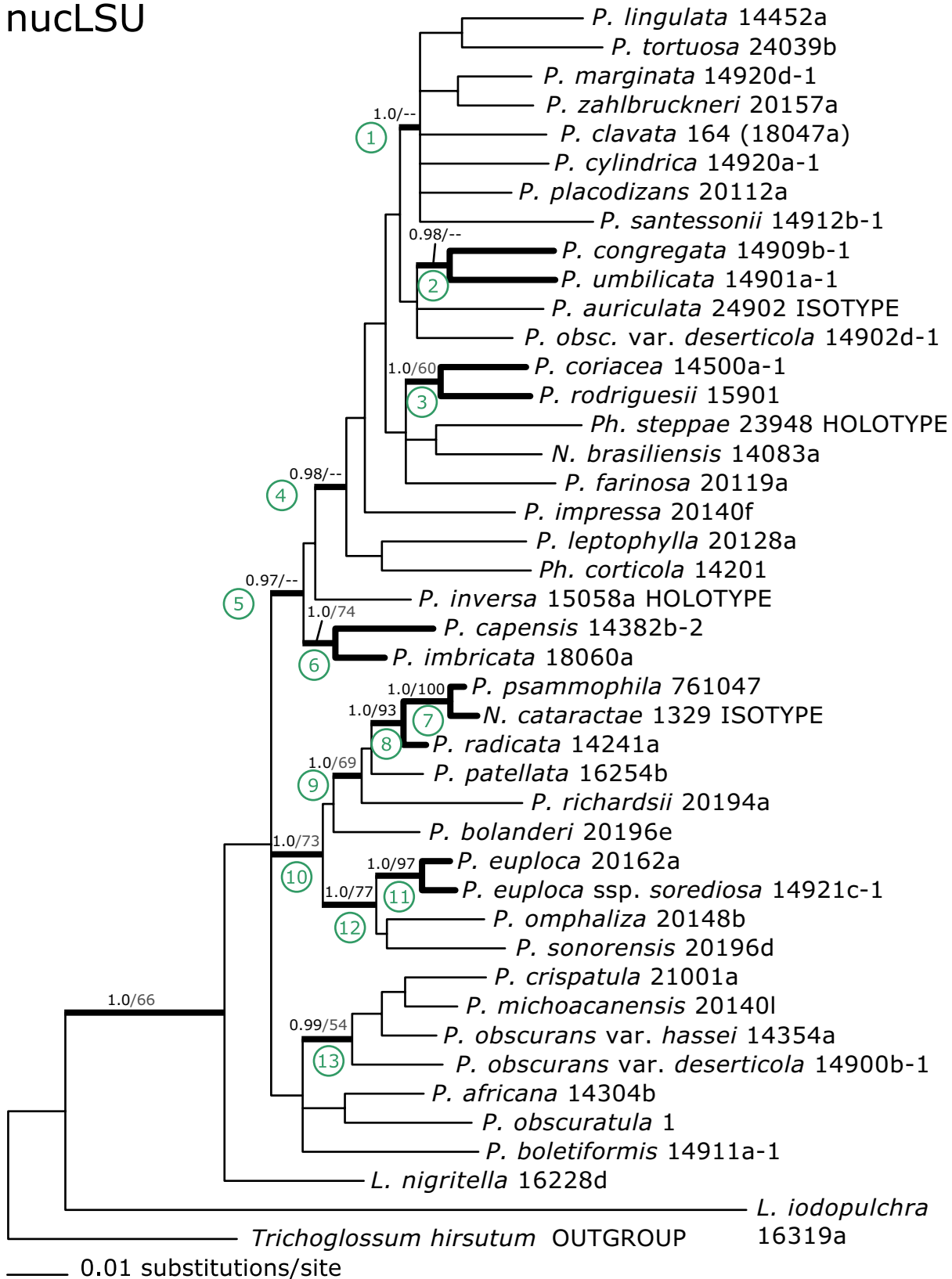


Abb. 3.4.3: BMC-MC-Phylogramm der nucLSU, Likelihood-Wert -7912,07 (ausführliche Bildzeile siehe S. 32)

# mtSSU

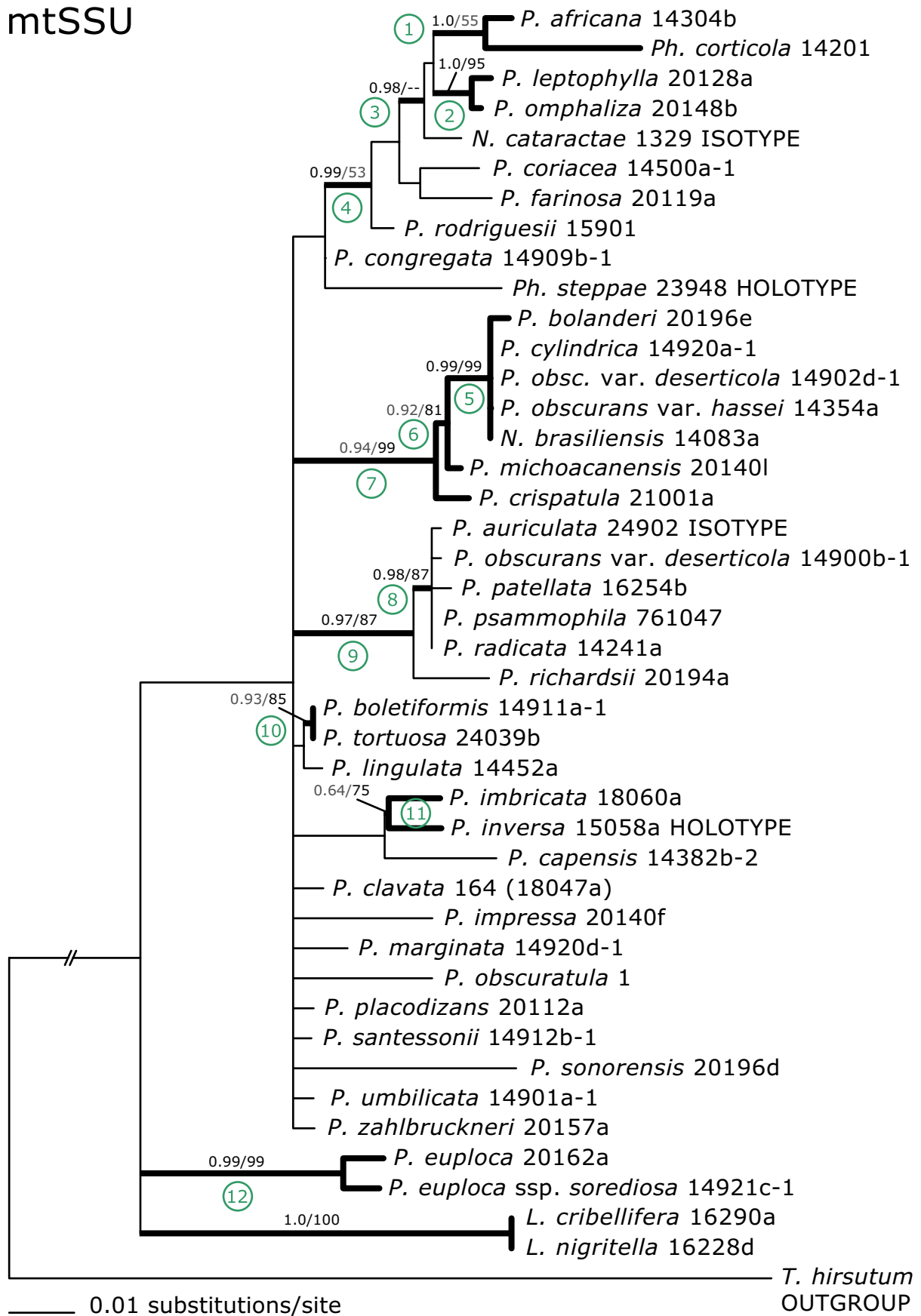


Abb. 3.4.4: BMC-MC-Phylogramm der mtSSU, Likelihood-Wert -3057,50 (ausführliche Bildzeile siehe S. 32)

ITS

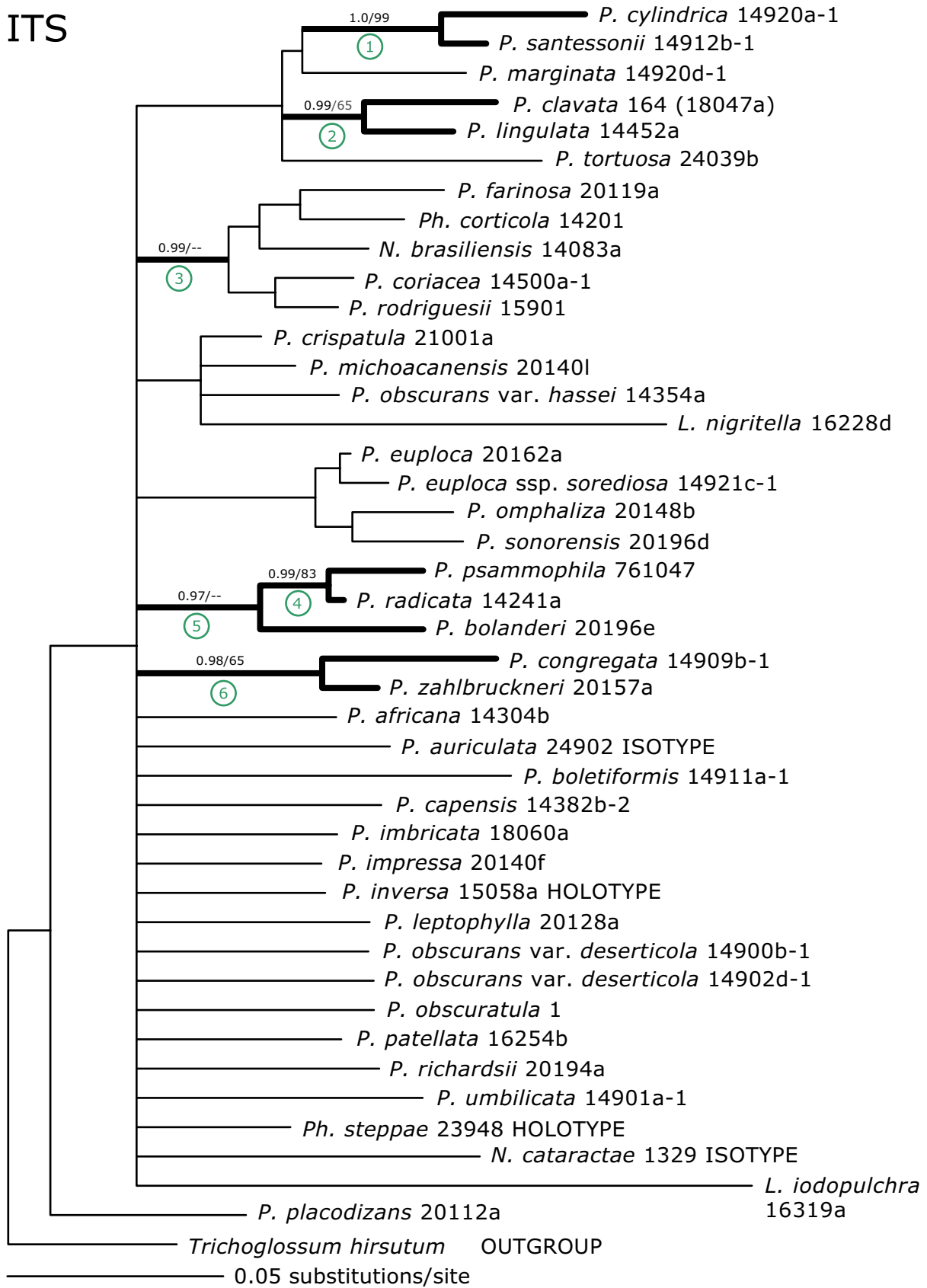


Abb. 3.4.5: BMCMC-Phylogramm der ITS, *Likelihood*-Wert -2486,78 (ausführliche Bildzeile siehe S. 32)

RPB2/7-11

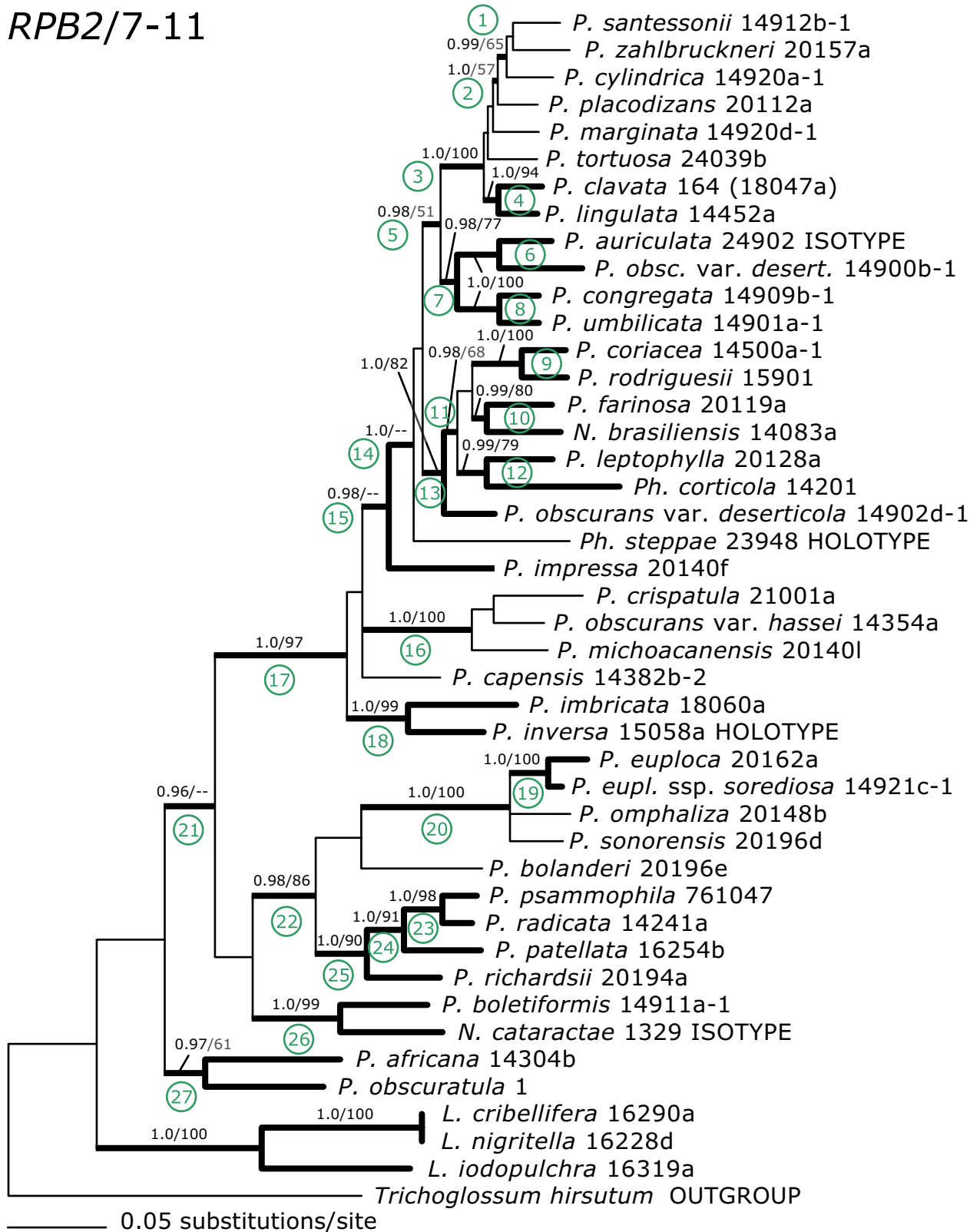


Abb. 3.4.6: BMC-MC-Phylogramm von RPB2/7-11, Likelihood-Wert -10049,06 (ausführliche Bildzeile siehe S. 32)

# $\beta$ -Tub

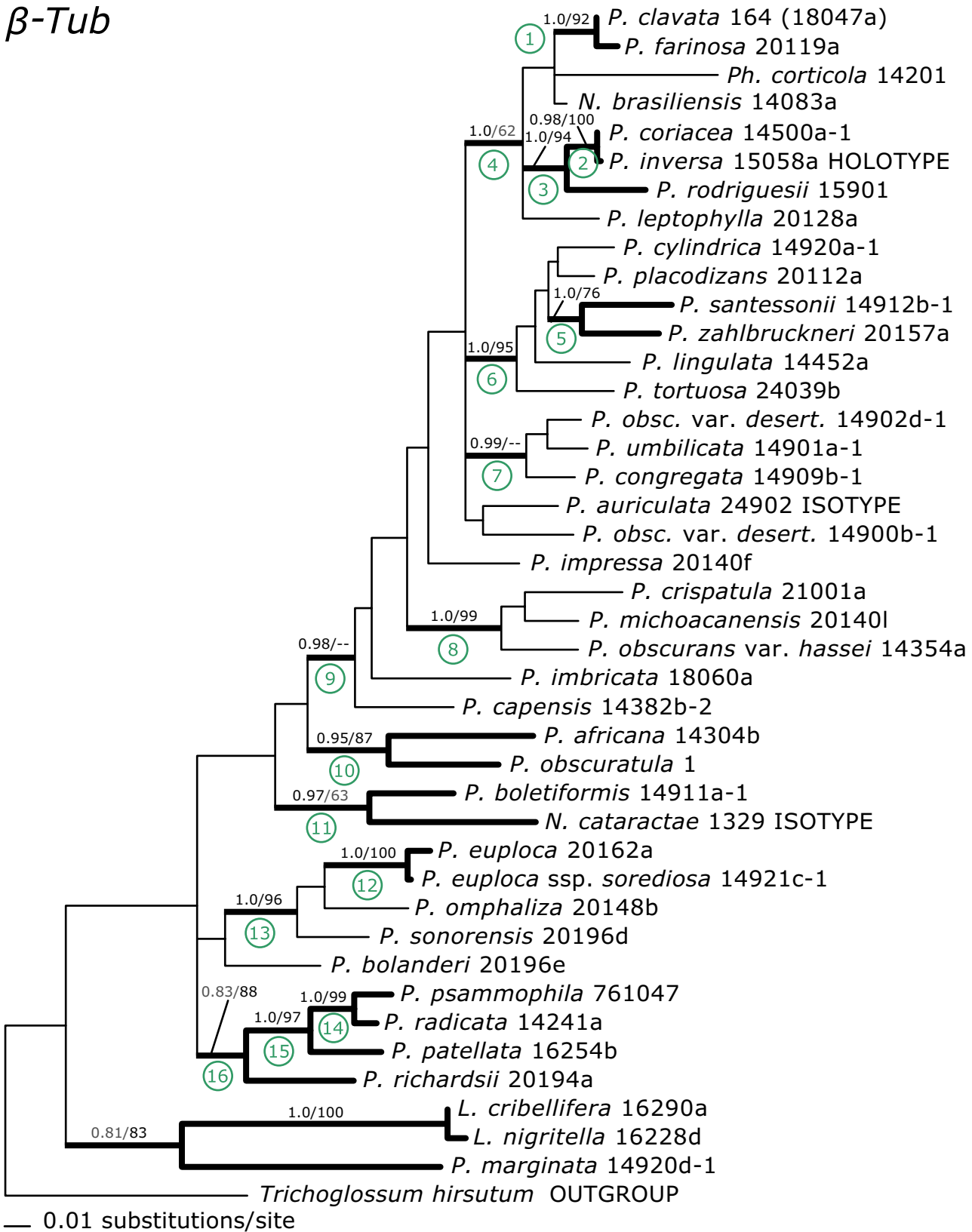


Abb. 3.4.7: BMCMC-Phylogramm von  $\beta$ -Tubulin, Likelihood-Wert -6822,62 (ausführliche Bildzeile siehe S. 32)

### 3.5 Kompatibilitätstests

#### *Kompatibilitätstest mittels constraint-basierter Filter*

Um das Ausmaß der beobachteten Inkongruenz zwischen den einzelnen Datensets näher zu beleuchten, wurden *constraint*-basierte Filter (Ihlen & Ekman 2002) in Paup angewendet. Dafür wurden alle durch PP und/oder BS signifikant unterstützten Äste eines Genstammbaums in eine Baumdefinition (*constraint*, Nexus-Format) übernommen. Diese Baumdefinition eines bestimmten Gens wurde verwendet, um alle der Definition entsprechenden Bäume aus den BMCMC-Stichproben der übrigen Gene herauszufiltern (20 000 Bäume pro Gen, ohne Bäume der *burnin*-Phase). Die Anzahl der so gefundenen Bäume gibt Aufschluss über die Kongruenz zwischen den einzelnen Datensets: Wird die gesuchte Topologie in weniger als 5 % aller Bäume gefunden, so sind die zugrundeliegenden Datensets nicht kompatibel. Verwendete man sämtliche unterstützten Äste zur *constraint*-Definition, so wurde dieser *constraint* für alle Gene in **keinem einzigen** Baum der anderen Gene gefunden, was auf ein hohes Maß an Inkongruenz zwischen allen Gene hindeutet. Daraufhin wurden alle unterstützten Beziehungen in einzelnen *constraints* definiert (grün nummerierte Äste in den Abb. 3.4.2 bis 3.4.7) und erneut gefiltert. Das ausführliche, nach Astnummern gelistete Ergebnis gibt Tabelle A.2 im Anhang wieder. In Abb. 3.5.1 ist eine graphische Zusammenfassung zu sehen. Die nucSSU hat allgemein den höchsten Anteil an kompatiblen Ästen; acht der neun von der nucSSU unterstützten Äste finden sich auch in den Stichproben der nuLSU. Die einzige Inkongruenz der nucSSU zur nuLSU beruht auf der Beziehung *P. psammophila*—*N. cataractae*, die einzigartig für die nuLSU ist, sich also in keiner der anderen Stichproben spiegelt. Umgekehrt sind die von der nuLSU gestützten Beziehungen weniger kompatibel mit dem nucSSU-Datensatz: Nur vier der 13 nuLSU-Äste sind auch von der nucSSU-Stichprobe gestützt. Die geringste Übereinstimmung insgesamt zeigen die mtSSU und ITS: Von den zwölf unterstützten Ästen der mtSSU lassen sich lediglich ein bis maximal zwei in den Stichproben der übrigen Gene nachweisen. Bei der ITS ist fast immer nur ein einziger kompatibler Ast vorhanden (allerdings nicht immer derselbe), bis auf die RPB2/7-11-Stichprobe, in der sich drei Äste der ITS wiederfinden lassen. Generell gilt, dass die Zahl der inkompatiblen Äste eines Gens mit den anderen Datensets die Zahl der kompatiblen Äste überwiegt. Einzig die monophyletische Beziehung *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa* wird in sämtlichen Datensets wiedergefunden. Ansonsten fällt immer mindestens die Bestätigung durch ein oder mehrere Datensets aus; oft ist dies die mtSSU, jedoch nicht zwangsläufig. Selbst wenn man mtSSU und ITS aus den Betrachtungen ausschließt, sind immer noch massive Inkongruenzen zwischen den übrigen Genen vorhanden.

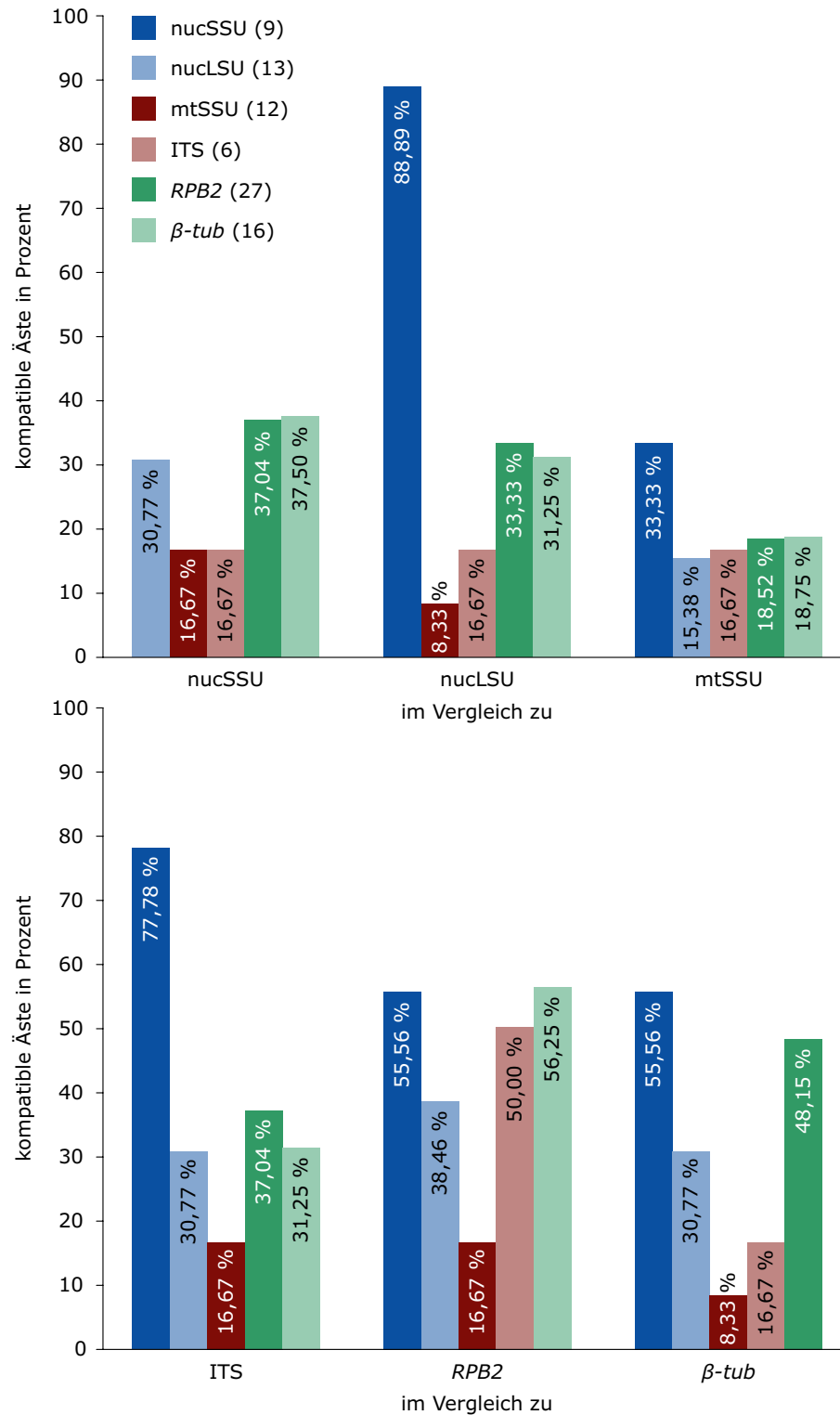


Abb. 3.5.1: Graphische Zusammenfassung der Ergebnisse des *constraint*-basierten Filters – die Balken repräsentieren den Prozentsatz kompatibler Äste, d. h. den Prozentsatz der Äste eines Gens, die jeweils in mindestens 5% der BMCMC-Stichprobe des Vergleichsgens gefunden wurden. 100% entsprechen hierbei der Anzahl der Äste, die insgesamt von dem betreffenden Gen unterstützt werden (Zahlen in Klammern hinter den Gennamen in der Legende).



### *PABA-Ansatz: Suche nach der Unterstützung für einzelne Gruppen*

Der PABA- (*partition addition bootstrap alteration*)-Ansatz (Struck et al. 2006) wurde gewählt, um herauszufinden, welche Taxongruppierungen von welchen Genpartitionen unterstützt werden. Hierzu wurde ein kombinierter Baum aus allen sechs Datensets erzeugt (Abb. 3.5.2, Äste nummeriert). Darüber hinaus wurden alle möglichen Kombinationen von zwei, drei, vier und fünf Genen analysiert – insgesamt 56 Analysen. Aus Gründen der Schnelligkeit und Vergleichbarkeit wurden lediglich ML-Analysen mit PHYML durchgeführt. Zu jedem einzelnen Ast wurde notiert, wie sich die BS-Unterstützung ändert, wenn jedes Gen an jeder möglichen Position des Alignments hinzugefügt wird, also an zweiter, dritter, vierter, fünfter und sechster Stelle. War der Ast in der entsprechenden Analyse nicht vorhanden, so wurde der BS-Wert mit »0« notiert und ging nicht in die Berechnung des Mittelwerts ein. Äste, die zwar vorhanden waren, für die aber keine Änderung des BS-Werts beobachtet wurde, wurden ebenso behandelt. Die PABA-Auswertung für einen Ast findet sich exemplarisch im Anhang (Tab. A.4). Ebenfalls im Anhang befindet sich eine Zusammenfassung der ausführlichen PABA-Tabelle, in der nur noch die Mittelwerte enthalten sind (Tab. A.3). Tabelle 3.5.1 gibt die BS-Änderung ( $\Delta$ -BS) der einzelnen Äste des Baums aus Abb. 3.5.2 für jedes Gen qualitativ wieder. Dabei werden  $\Delta$ -BS-Werte ( $\geq 5/-5$ ) als positive beziehungsweise negative Unterstützung gewertet (+/-).  $\Delta$ -BS-Werte um Null, sind in der Regel das Ergebnis eher widersprüchlicher  $\Delta$ -BS-Werte beim Hinzufügen des betreffenden Gens in den unterschiedlichen Alignment-Positionen, so dass solche Werte als neutral betrachtet werden ( $\circ$ ), also als die betreffende Beziehung weder positiv noch negativ unterstützend.

Die bereits vom *constraint*-basierten Filtern her bekannte Beziehung *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa* taucht auch im kombinierten Baum auf (Ast Nr. 7 in Abb. 3.5.2) und wird von allen Genen gestützt ( $\Delta$ -BS-Wert  $\geq 5$ ). Dies gilt ebenso für die Monophylie von *P. crispatula*—*P. obscurans* var. *hassei*—*P. michoacanensis* (Ast Nr. 15), die bei der Analyse der *constraint*-basierten Filter noch von der mtSSU abgelehnt worden war. ITS und mtSSU lehnen auch den Clade der peltaten Formen *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa*—*P. sonorensis*—*P. omphaliza*—*P. bolanderi* (Ast Nr. 4) ab, während die übrigen vier Gene ihn unterstützen. Die interne Auflösung dieses Clades wird von unterschiedlichen Genen dominiert: Das Schwestergruppenverhältnis von *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa* zu *P. sonorensis* (Ast Nr. 6) wird von nucLSU, mtSSU, *RPB2* und  $\beta$ -*Tub* gestützt, wobei die Beziehung in keinem der Einzelbäume dieser Gene vorkommt (Abb. 3.4.3, 3.4.4, 3.4.6, 3.4.7). Das Schwestergruppenverhältnis der letztgenannten Gruppe zu *P. omphaliza* (Ast Nr. 5) schließlich wird nur von drei Genen getragen: der nucLSU, der mtSSU und *RPB2*. Das in der Einzelgenanalyse erkennbare konfliktäre Signal der nucSSU (Abb. 3.4.2), wo in den Ast Nr. 5 auch *N. brasiliensis* eingeschlossen ist, ist offenbar nicht stark genug, um den BS-Wert drastisch zu verändern. Ein weiterer stabiler Clade ist Ast Nr. 8 (*P. psammophila*—*P. radicata*—*P. patellata*—*P. richardsii*), der vorwiegend erdbewohnende Peltulaceen beinhaltet. Lediglich die nucLSU widerspricht diesem Clade wegen des Einschlusses von *N. cataractae* im Einzelgenbaum (Abb. 3.4.3).

nucSSU  
 nucLSU  
 mtSSU  
 ITS  
 RPB2/7-11  
 β-Tub

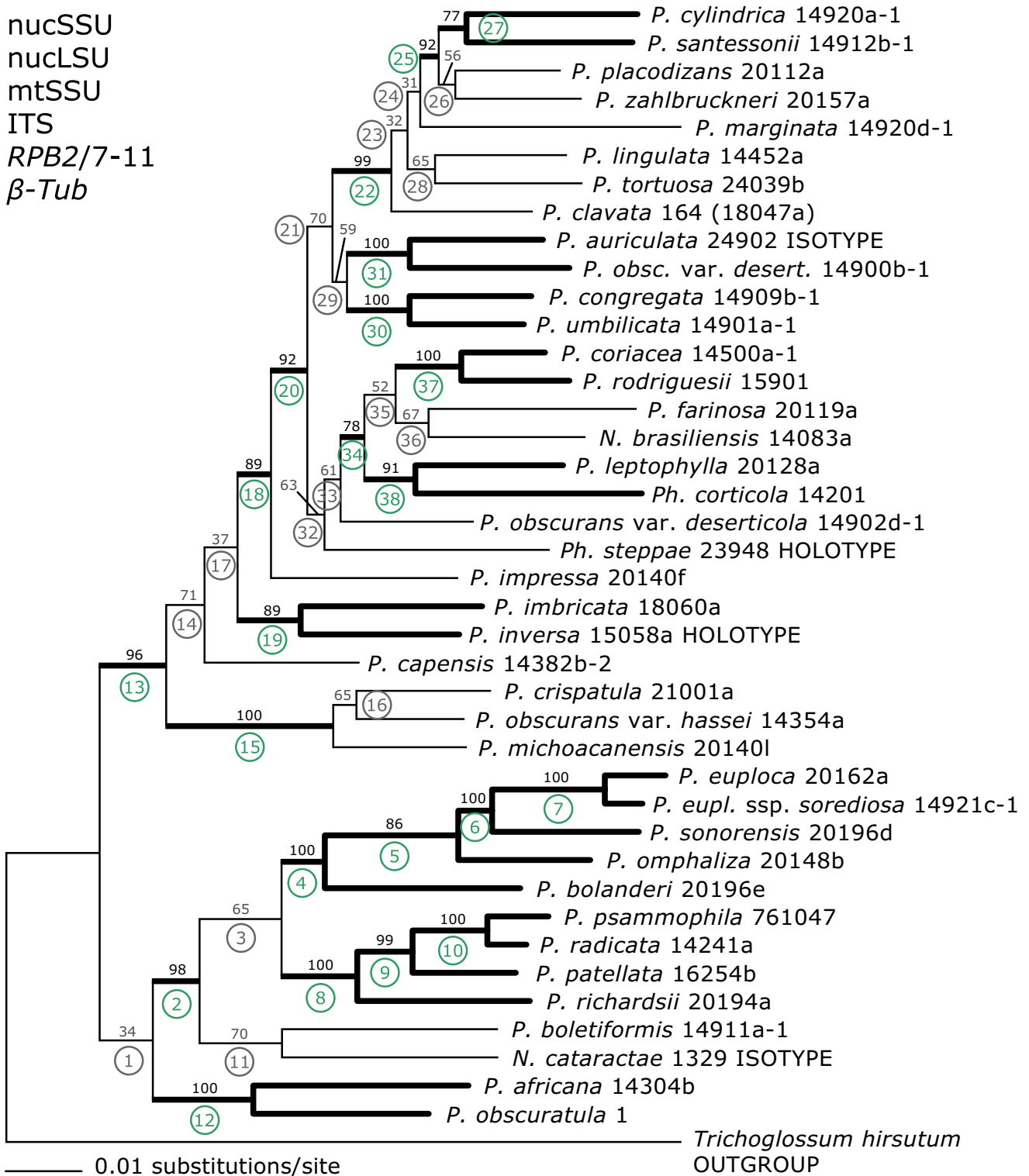


Abb. 3.5.2: Kombinierte ML-Analyse aller sechs Gene, durchgeführt mit PHYML (Likelihood-Wert -35 882,66) – alle Äste sind für die PABA-Analyse nummeriert (siehe Tabelle 3.5.1 und Anhang). Äste, die mindestens 75 % BS-Unterstützung erhalten, sind grün nummeriert, die übrigen grau.

Die Beziehung *P. psammophila*—*N. cataractae* wird ausschließlich von der nuLSU gestützt und sorgt für stark negative  $\Delta$ -BS-Werte der nuLSU auch bei den Ästen Nr. 9 und 10, wohingegen alle anderen Gene diese Äste unterstützen oder indifferent sind. Die Monophylie von *P. africana*—*P. obscuratula* (Ast Nr. 12) wird von fünf Genen unterstützt; lediglich die mtSSU favorisiert hier ein Schwestergruppenverhältnis von *P. africana* und *Ph. corticola*.

Ast #	Bootstrap	unterstützt von					
		nucSSU	nuLSU	mtSSU	ITS	RPB2	$\beta$ -tub
1	34	—	+	—	o	+	+
2	98	o	+	—	+	+	o
3	65	+	—	—	o	+	+
4	100	+	+	—	—	+	+
5	86	o	+	+	o	+	o
6	100	—	+	+	—	+	+
7	100	+	+	+	+	+	+
8	100	+	—	+	+	+	+
9	99	o	—	+	+	+	+
10	100	+	—	+	+	+	+
11	70	—	—	o	—	+	+
12	100	+	+	—	+	+	+
13	96	+	o	—	+	+	+
14	71	—	+	+	+	+	—
15	100	+	+	+	+	+	+
16	65	+	+	—	+	+	+
17	37	+	+	+	o	+	+
18	89	+	+	o	+	+	—
19	89	+	—	+	—	+	—
20	92	+	+	+	+	+	—
21	70	—	—	+	o	+	+
22	99	o	+	—	+	+	o
23	32	+	o	—	—	+	+
24	31	+	+	o	—	+	—
25	92	—	+	—	—	+	+
26	56	—	+	o	+	+	+
27	77	—	+	—	+	+	—
28	65	—	+	+	—	—	+
29	59	o	—	—	—	+	o
30	100	+	+	+	—	+	+
31	100	—	—	+	o	+	+
32	63	+	+	—	+	+	—
33	61	o	—	o	+	+	—
34	78	+	+	—	+	+	o
35	52	+	+	—	+	+	o
36	67	+	+	—	o	+	+
37	100	+	+	—	+	+	—
38	91	+	+	—	—	+	+

+: positive BS-Änderung, —: negative BS-Änderung, o: keine BS-Änderung (0±4)

Tab. 3.5.1: PABA-Ansatz – Unterstützung der nummerierten Äste aus Abb. 3.5.2 durch die verschiedenen Gene (ausführliche Tabellen siehe Anhang)

Von den 38 vorhandenen Ästen werden 37 von *RPB2* unterstützt, dahinter folgt die *nucLSU* mit 26 unterstützten Ästen, *β-Tub* mit 23, die *nucSSU* mit 22 und *ITS* mit 20 unterstützten Ästen. Die *mtSSU* zeigt wie auch schon beim *constraint*-basierten Filtern die geringste Übereinstimmung (15 unterstützte Äste). Nur zwei signifikante Äste werden von allen sechs Genen unterstützt (7, 15), fünf signifikante Äste von fünf Genen (8, 10, 12, 20, 30), acht Äste von vier Genen (4, 6, 9, 13, 18, 34, 37, 38), und immerhin noch sieben Äste erhalten Unterstützung von drei Genen (2, 5, 19, 22, 25, 27, 31). Die Unterstützung der einzelnen Gene für verschiedene Äste ist jedoch schwankend, d. h. es lässt sich keine Teilmenge von Genen festmachen, die ein in sich kongruentes phylogenetisches Signal enthält.

Alle bisherigen Kongruenzanalysen haben gezeigt, dass die *mtSSU* und die *ITS* am wenigsten mit den übrigen Datensets harmonieren. Betrachtet man eine Phylogeniehypothese, die ohne Beteiligung dieser Gene gerechnet wurde – also eine Kombination von *nucSSU*, *nucLSU*, *RPB2* und *β-Tub* – so stimmt diese weitestgehend mit der kombinierten Analyse aller Gene aus Abb. 3.5.2 überein (ohne Abbildung), mit einer Ausnahme: Anstatt der Beziehung *P. cylindrica*—*P. santessonii* (Ast Nr. 27) taucht die signifikant unterstützte Beziehung (BS-Wert 81) *P. zahlbruckneri*—*P. santessonii* auf. Ast Nr. 25, in dem die vier Taxa *P. cylindrica*, *P. santessonii*, *P. zahlbruckneri* und *P. placodizans* als monophyletische Gruppe vereinigt sind, bleibt davon unberührt. Damit setzen sich die proteinkodierenden Gene *RPB2* und *β-Tub* gegenüber den ribosomalen Genen *nucSSU* und *nucLSU* durch, die in den Einzelgenanalysen beide die Verbindung *P. zahlbruckneri*—*P. marginata* favorisieren. Des Weiteren ändert sich die Unterstützung für einige Knoten: Die Äste Nr. 3 und 29 werden fast signifikant (BS-Änderung von 65 auf 74, bzw. 59 auf 73). Ast Nr. 36 wird signifikant (BS-Änderung von 67 auf 94), und der Ast Nr. 19 verliert seine Signifikanz (BS-Änderung von 89 auf 73).

### 3.6 Mapping

Um zu überprüfen, ob die Phylogenie der kombinierten Analyse Unterstützung durch andere Merkmalskomplexe erhält, wurden Daten zur geographischen Verbreitung und Herkunft, morphologisch-anatomische und ökologische Daten sowie die Präsenz von Introns in der *nucSSU* und *nucLSU* auf den Baum aus Abb. 3.5.2 projiziert (*Mapping*).

