

MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Endemiten der Alpen – Untersuchung des Verbreitungsgebiets
von *Euphrasia sinuata*

verfasst von | submitted by

Theresa Kerstin Leßke B.Sc.

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Master of Science (MSc)

Wien | Vienna, 2026

Studienkennzahl lt. Studienblatt | Degree
programme code as it appears on the
student record sheet:

UA 066 879

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree
programme as it appears on the student
record sheet:

Masterstudium Naturschutz und
Biodiversitätsmanagement

Betreut von | Supervisor:

Assoz. Prof. Mag. Dr. Gerald Schneeweiss Privatdoz.

Mitbetreut von | Co-Supervisor:

Mag. Dr. Michael H. J. Barfuss

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	2
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	4
1 Einleitung	5
2 Methodik	7
2.1 Probennahme	7
2.2 Bestimmung der Ploidiestufe	9
2.3 DNA-Sequenzierung	10
3 Ergebnisse	13
3.1 Durchflusszytometrie	13
3.2 DNA-Sequenzierung	17
4 Diskussion	20
5 Fazit.....	24
6 Abstract	25
7 Literatur.....	27
8 Anhang	31

Danksagung

Allen voran möchte ich mich bei Herr Prof. Gerald Schneeweiß bedanken, der meine Masterarbeit betreut hat und mich bei jeglichen Fragen, sowie bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt hat. Des Weiteren bedanke ich mich bei Dr. Michael Barfuss, Rebecca Schmidt und Jasmin Rehrmbacher für die Unterstützung und Anleitung bei der Laborarbeit und bei Frau Prof. Hanna Schneeweiß für die Verfügungstellung der Ressourcen des Durchflusszytometrie-Labors. Außerdem möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mir mein Studium durch ihre Unterstützung ermöglicht haben und mir die Probennahme durch das Leihen des Autos möglich machten. Und abschließend bedanke ich mich bei meinen Freunden und Kommilitonen Anke, Anni und Lissi, die mit mir die Höhen und Tiefen des Prozesses der Masterarbeit durchstanden und mich über die Dauer meines gesamten Studiums begleiteten.

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Auflistung der untersuchten Gebiete	7
Tabelle 2 Ploidietabelle mit der Genomgröße der Proben (1C = pg) und der ermittelten Ploidiestufe (Erklärung der Berechnung in Tabelle S 2).....	15
Abbildung 1 Standorte der gesammelten Proben in den Radstädter Tauern der Niederen Tauern (oben) und der Hafnergruppe in den Hohen Tauern (unten; Anhang Tabelle S 1).....	8
Abbildung 2 Standorte der gesammelten Proben in den Hohen Tauern (Anhang Tabelle S 1) .	9
Abbildung 3 Beispiel-Diagramme der zwei verschiedenen Gruppen an relativer DNA-Menge anhand der Proben Moos_01 und BadG_03 (mit gleichem Cytometer gemessen; Gain = 385; Geschwindigkeit = 0,2 µl/s) Oben: Moos_01 als diploid eingestuft. Unten: BadG_03 als tetraploid eingestuft.....	14
Abbildung 4 Phylogenetische Position der gesammelten Proben (in Fettdruck) nach „Maximum Likelihood“-Analyse (Die Zahlen an den Knotenpunkten sind die „bootstrap support values“ mit BS>50). Arten, mit denen die gesammelten Proben primär verglichen worden sind (E. sinuata & inopinata; E. minima; E. rostkoviana & picta), sind farblich hervorgehoben.	19
Abbildung 5 Aktualisiertes Verbreitungsgebiet von E. sinuata und/oder E. inopinata anhand der Fundorte an der Glocknerstraße, bei Kals, Obertauern, Malta und Mooserboden. Blau: bekannte Fundpunkte von E. sinuata am Kitzbühler Horn und im Rofangebirge. Gelb: bekannte Fundpunkte von E. inopinata im Ötztal. Rot: hier gefundene neue Fundpunkte von E. sinuata und/oder E. inopinata.....	21
Tabelle S 1 Koordinatentabelle mit dem Sammeldatum und der Seehöhe	31
Tabelle S 2 Ergebnisse der Durchflusszytometrie mit der verwendeten Signalintensität (Gain), den Mittelwerten der Kurven (MW), dem Koeffizienten der Mittelwerte für die Berechnung der Genomgröße (1C = pg; Genomgröße = Koeffizient ÷ Genomgröße Standard (1,58 pg)) und der Ploidiestufe (diploid = ~1, tetraploid = ~2; Ploidie = Genomgröße der Probe ÷ kleinste Genomgröße des Probensatzes (Glock2_06)).....	34

Abbildung S 1 Ungenaueres Diagramm der Durchflusszytometrie von Malta_04 (gated)	38
Abbildung S 2 Ungenaueres Diagramm der Durchflusszytometrie von Malta_04.....	38
Abbildung S 3 Ungenaueres Diagramm der Durchflusszytometrie von Malta_05 (gated)	39
Abbildung S 4 Ungenaueres Diagramm der Durchflusszytometrie von Kals_06 (gated)	39
Abbildung S 5 Diagramm der Durchflusszytometrie von Glock2_09, was zu Beginn als tetraploid eingestuft wurde. Im Nachhinein aber wahrscheinlich diploid ist.....	40

Abkürzungsverzeichnis

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
BS	Bootstrap
ITS	Internal Transcribed Spacers
MW	Mittelwert
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PI	Propidiumiodid

1 Einleitung

In Hochgebirgen kommt eine Vielzahl an pflanzlichen und tierischen Endemiten vor. 12,6 % der einheimischen Pflanzenarten innerhalb des Alpenbogens gelten als Endemit (SCHMID et al., 2005; AESCHIMANN et al., 2011; STÖCKLIN, 2018). Nach MAJOR (1988) gilt ein Taxon als endemisch, wenn es aus historischen, ökologischen oder physiologischen Gründen nur in einem begrenzten Areal vorkommt. Des Weiteren sind zahlreiche Endemiten im Allgemeinen selten und somit stärker gefährdet, da sie oft Habitatspezialisten sind und in nur sehr kleinen Populationen vorkommen (STÖCKLIN, 2018). Der Anteil an Endemiten ist ein wichtiger Bestandteil der hohen Biodiversität in Gebirgsketten und nimmt mit steigender Seehöhe zu (STEINBAUER et al., 2016). Die Hochlagen von Gebirgen sind Habitatsinseln, die durch das umgebende Flachland isoliert sind, sodass Arten stärker von Umweltveränderungen betroffen sind (SPEHN und RUDMANN-MAURER, 2010). Die aufgrund des Klimawandels steigenden Temperaturen bewirken die Verschiebung der Baumgrenze in Gebirgsregionen in höhere Lagen (HARSCH et al., 2009), was zu einem Lebensraumverlust für endemische alpine Arten führt aufgrund der flächenmäßig begrenzten Migrationsmöglichkeiten in die Gipfelregionen (DIRNBÖCK et al., 2011). Der Temperaturanstieg bewirkt außerdem ein früheres Einsetzen von Frühlingsaktivitäten, wie Knospen- und Blütenaustrieb, sowie eine Veränderung der Artenzusammensetzung und der Konkurrenz zwischen den Arten infolge der Immigration von Arten aus dem Tiefland (SPEHN und RUDMANN-MAURER, 2010). Engräumig verbreitete Arten, sind daher potentiell stärker anfällig auf die Folgen des Klimawandels.

Zwei dieser engräumig verbreiteten und in den Alpen endemischen Arten sind *Euphrasia sinuata*, der Buchten-Augentrost, und *E. inopinata*, der Überraschungs-Augentrost. *Euphrasia sinuata* wächst auf Magerrasen über Kalkgestein in der (sub)alpinen Stufe und ist bisher nur aus Nord-Tirol vom Kitzbühler Horn und aus dem Rofangebirge bekannt (EHRENDORFER und VITEK, 1984; FISCHER et al., 2008). Bei dieser Art handelt es sich um eine einjährige Pflanze mit einer Höhe von zwei bis acht Zentimetern. Sie ist meist unverzweigt, besonders im Herbst rötlich überlaufen und hat weiße bis violette Blüten (VITEK, 2007). Als wichtiges Unterscheidungsmerkmal zu anderen *Euphrasia*-Arten gelten die eher stumpflichen Buchten zwischen den Zähnen der Deckblätter. Aufgrund des kleinen Verbreitungsgebiets der Art wird diese in der Roten Liste als „Vulnerable“ (entspricht der Gefährdungsstufe „gefährdet“ früherer Auflagen der österreichischen Roten Liste) eingestuft (SCHRATT-EHRENDORFER et al., 2022). Für *E. sinuata* besteht eine Verwechslungsgefahr mit der morphologisch ähnlichen *E. inopinata*. Diese besitzt spitzeren Buchten zwischen den Zähnen der Deckblätter und kommt

Einleitung

über bodensaurem Substrat im Bereich der Ötztaler Alpen in Nord-Tirol vor (FISCHER et al., 2008). Beide Arten, *E. sinuata* und *E. inopinata*, ähneln stark dem weit verbreiteten Zwerg-Augentrost *E. minima* (MEUSEL und JÄGER, 2011b), der insgesamt größer, meistens nicht stark rötlich überlaufen ist und oft auf mehr oder weniger bodensauren Magerrasen zu finden ist (FISCHER et al., 2008).

In der Studie von PAN et al. (2019) wurden die phylogenetischen Beziehungen zwischen den in den Alpen endemischen Arten *E. inopinata* und *E. sinuata* untersucht. Dabei wurde getestet, ob die beiden Arten ursprünglich diploide Überreste eines polyploiden Komplexes sind oder ob es sich um periphere Abtrennungen einer weiter verbreiteten diploiden Art handelt. Genomgröße und die Ploidiestufe wurden mit Hilfe der Durchflusszytometrie untersucht. Dadurch konnten zwei verschiedene Gruppen an relativer DNA-Menge festgestellt werden, die sich auf die bereits bekannten Ploidiestufen der Gattung, diploid und tetraploid, zurückführen ließen (EHRENDORFER und VITEK, 1984). Mit Hilfe des DNA-Barcodings unter Verwendung der nuklearen „Internal Transcribed Spacer“-Sequenzen (ITS) konnten zwar die beiden Arten nicht auf Artenebene unterschieden werden, aber es war, neben der Feststellung einer nahen Verwandtschaft zur weit verbreiteten *E. alpina* s. l., eine Unterscheidung von anderen Sippen, insbesondere von *E. minima*, möglich (PAN et al., 2019). In dieser Studie stellte sich außerdem heraus, dass es sich bei jenem Exemplar aus der Goldberggruppe in den Hohen Tauern, das in der phylogenetischen Studie von GUSSAROVA et al. (2008) unter *E. minima* geführt worden war, nach der ITS-Sequenz um *E. sinuata* oder *E. inopinata* handeln sollte, obwohl dieses Individuum deutlich außerhalb des bekannten Verbreitungsgebietes beider Arten gesammelt worden war.

Aufgrund jener Erkenntnis ist das Ziel dieser Masterarbeit festzustellen, ob *E. sinuata* weiterverbreitet ist als bisher angenommen. Die Beschränkung auf *E. sinuata* erfolgt vor allem aufgrund biogeographischer und ökologischer Überlegungen, da das Vorkommen von *E. sinuata* auf basischen Silikaten und Kalken in den östlich an das bekannte Verbreitungsgebiet angrenzenden Zentralalpen als plausibel gilt. Dafür wurden Proben von *Euphrasia*-Individuen, bei denen es sich aufgrund ihrer morphologischen Merkmale um *E. sinuata* handeln könnte, in sieben geologisch geeigneten Gebieten in den Hohen und Niederen Tauern sowie, zu Vergleichszwecken, im Verbreitungsgebiet von *E. sinuata* am Kitzbühler Horn gesammelt. Die Proben wurden daraufhin im Labor hinsichtlich ihrer Ploidiestufe und ihrer ITS-Sequenz miteinander verglichen, um die gesammelten Exemplare Arten zuordnen zu können. Mit Hilfe der Ergebnisse dieser Arbeit kann das Verbreitungsgebiet von *E. sinuata*, das wahrscheinlich größer als bisher angenommen ist, hoffentlich genauer definiert werden.

2 Methodik

2.1 Probennahme

Die Arten wurden fast ausschließlich außerhalb von Schutzgebieten gesammelt. Mit Hilfe von Silikagel wurden die Proben getrocknet und für spätere Untersuchungen im Labor konserviert. Im Juli 2025 wurden am Kitzbühler Horn auf der Fläche zwischen dem Alpenhaus und dem Gipfel, was ein bekanntes Verbreitungsgebiet von *E. sinuata* ist (VITEK, 2007), 13 Individuen (darunter auch einige von *E. picta* zu Vergleichszwecken) gesammelt. Im August und September 2025 wurden 68 komplette Individuen aus den Hohen Tauern und den Radstädter Tauern in den Niederen Tauern gesammelt (Tabelle 1; Abbildung 1 & Abbildung 2), die aufgrund ihrer Merkmale als möglicherweise zu *E. sinuata* gehörend eingestuft worden sind.

Tabelle 1 Auflistung der untersuchten Gebiete

Gebirgsgruppe	Untersuchte Gebiete	Abkürzungen
Glocknergruppe	Großglockner Hochalpenstraße	Glock
	Großglockner Gletscherstr. Naßfeldspeicher	Glock2
	Großglockner Wasserfallwinkel	Glock3
	Höhenburg an der Talsperre Mooserboden	Moos
	Lucknerhütte nahe Kals	Kals
	Glorerhütte nahe Kals	
Hafnergruppe	Maltaberg unterhalb des Reitereck	Malta
Goldberggruppe	Hohe Scharte bei Bad Hofgastein	BadG
	Göritzer Törl	Gold
Radstädter Tauern	Seekarspitze bei Obertauern	Ober

Die Wahl der Standorte erfolgte anhand verschiedener Kriterien. Da diese Studie auf den Erkenntnissen von PAN et al. (2019) basiert, wurde das Vorkommen in der Nähe des Sadnighauses nochmals beprobt. Aufgrund der Lage dieses Standortes im Kalkschiefergebiet des Tauernfensters (NATIONALPARKRAT HOHE TAUERN, 2005; PESTAL, 2005) wurden die anderen Gebiete anhand der gleichen Geologie oder anhand des Vorkommens von Kalkgestein ausgewählt (FEITZINGER et al., 2003), weil es für *E. sinuata* bisher bekannt war, dass diese Art nur auf Magerrasen über Kalkgestein zu finden sei (FISCHER et al., 2008). Weitere Kriterien, die das Sammelgebiet einschränkten, waren verzeichnete Nachweise von *E. minima* (GBIF SECRETARIAT, 2023b), die Erreichbarkeit der Standorte und deren Lage oberhalb von 1600 m Seehöhe, da *E. sinuata* eine (sub)alpine Art ist (FISCHER et al., 2008) und die subalpine Zone in den Alpen zwischen 1600 m und 1700 m beginnt (NATIONALPARKRAT HOHE TAUERN, 2017).

Das Feststellen des vor Ort richtigen Habitats an Magerrasen erfolgte mit Hilfe von Google Earth und Open Street Maps (earth.google.com/web; www.openstreetmap.org).

Zu erwähnen ist, dass der Standort an der Talsperre Mooserboden basierend auf der Studie von VITEK (2000) gewählt wurde. Vitek stellte in diesem Gebiet bei Kaprun eine *E. inopinata*-Population fest, obwohl diese Art bisher nur in den Öztaler Alpen bekannt war. Zurückgeführt wurde der Fund auf anthropogene Einbringung wegen der beschränkten Fundfläche nahe den Straßen und Wegen, wo in den 1970er Jahren aktiv *Euphrasia*-Arten untersucht wurden und es somit zur Verschleppung gekommen sein soll. Mit Hilfe der DNA-Sequenzierung soll in dieser Studie nun herausgefunden werden, ob es sich bei dieser Population tatsächlich um Vertreter aus der morphologisch kaum zu unterscheidenden Gruppe von *E. inopinata* oder *E. sinuata* (letztere wäre ökologisch die wahrscheinlichere) handelt. Während den Untersuchungen im Feld wurde beim Sammeln der Verdachtsfälle darauf geachtet,

dass die Individuen nicht zu groß, rötlich überlaufen und kaum verzweigt sind und die Buchten zwischen den Deckblatt-Zähnen stumpflich sind.

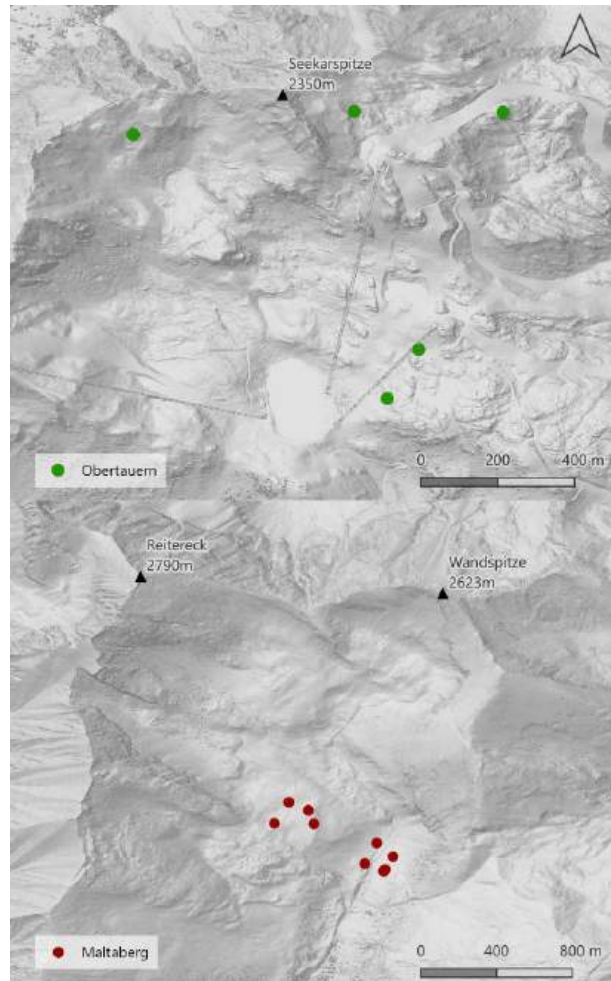


Abbildung 1 Standorte der gesammelten Proben in den Radstädter Tauern der Niederen Tauern (oben) und der Hafnergruppe in den Hohen Tauern (unten; Anhang Tabelle S 1)

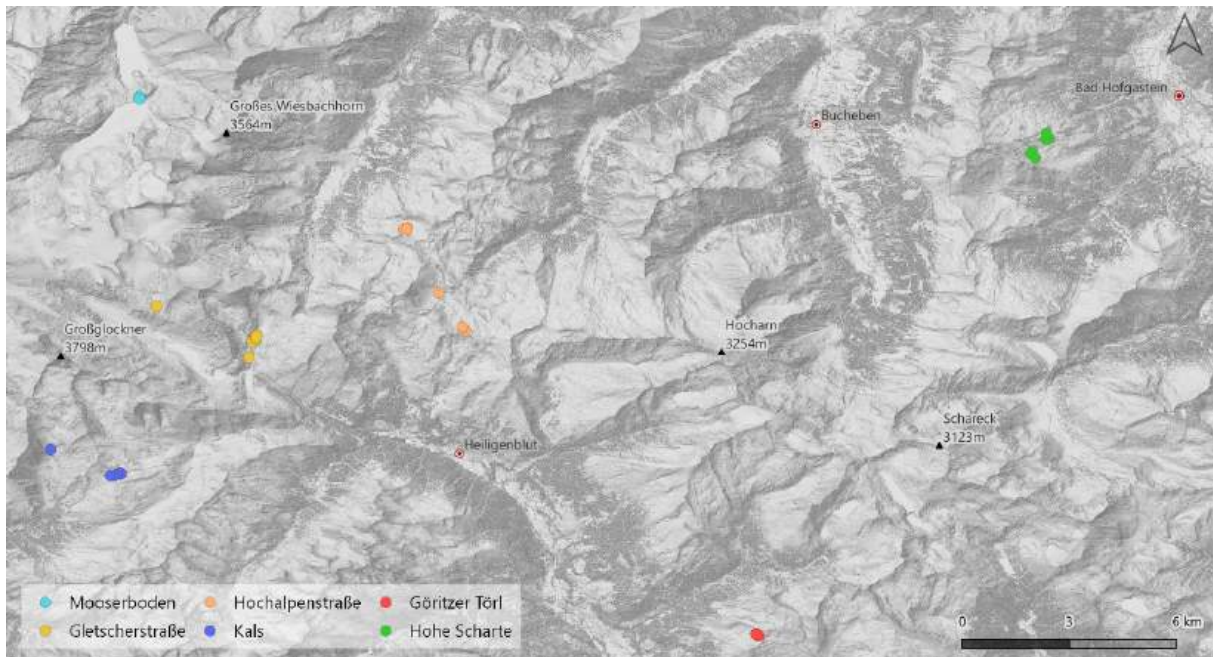


Abbildung 2 Standorte der gesammelten Proben in den Hohen Tauern (Anhang Tabelle S 1)

2.2 Bestimmung der Ploidiestufe

Um die Ploidiestufe der getrockneten Proben zu bestimmen, wurden die gefärbten Zellkerne der Individuen mit Hilfe der Durchflusszytometrie untersucht. Da *E. sinuata* eine diploide Art und *E. minima* tetraploid ist, wurde diese Methode genutzt, um die tetraploiden Proben abzugrenzen. Es wurde dabei das modifizierte Protokoll von TEMSCH (2003) verwendet, was grundsätzlich dem Protokoll von BARANYI und GREILHUBER (1996) folgt.