#### *Verbreitungsdaten*

In Abb. 3.6.1 ist das *Mapping* der geographischen Daten zu sehen. Es ist weder ein Zusammenhang zwischen den bekannten Vorkommen der Peltulaceen-Morphotypen zu erkennen, noch bilden sich Cluster, die dem geographischen Ursprung der Proben entsprechen. So fällt beispielsweise die aus Nordafrika stammende *P. crispata* mit der südafrikanischen *P. obscurans* var. *hassei* und der aus Mexiko stammenden *P. michoacanensis* zusammen, ebenso wie die zentralafrikanische *N. cataractae*

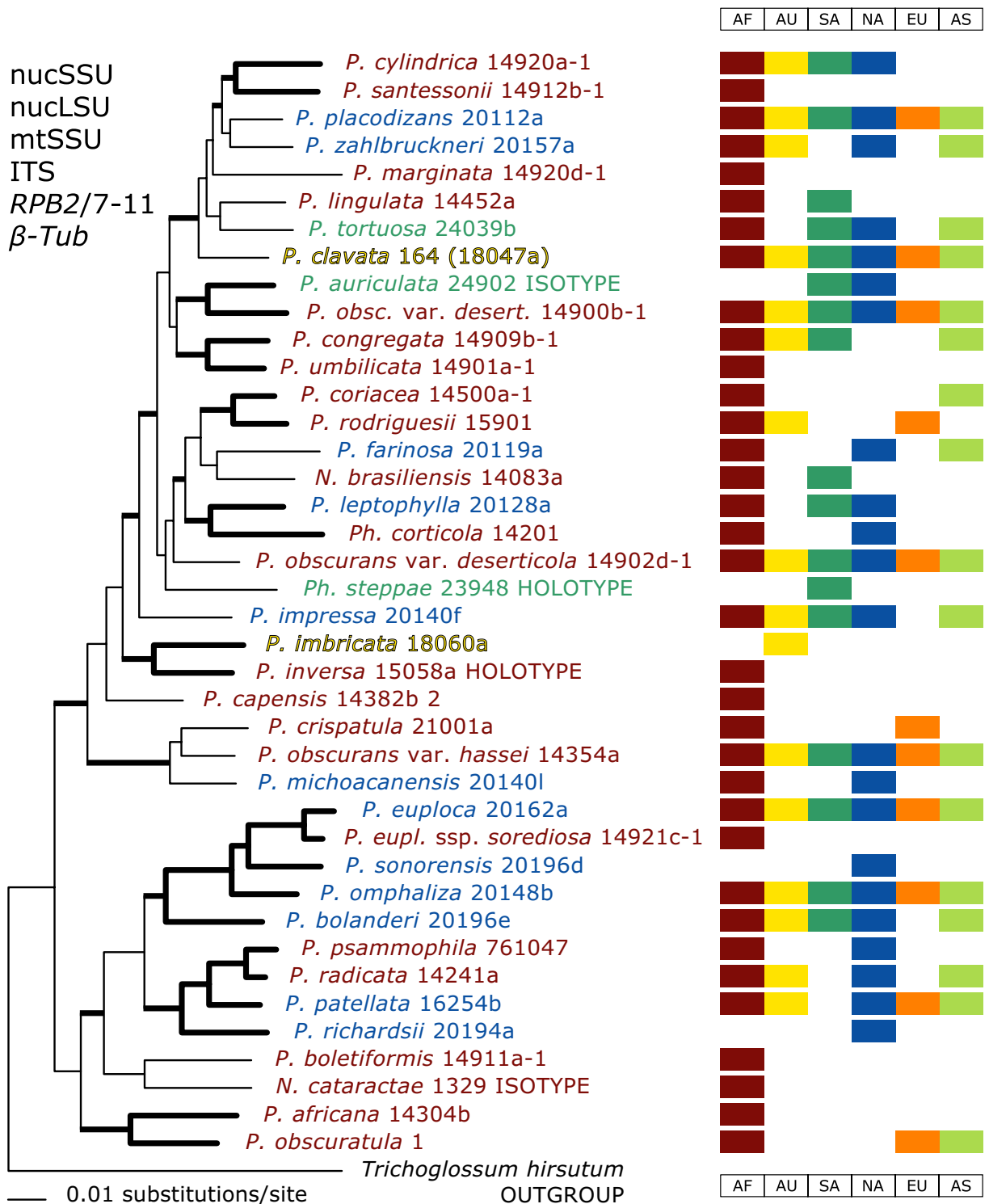


Abb. 3.6.1: Mapping geographischer Daten auf die Phylogenie der kombinierten Analyse (Abb. 3.5.2) – zum einen ist die Herkunft der konkreten Flechtenprobe farblich markiert, zum anderen sind die derzeit bekannten Fundorte (auf kontinentalem Niveau) als farbige Balken angezeigt. AF – Afrika (inklusive der arabischen Halbinsel), AU – Australien, SA – Südamerika, NA – Nordamerika, EU – Europa, AS – Asien.

mit der südafrikanischen *P. boletiformis* oder aber die mexikanische *P. euploca* mit der südafrikanischen *P. euploca* ssp. *sorediosa*.

### Morphologie und Ökologie

Ein ähnliches Bild ergibt sich, wenn man morphologisch-anatomische und ökologische Merkmale für das *Mapping* heranzieht (Abb. 3.6.2 und 3.6.3). Betrachtet man nur einige Apothecienmerkmale (Abb. 3.6.2), so lassen sich teilweise Gemeinsamkeiten zwischen Schwestergruppentaxa erkennen, die jedoch in der Regel nicht exklusiv für diese Gruppierung sind. Zum Beispiel besitzt die überwiegende Mehrheit

#### Fruchtkörper

##### 1 Apothecien

- fehlend  
 vorhanden

##### 2 Apothecienposition

- eingesenkt  
 eingesenkt bis halbaufsitz.  
 aufsitzend

##### 3 Anzahl der Apothecien

- eines  
 mehr als eines

##### 4 Scheibengröße

- punctiform  
 offen, zumindest bei reifen Apothecien

##### 5 maximale Hymeniumhöhe

- < 180 µm  
 ≥ 180 µm, < 250 µm  
 ≥ 250 µm

##### 6 Form der Asci

- clavat  
 obclavat  
 clavat bis obclavat

##### 7 Paraphysen

- einfach  
 verzweigt, zumindest teilweise

##### 8 max. Paraphysendicke

- ≤ 1,5 µm  
 > 1,5 µm, < 3 µm  
 ≥ 3 µm

##### 9 Sporenform

- globulär  
 ellipsoid  
 bacilliform  
 globulär bis ellipsoid  
 ellipsoid bis bacilliform oder fusiform

##### 10 maximale Sporenbreite

- ≤ 4 µm  
 > 4 µm, < 6 µm  
 ≥ 6 µm, ≤ 10 µm

##### 11 maximale Sporenlänge

- ≤ 5 µm  
 > 5 µm, < 8 µm  
 ≥ 8 µm

#### Pyknidien

##### 12 Pyknidien

- fehlend  
 vorhanden

##### 13 Pyknosporenform

- ellipsoid  
 fusiform  
 ellipsoid bis fusiform oder bacilliform  
 bacilliform

##### 14 max. Pyknosporenbreite

- < 2 µm  
 ≥ 2 µm

##### 15 max. Pyknosporenlänge

- < 3,5 µm  
 ≥ 3,5 µm

#### Thallus

##### 16 Thallusschuppenform

- peltat (strikt)  
 subfruticos, clavat oder lingulat, verzweigt oder unverzweigt, manchmal pulvinat  
 squamulös, gelappt oder ungelappt, verzweigt oder unverzweigt, manchmal pulvinat  
 krustig-areoliert

##### 17 Thallusschichtung

- heteromer  
 homöomer

##### 18 Aufbau Medulla

- Hyphen locker  
 Hyphen verklebt, zumindest teilweise

##### 19 Markhöhlen

- fehlend  
 vorhanden

##### 20 Soredien

- fehlend  
 vorhanden

##### 21 Isidien

- fehlend  
 vorhanden

##### 22 obere Rinde

- fehlend  
 vorhanden, zumindest stellenweise

##### 23 untere Rinde

- fehlend  
 vorhanden, zumindest stellenweise

##### 24 Epinekralschicht

- fehlend  
 vorhanden, zumindest stellenweise

#### Ökologie

##### 25 Substrat

- Gestein  
 Erdboden  
 Erdboden oder Gestein  
 Baumrinde

##### 26 Habitat

- trocken (arid/semi-arid)  
 sickervasserfeucht  
 periodisch oder kurzfristig submers

Legende zu den Abb. 3.6.2 und 3.6.3 (Folgeseiten) – *Mapping* nicht-molekularer Daten

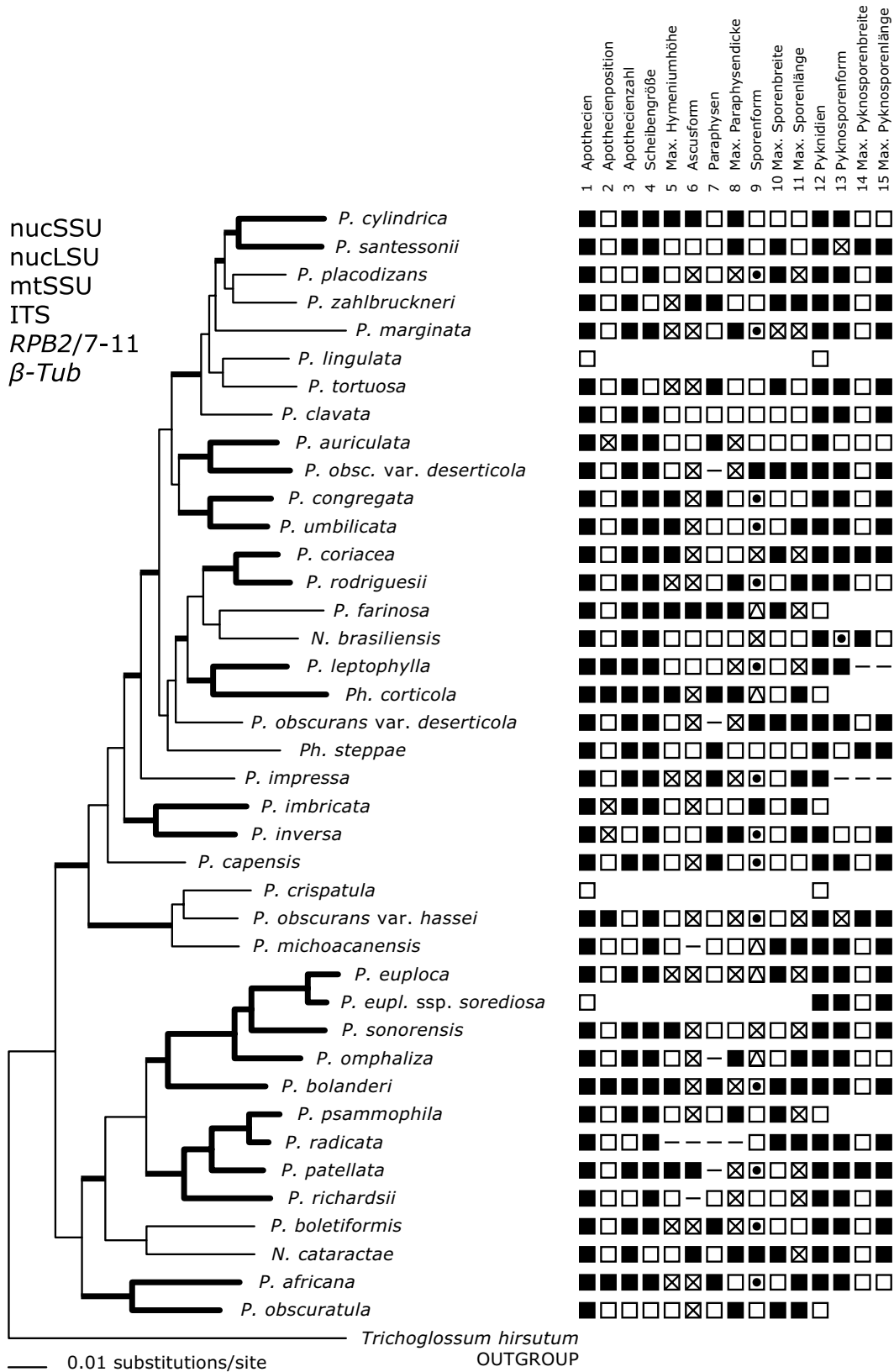


Abb. 3.6.2: Mapping von 15 Fruchtkörper- und Pyknidienmerkmalen auf die Phylogenie der kombinierten Analyse aller sechs Gene (Abb. 3.5.2), Legende siehe S. 46 – fehlende Daten sind mit '-' markiert, fehlende Kästchen sind eine Folge abhängiger Merkmale (so lassen sich die Fruchtkörpermerkmale nicht angeben, wenn ein Taxon bisher nur steril bekannt ist, z. B. *P. crispatula*).

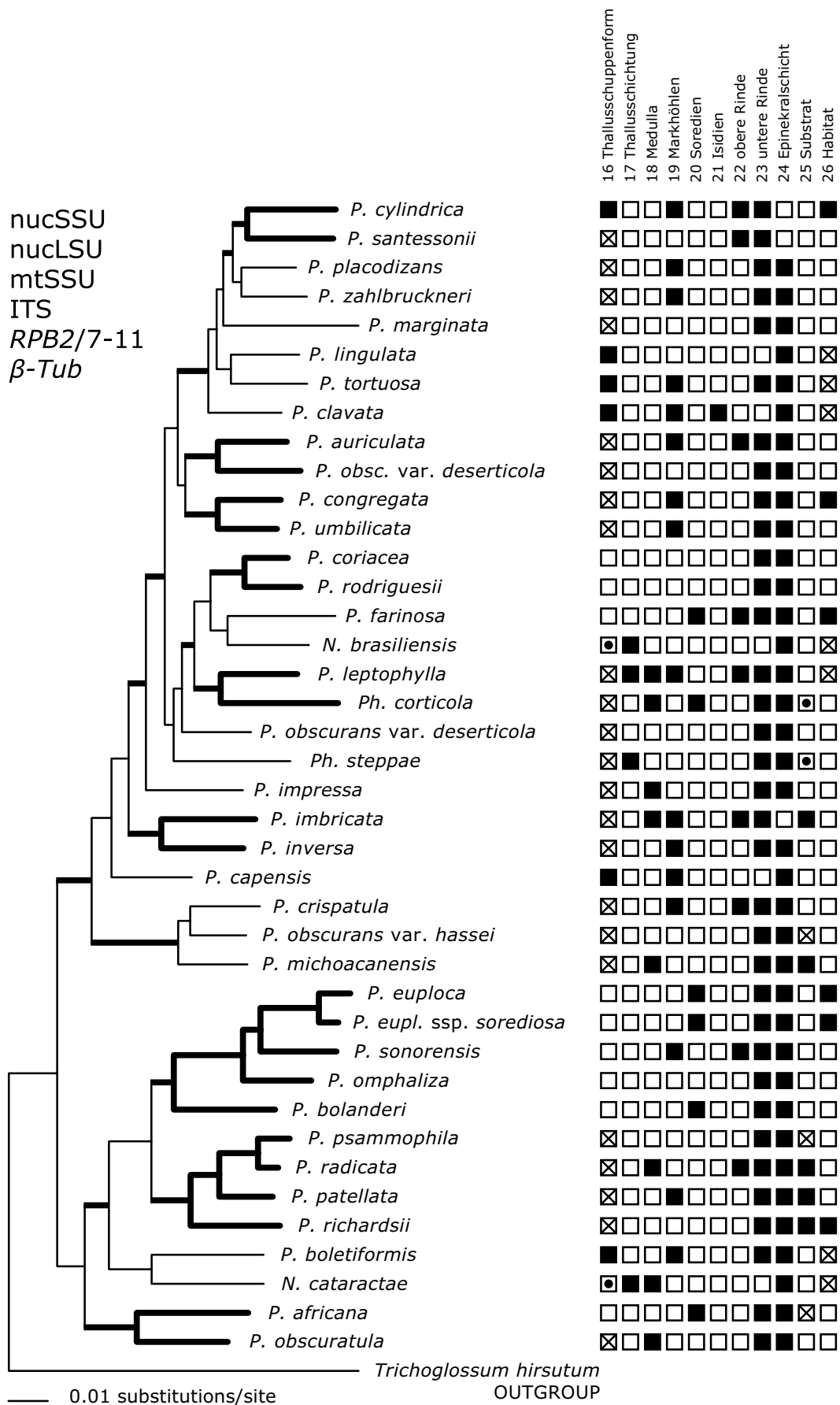


Abb. 3.6.3: Mapping von neun Thallus- und zwei ökologischen Merkmalen auf die Phylogenie der kombinierten Analyse aller sechs Gene (Abb. 3.5.2), Legende siehe S. 46



der Peltulaceen eingesenkte Fruchtkörper; lediglich drei Spezies zeigen aufsitzende Apothecien: *P. auriculata*, *P. inversa* und *P. imbricata*. Jedoch bilden nur zwei der drei Taxa eine monophyletische Einheit (*P. inversa*—*P. imbricata*), während *P. auriculata* das Schwestergruppentaxon zu einer *P. obscurans* var. *deserticola* bildet. Auch diejenigen Peltulaceen mit punctiformer Scheibe – die meisten Taxa besitzen offene Scheiben – formen keine Einheit. Betrachtet man Thallusmerkmale und Informationen zu Substrat und Habitat (Abb. 3.6.3) lassen sich ähnliche Beobachtungen machen: Der Clade *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa*—*P. sonorensis*—*P. omphaliza*—*P. bolanderi* beinhaltet ausschließlich Taxa mit peltaten Thallusschuppenformen (allerdings nicht exklusiv), und der *P. psammophila*—*P. radicata*—*P. patellata*—*P. richardsii*-Clade beherbergt Taxa mit squamulösen Thallusschuppen, die überwiegend den Erdboden besiedeln. *P. psammophila* lässt sich allerdings auch auf Gestein finden, und *P. imbricata* und *P. michoacanensis*, die in völlig anderen Beziehungen stehen, können auch auf Erdboden angetroffen werden. Auffällig ist, dass die beiden Taxa *Ph. steppae* und *Ph. corticola*, die u. a. wegen ihrer Habitatpräferenz für Baumrinde in eine eigene Gattung gestellt sind, keine monophyletische Einheit bilden, ebenso wie die beiden Taxa der dritten Peltulaceen-Gattung *Neoheppia*: Diese Taxa mit krustigem Thallus bilden kein Monophylum, *N. cataractae* clustert stattdessen mit der subfruticosen *P. boletiformis*.

### *Introns*

Das nucSSU-Gen enthält vier Introns, die bei mehr als einem Taxon vorkommen (1-4). Die Intronlängen variieren zwischen 320 und > 668 bp. Im nuLSU-Alignment gibt es nur ein einziges Intron von 348 bis 455 bp Länge (1). Die jeweiligen Introns haben konservierte und hochvariable Bereiche, so dass ein teilweises Alignment möglich ist (ohne Abbildung). Das Intron der nuLSU konnte als *group-I*-Intron identifiziert werden. Selbstpleißende *group-I*-Introns besitzen charakteristische Sekundärstrukturen und lassen sich anhand von konservierten Sequenzabschnitten erkennen (Burke et al. 1987, Cech 1988): Die *stem*-Region *P* (5'-GCCGGG-3') ist im nuLSU-Intron 1 vorhanden und bei den Peltulaceen zu 5'-TGCGGG-3' erweitert. Auch eine zu *P* komplementäre *stem*-Region *Q* (5'-CC[A]CGC-3') ist in der nuLSU-Intronsequenz der Peltulaceae zu finden (5'-CCGCA-3'). Des Weiteren taucht die *stem*-Region *R* (5'-C[A]GACTA-3') sowie die Region *S* auf (5'-AAGATATAGTCC-3'), deren vorderer Teil (5'-AAGATA-3') ungepaart, und deren hinterer Teil zur *stem*-Region *R* komplementär ist. Der ungepaarte vordere Teil der Region *S* ist bei einigen Peltulaceen-Taxa zu 5'-AAGGTA-3' abgewandelt. Auch beim Intron 2 der nucSSU handelt es sich wahrscheinlich um ein *group-I*-Intron. Die *stem*-Region *P* konnte bei allen Taxa identifiziert werden, nicht jedoch die komplementäre Region *Q*. Die Regionen *R* und *S* sind stets vorhanden, wenn auch die Region *S* in zwei zusätzlichen Varianten auftritt: 5'-AAGGTATAGTCC-3' und 5'-GAGATATAGTCC-3'. *Spliceosomal* Introns haben eine stark konservierte Region, die mit der RNA des Spleißosoms interagiert (5'-TACTAAC-3', Lopez & Séraphin 1999, Bhattacharya et al. 2000). Diese Region konnte jedoch in keinem der

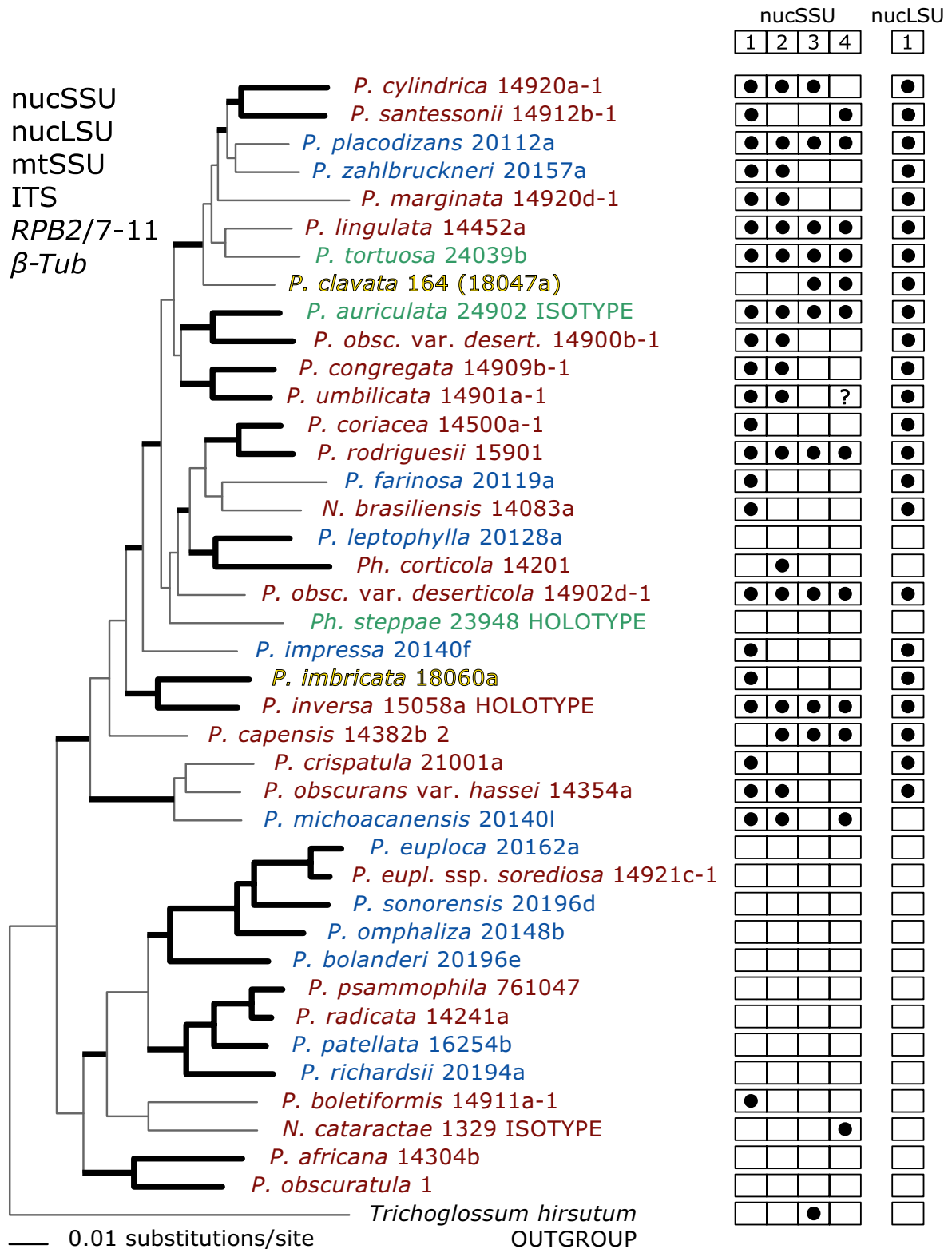


Abb. 3.6.4: Mapping der Präsenz von vier Introns in der nucSSU und eines Introns in der nuLSU – schwarz gefüllte Kreise stehen für die Präsenz des entsprechenden Introns. Das Fragezeichen indiziert eine ungewisse Intronpräsenz, da die DNA-Sequenz nicht bis zu diesem Intron sequenziert werden konnte. Die Taxa sind entsprechend ihrer geographischen Herkunft farbig markiert (Farblegende: Afrika – rot, Nordamerika – blau, Südamerika – grün, Australien – gelb).

übrigen Introns gefunden werden – auch nicht in einer modifizierten Form –, so dass hier keine weitere Intronklassifikation möglich war.

Die Präsenz der nucSSU Introns 1 bis 4 und des nuLSU-Introns 1 ist in Abbildung 3.6.4 auf den Baum der kombinierten Analyse (siehe Abb. 3.5.2) projiziert. Auffällig ist, dass sich in der Gruppe der peltaten Flechten und der Erdbewohner (*P. euploca* bis *P. richardsii*) keine Taxa mit Introns befinden. Lediglich *P. boletiformis* und *N. cataractae*, die einen (nicht unterstützten) Clade bilden, weisen jeweils ein Intron der nucSSU auf, jedoch nicht dasselbe. Das Intron 1 der nuLSU findet sich ausschließlich im oberen Teilbaum. In diesem Teilbaum existieren allerdings auch zwei Taxa, deren nucSSU- und nuLSU-Sequenzen intronfrei sind, betrachtet man nur das nuLSU Intron 1, so sind es sogar vier Taxa, denen dieses Intron fehlt. Intron 3 der nucSSU ist auch in der Außengruppe *Trichoglossum hirsutum* vorhanden, jedoch mit deutlich abweichender Sequenz (ohne Abbildung). Über die in Abb. 3.6.4 verwendeten Introns hinaus, gibt es im nucSSU-Alignment noch vier weitere Insertionen, von denen drei nur ein einziges Taxon betreffen. *P. imbricata* 18060a besitzt eine solche Insertion, zwei weitere *Lichinella nigritella* 16228d, ein Vertreter der Lichinaceae, der nicht in der hier gezeigten kombinierten Analyse aller Gene vertreten ist. Die vierte Insertion betrifft ebenfalls *L. nigritella* 16228d und auch *P. umbilicata* 14901a-1. Für beide Taxa ist jedoch nur der Anfang des Introns vorhanden, da eine weitere Sequenzierung über diesen Punkt hinaus nicht möglich war und somit keine weiteren Daten vorhanden sind.

### 3.7 Rekombinationstests

#### *Likewind*-Analysen

*Likewind*-Analysen zum Testen auf inkongruentes Signal innerhalb des Alignments für die sechs Gene nucSSU, nuLSU, mtSSU, ITS, *RPB2* und  $\beta$ -*Tub* sind in den Abbildungen 3.7.1 bis 3.7.6 zu sehen. Negative Ausschläge deuten laut Archibald & Roger (2002) auf Bereiche hin, bei denen die ML-Distanz-Approximation zu einem anderen Ergebnis kommt als ein reines ML-Verfahren.

Für die nucSSU (Abb. 3.7.1) lassen sich drei Bereiche beobachten, die in der *Likewind*-Analyse ein inkongruentes Signal aufweisen. Es sind dies die Alignment-Abschnitte 50-210 bp, 140-240 bp und 500-660 bp. Die aus den drei Abschnitten errechneten Phylogenien zeigen zumeist nur sehr wenige oder gar keine gestützten Äste (ohne Abbildung). Für den Abschnitt 500-660 taucht allerdings die gestützte Beziehung *P. clavata*—*P. euploca* ssp. *sorediosa* auf (87% BS). Letzteres Taxon hat sich in allen vorherigen Analysen als äußerst stabiles Schwestergruppentaxon zu *P. euploca* gezeigt (der Ast *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa* ist tatsächlich der einzige, der bisher von allen Genen gleichermaßen unterstützt wird). Entfernt man die durch *Likewind* identifizierten inkongruenten Alignment-Teile und berechnet eine neue Phylogenie, so sind Veränderungen der BS-Werte (sowohl positiv wie

negativ) und auch teilweise Änderungen der Topologie zu beobachten (ohne Abbildung). So bleibt z. B. die Monophylie der drei Taxa *P. michoacanensis*—*P. crispatula*—*P. obscurans* var. *hassei* erhalten, allerdings verschieben sich die Schwestergruppenverhältnisse: Legt man das komplette Alignment zugrunde (Abb. 3.4.2, Ast Nr. 3 und 4) so sind *P. crispatula* und *P. michoacanensis* am engsten verwandt. In der Phylogenie der *Likewind*-Analyse sind dagegen *P. crispatula* und *P. obscurans* var. *hassei* Schwestertaxa. Diese Beziehung wird auch in der kombinierten Analyse (PABA, siehe Abb. 3.5.2, Ast Nr. 16) favorisiert.

Das *Likewind*-Profil der nucLSU (Abb. 3.7.2) zeigt zwei Alignment-Bereiche (bp 1-100 und 20-120), die ein signifikant anderes phylogenetisches Signal aufweisen als das Gesamtalignment. Die aus den Basen 1-100 und 20-120 errechneten Phylogenien zeigen nur einen gestützten Ast (BS-Wert 74 bzw. 77): die Beziehung *P. psammophila*—*P. bolanderi*, die im Widerspruch zur Beziehung *P. psammophila*—*N. cataractae* steht, wie sie von den Gesamtdaten favorisiert wird (siehe Abb. 3.4.3, Ast Nr. 7). Für den Alignmentabschnitt 330-500 bp, der im *Likewind*-Plot einen negativen Ausschlag hat, wurden zusätzlich BS-Werte mit der ML-Distanz-Approximation berechnet. Beide Methoden, ML und ML-Distanz, liefern dieselben unterstützten Äste, jedoch mit leicht abweichenden BS-Werten. Ebenso ändern sich nicht die unterstützten Äste (siehe Abb. 3.4.3), wenn die errechnete Phylogenie auf dem um die Basen 1-120 reduzierten Alignment fußt (ohne Abbildung). Lediglich die BS-Werte sind etwas vermindert.

Im Alignment der mtSSU lassen sich vier Bereiche mit inkongruentem Signal identifizieren (Abb. 3.7.3): Es sind dies die bp 160-260, 190-290, 230-340 und 290-460. Darüber hinaus liefern die bp 1-120 ein negatives Signal im *Likewind*-Plot. Die

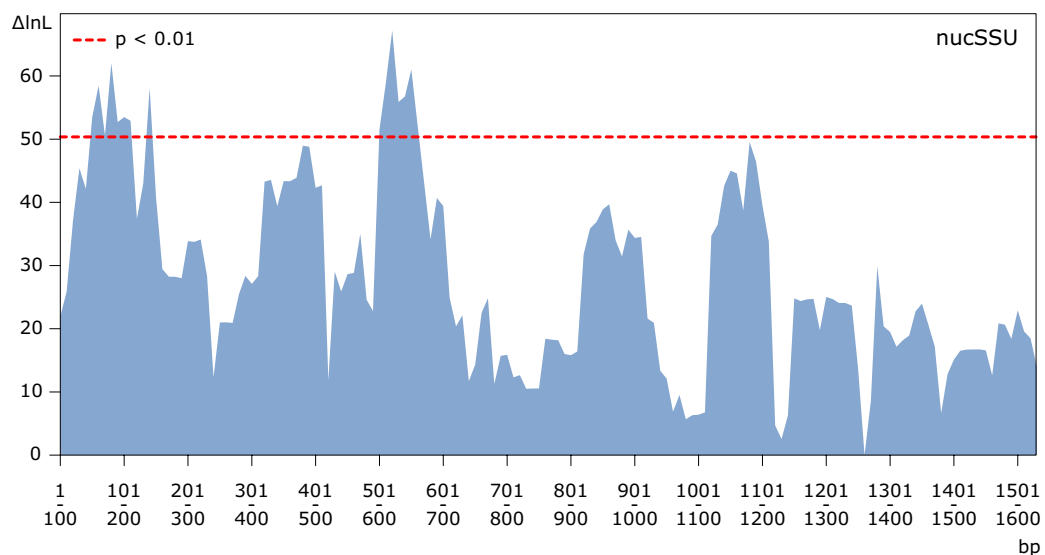


Abb. 3.7.1: *Likewind*-Profil der nucSSU – aufgetragen sind die  $\Delta \ln L$ -Werte gegen die 100-bp-Abschnitte des Alignments. Übersteigt das Profil die Signifikanzlinie, so hat der zugrundeliegende Abschnitt des Alignments ein phylogenetisches Signal, das von dem des gesamten Alignments abweicht.

aus den Alignment-Abschnitten 160-260 bp und 190-290 bp errechneten Phylogenien zeigen keinerlei unterstützte Äste, während die Phylogenien der Abschnitte 230-340 bp und 290-460 bp lediglich einen beziehungsweise zwei unterstützte Äste

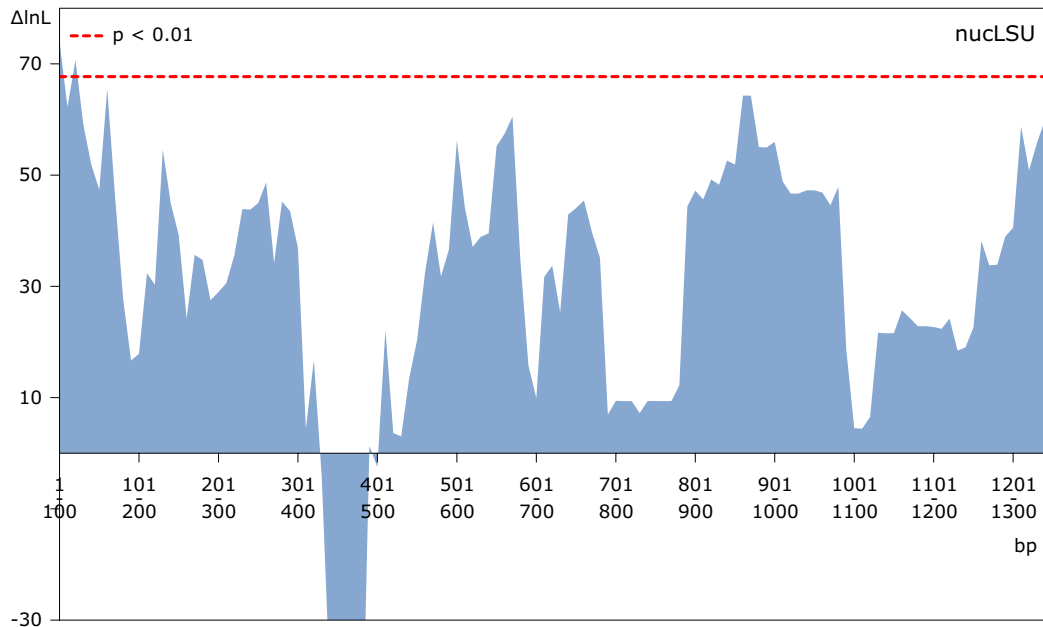


Abb. 3.7.2: Likelihood-Profil der nucLSU – aufgetragen sind die  $\Delta\ln L$ -Werte gegen die 100-bp-Abschnitte des Alignments. Negative Ausschläge (hier nach unten hin abgeschnitten) sind ein Zeichen dafür, dass die ML-Distanz-Approximation an dieser Stelle von einer reinen ML-Analyse abweicht.

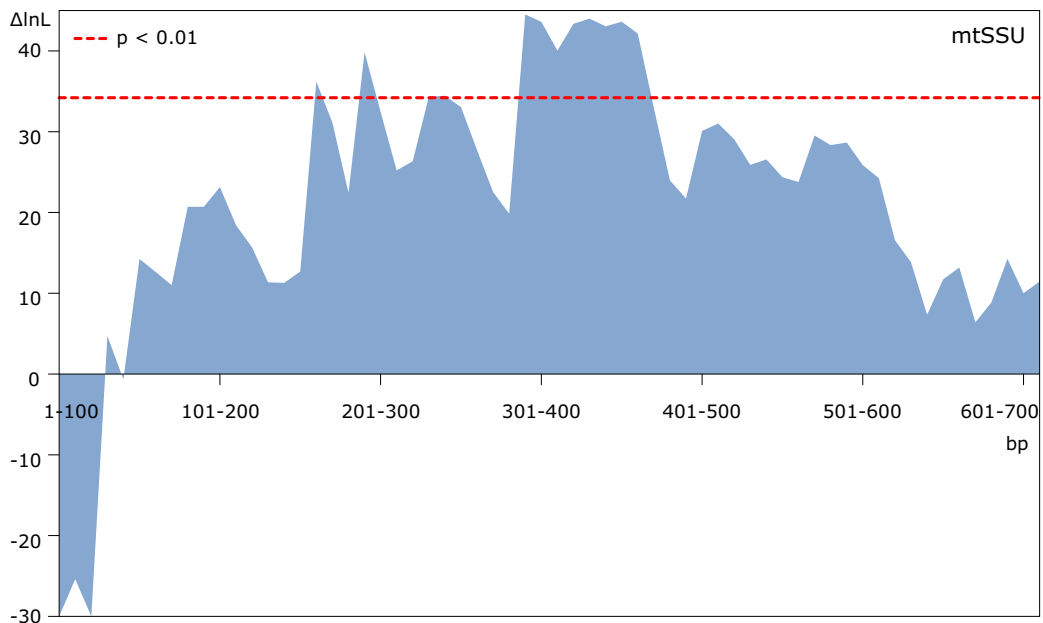


Abb. 3.7.3: Likelihood-Profil der mtSSU – aufgetragen sind die  $\Delta\ln L$ -Werte gegen die 100-bp-Abschnitte des Alignments. Negative Ausschläge sind ein Zeichen dafür, dass die ML-Distanz-Approximation von einer reinen ML-Analyse an dieser Stelle abweicht.

aufweisen, die nicht im Konflikt mit den Beziehungen der Phylogenie aus dem gesamten Alignment stehen (siehe Abb. 3.4.4). Schließt man die inkongruenten Abschnitte aus dem Alignment aus, so sind in der resultierenden Phylogenie die BS-Werte der unterstützten Äste reduziert (die Topologie ist unverändert). Dies führt dazu, dass schwach signifikante Äste (z. B. Ast Nr. 11 in Abb. 3.4.4) nicht mehr unterstützt sind (ohne Abbildung). Im Alignment-Abschnitt mit negativem Signal (bp 1-120) zeigt die ML-Phylogenie zwei mit dem Gesamtalignment kongruente, unterstützte Äste. Die ML-Distanz-Analyse dagegen ist komplett unaufgelöst, weist also gar keine unterstützten Äste auf.

Der *Likewind*-Plot für die ITS-Region (Abb. 3.7.4) zeigt keine mit dem Gesamtalignment inkongruenten Abschnitte, aber ein negatives Signal für die bp 180-284. Die ML-Phylogenie für diese Basen hat zwei unterstützte Äste, die mit der Phylogenie aus dem kompletten Alignment übereinstimmen (siehe Abb. 3.4.5). In der ML-Distanz-Approximation dagegen taucht die widersprüchliche Beziehung *P. tortuosa*—*P. zahlbruckneri* auf, die allerdings nicht signifikant ist (BS-Wert 62). Die beiden Analysemethoden liefern hier also ein leicht unterschiedliches Signal.

Für das *RPB2/7-11*-Alignment lassen sich im *Likewind*-Plot sieben Regionen mit inkongruentem Signal identifizieren (Abb. 3.7.5): bp 120-220, 150-250, 170-170, 190-290, 210-310 und 240-350. Darüber hinaus zeigen neun Abschnitte negative Signale: bp 10-110, 30-140, 100-200, 290-390, 310-410, 360-500, 420-520, 480-580 und 750-876. Die aus den inkongruenten Alignment-Abschnitten errechneten Phylogenien zeigen zwischen zwei und sechs unterstützte Äste (ohne Abbildung). Keine dieser Phylogenien widerspricht der Gesamtphylogenie (siehe Abb. 3.4.6). Werden

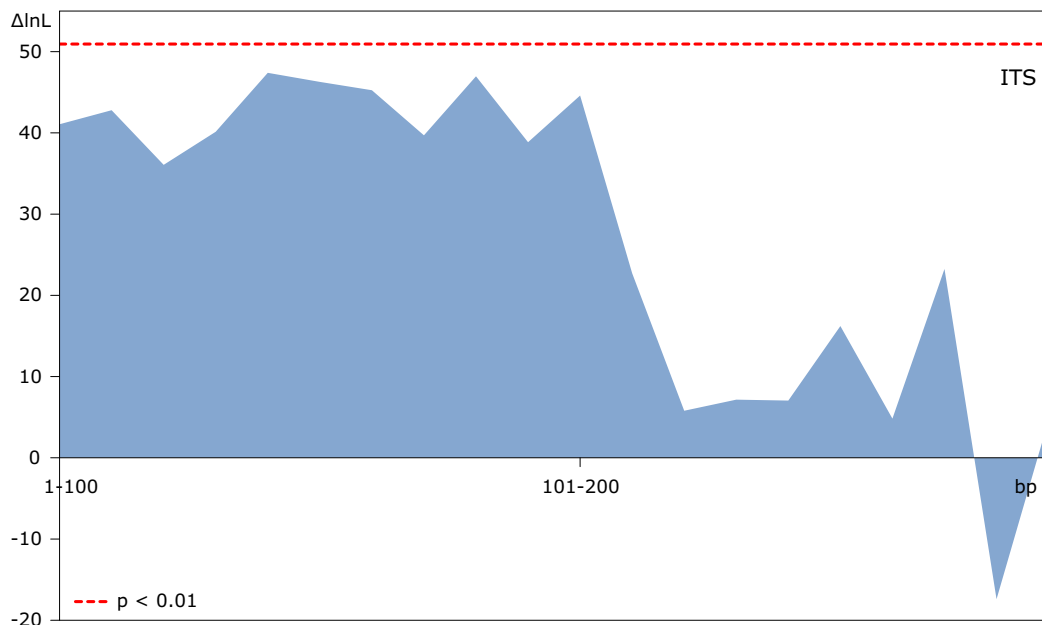


Abb. 3.7.4: *Likewind*-Profil der ITS-Region – aufgetragen sind die  $\Delta \ln L$ -Werte gegen die 100-bp-Abschnitte des Alignments. Negative Ausschläge sind ein Zeichen dafür, dass die ML-Distanz-Approximation hier von einer reinen ML-Analyse abweicht.

die von *Likewind* als inkongruent identifizierten Abschnitte aus dem Alignment entfernt, so ändert sich die BS-Unterstützung kaum oder sie sinkt (ohne Abbildung). Nur im Fall der Beziehung *P. africana*—*P. obscuratula* steigt der BS-Wert von 61 auf 70. Im Falle der negativen *Likewind*-Plot-Abschnitte ließ sich aufgrund eines internen Paup-Fehlers für das letzte Segment (bp 620-876) keine ML-Distanz-Analyse durchführen. Die unterstützten Äste aus der ML-Analyse dieses Segments zeigen jedoch keine Widersprüche zur Gesamtphylogenie. In den anderen negativen Bereichen ist lediglich ein Unterschied zwischen ML- und ML-Distanz-Analyse festzustellen: Während in den ML-Analysen die Beziehung zwischen *P. crispatula*, *P. obscurans* var. *hassei* und *P. michoacanensis* polytom ist, ist sie in den ML-Distanz-Analysen zugunsten der Beziehung *P. obscurans* var. *hassei*—*P. michoacanensis* aufgelöst, allerdings nicht signifikant unterstützt. Zur Gesamtphylogenie bestehen keine Widersprüche.