Für die Durchflusszytometrie wurde eine ähnliche Menge an Probe und internem Standard zusammen in einer Petrischale mit 590 µl Isolationsbuffer (pH = 1,5; Otto I Buffer) mit Hilfe einer Rasierklinge geschnitten. Zum Vergleich der Proben wurde hierbei *Bellis perennis* (1C = 1,58 pg; (VESELÝ et al., 2013)) als Standard gewählt. Vor dem Filtrieren der Probenlösung durch einen 50 µm Nylonfilter wurden nochmal 590 µl Isolationsbuffer hinzugegeben.

Zum Reinigen der Probenlösung wurden 50 µl RNase A-Lösung (3 mg RNase A pro ml destilliertem Wasser in einem 80°C Wasserbad aufgelöst) hinzugefügt und die Proben daraufhin für 30 Minuten in einem Wasserbad mit 37°C inkubiert. Danach wurden die Zellkerne in der Probenlösung mit 2 ml Propidiumiodid (PI)-Lösung eingefärbt (PI-Stammlösung: 1,5 mM; PI-Lösung: pH = 9,5; für 100 ml werden 5,679 g Dinatriumhydrogenphosphat in 6 ml PI-Stammlösung aufgelöst und dann bis 100 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt). Nach einer Stunde Inkubation im Kühlschrank konnte die Durchflusszytometrie durchgeführt werden.

Es wurde die Fluoreszenzintensität von 3333 Partikeln mit dem CyFlow Space-Zytometer (Partec, Münster, Deutschland), das mit einem grünen 532 nm Laser ausgestattet ist, untersucht. Mit Hilfe der Software FloMax Version 2.70 (Partec, Münster, Deutschland) konnten die G1-Peaks der Proben ermittelt werden.

Für die Bestimmung der Ploidiestufe wurde der Mittelwert des G1-Peaks der Probe durch den Mittelwert des Standard-Peaks dividiert, und daraufhin alle Werte durch den kleinsten erhaltenen Wert geteilt, sodass zwischen diploiden und tetraploiden Proben unterschieden werden konnte (Anhang Tabelle S 2).

2.3 DNA-Sequenzierung

Für die DNA-Sequenzierung wurde vorerst von 38 Proben die gesamte DNA extrahiert. Bei den Proben handelt es sich hauptsächlich um die Individuen, die nach der Durchflusszytometrie als diploid erkannt wurden (Tabelle 2; Anhang Tabelle S 2). Das Extrahieren wurde mit Hilfe des DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Venlo, Niederlande) durchgeführt nach einem modifizierten Protokoll von Michael H. J. Barfuss.

Dafür wurden 1 bis 12 mg der getrockneten Probe mit Hilfe von 5 Glasperlen und dem Tissuelyser II bei einer Geschwindigkeit von 30 Zyklen pro Sekunde innerhalb von insgesamt 4 Minuten zu einem feinen Pulver gerieben. Daraufhin wurden die Proben nacheinander in jeweils 500 µl des Buffer AP1 suspendiert und mit 4 µl RNase A für ca. 15 Minuten bei 65°C auf dem Heizblock inkubiert. Es folgte eine zweite Inkubation mit den gleichen Werten nach der Hinzugabe von 5 µl Proteinase K. Danach wurden 200 µl Buffer P3 und 100 µl Chloroform/Isoamyl Alkohol (auch als SEVAG bekannt) hinzugegeben und die Proben jeweils nach der Hinzugabe für 5 Minuten auf Eis inkubiert.

Das Lysat wurde in der Kühlzentrifuge bei 4°C für 10 Minuten bei 11.000 g (rcf) zentrifugiert und nur die obere wässrige Phase wurde für die Weiterverwendung genutzt. Nach dem Hinzugeben von 1300 µl Buffer AW1 wurde die Lösung in ein „DNeasy Mini spin column“ übertragen, welches die Proben-DNA in seiner Membran auffängt. Die Membran wurde mehrmals mit Buffer AW1 und AW2 durchspült und dann in der Zentrifuge für 4 Minuten bei maximaler Geschwindigkeit getrocknet. Zum Lösen der DNA aus der Membran wurde zuletzt zweimal 50 µl Buffer AE hinzugegeben, sodass sich als Resultat des Extrahierens 100 µl DNA-Extrakt von jeder Probe ergaben. Die Reinheit der Proben wurde daraufhin mit einem NanoDrop-Spektrophotometer (ND-1000, PEQLAB Biotechnologie, Erlangen, Deutschland) überprüft.

Methodik

Für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde ein Reaktionsmix (11 µl insgesamt) erstellt aus 2,5 µl Phusion Green Mastermix (Phusion Green Hot Start II High-Fidelity PCR Master Mix (liefert 1.5 mM MgCl₂ in der Endkonzentration 1X); Thermo Fisher Scientific, Wien, Österreich), 2,5 µl Phusion Plus Mastermix (Phusion Plus Green PCR Master Mix (2 × 1.25 mL); Thermo Fisher Scientific, Wien, Österreich), 2 µl Trehalose-Lösung (1 mol), 0,3 µl DMSO (Dimethylsulfoxid) und 0,1 µl BSA (Bovines Serum Albumin). Außerdem wurden jeweils 1 µl des „Forward Primers“ ITS18Sfa (ITS18Scsf, 5'-GAA TGG TCC GGT GAA GTG TTC G-3': NOROOZI et al., 2020) und des „Reverse Primers“ ITS26Sra (ITS26Scsr, 5'-GGA CGC TTC TCC AGA CTA CAA TTC G-3': NOROOZI et al., 2020) hinzugegeben, die auf 5 µmol verdünnt worden waren. Zuletzt wurde 1,5 µl des DNA-Extrakts hinzugegeben. Das PCR-Programm war: Denaturierung für 30 s bei 98°C; 35 Zyklen mit jeweils 15 s bei 98°C, 10 s bei 60°C und 45 s bei 72°C; 5 min bei 72°C. Der Erfolg der PCR wurde mit Hilfe einer Gelelektrophorese (für 25 min bei 90 V) auf 1,5 % Agarose-Gel geprüft (0,45 g Agarose, 30 ml Buffer und 1 µl GelRed).

Das PCR-Produkt (10 µl) wurde vor der Sequenzierung gereinigt mit 1,5 µl Mix aus 200 µl Exonuclease 1 (20 U/µl; 4.000 units; Thermo Fisher Scientific, Wien, Österreich) und 300 µl FastAP (wärmeempfindliche alkalische Phosphatase; 1 U/µl; 300 units; Thermo Fisher Scientific, Wien, Österreich) und inkubiert für erst 45 min bei 37°C und dann für 15 min bei 85°C. Bei der Amplifikation für die Sequenzierung wurde mit vier ITS-Primern (5 mM) gearbeitet, sodass für jede Probe vier Sequenzen vorhanden waren. Genutzt wurden die beiden „Forward“-Primer ITS5.8Sfa (ITS5.8Scf, 5'-GAC TCT CGG CAA CGG ATA TCT CG-3': NOROOZI et al., 2020) und ITS5c (5'-AGA GGA AGG AGA AGT CGT AAC AAG GT-3': BARFUSS, 2012), sowie die zwei „Reverse“-Primer ITS5.8Sra (ITS5.8Scsr, 5'-GAT GCG TGA CGC CCA GGC AG-3': NOROOZI et al., 2020) und ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3': WHITE et al., 1990). Für jeden Primer wurde ein Mastermix aus 1 µl Primer, 2,7 µl Wasser (PCR grade), 2 µl Saccharose (1M), 1,7 µl Sequenzierung-Buffer und 0,6 µl BigDye™ Terminator v3.1 (Thermo Fisher Scientific, Wien, Österreich) erstellt. Die Amplifikation erfolgte mit 8,5 µl Mastermix und 1,6 µl gereinigtem PCR-Produkt mit dem folgenden Programm: 1 Zyklus bei 96°C für 1 min; 30 Zyklen an 96°C für 10 s, 50°C für 5 s und 60°C für 4 min; 1 Zyklus gehalten bei 4°C. Die solcherart generierten Fragmente wurden auf einem 3730 DNA Analyzer (48 capillary sequencer; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) getrennt. Sowohl die PCR als auch die Sequenzierung wurden anhand eines modifizierten Protokolls von Michael H. J. Barfuss durchgeführt.

Die jeweils vier Fragmente der ITS-Sequenz wurden mit Hilfe von Unipro UGENE ver. 53.0 (OKONECHNIKOV et al., 2012) zusammengefügt (assembliert). In einzelnen Sequenzen kam es offenbar zur Überlappung zweier unterschiedlich langer Basenstränge, für diese Sequenzen wurden *in silico* die beiden Versionen erarbeitet. Daraufhin wurden die gesamten Sequenzen in BioEdit 7.7.1 (HALL, 1999) händisch zu dem bereits vorhandenen Alignment von HARTMANN et al. (2022) hinzugefügt. Eine „Maximum likelihood“-Analyse wurde in MEGA 12.1 (STECHEER et al., 2025) durchgeführt mit den folgenden Parametern: Tamura-Nei-Modell der Nukleotidsubstitutionen (TAMURA und NEI, 1993); Ratenheterogenität via eine Gamma-Verteilung (YANG, 1993) mit 5 Ratenkategorien; extensivem subtree-pruning-regrafting für das Branch-Swapping; Bootstrap (BS) mit 200 Replikaten.