Der *Likewind*-Plot des  $\beta$ -*Tub*-Gens (Abb. 3.7.6) weist einen signifikant inkongruenten Alignment-Abschnitt (bp 170-270) und zwei negative Bereiche (bp 530-640 und 690-795) auf. Die Phylogenie aus den Basen 170-270 hat lediglich zwei unterstützte Äste, die nicht im Widerspruch zur Phylogenie aus dem Gesamtalignment stehen (siehe Abb. 3.4.7). Werden die Basen 170-270 aus dem Alignment entfernt, so sinken in der resultierenden Phylogenie die BS-Werte leicht. Lediglich für die Beziehung *P. boletiformis*—*N. cataractae* steigt der BS-Wert von 63 auf 83 (ohne Abbildung); dieser Ast wird somit signifikant unterstützt. Außerdem wird die polytome Beziehung *P. crispatula*—*P. obscurans* var. *hassei*—*P. michoacanensis* aufgelöst zugunsten einer engen Verwandtschaft zwischen *P. crispatula* und *P. obscurans* var. *hassei*, allerdings ist sie mit einem BS-Wert von 68 nicht unterstützt. Die ML-Analyse im nega-

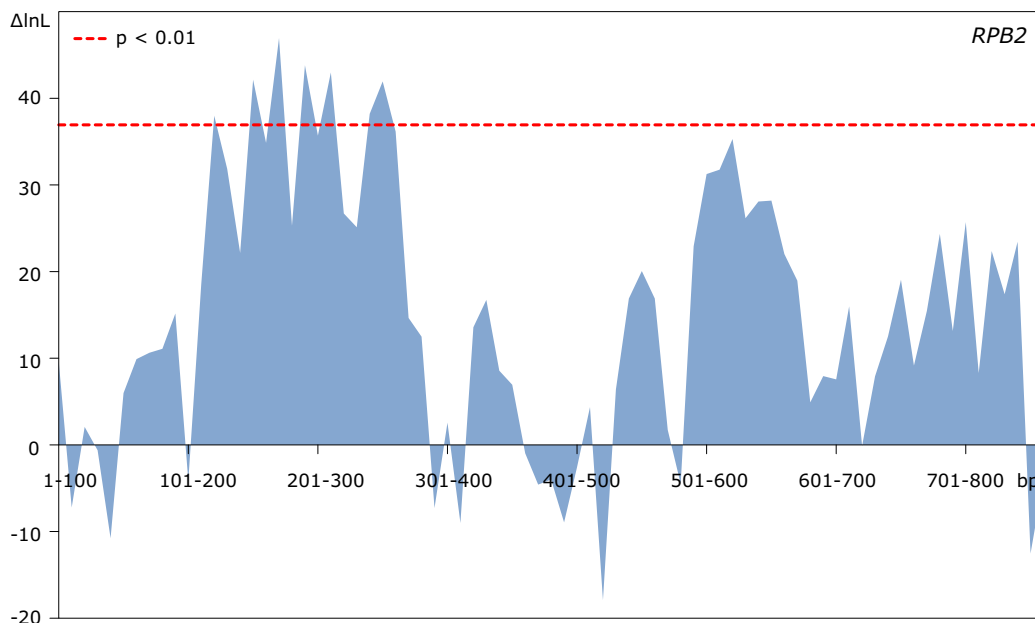


Abb. 3.7.5: *Likewind*-Profil von RPB2/7-11 – aufgetragen sind die  $\Delta \ln L$ -Werte gegen die 100-bp-Abschnitte des Alignments. Negative Ausschläge sind ein Zeichen dafür, dass die ML-Distanz-Approximation hier von einer reinen ML-Analyse abweicht.

tiven Teil (bp 530-640) des *Likewind*-Plots zeigt drei unterstützte Äste. Sie deckt sich insgesamt mit der aus dem gesamten Alignment errechneten Phylogenie. Die ML-Distanz-Analyse hingegen hat eine mit einem BS-Wert von 100 gestützte Beziehung (ohne Abbildung), die in der reinen ML-Analyse nicht auftaucht: eine Polytomie der fünf Taxa *P. clavata*, *P. leptophylla*, *P. umbilicata*, *N. brasiliensis*, *N. cataractae* und *P. obscurans* var. *deserticola* 14902d-1. Ein ähnliches Bild ergibt sich für die ML- und ML-Distanz-Analysen der Basen 690-795. Beide Analysen haben jeweils einen unterstützten Ast, jedoch nicht denselben. Die Phylogenie der ML-Analyse zeigt die Beziehung *P. coriacea*—*P. inversa*, wie sie auch in der Phylogenie des gesamten Alignments vorkommt. In der Phylogenie der ML-Distanz-Analyse hingegen wird die polytome Beziehung von *P. capensis*, *P. clavata*, *P. impressa*, *P. leptophylla*, *P. obscurans* var. *deserticola* 14902d-1, *P. umbilicata*, *N. brasiliensis*, und *N. cataractae* wie schon bei der vorangegangenen Analyse mit einem BS-Wert von 100 unterstützt (ohne Abbildung).

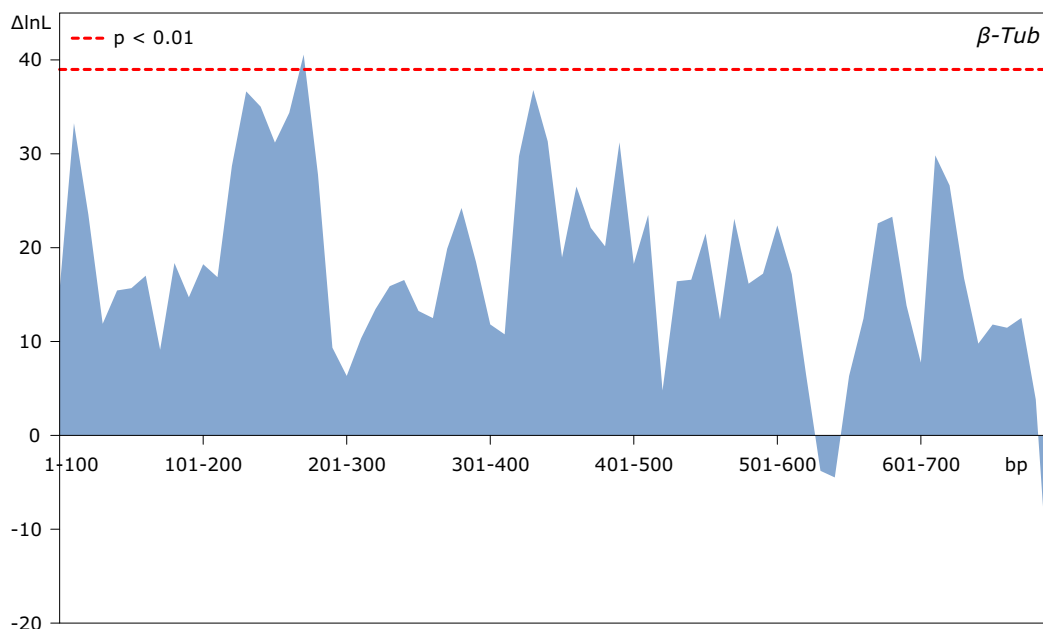


Abb. 3.7.6: *Likewind*-Profil von  $\beta$ -*Tub* – aufgetragen sind die  $\Delta \ln L$ -Werte gegen die 100-bp-Abschnitte des Alignments. Negative Ausschläge sind ein Zeichen dafür, dass die ML-Distanz-Approximation an dieser Stelle von einer reinen ML-Analyse abweicht.

### Test auf Genkonversion mit *Geneconv*

Zusätzlich zur *Likewind*-Analyse wurde mit Hilfe von *Geneconv* 1.8.1 (Sawyer 1999) nach Hinweisen auf Genkonversionsereignisse gesucht. Solche Ereignisse können bisher nicht in einer phylogenetischen Analyse modelliert werden. Diese Regionen sind dann mit dem hauptsächlichlichen phylogenetischen Signal inkongruent und können zu Fehlern führen.



Die *Geneconv*-Analysen zeigen bei nur einem Gen – der nuLSU – Sequenzfragmente an, die als signifikante Kandidaten für Genkonversion in Frage kommen. *Geneconv* findet insgesamt 38 Fragmente mit einer Länge zwischen 173 und 257 bp; eine genaue Aufstellung der Fragmente mit Angabe der flankierenden Sequenzen findet sich im Anhang (Tab. A.6). Alle Fragmente starten nicht vor der Alignmentposition 615 und laufen längstens bis Position 871. Allein 18 Fragmente starten an derselben Position 698, neun weitere an der Position 674. Diese von *Geneconv* markierten Alignmentabschnitte decken sich nicht mit den von *Likewind* identifizierten. Hier waren die Positionen 1-100 und 20-120 der nuLSU als inkongruent eingestuft. Auch mit den Positionen 330-500, die in der *Likewind*-Analyse ein negatives Signal erzeugten, gibt es keine Übereinstimmung mit *Geneconv*.

### 3.8 Einzelgenanalysen von ITS und RPB2 mit erweitertem Taxonset

Die vorhergehenden Analysen haben Zweifel an der bisherigen Artumschreibung innerhalb der Peltulaceen aufkommen lassen, so dass von zwei Genen, ITS und RPB2/7-11, weitere Sequenzen von bereits vertretenen Arten erzeugt wurden. Ziel war es, mindestens eine weitere Probe pro Art in die Analyse aufzunehmen. Für zehn Arten war jedoch nur eine einzige Probe (eventuell aber als Duplikat) verfügbar: *P. capensis*, *P. clavata*, *P. crispatula*, *P. imbricata*, *P. inversa* (Typusmaterial), *P. psammophila*, *P. radicata*, *Ph. corticola*, *N. brasiliensis* und *N. cataractae* (Typusmaterial). Die beiden Datensets wurden mit MrBayes und PHYML analysiert. Bei beiden Phylogenien (Abb. 3.8.1 und 3.8.2) fällt auf, dass die verschiedenen Proben von zwölf Morphospezies keine monophyletische Einheit bilden, wie man es für Vertreter derselben Spezies erwarten würde (durch Symbole am Rand gekennzeichnet)\*. Die acht *P. obscurans*-Taxa (ungefüllte Kreise) z. B. tauchen in beiden Genbäumen in unterschiedlichen Beziehungen auf. So bildet *P. obscurans* var. *hassei* 14900a-1 im ITS-Baum einen gut unterstützten Clade mit *P. obscurans* var. *deserticola* 20113a,

Abb. 3.8.1 und 3.8.2 (auf den Folgeseiten): Phylogramme der Analysen von ITS und RPB2/7-11 – Majority-Rule-Konsensusbäume aus 20 000 *post-burnin*-BMCMC-Bäumen aus zwei unabhängigen Läufen (über alle Bäume gemittelte Astlängen, MrBayes-Kommando `sumt`). Äste, die Unterstützung durch  $\geq 0,95$  Bayes'sche-PP oder  $\geq 75\%$  ML-BS (PHYML) erhalten, sind dicker gezeichnet. PP- und BS-Werte sind oberhalb der Äste angegeben und durch einen Schrägstrich getrennt. Fehlt eine der beiden Angaben (--), so ist der entsprechende Ast in der zugehörigen Analyse nicht vorhanden. Der *Likelihood*-Wert der Bäume (arithmetisches Mittel, MrBayes-Kommando `sump`) ist jeweils in der Unterzeile angegeben. Zum Wurzeln wurde *L. nigritella* 16228 verwendet. Die verschiedenen Vertreter von zwölf Spezies bilden keine monophyletische Einheiten; sie sind durch sich entsprechende Symbole am Rand gekennzeichnet. Die gestrichelte Linie verbindet zwei ITS- bzw. RPB2-Sequenzen, die aus einer *P. clavata*-Probe und ihrem Duplikat stammen (siehe Text für weitere Erläuterungen). *Neoheppia*- und *Phyllopeltula*-Vertreter sind hellgrau unterlegt. Alle Taxa sind entsprechend ihrer geographischen Herkunft farbig markiert (Farblegende: AF – Afrika, AU – Australien, SA – Südamerika, NA – Nordamerika).

\* Alle Proben wurden nochmals morphologisch nachbestimmt, was in zwei Fällen zu einer Änderung führte: Die zunächst als *P. marginata* bestimmte Probe 14911b-1 musste in einen *cf.*-Status zurückgeführt werden (*P. cf. marginata* 14911b-1). Die Probe *P. euploca* 20161b war fälschlich als *P. bolanderi* bestimmt.

# ITS

AF	AU	SA	NA

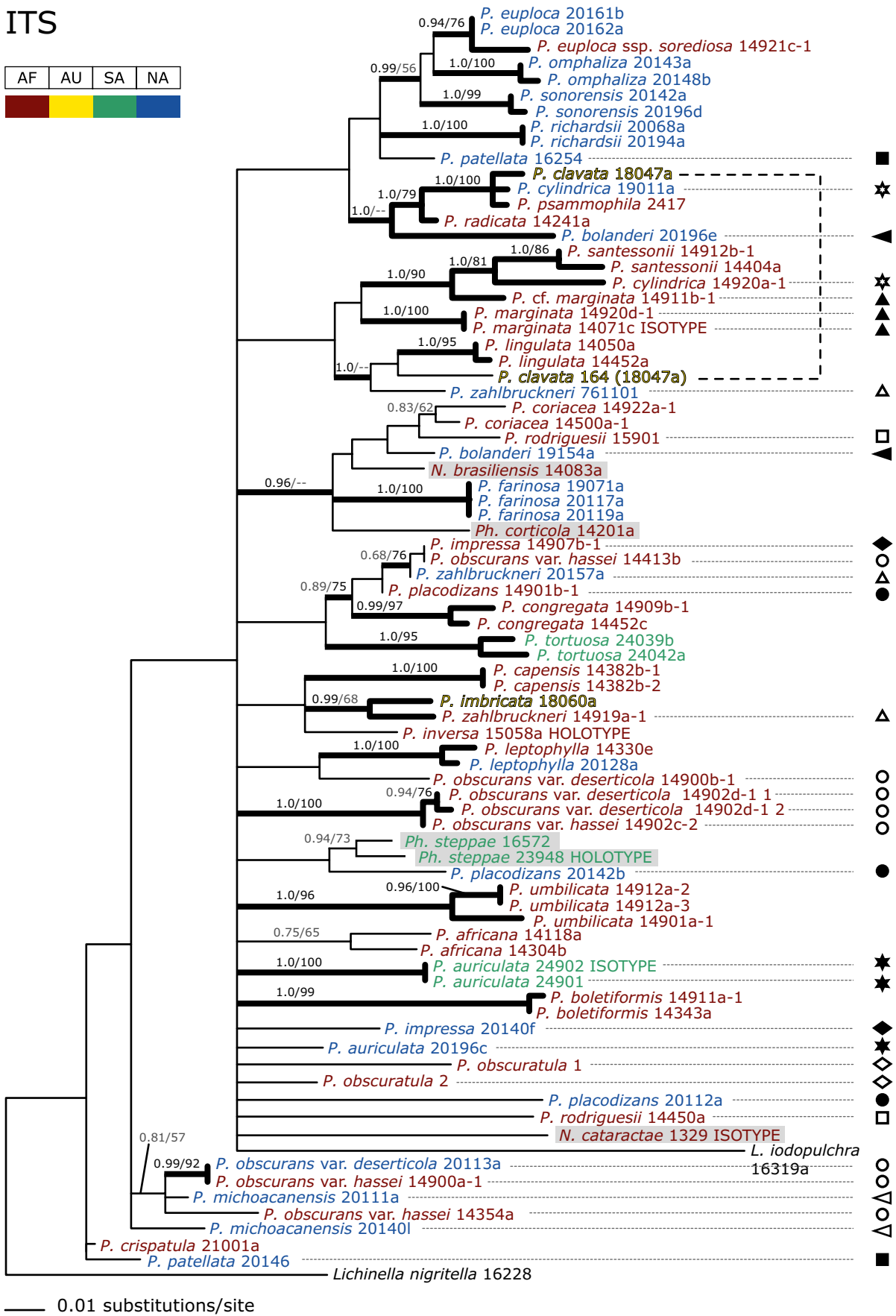


Abb. 3.8.1: BMC-MC-Phylogramm der ITS mit erweitertem Taxonset, Likelihood-Wert -2936,36 (ausführliche Bildzeile siehe S. 57)

# RPB2/7-11

AF	AU	SA	NA

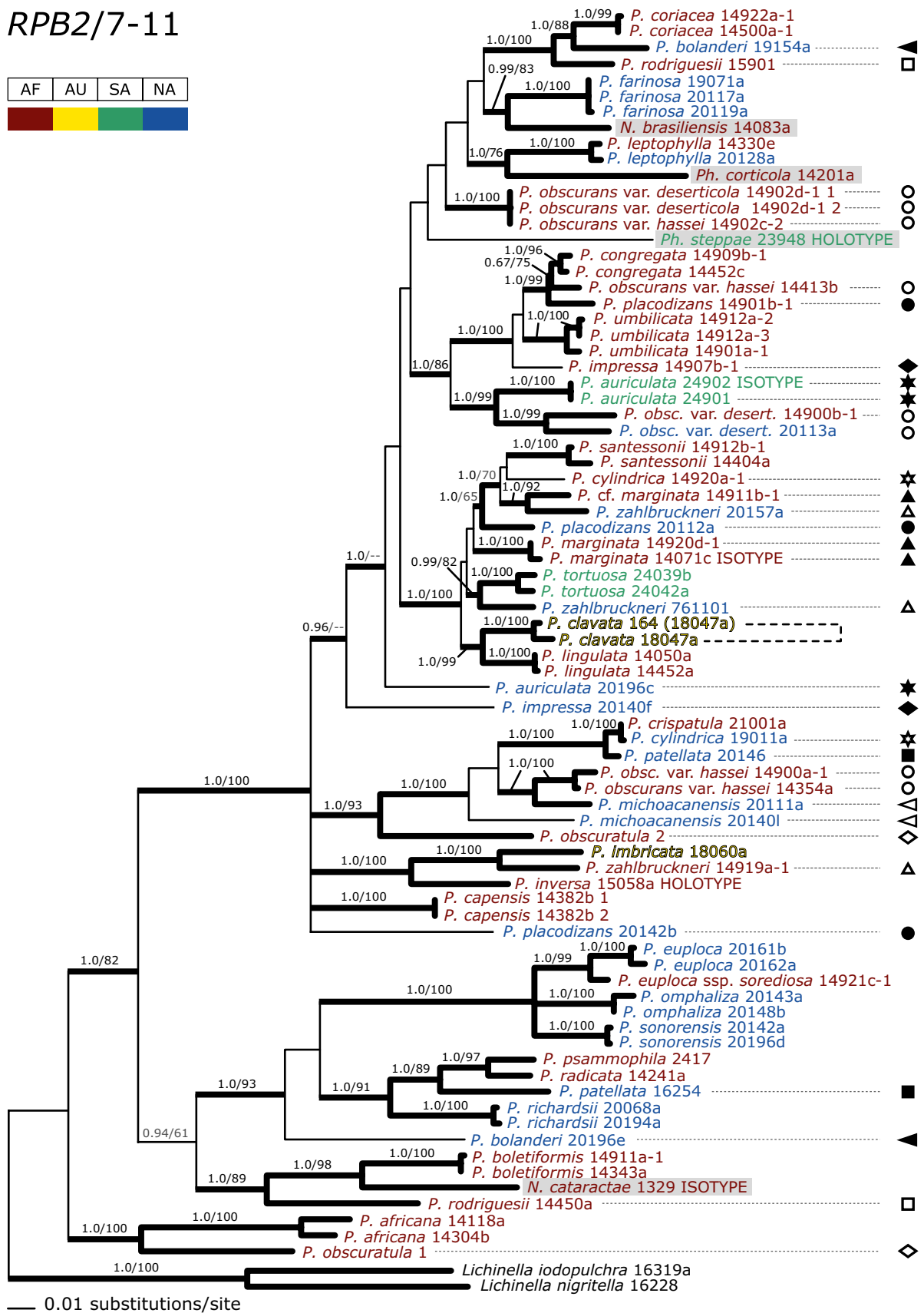


Abb. 3.8.2: BMC-MC-Phylogramm von RPB2/7-11 mit erweitertem Taxonset, Likelihood-Wert –11 727,97 (ausführliche Bildzeile siehe S. 57)

während sie im *RPB2*-Baum in einer ebenso gut unterstützten Monophylie zu *P. obscurans* var. *hassei* 14354a zu finden ist. Auf der anderen Seite gibt es einen stabilen Cluster dreier *P. obscurans*-Vertreter: *P. obscurans* var. *deserticola* 14902d-1 1 und 2 und *P. obscurans* var. *hassei* 14902c-2. Die drei Proben stammen von derselben Fundstelle (Farbmarkierung) und stellen wohl einen »Populationscluster« dar. Insgesamt eignet sich die Geographie als Merkmal allerdings nicht (siehe auch 3.6 *Mapping*), um größere Gruppierungen ausfindig zu machen. Die Vertreter von 16 verschiedenen Morphospezies bilden in beiden Bäumen (ITS und *RPB2*) monophyletische Einheiten. Neun dieser Spezies sind in ihrer Verbreitung aber bisher nur von einem einzigen Kontinent bekannt (*Ph. steppae*, *P. africana*, *P. boletiformis*, *P. capensis*, *P. marginata*, *P. richardsii*, *P. santessonii*, *P. sonorensis*, *P. umbilicata*), so dass die Übereinstimmungen auch der Geographie hier trivial sind. Sechs weitere Spezies sind auch von anderen Fundorten her berichtet (*P. congregata*, *P. coriacea*, *P. farinosa*, *P. lingulata*, *P. omphaliza*, *P. tortuosa*), es war allerdings nicht genug Material verfügbar, um diese Verbreitung zu reflektieren. Zwei Arten clustern über kontinentale Grenzen hinweg: *P. euploca* (Nordamerika und Afrika) und *P. leptophylla* (ebenfalls Nordamerika und Afrika). Eine Tabelle mit allen bekannten Fundorten der hier betrachteten Peltulaceen-Spezies findet sich im Anhang (Tab. A.5).

Für die beiden Gattungen *Neoheppia* und *Phyllopeltula* fällt auf, dass die jeweiligen Vertreter (von *Ph. steppae* 16572 fehlt die *RPB2/7-11*-Sequenz), keine Cluster bilden, die eine Monophylie der Gattungen unterstützt (hellgrau unterlegt in den Abb. 3.8.1 und 3.8.2). Die ITS-Phylogenie zeigt zwar insgesamt eine geringere Auflösung als die von *RPB2*, dennoch werden in beiden Bäumen *N. brasiliensis* von *N. cataractae* und *Ph. corticola* von *Ph. steppae* u. a. durch interne Äste voneinander getrennt (meist nur PP- aber keine BS-Unterstützung).

Ein interessantes Detail in der ITS-Phylogenie stellen die Sequenzen von *P. clavata* 18047a und ihrer Duplikatprobe *P. clavata* 164 (18047a) aus dem Herbarium der Duke University dar. Die ITS-Sequenzen fallen im Baum nicht zusammen (gestrichelte Linie, Abb. 3.8.1), sondern stehen in Beziehungen zu anderen Spezies. Die entsprechenden *RPB2/7-11*-Sequenzen dagegen bilden eine monophyletische, sehr gut unterstützte Einheit (gestrichelte Linie, Abb. 3.8.2).

### 3.9 *Phylogenetic species* nach Taylor et al.

Das *phylogenetic-species*-Konzept nach Taylor et al. (2000) sieht das Berechnen eines Konsensusbaums für widersprüchliche Topologien vor. Grundgedanke ist, dass es innerhalb einer Spezies unterschiedliche Ausprägungen polymorpher Loci gibt, die in einer phylogenetischen Analyse mehrerer Loci als Inkongruenzen der resultierenden Bäume zum Ausdruck kommen. Durch das Berechnen eines Konsensusbaums sollen die Grenzen der Inkongruenz sichtbar werden. Das heißt, wenn das Taxonset hinreichend gewählt ist, so lassen sich an den Übergängen zur kongruenten Topologie mögliche Speziesgrenzen festmachen.

Für die sechs in dieser Arbeit erzeugten Gendatensets wurden je 1 000 Bäume aus der *post-burnin*-Phase der BMCMC-Stichprobe (siehe 3.4 Einzelgenanalysen) herangezogen und in Paup ein *Majority-rule*-Konsensusbaum erzeugt (Abb. 3.9.1). Dieser Konsensusbaum besitzt lediglich sechs Äste, die in mehr als 50 % der Bäume aus der BMCMC-Stichprobe vorkommen. Kein einziger Ast hat einen PP-Wert  $\geq 0,95$ . Lediglich die Beziehung *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa* erreicht nahezu diesen Wert (PP 0,93). Diese Beziehung zeigte sich in den vorherigen Analysen als die einzige von allen sechs Genen unterstützte. Eliminiert man die Bäume der mtSSU und ITS – diese Gene zeigen die geringste Übereinstimmung mit den anderen Genen – und erzeugt einen neuen Konsensusbaum, so steigt die Anzahl der vorhandenen Äste auf acht; drei davon sind unterstützt (Abb. 3.9.2). Die zwei neuen (nicht signifikanten) Beziehungen sind *P. leptophylla*—*Ph. corticola* und *P. umbilicata*—*P. con-*

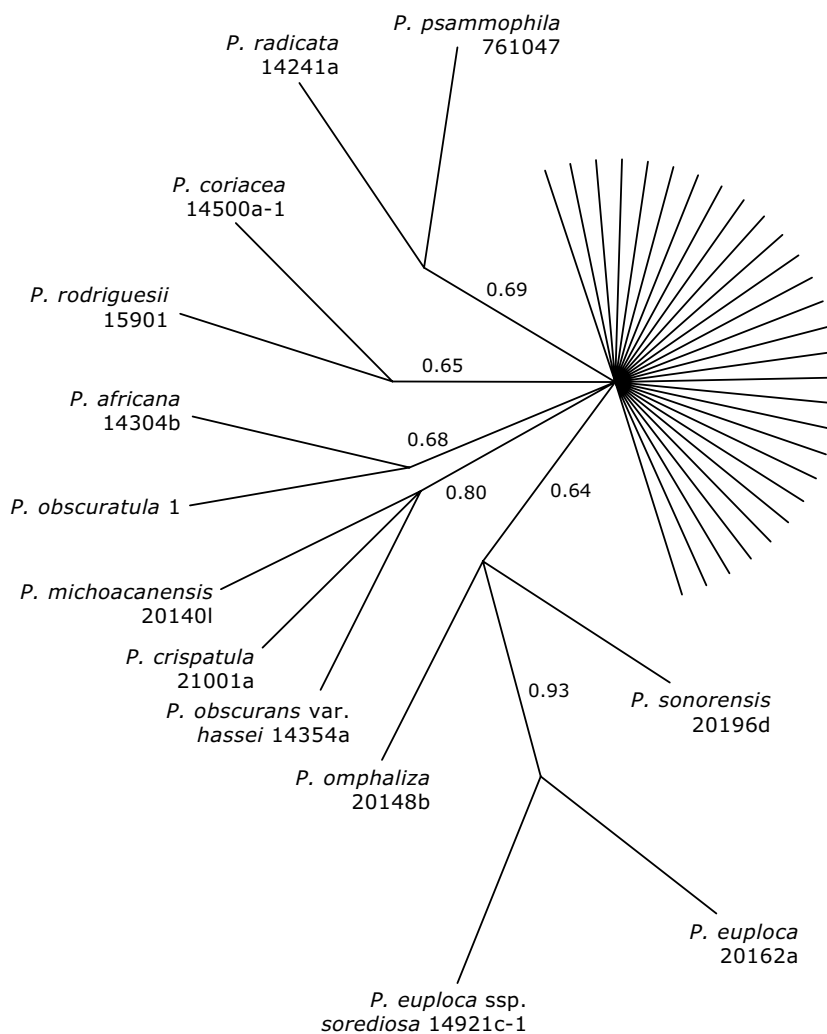


Abb. 3.9.1: *Majority-rule*-Konsensusbaum (ungewurzelt) aus 6000 BMCMC-Bäumen der *post-burnin*-Phase der sechs Gene nucSSU, nuLSU, mtSSU, ITS, *RPB2*,  $\beta$ -*Tub* – kein Ast erreichte eine signifikante PP-Unterstützung von mindestens 0,95. Diejenigen Taxa, die nicht in mindestens 50 % aller Bäume der Stichprobe fielen, wurden für die Abbildung aus dem Baum entfernt (»Fächer« am rechten Rand).

*gregata*. Der Ausschluss von mtSSU und ITS führt also über eine Steigerung der Zahl der Äste zu einer erhöhten Übereinstimmung zwischen den vier Genen. Unter den drei gestützten Ästen ist die in der vorherigen Analyse schon nahezu signifikante Monophylie von *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa*. Hier steigt der PP-Wert von 0,93 auf 1,0. Die Beziehung *P. michoacanensis*—*P. crispata*—*P. obscurans* var. *hassei* wird ebenfalls signifikant (Anstieg des PP-Werts von 0,80 auf 0,95). Die zuvor vorhandene Polytomie der drei Taxa wird zugunsten eines Schwestergruppenverhältnisses zwischen *P. michoacanensis* und *P. crispata* aufgelöst, wenn auch ohne signifikante Unterstützung. Der dritte Ast, der nun eine signifikante Unterstützung erhält, ist die Beziehung *P. africana*—*P. obscuratula* (PP 0,96). Diejenigen Taxa, die

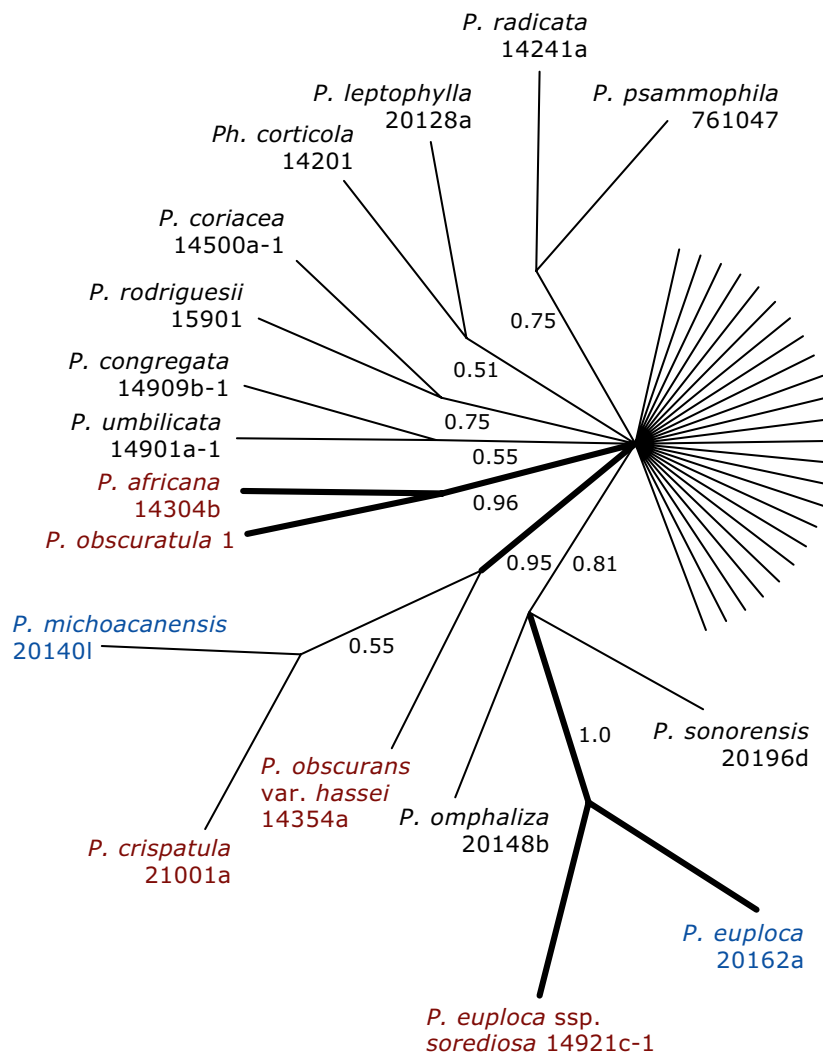


Abb. 3.9.2: Majority-rule-Konsensusbaum (ungewurzelt) aus 4000 BMCMC-Bäumen der *post-burnin*-Phase der vier Gene nucSSU, nuLSU, *RPB2*,  $\beta$ -*Tub* – Äste, die eine PP-Unterstützung von mindestens 0,95 erhalten, sind dicker gezeichnet. Diejenigen Taxa, die nicht in mindestens 50 % aller Bäume der Stichprobe fielen, wurden für die Abbildung aus dem Baum entfernt (»Fächer« am rechten Rand). Taxa in unterstützten Beziehungen sind entsprechend ihrer geographischen Herkunft farbig markiert (Afrika – rot, Nordamerika – blau).

in unterstützten Gruppierungen liegen, sind in Abbildung 3.9.2 entsprechend ihrer geographischen Herkunft farbig markiert. In den Gruppierungen *P. michoacanensis*—*P. crispatula*—*P. obscurans* var. *hassei* und *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa* werden jeweils Proben aus Afrika und Nordamerika vereinigt, während *P. africana*—*P. obscuratula* eine rein afrikanische Gruppe bildet.

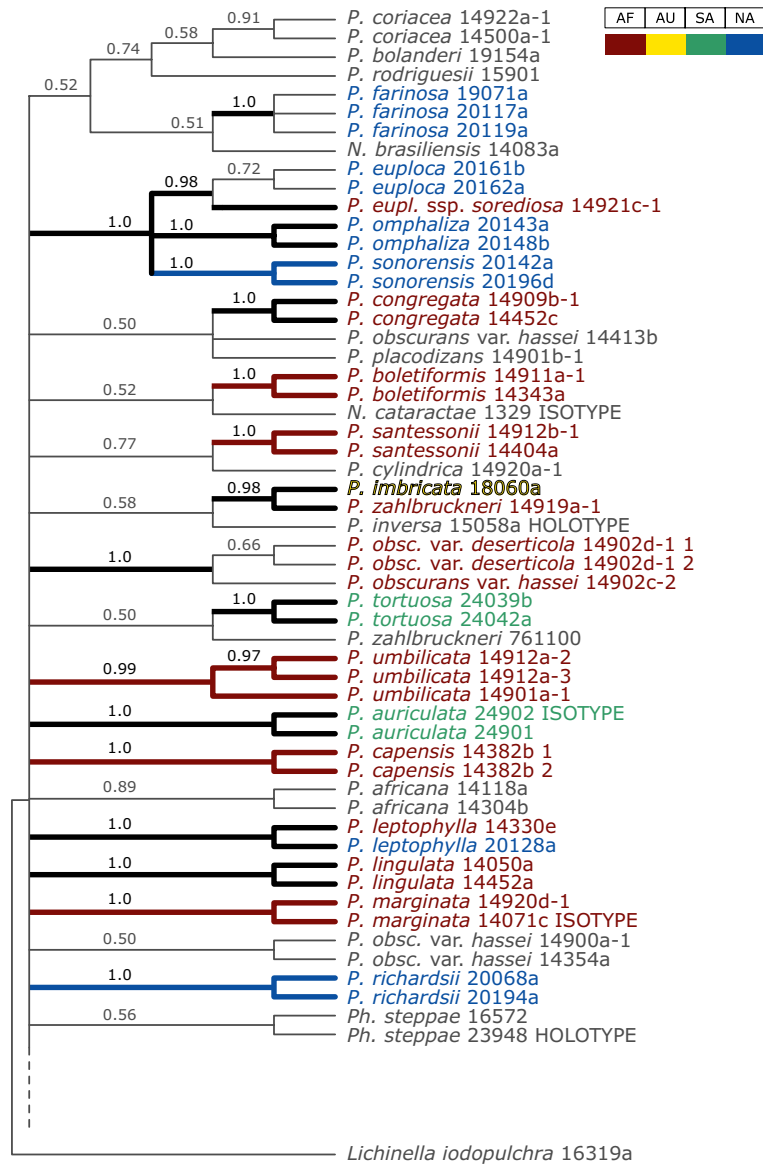


Abb. 3.9.3: Majority-rule-Konsensusbaum aus 2000 BMC-MC-Bäumen der *post-burnin*-Phase der Gene ITS und RPB2/7-11 für das erweiterte Taxonset – Äste, die eine PP-Unterstützung von mindestens 0,95 erhalten, sind dicker gezeichnet. *L. iodopulchra* 16319a diente als Wurzel. Diejenigen Taxa, die nicht in mindestens 50 % aller Bäume der Stichprobe fielen, wurden für die Abbildung aus dem Baum entfernt (gestrichelte Linie). Taxa in unterstützten Beziehungen sind entsprechend ihrer geographischen Herkunft farbig gedruckt (siehe Farblegende: AF – Afrika, AU – Australien, SA – Südamerika, NA – Nordamerika). Diejenigen Taxa, deren bisher bekanntes Vorkommen auf einen Kontinent beschränkt ist, haben außerdem entsprechend farbig markierte Äste.

Auch für die beiden Einzelgenanalysen mit erweitertem Taxonset (siehe 3.8 *Einzelgenanalysen von ITS und RPB2 mit erweitertem Taxonset*) wurde ein Konsensusbaum wie oben beschrieben erzeugt (Abb. 3.9.3). Hier zeigen sich mehrere Gruppierungen, die verschiedene Proben einer Spezies vereinigen. Zumeist sind dies Proben, die vom selben Kontinent stammen, es gibt lediglich drei kontinentübergreifende Clades: *P. euploca*, *P. leptophylla* und die Taxa *P. imbricata* 18060a—*P. zahlbruckneri* 14919a-1. Sieben der gruppierten Spezies sind in ihrer Verbreitung bisher allerdings auf einen einzigen Kontinent beschränkt (*P. boletiformis*, *P. capensis*, *P. marginata*, *P. richardsii*, *P. santessonii*, *P. sonorensis* und *P. umbilicata*). Von den zwölf Spezies, deren verschiedene Vertreter in den Einzelgenanalysen (siehe Abb. 3.8.1 und 3.8.2) keine monophyletischen Einheiten bildeten, tauchen nur zwei im Konsensusbaum auf: *P. auriculata* und *P. marginata*. Allerdings fehlt jeweils einer der drei in der Analyse eingeschlossenen Vertreter. Alle Clades bis auf einen sind terminal; es ist dies die Gruppierung der peltaten Formen *P. euploca*, *P. omphaliza* und *P. sonorensis*, wie sie sich auch schon in den vorherigen Analysen angedeutet hat (siehe z. B. Abb. 3.4.3, 3.4.6 oder 3.9.2).

### 3.10 ITS- und RPB2/7-11-Sequenzen aus einzelnen Thallusschuppen

Die bisherigen Analysen haben überraschend massive Inkongruenzen zwischen den von verschiedenen Genen stammenden Daten gezeigt. Solche Inkongruenzen können z. B. dann auftreten, wenn Gensequenzen analysiert werden, die von unterschiedlichen Individuen einer Spezies stammen. Dieses Problem wurde in der vorliegenden Arbeit dadurch vermieden, dass die sechs Gensequenzen stets aus demselben DNA-Extrakt der Spezies gewonnen wurden. Für die DNA-Extraktion wurden jedoch mehrere Schuppen eines Thallus vereinigt, um ausreichend DNA für die Amplifikationen zu erhalten. Die beobachteten Inkongruenzen führten zu der Überlegung, ob es sich bei den einzelnen Schuppen, die den Peltulaceae-Thallus aufbauen (siehe Einleitung), eventuell um einzelne Individuen handelt. In diesem Fall könnten einzelne Sequenzen desselben Gens voneinander abweichen und zu Inkonsistenzen führen. Zur exemplarischen Überprüfung wurde DNA aus acht einzelnen Schuppen von Thalli der Arten *P. farinosa*, *P. tortuosa* und *P. umbilicata* extrahiert und die zwei Gene ITS und RPB2/7-11 sequenziert. Die drei Arten repräsentieren die drei Hauptwuchsformen innerhalb der Peltulaceae (peltat, subfruticos, squamulös), während die zwei gewählten Gene sich in den vorherigen Analysen als sehr variabel erwiesen hatten.

*Abb. 3.10.1:* Phylogramm der ITS-Sequenzen von einzelnen Thallusschuppen der Proben *P. farinosa* 20117a, *P. tortuosa* 24039b und *P. umbilicata* 14912a-3 (grün) – Majority-Rule-Konsensusbaum aus 20 000 *post-burnin*-BMCMC-Bäumen mit dem *Likelihood*-Wert  $-2597,23$  (arithmetisches Mittel, MrBayes-Kommando *sump*). Nur die relevanten unterstützten Äste sind fett gedruckt (PP- und BS-Werte sind oberhalb der Äste angegeben und durch einen Schrägstrich getrennt). Die in den bisherigen Analysen verwendete, aus mehreren Schuppen gewonnene Sequenz ist rot gedruckt. ▶



# ITS

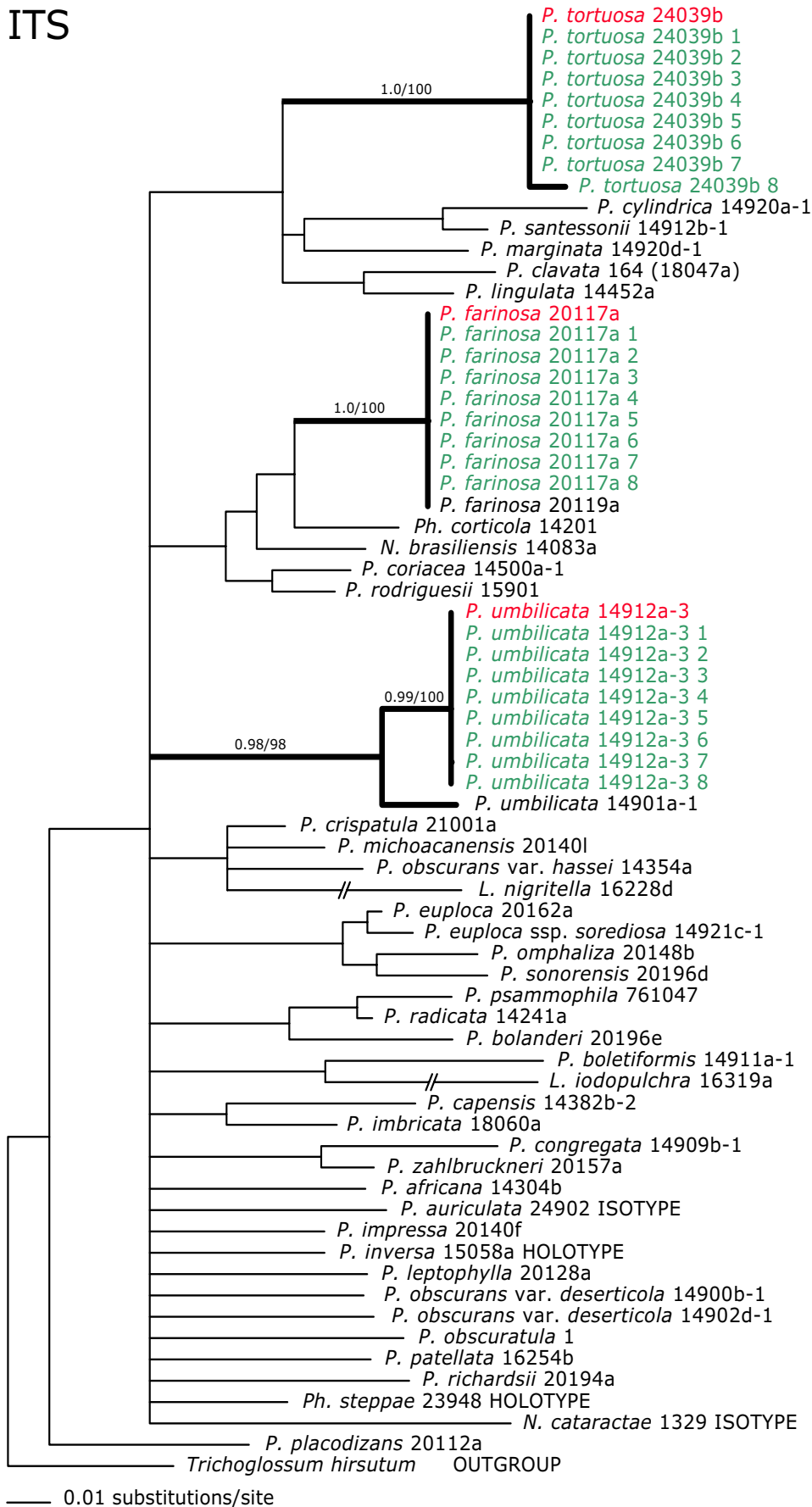



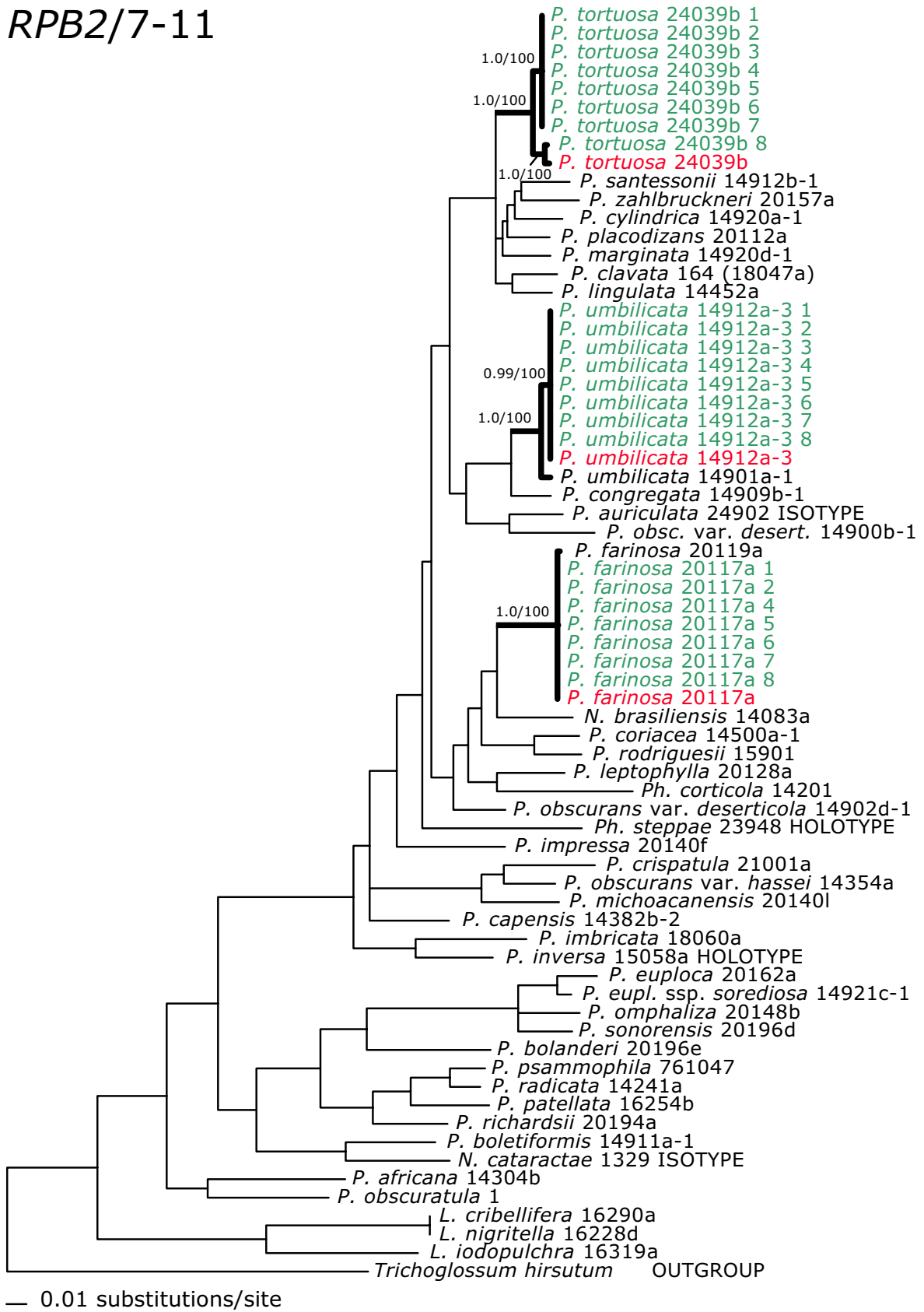
Abb. 3.10.2: Phylogramm der *RPB2/7-11*-Sequenzen von einzelnen Thallusschuppen der Proben *P. farinosa* 20117a, *P. tortuosa* 24039b und *P. umbilicata* 14912a-3 (grün) – Majority-Rule-Konsensusbaum aus 20 000 *post-burnin*-BMCMC-Bäumen mit dem Likelihood-Wert  $-10\,192,32$  (arithmetisches Mittel, MrBayes-Kommando `sump`). Nur die relevanten unterstützten Äste sind fett gedruckt (PP- und BS-Werte sind oberhalb der Äste angegeben und durch einen Schrägstrich getrennt). Die in den bisherigen Analysen verwendete, aus mehreren Schuppen gewonnene Sequenz ist rot gedruckt. 

Für die Art *P. farinosa* sind weder im ITS- noch im *RPB2*-Gen Abweichungen der Basensequenz festzustellen (alle Alignments siehe Anhang ab S. 135), alle Sequenzen sind zu 100 % identisch. Eine ITS-Sequenz der Thallusschuppen von *P. tortuosa* hingegen zeigt 42 abweichende Basen auf einer Alignmentlänge von 578 bp, eine weitere lediglich zwei abweichende Basen. Die aus der Vereinigung mehrerer Schuppen gewonnene Sequenz weicht in einer Position von der ITS-Sequenz der Mehrheit der untersuchten Schuppen ab. Bei den *RPB2*-Sequenzen der Art *P. tortuosa* gibt es eine Einzelschuppensequenz, die in zehn Positionen von der Sequenz der anderen Schuppen abweicht. Neun dieser zehn Abweichungen finden sich ebenfalls in der *RPB2*-Sequenz, die aus der Vereinigung mehrerer *P. tortuosa*-Schuppen gewonnen wurde. Auf der Ebene der Aminosäuren jedoch stimmen alle Sequenzen überein. Für die Art *P. umbilicata* sind sämtliche *RPB2*-Sequenzen identisch, während die ITS-Sequenzen bei drei Sequenzen jeweils drei gleiche Abweichungen in derselben Position aufweisen. Bezieht man die Daten aus den einzelnen Thallusschuppen in die phylogenetischen Analysen der Peltulaceae ein (Abb. 3.10.1 und 3.10.2), so zeigt sich lediglich im Fall der divergierenden *RPB2*-Einzelschuppensequenz von *P. tortuosa* eine Aufspaltung innerhalb des *P. tortuosa*-Clusters. Die ITS-Sequenz von *P. tortuosa*, die mit 42 Basen die meisten Abweichungen aller Einzelschuppensequenzen aufweist, fügt sich problemlos in den Clade der Einzelschuppen ein. Dies ist wohl vor allem darauf zurückzuführen, dass die beobachteten Unterschiede im Gesamtalignment aller Peltulaceen nicht zum Tragen kommen, da sie in Bereichen liegen, die wegen mangelnder Alignbarkeit ausgeschlossen werden mussten. Trotz marginaler Sequenzdifferenzen bilden also die Einzelschuppensequenzen gut gestützte Cluster, die in denselben Beziehungen stehen wie die Sequenzen, die aus mehreren Schuppen gewonnen wurden.

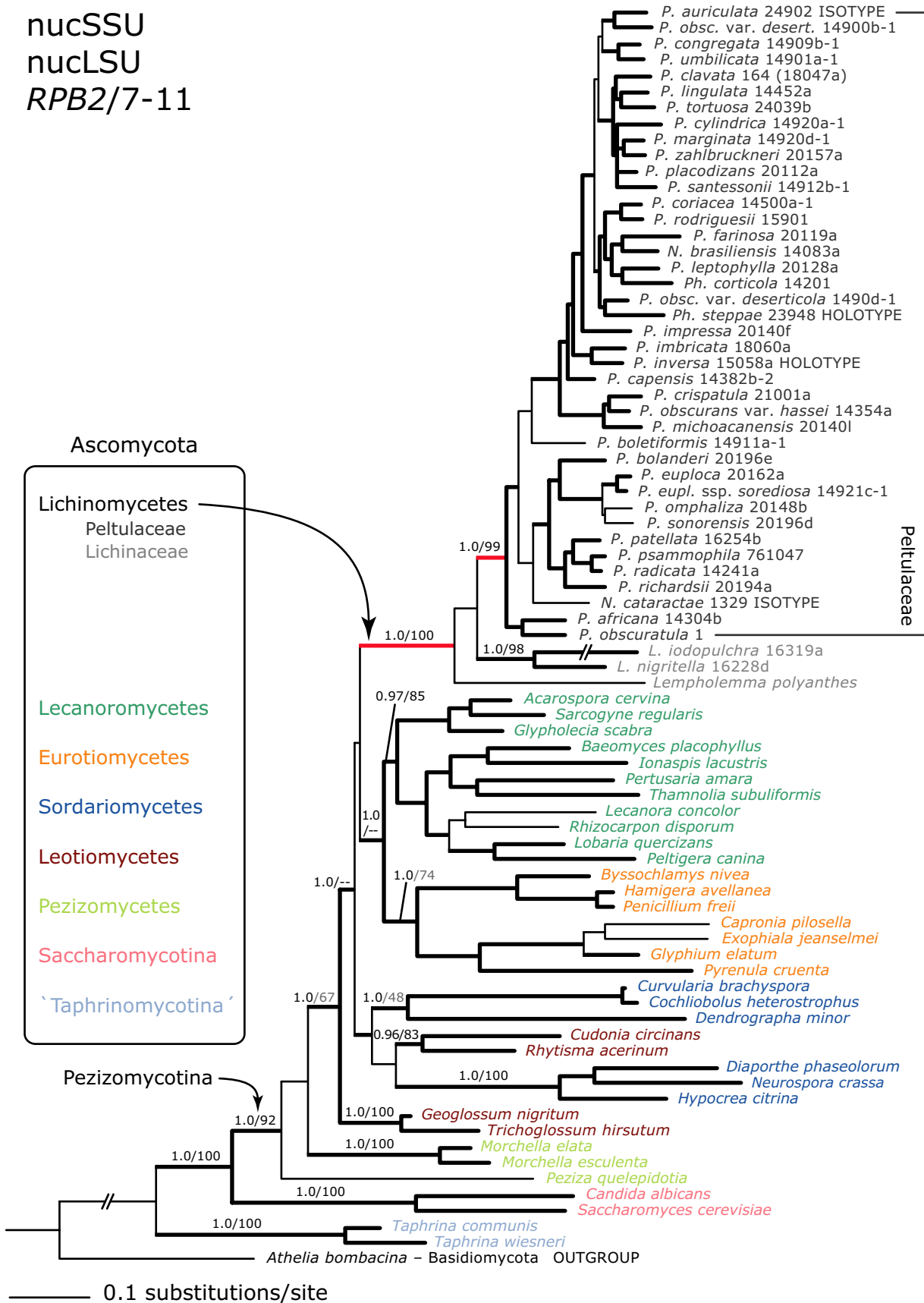
### 3.11 Monophylie der Peltulaceae

Abschließend soll gezeigt werden, dass die Familie der Peltulaceae – ungeachtet der internen Konflikte auf molekularer Ebene – ein Monophylum bildet. Hierzu wurden in GenBank verfügbare Sequenzdaten von drei Genen (*nucSSU*, *nuLSU*, *RPB2/7-11*) verschiedener Ascomyceten mit den in dieser Arbeit neu erzeugten Daten in einer phylogenetischen Analyse vereinigt (reduziertes Taxonset aus Lutzoni et al. 2004, Fig. 4). Das Ergebnis ist in Abbildung 3.11.1 zu sehen: Alle Peltulaceen bilden eine gut unterstützte monophyletische Einheit. Zusammen mit den drei Vertretern der Lichinaceae, die hier in Schwestergruppenposition zu den Peltulaceae

# RPB2/7-11



nucSSU  
nucLSU  
RPB2/7-11



◀ *Abb. 3.11.1: Phylogramm der kombinierten Daten der nucSSU, nucLSU und RPB2/7-11 – Majority-Rule-Konsensusbaum aus 20 000 post-burnin-BMCMC-Bäumen mit dem Likelihood-Wert -54 215,37 (arithmetisches Mittel, MrBayes-Kommando `sump`, Evolutionsmodell TrN+I+G). Äste, die Unterstützung durch  $\geq 0,95$  Bayes'sche-PP oder  $\geq 75\%$  ML-BS (PHYML) erhalten, sind dicker gezeichnet. Nur einige der PP- und BS-Werte sind oberhalb der Äste angegeben und durch einen Schrägstrich getrennt. Fehlt eine der beiden Angaben (--), so ist der entsprechende Ast in der zugehörigen Analyse nicht vorhanden. Die GenBank-Nummern der Ascomyceten-Sequenzen sind Lutzoni et al. (2004) zu entnehmen. Lange Äste sind aus Platzgründen um die Hälfte kürzer gezeichnet (/). Das Subphylum 'Taphrinomycotina' ist wahrscheinlich paraphyletisch und nicht mehr anerkannt (Eriksson 2006).*

stehen, sind sie als Lichinales (Lichinomycetes, Reeb et al. 2004) gegen die übrigen Ascomyceten abgegrenzt. Die Lichinales stehen hier in Schwestergruppenposition zu den Lecanoromycetes und Eurotiomycetes, diese Beziehung ist allerdings nicht unterstützt.



## 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte zum ersten Mal eine auf molekularen Merkmalen von sechs Loci basierende Phylogenie der Flechtenfamilie Peltulaceae erstellt werden, um auf dieser Grundlage Rückschlüsse auf den geographischen Ursprung der Familie zu ziehen. 37 der bisher beschriebenen 43 Morphotaxa wurden in die Analyse eingeschlossen. Die aus den einzelnen Genen ermittelten Stammbäume weisen untereinander massive Konflikte auf. Vorhandene Daten aus anderen Quellen (Morphologie, Anatomie, Ökologie, Geographie) können nicht zur Entscheidung zwischen den konkurrierenden Phylogeniehypothesen beitragen. Im Folgenden sollen die erreichten Ergebnisse diskutiert werden: zunächst im Hinblick auf die zum Einsatz gekommenen Analysemethoden, dann vom organismischen Standpunkt aus inklusive der Aus- und Verbreitung. Schließlich werden taxonomische Auswirkungen behandelt sowie Vorschläge für weitergehende Untersuchungen unterbreitet.

### 4.1 Allgemeine Verfahreenseigenschaften

Allen Verfahren zur Abschätzung phylogenetischer Hypothesen liegen bestimmte Annahmen bezüglich des Evolutionsprozesses zugrunde, so dass eine Verletzung dieser impliziten Annahmen zu einer inkorrekten Phylogeniehypothese führen kann. Das in dieser Arbeit verwendete *Maximum-Likelihood*-Verfahren erlaubt allerdings die zu den Daten passende explizite Formulierung des Evolutionsmodells. Außerdem ist es verhältnismäßig robust gegenüber einer nicht zu den Daten passenden Spezifikation des Evolutionsmodells: Analysiert man Daten anhand eines verfeinerten Modells im Vergleich zu einem gröberen, so führt dies in der Regel zu einem besseren *Likelihood*-Wert, jedoch nicht notwendigerweise zu einer exakteren Phylogenieabschätzung (Cunningham 1997, Huelsenbeck & Crandall 1997). Einige implizite Annahmen macht jedoch auch das *Maximum-Likelihood*-Verfahren. Wie andere übliche Verfahren, setzt es eine Baumstruktur in den zu analysierenden Daten voraus. Ist dies nicht gegeben – weil z. B. Rekombination auftritt, was in Genealogien mit Rückverzweigungen resultiert –, so führt auch *Maximum Likelihood* zu Ergebnissen, die nicht die evolutive Historie widerspiegeln. Teilmengen der analysierten Daten favorisieren dann unterschiedliche Phylogenien (Felsenstein 2004). Des Weiteren werden derzeit alle betrachteten Merkmale als voneinander unabhängig evolvierend modelliert, was naturgemäß nicht der Fall ist. Die drei Codonpositionen proteinkodierender Gene sind abhängig, ebenso wie weite Teile ribosomaler Gene, da sie über die Sekundärstruktur miteinander verknüpft sind. Codon- und Sekundärstrukturmodelle sind bereits vorhanden (Goldman & Yang 1994, Muse & Gaut 1994, Muse 1995, Tillier & Collins 1995), aber noch sehr rechenaufwendig vor allem auch in Kombination mit hohen Taxonzahlen.

Auch der Bayes'sche Ansatz nutzt das *Maximum-Likelihood*-Kriterium zur Bewertung der Bäume in der Stichprobe. Die Bayes'sche Analyse ergibt jedoch die Wahr-

scheinlichkeit für eine Hypothese (Topologie) bei gegebenen Daten (Sequenzen), während eine reine *Maximum-Likelihood*-Analyse die Wahrscheinlichkeit der Daten bei gegebener Hypothese darstellt. Die Anfälligkeit der Bayes'schen Methode gegenüber mangelhafter Spezifikation des Evolutionsmodells stufen Huelsenbeck et al. (2002) als ähnlich zu *Maximum Likelihood* ein. Die Bayes'schen *posterior probabilities* (PP) sind allerdings noch in der Kontroverse: Alfaro et al. (2003) fanden, dass die PP für sehr kurze interne Äste hoch ausfallen können, so dass eventuell inkorrekte Beziehungen durch hohe PP gestützt werden, während Simmons et al. (2004) die Bayes'schen PP generell als zu hoch unterstützend einstufen. Douady et al. (2003) untersuchten die häufiger auftretenden Diskrepanzen zwischen PP und Bootstrap-(BS-)Werten, wie sie auch in der vorliegenden Arbeit beobachtet werden konnten: z. B. Ast Nr. 7 in Abb. 3.4.2, der zwar eine sehr hohe PP aufweist (0,99) jedoch kaum BS-Unterstützung hat (58). Ebenso gibt es PP-gestützte interne Äste (z. B. Ast Nr. 1 in Abb. 3.4.3, PP 1,0), die in der ML-Analyse nicht aufgelöst sind, also keinerlei BS-Unterstützung zeigen. Douady et al. (2003) fanden eine hohe PP-Unterstützung speziell für sich widersprechende Äste zweier Topologien nicht korreliert mit einem entsprechend hohen BS-Wert und folgern, dass beide Werte nicht direkt vergleichbar sind. Sie könnten vielmehr als mögliche untere und obere Schranke interpretiert werden.

#### 4.2 Einzelgenanalysen, Kombinierbarkeit und topologische Inkongruenz

Phylogenetische Analysen stützen sich zunehmend auf Daten aus verschiedenen Quellen, seien es multiple molekulare Loci oder auch morphologisch-anatomische und geographische Merkmale. In der vorliegenden Arbeit sollten molekulare Daten von sechs verschiedenen Genen kombiniert werden, wobei die drei Gene des ribosomalen Clusters im Kern (nucSSU, nuLSU, ITS) nicht als unabhängige Loci betrachtet werden können. Mit der mitochondrialen mtSSU und den beiden proteinkodierenden Genen *RPB2/7-11* und  $\beta$ -*Tub* und den Daten aus dem ribosomalen Cluster bleiben also vier unabhängige Loci, da es bisher keine Hinweise auf eine Kopplung der beiden proteinkodierenden Gene gibt. Von einer Kombination von Daten verspricht man sich eine stark verbesserte Auflösung und statistische Unterstützung der resultierenden Phylogenie, speziell dank der Auswahl unterschiedlich evolvierender Gene (Hillis & Dixon 1991). Die nucSSU z. B. zeigt eine kleine Substitutionsrate (siehe Abb. 3.4.2) und wäre also geeignet, länger zurückliegende Speziationsereignisse anzuzeigen, während die nuLSU eine fast doppelt so große Substitutionsrate aufweist. Die größten Substitutionsraten haben die proteinkodierenden Gene, was auf die hohe Mutationsrate der dritten – für die codierte Aminosäure oft nicht entscheidenden – Codonposition zurückzuführen ist. Diese Position wird auch leicht mit Substitutionen überladen, indem Mehrfachmutationen auftreten. Die Analyse einer solcherart gesättigten Position kann zu falschen Phylogeniehypothesen führen. Beide in der vorliegenden Arbeit verwendeten proteinkodierenden Gene zeigen jedoch keinen gravierenden Sättigungseffekt (siehe Abb. 3.2.1 und 3.2.2), so dass hier keine Verfälschungen der Analysen zu erwarten



sind. Überdies zeigte sich in separaten Analysen der drei Codonpositionen (ohne Abbildung), dass der Hauptteil phylogenetischen Signals in der dritten Codonposition lokalisiert ist, und ein Ausschluss zu einer dementsprechend verringerten Auflösung der Phylogenien führen würde. Entsprechend der Evolutionsgeschwindigkeit ist das Auflösungsvermögen der einzelnen Gene unterschiedlich. Die von der *Likelihood-Mapping*-Analyse vorhergesagte größte und geringste Auflösung für *RPB2/7-11* und ITS spiegelt sich auch in den Einzelgenanalysen wider, nicht allerdings die intermediären Werte. So war für die nucSSU eine höhere Auflösung prognostiziert als für *β-Tub*, die nucSSU zeigt mit neun unterstützten Ästen jedoch die zweitgeringste Auflösung nach der ITS, während *β-Tub* mit 17 unterstützten Ästen die zweithöchste Auflösung hat, obwohl dieser Rang von der *Likelihood-Mapping*-Analyse für die nuLSU vorhergesagt wurde. Strimmer & von Haeseler (1997) betonen indes, dass *Likelihood Mapping* keine statistisch abgesicherte Methode darstellt, die zudem stark von der Sequenzlänge abhängig ist: Für komplett aufgelöste, binäre Bäume liegt die kritische Schwelle bei ca. 200 bp. Gerade beim ITS-Datenset mit nur 284 bp Länge dürfte die Sensitivität gegenüber der Sequenzlänge wohl eine Rolle in der *Likelihood-Mapping*-Analyse spielen. *Likelihood Mapping* scheint also nur bedingt geeignet, um Vorhersagen über die phylogenetische Leistungsfähigkeit von Sequenzdaten zu treffen.

Für die Kombination von Daten wurden unterschiedliche Strategien vorgeschlagen (Huelsenbeck et al. 1996, Review), wobei in der vorliegenden Arbeit nach dem Prinzip der bedingten Kombination (*conditional combination*) vorgegangen wurde. Das heißt, verschiedene Datensätze werden nur dann kombiniert, wenn sie nicht in signifikant unterschiedlichen Phylogenieabschätzungen resultieren. Die Unterschiede sind hierbei als sich widersprechende, durch Bootstrapping und/oder Bayes'sche PP unterstützte Beziehungen definiert. Dabei ist es durchaus möglich, dass den einzelnen Genen abweichende molekulare Evolutionsprozesse zugrundeliegen. Dies kann abhängig von der phylogenetischen Rekonstruktionsmethode in Inkongruenzen münden, ohne dass die evolutive Historie der Taxa tatsächlich unterschiedlich ist (Bull et al. 1993). Für die Datenkombination sind Unterschiede der molekularen Evolution nicht erheblich, nur wenn dies Auswirkungen auf die phylogenetische Rekonstruktion hat, wird eine kombinierte Analyse abgelehnt. Die sechs Einzelgenanalysen in der vorliegenden Arbeit weisen untereinander erhebliche Konflikte auf. Dies wird besonders bei den Ergebnissen des *constraint*-basierten Filterns deutlich (siehe Abb. 3.5.1). Diese Ergebnisse sind insbesondere relevant, da nicht Einzelbäume betrachtet werden, sondern eine Stichprobe von Bäumen. Die Annahme, dass die Datensätze kongruent sind, die betrachteten Genen also dieselbe evolutive Historie haben (Nullhypothese), musste häufiger abgelehnt als angenommen werden (siehe Anhang, Tab. A.2). Überraschend ist vor allem die Inkongruenz zwischen den gekoppelten Genen des ribosomalen Clusters: Die nucSSU beispielsweise findet in der nuLSU die allermeisten kongruenten Äste, umgekehrt ist dies jedoch nicht der Fall. Der PABA-Ansatz (siehe 3.5 *Kompatibilitätstests*) stellt eine qualitative Methode dar, um die Kompatibilität zwischen Datensätzen zu bestimmen. Ziel war es, eine Teilmenge von Genen zu identifizieren, für die die einzelnen Phylogenien

kongruent sind, so dass sie kombiniert werden können. Dieses Ziel wurde jedoch nicht erreicht. Die PABA-Analyse zeigt vor allem, dass das *RPB2/7-11*-Gen ein sehr dominantes phylogenetisches Signal hat: 37 der 38 vorhandenen Äste der kombinierten Analyse werden von ihm unterstützt, und auch die Einzelgenphylogenie von *RPB2/7-11* (siehe Abb. 3.4.6) hat eine große topologische Übereinstimmung mit der kombinierten Analyse. Dieses starke Signal zusammen mit der zweifelsfreien Alignbarkeit und dem Fehlen von Introns machen das *RPB2*-Gen eigentlich zu einem äußerst geeigneten Kandidaten für die Phylogenieabschätzung. Infolge der mangelnden topologischen Übereinstimmung mit den anderen Genen, muss die *RPB2*-Phylogenie und auch die *RPB2*-dominierte Phylogenie der kombinierten Analyse jedoch bezweifelt werden, insbesondere da bestätigende nicht-molekulare Merkmale fehlen. Mittels der PABA-Analyse ist es im vorliegenden Fall nicht möglich, eine sinnvolle Teilmenge von Genen zur Kombination zu bestimmen. Lediglich zwei Clades werden von allen sechs Genen unterstützt. Selbst unter Ausschluss der am wenigsten kompatiblen Gene ITS und mtSSU und unter alleiniger Berücksichtigung der unterstützten Äste ( $\geq 75\%$  BS-Wert) sind die Datensätze inkongruent.

Ein Nachteil der bedingten Kombination ist, dass man bei der Analyse einzelner Gendatensätze im Vergleich zum kombinierten Datensatz mit einem größeren Stichprobenfehler rechnen muss (Huelsenbeck et al. 1996). Dieser Stichprobenfehler wird auch noch durch die voneinander abhängigen Merkmale (Sequenzpositionen) vergrößert, die bei der Phylogenierekonstruktion als unabhängig angenommen werden. Der Stichprobenfehler könnte vor allem bei dem sehr kurzen (284 bp) Alignment der ITS-Region zum Tragen kommen. Die hohe Variabilität der ITS-Region erschwerte das Alignment der ITS1- und ITS2-Region und beschränkte die Analyse auf die konservierten ITS-Bereiche am Anfang und Ende und die stark konservierte und kurze (156-158 bp) 5.8S rDNA. Diese Eigenschaften der 5.8S rDNA machen sie wenig geeignet, um Spezies voneinander abzugrenzen (Hillis & Dixon 1991). Des Weiteren liegt der Verdacht nahe, dass es bei den Peltulaceae voneinander abweichende ITS-Kopien im ribosomalen Cluster geben könnte, was zur Inkongruenz zwischen dem ITS-Datensatz und den übrigen Genen beitragen würde. In der Analyse der ITS-Region mit erweitertem Taxonset (siehe Abb. 3.8.1) bildeten die beiden ITS-Sequenzen zweier *P. clavata*-Duplikate keine monophyletische Einheit. Eine Kontamination kann hier nahezu ausgeschlossen werden, da die ITS-Region zusammen mit der nuLSU amplifiziert und identifiziert wurde. Die beiden Sequenzen weichen so stark voneinander ab, dass auch hier im Wesentlichen nur die konservierten Bereiche aligned werden können. Das Auftreten nicht-identischer rDNA-Kopien wird gelegentlich in der Literatur berichtet: Zwei unterschiedliche ITS2-Typen fanden O'Donnell & Cigelnik (1997) beim filamentösen Pilz *Fusarium*. Die Phylogenierekonstruktion der nicht-orthologen ITS2-Region war nicht vereinbar mit derjenigen anderer Gene (nuLSU, mtSSU,  $\beta$ -*Tub*), die zueinander Kongruenz zeigten. Beim Zygomyceten *Erynia neoaphidis* konnten Rohel et al. (1997) vier ITS-Größenklassen identifizieren, die mit morphologischen und physiologischen Charakteristika korreliert waren. Aber auch von höheren Pflanzen gibt es Untersuchungen: Muir & Schlötterer (1999) zeigten die Präsenz von mindestens drei ITS-

Typen in einem einzigen Individuum von *Quercus petraea*. Für die Peltulaceen ist die Beobachtung abweichender ITS-Sequenzen auf *P. clavata* beschränkt. Im Rahmen dieser Arbeit konnte das Ergebnis indes nicht zweifelsfrei als nicht-orthologe ITS-Kopien verifiziert werden, insbesondere im Hinblick auf das aufgeworfene Problem der Individualität und morphologischen Plastizität (siehe 4.3 *Individualität, Speziesabgrenzung und Artkonzepte*). Festzustellen bleibt, dass wegen der mangelnden Alignbarkeit die ITS-Region innerhalb der Peltulaceae wenig geeignet ist, um Spezies abzugrenzen: Als Spacerregion ist die ITS weniger stark von Selektionsdrücken betroffen als kodierende Gene, so dass sich vermehrt Mutationen anhäufen (White et al. 1990), die wie im Falle der Peltulaceae das Identifizieren homologer Positionen nahezu unmöglich machen.

Inkongruenzen zwischen Genstammbäumen aufgrund nicht-orthologer Genkopien sind insbesondere bei proteinkodierenden Genen ein bekanntes Phänomen. Für das  $\beta$ -*Tub*-Gen der Ascomyceten existieren zahlreiche Belege für Paraloge: Zwei oder mehr unterschiedliche Kopien fanden May et al. (1987) in *Aspergillus nidulans*, Panaccione & Hanau (1990) in *Colletotrichum graminicola*, Tsai et al. (1994) in einem Pilzendophyten von *Epichloë spec.* und Landvik et al. (2001) in *Galactomyces geotrichum* und zwei *Glomerella*-Spezies. Und auch für den Zygomyceten *Rhizopus oligosporus* sind  $\beta$ -*Tub*-Paraloge beschrieben (Keeling et al. 2000). In der vorliegenden Arbeit konnten ebenfalls zwei verschiedene  $\beta$ -*Tub*-Sequenztypen I und II isoliert werden (siehe Abb. 3.3.2), bei denen es sich wahrscheinlich um paraloge Genkopien handelt. Würde es sich bei den Typ-II-Sequenzen um Sequenzen von Kontaminationsorganismen handeln, so wäre zu erwarten, dass sie sich über den gesamten Baum verteilen anstatt eine monophyletische Einheit zu bilden. Die Typ-II-Sequenzen bilden die – allerdings nicht unterstützte – Schwestergruppe zu den Sordariomycetes (*Diaporthe phaseolorum*, *Sordaria macrospora*) und den Dothideomycetes (*Phaeosphaeria nodorum*). Die Typ-II-Sequenzen sind vor allem durch das stark konservierte Intron charakterisiert (siehe Abb. 3.3.1), das bei keiner der anderen Sequenzen der Analyse aus Abb. 3.3.2 auftritt. Das zweite Intron tritt an derselben Position bei allen Typ-I-Sequenzen auf sowie bei beiden Geoglossaceae (*Trichoglossum hirsutum*, *Geoglossum glabrum*) und allen Lecanoromycetes-Vertretern (*Almbornia cafferensis*, *Cladonia rangiferina*, *C. luteoalba*, *Parmelia saxatilis*, *P. ernstiae*). Die Typ-II-Sequenzen fallen nicht mit den Typ-I-Sequenzen zusammen, sondern mit anderen Taxa, so dass die Paraloge nach der Definition von Sonnhammer & Koonin (2002) sogenannte *outparalogs* darstellen. Das heißt, dass die Genduplikation, die zu den paralogen  $\beta$ -*Tub*-Kopien geführt hat, vor der Bildung der Lichinomyceten stattfand, im Laufe der Evolution der Pezizomycotina. Die vorliegende Phylogenie hat allerdings eine zu geringe Auflösung, um dieses Ereignis näher einzugrenzen. Bei den Typ-II-Sequenzen handelt es sich wohl nicht um eine inaktivierte Genkopie (Pseudogen): Ein Pseudogen sollte u. a. wegen des verminderten Selektionsdrucks deutlich divergierende Sequenzen auf Nucleotid- und Aminosäureebene zeigen oder aber es besteht ausschließlich aus Exons, wie bei den aus mRNA revers transkribierten Pseudogenen. Die Sequenztypen I und II unterscheiden sich indes auf der Nucleotidebene vor allem an den dritten Co-

donpositionen (siehe Abb. 3.3.1) und auf der Aminosäurenebene nur an einigen wenigen Positionen. Der sequenzierte Genabschnitt scheint überdies funktional zu sein; es finden sich z. B. keine internen Stop-Codons. Das Verwenden von paralogenen Sequenzen für die Phylogeniekonstruktion ist ein offensichtlicher Faktor bei der Untersuchung von topologischen Inkongruenzen. In der vorliegenden Analyse konnten paraloge und orthologe Sequenzen allerdings separiert werden, so dass Paralogie bei der beobachteten Inkongruenz der  $\beta$ -*Tub*-Phylogenie mit den anderen Genstammbäumen keine Rolle spielen dürfte. Anders stellt sich dies beim *RPB2*-Gen dar. Für die Fungi ist bisher keine *RPB2*-Paralogie bekannt, es gibt aber Belege von höheren Pflanzen (Oxelman & Bremer 2000, Pfeil et al. 2004). In der vorliegende Arbeit gab es keine Hinweise auf paraloge *RPB2/7-11*-Sequenzen wie beim  $\beta$ -*Tub*-Gen. Ob es sich bei der divergierenden *RPB2/7-11*-Sequenz von *Peltula tortuosa* aus der Einzelschuppenanalyse (siehe Abb. 3.11.1 und Abb. A.5 im Anhang) um eine mögliche Paralogie handelt oder um individuelle Variation ist unklar (siehe hierzu auch 4.3 *Individualität, Speziesabgrenzung und Artkonzepte*).

Das Kombinieren von als inkompatibel erkannten Datensätzen ist problematisch. In der Regel verspricht man sich von der Datenkombination die Verstärkung eines schwachen phylogenetischen Signals für die »richtige«, die organismische Evolution widerspiegelnde Phylogenie. Im Falle inkongruenter Datensätze können im umgekehrten Sinne aber auch starke »falsche« Signale die »richtigen« überlagern, und die Kombination solcher Signale senkt die Wahrscheinlichkeit, den Organismenstammbaum zu finden (Bull et al. 1993). Dagegen steht die Analyse von Rokas et al. (2003): Sie analysierten 106 orthologe Gene von *Saccharomyces cerevisiae* und erhielten mehr als 20 sehr gut unterstützte, inkongruente Topologien. Die kombinierte Analyse schließlich resultierte in einer voll aufgelösten, in jedem Ast zu 100 % BS-unterstützten Topologie, die nicht identisch mit irgendeiner durch ein Einzelgen unterstützten Topologie war. Rokas et al. (2003) zeigten, dass die kombinierte Analyse von »parteiischen« Datensätzen in einer gut unterstützten falschen Phylogenie münden kann, insbesondere wenn nur wenige unabhängige Loci (< 20) betrachtet werden. Da in der vorliegenden Arbeit lediglich vier unabhängige Loci sequenziert wurden, und es für die Phylogenie der kombinierten Analyse (siehe Abb. 3.5.2) keine Bestätigung von nicht-molekularen Merkmalen gibt, kann die kombinierte Analyse nicht als plausibler angesehen werden, als jede der Einzelgenanalysen.

### 4.3 Individualität, Speziesabgrenzung und Artkonzepte

Die Individualität von Flechtenthalli spielt bei der Untersuchung eng verwandter Taxa eine große Rolle, da möglicherweise – je nach verwendetem Marker – Sequenzvariationen auftreten können. Die bisherige Lesart der Peltulaceen-Thalli ist die von zusammengesetzten Thalli (außer im Fall der peltaten Formen, wo eine peltate Schuppe einen Thallus darstellt). Die Komposit-Thalli sind nicht immer eindeutig abgrenzbar. Für *P. impressa* (siehe Abb. 1.1.2) fällt dies dank ihrer effigurierten Randloben noch verhältnismäßig leicht, während bei der ähnlichen *P. placodizans*

die Thallusgrenzen meist nicht auszumachen sind. Die einzelnen Thallusschuppen können verstreut stehen oder aber dicht gedrängt und miteinander in Verbindung stehen (Büdel 1987a). Zur Entwicklung der einzelnen Thallusschuppen beschreibt Büdel (1987a) zwei Typen: das Auswachsen aus einem gemeinsamen »Prothallus« (*P. clavata*, siehe Abb. 1.1.3) oder die sekundäre Längsteilung größerer Schuppen (*P. boletiformis*, siehe Abb. 1.1.3). Auch für die oberflächlich getrennten Schuppen der erdbewohnenden *P. radicata* ist bekannt, dass ihre tief im Boden verankerten Rhizinen engen Kontakt zu den Rhizinen benachbarter Schuppen haben (Büdel, persönliche Mitteilung). Die genaue Natur dieser Verbindung ist unbekannt, für verschiedene Flechten ist indes gezeigt, dass an Rhizoidhyphen alter Schuppen neue Schuppen entstehen können (Letrouit-Galinou & Asta 1994, Sanders 1994). Für die DNA-Extraktion in dieser Arbeit wurden wegen des umfangreichen Sequenzierprogramms mehrere Thallusschuppen vereinigt. Nachdem die Inkongruenz zwischen den Genstammbäumen festgestellt worden war, wurde exemplarisch DNA aus je acht Thallusschuppen je eines Thallus der Arten *P. farinosa* (peltat), *P. tortuosa* (subfruticos) und *P. umbilicata* (squamulös) extrahiert und die Gene ITS und *RPB2/7-11* sequenziert. Interessanterweise sind die ITS- und *RPB2/7-11*-Sequenzen der peltaten Thalli von *P. farinosa* zu hundert Prozent identisch, sowohl zwischen den Schuppen als auch mit der aus mehreren Schuppen gewonnenen Sequenz (siehe Anhang, Abb. A.1 und A.4). Bei diesem Schuppentyp sollte es sich um individuelle Thalli handeln, so dass eine gewisse Sequenzvariation nicht ungewöhnlich gewesen wäre. Die ITS-Sequenzen der Thallusschuppen von *P. umbilicata* zerfallen in zwei Gruppen, die an drei Positionen unterschiedliche Nucleotide aufweisen. Die Sequenz aus mehreren Thallusschuppen repräsentiert eine Mischform beider Typen (siehe Anhang, Abb. A.3). Die *RPB2/7-11*-Sequenzen von *P. umbilicata* dagegen sind alle völlig gleich (siehe Anhang, Abb. A.6). Die interessantesten Abweichungen sind bei *P. tortuosa* zu beobachten: Eine der acht betrachteten Schuppen (Nr. 8) hat sowohl eine deutlich divergierende ITS- als auch *RPB2/7-11*-Nucleotidsequenz (siehe Anhang, Abb. A.2 und A.5), die im direkten Sequenzvergleich aller Peltulaceen-Sequenzen die höchste Übereinstimmung mit den Sequenzen der Art *P. tortuosa* aufweisen. Es handelt sich also nicht um »Kontaminationssequenzen« anderer Peltulaceen-Arten. Im Falle der ITS ist die Sequenz aus mehreren Thallusschuppen quasi identisch zu denjenigen der Einzelschuppen 1 bis 7, im Falle der *RPB2/7-11*-Sequenz hat sie allerdings mehr Übereinstimmung mit der Sequenz aus Schuppe Nr. 8, wie sich auch in der zugehörigen phylogenetischen Analyse zeigt (siehe Abb. 3.10.1). Da die Thallusgrenzen der Peltulaceae nicht immer eindeutig zu bestimmen sind, könnte es sich bei der Schuppe Nr. 8 von *P. tortuosa* 24039b auch um eine Schuppe eines Nachbarthallus handeln, eine Möglichkeit, die ebenso bei den nicht übereinstimmenden ITS-Sequenzen der beiden *P. clavata*-Duplikate in Betracht gezogen werden muss (siehe Abb. 3.8.1). Denkbar ist indes auch das Auftreten mechanischer Hybride. Dabei handelt es sich um Flechtenthalli, die aus der Verschmelzung mehrerer genetisch verschiedener Verbreitungseinheiten hervorgehen (Bridge & Hawksworth 1998), wobei die Verbreitungseinheiten sogar von unterschiedlichen Spezies stammen können. Über die Entstehung der Peltulaceen-Thalli ist nicht viel bekannt (Büdel 1987a), wenn mechanische Hybride zwischen

verschiedenen Spezies allerdings eine häufige Erscheinung bei den Peltulaceen sein sollten, so wäre ein negativer Einfluss auf phylogenetische Analysen unausweichlich. Festzuhalten bleibt, dass trotz der äußerst geringen Sequenzabweichungen der beiden hochvariablen Gene ITS und *RPB2/7-11* für die Einzelschuppen die resultierende Topologie prinzipiell unverändert ist, also nicht mit Auswirkungen auf die phylogenetische Analyse gerechnet werden muss. Bei den konservierteren Genen *nucSSU* und *nucLSU* sind nahezu identische Kopien zu erwarten, falls es keine Abweichungen von der konzertierten Evolution des ribosomalen Clusters gibt (Liu et al. 2003, Rooney & Ward 2005).