3 Ergebnisse

3.1 Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie ergab zwei verschiedene Gruppen an relativer DNA-Menge. Unter Berücksichtigung der bereits vorhandenen Informationen zur Ploidiestufe der *Euphrasia*-Arten (EHRENDORFER und VITEK, 1984) kann davon ausgegangen werden, dass es sich hierbei um Diploide und Tetraploide handelt (Abbildung 3). Von den 80 untersuchten Proben waren dementsprechend 26 diploid und 46 tetraploid (Tabelle 2). Bei drei Proben war das Ergebnis ungenau, da die Peaks nicht eindeutig waren (Anhang Abbildung S 1 bis Abbildung S 4), und bei fünf Proben war keine Zuordnung aufgrund fehlender Peaks möglich.

Die zehn gesammelten mutmaßlichen *E. sinuata*-Proben vom Kitzbühler Horn waren alle diploid bis auf zwei Individuen, bei denen kein Ergebnis erkennbar war. Diploid waren alle fünf Proben von der Höhenburg am Stausee Mooserboden, jeweils eine Probe aus den Populationen Obertauern, Maltaberg und Kals (nahe der Lucknerhütte) und insgesamt 10 Proben von den Populationen der Großglocknerstraße (Hochalpen- und Gletscherstraße), wobei zwei in der Nähe des Hauses Alpine Naturschau und acht beim Naßfeldspeicher gesammelt wurden. Des Weiteren waren die zwei der drei Proben mit ungenauer Ploidiestufe ebenfalls aus der Population Maltaberg und die dritte von der Glorerhütte bei Kals. In Bad Hofgastein und am Göritzer Törl in der Goldberggruppe wurden nur tetraploide Individuen gefunden (Tabelle 2; Anhang Tabelle S 2).

Ergebnisse

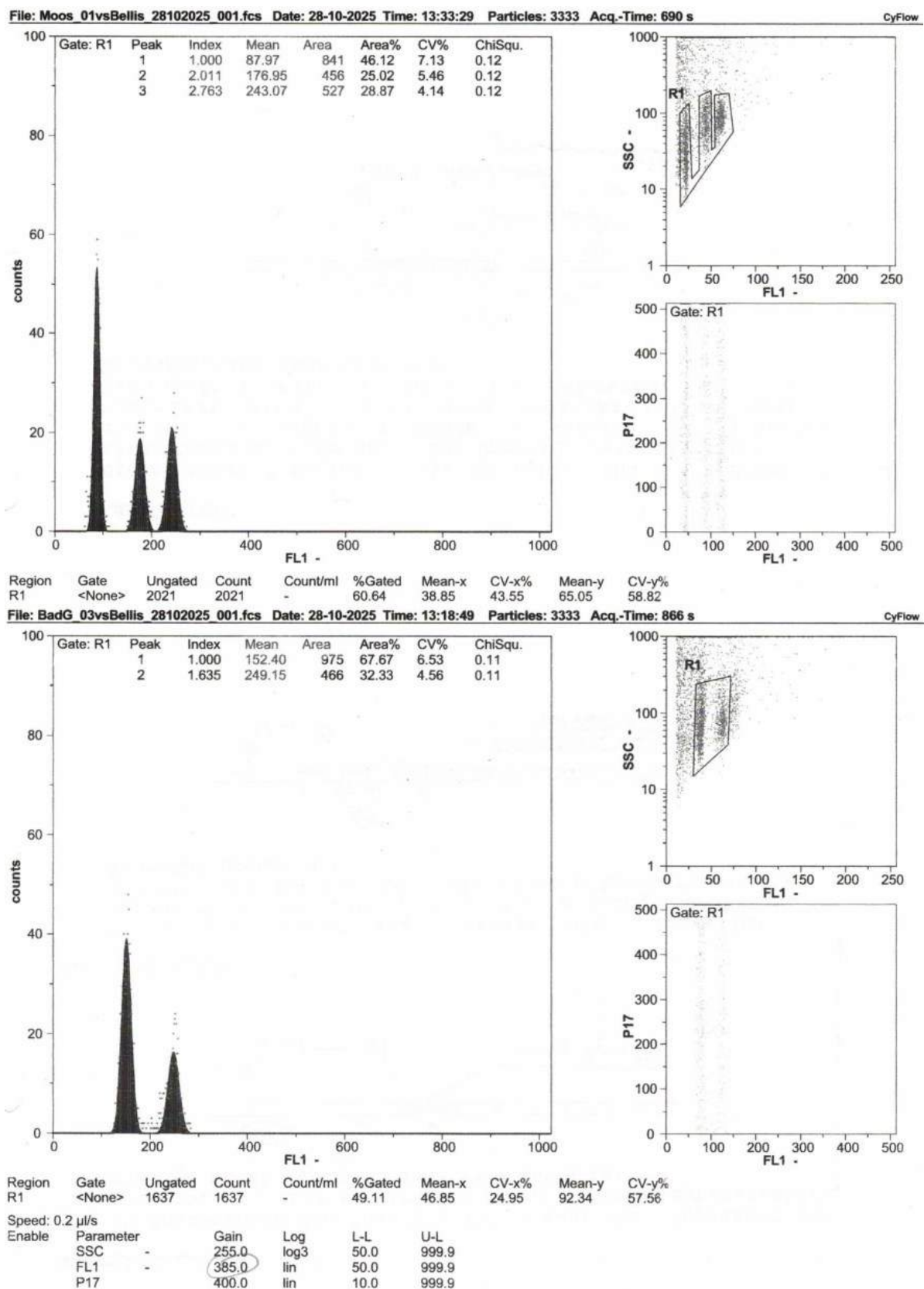


Abbildung 3 Beispiel-Diagramme der zwei verschiedenen Gruppen an relativer DNA-Menge anhand der Proben Moos_01 und BadG_03 (mit gleichem Cytometer gemessen; Gain = 385; Geschwindigkeit = 0,2 µl/s)

Oben: Moos_01 als diploid eingestuft

Unten: BadG_03 als tetraploid eingestuft

Tabelle 2 Ploidietabelle mit der Genomgröße der Proben (1C = pg) und der ermittelten Ploidiestufe (Erklärung der Berechnung in Tabelle S 2)

Population	Probenname	Datum	Genom- größe	Ploidie	Ploidie- stufe
Hohe Scharte bei Bad Hofgastein	BadG_01	28.10.2025	0,967	2,05	tetraploid
	BadG_02	28.10.2025	0,988	2,09	tetraploid
	BadG_03	28.10.2025	0,966	2,05	tetraploid
	BadG_04	28.10.2025	0,998	2,11	tetraploid
	BadG_05	28.10.2025	0,984	2,09	tetraploid
	BadG_06	27.10.2025	0,957	2,03	tetraploid
	BadG_07	21.10.2025	0,972	2,06	tetraploid
	BadG_08	21.10.2025	0,952	2,02	tetraploid
	BadG_09	21.10.2025	0,987	2,09	tetraploid
Großglockner Hochalpenstraße	Glock_01	30.10.2025	0,989	2,10	tetraploid
	Glock_02	30.10.2025	0,975	2,07	tetraploid
	Glock_03	30.10.2025	0,494	1,05	diploid
	Glock_04	29.10.2025	1,019	2,16	tetraploid
	Glock_05	29.10.2025	0,497	1,05	diploid
	Glock_06	29.10.2025	1,008	2,14	tetraploid
	Glock_07	29.10.2025	0,965	2,05	tetraploid
	Glock_08	29.10.2025	-	-	-
	Glock_09	29.10.2025	-	-	-
	Glock_10	29.10.2025	0,995	2,11	tetraploid
Gletscherstraße der Großglockner Hochalpenstraße	Glock2_01	29.10.2025	1,140	2,42	tetraploid
	Glock2_02	29.10.2025	0,512	1,08	diploid
	Glock2_03	29.10.2025	0,499	1,06	diploid
	Glock2_04	29.10.2025	0,542	1,15	diploid
	Glock2_05	28.10.2025	0,554	1,18	diploid
	Glock2_06	24.10.2025	0,479	1,02	diploid
	Glock2_07	24.10.2025	0,472	1,00	diploid
	Glock2_08	24.10.2025	0,474	1,01	diploid
	Glock2_09	24.10.2025	0,985	2,09	tetraploid
	Wahrscheinlich diploid (Abbildung S 5)				
	Glock2_10	24.10.2025	0,485	1,03	diploid
	Glock3_01	21.10.2025	1,015	2,15	tetraploid
Göritzer Törl in der Goldberggruppe	Gold_01	31.10.2025	0,989	2,10	tetraploid
	Gold_02	31.10.2025	1,033	2,19	tetraploid
	Gold_03	31.10.2025	0,950	2,01	tetraploid
	Gold_04	31.10.2025	1,049	2,22	tetraploid
	Gold_05	31.10.2025	0,971	2,06	tetraploid
	Gold_06	30.10.2025	0,980	2,08	tetraploid
	Gold_07	30.10.2025	0,990	2,10	tetraploid
	Gold_08	30.10.2025	0,959	2,03	tetraploid
	Gold_09	27.10.2025	0,965	2,05	tetraploid
	Gold_10	27.10.2025	0,964	2,04	tetraploid
	Gold_11	27.10.2025	0,969	2,05	tetraploid

Ergebnisse

Population	Probenname	Datum	Genom- größe	Ploidie	Ploidie- stufe
Kals am Großglockner	Kals_01	27.10.2025	0,508	1,08	diploid
	Kals_02	27.10.2025	0,992	2,10	tetraploid
	Kals_03	27.10.2025	0,938	1,99	tetraploid
	Kals_04	27.10.2025	0,944	2,00	tetraploid
	Kals_05	27.10.2025	0,977	2,07	tetraploid
	Kals_06	27.10.2025	1,007	2,13	tetraploid
		Ungenaues Ergebnis	0,489	1,04	diploid
Kitzbühler Horn	Kals_07	27.10.2025	0,929	1,97	tetraploid
	Kitz_01	03.11.2025	0,526	1,11	diploid
	Kitz_02	20.10.2025	-	-	-
	Kitz_03	20.10.2025	1,039	2,20	tetraploid
	Kitz_04	20.10.2025	-	-	-
	Kitz_05	20.10.2025	0,517	1,10	diploid
	Kitz_06	20.10.2025	0,541	1,15	diploid
	Kitz_07	03.11.2025	0,528	1,12	diploid
	Kitz_08	20.10.2025	-	-	-
	Kitz_09	03.11.2025	0,544	1,15	diploid
	Kitz_10	03.11.2025	0,518	1,10	diploid
	Kitz_11	03.11.2025	0,513	1,09	diploid
	Kitz_12	03.11.2025	0,530	1,12	diploid
	Kitz_13	03.11.2025	0,538	1,14	diploid
Maltaberg	Malta_01	23.10.2025	0,888	1,88	tetraploid
	Malta_02	23.10.2025	0,947	2,01	tetraploid
	Malta_03	23.10.2025	0,491	1,04	diploid
	Malta_04	22.10.2025	1,047	2,22	tetraploid
		Ungenaues Ergebnis	0,533	1,13	diploid
	Malta_05	22.10.2025	0,975	2,07	tetraploid
		Ungenaues Ergebnis	0,476	1,01	diploid
	Malta_06	22.10.2025	0,940	1,99	tetraploid
	Malta_07	22.10.2025	0,933	1,98	tetraploid
	Malta_08	22.10.2025	0,966	2,05	tetraploid
	Malta_09	22.10.2025	0,942	2,00	tetraploid
Mooserboden	Moos_01	28.10.2025	0,572	1,21	diploid
	Moos_02	28.10.2025	0,575	1,22	diploid
	Moos_03	28.10.2025	0,487	1,03	diploid
	Moos_04	28.10.2025	0,519	1,10	diploid
	Moos_05	28.10.2025	0,592	1,26	diploid
Seekarspitze bei Obertauern	Ober_01	23.10.2025	0,963	2,04	tetraploid
	Ober_02	23.10.2025	0,489	1,04	diploid
	Ober_03	22.10.2025	0,959	2,03	tetraploid
	Ober_04	22.10.2025	0,976	2,07	tetraploid
	Ober_05	21.10.2025	0,986	2,09	tetraploid

3.2 DNA-Sequenzierung

Der über eine Maximum Likelihood-Analyse ermittelte phylogenetische Baum ist in Abbildung 4 dargestellt. Dieser zeigt, dass 17 der gesammelten Individuen der der *Alpina*-Gruppe entsprechenden Klade (ser. *Alpinae*; BS 79), wozu *E. sinuata* und *E. inopinata* gehören, zugeordnet werden können. Diese Individuen sind aus den Populationen Großglockner Hochalpenstraße (Glock_03 & 05; Glock2_02, 03, 05-08, 10), Mooserboden (Moos_03 & 04), Malta (Malta_03-05), Kals (Kals_01 & 06) und Obertauern (Ober_02). Zwei Sequenzen (Kals_01 und Glock2_02) fallen zusammen mit der vermeintlichen *E. minima*-Sequenz aus der Goldberggruppe (GUSSAROVA et al., 2008), bei der es sich wohl um *E. sinuata* handelt, in eine Klade (BS 61). Diese bildet wiederum zusammen mit vier neuen Sequenzen (Kals_06, Moos_03, Malta_04, Ober_02) und einer *E. sinuata*-Sequenz aus dem Rofangebirge (MK040314 sinuata) eine schwach unterstützte Klade (BS 57). Diese Gruppierung beruht auf den gleichen Substitutionen der Sequenzen in der Basenanordnung. Eine Ausnahme bildet hierbei Moos_03, dessen Sequenz an drei weiteren Positionen Unterschiede zu den anderen Individuen zeigt. Letztere Individuen formen zusammen mit den bereits bekannten Sequenzen von *E. inopinata* (Obergurgl, Vent) und *E. sinuata* (Rofan, Kitzbühler Horn) sowie sieben neuen Sequenzen (Glock_03 & 05, Glock2_05 & 06, Moos_04, Malta_03 & 05) eine gut unterstützte Klade (BS 80). Schwestergruppe (BS 69) dazu ist eine nicht aufgelöste Gruppe, bestehend aus vier neuen Sequenzen (Glock2_03 & 07 & 08 & 10) und *E. cisalpina*. Die Zuordnung der Sequenzen dieser vier Individuen näher zu *E. alpina* erfolgte aufgrund einer einzelnen verschiedenen Basenposition als bei *E. sinuata*, obwohl andere Unterschiede zwischen den eigenen Sequenzen und der *E. cisalpina*-Sequenz nicht für eine Einordnung der Sequenzen zu *E. alpina* sprechen.

Die diploiden Individuen vom Kitzbühler Horn und das letzte diploide Individuum von der Glocknerstraße (Glock2_04) fallen in die *Officinalis*-Gruppe (ser. *Euphrasia*). Dabei sind die Sequenzen einiger Individuen (Kitz_01, 02, 04, 07, 09) ident zur unter *E. officinalis* veröffentlichten Sequenz (JF900506) und andere (Kitz_05, 06, 08; Glock2_04) zu Sequenzen von *E. rostkoviana* und *E. picta*. Von den Proben Kitz_05 und 08 lagen zwei Versionen an ITS-Sequenzen vor, da aufgrund der Einschiebung einer Base es zur Überlappung von zwei Sequenzsträngen kam. Die längere Version (VR2) gruppierte hierbei mit *E. hirtella*.

Ergebnisse

Drei diploide Individuen vom Mooserboden (Moos_01, 02, 05) bilden eine maximal unterstützte Klade (BS 100) von unklarer Position, da eine Verwandtschaft mit *E. tricuspidata* nur unzureichend unterstützt ist (BS <50). Im Generellen haben diese drei ITS-Sequenzen mehrmals Basengruppen, die mit keiner anderen Sequenz der Datenbank übereinstimmen.

Die wenigen sequenzierten tetraploiden Individuen (nur aus Populationen, wo auch diploide Individuen gefunden worden waren) aus Obertauern (Ober_01 & 03–05), Malta (Malta_01 & 02) und von der Glocknerstraße (Glock_01 & 02) formten eine gut unterstützte Klade (BS 96), Schwester zur Klade (BS 96) aus *E. minima* aus Tirol und *E. ultima* aus Italien (zusammen im *E. minima* agg.). Ein tetraploides Individuum (Glock_04) gruppierte allerdings mit *E. wettsteinii* (EU029984.1) und *E. officinalis* (AY596809; wahrscheinlich fehlbestimmt) in einer gering unterstützten Klade (BS 56), die in eine Gruppe von Arten gehört, wozu in Mitteleuropa etwa *E. nemorosa*, *E. stricta* und *E. salisburgensis* gehören.

Ergebnisse

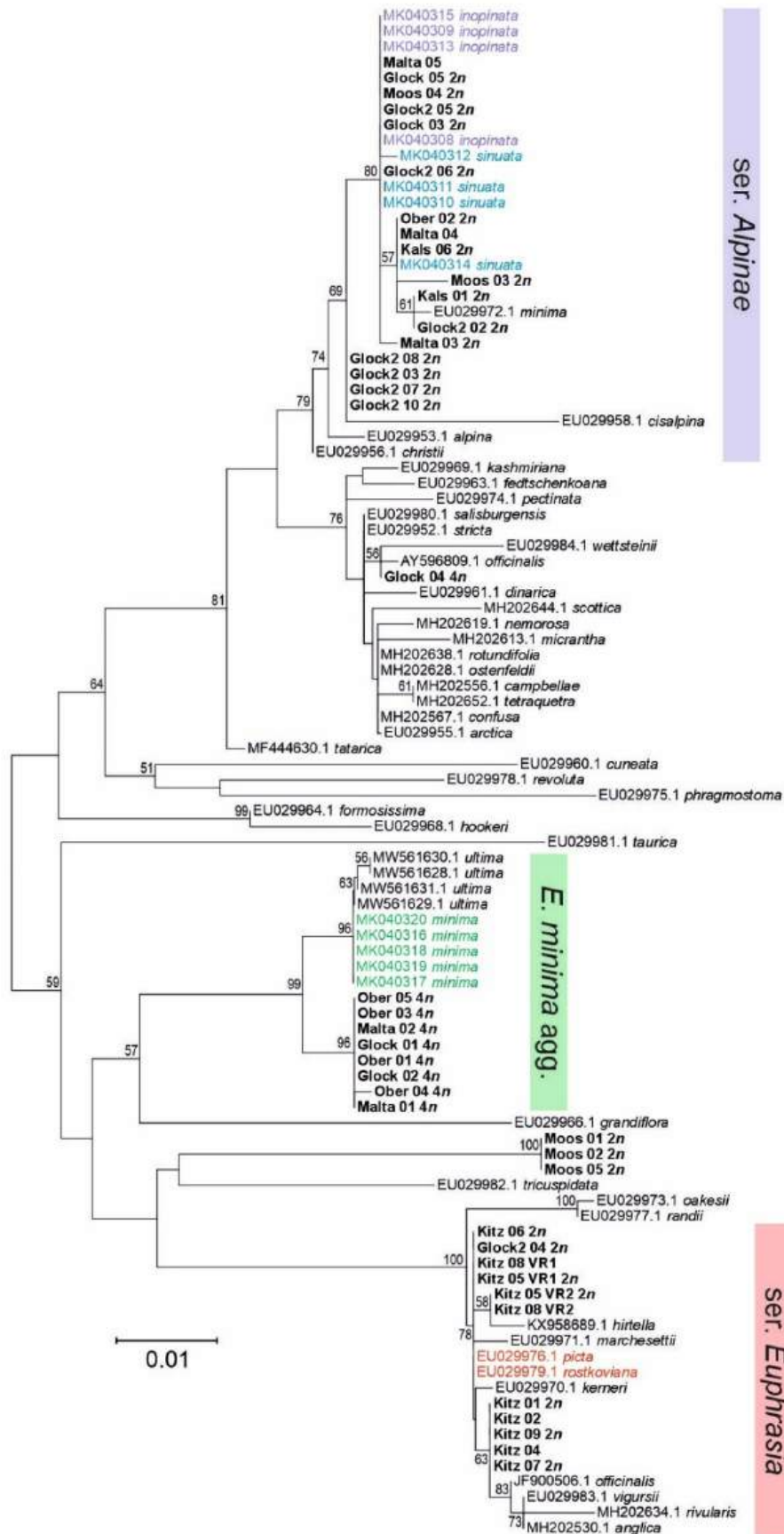


Abbildung 4 Phylogenetische Position der gesammelten Proben (in Fettdruck) nach „Maximum Likelihood“-Analyse (Die Zahlen an den Knotenpunkten sind die „bootstrap support values“ mit BS>50). Arten, mit denen die gesammelten Proben primär verglichen worden sind (*E. sinuata* & *inopinata*; *E. minima*; *E. rostkoviana* & *picta*), sind farblich hervorgehoben.