Für die überwiegende Mehrzahl der Flechtenpilze erfolgt die Speziesabgrenzung anhand morphologisch-anatomischer Merkmale. Flechten haben jedoch in der Regel wenig spezialisierte Zellen und Gewebe. Wegen des angenommenen starken Selektionsdrucks auf den reproduktiven Apparat werden dessen Merkmale im Allgemeinen als besonders bedeutsam erachtet (Hafellner 1987, Kärnefelt & Thell 1994). Außerdem sollen sie wenig oder gar nicht von Umweltfaktoren beeinflusst sein. Gerade in diesem Merkmalskomplex stellen sich die Peltulaceae jedoch überaus homogen dar, und der evolutive Wert der beobachteten Variationen kann nicht beurteilt werden, z. B. inwiefern – oder ob überhaupt – ein clavater oder ein obclavater Ascus einen evolutiven Vorteil bietet. Gerade für Flechtenpilze gibt es jedoch zahlreiche Beispiele für phänotypische Muster, die höchstwahrscheinlich keine genetische Basis haben (Purvis et al. 1997, Review), also ein hohes Potenzial an morphologischer Plastizität. Als Beispiel wären hier die Photosymbiodeme zu nennen (James & Henssen 1976, Armaleo & Clerc 1990), Flechtenpilze, die je nachdem ob der Photobiont eine Grünalge oder ein Cyanobakterium ist, eine unterschiedliche Morphologie ausbilden. Snelgar & Green (1981) beschreiben drei Subpopulationen der Cyanobakterienflechte *Pseudocyphellaria dissimilis*, deren Morphologie und Anatomie an die im jeweiligen Mikrohabitat vorherrschenden Lichtbedingungen angepasst ist – vom schattigen bis zum voll exponierten Standort. Auch für Krustenflechten sind morphologisch-anatomische Differenzierungen als ökologische Anpassungen beschrieben (Weber 1962). Und sogar die Lichenisierung selbst als Merkmal wird angezweifelt: Wedin et al. (2004) fanden, dass saprotrophische *Stictis*-Arten eine monophyletische Einheit mit lichenisierten *Conotrema*-Spezies bilden. Egea (1989) schließlich unterscheidet evolutionäre Linien innerhalb der Peltulaceae aufgrund der Art der Substratanheftung über einen Umbilicus oder Rhizohyphen. Dieses Merkmal ist allerdings vom Substrat – Gestein oder Erdboden – induziert (Büdel 1987a, 1987b). Die Speziesabgrenzung der Peltulaceae stützt sich notgedrungen zu einem großen Teil auf morphologische Merkmale, denen möglicherweise eine genetische Basis fehlt. So ist die Ausprägung der Epinekralschicht der Peltulaceen abhängig von der Strahlungsintensität am Standort (Büdel 1990, Büdel & Lange 1994), und Büdel (1999b) und Büdel et al. (2000) zeigten für die drei Hauptwuchsformen der Peltulaceen-Schuppen – peltat, squamulös und subfruticos – eine Verbindung zu den jeweiligen Habitaten, die von unterschiedlicher Wasserverfügbarkeit geprägt sind. Ebenso könnte es sich bei Isidien um eine ökologische Anpassung handeln: Die Isidien von *Pseudevernia furfuracea* zeigen – wahrscheinlich wegen des güns-

tigen Verhältnisses von Oberfläche zu Volumen – einen sehr niedrigen CO<sub>2</sub>-Sättigungspunkt verbunden mit einem hohen Lichtsättigungspunkt (Tretiach et al. 2005). Für die einzige isidiöse *Peltula*-Art *P. clavata* wären dies an ihrem periodisch submersen Standort mit hoher Strahlungsintensität vorteilhafte Eigenschaften. Es ist jedoch unklar, ob die Isidien von *P. furfuracea* lediglich eine ökologische Variation darstellen, oder auch als systematisches Merkmal von Bedeutung sind.

Mit dem Anwachsen der molekularen Datenbasis rückt zunehmend ein Artkonzept in den Vordergrund, das auf monophyletischen Gruppierungen in molekularen Phylogenien basiert, sogenannten phylogenetischen Spezies (Grube & Kroken 2000, Taylor et al. 2000). Das Konzept basiert auf der Abgrenzung von Gruppen, deren Mitglieder Rekombination erfahren, d. h. phylogenetische Spezies sollen reproduktiv isoliert sein. Dem phylogenetischen Spezieskonzept wohnt also auch das biologische Spezieskonzept inne, das Spezies anhand ihrer Paarungskompetenz umreißt. Ein rein biologisches Spezieskonzept hat sich indes als problematisch erwiesen, da es die potenzielle Paarungskompetenz als Maßstab nimmt und nicht das tatsächliche Paarungsverhalten (Donoghue 1985). Überdies lassen sich Flechtenpilze zum Zwecke von Kreuzungstests meist nur sehr schwer oder überhaupt nicht kultivieren (Honegger 1998), und diverse Pilzgruppen scheinen die sexuelle Reproduktion zugunsten der klonalen Verbreitung aufgegeben zu haben. Mit Hilfe der *phylogenetic-species*-Analyse nach Taylor et al. (2000) lässt sich für die Peltulaceen keine einzige phylogenetische Spezies bestimmen (siehe Abb. 3.9.1). Betrachtet man hingegen unter Auslassung von ITS und mtSSU nur vier der sechs Einzelend Datensätze, so tauchen drei unterstützte Beziehungen auf, zwei davon terminal. Die Beziehung *P. euploca*—*P. euploca* ssp. *sorediosa* ist trivial, und für die zwei übrigen Clades gibt es keine bestätigenden Merkmale aus dem morphologisch-anatomischen oder geographischen Merkmalskomplex. Führt man die *phylogenetic-species*-Analyse mit dem erweiterten Taxonset durch, so ergibt sich lediglich ein gestützter interner Ast, der Ast der peltaten Taxa *P. euploca*, *P. omphaliza* und *P. sonorensis*. Alle anderen Äste vereinen Morphotaxa von meist derselben geographischen Herkunft, bis auf die beiden Proben von *P. leptophylla* und *P. imbricata* 18060a—*P. zahlbruckneri* 14919a-1. Offensichtlich ist auch das erweiterte Taxonset für die Peltulaceae nicht umfassend genug, um mittels einer *phylogenetic-species*-Analyse belastbare Ergebnisse zu liefern. Nichtsdestotrotz ergeben sich für manche Morphotaxa Hinweise auf einen Speziesstatus: *P. euploca* bildet mit *P. euploca* ssp. *sorediosa* in sämtlichen Analysen eine monophyletische Einheit. Überdies stammen die beiden Proben aus Nordamerika und Afrika, bilden also einen interkontinentalen Cluster. Dies trifft ebenfalls für die zwei Individuen von *P. leptophylla* zu (siehe Abb. 3.9.3). Dieses Ergebnis ist interessant, da es sich bei *P. leptophylla* um eine Art handelt, die sich morphologisch verhältnismäßig unspezifisch darstellt. Vainio (1890) beschrieb *P. leptophylla* als erster inklusive Fruchtkörpermerkmalen. Den seither bekannt gewordenen Funden fehlen jedoch in aller Regel die Fruchtkörper, so dass sich die Bestimmung auf den meist sorediösen und variablen, unregelmäßig geformten Thallus stützt. Dies resultiert oft in der vorsichtigen Bestimmung als *cf.* Von den Taxa, die in ihrem Vorkommen auf einen Kontinent beschränkt sind, sind die Arten *P. marginata*, *P. richard-*

*sii*, *P. santessonii*, *P. sonorensis* und *P. umbilicata* hervorzuheben (siehe Abb. 3.9.3). Denn hier bilden Individuen monophyletische Einheiten, die von unterschiedlichen geographischen Lokalitäten stammen. Auch *P. africana* und *P. coriacea* gehören eigentlich in diese Gruppe, die jeweiligen Beziehungen werden jedoch von der ITS nur schwach unterstützt (siehe Abb. 3.8.1) – im Gegensatz zu *RPB2/7-11* (siehe Abb. 3.8.2) –, so dass sie in der *phylogenetic-species*-Analyse keine signifikante Unterstützung erhalten. Auch Proben von unterschiedlichen nordamerikanischen Lokalitäten von *P. farinosa* bilden eine monophyletische Einheit (siehe Abb. 3.9.3), diese Art ist allerdings insgesamt weiträumiger verbreitet (Afrika, Nordamerika, Asien). Weitere Proben von anderen Lokalitäten könnten hier Klärung schaffen. Bei all diesen Überlegungen sollte jedoch nicht außer Acht gelassen werden, dass unklar ist, inwieweit die individuellen Stichproben tatsächlich getrennte Populationen darstellen. Die genannten Morphotaxa zeichnen sich auch durch einen im Vergleich zu anderen *Peltula*-Spezies sehr klar umrissenen Habitus aus, der sie leicht kenntlich macht. Dies ist anders für die überwiegende Mehrzahl der Taxa, die in den Analysen mit erweitertem Taxonset keine monophyletischen Einheiten bilden (siehe Abb. 3.8.1 und 3.8.2, Symbole). Hier erlaubt die morphologische Umschreibung eine relativ große Variationsbreite. Insbesondere trifft dies für *P. obscurans* zu. Wetmore (1970) erkannte drei Varietäten von *P. obscurans*, die sich anhand der Schuppenform sowie der KOH- und Jodreaktion des Hymeniums trennen lassen. Aufgrund der fehlenden geographischen Isolation akzeptierte Büdel (1987a) diese Varietäten jedoch nicht. Insgesamt acht Vertreter von *P. obscurans*, die zwei der drei Varietäten repräsentieren, sind in der vorliegenden Arbeit eingeschlossen. Keine der Analysen unterstützt eine monophyletische Entität *P. obscurans*, geschweige denn Varietäten. Die Beziehung zwischen *P. obscurans* var. *deserticola* 14902d-1 1 und 2 sowie *P. obscurans* var. *hassei* 14902c-2 (siehe Abb. 3.8.1 und 3.8.2) stellt höchstwahrscheinlich eine geographische Gruppierung dar, da alle Individuen von derselben Lokalität stammen. Ein Speziesstatus kann aber natürlich nicht ausgeschlossen werden. Unter den Taxa, die keine monophyletische Einheit bilden, befinden sich allerdings auch zwei Morphospezies, deren morphologische Umschreibung ebenso klar ist wie bei den Taxa, die monophyletischen Gruppen bilden. Die zwei beziehungsweise drei Vertreter von *P. patellata* und *P. auriculata* clustern im Baum nicht zusammen. Beide *P. patellata*-Proben stammen aus Nordamerika während die nordamerikanische *P. auriculata*-Probe sich nicht mit den südamerikanischen gruppiert.

Eine Stärke des phylogenetischen Artkonzepts ist die Möglichkeit, *a posteriori* andere Merkmalskomplexe zu analysieren und so die für die Artabgrenzung bedeutsamen Merkmale zu erkennen (z. B. Buschbom & Mueller 2004, Miller & Huhndorf 2004). Für die Peltulaceae konnte in der vorliegenden Arbeit kein einhelliges Ergebnis einer solchen *a posteriori*-Merkmalsanalyse erzielt werden (siehe 3.6 *Mapping*). Wie schon Büdel (1999b) feststellt, variieren die Peltulaceen vor allem in der Wuchsform. Speziell für dieses Merkmal (»Thallusschuppenform«) zeigt die *Mapping*-Analyse (siehe Abb. 3.6.3) ein indifferentes Bild. Zwar gibt es einen Clade mit ausschließlich peltaten Formen (*P. euploca*, *P. sonorensis*, *P. omphaliza*, *P. bolanderi*), peltate Formen finden sich allerdings auch an anderen Stellen im Stammbaum (z. B. *P. farinosa*,



*P. coriacea*). Ähnlich sieht es mit dem Clade *P. psammophila*—*P. radicata*—*P. patellata*—*P. richardsii* aus: Hier sind vornehmlich squamulöse, erdbewohnende Formen vereinigt. Diese Merkmalskombination ist allerdings auch z. B. bei *P. michoacanensis* verwirklicht. Derzeit kann also nicht beurteilt werden, ob und welche morphologischen Merkmale bei den Peltulaceae zur Speziesabgrenzung dienen können. Es lassen sich auch keine internen Äste identifizieren, die geographischen Gruppierungen entsprechen (siehe Abb. 3.6.1). In den Analysen mit erweitertem Taxonset (siehe Abb. 3.8.1. und 3.8.2) finden sich terminale Clades von Morphotaxa, die aus demselben Land stammen, dort aber von unterschiedlichen Lokalitäten, z. B. *P. coriacea*, *P. sonorensis* oder *P. umbilicata*. Seltener finden sich Clades über kontinentale Grenzen hinweg, so bei *P. euploca* und *P. euploca* ssp. *sorediosa* oder bei den *P. leptophylla*-Proben aus Südafrika und Mexiko. Das Mapping der Intronpräsenzen in nucSSU und nucLSU fördert ein Muster zutage: Nahezu alle introntragenden Taxa sind in einem Teilbaum des in zwei Teilbäume zerfallenden Stammbaums lokalisiert (siehe Abb. 3.6.4). Einige wenige nucSSU-Introns finden sich auch bei zwei Taxa im anderen Teilbaum, bei einem Taxon der Lichinaceae (*Lichinella nigrifella* 16228d) und sogar im Außengruppentaxon *Trichoglossum hirsutum*. Die introntragenden Taxa sind nicht näher durch Merkmale aus anderen Quellen charakterisiert, auch eine geographische Korrelation zeichnet sich nicht ab (siehe Abb. 3.6.4). Zwei der hier behandelten Introns konnten als *group-I*-Introns identifiziert werden, die vor allem in der nucSSU von Flechtenpilzen häufig vorkommen (DePriest & Been 1992, Gargas et al. 1995). *Group-I*-Introns werden als genetische Elemente aufgefasst, die sich eigenständig innerhalb eines Genoms oder auch zwischen Genomen ausbreiten können (Lambowitz & Belfort 1993, Review, Bhattacharya et al. 2002). Eine Vererbung von nucSSU-Introns von außerhalb der Lichinomycetes über die Lichinaceae an die Peltulaceae erscheint möglich, wenn man die Verteilung der Intronpräsenzen betrachtet. Im intronlosen Teilbaum aus Abbildung 3.6.4 wären dann Taxa versammelt, welche die Introns sekundär verloren haben. Die in dieser Arbeit erzeugten Daten hinsichtlich der Intronpräsenz sind jedoch nicht ausreichend, um mehr als spekulative Schlüsse zu ziehen. Das Intronmuster könnte auch zufällig entstanden sein, da jeweils nur ein Individuum aus der am Sammelort bestehenden Population aufgegriffen wurde. Die Präsenz bestimmter Introns muss innerhalb einer gegebenen Population jedoch nicht fixiert sein, wie DePriest (1993) für eine Population von *Cladonia-chlorophaea*-Individuen zeigte.

Wie bereits geschildert, basiert das phylogenetische Spezieskonzept auf der grundlegenden Annahme, dass es Gruppen von Taxa gibt, zwischen deren Mitgliedern Rekombinationsprozesse stattfinden, d. h. diese Organismen pflanzen sich sexuell fort. Um zu testen, ob Rekombinationsprozesse im Falle der fast immer Fruchtkörper ausbildenden Peltulaceae eine Rolle spielen, wurden *Likewind*- (Archibald & Roger 2002) und *Geneconv*-Analysen (Sawyer 1999) durchgeführt. *Likewind* macht sich die Tatsache zunutze, dass sich Rekombinationsprozesse in der phylogenetischen Analyse darin äußern, dass einzelne Teile der Daten unterschiedliche Phylogenien unterstützen (Felsenstein 2004). Für den bis dahin als asexuell bekannten Ascomyceten *Aspergillus flavus* (Geiser et al. 1998) und *Escherichia coli* (Dykhuisen

& Green 1991, Médigue et al. 1991) sind daraus resultierende inkongruente Phylogeniehypthesen aufgrund von Rekombination beschrieben worden, ebenso wie für die lichenisierten Ascomyceten *Cladonia arbuscula* und *C. mitis* (Myllys et al. 2003). Die *Likewind*-Analysen weisen für jedes der in der vorliegenden Arbeit analysierten Gene – mit Ausnahme der ITS – Bereiche im Alignment aus, deren Phylogenie von derjenigen des Gesamtalignments abweicht, liefert also Hinweise auf Rekombination. *Likewind*-Analysen sind sehr rechenintensiv, selbst wenn man für die Analyse vieler Taxa die von Archibald & Roger (2002) empfohlene ML-Distanz-Approximation nutzt. Sie hat den Nachteil, dass sie zuzeiten negative Signale im *Likewind*-Plot erzeugt. Über diese Alignment-Abschnitte lässt sich dann keine Aussage hinsichtlich Rekombinationsprozessen treffen. Von diesem Phänomen ist das *RPB2/7-11*-Alignment besonders stark betroffen. Insgesamt sind die *Likewind*-Ergebnisse nicht ohne Weiteres interpretierbar. So zeigt beispielsweise das *RPB2/7-11*-Alignment inkongruente Alignmentabschnitte, die sehr nah beieinanderliegen, aber durch scheinbar kongruente Bereiche getrennt sind (siehe Abb. 3.7.5): Die bp 120-220 und die (überlappenden) bp 150-250 haben ein inkongruentes Signal, während die bp 130-240, die ja in den beiden vorgenannten Bereichen eingeschlossen sind, ein kongruentes Signal aufweisen. Die aus den inkongruenten Alignmentabschnitten errechneten Phylogenien sind in der Regel nur wenig aufgelöst und zeigen meist keine gravierenden Unterschiede zu der Phylogenie aus dem Gesamtalignement. Die mangelnde Auflösung und statistische Unterstützung durch Bootstrapping dürfte wohl auch auf einen erheblichen Stichprobenfehler zurückzuführen sein, der bei der Analyse der nur 100 bis 170 bp umfassenden Teilalignments auftritt (siehe 4.2 Einzelgenanalysen, Kombinierbarkeit und topologische Inkongruenz). Das Ausschließen der von *Likewind* identifizierten Positionen schließlich führt nicht notwendigerweise zu einer verbesserten Auflösung und Unterstützung der resultierenden Phylogenie, so dass hier kein Nutzen erkennbar ist. Um herauszufinden, welche Taxa an Rekombinationsprozessen beteiligt sind, ist die *Likewind*-Analyse ungeeignet. Hierfür diene die Analyse mit *Geneconv* (Sawyer 1999). Genkonversion kann in der Folge von homologer Rekombination auftreten, indem die komplementären Stränge eines DNA-Bereichs von verschiedenen Rekombinationspartnern abstammen und so fehlgepaarte Basen auftreten können. Bei der Reparatur der Fehlpaarungen wird zufällig eine der fehlgepaarten Basen entfernt, und so ein Marker in einen anderen Marker überführt. *Geneconv* nutzt übereinstimmende Abschnitte zwischen zwei Sequenzen, die mehr Polymorphismen aufweisen als durch den Zufall erwartet werden kann, als mögliche Kandidaten für ein Genkonversionsereignis. Nur im Alignment der nuLSU identifiziert *Geneconv* an acht Positionen 38 Fragmente, die an Genkonversion beteiligt sein könnten (siehe Anhang, Tabelle A.6). Deren Positionen zwischen Base 615 und 699 decken sich nicht mit dem *Likewind*-Profil, das in diesem Bereich ein kongruentes Signal aufweist. Interessanterweise betreffen 24 der 38 von *Geneconv* gefundenen Fragmente Speziesproben, die von verschiedenen Kontinenten stammen. Konsequenterweise müsste man in diesem Fall entweder sehr weit zurückliegende und fortan in der Sequenz konservierte Genkonversionsereignisse annehmen, die zeitlich vor der Fragmentation des Lebensraums der Sexualpartner liegen, oder aber es käme ein Fernausbreitungsszenario nach erfolgter

Genkonversion in Betracht. Die erste Möglichkeit erfordert die Konservierung des Genkonversionsergebnisses über mehrere Millionen Jahre hinweg – die pangäische Verbindung von Nordamerika und Afrika trennte sich beispielsweise vor ca. 180 Millionen Jahren. Man bedenke auch, dass es sich bei den Peltulaceae um sich regelmäßig sexuell fortpflanzende Organismen handelt, erneute Rekombinationsereignisse also wahrscheinlich sind. Stattdessen könnte Fernausbreitung möglich sein (siehe 4.5 *Biogeographie*). Um einen interkontinentalen Genfluss annehmen zu können, muss die Datenbasis allerdings erheblich erweitert werden. *Geneconv* detektiert interessanterweise keine Genkonversion zwischen den Taxa, die in den *phylogenetic-species*-Analysen clustern (siehe Abb. 3.9.1 und 3.9.2). Gerade für diese Taxa wäre jedoch Rekombination wahrscheinlich (Taylor et al. 2000).

#### 4.4 Systematik und Taxonomie

Die bisherige, maßgeblich von Büdel (1987a) bestimmte Klassifikation der Peltulaceae hat sich im Großen und Ganzen als zweckmäßig erwiesen, um Morphotaxa abzugrenzen. Die Identität dieser Morphotaxa als Spezies im Sinne von reproduktiv isolierten Einheiten beziehungsweise phylogenetischen Spezies ist jedoch fraglich. Zum jetzigen Zeitpunkt ist völlig offen, wieviele Spezies sich hinter den Peltulaceen verbergen. Insbesondere könnten kryptische Spezies existieren, die nicht anhand einfacher morphologischer Merkmale unterscheidbar sind (Grube & Kroken 2000, Kroken & Taylor 2001). Die systematische Forschung sucht nach natürlichen (phylogenetischen) Einheiten und Abstammungslinien und sieht dies auch als Basis für die taxonomische Klassifikation. Dem entgegen stehen die Bedürfnisse von Nutzern des taxonomischen Systems: Hier ist auch und vor allem die (Wieder-)Erkennbarkeit von Taxa in der Natur gefragt. Dies leistet die aktuelle morphologische Umschreibung der Peltulaceae, und bis neue Daten hinsichtlich der Speziesabgrenzung belastbare Ergebnisse liefern, sollte sie auch beibehalten werden. Als einzige Änderung wird vorgeschlagen, die beiden Gattungen *Neoheppia* und *Phyllopeltula* aufzulösen und mit der Gattung *Peltula* zu synonymisieren, da dies der älteste Name ist (Nylander 1853). Keine einzige molekulare Analyse in dieser Arbeit unterstützt die Monophylie von *Neoheppia* und *Phyllopeltula* (siehe z. B. Abb. 3.8.1 und 3.8.2). Der anatomische Unterschied, der *Neoheppia* von *Peltula* trennt liegt im Wesentlichen in dem krustigen Wuchs und damit einhergehend der fehlenden unteren Rinde (Büdel 1995). Bei *Phyllopeltula* erkannten Büdel (1987a) und Kalb (2001) den foliosen Thallus und die Substratspezifität für Baumrinde als ausreichend an, eine eigene Gattung zu begründen. Angesichts der vermutlich sehr großen morphologischen Plastizität der Peltulaceae, z. B. der Tatsache, dass die Art der Befestigung von Flechten substratinduziert sein kann (Büdel 1987a, 1987b), muss die Interpretation dieser Merkmale als Autapomorphien der Gattung *Phyllopeltula* zweifelhaft erscheinen. Im Zuge einer Neubewertung der Speziesgrenzen mögen diese Merkmale hingegen durchaus wertvoll sein. Die Synonymisierung der beiden Gattungsnamen mit *Peltula* wird in einer kommenden Veröffentlichung vorgenommen werden (Rauhut et al., in Vorb.). Die von Büdel (1987a) umschriebenen Gruppen von mutmaßlich

näher verwandten Taxa – die »kritische Gruppe« (*P. impressa*, *P. marginata*, *P. placodizans*, *P. umbilicata*, *P. zahlbruckneri*) sowie die »Formgruppe« subfructifoser Spezies (*P. congregata*, *P. capensis*, *P. cylindrica*, *P. tortuosa*) – finden in keiner der hier durchgeführten Analysen Unterstützung.

Schultz et al. (2001) führten eine kladistische Analyse des morphologisch-anatomischen Merkmalskomplexes der drei Lichinales-Familien Lichinaceae, Heppiaceae und Peltulaceae durch. Schultz et al. (2001) interpretierten den rostraten Ascus als Autapomorphie der Lichinales, der in den Lichinaceen und Heppiaceen zum prototunicaten Typ reduziert ist. Mit den Merkmalen »heteromerer Thallus« und »polysporer Ascus« für die Peltulaceae wird außerdem ein Schwestergruppenverhältnis zu den Lichinaceen (inklusive der Heppiaceae und Gloeopheppiaceae) begründet. Dies spiegelt sich auch in der Analyse von Daten der nucSSU wider (Schultz & Büdel 2003). Die molekularen Daten in der vorliegenden Arbeit unterstützen die anatomisch begründete (Schultz 2000, Schultz et al. 2001) Monophylie der Peltulaceae (siehe Abb. 3.11.1), so dass zumindest die Gattung *Peltula* nach der bisherigen Datenlage ihre Berechtigung hat. Was die Schwestergruppenbeziehung der Peltulaceae zu den Lichinaceae angeht, so sind die vorliegenden molekularen Daten nicht ausreichend: In der Analyse aus Abb. 3.11.1 bilden die Lichinaceen kein Monophylum. Es sind lediglich drei Taxa der Lichinaceen einbezogen, was auf die problematische Gewinnung der molekularen Daten zurückzuführen ist. Schon der mechanische Aufschluss der Lichinaceen-Thalli bereitete erhebliche Schwierigkeiten im Vergleich zu den Peltulaceen, was eventuell mit den gelatinösen Thalli im Zusammenhang steht. Auch war die Kontaminationsfrequenz bei den Lichinaceen höher; der Grund hierfür ist unklar. Die molekularen Einzelanalysen sind hinsichtlich der Schwestergruppenbeziehung zu den Lichinaceen auch nicht eindeutig. In der Analyse der nucLSU beispielsweise (Abb. 3.4.3) ist *Lichinella nigritella* 16228d zusammen mit den Peltulaceen von *L. iodopulchra* 16319a getrennt, allerdings nur mit PP- und ohne BS-Unterstützung. Der so hohe PP-Wert verbunden mit einem niedrigen BS-Wert könnte eine Überschätzung darstellen (Alfaro et al. 2003, Simmons et al. 2004). Auch in der  $\beta$ -Tub-Phylogenie (Abb. 3.4.7) bilden Lichinaceen und Peltulaceen kein Monophylum: Hier ist *P. marginata* 14920d-1 Teil der Lichinaceae. Der BS-Wert für diese Beziehung ist mit 83 recht hoch, die PP-Unterstützung ist jedoch nicht signifikant (0,81). *L. iodopulchra* 16319a scheint sich auf der molekularen Ebene stärker von den beiden anderen Lichinaceen-Vertretern in den Analysen zu unterscheiden, denn in fast allen Analysen führt ein sehr langer Ast zu diesem Taxon, d. h. die Anzahl Substitutionen ist erheblich höher. Dies gilt im Übrigen auch für *Lempholemma polyanthes* in Abb. 3.11.1, deren Sequenzen GenBank entnommen wurden. Das Taxon-Sampling für die Lichinaceen in der vorliegenden Arbeit ist also nicht ideal. Folglich ist Schultz' (2000) schlüssiger Analyse der morphologisch-anatomischen Daten derzeit nichts hinzuzufügen.

Die Stellung der Lichinales im System der Ascomyceten ist unklar. Bei Tehler (1996) beinhalten die Lichinales lediglich die Lichinaceae und die Heppiaceae und bilden eine Ordnung innerhalb der paraphyletischen Gruppierung der unitunicaten

ascohymentalen Ascomyceten. Die Peltulaceae hingegen sind Teil der Lecanorales in der ebenfalls paraphyletischen Gruppe der bitunicaten Ascohymentalen. Dass *Peltula*- und Lichinaceae-Vertreter einen gemeinsamen Clade außerhalb der 'Lecanoromycotina' bilden, zeigten Lutzoni et al. (2001), und in der Analyse von Kauff & Lutzoni (2002) bilden die Lichinales ('Lichinomycetidae') die Schwestergruppe zu den Lecanoromycetes. Eine Schwestergruppenbeziehung von Lecanorales und Lichinales postulierten Schultz et al. (2001) auch anhand morphologisch-anatomischer Daten. In jüngeren Untersuchungen (Reeb et al. 2004) stehen die Lichinales in enger Verbindung zu den Thelocarpaceae (familia incertae sedis, Eriksson 2006) und den Geoglossaceae (Leotiomycetes, Lutzoni et al. 2004, Miadlikowska et al. in Druck, Spatafora et al. in Druck). In der vorliegenden Analyse (siehe Abb. 3.11.1) stehen die Lichinales in – nicht unterstützter – Schwestergruppenposition zu den vereinigten Lecanoromycetes und Eurotiomycetes, deren Monophylie allerdings nur von Bayes'schen PP gestützt ist. Die Geoglossaceae stehen basal in einer wiederum nur von Bayes'schen PP unterstützten Beziehung. Mit der vorliegenden Analyse ist somit keine Aussage zum Schwestertaxon der Lichinales (Lichinomycetes) möglich.

#### 4.5 Biogeographie

Die dieser Arbeit zugrundeliegende Hypothese eines gondwanischen Ursprung der Flechtenfamilie Peltulaceae – und damit einhergehend ein hohes phylogenetisches Alter – stützt sich vor allem auf den Vergleich mit den rezenten Verbreitungsmustern xerophytischer Moose (z. B. Marchantiales und Ricciales), das wohl das Ergebnis kontinentaler Driftvorgänge ist. Speziationsvorgänge sind dann die Reaktion auf eine wiederholte Fragmentation des Lebensraums (Vikarianz, Ronquist 1997). Zumindest für die Moospflanzen wird dieses Szenario kritisiert, da es für die betrachteten Taxa eine extrem niedrige Evolutionsrate verlangt, damit Populationen, die sich vor sehr langer Zeit getrennt haben, noch als zur selben Spezies gehörig zu erkennen sind (Tibell 1994). Alternativ zum Vikarianzszenario kommt Fernausbreitung in Frage, um disjunkte Verbreitungsmuster zu erklären. Eine erfolgreiche Fernausbreitung von Flechtenpilzen ist jedoch von verschiedenen Faktoren abhängig. Vor allem die Sporengröße und ihre Pigmentierung scheinen eine erhebliche Rolle zu spielen: Je kleiner und leichter die Sporen sind, desto weiter sind die zugehörigen Organismen verbreitet, wie es Tibell (1994) für die Caliciales zeigte. Die Sporengröße der Peltulaceae (bis ca.  $8 \times 10 \mu\text{m}$ ) bewegt sich im selben Rahmen wie für die weiträumig verbreiteten Caliciales. Im Gegensatz zu den Caliciales-Sporen sind die Sporen der Peltulaceae jedoch nicht dickwandig und pigmentiert, und dementsprechend schlechter für die erhöhte UV-Strahlung in großen Höhen der Atmosphäre gerüstet. Die Sporenfreisetzung der Peltulaceae geschieht aktiv, zumindest bei den Caliciales hat dieser Umstand aber keine Auswirkung auf die Größe des Verbreitungsgebiets: Taxa mit passiver Sporenfreisetzung können ebenso weiträumig verbreitet sein. Tatsächlich haben sich bisher in der Atmosphäre allerdings viel mehr Soredien und Thallusbruchstücke als Sporen nachweisen lassen (Harmata

& Olech 1991, Marshall 1996). Dies deckt sich auch mit der Beobachtung, dass der asexuelle Morphotyp eines Speziespaars häufig eine weitere Verbreitung hat als der sich sexuell ausbreitende (Tibell 1994, Herrera-Campos et al. 1998, Bjelland 2001). Dem entgegen steht *Lasallia pustulata*, die sich bei der Neubesiedlung eines Habitats klonal verbreitet und erst bei dichter Besiedlung sexuelle Sporen zur »Flucht« in ein entferntes Habitat produziert (Hestmark 1992). Die Verbreitung von Flechten mittels Sporen birgt unter anderem das Risiko, dass die Symbiose nicht neu gebildet werden kann, weil der passende Photobiont nicht verfügbar ist. Für die Peltulaceen ist die sexuelle Verbreitung jedoch vorherrschend vor der vegetativen Ausbreitung. Nur zwei der 43 bekannten Peltulaceen-Spezies sind als steril beschrieben, und nur sechs Spezies haben zusätzlich zu Fruchtkörpern Sorale. Die Neubildung der Symbiose, welche die Ausbreitung mittels Sporen verlangt, könnte für die Peltulaceen eventuell recht einfach sein, da der bevorzugte Photobiont aus der Gattung *Chroococcidiopsis* stammt (Bubrick & Galun 1984, Büdel 1991), der weltweit das bevorzugte Habitat der Peltulaceen teilt (Büdel et al. 1997, Büdel 1999a). Die kleinräumige Verbreitung erfolgt wahrscheinlich mit dem Fließwasser entlang der Abflussrinnen von Inselbergen oder ähnlichen Felsflächen (Armstrong 1981, Eldridge 1996). Im Hinblick auf die Möglichkeit einer Fernausbreitung ist die Präsenz oder das Fehlen von Taxa auf weit vom Festland entfernten Inseln interessant. Von den Hawaii-Inseln ist eine *Peltula*-Spezies beschrieben, *P. hawaiiensis* (Magnusson 1955). Für diesen Beleg kommt Vikarianz als Erklärung indes nicht in Frage: Die Hawaii-Inseln sind vulkanischen Ursprungs und maximal fünf Millionen Jahre alt, die nächste große Landmasse ist etwa 4000 km entfernt (Smith 1995). Smith (1995) verglich die Sporen von Flechten auf den Archipelen Hawaii und Galapagos, sowie Nordamerika und den Britischen Inseln (Festland) hinsichtlich der Merkmale, die für eine Fernausbreitung als förderlich angesehen werden (Sporengröße, -wanddicke, Pigmentierung). Er fand keine relevanten Unterschiede zwischen den Archipel- und den Festlandflechten, die Archipelflechten scheinen sogar etwas größere Sporen zu besitzen, Smith (1995) präsentierte allerdings keine statistische Auswertung der Daten. Neben Windströmungen (Muñoz et al. 2004) kommen auch Tiere als Vermittler der Fernausbreitung in Frage (z. B. Slocum & Lawrey 1976, Bailey & James 1979), so dass die Überlebenswahrscheinlichkeit der Sporen eventuell nicht von den genannten Sporenmerkmalen abhängt.

Die bisher bekannten Fundorte von Peltulaceen zeigen durchaus einen »Sammel-effekt«. Aus dem südlichen Afrika und ariden Teilen Nordamerikas gibt es verhältnismäßig viele Belege, während Asien unterrepräsentiert ist. Dies hängt zum Teil sicherlich mit der geringen Größe und unauffälligen Färbung der Peltulaceen zusammen. Dies bedeutet allerdings auch, dass das Vorkommen endemischer Arten kritisch gesehen werden muss. Für eine Reihe endemischer Peltulaceen sind bisher nur drei oder weniger Funde bekannt (*P. capensis*, *P. imbricata*, *P. langei*, *Phyllopetula steppae*, *Ph. corticola*, *Neoheppia brasiliensis*, *N. cataractae*). Der Begriff des Endemismus darf hier also nicht im strengen biogeographischen Sinne verstanden werden. Der aktuelle Kenntnisstand bezüglich der Verbreitung der Peltulaceae lässt nicht erkennen, ob Fernausbreitung ein plausibles Szenario für diese Flech-

tengruppe darstellt. Die indirekten Hinweise von den Marchantiales und Ricciales für Vikarianz können derzeit als ebenso plausibel angesehen werden. Zur Rekonstruktion der Ausbreitungsgeschichte einer Gruppe von Organismen und eine Entscheidung für eines der beiden Szenarien oder eine Mischform ist als Grundlage eine plausible phylogenetische Hypothese nötig (Ball 1975, Ronquist 1997). Diese Grundlage zu schaffen war das Ziel der molekularen Analysen, konnte jedoch infolge der unerwartet schwierigen Speziesabgrenzung zum jetzigen Zeitpunkt nicht verwirklicht werden.

#### 4.6 Fazit und Ausblick

Eines der Hauptziele dieser Arbeit – eine erste molekulare Phylogenie der Familie Peltulaceae und ihrer Gattungen und darauf aufbauend eine geographische Analyse zum Ursprung der Familie zu erstellen – konnte mit den gewonnenen Daten nicht erreicht werden. Zur Phylogenie der Peltulaceae existieren nun sechs verschiedene Hypothesen (inklusive der kombinierten Analyse sogar sieben). Nach der aktuellen Datenlage gibt es indes keine Möglichkeit festzustellen, welcher der präsentierten Genstammbäume den Stammbaum der Organismen widerspiegelt. Es gibt keinen Grund zu der Annahme, dass die phylogenetischen Analysemethoden zu falschen Rekonstruktionen der Phylogenese geführt haben. Es ist also davon auszugehen, dass sämtliche Stammbäume die evolutive Historie der Gene korrekt wiedergeben. Die Plausibilität der kombinierten Analyse aller Gene lässt sich nicht mit für die Peltulaceae verfügbaren Daten aus anderen Quellen prüfen (siehe 3.6 *Mapping*). Die massiven topologischen Inkongruenzen zwischen Stammbäumen aus den Analysen verschiedener molekularer Loci deuten auf Rekombinationsprozesse hin – wie sie z. B. für die mtSSU des Basidiomyceten *Armillaria gallica* gezeigt ist (Saville et al. 1998) –, so dass es sich bei den meisten umschriebenen Morphotaxa wahrscheinlich nicht um reproduktiv isolierte Einheiten (phylogenetische Spezies, Taylor et al. 2000) handelt. Die Rekombinationsanalysen für die Peltulaceae zeigen allerdings keine eindeutigen Ergebnisse. Hier wäre es sicherlich hilfreich gewesen, eine höhere Zahl an Individuen einer Population einzubeziehen. Insgesamt geben die vorliegenden Ergebnisse Anlass zum Überdenken der morphologischen Speziesumgrenzung der Peltulaceae, und vorläufig sollten die Peltulaceae als Spezieskomplex aufgefasst werden (Grube & Kroken 2000), dessen Zahl an Mitgliedern und trennende Merkmale völlig offen sind. Die morphologische Plastizität der Peltulaceae könnte weitaus höher sein als bisher angenommen und die ans Wasserregime angepasste Wachstumsformvariabilität (Büdel 1999b, Büdel et al. 2000) noch weit übersteigen. Überdies erfolgt im Allgemeinen das Auftreten trennender morphologischer Merkmale nach der genetischen Isolation zweier Spezies, so dass erst kürzlich getrennte Spezies noch viele morphologische Gemeinsamkeiten aufweisen. Das heißt, ein bestimmter Morphotyp ist nicht notwendigerweise mit einem bestimmten Genotyp korreliert. Dies zeigten z. B. Palice & Printzen (2004) für *Trapeliopsis glaucolepidea*. Morphologisch gleiche Individuen wiesen verschiedene ITS-Haplotypen auf, während derselbe ITS-Haplotyp bei morphologisch unterscheidbaren Individuen vorkommen

konnte. Das morphologische Spezieskonzept an sich ist jedoch nicht in Frage zu stellen. Gibt es auch einige Beispiele für kryptische oder fragwürdige morphologische Spezies – z. B. Crespo et al. (2002) für *Parmelia saxatilis*, Högnabba (2006) für die Gattung *Stereocaulon* oder auch Kausserud et al. (2006) für den Basidiomyceten *Serpula himantioides* –, so haben sich auch einige morphologische Umschreibungen mittels genetischer Daten bestätigen lassen, wie für die Gattung *Protoblastenia* (Kainz & Rambold 2004) und für zwei *Parmotrema*-Spezies (Divakar et al. 2005).

Zukünftige Untersuchungen sollten sich zunächst mit der Frage der Individualität von Peltulaceen-Thalli auseinandersetzen. Die hier präsentierten vorläufigen Ergebnisse zur genetischen Identität einzelner Thallusschuppen (siehe 3.10 *ITS- und RPB2/7-11-Sequenzen aus einzelnen Thallusschuppen*) zeigen vereinzelte Sequenzabweichungen. Solange über die Entstehung der Komposit-Thalli der Peltulaceae nicht mehr Daten vorliegen, kann nicht entschieden werden, ob intrathalline genetische Variation auftreten kann, oder ob es sich um – genetisch eng verwandte – Individuen derselben Population handelt. Für die wünschenswerten, zunächst kleinräumigen populationsgenetischen Studien, wären höher auflösende Marker wie AFLP (Vos et al. 1995, Lee et al. 2004), Mikrosatelliten (Walser et al. 2003) oder eventuell auch RAPDs (Dyer et al. 2001) geeignet. Wenn in puncto Individualität hinreichendes Wissen erworben worden ist, können Populationen morphologisch identischer Individuen weltweit analysiert werden. Idealerweise ist dabei die bekannte geographische Verbreitung repräsentiert. Hier ließe sich dann gegebenenfalls das Potenzial der morphologischen Plastizität der Peltulaceen abschätzen beziehungsweise die Anpassungsfähigkeit genetisch verschiedener Organismen an ähnliche Mikrohabitate. Außerdem könnten zur Untersuchung einer denkbaren Fernausbreitung interkontinentale Genflüsse bestimmt werden. Zur Absicherung molekularer Daten wäre es ferner nützlich, bestätigende Merkmale der derzeit umschriebenen Morphospezies zu besitzen. Hier wäre möglicherweise der ultrastrukturellen Bereich von Interesse. Ist eine Speziesabgrenzung der Peltulaceae gelungen, kann man sich schließlich erneut der Frage nach der Evolution innerhalb der Familie und der Hypothese des gondwanischen Ursprungs zuwenden.



## 5 Zusammenfassung

Die Peltulaceae sind eine flechtenbildende Ascomycetenfamilie, die derzeit 43 morphologisch umschriebene Spezies in drei Gattungen umfasst. Systematisch gehören sie in die Ordnung Lichinales (Lichinomycetes, Pezizomycotina), ihre genaue Stellung im System der Ascomyceten ist unbekannt. Die Familie lebt exklusiv mit Cyanobakterien in Symbiose und besiedelt weltweit aride und semi-aride Habitate. Die aktuell bekannte Verbreitung zeigt Ähnlichkeiten zu derjenigen xerophytischer Moospflanzen, für die ein gondwanischer Ursprung angenommen wird. Außerdem besiedeln mehr Peltulaceen-Spezies die ehemaligen Gondwanakontinente (Afrika, Südamerika, Australien, Indien) als die übrigen, laurasischen Kontinente (Nordamerika, Europa, Asien); der Sörensen-Koeffizient für die Florenähnlichkeit beträgt 0,697. Die Hypothese, dass die Peltulaceae gondwanischen Ursprungs sind, sollte mit Hilfe einer phylogenetischen Analyse der Familie geklärt werden, indem durch darauf aufbauende geographische Analysen das Ursprungsareal auf kontinentalem Niveau identifiziert wird. Mit Hilfe des morphologischen Merkmalskomplexes ließ sich keine aufgelöste Phylogeniehypothese erstellen. Da die geographischen Analysen eine voll aufgelöste Phylogenie erfordern, wurden sechs molekulare Marker ausgewählt (nucSSU, nuLSU, mtSSU, ITS, *RPB2/7-11*,  $\beta$ -*Tubulin*) und zunächst für je einen Vertreter von 37 der 43 umschriebenen Morphotaxa sequenziert. Die resultierenden Stammbäume der ML- und Bayes'schen Analysen waren unterschiedlich gut aufgelöst und untereinander dergestalt inkompatibel, dass unterschiedliche monophyletische Beziehungen unterstützt wurden. Außerdem wies das  $\beta$ -*Tubulin*-Gen eine paraloge Kopie auf. Durch Kompatibilitätstests ließen sich keine Teilmengen kongruenter Daten feststellen. Die dennoch durchgeführte kombinierte Analyse aller sechs Marker war vom phylogenetischen Signal des *RPB2/7-11*-Gens dominiert und ließ sich nicht durch geographische, morphologisch-anatomische oder ökologische Merkmale bestätigen. Zwei verschiedene Methoden zur Detektion von Rekombination ergaben nicht-übereinstimmende Signale nur in der nuLSU beziehungsweise in allen Markern außer der ITS. Von den Genen ITS und *RPB2/7-11* wurden zusätzlich Sequenzen weiterer Peltulaceae-Individuen erzeugt und ML- und Bayes'sche Analysen durchgeführt, in der die Vertreter von zwölf Morphospezies keine monophyletischen Einheiten bildeten. Die Suche nach phylogenetischen Spezies mittels der Konsensusmethode zeigte lediglich eine nicht-terminale Gruppierung unterschiedlicher Morphotaxa: die Vereinigung dreier durch eine peltate Wuchsform charakterisierte Spezies. Dieses Merkmal besitzen jedoch auch andere, in dieser Gruppierung nicht eingeschlossene Spezies. Die Monophylie der Peltulaceae wurde mit molekularen Daten bestätigt, die Stellung im System der Ascomyceten konnte jedoch nicht geklärt werden. Die Existenz der Gattungen *Neoheppia* und *Phyllopeltula* konnte mittels molekularer Marker nicht bestätigt werden. Sie werden als taxonomische Konsequenz mit dem älteren Gattungsnamen *Peltula* synonymisiert, womit die Familie monogenerisch wird. Die vorhandenen Inkongruenzen zwischen den molekularen Markern deuten auf genetisch nicht isolierte Taxa hin. Die Peltulaceae werden nun

als ein Spezieskomplex mit bisher ungeklärter Spezieszahl gedeutet. Die morphologische Speziesumschreibung bedarf einer Neubewertung, da sie sich größtenteils nicht mit molekularen Daten bestätigen ließ. Die Klärung der Ausgangsfrage nach dem geographischen Ursprung der Peltulaceae muss die Überarbeitung der Speziesabgrenzungen abwarten.