4 Diskussion

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie konnte festgestellt werden, dass aufgrund ihrer Ploidiestufe mindestens 27 der insgesamt 80 gesammelten Individuen nicht *E. minima* sind. Von diesen diploiden Proben konnten 17 außerdem durch die phylogenetische Analyse in die *Alpina*-Gruppe, zu der *E. sinuata* und *E. inopinata* gehören, gestellt werden (Abbildung 4; PAN et al., 2019). Es ist bereits bekannt, dass die zwei endemischen *Euphrasia*-Arten nah miteinander verwandt sind (PAN et al., 2019), allerdings beschränkte sich die bisherige Verbreitung von *E. inopinata* auf das obere Ötztal (EHRENDORFER und VITEK, 1984) mit der Ausnahme der mutmaßlichen anthropogenen Einschleppung am Mooserboden (VITEK, 2000). Die Geologie in dem Sammelgebiet dieser Individuen zeigt ein eher schieferhaltiges Profil (NATIONALPARKKRAT HOHE TAUERN, 2005; PESTAL, 2005), dies legt eher eine Zuordnung der Individuen zu *E. sinuata* nahe, da diese Art über basenreicherem Substrat vorkommt; aus diesem Grund wurde die Aufsammlung von der Goldberggruppe (GUSSAROVA et al., 2008) auch zu *E. sinuata* gestellt (PAN et al., 2019), da die Fläche am Göritzer Törl über Schiefer liegt. *Euphrasia inopinata* ist im Vergleich dazu bisher nur über Biotit-Schuppengneis bekannt (FISCHER et al., 2008). Eine genaue Einordnung der Individuen auf Artniveau anhand ihrer morphologischen Merkmale und der Fotos ist nicht mit Sicherheit möglich, da eine Differenzierung anhand der Buchten zwischen den Zähnen der Deckblätter rückwirkend nicht möglich ist. Unter Berücksichtigung anderer Merkmalsbeschreibungen der zwei endemischen Arten in Form der Farbe der Ränder und Nerven der Blattunterseite während der Blütezeit (MEYER und HASSLER, 2025) könnte spekuliert werden, dass es sich bei den Individuen Glock_05, Glock2_02, 03, 05 und 07, Kals_01, Malta_04 und Moos_04 um *E. sinuata* handeln könnte, während Malta_03 und Ober_02 möglicherweise *E. inopinata* sind. Diese Zuordnung beruht auf der schwarzvioletten Färbung der Ränder der Blattunterseite bei *E. inopinata* und der grünlich bis schwach violetten Färbung bei *E. sinuata*. Anzumerken ist allerdings, dass für die anderen Individuen keine Bestimmung möglich ist und dass dies keine eindeutige Zuordnung ist. Ein genaueres Betrachten der verwendeten ITS-Sequenzen von *E. sinuata* und *E. inopinata* zeigt nämlich, dass diese Sequenzen nahezu identisch sind. Selbst mit einer genetischen Fingerprint-Methode (AFLP, amplified fragment length polymorphism) ist die Unterscheidung der beiden Arten nicht eindeutig möglich (PAN et al., 2019), was Zweifel an ihrer Unterscheidbarkeit weckt; eine genauere Untersuchung der Differenzierung zwischen *E. sinuata* und *E. inopinata* ist dringend notwendig. Allgemein kann aber zu diesen 17 Individuen gesagt werden, dass es sich um Individuen von *E. sinuata* oder *E. inopinata* der

Alpina-Gruppe handelt. Dementsprechend kann davon ausgegangen werden, dass das Verbreitungsgebiet von *E. sinuata* und/oder *E. inopinata* größer ist als bisher angenommen (Abbildung 5).

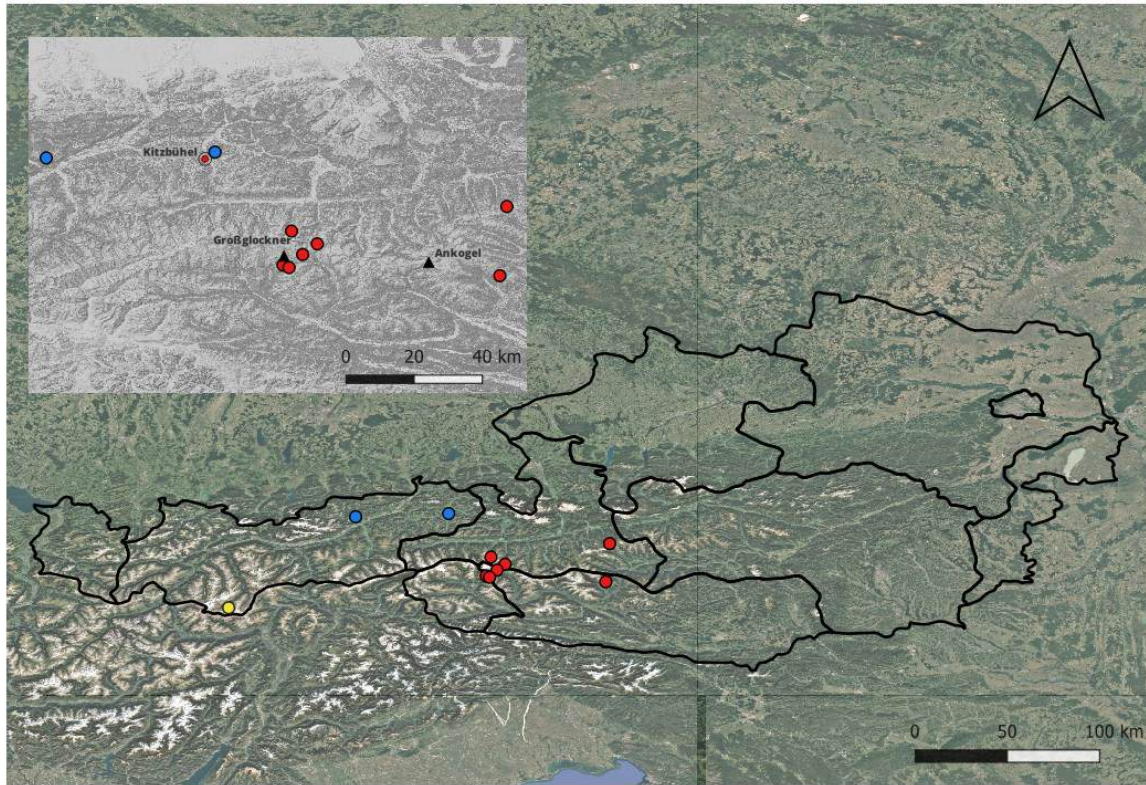


Abbildung 5 Aktualisiertes Verbreitungsgebiet von *E. sinuata* und/oder *E. inopinata* anhand der Fundorte an der Glocknerstraße, bei Kals, Obertauern, Malta und Mooserboden

Blau: bekannte Fundpunkte von *E. sinuata* am Kitzbühler Horn und im Rofengebirge

Gelb: bekannte Fundpunkte von *E. inopinata* im Ötztal

Rot: hier gefundene neue Fundpunkte von *E. sinuata* und/oder *E. inopinata*

Die Individuen vom Kitzbühler Horn waren, entgegen der Erwartung, nicht *E. sinuata*, obwohl dies ein bekanntes Verbreitungsgebiet der Art ist (EHRENDORFER und VITEK, 1984). Die gesammelten Individuen ähnelten morphologisch zwar *E. sinuata*, sind allerdings kleinwüchsige Versionen von *E. picta*, obwohl diese Art eigentlich für ihre größere Krone und höhere Wuchsform bekannt ist (FISCHER et al., 2008). Kleinblütige Exemplare von *E. picta* sind aber bekannt und wurden auch von uns an der Glocknerstraße (Glock2_04) als vermeintliche *E. minima* gesammelt. Bei den Individuen Kitz_05 und 08, wo zwei Versionen an Sequenzen vorlagen, kann davon ausgegangen werden, dass die jeweiligen Individuen zu *E. picta* gehören, da die Individuen keine morphologische Ähnlichkeit zu *E. hirtella* aufweisen.

Die Gruppierung der drei Individuen vom Mooserboden (Moos_01, 02 & 05) zu *E. tricuspidata* ist morphologisch nicht nachvollziehbar (FISCHER et al., 2008; FRANZ, 2012) aufgrund der unterschiedlichen Form der Blätter. Auch die geringe Unterstützung der Klade (BS<50) zeigt, dass die Ähnlichkeit der ITS-Sequenzen nicht sehr hoch ist. Um einer möglichen Verwandtschaft dieser Individuen mit der Gruppe um *E. cuspidata*, zu der *E. tricuspidata* gehört, auf den Grund zu gehen, müssten weitere Untersuchungen durchgeführt werden, wo die Verwandtschaftsgruppe von *E. cuspidata* besser abgedeckt wird. Hinsichtlich der Morphologie dieser drei Individuen sprechen die äußeren Merkmale eher für eine Zuordnung zu *E. salisburgensis*. Hierbei handelt es sich allerdings um eine allotetraploide Art (VITEK und KIEHN, 1998), die in den österreichischen Alpen weitverbreitet ist (FISCHER et al., 2008) und deren ITS-Sequenz in die Gruppe um *E. stricta* und *E. nemorosa* fällt (Abbildung 4). Die Individuen vom Mooserboden sind allerdings diploid (Tabelle 2). Eine Bestimmung auf Artniveau ist für diese Individuen nicht möglich. Das Gebiet des Mooserboden bleibt ein interessanter Standort für zukünftige *Euphrasia*-Untersuchung auch in Anbetracht der morphologischen Unterschiede und den verschiedenen Substitutionen in den ITS-Sequenzen der in die *Alpina*-Gruppe zugeordneten Individuen (Moos_03 & 04). Des Weiteren wäre eine ausgiebige genetische Untersuchung von *E. salisburgensis* angebracht. Die Individuen vom Mooserboden wären teilweise bei einer rein morphologischen Bestimmung als *E. salisburgensis* eingeordnet worden, da diese Art häufig Variationen in der Blattform zeigen. Es besteht die Möglichkeit, dass sich in der morphologisch variablen und weit verbreiteten *E. salisburgensis* mehrere, nicht notwendigerweise nahe verwandte Sippen verstecken, darunter eben auch diploide Exemplare, wie am Mooserboden.