## 6 Literatur

### 6.1 Zitierte Literatur

Alfaro, M. E., S. Zoller, and F. M. Lutzoni. 2003. Bayes or Bootstrap? A simulation study comparing the performance of Bayesian Markov Chain Monte Carlo sampling and Bootstrapping in assessing phylogenetic confidence. *Mol. Biol. Evol.* 20: 255-266.

Altschul, S. F., T. L. Madden, A. A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, and D. J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402.

Archibald, J. M., and A. J. Roger. 2002. Gene conversion and the evolution of euryarchaeal chaperonins: A Maximum Likelihood-based method for detecting conflicting phylogenetic signals. *J. Mol. Evol.* 55: 232-245.

Arendholz, D. 2005. Morphologische Verwandtschaftsanalyse der Cyanolichenenfamilie Peltulaceae. Staatsexamensarbeit. Technische Universität Kaiserslautern.

Armaleo, D., and P. Clerc. 1991. Lichen chimeras: DNA analysis suggests that one fungus forms two morphotypes. *Exp. Mycol.* 15: 1-10.

Armstrong, R. A. 1980. Field experiments on the dispersal, establishment and colonization of lichens on a slate rock surface. *Environ. Exp. Bot.* 21: 115-120.

Bailey, R. H., and P. W. James. 1979. Birds and the dispersal of lichen propagules. *Lichenologist.* 11: 105-106.

Ball, I. R. 1975. Nature and formulation of biogeographical hypotheses. *Syst. Zool.* 24: 407-430.

Becker, U. 2002. Flechtenflora und Flechtenvegetation tropischer Inselberge am Beispiel Zimbabwes. Dissertation. Universität Köln.

Bhattacharya, D., T. Friedl, and G. Helms. 2002. Vertical evolution and intragenic spread of lichen-fungal group I introns. *J. Mol. Evol.* 55: 74-84.

Bhattacharya, D., F. M. Lutzoni, V. Reeb, D. Simon, J. Nason, and F. Fernandez. 2000. Widespread occurrence of spliceosomal introns in the rDNA genes of ascomycetes. *Mol. Biol. Evol.* 17: 1971-1984.

Bremer, K. 1992. Ancestral areas: A cladistic reinterpretation of the center of origin concept. *Syst. Biol.* 41: 436-445.

Bridge, P. D., and D. L. Hawksworth. 1998. What molecular biology has to tell us at the species level in lichenized fungi. *Lichenologist*. 30: 307-320.

Bubrick, P., and M. Galun. 1984. Cyanobiont diversity in the Lichinaceae and Heppiaceae. *Lichenologist*. 16: 279-287.

Büdel, B. 1987a. Zur Biologie und Systematik der Flechtengattungen *Heppia* und *Peltula* im südlichen Afrika. *Bibliotheca Lichenologica* 23. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Büdel, B. 1987b. Taxonomy and biology of the lichen genus *Peltula* Nyl. Pp. 209-217 in E. Peveling, ed. *Bibliotheca Lichenologica* 25 – Progress and problems in lichenology in the eighties. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Büdel, B. 1990. Anatomical adaptations to the semiarid/arid environment in the lichen genus *Peltula*. Pp. 47-61 in H. M. Jahns, ed. *Bibliotheca Lichenologica* 38 – Contributions to Lichenology. In honour of A. Henssen. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Büdel, B. 1991. Rock inhabiting blue-green algae/cyanobacteria from hot arid regions. *Algol. Stud.* 64: 385-398.

Büdel, B. 1995. The lichen genus *Neoheppia*. *Mycotaxon*. 54: 137-145.

Büdel, B. 1999a. Ecology and diversity of rock-inhabiting cyanobacteria in tropical regions. *Eur. J. Phycol.* 34: 361-370.

Büdel, B. 1999b. Wuchsform und Photosyntheseparameter: Zur Regulation der Kryptogamenbesiedlung tropischer Inselbergoberflächen. *Bielefelder Ökol. Beitr.* 14: 134-143.

Büdel, B., and J. A. Elix. 1997. *Peltula langei* Büdel et Elix spec. nov. from Australia with remarks on its chemistry and the ascoma of *Peltula clavata* (Krempelsh.) Wetm. Pp. 3-9 in L. Kappen, ed. *Bibliotheca Lichenologica* 67 – New species and novel aspects in ecology and physiology of lichens. In honour of O. L. Lange.

Büdel, B., and O. L. Lange. 1994. The role of cortical and epinecral layers in the lichen genus *Peltula*. *Crypt Bot.* 4: 262-269.

Büdel, B., U. Becker, G. Follmann, and K. Sterflinger. 2000. Algae, fungi, and lichens. Pp. 69-90 in S. Porembski, and W. Barthlott, eds. *Ecological Studies* 146: Vegetation of inselbergs. Biotic diversity of a tropical ecosystem.

- Büdel, B., U. Becker, S. Porembski, and W. Barthlott. 1997. Cyanobacteria and cyanobacterial lichens from inselbergs of the Ivory Coast, Africa. *Bot. Acta.* 110: 458-465.
- Büdel, B., U. Karsten, and F. Garcia-Pichel. 1997. Ultraviolet-absorbing scytonemin and myosporin-like amino acid derivatives in exposed, rock-inhabiting cyanobacterial lichens. *Oecologia.* 112: 165-172.
- Bull, J. J., J. P. Huelsenbeck, C. W. Cunningham, D. L. Swofford, and P. J. Waddell. 1993. Partitioning and combining data in phylogenetic analysis. *Syst. Biol.* 42: 384-397.
- Burke, J. M., M. Belfort, T. R. Cech, R. W. Davies, R. J. Schweyen, D. A. Shub, J. W. Szostak, and H. F. Tabak. 1987. Structural conventions for group I introns. *Nucleic Acids Res.* 15: 7217-7221.
- Buschbom, J., and G. Mueller. 2004. Resolving evolutionary relationships in the lichen-forming genus *Porpidia* and related allies (Porpidiaceae, Ascomycota). *Mol. Phylogenet. Evol.* 32: 66-82.
- Cech, T. R. 1988. Conserved sequences and structures of group I introns: building an active site for RNA catalysis – a review. *Gene.* 73: 259-271.
- Crespo, A., M. C. Molina, O. Blanco, B. Schroeter, L. G. Sancho, and D. L. Hawksworth. 2002. rDNA ITS and  $\beta$ -*tubulin* gene sequence analyses reveal two monophyletic groups within the cosmopolitan lichen *Parmelia saxatilis*. *Mycol. Res.* 106: 788-795.
- Cunningham, C. W. 1997. Is congruence between data partitions a reliable predictor of phylogenetic accuracy? Empirically testing an iterative procedure for choosing among phylogenetic methods. *Syst. Biol.* 46: 464-478.
- DePriest, P. T. 1993. Small subunit rDNA variation in a population of lichen fungi due to optional group I introns. *Gene.* 134: 67-74.
- DePriest, P. T., and M. Been. 1992. Numerous group I introns in the ribosomal DNA of a lichen fungus. *J. Mol. Biol.* 228: 315-321.
- Divakar, P. K., O. Blanco, D. L. Hawksworth, and A. Crespo. 2005. Molecular phylogenetic studies on the *Parmotrema reticulatum* (syn. *Rimelia reticulata*) complex, including the confirmation of *P. pseudoreticulatum* as distinct species. *Lichenologist.* 37: 55-65.

- Donoghue, M. J. 1985. A critique of the biological species concept and recommendations for a phylogenetic alternative. *Bryologist*. 88: 172-181.
- Dyer, P. S., G. J. Murtagh, and P. D. Crittenden. 2001. Use of RAPD-PCR DNA fingerprinting and vegetative incompatibility tests to investigate genetic variation within lichen-forming fungi. *Symbiosis*. 31: 213-229.
- Dykhuisen, D. E., and L. Green. 1991. Recombination in *Escherichia coli* and the definition of biological species. *J. Bacteriol.* 173: 7257-7268.
- Egea, J. M. 1989. Los géneros *Heppia* y *Peltula* (Líquenes) en Europa Occidental y Norte de Africa. *Bibliotheca Lichenologica* 31. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.
- Eldridge, D. J. 1996. Dispersal of microphytes by water erosion in an australian semi-arid woodland. *Lichenologist*. 28: 97-100.
- Eriksson, O. E. (ed.). 2006. Outline of Ascomycota. *Myconet* 12: 1-82. [www.fieldmuseum.org/myconet/outline.asp](http://www.fieldmuseum.org/myconet/outline.asp)
- Felsenstein, J. 2004. *Inferring phylogenies*. Sinauer Assoc., Sunderland, MA, USA.
- Frey, W. 1990. Genoelemente prä-angiospermen Ursprungs bei Bryophyten. *Bot. Jahrb. Syst.* 111: 433-456.
- Frey, W., and H. Kürschner. 1988. Bryophytes of the Arabian Peninsula and Socotra. Floristics, phytogeography and definition of the xerothermic pangaeian element. *Studies in arabian bryophytes* 12. *Nova Hedwigia*. 46: 37-120.
- Gargas, A., P. T. DePriest, and J. W. Taylor. 1995. Positions of multiple insertions in SSU rDNA of lichen-forming fungi. *Mol. Biol. Evol.* 12: 208-218.
- Gargas, A., and J. W. Taylor. 1992. Polymerase chain reaction (PCR) primers for amplifying and sequencing 18S rDNA from lichenized fungi. *Mycologia* 84: 589-592.
- Gascuel, O. 1997. BioNJ: An improved version of the NJ algorithm based on a simple model of sequence data. *Mol. Biol. Evol.* 14: 685-695.
- Geiser, D. M., J. I. Pitt, and J. W. Taylor. 1998. Cryptic speciation and recombination in the aflatoxin-producing fungus *Aspergillus flavus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 95: 388-393.
- Glass, N. L., and G. C. Donaldson. 1995. Development of primer sets designed for use with PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1323-1330.

- Goldman, N., and Z. Yang. 1994. A codon-based model of nucleotide substitution for protein-coding DNA sequences. *Mol. Biol. Evol.* 11: 725-736.
- Grube, M., and S. Kroken. 2000. Molecular approaches and the concept of species and species complexes in lichenized fungi. *Mycol. Res.* 104: 1284-1294.
- Guindon, S., and O. Gascuel. 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Syst. Biol.* 52: 696-704.
- Gyelnik, V. K. 1935. De familia Heppiaceareum. *Fedde Rep.* 38: 153-157, 303-313.
- Hafellner, J. 1987. Principles of classification and main taxonomic groups. Pp. 41-52 in M. Galun, ed. *Handbook of Lichenology*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41: 95-98.
- Harmata, K., and M. Olech. 1991. Transect for aerobiological studies from Antarctica to Poland. *Grana.* 30: 458-463.
- Henssen, A., and H. M. Jahns. 1973. *Lichenes. Eine Einführung in die Flechtenkunde*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Herrera-Campos, M. A., P. Clerc, and T. H. Nash III. 1998. Pendulous species of *Usnea* from the temperate forests in Mexico. *Bryologist.* 101: 303-329.
- Hestmark, G. 1992. Sex, size, competition and escape – strategies of reproduction and dispersal in *Lasallia pustulata* (Umbilicariaceae, Ascomycetes). *Oecologia.* 92: 305-312.
- Hillis, D. M., and J. J. Bull. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Syst. Biol.* 42: 182-192.
- Hillis, D. M., and M. T. Dixon. 1991. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *Quart. Rev. Biol.* 66: 411-453.
- Högnabba, F. 2006. Molecular phylogeny of the genus *Stereocaulon* (Stereocaulaceae, lichenized Ascomycota). *Mycol. Res.* 110:1080-1092.
- Honegger, R. 1998. The lichen symbiosis – what is so spectacular about it? *Lichenologist.* 30: 193-212.
- Huelsenbeck, J. P., J. J. Bull, and C. W. Cunningham. 1996. Combining data in phylogenetic analysis. *Tree.* 11: 152-158.

- Huelsenbeck, J. P., and K. A. Crandall. 1997. Phylogeny estimation and hypothesis testing using Maximum Likelihood. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28: 437-466.
- Huelsenbeck, J. P., B. Larget, R. E. Miller, and F. Ronquist. 2002. Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny. *Syst. Biol.* 51: 673-688.
- Huelsenbeck, J. P., and F. Ronquist. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics.* 17: 754-755.
- Ihlen, P. G., and S. Ekman. 2002. Outline of phylogeny and character evolution in *Rhizocarpon* (Rhizocarpaceae, lichenized Ascomycota) based on nuclear ITS and mitochondrial SSU ribosomal DNA sequences. *Biol. J. Linn. Soc.* 77: 535-546.
- James, P. W., and A. Henssen. 1976. Pp. 27-77. The morphological and taxonomical significance of cephalodia. in D. H. Brown, D. L. Hawksworth, and R. H. Bailey, eds. *Lichenology: Progress and Problems*. Academic Press, London.
- Kärnefelt, E. I., and A. Thell. 1994. Sexual reproduction characters vs. morphological characters in lichen genera. *J. Hattori Bot. Lab.* 76: 207-219.
- Kainz, C., and G. Rambold. 2004. A phylogenetic study of the lichen genus *Protoblastenia* (Lecanorales, Psoraceae) in Central Europe. Pp. 267-299 in P. Döbblers and G. Rambold, eds. *Bibliotheca Lichenologica 88 – Contributions to Lichenology. Festschrift in honour of Hannes Hertel*. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.
- Kalb, K. 2001. New or otherwise interesting lichens – I. Pp. 141-167 in P. M. McCarthy, G. Kantvilas, and S. H. J. J. Louwhoff, eds. *Bibliotheca Lichenologica 78 – Lichenological Contributions in Honour of Jack Elix*. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.
- Karplus, K., C. Barrett, and R. Hughey. 1998. Hidden Markov Models for Detecting Remote Protein Homologies. *Bioinformatics.* 14: 846-856.
- Kauff, F., and F. M. Lutzoni. 2002. Phylogeny of the Gyalectales and Ostropales (Ascomycota, Fungi): Among and within order relationships based on nuclear ribosomal RNA small and large subunits. *Mol. Phylogenet. Evol.* 25: 138-156.
- Keeling, P. J., M. A. Luker, and J. D. Palmer. 2000. Evidence from the beta-tubulin phylogeny that Microsporidia evolved from within the Fungi. *Mol. Biol. Evol.* 17: 23-31.
- Komárek J., and K. Anagnostidis. 1999. Cyanoprokaryota, 1. Teil Chroococcales. Band 19/1. H. Ettl, G. Gärtner, H. Heynig, D. Mollenhauer, eds. *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Gustav Fischer Verlag. Jena, Stuttgart, Lübeck, Ulm.



- Kroken, S., and J. W. Taylor. 2001. A gene genealogical approach to recognize phylogenetic species boundaries in the lichenized fungus *Letharia*. *Mycologia*. 93: 38-53.
- Lambowitz, A. M., and M. Belfort. 1993. Introns as mobile genetic elements. *Annu. Rev. Biochem.* 62: 587-622.
- Landvik, S., O. E. Eriksson, and M. L. Berbee. 2001. *Neolecta* – a fungal dinosaur? Evidence from  $\beta$ -tubulin amino acid sequences. *Mycologia*. 93: 1151-1163.
- Lee, C.-Z., G.-Y. Liou, and G.-F. Yuan. 2004. Comparison of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus oryzae* by amplified fragment length polymorphism. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45: 61-68.
- Letrouit-Galinou, M. A., and J. Asta. 1994. Thallus morphogenesis in some lichens. *Crypt. Bot.* 4:274-282.
- Lewis, P. O. 2001. Phylogenetic systematics turns over a new leaf. *Trends Ecol. Evol.* 16: 30-37.
- Liu, Y. J., S. Whelen, and B. D. Hall. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: Evidence from an RNA polymerase II subunit. *Mol. Biol. Evol.* 16: 1799-1808.
- Liu, Z.-L., D. Zhang, X.-Q. Wang, X.-F. Ma, and X.-R. Wang. 2003. Intra-genomic and interspecific 5S rDNA sequence variation in five asian pines. *Am. J. Bot.* 90: 17-24.
- Lopez, P. J., and B. Séraphin. 1999. Genomic-scale quantitative analysis of yeast pre-mRNA splicing: Implications for splice-site recognition. *RNA* 5: 1135-1137.
- Lutzoni, F. M., M. Pagel, and V. Reeb. 2001. Major fungal lineages are derived from lichen symbiotic ancestors. *Nature*. 411: 937-940.
- Lutzoni, F. M., F. Kauff, C. J. Cox, D. McLaughlin, G. Celio, B. Dentinger, M. Padamsee, D. S. Hibbett, T. Y. James, E. Baloch, M. Grube, V. Reeb, V. Hofstetter, C. Schoch, A. E. Arnold, J. Miadlikowska, J. Spatafora, D. Johnson, S. Hambleton, M. Crockett, R. Shoemaker, G.-H. Sung, R. Lücking, H. T. Lumbsch, K. O'Donnell, M. Binder, P. Diederich, D. Ertz, C. Gueidan, K. Hansen, R. C. Harris, K. Hosaka, Y.-W. Lim, B. Matheny, H. Nishida, D. Pfister, J. Rogers, A. Rossmann, I. Schmitt, H. Sipman, J. Stone, J. Sugiyama, R. Yahr, and R. Vilgalys. 2004. Assembling the fungal tree of life: Progress, classification, and evolution of subcellular traits. *Am. J. Bot.* 91: 1446-1480.
- Maddison, W. P., and D. R. Maddison. 2005. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 1.06. <http://mesquiteproject.org>

- Magnusson, A. H. 1955. A catalogue of the Hawaiian lichens. *Arkiv för Botanik*. 3: 223-402.
- Marshall, W. A. 1996. Aerial dispersal of lichen soredia in the maritime Antarctic. *New Phytol.* 134: 523-530.
- May, G. S., M.-S. Tsang, H. Smith, S. Fidel, and N. R. Morris. 1987. *Aspergillus nidulans*  $\beta$ -tubulin genes are usually divergent. *Gene*. 55: 231-243.
- Médigue, C., T. Rouxel, P. Vigier, A. Hénaut, and A. Danchin. 1991. Evidence for horizontal gene transfer in *Escherichia coli* speciation. *J. Mol. Biol.* 222: 851-856.
- Miadlikowska, J., F. Kauff, V. Hofstetter, E. Fraker, M. Grube, V. Reeb, G. Hestmark, B. Hodkinson, M. Kukwa, M. Garcia Ojalora, A. Rauhut, C. Scheidegger, E. Timdal, S. Stenroos, I. Brodo, D. Ertz, P. Diederich, R. Lücking, J. C. Lendemer, E. Tripp, R. Yahr, P. May, G. Perlmutter, D. M. Hillis, W. R. Buck, C. Gueidan, A. E. Arnold, I. Martinez, C. Robertson, J. Hafellner, and F. M. Lutzoni. 2006. New insights from nuclear ribosomal and protein coding genes into classification and evolution of the Lecanoromycetes (Pezizomycotina, Ascomycota). *Mycologia* (in Druck).
- Miller, A. N., and S. M. Huhndorf. 2005. Multi-gene phylogenies indicate ascomal wall morphology is a better predictor of phylogenetic relationships than ascospore morphology in the Sordariales (Ascomycota, Fungi). *Mol. Phylogenet. Evol.* 35: 60-75.
- Muir, G., and 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. in E. M. Gillet, ed. Which DNA marker for which purpose? Final compendium of the research project *Development, optimization and validation of molecular tools for assessment of biodiversity in forest trees* in the European Union DGXII Biotechnology FW IV Research Programme *Molecular Tools for Biodiversity*. <http://webdoc.sub.gwdg.de/ebook/y/1999/whichmarker/index.htm>
- Muñoz, J., Á. M. Felicísimo, F. Cabezas, A. R. Burgaz, and I. Martínez. 2004. Wind as long-distance dispersal vehicle in the southern hemisphere. *Science*. 304: 1144-1147.
- Muse, S. V. 1995. Evolutionary analyses of DNA sequences subject to constraints on secondary structure. *Genetics* 139: 1429-1439.
- Muse, S. V., and B. S. Gaut. 1994. A likelihood approach for comparing synonymous and nonsynonymous substitution rates, with application to the chloroplast genome. *Mol. Biol. Evol.* 11: 715-724.

- Myllys, L., K. Lohtander, and A. Tehler 2001.  $\beta$ -tubulin, ITS and group I intron sequences challenge the species pair concept in *Physcia aipolia* and *P. caesia*. *Mycologia*. 93: 335-343.
- Myllys, L., S. Stenroos, A. Thell, and T. Ahti. 2003. Phylogeny of bipolar *Cladonia arbuscula* and *Cladonia mitis* (Lecanorales, Euascomycetes). *Mol. Phylogenet. Evol.* 27: 58-69.
- Nylander, W. 1853. Lichenes Algerienses Novi. *Ann. Sci. Nat. Bot. Ser.* 3. 20: 341-320.
- O'Donnell, K., and E. Cigelnik. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Mol. Phylogenet. Evol.* 7: 103-117.
- Oxelman, B., and B. Bremer. 2000. Discovery of paralogous nuclear gene sequences coding for the second-largest subunit of RNA polymerase II (*RPB2*) and their phylogenetic utility in Gentianales of the Asterids. *Mol. Biol. Evol.* 17: 1131-1145.
- Palice, Z., and C. Printzen. 2004. Genetic variability in tropical and temperate populations of *Trapeliopsis glaucolepidea*: Evidence against long-range dispersal in a lichen with disjunct distribution. *Mycotaxon*. 90:43-54.
- Panaccione, D. G., and R. M. Hanau. 1990. Characterization of two divergent  $\beta$ -tubulin genes from *Colletotrichum graminicola*. *Gene*. 86: 163-170.
- Pfeil, B. E., C. L. Brubaker, L. A. Craven, and M. D. Crisp. 2004. Paralogy and orthology in the Malvaceae *rpb2* gene family: Investigation of gene duplication in *Hibiscus*. *Mol. Biol. Evol.* 21: 1428-1437.
- Posada, D., and K. A. Crandall. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*. 14: 917-818.
- Purvis, O. W. 1997. The species concept in lichens. Pp. 109-134 in M. F. Claridge, H. A. Dawah, and M. R. Wilson, eds. *Species: The units of biodiversity*. Chapman & Hall.
- Rambaut, A. and Grassly, N. C. (1997) Seq-Gen: An application for the Monte Carlo simulation of DNA sequence evolution along phylogenetic trees. *Comput. Appl. Biosci.* 13: 235-238.
- Rauhut, A., F. M. Lutzoni, F. Kauff, M. Schultz, V. Hofstetter, and B. Büdel. (in prep.). Molecular data from six loci questions the morphological species circumscription of the Peltulaceae (Lichinomycetes, Ascomycota).

- Reeb, V., F. M. Lutzoni, and C. Roux. 2004. Contribution of *RPB2* to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. *Mol. Phylogenet. Evol.* 32: 1036-1060.
- Rehner, S. A, and G. J. Samuels. 1994. Taxonomy and phylogeny of *Gliocladium* analyzed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Mycol. Res.* 98: 625-634.
- Rohel, E., Y. Couteaudier, B. Papierok, N. Cavelier, and C. A. Dedryver. 1997. Ribosomal internal transcribed spacer size variation correlated with RAPD-PCR pattern polymorphisms in the entomopathogenic fungus *Erynia neoaphidis* and some closely related species. *Mycol. Res.* 101: 573-579.
- Rokas, A., B. L. Williams, N. King, and S. B. Carroll. 2003. Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies. *Nature.* 425: 798-804.
- Ronquist, F. 1996. DIVA 1.1 User's Manual. Uppsala Universität, Abteilung Zoologie, Uppsala, Schweden.
- Ronquist, F. 1997. Dispersal-vicariance analysis: A new approach to the quantification of historical biogeography. *Syst. Biol.* 46: 195-203.
- Rooney, A. P., and T. J. Ward. 2005. Evolution of large ribosomal RNA multigene family in filamentous fungi: Birth and death of a concerted evolution paradigm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102: 5084-5089.
- Sanders, W. B. 1994. Role of lichen rhizomorphs in thallus propagation and substrate colonization. *Crypt. Bot.* 4:283-289.
- Saville, B. J., Y. Kohli, and J. B. Anderson. 1998. mtDNA recombination in a natural population. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 95: 1331-1335.
- Sawyer, S. A. 1999. Geneconv: A computer package for the statistical detection of gene conversion. Distributed by the author. Dept. of Mathematics, Washington University in St. Louis. [www.math.wustl.edu/~sawyer/geneconv](http://www.math.wustl.edu/~sawyer/geneconv)
- Schultz, M. 2000. Stammesgeschichte der Lichinaceae: Studien in Richtung einer natürlichen Gliederung der Familie und ihrer Gattungen. Dissertation. Technische Universität Kaiserslautern.
- Schultz, M., W.-R. Arendholz, and B. Büdel. 2001. Origin and evolution of the lichenized Ascomycete order Lichinales: Monophyly and systematic relationships inferred from ascus, fruiting body and SSU rDNA evolution. *Plant. Biol.* 3: 116-123.

Schultz, M., and B. Büdel. 2003. On the systematic position of the lichen genus *Heppia*. *Lichenologist*. 35: 151-156.

Simmons, M. P., K. M. Pickett, and M. Miya. 2004. How meaningful are Bayesian support values? *Mol. Biol. Evol.* 21: 188-199.

Slocum, R. D., and J. D. Lawrey. 1976. Viability of the epizoic lichen flora carried and dispersed by green lacewing (*Nodita pavidata*) larvae. *Can. J. Bot.* 54: 1827-1831.

Smith, C. W. 1995. Notes on long-distance dispersal in Hawaiian lichens: Ascospore characters. *Crypt. Bot.* 5: 209-213.

Snelgar, W. P., and T. G. A. Green. 1981. Ecologically-linked variation in morphology, acetylene reduction, and water relations in *Pseudocyphellaria dissimilis*. *New Phytol.* 87: 403-411.

Sonnhammer, E. L. L., and E. V. Koonin. 2002. Orthology, paralogy and proposed classifications for paralog subtypes. *Trends Genet.* 18: 619-620.

Spatafora, J. W., T. G. Mitchell, and R. Vilgalys. 1995. Analysis of genes encoding for small-subunit rRNA sequences in studying phylogenetics of dematiaceous fungal pathogens. *J. Clin. Microbiol.* 33: 1322-1326.

Spatafora, J. W., G.-H. Sung, D. Johnson, B. O'Rourke, M. Serdani, R. Spotts, F. M. Lutzoni, V. Hofstetter, J. Miadlikowska, V. Reeb, C. Gueidan, E. Fraker, T. Lumbsch, R. Lücking, I. Schmitt, K. Hosaka, A. Aptroot, C. Roux, A. Miller, D. Geiser, J. Hafellner, G. Hestmark, A. E. Arnold, A. Rauhut, B. Büdel, D. Hewitt, W. A. Untereiner, M. S. Cole, C. Scheidegger, M. Schultz, H. Sipman, and C. Schoch. 2006. A five-gene phylogeny of Pezizomycotina. *Mycologia* (in Druck).

Strimmer, K., and A. von Haeseler. 1997. Likelihood-mapping: A simple method to visualize phylogenetic content of a sequence alignment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94: 6815-6819.

Struck, T. H., G. Purschke, and K. M. Halanych. 2006. Phylogeny of Eunicidia (Annelida) and exploring data congruence using a partition addition bootstrap alteration (PABA) approach. *Syst. Biol.* 55: 1-20.

Swofford D.L. 2002. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and other methods). Version 4. Sinauer Associates. MA, USA.

Taylor, D. J., and W. H. Piel. 2004. An assessment of accuracy, error, and conflict with support values from genome-scale phylogenetic data. *Mol. Biol. Evol.* 21: 1534-1537.

- Taylor, J. W., D. J. Jacobson, S. Kroken, T. Kasuga, D. M. Geiser, D. S. Hibbett, and M. C. Fisher. 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal Genet. Biol.* 31: 21-32.
- Taylor, T. N., H. Hass, W. Remy, and H. Kerp. 1995. The oldest fossil lichen. *Nature*. 378: 244.
- Taylor, T. N., H. Hass, and H. Kerp. 1997. A cyanolichen from the lower Devonian Rhyne chert. *Am. J. Bot.* 84: 992-1004.
- Taylor, T. N., H. Hass, and H. Kerp. 1999. The oldest fossil ascomycetes. *Nature*. 399: 648.
- Tehler, A. 1996. Systematics, phylogeny and classification. *in* T. H. Nash III, ed. *Lichen Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, England.
- Tibell, L. B. 1994. Distribution patterns and dispersal strategies of Caliciales. *Bot. J. Linn. Soc.* 116: 159-202.
- Tillier, E. R. M., and S. V. Muse. 1995. Neighbor joining and maximum likelihood with RNA sequences: Addressing the interdependence of sites. *Mol. Biol. Evol.* 12: 7-15.
- Tretiach, M., P. Crisafulli, E. Pittao, S. Rinino, E. Roccotiello, and P. Modenesi. 2005. Isidia ontogeny and its effect on the CO<sub>2</sub> gas exchange of the epiphytic lichen *Pseud-evernia furfuracea* (L.) Zopf. *Lichenologist*. 37: 445-462.
- Tsai, H.-F., J.-S. Liu, C. Staben, M. J. Christensen, G. C. M. Latch, M. R. Siegel, and C. L. Schardl. 1994. Evolutionary diversification of fungal endophytes of tall fescue grass by hybridization with *Epichloë* species. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 91: 2542-2546.
- Vainio, E. A. 1890. Etude sur la classification naturelle et la morphologie des lichens du Brésil I. *Acta Soc. Faun. Fenn.* 7: I-XXX, 1-247.
- Vilgalys, R., and M. Hester. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J. Bacteriol.* 172: 4238-4246.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407-4414.
- Walser, J.-C., C. Sperisen, M. Soliva, and C. Scheidegger. 2003. Fungus-specific microsatellite primers of lichens: Application for the assessment of genetic variation on different spatial scales in *Lobaria pulmonaria*. *Fungal Genet. Biol.* 40: 72-82.

Weber, W. A. 1962. Environmental modification and the taxonomy of the crustose lichens. *Svensk Bot. Tidskr.* 56: 294-333.

Wedin, M., H. Döring, and G. Gilenstam. 2004. Saprotrophy and lichenization as options for the same fungal species on different substrata: Environmental plasticity and fungal lifestyles in the *Stictis-Conotrema* complex. *New Phytol.* 164: 459-465.

Wetmore, C. M. 1970. The lichen family Heppiaceae in North America. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 57: 158-209.

White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 in M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, eds. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, Inc., New York.

Xia, X., and Z. Xie. 2001. DAMBE: Software package for data analysis in molecular biology and evolution. *J. Hered.* 92: 371-373.

Xia, X., Z. Xie, M. Salemi, L. Chen, and Y. Wang. 2003. An index of substitution saturation and its application. *Mol. Phylogenet. Evol.* 26: 1-7.

Zahlbruckner, A. 1906. Lichenes (Flechten). B. Spezieller Teil. Pp. 49-249 in A. Engler, and K. Prantl, eds. *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. 1. Teil.

Zahlbruckner, A. 1926. Lichenes (Flechten). B. Spezieller Teil. Pp. 61-263 in A. Engler, and K. Prantl, eds. *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. Band 8.

Zhou, S., and G. R. Stanosz. 2001. Primers for amplification of mtSSU rDNA, and a phylogenetic study of *Botryosphaeria* and associated anamorphic fungi. *Mycol. Res.* 105: 1033-1044.

Zoller, S., C. Scheidegger, and C. Sperisen. 1999. PCR primers for the amplification of mitochondrial small subunit ribosomal DNA of lichen-forming ascomycetes. *Lichenologist*. 31: 511-516.

## 6.2 Literatur zur geographischen Verbreitung der Peltulaceae

Aptroot, A. 1998. New lichens and lichen records from Papua New Guinea, with the description of *Crustospathula*, a new genus in the Bacidiaceae. *Trop. Bryol.* 14: 25-34.

Aptroot, A., and M. R. D. Seaward. 1999. Annotated checklist of Hongkong lichens. *Trop. Bryol.* 17: 57-101.

- Bokhary, H. A., S. Parvez, and A. H. Abu-Zinada. 1993. Lichen flora from high altitude areas of Saudi Arabia. *Nova Hedwigia*. 56: 491-496.
- Breuss, O. 1988. Neue und bemerkenswerte Flechtenfunde aus Tenerife (Kanarische Inseln). *Linzer Biologische Beiträge*. 20: 829-845.
- Bricaud, O., C. Coste, D. LeCœur, M. Glenn, T. Ménard, and C. Roux. 1992. Champignons lichénisés et lichénicoles de la France méridionale: espèces nouvelles et intéressantes (VI). *Bull. Soc. Linn. Provence*. 43: 81-96.
- Büdel, B. 1987. Zur Biologie und Systematik der Flechtengattungen *Heppia* und *Peltula* im südlichen Afrika. *Bibliotheca Lichenologica* 23. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.
- Büdel, B. 1989. New localities for *Peltula rodriguesii*. *Lichenologist*. 21: 293.
- Büdel, B. 1995. The lichen genus *Neoheppia*. *Mycotaxon*. 54: 137-145.
- Büdel, B. 2001. Peltulaceae. Pp. 24-32 in P. M. McCarthy, ed. *Flora of Australia – Lichens* 3.
- Büdel, B., U. Becker, S. Porembski, and W. Barthlott. 1997. Cyanobacteria and cyanobacterial lichens from inselbergs of the Ivory Coast, Africa. *Bot. Acta*. 110: 458-465.
- Büdel, B., and J. A. Elix. 1997. *Peltula langei* Büdel et Elix spec. nov. from Australia with remarks on its chemistry and the ascoma of *Peltula clavata* (Krempelh.) Wetm. Pp. 3-9 in L. Kappen, ed. *Bibliotheca Lichenologica* 67 – New species and novel aspects in ecology and physiology of lichens. In honour of O. L. Lange.
- Büdel, B., J. A. Elix, and H. Streimann. 1993. Collections of the lichen genus *Peltula* from the Kimberleys, Western Australia – Additional lichen records for Australia 13. *Australas. Lichenol. Newsl.* 32: 11-15.
- Büdel, B., and A. Henssen. 1986. Zwei neue *Peltula*-Arten von Südafrika (Lichenes). *Int. J. Mycol. Lichenol.* 2: 235-249.
- Büdel, B., and B. Mies. 1993. Notes on Cape Verde Islands lichen flora, II – Heppiaceae and Peltulaceae (lichenized Ascomycotina). *Nova Hedwigia*. 56: 505-514.
- Büdel, B., and T. H. Nash III. 1993. A new species of *Peltula* from Sonoran Desert, Mexico. *Lichenologist*. 25: 279-287.



Büdel, B., and T. H. Nash III. 2002. *Peltula*. Pp. 331-340 in T. H. Nash III, B. D. Ryan, C. Gries, and F. Bungartz, eds. Lichen flora of the greater Sonoran Desert region. Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.

Büdel, B., A. Rauhut, and M. Schultz. 2006. *Peltula*. (in press) in T. H. Nash III, B. D. Ryan, C. Gries, and F. Bungartz, eds. Lichen flora of the greater Sonoran Desert region. 2nd volume. Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.

Büdel, B., and M. Schultz. 2003. A way to cope with high irradiance and drought: inverted morphology of a new cyanobacterial lichen, *Peltula inversa* sp. nova, from the Nama Karoo, Namibia. Pp. 225-232 in M. Jensen, ed. Bibliotheca Lichenologica 86 – Lichenological Contributions in Honour of G.B. Feige. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Buschardt, A. 1979. Zur Flechtenflora der inneralpinen Trockentäler unter besonderer Berücksichtigung des Vinschgaus. Bibliotheca Lichenologica 10. J. Cramer in der A. R. Gantner Verlag KG, Vaduz.

Egea, J. M. 1989. Los géneros *Heppia* y *Peltula* (Líquenes) en Europa Occidental y Norte de Africa. Bibliotheca Lichenologica 31. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Filson, R. B. 1988. The lichen genera *Heppia* and *Peltula* in Australia. *Muelleria*. 6: 495-517.

Fleig, M. 1995. Lichens from »Casa de Pedra« and surroundings, Bagé, Rio Grande do Sul, Brazil. Pp. 415-426 in F. J. A. Daniels, M. Schulz, and J. Peine, eds. Flechten Follmann. Contributions to lichenology in honour of Gerhard Follmann. Universität Köln, Botanisches Institut, Köln.

Galun, M., and A. Mukhtar. 1996. Checklist of the lichens of Israel. *Bocconea*. 6: 149-171.

Goward, T., P. Diederich, and R. Rosentreter. 1994. Notes on the lichens and allied fungi of British Columbia II. *Bryologist*. 97: 55-62.

Groenhart, P. 1954. Malaysian Lichens – IV. *Reinwardtia*. 2: 385-402.

Hebert, J. R., and R. W. Meyer. 1984. Lichens of the San Joaquin Experimental Range, California. *Bryologist*. 87: 251-254.

Hofmann, P., F. Berger, W. Obermayer, H. Wittmann, O. Breuss, and H. Sipman. 1998. Ergänzungen zur Flechtenflora der Ötztaler Alpen (Tirol, Österreich). *Ergebnisse der BLAM-Exkursion 1993*. *Herzogia*. 13: 155-164.

- Hofmann, P., H. Wittmann, R. Türk, and O. Breuss. 1993. Die Flechten und Flechtenparasiten von Osttirol (Österreich) – ein erster Überblick. *Herzogia*. 9: 837-879.
- Huneck, S., J. Poelt, T. Ahti, O. Vitikainen, and U. Cogt. 1987. Zur Verbreitung und Chemie der Flechten der Mongolischen Volksrepublik II. Ergebnisse der Mongolisch-Deutschen Biologischen Expeditionen seit 1962 Nr. 177. *Nova Hedwigia*. 44: 189-213.
- Kalb, K. 2001. New or otherwise interesting lichens – I. Pp. 141-167 *in* P. M. McCarthy, G. Kantvilas, and S. H. J. J. Louwhoff, eds. *Bibliotheca Lichenologica* 78 – Lichenological Contributions in Honour of Jack Elix. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.
- Kudratov, I., and H. Mayrhofer. 2002. Catalogue of the lichenized and lichenicolous fungi of Tajikistan. *Herzogia*. 15: 91-128.
- Magnusson, A. H. 1955. A catalogue of the Hawaiian lichens. *Arkiv för Botanik*. 3: 223-402.
- Magnusson, A. H. 1940. Lichens from Central Asia. Pp. 1-168 *in* Reports from the scientific expedition to the north-western provinces of China under the leadership of Dr. Sven Hedin – The Sino-Swedish Expedition. Stockholm.
- Makryi, T. V. 1987. Findings of three new and of one rare for the USSR lichen species of the genus *Peltula* in the Baikal region of Siberia. *Botaniceskij zurnal*. 72: 972-974.
- Makryi, T. V. 2004. Genus *Peltula* Nyl. of Baikalian Siberia (Abstract). The 5<sup>th</sup> symposium of the International Association for Lichenology (IAL) »Lichens in Focus« held in Tartu (Estonia) 16.-21. August. 72: 972-974
- Marton, K., and M. Galun. 1981. The cyanophilous lichen population of the ,Arava Valley and the Judean Desert (Israel). *Isr. J. Bot.* 30: 125-155.
- Nimis, P. L. 1993. *Peltula*. Pp. 502-504 *in* The lichens of Italy – An annotated catalogue. Museo Regionale di Scienze Naturali, Turin.
- Rauhut, A., and B. Büdel. (in Vorb.). New records from India of *Peltula* species (Peltulaceae, Lichinales, lichenized Ascomycota).
- Schultz, M., G. Brown, and B. Büdel. 2000. Cyanophilous lichens from Kuwait. *Nova Hedwigia*. 70: 193-216.

- Schultz, M., S. Porembski, and B. Büdel. 2000. Diversity of rock-inhabiting cyanobacterial lichens: Studies on granite inselbergs along the Orinoco and in Guyana. *Plant Biol.* 2: 482-495.
- Seine, R., U. Becker, S. Porembski, G. Follmann, and W. Barthlott. 1998. Vegetation of inselbergs in Zimbabwe. *Edinb. J. Bot.* 55: 267-293.
- Swinscow, T. D. V. 1982. The genera *Heppia* and *Peltula* in Tenerife. *Lichenologist.* 14: 76-83.
- Swinscow, T. D. V., and H. Krog. 1979. The lichen genera *Heppia* and *Peltula* in East Africa. *Norw. J. Bot.* 26: 213-224.
- Upreti, D. K., and B. Büdel. 1990. The lichen genera *Heppia* and *Peltula* in India. *J. Hattori Bot. Lab.* 68: 279-284.
- Vainio E. A. 1890. Etude sur la classification naturelle et la morphologie des lichens du Brésil. Universität Helsingfors. Helsingfors.
- Vainio, E. A. 1898. Lichenes a G. F. Scott-Elliot in viciniis montis Ruwenzori (0° 5' l. s.) in Africa centrali annis 1893-94 collecti. *Beibl. Hedwigia.* 37: 39-44.
- Wei J-C. 1991. An Enumeration of Lichens in China. International Academic Publishers, Beijing, 278 pp.
- Wetmore, C. M. 1970. The lichen family Heppiaceae in North America. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 57: 158-209.
- Wu, J., R. Kang, and A. Abbas. 1997. The lichen genera *Cyphelium* and *Pseudevernia* and lichen species *Peltula tortuosa* first recorded in China from Hanas of Xinjiang. *Arid Zone Res.* 14: 13-15.
- Yoshimura, I. 1974. New combinations adopted in »My Lichen Flora of Japan in Colour«. *Misc. Bryol. Lichenol.* 6: 135.
- Zahlbruckner, A. 1909. Lichenes. Pp. 85-211 in M.-N. K. Akademie der Wissenschaften, eds. *Ergebnisse der botanischen Expedition der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften nach Südbrasilien 1901, II. Band.* Wien.
- Zahlbruckner, A. 1930. Lichenes – Übersicht über sämtliche bisher aus China bekannten Flechten. P. 78 f. in H. Handel-Mazzetti, ed. *Symbolae Sinicae – Botanische Ergebnisse der Expedition der Akademie der Wissenschaften in Wien nach Südwest-China 1914/1918.* Julius Springer Verlag, Wien.