Mit Hilfe der phylogenetischen Analyse stellte sich weiterhin heraus, dass sieben der acht sequenzierten tetraploiden Individuen, wie zu erwarten, mit *E. minima* gruppiert wurden. Die Bildung eines eigenen Clusters lässt sich hierbei wahrscheinlich auf die geographisch verschiedenen Sammlungsorte zurückführen. Die Individuen dieser Arbeit stammen alle aus den östlichen Hohen Tauern, während die Pflanzen aus HARTMANN et al. (2022) weiter westlich, beispielsweise in den Ötztaler Alpen, gesammelt wurden. Die geographische Entfernung kann ein Grund für die leicht verschiedenen ITS-Sequenzen sein, da mit zunehmender Entfernung der Genfluss abnimmt und Populationen der gleichen Art genetisch unterschiedlicher werden (ISHIDA, 2009). Weiterhin handelt es sich bei *E. minima* um eine allotetraploide Art (EHRENDORFER und VITEK, 1984; VITEK, 1986), sie könnte somit mehrfach aus Parentalformen mit unterschiedlichen ITS-Ribotypen entstanden sein. Zusätzlich könnten nach dem „concerted

evolution“-Ansatz (WANG et al., 2023) unterschiedliche ITS-Typen in verschiedenen Gebieten zur Dominanz gelangt sein, was die Abgrenzung der Individuen dieser Arbeit erklären würde.

Die Gruppierung des Individuum Glock_04 zu *E. wettsteinii* ist anhand der ITS-Sequenz nicht nachvollziehbar aufgrund mehrerer auftretender Unterschiede. Des Weiteren ist zurzeit kein Auftreten dieser arktisch-alpinen Art in Mitteleuropa bekannt (GUSSAROVA, 2005; GBIF SECRETARIAT, 2023c). Dass es sich hierbei aber möglicherweise um eine andere arktische *Euphrasia*-Art handelt, ist nicht auszuschließen. Das Verbreitungsgebiet von *E. arctica* reicht beispielsweise bis Südengland (BOTANICAL SOCIETY OF BRITAIN AND IRELAND, 2020; GBIF SECRETARIAT, 2023a) und Populationen von *E. frigida* sind auch in Deutschland bei der Rhön und bei Vogelsberg bekannt (MEUSEL und JÄGER, 2011a; SCHNEIDER und MAY, 2013).

Allgemein sind weitere Untersuchungen von *Euphrasia*-Individuen nötig, vor allem hinsichtlich der möglichen Relikte an *E. salisburgensis* am Mooserboden und möglicher arktischer Arten in den Alpen, da dies neue Erkenntnisse für den Naturschutz wären. Im Zusammenhang zum Naturschutz hinsichtlich *E. sinuata* und *E. inopinata* könnte eine leichte Entwarnung gegeben werden aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit. Allerdings sollten dafür vorerst einheitliche Dokumentationen dieser Arten durchgeführt werden, da eine Unterscheidbarkeit im Gelände nach wie vor schwierig ist, auch wegen kleinblütiger Formen großblütiger Gruppen (ser. *Euphrasia*). Zusätzlich erscheint eine detaillierte genetische Untersuchung von *E. sinuata* und *E. inopinata* angebracht, um auch die Frage ihrer genetischen Differenzierung zu klären.

5 Fazit

Aus der Datenerhebung und den Laboruntersuchungen dieser Arbeit ging hervor, dass 27 der untersuchten 80 Individuen diploid sind und diese dementsprechend nicht zu *E. minima* gehören. Weiterhin wurden anhand der phylogenetischen Analyse 17 dieser diploiden Individuen in die *Alpina*-Gruppe eingeordnet, sodass es sich hierbei um Vorkommen von *E. sinuata* oder *E. inopinata* handelt. Die anderen Proben mit diploidem Charakter wurden zu *E. picta* oder *E. officinalis* zugeordnet oder es war keine Einordnung in eine genaue Gruppe möglich. Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob *E. sinuata* weiterverbreitet ist als bisher angenommen. Auch wenn keine eindeutige Artunterscheidung zwischen *E. sinuata* und *E. inopinata* möglich ist, kann davon ausgegangen werden, dass das Verbreitungsgebiet von *E. sinuata* bis in die Zentralalpen der Hohen und Niederen Tauern reicht. Dementsprechend sollte in zukünftigen Untersuchungen die Unterschiede zwischen diesen zwei endemischen Arten ausführlich betrachtet werden, um eine klare Dokumentation in Zukunft zu ermöglichen. Diese ist nötig, um die Verbreitung von *E. sinuata* auch an weniger gut zugänglichen Gebieten erforschen zu können. Des Weiteren bleibt das Gebiet des Mooserboden als interessantes Gebiet für weitere Untersuchungen der *Euphrasia*-Arten bestehen, sowie die Betrachtung der Möglichkeit von arktischen *Euphrasia*-Arten in den Alpen.

6 Abstract

Endemische, alpine Pflanzenarten sind aufgrund ihrer meist geringen Verbreitung stärker anfällig auf die Folgen des Klimawandels. Demnach ist es angebracht, dass Vorkommen solcher Endemiten für den Erhalt der Artenvielfalt in Gebirgen gründlicher zu betrachten. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Verbreitung von *Euphrasia sinuata* (Orobanchaceae), bislang nur von zwei Lokalitäten in Tirol bekannt, zu untersuchen, denn aufgrund vorangegangener Studien kann davon ausgegangen werden, dass diese Art weiter verbreitet ist als bisher angenommen. Diese diploide Art ist allerdings schwer zu unterscheiden von der häufiger vorkommenden *E. minima*, die tetraploid ist. Um die Frage nach einer weiteren Verbreitung der diploiden Sippe zu klären, wurden 80 *Euphrasia*-Individuen in den Zentralalpen gesammelt und die Ploidiestufe der Proben mit Hilfe einer Durchflusszytometrie bestimmt. Die daraufhin als diploid erkannten Exemplare wurden außerdem anhand ihrer „internal transcribed spacer“-Sequenzen (ITS) Arten(gruppen) zugeordnet (DNA-Barcoding). Die Untersuchungen ergaben, dass 17 Individuen diploid sind und in die *Alpina*-Gruppe eingeordnet werden können. Bei diesen Individuen, die über fast das gesamte Untersuchungsgebiet verteilt waren, kann es sich somit um *E. sinuata*-Vorkommen handeln. Allerdings sind weitere Untersuchungen des Verbreitungsgebiets von *E. sinuata* in den Hohen und Niederen Tauern nötig aufgrund von Schwierigkeiten bei der Artbestimmung und Abgrenzung gegenüber *E. inopinata*.

Abstract

Endemic alpine plant species are more vulnerable to the effects of climate change because of their smaller distribution range. Therefore, the thorough study of the distribution of such endemics is necessary for preserving the biodiversity in mountain ranges. The aim of this thesis is to analyse the distribution range of *Euphrasia sinuata* (Orobanchaceae), which is currently known only from two locations in Tyrol. Based on previous studies, it is presumed that the species is far more widespread than previously assumed. This diploid species is, however, difficult to differentiate from the more common *E. minima*, which is tetraploid. In order to assess a putative wider distribution of the diploid taxon, 80 *Euphrasia* individuals were collected in the Central Alps and their ploidy level was determined using flow cytometry. Then, the internal transcribed spacer (ITS) sequences were examined for the found diploids to assign them to species (groups) following a DNA-barcoding approach. The results show that 17 samples, found across nearly the whole sampling area, are diploid and belong to the series *Alpinae*, thus these could be *E. sinuata*. However, further studies of the distribution range of *E. sinuata* in the Hohe and Niedere Tauern are necessary because of the difficulties in species identification and delimitation against *E. inopinata*.

7 Literatur

- AESCHIMANN, D., N. RASOLOFO UND J.-P. THEURILLAT, 2011: Analyse de la Flore des Alpes. 2: Biodiversité et Chorologie. *Candollea* **66** (2), 225–253, DOI:10.15553/c2011v662a1.
- BARANYI, M. UND J. GREILHUBER, 1996: Flow cytometric and Feulgen densitometric analysis of genome size variation in *Pisum*. *Theoretical and applied genetics*. **92** (3-4), 297–307, DOI:10.1007/BF00223672.
- BARFUSS, M.H.J., 2012: Molecular studies in Bromeliaceae: Implications of plastid and nuclear DNA markers for phylogeny, biogeography, and character evolution with emphasis on a new classification of Tillandsioideae. Dissertation, Universität Wien, DOI:10.25365/thesis.24037.
- BOTANICAL SOCIETY OF BRITAIN AND IRELAND, 2020: *Euphrasia arctica* Lange ex Rostrup (Arctic Eyebright): Distribution map. Zugriff: 14. Januar 2026, URL: <https://bsbi.org/taxa/2cd4p9h.h4y/euphrasia-arctica>.
- DIRNBÖCK, T., F. ESSL UND W. RABITSCH, 2011: Disproportional risk for habitat loss of high-altitude endemic species under climate change. *Global Change Biology* **17** (2), 990–996, DOI:10.1111/j.1365-2486.2010.02266.x.
- EHRENDORFER, F. UND E. VITEK, 1984: Evolution alpinen Populationen von *Euphrasia* (Scrophulariaceae): Entdeckung kleinblütiger diploider Sippe. *Plant Systematics and Evolution* **144**, 25–44, DOI:10.1007/BF00990798.
- FEITZINGER, G., H. IBETSBERGER UND W. VETTERS, 2003: Bergbau und Rohstoffe im Land Salzburg. Die Woche des Offenen Bergbaus 27.6. - 4.7.2003, 8. Zugriff: 7. Oktober 2025, URL: https://geopark-erzderalpen.at/wp-content/uploads/2024/04/12_Bergbau-und-Rohstoffe-im-Land-Salzburg.pdf.
- FISCHER, M.A., K. OSWALD UND W. ADLER, 2008: Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol. Linz, OÖ Landesmuseum.
- FRANZ, W.R., 2012: Dreizahn-Augentrost. Zugriff: 12. Dezember 2025, URL: <https://flora.nhm-wien.ac.at/Seiten-Arten/Euphrasia-tricuspidata.htm>.
- GBIF SECRETARIAT, 2023a: *Euphrasia arctica* Lange ex Rostr. Zugriff: 17. Dezember 2025, URL: <https://www.gbif.org/species/7968571>.
- GBIF SECRETARIAT, 2023b: *Euphrasia minima* Jacq. ex DC. Zugriff: 7. Oktober 2025, URL: <https://www.gbif.org/species/7989064>.
- GBIF SECRETARIAT, 2023c: *Euphrasia wettsteinii* var. *wettsteinii*. Zugriff: 17. Dezember 2025, URL: <https://www.gbif.org/species/7505252>.
- GUSSAROVA, G., M. POPP, E. VITEK UND C. BROCHMANN, 2008: Molecular phylogeny and biogeography of the bipolar *Euphrasia* (Orobanchaceae): recent radiations in an old genus. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **48** (2), 444–460, DOI:10.1016/j.ympev.2008.05.002.
- GUSSAROVA, G.L., 2005: *Euphrasia wettsteinii*. Zugriff: 17. Dezember 2025, URL: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:77073928-1#source-KBD>.
- HALL, T.A., 1999: BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* **41**, 95–98.
- HARSCH, M.A., P.E. HULME, M.S. MCGLONE UND R.P. DUNCAN, 2009: Are treelines advancing? A global meta-analysis of treeline response to climate warming. *Ecology Letters* **12** (10), 1040–1049, DOI:10.1111/j.1461-0248.2009.01355.x.