### 6.3 Literatur zum morphologisch-anatomischen Merkmalspektrum

Arendholz, D. 2005. Morphologische Verwandtschaftsanalyse der Cyanolichenenfamilie Peltulaceae. Staatsexamensarbeit. Technische Universität Kaiserslautern.

Awasthi, D. D. 1991. A key to the microlichens of India, Nepal and Sri Lanka. Bibliotheca Lichenologica 40. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Büdel, B. 1987. Zur Biologie und Systematik der Flechtengattungen *Heppia* und *Peltula* im südlichen Afrika. Bibliotheca Lichenologica 23. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Büdel, B. 1995. The lichen genus *Neoheppia*. Mycotaxon. 54: 137-145.

Büdel, B. 2001. Peltulaceae. Pp. 24-32 in P. M. McCarthy, ed. Flora of Australia – Lichens 3.

Büdel, B., and J. A. Elix. 1997. *Peltula langei* Büdel et Elix spec. nov. from Australia with remarks on its chemistry and the ascoma of *Peltula clavata* (Krempelh.) Wetm. Pp. 3-9 in L. Kappen, ed. Bibliotheca Lichenologica 67 – New species and novel aspects in ecology and physiology of lichens. In honour of O. L. Lange.

Büdel, B., and A. Henssen. 1986. Zwei neue *Peltula*-Arten von Südafrika (Lichenes). Int. J. Mycol. Lichenol. 2: 235-249.

Büdel, B., and O. L. Lange. 1994. The role of cortical and epinecral layers in the lichen genus *Peltula*. Crypt. Bot. 4: 262-269.

Büdel, B., and T. H. Nash III. 1993. A new species of *Peltula* from Sonoran Desert, Mexico. Lichenologist. 25: 279-287.

Büdel, B., and T. H. Nash III. 2002. *Peltula*. Pp. 331-340 in T. H. Nash III, B. D. Ryan, C. Gries, and F. Bungartz, eds. Lichen flora of the greater Sonoran Desert region. Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.

Büdel, B., and M. Schultz. 2003. A way to cope with high irradiance and drought: inverted morphology of a new cyanobacterial lichen, *Peltula inversa* sp. nova, from the Nama Karoo, Namibia. Pp. 225-232 in M. Jensen, ed. Bibliotheca Lichenologica 86 – Lichenological Contributions in Honour of G.B. Feige. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Egea, J. M. 1989. Los géneros *Heppia* y *Peltula* (Líquenes) en Europa Occidental y Norte de Africa. Bibliotheca Lichenologica 31. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Filson, R. B. 1988. The lichen genera *Heppia* and *Peltula* in Australia. *Muelleria* 6: 495-517.

Kalb, K. 2001. New or otherwise interesting lichens – I. Pp. 141-167 in P. M. McCarthy, G. Kantvilas, and S. H. J. J. Louwhoff, eds. *Bibliotheca Lichenologica* 78 – Lichenological Contributions in Honour of Jack Elix. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin, Stuttgart.

Magnusson, A. H. 1940. Lichens from Central Asia. Pp. 1-168 in Reports from the scientific expedition to the north-western provinces of China under the leadership of Dr. Sven Hedin – The Sino-Swedish Expedition. Stockholm.

Swinscow, T. D. V. 1982. The genera *Heppia* and *Peltula* in Tenerife. *Lichenologist*. 14: 76-83.

Swinscow, T. D. V., and H. Krog. 1979. The lichen genera *Heppia* and *Peltula* in East Africa. *Norw. J. Bot.* 26: 213-224.

Upreti, D. K., and B. Büdel. 1990. The lichen genera *Heppia* and *Peltula* in India. *J. Hattori Bot. Lab.* 68: 279-284.

Vainio, E. A. 1890. Etude sur la classification naturelle et la morphologie des lichens du Brésil. Universität Helsingfors. Helsingfors.

Vainio, E. A. 1898. Lichenes a G. F. Scott-Elliot in viciniis montis Ruwenzori (0° 5' l. s.) in Africa centrali annis 1893-94 collecti. *Beibl. Hedwigia.* 37: 39-44.

Wetmore, C. M. 1970. The lichen family Heppiaceae in North America. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 57: 158-209.



## 7 Anhang

### Für die Molekularbiologie extrahiertes Flechtenmaterial, wenn nicht anders angegeben aus B. Büdels Herbarium

1. *Peltula africana* 14118a • Südafrika, Limpopo Province, Pontdrif, Farm Breslau, Matlamakadi Fluss, Dam • 2229 AC/AA • offene, niedrige Buschsavanne, Sandsteinhügel, auf Sandstein, nordwestgeneigte Fläche, 640 m • Leg.: F. Venter (10513) • 13.2.1985
2. *Peltula africana* 14304b • Südafrika, Free State, Golden Gate Highlands National Park, Mt. Pierre-Gebiet • 28° 50' S/28° 45' E • nordexponierte Felshöhle (Hohlkranz) mit zahlreichen »Tintenstrichen«, an der Basis des Hohlkranzes, auf Fels in größeren Nischen, Clarens-Sandstein, 2050 m • Leg.: B. Büdel & D. Wessels • 28.11.1990
3. *Peltula auriculata* 20196c • Mexiko, Baja California Sur, Sierra de la Gigante at km post 70 • 25° 57' N/113° 30' W • Konglomerat, N-exponierte Wand, 360 m • Leg.: B. Büdel • 19.2.1993
4. *Peltula auriculata* 24901 • Venezuela, Territort Federal Amazonas, Depto. Atures Laja 1 km sur de Picatonal • 5° 44' N/67° 32' W • am unteren Rand einer Granitlamina • Leg.: A. Gröger • 18.4.1992
5. *Peltula auriculata* 24902 ISOTYPUS • Venezuela, Edo. Amazonas, Depto. Atures, carretera Pto. Ayacucho hacia Samariapo: km 14, 3 km al Este de la carretera: Piedra Pintada • 5° 32' N/67° 33' W • pendiente occidental • Leg.: A. Gröger • 20.12.1992
6. *Peltula bolanderi* 19154a • USA, Arizona, Santa Cruz County, Sycamore Canyon, Saisonfluss • NW-exponiert, an vertikaler Felsfläche unter leichtem Überhang, Konglomerat, 1200 m • Leg.: B. Büdel • 7.2.1993
7. *Peltula bolanderi* 20196e • Mexiko, Baja California Sur, Sierra de la Gigante at km post 70 • 25° 57' N/113° 30' W • Konglomerat, N-exponierte Wand, 360 m • Leg.: B. Büdel • 19.2.1993
8. *Peltula boletiformis* 14911a-1 • Südafrika, Limpopo Province, Granitinselberg an der R521, ca. 30 km südlich von Vivo • 23° 17' 19,8" S/29° 18' 51,2" E • geneigte Felsfläche mit zahlreichen Abflussrinnen, die dicht mit *P. umbilicata* bewachsen sind, 1042 m • Leg.: A. Rauhut • 27.9.2003
9. *Peltula boletiformis* 14343a • Südafrika, Limpopo Province, 28 km S von Vivo, Granitinselberg an der N521 • Granitinselberg, offene Felsflächen, Gipfelplateau, Rockpool, 820 m • Leg.: D. Mühlenhoff & B. Büdel • 26.11.1994

10. *Peltula capensis* 14382b-1 • Südafrika, Limpopo Province, Jack se Dam, Vhembe Nature Reserve, Grenze zu Botswana und Simbabwe • auf feuchtem Sandstein in Flussbett (Saisonfluss), 600 m • Leg.: B. Büdel • 1.12.1994
11. *Peltula capensis* 14382b-2 • Südafrika, Limpopo Province, Jack se Dam, Vhembe Nature Reserve, Grenze zu Botswana und Simbabwe • auf feuchtem Sandstein in Flussbett (Saisonfluss), 600 m • Leg.: B. Büdel • 1.12.1994
12. *Peltula clavata* 164 • Australien, Nordost-Queensland, Trinity Bay, Turtle Creek Beach, an der Küstenstraße Port Douglas-Cairns, 7 km nach Port Douglas • südöstlich geneigte, große Sandstein-Felsfläche, voll exponiert, in Sickerwasserstreifen • Leg.: B. Büdel & H. T. Lumbsch (18047a) • 17.8.1987 • Herbarium der Duke University, Durham, NC, USA (DUKE)
13. *Peltula clavata* 18047a • Australien, Nordost-Queensland, Trinity Bay, Turtle Creek Beach, an der Küstenstraße Port Douglas-Cairns, 7 km nach Port Douglas • südöstlich geneigte, große Sandstein-Felsfläche, voll exponiert, in Sickerwasserstreifen • Leg.: B. Büdel & H. T. Lumbsch • 17.8.1987
14. *Peltula congregata* 14909b-1 • Südafrika, Limpopo Province, Granitinselberg an der R521, ca. 30 km südlich von Vivo • 23° 17' 19,8" S/29° 18' 51,2" E • geneigte Felsfläche mit zahlreichen Abflussrinnen, die dicht mit *P. umbilicata* bewachsen sind, 1 010 m • Leg.: A. Rauhut • 27.9.2003
15. *Peltula congregata* 14452c • Südafrika, Limpopo Province, Farmgebiet Mutamba, ca. 40 km N von Louis Trichard • 22° 48' S/29° 53' E • Mopanesavanne, Sandsteininselberg, auf Fels am Rand eines Rockpools auf dem Gipfel des Inselberges, ca. 700 m • Leg.: D. Mühlenhoff & B. Büdel • 13.12.1994
16. *Peltula coriacea* 14922a-1 • Südafrika, Limpopo Province, Mutamba Ranch, ca. 10 km nördlich von Wyllie's Poort an der N1 • 22° 48' 0,6" S/29° 54' 7,8" E • Sandsteininselberg, 680 m • Leg.: A. Rauhut • 1.10.2003
17. *Peltula coriacea* 14500a-1 • Südafrika, Limpopo Province, Nordwesten, Vhembe-Dongola-Peace Park • Mapungubwe Siedlung, auf dem prähistorischen Siedlungsberg • Sandstein, 800 m • Leg.: B. Büdel • 24.8.2003
18. *Peltula crispatula* 21001a • Marokko, Anti-Atlas, Ini-el-Had-de-Tasguedelt • Leg.: Egea, Moreno & Alonso • 9.6.1987
19. *Peltula cylindrica* 14920a-1 • Südafrika, Limpopo Province, auf dem Campus der University of the North in Sovenga • 23° 52' 56,6" S/29° 44' 20,5" E • Granitinselberg z.T. mit dünner Bodenauflage, mit niedriger Gras-, Strauch- und Baumvegetation, zahlreiche kleine Vertiefungen (»Wassermulden«), aber keine ausgeprägten Rockpools, auf dem Gipfel, 1 375 m • Leg.: A. Rauhut • 30.9.2003



20. *Peltula cylindrica* 19011a • USA, Arizona, Maricopa County, entlang des Apache Trail (Route 88), ca. 5 km W vom Canyon Lake, obere Sonora-Wüstenregion (*Simmondsia chinensis*, *Cercidium* etc.) • 33° 31' N/111° 27' W • Rhyolit-Tuff-Berge, südwestexponierter Hang, entlang der Wasserlinie eines Felstümpels, 700 m • Leg.: B. Büdel & T. H. Nash • 28.12.1988
  
21. *Peltula euploca* 20161b • Mexiko, Baja California Sur, Sierra de La Laguna, Lager bei Todos Santos • 23° 30' N/110° 00' W • Berghang, W-exponierter Granitfels, ca. 600 m • Leg.: B. Büdel • 15.2.1993
  
22. *Peltula euploca* 20162a • Mexiko, Baja California Sur, Sierra de La Laguna, Lager bei Todos Santos • 23° 30' N/110° 00' W • Berghang, W-exponierter Granitfels, senkrechter Felsabschnitt, voll exponiert, ca. 600 m • Leg.: B. Büdel • 15.2.1993
  
23. *Peltula euploca* ssp. *sorediosa* 14921c-1 • Südafrika, Limpopo Province, Mutamba Ranch, ca. 10 km nördlich von Wyllie's Poort an der N1 • 22° 48' 0,8" S/29° 54' 4,7" E • Sandsteininselberg, 686 m • Leg.: A. Rauhut • 1.10.2003
  
24. *Peltula farinosa* 19071a • USA, Arizona, Santa Cruz County, 150 km SO von Tucson, Sycamore Canyon • vertikale, süd-südostexponierte Felswand in einem Saison-Flussbett, schieferartiges Gestein, 1 280 m • Leg.: B. Büdel • 16.1.1989
  
25. *Peltula farinosa* 20117a • Mexiko, Estado de Sonora, 14 km ENE von Moctezuma, desert scrub • 29° 50' N/109° 32' W • Sickerwasserstelle an einem leichten Überhang, nass • Leg.: B. Büdel • 9.2.1993
  
26. *Peltula farinosa* 20119a • Mexiko, Estado de Sonora, 14 km ENE von Moctezuma, desert scrub • 29° 50' N/109° 32' W • Sickerwasserstreifen • Leg.: E. Timdal • 9.2.1993
  
27. *Peltula imbricata* 18060a • Australien, Northern Territory, Zentralaustralien, McDonnell Ranges, Kings Canyon, Kings Creek • 133° 50' E/23° 70' S • nordexponierte Sandsteinfelswand oberhalb eines trockenen Flussbettes, auf Sandstein, schattig • Leg.: B. Büdel • 21.8.1987
  
28. *Peltula impressa* 14907b-1 • Südafrika, Limpopo Province, Mutamba Ranch, ca. 10 km nördlich von Wyllie's Poort an der N1 • 22° 48' 0,8" S/29° 54' 4,7" E • Sandsteininselberg, 690 m • Leg.: A. Rauhut • 1.10.2003
  
29. *Peltula impressa* 20140f • Mexiko, Estado de Sinaloa, 38 km N of Los Mochis, hill beside cemetery, plains of Sonora • 26° 07' N/109° 02' W • Konglomeratfels, NO-exponiert, erster Hang, 50-60 m • Leg.: B. Büdel • 12.2.1993
  
30. *Peltula inversa* 15058 HOLOTYPUS • Namibia, Nama-Karoo, dwarf-shrub savannah at the communal farm Niko (Namibian Government) • 25° 20' 37,2" S/

- 17° 50' 40"E • hypolithic on quartz pebble embedded in soil, 1060 m • Leg.: B. Büdel • 9.3.2001 • National Herbarium Pretoria, South Africa (PRE)
31. *Peltula leptophylla* 14330e • Südafrika, Limpopo Province, Farm Mutamba, nördlich der Soutpansberge, 60 km nördlich von Louis Trichardt, ca. 8 km östlich der A1 • 22° 41' S/30° 00' E • Sandsteininselberg (Clarens-Sandstein) in der Mopane-Savanne, an nördlich exponierten, voll besonnten, geneigten Felsflächen. 600-610 m • Leg.: B. Büdel & D. Wessels • 11.12.1990
  32. *Peltula leptophylla* 20128a • Mexiko, Estado de Sonora, 6 km SW von Moctezuma • 29° 46' N/109° 44' W • concave rock faces, N-exposed, 710 m • Leg.: E. Timdal • 10.2.1993
  33. *Peltula lingulata* 14050a • Südafrika, Mpumalanga Province, Graskop, Graskopkloof, entlang des Flusses • 2430 DD • auf quarzitischem Sandstein (ähnlich Beacon-Sandstein) im Flussbett, außerhalb der Regenzeit trocken, 1420 m • Leg.: B. Büdel & D. Wessels • 25.9.1983
  34. *Peltula lingulata* 14452a • Südafrika, Limpopo Province, Farmgebiet Mutamba, ca. 40 km N von Louis Trichardt • 22° 48' S/29° 53' E • Mopanesavanne, Sandsteininselberg, auf Fels am Rand eines Rockpools auf dem Gipfel des Inselberges, ca. 700 m • Leg.: D. Mühlhoff & B. Büdel • 13.12.1994
  35. *Peltula cf. marginata* 14911b-1 • Südafrika, Limpopo Province, Granitinselberg an der R521, ca. 30 km südlich von Vivo • 23° 17' 19,8" S/29° 18' 51,2" E • geneigte Felsfläche mit zahlreichen Abflussrinnen, die dicht mit *P. umbilicata* bewachsen sind, 1042 m • Leg.: A. Rauhut • 27.9.2003
  36. *Peltula marginata* 14920d-1 • Südafrika, Limpopo Province, auf dem Campus der University of the North in Sovenga • 23° 52' 56,6" S/29° 44' 20,5" E • Granitinselberg z.T. mit dünner Bodenauflage, mit niedriger Gras-, Strauch- und Baumvegetation, zahlreiche kleine Vertiefungen (»Wassermulden«), aber keine ausgeprägten Rockpools, auf dem Gipfel, 1375 m • Leg.: A. Rauhut • 30.9.2003
  37. *Peltula marginata* 14071c ISOTYPUS • Südafrika, Limpopo Province, 50 km nördlich von Pietersburg, an der Nationalstraße 1 nach Louis Trichardt, Banelierskop, Gruppe von großen Granitinseln • auf geneigter Granitfelsfläche, auf Regenwasserabflussflächen, 1300 m • Leg.: B. Büdel & D. Wessels • 15.10.1983
  38. *Peltula michoacanensis* 20111a • Mexiko, Estado de Sonora, 7 km W von Huasabas • 29° 55' N/109° 23' W • südexponierte Konglomerat-Felsplatte oberhalb eines Baches, auf kalkhaltigem Bindemittel, flach geneigt, 760 m • Leg.: B. Büdel • 9.2.1993

39. *Peltula michoacanensis* 201401 • Mexiko, Estado de Sinaloa, 38 km N of Los Mochis, hill beside cemetery, plains of Sonora • 26° 07' N/109° 02' W • Konglomeratfels, NO-exponiert, erster Hang, 50-60 m • Leg.: B. Büdel • 12.2.1993
40. *Peltula obscurans* var. *deserticola* 14900b-1 • Südafrika, Limpopo Province, entlang der R525 Richtung Tshipise, ca. 1-2 km westlich nach der Abzweigung von der N1 • 22° 38' 31,7" S/29° 55' 37,6" E • an der Straße, Geröllfeld mit Gras- und spärlicher Buschvegetation, 715 m • Leg.: A. Rauhut • 25.9.2003
41. *Peltula obscurans* var. *deserticola* 14902d-1 1 • Südafrika, Limpopo Province, Mutamba Ranch, ca. 10 km nördlich von Wylie's Poort an der N1 • 22° 48' 2,8" S/29° 54' 3,6" E • Sandsteininselberg, geneigte Felsfläche, die in einen kleinen See ausläuft, 672 m • Leg.: A. Rauhut • 1.10.2003
42. *Peltula obscurans* var. *deserticola* 14902d-1 2 • Südafrika, Limpopo Province, Mutamba Ranch, ca. 10 km nördlich von Wylie's Poort an der N1 • 22° 48' 2,8" S/29° 54' 3,6" E • Sandsteininselberg, geneigte Felsfläche, die in einen kleinen See ausläuft, 672 m • Leg.: A. Rauhut • 1.10.2003
43. *Peltula obscurans* var. *deserticola* 20113a • Mexiko, Estado de Sonora, 23 km ENE von Moctezuma, Rancho El Encino • 29° 52' N/109° 28' W • Nordhang mit Granitblöcken, auf W-exponierter Seite eines Blockes, 1 160 m • Leg.: B. Büdel • 9.2.1993
44. *Peltula obscurans* var. *hassei* 14354a • Südafrika, Limpopo Province, 23 km N von Vivo, Langjan Nature Reserve • 22° 52' S/29° 13' E • auf Kalksteingeröll am Wegrand, exponiert • Leg.: D. Mühlenhoff & B. Büdel • 27.11.1994
45. *Peltula obscurans* var. *hassei* 14413b • Südafrika, Limpopo Province, Farm Mutamba nördlich der Soutpansberge • 22° 48' S/29° 53' E • Mopanesavanne, Sandsteinkoppjes, NE-exponierte Felsfläche, 700 m • Leg.: D. Mühlenhoff & B. Büdel • 6.12.1994
46. *Peltula obscurans* var. *hassei* 14900a-1 • Südafrika, Limpopo Province, entlang der R525 Richtung Tshipise, ca. 1-2 km westlich nach der Abzweigung von der N1 • 22° 38' 31,7" S/29° 55' 37,6" E • an der Straße, Geröllfeld mit Gras- und spärlicher Buschvegetation, 715 m • Leg.: A. Rauhut • 25.9.2003
47. *Peltula obscurans* var. *hassei* 14902c-2 • Südafrika, Limpopo Province, Mutamba Ranch, ca. 10 km nördlich von Wylie's Poort an der N1 • 22° 48' 2,8" S/29° 54' 3,6" E • Sandsteininselberg, geneigte Felsfläche, die in einen kleinen See ausläuft, 672 m • Leg.: A. Rauhut • 1.10.2003
48. *Peltula obscuratula* 1 • Marokko, Anti-Atlas, Ini-el-Had-de-Tasguedelt • Leg.: Egea, Moreno & Alonso • 9.6.1987

49. *Peltula obscuratula* 2 • Marokko, Tinerhir, Foum el Kous • Leg.: Egea, Moreno & Alonso • 14.6.1987
50. *Peltula omphaliza* 20143a • Mexiko, Estado de Sinaloa, 3 km NE of Higuera de Zaragoza • 26° 01' N/109° 16' W • Hügel im Agrarland mit *Pachycereus* und *Euphorbia*, NW-exponierter Hang, Rhyolit, 50-60 m • Leg.: B. Büdel • 12.2.1993
51. *Peltula omphaliza* 20148b • Mexiko, Estado de Sinaloa, 3 km NE of Higuera de Zaragoza • 26° 01' N/109° 16' W • Hügel im Agrarland mit *Pachycereus* und *Euphorbia*, W-exponierter Hang, am Rand einer Wasserküvette, 50-60 m • Leg.: B. Büdel • 12.2.1993
52. *Peltula patellata* 16254b • Mexiko, Baja California Sur, Leno Las Mulas • 27° 20' 2" N/113° 7' 31,5" W • on soil between boulders, ca. 190 m • Leg.: M. Schultz • 17.3.2003 • Privatherbarium M. Schultz, Hamburg, Deutschland
53. *Peltula patellata* 20146a • Mexiko, Estado de Sinaloa, 3 km NE of Higuera de Zaragoza • 26° 01' N/109° 16' W • Hügel im Agrarland mit *Pachycereus* und *Euphorbia*, auf Erde zwischen Steinen mit *Riccia*, 50-60 m • Leg.: B. Büdel • 2.12.1993
54. *Peltula placodizans* 14901b-1 • Südafrika, Limpopo Province, an der zweiten Seitenstraße der R525 Richtung Tshipise von der N1 kommend • 22° 40' 19,9" S/30° 4' 23,3" E • kleiner Granitinselberg mit Abflussrinnen und kleinen Rock-pools, sehr dicht von Peltulen bewachsen (v. a. *P. umbilicata*) • Leg.: A. Rauhut • 25.9.2003
55. *Peltula placodizans* 20112a • Mexiko, Estado de Sonora, 23 km ENE von Moctezuma, Rancho El Encino • 29° 52' N/109° 28' W • Nordhang mit Granitblöcken, auf W-exponierter Seite eines Blockes, 1 160 m • Leg.: B. Büdel • 9.2.1993
56. *Peltula placodizans* 20142b • Mexiko, Estado de Sinaloa, 3 km NE of Higuera de Zaragoza • 26° 01' N/109° 16' W • Hügel im Agrarland mit *Pachycereus* und *Euphorbia*, NW-exponierter Hang, Rhyolit, 50-60 m • Leg.: B. Büdel • 12.2.1993
57. *Peltula psammophila* 761074 • Teneriffa, Insulae Canariensis, secus viam inter Arona et Las Canadas del Teide, 1,2 km prop. Arona • ad terram • Leg.: P. L. Nimis • 14.1.1985 • Herbarium of the Natural History Museum, London, England (BM)
58. *Peltula radicata* 14241a • Jemen, Abian Governorate, Djebel Urays, middle Wadi Asurai, ca. 1 km north of the camp • ca. 13° 27' N/45° 55' E • close to steep western wall, below *Anisotes trisulcus*, ca. 250 m • Leg.: M. Schultz • 17.3.2002 • Privatherbarium M. Schultz, Hamburg, Deutschland

59. *Peltula richardsii* 20068a • Mexiko, Baja California Sur, entlang der Straße Nr. 1, 20 km Ostnordost von Ciudad Insurgentes, zentrale Magdalena Region der Sonora-Wüste (*Acacia*, *Lycium*, *Fouquieria diguetii*, *Pachycereus pringlei*), sandige Küstenebene mit einzelnen Basaltfelsen • 25° 21' N/111° 37' W • auf Erde, 75 m • Leg.: T. H. Nash • 8.1.1989
60. *Peltula richardsii* 20194a • Mexiko, Baja California Sur, 8 km W of Ciudad Constitucion, S of C. Insurgentes • 25° 00' N/111° 43' W • Überschwemmungsboden (bei Regen) mit *Pachycereus* und *Acacia*, auf lehmigem Boden, in Senken, 50 m • Leg.: B. Büdel • 19.2.1993
61. *Peltula rodriguesii* 14450b • Südafrika, Limpopo Province, Farmgebiet Mutamba, ca. 40 km N von Louis Trichard • 22° 48' S/29° 53' E • Mopanesavanne, Sandsteininselberg, an der nordexponierten Basis auf Fels, ca. 690 m • Leg.: D. Mühlhoff & B. Büdel • 13.12.1994
62. *Peltula rodriguesii* 15901 • Namibia, Tsumeb • growing on Smithsonite • Leg.: C. Osterman • 14.11.1990
63. *Peltula santessonii* 14912b-1 • Südafrika, Limpopo Province, Granitinselberg an der R521, ca. 30 km südlich von Vivo • 23° 17' 19,8" S/29° 18' 51,2" E • geneigte Felsfläche mit zahlreichen Abflussrinnen, die dicht mit *P. umbilicata* bewachsen sind, 1 042 m • Leg.: A. Rauhut • 27.9.2003
64. *Peltula santessonii* 14404a • Südafrika, Limpopo Province, Farm Mutamba nördlich der Soutpansberge • 22° 48' S/29° 53' E • Mopanesavanne, Sandsteinkoppjes, N-exponierte Fläche, am Ausfluss eines Rockpools, 700 m • Leg.: D. Mühlhoff & B. Büdel • 6.12.1994
65. *Peltula sonorensis* 20142a • Mexiko, Estado de Sinaloa, 3 km NE of Higuera de Zaragoza • 26° 01' N/109° 16' W • Hügel im Agrarland mit *Pachycereus* und *Euphorbia*, NW-exponierter Hang, Rhyolit, 50-60 m • Leg.: B. Büdel • 12.2.1993
66. *Peltula sonorensis* 20196d • Mexiko, Baja California Sur, Sierra de la Gigante at km post 70 • 25° 57' N/113° 30' W • Konglomerat, N-exponierte Wand, 360 m • Leg.: B. Büdel • 19.2.1993
67. *Peltula tortuosa* 24039b • Venezuela, Puerto Ayacucho, Orinoco Tiefland • Schildinselberg, mit lockerem Strauchbestand und offenem Fels, auf *Bullbustylis* • Leg.: B. Büdel & M. Schultz • 24.4.1996
68. *Peltula tortuosa* 24042a • Venezuela, Puerto Ayacucho, Orinoco Tiefland • Schildinselberg, mit lockerem Strauchbestand und offenem Fels, auf Granit • Leg.: B. Büdel & M. Schultz • 4.5.1996

69. *Peltula umbilicata* 14901a-1 • Südafrika, Limpopo Province, an der zweiten Seitenstraße der R525 Richtung Tshipise von der N1 kommend • 22° 40' 19,9" S / 30° 4' 23,3" E • kleiner Granitinselberg mit Abflussrinnen und kleinen Rockpools, sehr dicht von Peltulen bewachsen (v. a. *P. umbilicata*) • Leg.: A. Rauhut • 25.9.2003
70. *Peltula umbilicata* 14912a-2 • Südafrika, Limpopo Province, Granitinselberg an der R521, ca. 30 km südlich von Vivo • 23° 17' 19,8" S / 29° 18' 51,2" E • geneigte Felsfläche mit zahlreichen Abflussrinnen, die dicht mit *P. umbilicata* bewachsen sind, 1 042 m • Leg.: A. Rauhut • 27.9.2003
71. *Peltula umbilicata* 14912a-3 • Südafrika, Limpopo Province, Granitinselberg an der R521, ca. 30 km südlich von Vivo • 23° 17' 19,8" S / 29° 18' 51,2" E • geneigte Felsfläche mit zahlreichen Abflussrinnen, die dicht mit *P. umbilicata* bewachsen sind, 1 042 m • Leg.: A. Rauhut • 27.9.2003
72. *Peltula zahlbruckneri* 14919a-1 • Südafrika, Limpopo Province, auf dem Campus der University of the North in Sovenga • 23° 52' 56,6" S / 29° 44' 20,5" E • Granitinselberg z. T. mit dünner Bodenauflage, mit niedriger Gras-, Strauch- und Baumvegetation, zahlreiche kleine Vertiefungen (»Wassermulden«), aber keine ausgeprägten Rockpools, 1 345 m • Leg.: A. Rauhut • 30.9.2003
73. *Peltula zahlbruckneri* 20157a • Mexiko, Baja California Sur, Sierra de La Laguna, Lager bei Todos Santos • 23° 30' N / 110° 00' W • Berghang, SO-exponiert, flachgeneigte Granitfelsflächen, Halbschatten, 650 m • Leg.: B. Büdel • 15.2.1993
74. *Peltula zahlbruckneri* 761101 • USA, Kalifornien, Madera County, 3 mi S of Mormon Bar, Greenamyer's Hill • SW 1/4 , S6. T6S R18E • very abundant on smooth, flat granitic outcrop (about 10x15 ft.), level with gentle slope, water seeps down incline during rainy season, assoc. species *Umbilicaria phaea* Tuck., 2 000 ft. • Leg.: J. A. Larson • 11.5.1980 • Herbarium of the Natural History Museum, London, England (BM)
75. *Neoheppia brasiliensis* 14083a • Südafrika, Limpopo Province, Tzaneen, Great Letaba River, nahe Ebenezer Dam • 2330 CC, 23° 57' S / 30° 01' E • quarzitisches Felsflächen am Flussufer, zeitweise submers, 1 350 m • Leg.: B. Büdel & D. Wessels • 16.10.1983
76. *Neoheppia cataractae* 1329 ISOTYPUS • Democratic Republic of Congo (Zaire), near Kisangani, Tshopo waterfalls • on exundated rocks during the low water-level period, frequently mixed with the cyanobacterium *Pleurocapsa minor* • Leg.: J. Léonard • Juli 1947

77. *Phyllopeltula corticola* 14201 • Jemen, Abian Governorate, Djebel Urays, Wadi Asurai, below Bir Asurai • 13° 28' N/45° 55' E • rocky slope, on old *Acacia mellifera*, 400 m • Leg.: M. Schultz • 13.3.2002 • Privatherbarium M. Schultz, Hamburg, Deutschland
78. *Phyllopeltula steppae* 16572 • Paraguay, Gran Chaco, zwischen Filadelfia und Mcal. Estigambia, etwa 50 km NW von Filadelfia • 22° 7' S/60° 30' W • am Rand eines dichten, von Kakteen durchsetzten Waldes, 250 m • Leg.: K. Kalb • 6.6.1980 • Privatherbarium K. Kalb, Neumarkt, Deutschland
79. *Phyllopeltula steppae* 23948 HOLOTYPUS • Venezuela, Lara, Distr. Torres, etwa 35 km E von Barquisimeto • 10° 10' N/69° 50' W • in trockener Steppenlandschaft, 1 000 m • Leg.: K. Kalb • 20.8.1989 • Privatherbarium K. Kalb, Neumarkt, Deutschland
80. *Lichinella cribellifera* 16290a • USA, Arizona, Maricopa County, Superstition Wilderness, Apache Trail (Hwy 88) 5 km E of Tortilla Flat E of Canyon Lake • 33° 31' 28" N/111° 19' 06,5" W • flat, W-exposed seepage track, Upland Sonoran Desert/pinyon-juniper woodland transition, on rhyolitic rock, 700 m • Leg.: M. Schultz • 26.3.2003 • Privatherbarium M. Schultz, Hamburg, Deutschland
81. *Lichinella iodopulchra* 16319a • USA, New Mexico, Otero County, Lincoln National Forest, small canyon just S of Hwy 82 NE of Alamogordo • 32° 56' 52" N/105° 53' 24" W • pinyon-juniper woodland, gently sloped, flat rock face, somewhat shaded, on limestone, 1 650 m • Leg.: M. Schultz • 31.3.2003 • Privatherbarium M. Schultz, Hamburg, Deutschland
82. *Lichinella nigritella* 16228d • USA, Arizona, Yavapai County, E of Camp Verde, S of Hwy 260, forest road 708, Hackberry Canyon • 34° 26' 46" N/111° 41' 26" W • large wayside boulders, seepage track, W-exp., 45° inclined, on breccia, 1 220 m • Leg.: M. Schultz • 11.3.2003 • Privatherbarium M. Schultz, Hamburg, Deutschland

Tabelle A.1 (auf den Folgeseiten): Übersicht über alle erzeugten Sequenzen mit Angabe der geographischen Herkunft der Flechtenproben. Für Sequenzen, die bereits in Publikationen verwendet wurden, ist die GenBank-Zugangsnummer angegeben. ►

Spezies	Herkunft & Alter	Herb.-Nr.	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<b>Peltulaceae</b>								
<i>Neohelppia brasiliensis</i>	Südafrika, 1983	hb. B.B. 14083a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub <sup>a</sup>
<i>N. cataractae</i>	Dem. Rep. Kongo, 1947	hb. B.B. 1329	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub <sup>a</sup>
<i>Peltula africana</i>	Südafrika, 1985	hb. B.B. 14118a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. africana</i>	Südafrika, 1990	hb. B.B. 14304b	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. auriculata</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20196c	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. auriculata</i>	Venezuela, 1992	hb. B.B. 24901	—	—	—	DQ832329	DQ832331	—
<i>P. auriculata</i> ISOTYPUS	Venezuela, 1992	hb. B.B. 24902	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. bolanderi</i>	USA, Arizona, 1993	hb. B.B. 19154a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. bolanderi</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20161b	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. boletiformis</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20196e	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. boletiformis</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14911a-1	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. boletiformis</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14343a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. capensis</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14382b 1	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. capensis</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14382b 2	nucSSU	nucLSU	mtSSU <sup>a</sup>	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. clavata</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14382b 2	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub <sup>a</sup>
<i>P. clavata</i>	Australien, 1987	hb. Duke 164 (18047a)	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. clavata</i>	Australien, 1987	hb. B.B. 18047a	nucSSU	nucLSU	mtSSU <sup>a</sup>	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. congregata</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14909b-1	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. congregata</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14452c	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. coriacea</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14922a-1	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. coriacea</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14500a-1	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. crispatula</i>	Marokko, 1987	hb. B.B. 21001a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. cylindrica</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14920a-1	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. cylindrica</i>	USA, Arizona, 1988	hb. B.B. 19011a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. euploca</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20162a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. euploca</i> ssp. <i>sorediosa</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14921c-1	nucSSU	nucLSU	mtSSU <sup>a</sup>	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. farinosa</i>	USA, Arizona, 1989	hb. B.B. 19071a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. farinosa</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20117a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. farinosa</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20119a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. imbricata</i>	Australien, 1987	hb. B.B. 18060a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. impressa</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14907b-1	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. impressa</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20140f	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. inversa</i> HOLOTYPUS	Namibia, 2001	hb. Pretoria 15058	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. leptophylla</i>	Südafrika, 1990	hb. B.B. 14330e	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. leptophylla</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20128a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub <sup>a</sup>
<i>P. lingulata</i>	Südafrika, 1983	hb. B.B. 14050a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. lingulata</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14452a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub



Spezies	Herkunft & Alter	Herb.-Nr.	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<b>Peltulaceae</b>								
<i>P. cf. marginata</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14911b-1	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. marginata</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14920d-1	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. marginata</i> ISOTYPUS	Südafrika, 1983	hb. B.B. 14071c	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. michoacanensis</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20111a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. michoacanensis</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20140l	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. obsc. var. deserticola</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14900b-1	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. obsc. var. deserticola</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14902d-1 1	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. obsc. var. deserticola</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14902d-1 2	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub <sup>a</sup>
<i>P. obsc. var. deserticola</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20113a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. obsc. var. hassei</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14902c-2	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. obsc. var. hassei</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14354a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. obsc. var. hassei</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14413b	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. obsc. var. hassei</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14900a-1	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. obscuratula</i> 1	Marokko, Anti-Atlas, 1987	hb. B.B. ex hb. Murcia	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. obscuratula</i> 2	Marokko, Tinerhir, 1987	hb. B.B. ex hb. Murcia	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. omphaliza</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20143a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. omphaliza</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20148b	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. patellata</i>	Mexiko, 2003	hb. M.S. 16254b	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. patellata</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20146a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. placodizans</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14901b-1	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. placodizans</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20112a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. placodizans</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20142b	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. psammophila</i>	Kanaren, Teneriffa, 1985	BM 761074	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. radicata</i>	Jemen, 2002	hb. M.S. 14241a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. richardsii</i>	Mexiko, 1989	hb. B.B. 20068a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. richardsii</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20194a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. rodriguesii</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14450b	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. rodriguesii</i>	Namibia, 1990	hb. B.B. 15901	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. santessonii</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14912b-1	nucSSU	nucLSU	mtSSU <sup>a</sup>	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. santessonii</i>	Südafrika, 1994	hb. B.B. 14404a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. sonorensis</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20142a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. sonorensis</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20196d	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. tortuosa</i>	Venezuela, 1996	hb. B.B. 24039b	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. tortuosa</i>	Venezuela, 1996	hb. B.B. 24042a	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. umbilicata</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14901a-1	DQ782887	DQ832334	DQ922954	DQ832333	DQ832335	$\beta$ -Tub <sup>a</sup>
<i>P. umbilicata</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14912a-2	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—

Spezies	Herkunft & Alter	Herb.-Nr.	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<b>Peltulaceae</b>								
<i>P. umbilicata</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14912a-3	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. zahlbruckneri</i>	Südafrika, 2003	hb. B.B. 14919a-1	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>P. zahlbruckneri</i>	Mexiko, 1993	hb. B.B. 20157a	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>P. zahlbruckneri</i>	USA, Kalifornien, 1980	BM 761100	—	—	—	ITS	RPB2/7-11	—
<i>Phyllopettula corticola</i>	Jemen, 2002	hb. M.S. 14201	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>Ph. steppae</i> HOLOTYPUS	Venezuela, 1989	hb. K.K. 23948	nucSSU	nucLSU	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	—
<i>Ph. steppae</i>	Paraguay, 1980	hb. K.K. 16572	—	—	—	ITS	—	—
<b>Lichinaceae</b>								
<i>Lichinella cribellifera</i>	USA, Arizona, 2003	hb. M.S. 16290a	—	—	mtSSU	—	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<i>L. iodopulchra</i>	USA, New Mexico, 2003	hb. M.S. 16319a	nucSSU	DQ782916	—	ITS	DQ832328	—
<i>L. nigrifella</i>	USA, Arizona, 2003	hb. M.S. 16228d	Aftol #897 <sup>b</sup>	—	mtSSU	ITS	RPB2/7-11	$\beta$ -Tub
<b>Außengruppe (Geoglossaceae)</b>								
<i>Trichoglossum hirsutum</i>	—	—	AY544697	AY544653	AY544758	AY789314	AY641087	AY536845

<sup>a</sup> Hier liegt nur ein Teil der Zielsequenz vor, da die Amplifikation in der PCR Schwierigkeiten bereitete; diese Sequenzen sind also kürzer als die übrigen.

<sup>b</sup> bisher unveröffentlichte Aftol-Sequenz von V. Hofstetter, Duke University, Durham, NC, USA  
 $\beta$ -Tub-Sequenzen, von denen eine paraloge Sequenz gewonnen wurde, sind grau unterlegt.  
 hb. B.B.: Burkhard Büdel, Kaiserslautern; hb. M.S.: Matthias Schultz, Hamburg; hb. K.K.: Klaus Kalb, Neumarkt; hb. Duke: Duke Univ., Durham, NC, USA

**nucSSU**

Ast vorhanden in

Astnr.	nucLSU		mtSSU		ITS		RPB2		$\beta$ -tub	
	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%
1	17869	89,35	5507	27,54	0	0,00	0	0,00	0	0,00
2	19988	99,94	93	0,47	17378	86,89	19999	100,00	189	0,95
3	10193	50,97	499	2,50	2973	14,87	498	2,49	12210	61,05
4	14558	72,79	0	0,00	6321	31,61	19999	100,00	19120	95,60
5	19711	98,56	0	0,00	10	0,05	0	0,00	0	0,00
6	19999	100,00	19766	98,83	14246	71,23	19999	100,00	19942	99,71
7	5132	25,66	254	1,27	2857	14,29	13	0,07	0	0,00
8	0	0,00	3028	15,14	19715	98,58	19999	100,00	19794	98,97
9	15777	78,89	0	0,00	7440	37,20	19373	96,87	17317	86,59
# vorh. Äste:		8		3		7		5		5
in %		88,89		33,33		77,78		55,56		55,56
# nicht vorh. Äste:		1		6		2		4		4
in %		11,11		66,67		22,22		44,44		44,44

**nucLSU**

Ast vorhanden in

Astnr.	nucSSU		mtSSU		ITS		RPB2		$\beta$ -tub	
	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%
1	0	0,00	0	0,00	0	0,00	19999	100,00	0	0,00
2	223	1,12	65	0,33	0	0,00	19999	100,00	4057	20,29
3	19834	99,17	93	0,47	17378	86,89	19999	100,00	189	0,95
4	13	0,07	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
5	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
6	5	0,03	4221	21,11	4733	23,67	0	0,00	5722	28,61
7	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
8	3	0,02	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
9	67	0,34	0	0,00	19	0,10	0	0,00	0	0,00
10	0	0,00	0	0,00	55	0,28	0	0,00	0	0,00
11	19999	100,00	19766	98,83	14246	71,23	19999	100,00	19942	99,71
12	5025	25,13	0	0,00	16333	81,67	19999	100,00	19046	95,23
13	19937	99,69	0	0,00	10	0,05	0	0,00	0	0,00
# vorh. Äste:		4		2		4		5		4
in %		30,77		15,38		30,77		38,46		30,77
# nicht vorh. Äste:		9		11		9		8		9
in %		69,23		84,62		69,23		61,54		69,23

**mtSSU**

Ast vorhanden in

Astnr.	nucSSU		nucLSU		ITS		RPB2		$\beta$ -tub	
	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%
1	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
2	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
5	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
6	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
7	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
8	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
9	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
10	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
11	3432	17,16	38	0,19	2945	14,73	19999	100,00	0	0,00
12	19999	100,00	19999	100,00	14246	71,23	19999	100,00	19942	99,71
# vorh. Äste:		2		1		2		2		1
in %		16,67		8,33		16,67		16,67		8,33
# nicht vorh. Äste:		10		11		10		10		11
in %		83,33		91,67		83,33		83,33		91,67

Tabelle A.2 (auf den Folgeseiten fortgesetzt): detaillierte Auswertung der *constraint*-basierten Filter – die Astnummern entsprechen der Nummerierung in den Abbildungen 3.4.2 bis 3.4.7. Äste, die in weniger als 5% der Bäume der BMCMC-Stichprobe (20000 Bäume, entspricht 100%) eines Gens gefunden wurde, sind rot markiert.

<b>ITS</b>		Ast vorhanden in									
Astnr.	nucSSU # Bäume	%	nucLSU # Bäume	%	mtSSU # Bäume	%	RPB2 # Bäume	%	$\beta$ -tub # Bäume	%	
1	843	4,22	1936	9,68	0	0,00	3455	17,28	2	0,01	
2	0	0,00	121	0,61	268	1,34	19999	100,00	0	0,00	
3	0	0,00	1	0,01	0	0,00	31	0,16	0	0,00	
4	19999	100,00	0	0,00	3028	15,14	19999	100,00	19794	98,97	
5	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	
6	0	0,00	0	0,00	39	0,20	0	0,00	0	0,00	
# vorh. Äste:		1	1	1	3	1					
in %		16,67	16,67	16,67	50,00	16,67					
# nicht vorh. Äste:		5	5	5	3	5					
in %		83,33	83,33	83,33	50,00	83,33					

<b>RPB2</b>		Ast vorhanden in									
Astnr.	nucSSU # Bäume	%	nucLSU # Bäume	%	mtSSU # Bäume	%	ITS # Bäume	%	$\beta$ -tub # Bäume	%	
1	0	0,00	112	0,56	0	0,00	0	0,00	927	4,64	
2	0	0,00	928	4,64	0	0,00	0	0,00	16262	81,31	
3	0	0,00	19980	99,90	0	0,00	0	0,00	0	0,00	
4	0	0,00	121	0,61	268	1,34	19809	99,05	0	0,00	
5	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	
6	0	0,00	0	0,00	3018	15,09	14	0,07	17163	85,82	
7	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,01	
8	223	1,12	19642	98,21	65	0,33	0	0,00	4057	20,29	
9	19834	99,17	19988	99,94	93	0,47	17378	86,89	189	0,95	
10	931	4,66	2860	14,30	0	0,00	1051	5,26	0	0,00	
11	0	0,00	7	0,04	0	0,00	751	3,76	0	0,00	
12	1314	6,57	17327	86,64	0	0,00	0	0,00	2234	11,17	
13	0	0,00	0	0,00	0	0,00	506	2,53	0	0,00	
14	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	
15	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,01	0	0,00	
16	19999	100,00	14558	72,79	0	0,00	6321	31,61	19120	95,60	
17	0	0,00	498	2,49	0	0,00	5	0,03	0	0,00	
18	3432	17,16	38	0,19	12736	63,68	2945	14,73	0	0,00	
19	19999	100,00	19999	100,00	19766	98,83	14246	71,23	19942	99,71	
20	5025	25,13	19999	100,00	0	0,00	16333	81,67	19046	95,23	
21	104	0,52	5	0,03	0	0,00	0	0,00	0	0,00	
22	1740	8,70	0	0,00	0	0,00	1094	5,47	7438	37,19	
23	19999	100,00	0	0,00	3028	15,14	19715	98,58	19794	98,97	
24	261	1,31	0	0,00	1359	6,80	28	0,14	19503	97,52	
25	18385	91,93	0	0,00	26	0,13	23	0,12	15776	78,88	
26	13	0,07	0	0,00	0	0,00	838	4,19	19037	95,19	
27	19999	100,00	15777	78,89	0	0,00	7440	37,20	17317	86,59	
# vorh. Äste:		10	9	5	10	13					
in %		37,04	33,33	18,52	37,04	48,15					
# nicht vorh. Äste:		17	18	22	17	14					
in %		62,96	66,67	81,48	62,96	51,85					

Tabelle A.2 (Fortsetzung): detaillierte Auswertung der *constraint*-basierten Filter

**$\beta$ -tub**

Ast vorhanden in

Astrnr.	nucSSU		nuclSU		mtSSU		ITS		RPB2	
	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%	# Bäume	%
1	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
2	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,01	0	0,00
4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
5	1	0,01	5	0,03	640	3,20	0	0,00	15864	79,32
6	0	0,00	72	0,36	0	0,00	0	0,00	0	0,00
7	85	0,43	5471	27,36	0	0,00	0	0,00	0	0,00
8	19999	100,00	14558	72,79	0	0,00	6321	31,61	19999	100,00
9	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
10	19999	100,00	15777	78,89	0	0,00	7440	37,20	19373	96,87
11	13	0,07	0	0,00	0	0,00	838	4,19	19999	100,00
12	19999	100,00	19999	100,00	19766	98,83	14246	71,23	19999	100,00
13	5025	25,13	19999	100,00	0	0,00	16333	81,67	19999	100,00
14	19999	100,00	0	0,00	3028	15,14	19715	98,58	19999	100,00
15	261	1,31	0	0,00	1359	6,80	28	0,14	19985	99,93
16	18385	91,93	0	0,00	26	0,13	23	0,12	19991	99,96
# vorh. Äste:		6		5		3		5		9
in %		37,50		31,25		18,75		31,25		56,25
# nicht vorh. Äste:		10		11		13		11		7
in %		62,50		68,75		81,25		68,75		43,75

Tabelle A.2 (Fortsetzung): detaillierte Auswertung der *constraint*-basierten Filter

Ast #	Bootstrap	nucSSU						nucLSU						mtSSU					
		2.	3.	4.	5.	6.	MW	2.	3.	4.	5.	6.	MW	2.	3.	4.	5.	6.	MW
1	34	-10	-47	-17	-7	-10	-18	40	47	39	24	1	30	-47	-3	10	16	-1	-5
2	98	15	-13	6	5	3	3	7	10	38	30	4	18	-19	-30	-7	-4	1	-12
3	65	21	21	29	20	15	21	-26	-19	0	7	2	-9	-39	-21	3	7	-6	-11
4	100	44	95	3	0	0	47	44	73	38	52	0	52	-42	-5	-68	0	0	-38
5	86	-5	-7	-2	6	-8	-3	45	33	13	14	3	22	-8	11	22	24	-14	7
6	100	-72	-99	-100	-100	0	-93	29	80	100	0	0	70	88	100	100	100	100	98
7	100	25	1	0	0	0	13	27	7	0	0	0	17	27	10	0	0	0	19
8	100	34	16	16	2	0	17	-3	-10	-5	-1	0	-5	43	38	50	39	0	43
9	99	-3	7	7	-1	0	3	-51	-19	-2	0	0	-24	17	29	27	6	0	20
10	100	18	37	6	0	0	20	-63	-6	-1	0	0	-23	22	60	8	1	0	23
11	70	-16	-3	-2	-6	-28	-11	-55	-36	-33	-30	-28	-36	-21	4	14	13	1	2
12	100	34	24	7	1	0	17	18	19	9	0	0	15	-24	-4	1	0	0	-9
13	96	19	12	25	4	4	13	4	-5	12	-2	-2	1	-2	-31	-10	-9	-2	-11
14	71	0	-5	-6	-9	-8	-7	77	52	53	61	71	63	26	-4	0	12	5	10
15	100	37	23	4	0	0	21	51	36	7	100	0	49	8	22	0	0	0	15
16	65	28	26	31	20	14	24	20	2	8	0	5	9	-55	-39	-24	-22	-12	-30
17	37	0	0	5	4	37	15	0	0	26	38	37	34	0	0	11	-5	9	5
18	89	81	29	8	7	8	27	94	59	43	68	89	71	28	-18	-11	11	7	3
19	89	25	35	34	3	0	24	-34	-27	12	-3	-4	-11	92	39	31	16	22	40
20	92	86	34	20	12	14	33	76	30	34	51	92	57	39	-16	-2	13	11	9
21	70	-10	-14	-5	-4	-2	-7	-10	-26	-11	-3	-4	-11	-9	8	23	19	11	10
22	99	-16	14	4	1	0	1	0	16	21	19	0	19	-21	-7	-4	3	0	-7
23	32	0	32	24	29	32	29	0	1	2	6	-5	1	0	-7	-10	0	-9	-9
24	31	35	17	33	31	31	29	23	3	26	22	31	21	-2	-20	10	-2	3	-2
25	92	-53	-12	-4	-4	3	-14	10	21	26	25	9	18	-32	-32	-13	2	0	-19
26	56	0	-25	-27	-16	-5	-18	0	5	11	24	15	14	0	5	-4	3	6	3
27	77	-99	-11	-17	-9	-10	-29	15	32	-1	2	2	10	-99	-13	-17	1	8	-24
28	65	-11	3	-7	-14	-6	-7	63	55	58	51	65	58	16	25	13	8	9	14
29	59	0	3	3	-1	-4	0	-16	-10	-5	-5	-9	-9	-10	-7	-4	11	-15	-5
30	100	-4	14	10	0	0	7	45	34	30	39	0	37	24	53	25	9	0	28
31	100	18	-20	-15	-8	0	-6	14	-24	-17	-7	0	-9	49	43	38	28	7	33
32	63	45	26	27	9	8	23	47	31	34	41	63	43	0	-17	-4	0	-2	-8
33	61	-1	14	13	-5	-9	2	-17	4	6	-12	-19	-8	-19	-10	4	4	2	-4
34	78	3	26	23	32	20	21	4	24	27	48	36	28	-71	-73	-54	-23	-6	-45
35	52	9	21	21	25	19	19	2	4	11	28	23	14	-52	-43	-39	-19	-6	-32
36	67	23	19	28	30	24	25	22	10	24	38	28	24	-81	-68	-72	-48	-29	-60
37	100	11	14	6	6	0	9	26	36	33	86	0	45	-35	-1	-11	0	0	-16
38	91	34	27	18	12	6	19	50	38	31	31	18	34	-26	-5	3	3	-2	-5

Tabelle A.3 (auf der Folgeseite fortgesetzt): PABA-Analyse – zusammengefasste BS-Änderungen (Mittelwerte) für alle Äste und die Gene nucSSU, nucLSU und mtSSU in allen Positionen

Ast #	Bootstrap	ITS						RPB2 /7-11						$\beta$ -tub					
		2.	3.	4.	5.	6.	MW	2.	3.	4.	5.	6.	MW	2.	3.	4.	5.	6.	MW
1	34	-47	4	17	21	4	0	41	25	19	15	-51	10	18	30	19	22	-3	17
2	98	4	4	31	24	2	13	82	88	92	95	98	91	13	-32	-7	9	6	-2
3	65	-2	-3	8	9	-1	2	35	40	45	30	2	30	54	30	19	5	15	25
4	100	-21	6	-61	0	0	-25	79	73	32	52	0	59	91	85	78	100	0	89
5	86	1	-3	3	12	-2	2	36	26	10	2	-5	14	17	-10	-13	4	3	0
6	100	22	0	-100	-100	0	-59	-22	51	100	0	0	43	52	80	100	0	0	77
7	100	13	2	0	0	0	8	16	6	0	0	0	11	23	6	0	0	0	15
8	100	4	3	21	0	0	9	80	56	34	12	1	37	73	32	16	1	0	31
9	99	23	20	12	0	0	18	74	61	41	12	1	38	75	49	31	12	4	34
10	100	19	35	2	0	0	19	35	42	5	1	0	21	19	31	3	0	0	18
11	70	-71	-5	7	8	4	-11	74	74	71	68	70	71	26	17	16	15	14	18
12	100	5	8	2	0	0	5	35	27	12	2	0	19	32	23	10	2	0	17
13	96	5	6	22	-8	1	5	97	92	87	82	96	91	19	-2	10	1	0	7
14	71	41	9	4	5	-1	12	43	61	70	74	71	64	27	-14	-22	-16	-7	-6
15	100	8	12	0	0	0	10	59	29	4	0	0	31	58	38	1	0	0	32
16	65	20	19	18	5	7	14	62	54	51	40	65	54	33	18	20	0	5	19
17	37	0	22	25	-24	-10	3	0	22	33	38	37	33	0	22	33	38	37	33
18	89	47	5	-10	2	1	9	63	72	82	87	89	79	0	-25	-38	-23	-7	-23
19	89	-34	-8	11	-4	-4	-8	83	82	82	78	89	83	-84	-52	-25	-22	-11	-39
20	92	56	7	-7	-17	2	8	64	73	78	86	92	79	0	-24	-29	-25	-4	-21
21	70	-2	-3	9	6	6	3	52	59	63	62	59	59	0	15	28	22	16	20
22	99	-16	21	17	19	7	10	91	94	90	82	46	81	-10	4	7	15	0	4
23	32	0	-36	-21	-12	-17	-22	36	45	45	38	13	35	36	45	38	37	32	38
24	31	-39	-49	-21	-17	-13	-28	58	49	39	39	31	43	-39	-58	-33	-25	-15	-34
25	92	-51	-12	8	5	4	-9	44	54	51	47	26	44	52	56	71	78	92	70
26	56	40	44	53	54	56	49	44	32	19	14	-6	21	36	34	38	43	56	41
27	77	88	76	78	80	77	80	19	50	32	32	7	28	-27	14	-2	3	-20	-6
28	65	-5	3	-14	-19	-6	-8	-55	-14	-11	-14	-5	-20	33	45	28	40	65	42
29	59	-13	-6	-1	-3	-11	-7	75	71	70	67	59	68	-9	-3	2	2	-3	-2
30	100	-46	-16	-6	5	0	-16	91	87	71	50	21	64	14	41	29	79	0	41
31	100	16	-10	-3	-2	0	0	87	56	51	42	19	51	40	18	27	35	2	24
32	63	28	19	11	3	15	15	40	43	54	61	63	52	0	-9	-17	-24	-11	-15
33	61	8	4	10	5	0	7	71	63	66	65	61	65	-78	-10	16	4	5	-13
34	78	-1	17	3	15	15	10	73	70	69	62	78	70	-71	-6	17	30	17	-3
35	52	4	7	4	11	12	8	54	47	45	40	52	48	-52	-9	8	24	13	-3
36	67	2	-13	1	13	15	4	89	80	67	45	67	70	14	6	21	22	12	15
37	100	25	31	13	16	0	21	56	58	41	35	14	41	-51	-13	-25	-2	0	-23
38	91	-22	-18	-19	-8	-8	-15	69	58	46	35	17	45	27	14	3	4	5	11

Tabelle A.3 (Fortsetzung): PABA-Analyse – zusammengefasste BS-Änderungen (Mittelwerte) für alle Äste und die Gene ITS, RPB2 und  $\beta$ -Tub in allen Positionen

ADD				ADD			
nucSSU	Bootstrap			nucLSU	Bootstrap		
	before	after	$\Delta$		before	after	$\Delta$
<b>as 2nd to</b>				<b>as 2nd to</b>			
nucLSU	0	0	0	nucSSU	0	0	0
mtSSU	0	0	0	mtSSU	0	0	0
ITS	0	0	0	ITS	0	0	0
RPB2	78	93	15	RPB2	78	85	7
$\beta$ -tub	0	0	0	$\beta$ -tub	0	0	0
<b>Mean</b>			<b>15</b>	<b>Mean</b>			<b>7</b>
<b>as 3rd to</b>				<b>as 3rd to</b>			
nucLSU/mtSSU	0	0	0	nucSSU/mtSSU	0	0	0
nucLSU/ITS	0	0	0	nucSSU/ITS	0	0	0
nucLSU/RPB2	85	95	10	nucSSU/RPB2	93	95	2
nucLSU/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
mtSSU/ITS	0	0	0	mtSSU/ITS	0	0	0
mtSSU/RPB2	59	80	21	mtSSU/RPB2	59	83	24
mtSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0	mtSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
ITS/RPB2	82	92	10	ITS/RPB2	82	91	9
ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0	ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0
RPB2/ $\beta$ -tub	91	0	-91	RPB2/ $\beta$ -tub	91	97	6
<b>Mean</b>			<b>-13</b>	<b>Mean</b>			<b>10</b>
<b>as 4th to</b>				<b>as 4th to</b>			
nucLSU/mtSSU/ITS	0	0	0	nucSSU/mtSSU/ITS	0	0	0
nucLSU/mtSSU/RPB2	83	90	7	nucSSU/mtSSU/RPB2	80	90	10
nucLSU/mtSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucSSU/mtSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
nucLSU/ITS/RPB2	91	97	6	nucSSU/ITS/RPB2	92	97	5
nucLSU/ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucSSU/ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0
nucLSU/RPB2/ $\beta$ -tub	97	98	1	nucSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	0	98	98
mtSSU/ITS/RPB2	67	81	14	mtSSU/ITS/RPB2	67	88	21
mtSSU/ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0	mtSSU/ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0
mtSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	0	0	0	mtSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	0	93	93
ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	95	98	3	ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	95	98	3
<b>Mean</b>			<b>6</b>	<b>Mean</b>			<b>38</b>
<b>as 5th to</b>				<b>as 5th to</b>			
nucLSU/mtSSU/ITS/RPB2	88	92	4	nucSSU/mtSSU/ITS/RPB2	81	92	11
nucLSU/mtSSU/ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucSSU/mtSSU/ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0
nucLSU/mtSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	93	96	3	nucSSU/mtSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	0	96	96
nucLSU/ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	98	97	-1	nucSSU/ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	98	97	-1
mtSSU/ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	81	94	13	mtSSU/ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	81	95	14
<b>Mean</b>			<b>5</b>	<b>Mean</b>			<b>30</b>
<b>as 6th to</b>				<b>as 6th to</b>			
nucLSU/mtSSU/ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	95	98	<b>3</b>	nucSSU/mtSSU/ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	94	98	<b>4</b>

Tabelle A.4 (auf den Folgeseiten fortgesetzt): detaillierte PABA-Analyse eines einzigen Astes (Nr. 2) aus Abb. 3.5.2 für alle Gene in allen möglichen Positionen – BS-Werte von »0« bedeuten, dass der Ast in der entsprechenden Analyse nicht vorhanden ist. Diese Werte gehen nicht in die Berechnung des Mittelwerts (*Mean*) ein.



ADD				ADD			
mtSSU	Bootstrap			ITS	Bootstrap		
	before	after	$\Delta$		before	after	$\Delta$
<b>as 2nd to</b>				<b>as 2nd to</b>			
nucSSU	0	0	0	nucSSU	0	0	0
nucLSU	0	0	0	nucLSU	0	0	0
ITS	0	0	0	mtSSU	0	0	0
RPB2	78	59	-19	RPB2	78	82	4
$\beta$ -tub	0	0	0	$\beta$ -tub	0	0	0
<b>Mean</b>			<b>-19</b>	<b>Mean</b>			<b>4</b>
<b>as 3rd to</b>				<b>as 3rd to</b>			
nucSSU/nucLSU	0	0	0	nucSSU/nucLSU	0	0	0
nucSSU/ITS	0	0	0	nucSSU/mtSSU	0	0	0
nucSSU/RPB2	93	80	-13	nucSSU/RPB2	93	92	-1
nucSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
nucLSU/ITS	0	0	0	nucLSU/mtSSU	0	0	0
nucLSU/RPB2	85	83	-2	nucLSU/RPB2	85	91	6
nucLSU/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucLSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
ITS/RPB2	82	67	-15	mtSSU/RPB2	59	67	8
ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0	mtSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
RPB2/ $\beta$ -tub	91	0	-91	RPB2/ $\beta$ -tub	91	95	4
<b>Mean</b>			<b>-30</b>	<b>Mean</b>			<b>4</b>
<b>as 4th to</b>				<b>as 4th to</b>			
nucSSU/nucLSU/ITS	0	0	0	nucSSU/nucLSU/mtSSU	0	0	0
nucSSU/nucLSU/RPB2	95	90	-5	nucSSU/nucLSU/RPB2	95	97	2
nucSSU/nucLSU/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucSSU/nucLSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
nucSSU/ITS/RPB2	92	81	-11	nucSSU/mtSSU/RPB2	80	81	1
nucSSU/ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucSSU/mtSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
nucSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	0	98	98
nucLSU/ITS/RPB2	91	88	-3	nucLSU/mtSSU/RPB2	83	88	5
nucLSU/ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucLSU/mtSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
nucLSU/RPB2/ $\beta$ -tub	97	93	-4	nucLSU/RPB2/ $\beta$ -tub	97	98	1
ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	95	81	-14	mtSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	0	81	81
<b>Mean</b>			<b>-7</b>	<b>Mean</b>			<b>31</b>
<b>as 5th to</b>				<b>as 5th to</b>			
nucSSU/nucLSU/ITS/RPB2	97	92	-5	nucSSU/nucLSU/mtSSU/RPB2	90	92	2
nucSSU/nucLSU/ITS/ $\beta$ -tub	0	0	0	nucSSU/nucLSU/mtSSU/ $\beta$ -tub	0	0	0
nucSSU/nucLSU/RPB2/ $\beta$ -tub	98	96	-2	nucSSU/nucLSU/RPB2/ $\beta$ -tub	98	97	-1
nucSSU/ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	98	94	-4	nucSSU/mtSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	0	94	94
nucLSU/ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	98	95	-3	nucLSU/mtSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	93	95	2
<b>Mean</b>			<b>-4</b>	<b>Mean</b>			<b>24</b>
<b>as 6th to</b>				<b>as 6th to</b>			
nucSSU/nucLSU/ITS/RPB2/ $\beta$ -tub	97	98	1	nucSSU/nucLSU/mtSSU/RPB2/ $\beta$ -tub	96	98	2

Tabelle A.4 (Fortsetzung): detaillierte PABA-Analyse des Astes Nr. 2 aus Abb. 3.5.2 für alle Gene in allen möglichen Positionen

ADD				ADD			
<i>RPB2</i>	Bootstrap			<i>β-tub</i>	Bootstrap		
	before	after	Δ		before	after	Δ
<b>as 2nd to</b>				<b>as 2nd to</b>			
nucSSU	0	93	93	nucSSU	0	0	0
nucLSU	0	85	85	nucLSU	0	0	0
mtSSU	0	59	59	mtSSU	0	0	0
ITS	0	82	82	ITS	0	0	0
β-tub	0	91	91	RPB2	78	91	13
<b>Mean</b>			<b>82</b>	<b>Mean</b>			<b>13</b>
<b>as 3rd to</b>				<b>as 3rd to</b>			
nucSSU/nucLSU	0	95	95	nucSSU/nucLSU	0	0	0
nucSSU/mtSSU	0	80	80	nucSSU/mtSSU	0	0	0
nucSSU/ITS	0	92	92	nucSSU/ITS	0	0	0
nucSSU/β-tub	0	0	0	nucSSU/RPB2	93	0	-93
nucLSU/mtSSU	0	83	83	nucLSU/mtSSU	0	0	0
nucLSU/ITS	0	91	91	nucLSU/ITS	0	0	0
nucLSU/β-tub	0	97	97	nucLSU/RPB2	85	97	12
mtSSU/ITS	0	67	67	mtSSU/ITS	0	0	0
mtSSU/β-tub	0	0	0	mtSSU/RPB2	59	0	-59
ITS/β-tub	0	95	95	ITS/RPB2	82	95	13
<b>Mean</b>			<b>88</b>	<b>Mean</b>			<b>-32</b>
<b>as 4th to</b>				<b>as 4th to</b>			
nucSSU/nucLSU/mtSSU	0	90	90	nucSSU/nucLSU/mtSSU	0	0	0
nucSSU/nucLSU/ITS	0	97	97	nucSSU/nucLSU/ITS	0	0	0
nucSSU/nucLSU/β-tub	0	98	98	nucSSU/nucLSU/RPB2	95	98	3
nucSSU/mtSSU/ITS	0	81	81	nucSSU/mtSSU/ITS	0	0	0
nucSSU/mtSSU/β-tub	0	0	0	nucSSU/mtSSU/RPB2	80	0	-80
nucSSU/ITS/β-tub	0	98	98	nucSSU/ITS/RPB2	92	98	6
nucLSU/mtSSU/ITS	0	88	88	nucLSU/mtSSU/ITS	0	0	0
nucLSU/mtSSU/β-tub	0	93	93	nucLSU/mtSSU/RPB2	83	93	10
nucLSU/ITS/β-tub	0	98	98	nucLSU/ITS/RPB2	91	98	7
mtSSU/ITS/β-tub	0	81	81	mtSSU/ITS/RPB2	67	81	14
<b>Mean</b>			<b>92</b>	<b>Mean</b>			<b>-7</b>
<b>as 5th to</b>				<b>as 5th to</b>			
nucSSU/nucLSU/mtSSU/ITS	0	92	92	nucSSU/nucLSU/mtSSU/ITS	0	0	0
nucSSU/nucLSU/mtSSU/β-tub	0	96	96	nucSSU/nucLSU/mtSSU/RPB2	90	96	6
nucSSU/nucLSU/ITS/β-tub	0	97	97	nucSSU/nucLSU/ITS/RPB2	97	97	0
nucSSU/mtSSU/ITS/β-tub	0	94	94	nucSSU/mtSSU/ITS/RPB2	81	94	13
nucLSU/mtSSU/ITS/β-tub	0	95	95	nucLSU/mtSSU/ITS/RPB2	88	95	7
<b>Mean</b>			<b>95</b>	<b>Mean</b>			<b>9</b>
<b>as 6th to</b>				<b>as 6th to</b>			
nucSSU/nucLSU/mtSSU/ITS/β-tub	0	98	98	nucSSU/nucLSU/mtSSU/ITS/RPB2	92	98	6

Tabelle A.4 (Fortsetzung): detaillierte PABA-Analyse des Astes Nr. 2 aus Abb. 3.5.2 für alle Gene in allen möglichen Positionen

Spezies	Afrika	Australien	S-Amerika	N-Amerika	Europa	Asien	Indien
<i>Neoheppia brasiliensis</i>	x		x				
<i>N. cataractae</i>	x						
<i>Phyllopeltula corticola</i>	x			x			
<i>Ph. steppae</i>			x				
<i>Peltula africana</i>	x						
<i>P. auriculata</i>			x	x			
<i>P. bolanderi</i>	x	x	x	x		x	
<i>P. boletiformis</i>	x						
<i>P. capensis</i>	x						
<i>P. clavata</i>	x	x	x	x	x	x	
<i>P. congregata</i>	x	x	x			x	
<i>P. coriacea</i>	x					x	
<i>P. crispatula</i>	x				x		
<i>P. cylindrica</i>	x	x	x	x			
<i>P. euploca</i>	x	x	x	x	x	x	x
<i>P. farinosa</i>	x			x		x	
<i>P. imbricata</i>		x					
<i>P. impressa</i>	x	x	x	x		x	x
<i>P. inversa</i>	x						
<i>P. leptophylla</i>	x		x	x			
<i>P. lingulata</i>	x		x				
<i>P. marginata</i>	x						
<i>P. michoacanensis</i>	x			x			x
<i>P. obscurans</i>	x	x	x	x	x	x	x
<i>P. obscuratula</i>	x				x	x	
<i>P. omphaliza</i>	x	x	x	x	x	x	
<i>P. patellata</i>	x	x		x	x	x	x
<i>P. placodizans</i>	x	x	x	x	x	x	x
<i>P. psammophila</i>	x			x			
<i>P. radicata</i>	x	x		x		x	
<i>P. richardsii</i>				x			
<i>P. rodriguesii</i>	x	x			x		
<i>P. santessonii</i>	x						
<i>P. sonorensis</i>				x			
<i>P. tortuosa</i>	x		x	x		x	x
<i>P. umbilicata</i>	x						
<i>P. zahlbruckneri</i>	x	x		x		x	

Tabelle A.5: bisher bekannte Fundorte der Peltulaceen nach Kontinenten (indischer Subkontinent gesondert)

Tabelle A.6 (auf den Folgeseiten): Ergebnis der *Geneconv*-Analyse für die nuLSU – die 38 gefundenen Fragmente sind nummeriert und entsprechend ihrem P-Wert geordnet. Beginn und Ende der Fragmentsequenzen sind zusammen mit den flankierenden Regionen des Alignments angegeben, ebenso wie die Fragmentlänge und die Anzahl der darin enthaltenen Substitutionen für dieses Sequenzenpaar. Die Speziesnamen sind entsprechend ihrer geographischen Herkunft farbig gedruckt: rot – Afrika, blau – Nordamerika, grün – Südamerika, gelb – Australien.



Sequenzen	<Fragment>	Alignment-Offsets			
		Sim. P-Wert	Anfang	Ende	Länge # Polym.
<b>1</b> <i>P. sonorensis</i> 20196d <i>N. brasiliensis</i> 14083a	CCTGAAGGGC <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0012	674	871	198 180
<b>2</b> <i>P. richardsii</i> 20194a <i>Ph. corticola</i> 14201	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG ATTTGAGTAA <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0019	689	871	183 165
<b>3</b> <i>P. clavata</i> 164 <i>P. richardsii</i> 20194a	CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0025	674	871	198 180
<b>4</b> <i>P. richardsii</i> 20194a <i>P. santessonii</i> 14912b-1	CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0025	674	871	198 180
<b>5</b> <i>P. impressa</i> 20140f <i>P. obsc. var. desert.</i> 14902d-1 2	TGCAAAACCC <ACGGCAATG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG TGTAAGCCCG <ACGGCAATG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0025	615	871	257 239
<b>6</b> <i>P. lingulata</i> 14452a <i>P. richardsii</i> 20194a	CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0032	674	871	198 180
<b>7</b> <i>P. obsc. var. desert.</i> 14902d-1 2 <i>P. sonorensis</i> 20196d	ATCCTGAAGG <CGGATGGATT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG ATCCTGAAGG <CGGATGGATT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0037	672	871	200 182
<b>8</b> <i>P. placodizans</i> 20112a <i>P. richardsii</i> 20194a	CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0042	674	871	198 180
<b>9</b> <i>P. cylindrica</i> 14920a-1 <i>P. richardsii</i> 20194a	CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG CCTGAAGTCT <GATGGATTTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0063	674	871	198 180
<b>10</b> <i>P. sonorensis</i> 20196d <i>Ph. steppae</i> 23948	GAGCGTGGCT <GTTGGGACCC...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG GAGCGTGGCC <GTTGGGACCC...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0069	699	871	173 155
<b>11</b> <i>P. impressa</i> 20140f <i>Ph. corticola</i> 14201	ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG ATTTGAGTAA <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0074	689	871	183 165
<b>12</b> <i>P. santessonii</i> 14912b-1 <i>P. sonorensis</i> 20196d	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0092	689	871	183 165

**Alignment-Offsets**

**Sim. P-Wert**   **Anfang**   **Ende**   **Länge**   **# Polym.**

**<Fragment>**

**Sequenzen**

<b>13</b>	<i>N. brasiliensis</i> 14083a <i>N. cataractae</i> 1329	CCTGAAGTCT <GATGGATTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT CCTGAGGTCC <GATGGATTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0096	674	871	198	180
<b>14</b>	<i>P. impressa</i> 20140f <i>P. sonorensis</i> 20196d	ATCCTGAAGT <CGGATGGATT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATCCTGAAGG <CGGATGGATT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGG	0,0101	672	871	200	182
<b>15</b>	<i>P. richardsii</i> 20194a <i>N. brasiliensis</i> 14083a	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0107	689	871	183	165
<b>16</b>	<i>Ph. corticola</i> 14201 <i>N. cataractae</i> 1329	ATTTGAGTAA <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0107	689	871	183	165
<b>17</b>	<i>P. auriculata</i> 24902 <i>P. impressa</i> 20140f	CCCGACGGCT <AATGAAAAGTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC CCCTACGGCC <AATGAAAAGTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0108	621	871	251	233
<b>18</b>	<i>P. impressa</i> 20140f <i>N. cataractae</i> 1329	CCTGAAGTCTG <GATGGATTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT CCTGAGGTCC <GATGGATTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0117	674	871	198	180
<b>19</b>	<i>P. boletiformis</i> 14911a-1 <i>P. psammophila</i> 761074	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...AGTTTCCCCTC> AGGATAGCAG ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...AGTTTCCCCTC> AGGATAGCAG	0,0118	658	834	177	177
<b>20</b>	<i>P. richardsii</i> 20194a <i>Ph. steppae</i> 23948	GAGCGTGGCT <GTTGGGACCC...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC GAGCGTGGCC <GTTGGGACCC...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC	0,0139	699	871	173	155
<b>21</b>	<i>Ph. corticola</i> 14201 <i>Ph. steppae</i> 23948	GAGCGTGGCT <GTTGGGACCC...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT GAGCGTGGCC <GTTGGGACCC...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC	0,0179	699	871	173	155
<b>22</b>	<i>P. placodizans</i> 20112a <i>P. sonorensis</i> 20196d	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC	0,0208	689	871	183	165
<b>23</b>	<i>P. clavata</i> 164 <i>P. sonorensis</i> 20196d	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC	0,0251	689	871	183	165
<b>24</b>	<i>Ph. corticola</i> 14201 <i>N. brasiliensis</i> 14083a	ATTTGAGTAA <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0251	689	871	183	165
<b>25</b>	<i>P. linguata</i> 14452a <i>P. sonorensis</i> 20196d	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC	0,0321	689	871	183	165

	Sequenzen	<Fragment>	Alignment-Offsets			
			Sim. P-Wert	Anfang	Ende	Länge # Polym.
<b>26</b>	<i>P. bolanderi</i> 20196e <i>P. boletiformis</i> 14911a-1	ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...AGTTTCCCCTC> AGGATAGCAG ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...AGTTTCCCCTC> AGGATAGCAG	0,0375	658	834	177 177
<b>27</b>	<i>P. impressa</i> 20140f <i>N. brasiliensis</i> 14083a	CCTGAAAGTCG <GATGGATTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT CCTGAAAGTCT <GATGGATTG...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0377	674	871	198 180
<b>28</b>	<i>P. impressa</i> 20140f <i>P. richardii</i> 20194a	ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC	0,0394	689	871	183 165
<b>29</b>	<i>P. impressa</i> 20140f <i>P. santessonii</i> 14912b-1	ATTTGAGTAC <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTGACCGT	0,0394	689	871	183 165
<b>30</b>	<i>P. linguata</i> 14452a <i>Ph. corticola</i> 14201	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATTTGAGTAA <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0394	689	871	183 165
<b>31</b>	<i>P. santessonii</i> 14912b-1 <i>N. brasiliensis</i> 14083a	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTGACCGT ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0394	689	871	183 165
<b>32</b>	<i>P. boletiformis</i> 14911a-1 <i>P. radicata</i> 14241a	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...AGTTTCCCCTC> AGGATAGCAG ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...AGTTTCCCCTC> AGGATAGCAG	0,0444	658	834	177 177
<b>33</b>	<i>P. clavata</i> 164 <i>P. santessonii</i> 14912b-1	TGGGAACCCCT <GCACCATCGA...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT TGGGACCCCCC <GCACCATCGA...CCTCAGGATA> GCAGTGACCGT	0,0451	649	871	223 205
<b>34</b>	<i>P. linguata</i> 14452a <i>P. santessonii</i> 14912b-1	TGAGAAACCCCT <GCACCATCGA...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT TGGGACCCCCC <GCACCATCGA...CCTCAGGATA> GCAGTGACCGT	0,0451	649	871	223 205
<b>35</b>	<i>P. clavata</i> 164 <i>N. cataractae</i> 1329	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0453	689	871	183 165
<b>36</b>	<i>P. obsc. var. desert.</i> 14902d-1 2 <i>Ph. corticola</i> 14201	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC ATTTGAGTAA <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0453	689	871	183 165
<b>37</b>	<i>P. santessonii</i> 14912b-1 <i>N. cataractae</i> 1329	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTGACCGT ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0453	689	871	183 165
<b>38</b>	<i>P. sonorensis</i> 20196d <i>Ph. corticola</i> 14201	ATTTGAGTAG <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGC ATTTGAGTAA <GAGCGTGGCT...CCTCAGGATA> GCAGTAAACGT	0,0453	689	871	183 165







```

          10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
P. umbilicata 14912a-3 1  GGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGAGATGTGGGCCCTGTGCCCGCAGCCCTCACCTCTATGTGTACCTATCCAGCCGATGCTCTTTGGCGGCATGT
P. umbilicata 14912a-3 2  -----
P. umbilicata 14912a-3 3  .....
P. umbilicata 14912a-3 4  .....
P. umbilicata 14912a-3 5  .....
P. umbilicata 14912a-3 6  .....
P. umbilicata 14912a-3 7  .....
P. umbilicata 14912a-3 8  -----
P. umbilicata 14912a-3  .....

          110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
GCCCCCTGGTCACGTCGCCAGAGTTCTCCTGAACCCATTGTGTTGTCTGGAGTCTGAGCCCCCATTGCAGTATATGGAAAACTTTCAACAATGGATCT
.....
.....C.....G.....
.....
.....C.....G.....
.....C.....G.....
.....
.....
.....C.....
.....

          210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
CTTGGTTCCGGCGTCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAGGTAATGTGAATTGCAGAAATCCAGTGAATCATCGAACTTTGAACGCATATTGGGCCCC
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

          310     320     330     340     350     360     370     380     390     400
TTGGTATCCCGAGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTA-GCGAAAACCTCGGGGTCATGTCCCCGGCCTTGGGCTGGGGCCTCCCCAGGAGGTGGCGGT
.....
.....A.....
.....
.....A.....
.....A.....
.....
.....
.....

          410     420     430     440     450     460     470     480     490     500
CCGAAATGCAAGGTGTGCTCTGTGGGTGCCTCGAGCAAAGTAGAGATCACCCGCTTTGGAGGCCCGTGAAGCCGCGGAAGTCGCTCCGACGAACGCCT
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

          510     520     530     540     550
CGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAG
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

```

Abb. A.3: Alignment der ITS-Region der einzelnen Thallusschuppen für *P. umbilicata* 14912a-3 – die aus mehreren Schuppen gewonnene Sequenz ist rot gedruckt.

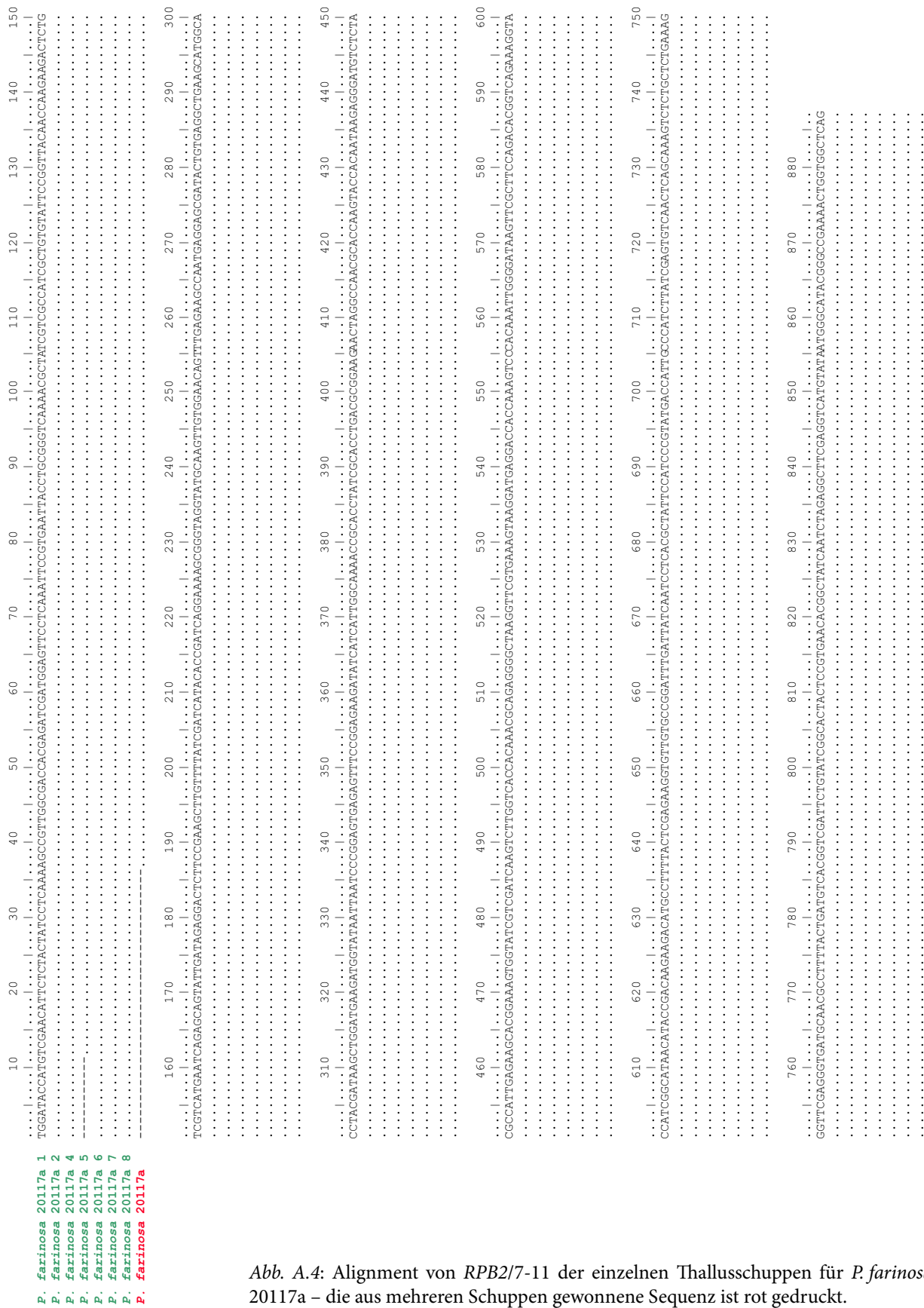


Abb. A.4: Alignment von RPB2/7-11 der einzelnen Thallusschuppen für *P. farinosa* 20117a – die aus mehreren Schuppen gewonnene Sequenz ist rot gedruckt.