- HARTMANN, J., L. SILBERNAGL, G.M. SCHNEEWEISS, M.H.J. BARFUSS, H. WEISS-SCHNEEWEISS UND P. SCHÖNSWETTER, 2022: *Euphrasia ultima*, a new locally endemic diploid species from the Ortler/Ortles range (Italy), is a close relative of widespread allotetraploid *E. minima*. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* **156** (4), 893–907, DOI:10.1080/11263504.2021.1947409.
- ISHIDA, Y., 2009: Sewall Wright and Gustave Malécot on Isolation by Distance. *Philosophy of Science* **76** (5), 784–796, DOI:10.1086/605802.
- MAJOR, J., 1988: Endemism: a botanical perspective. In: *Analytical Biogeography*. MYERS, A.A. UND P.S. GILLER (Hrsg.), Dordrecht, Springer Netherlands, pp. 117–146, DOI: 10.1007/978-94-009-1199-4.
- MEUSEL, H. UND E. JÄGER, 2011a: Vergleichende Chorlogie der zentraleuropäischen Flora: *Euphrasia frigida*. Band II. Zugriff: 17. Dezember 2025, URL: <https://chorologie.biologie.uni-halle.de/choro/map.php?SearchString=Euphrasia&Spec=Euphrasia+frigida&Text=405&Map=408b&Volume=II&Sort=1&Lang=D>.
- MEUSEL, H. UND E. JÄGER, 2011b: Vergleichende Chorlogie der zentraleuropäischen Flora: *Euphrasia minima*. Band II. Zugriff: 19. November 2025, URL: <https://chorologie.biologie.uni-halle.de/choro/map.php?SearchString=Euphrasia+minima&Spec=Euphrasia+minima&Text=405&Map=408b&Volume=II&Sort=1&Lang=D>.
- MEYER, T. UND M. HASSLER, 2025: Mittelmeer- und Alpenflora: Bestimmungsschlüssel Augentrost. Zugriff: 23. Januar 2026, URL: https://www.mittelmeerflora.de/Zweikeim/Orobanchaceae/euphra_frigi.htm.
- NATIONALPARKKRAT HOHE TAUERN, 2005: Geologie der Hohen Tauern: Das Tauernfenster, 156. Zugriff: 7. Oktober 2025, URL: <https://hohetauern.at/images/dateien/unterrichtsmaterialien/geologie.pdf>.
- NATIONALPARKKRAT HOHE TAUERN, 2017: Alpine Ökologie: Subalpine Stufe, 49. Zugriff: 7. Oktober 2025, URL: <https://hohetauern.at/images/dateien/unterrichtsmaterialien/alpine-oekologie.pdf>.
- NOROOZI, J., A. PIRANI, H. MOAZZENI, M. MAHMOODI, G. ZARE, A. NOORMOHAMMADI, M.H.J. BARFUSS, M. SUEN UND G.M. SCHNEEWEISS, 2020: The new locally endemic genus *Yazdana* (Caryophyllaceae) and patterns of endemism highlight the high conservation priority of the poorly studied Shirkuh Mountains (central Iran). *Journal of Systematics and Evolution* **58** (3), 339–353, DOI:10.1111/jse.12575.
- OKONECHNIKOV, K., O. GOLOSOVA UND M. FURSOV, 2012: Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics (Oxford, England)* **28** (8), 1166–1167, DOI:10.1093/bioinformatics/bts091.
- PAN, D., P. SCHÖNSWETTER, T. MOSER, E. VITEK UND G.M. SCHNEEWEISS, 2019: Ancestral remnants or peripheral segregates? Phylogenetic relationships of two narrowly endemic *Euphrasia* species (Orobanchaceae) from the eastern European Alps. *AoB PLANTS* **11** (2), plz007, DOI:10.1093/aobpla/plz007.
- PESTAL, G., 2005: Geologischer Bau des Tauernfensters: Erläuterungen zu Blatt 182 Spittal a.d. Drau. Zugriff: 10. November 2025, URL: https://opac.geologie.ac.at/ais312/dokumente/ATA_2005_007.pdf.
- SCHMID, R., D. AESCHIMANN, K. LAUBER, D.M. MOSER, J.-P. THEURILLAT UND M. PRICE, 2005: Flora Alpina: Atlas des 4500 Plantes Vasculaires des Alpes. *Taxon* **54** (3): 843. DOI:10.2307/25065454.

- SCHNEIDER, T. UND R. MAY, 2013: *Euphrasia frigida* Pugsley: Skandinavischer Augentrost. Zugriff: 17. Dezember 2025, URL: <https://www.floraweb.de/webkarten/karte.html?taxon-id=2321>.
- SCHRATT-EHRENDORFER, L., H. NIKLFELD, C. SCHRÖCK UND O. STÖHR, 2022: Rote Liste der Farn- und Blütenpflanzen Österreichs: Stapfia **114**, 1– 357.
- SPEHN, E. UND K. RUDMANN-MAURER, 2010: Impacts of climate change on mountain biodiversity in Europe, 2. Zugriff: 19. November 2025, URL: <https://rm.coe.int/1680746a42>.
- STECHER, G., M. SULESKI, Q. TAO, K. TAMURA UND S. KUMAR, 2025: MEGA 12.1: Cross-platform release for macOS and Linux Operating Systems. Journal of Molecular Evolution, Springer, DOI:10.1007/s00239-025-10287-z.
- STEINBAUER, M.J., R. FIELD, J.-A. GRYTNES, P. TRIGAS, C. AH-PENG, F. ATTORRE, H.J.B. BIRKS, P.A.V. BORGES, P. CARDOSO, C.-H. CHOU, M. de SANCTIS, M.M. de SEQUEIRA, M.C. DUARTE, R.B. ELIAS, J.M. FERNÁNDEZ-PALACIOS, R. GABRIEL, R.E. GEREAU, R.G. GILLESPIE, J. GREIMLER, D.E.V. HARTER, T.-J. HUANG, S.D.H. IRL, D. JEANMONOD, A. JENTSCH, A.S. JUMP, C. KUEFFER, S. NOGUÉ, R. OTTO, J. PRICE, M.M. ROMEIRAS, D. STRASBERG, T. STUESSY, J.-C. SVENNING, O.R. VETAAS UND C. BEIERKUHNLEIN, 2016: Topography-driven isolation, speciation and a global increase of endemism with elevation. Global Ecology and Biogeography **25** (9), 1097–1107, DOI:10.1111/geb.12469.
- STÖCKLIN, J., 2018: Endemismus – Von Pflanzen mit beschränktem Areal und ihren Geheimnissen. Bauhinia **27**, 3-15.
- TAMURA, K. UND M. NEI, 1993: Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Molecular Biology and Evolution **10** (3), 512–526, DOI:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023.
- TEMSCH, E.M., 2003: Genome size variation in plants with special reference to the genus *Arachis* (Fabaceae), and the methodological improvement by application of a new optical immersion-gel in flow cytometry. Dissertation. Department of Systematic and Evolutionary Botany, Faculty Center of Biodiversity, University of Vienna.
- VESELÝ, P., P. BUREŠ UND P. ŠMARDA, 2013: Nutrient reserves may allow for genome size increase: evidence from comparison of geophytes and their sister non-geophytic relatives. Annals of Botany **112** (6), 1193–1200, DOI:10.1093/aob/mct185.
- VITEK, E., 1986: Evolution alpinen Populationen von *Euphrasia* (Scrophulariaceae): Die tetraploide *E. minima*. Plant Systematics and Evolution **151** (3-4), 241–269, DOI:10.1007/BF02430279.
- VITEK, E., 2000: *Euphrasia inopinata* Ehrendorfer & Vitek (Scrophulariaceae) in Salzburg. Wulfenia **7**, 83–86.
- VITEK, E., 2007: Buchten-Augentrost. Zugriff: 7. Oktober 2025, URL: <https://flora.nhm-wien.ac.at/Seiten-Arten/Euphrasia-sinuata.htm>.
- VITEK, E. UND M. KIEHN, 1998: *Euphrasia salisburgensis* var. *stiriaca* - eine ostalpine Reliktsippe. Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien (100B), 715–723.
- WANG, W., X. ZHANG, S. GARCIA, A.R. LEITCH UND A. KOVAŘÍK, 2023: Intragenomic rDNA variation - the product of concerted evolution, mutation, or something in between? Heredity **131** (3), 179–188, DOI:10.1038/s41437-023-00634-5.
- WHITE, T.J., T. BRUNS, S. LEE UND J. TAYLOR, 1990: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols*, Academic Press, Elsevier, pp. 315–322.

YANG, Z., 1993: Maximum-likelihood estimation of phylogeny from DNA sequences when substitution rates differ over sites. *Molecular Biology and Evolution* **10** (6), 1396–1401, DOI:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040082.

8 Anhang

Tabelle S 1 Koordinatentabelle mit dem Sammeldatum und der Seehöhe

Probenname	Standort	Koordinaten	Datum	Seehöhe in m
BadG_01	Bad Hofgastein Bergstation	47.155160, 13.057330	16.08.2025	2148
BadG_02	Bad Hofgastein Bergstation	47.154720, 13.058140	16.08.2025	2112
BadG_03	Bad Hofgastein Bergstation	47.154510, 13.058050	16.08.2025	2115
BadG_04	Bad Hofgastein Bergstation	47.154240, 13.057390	16.08.2025	2121
BadG_05	Bad Hofgastein Bergstation	47.154250, 13.056850	16.08.2025	2112
BadG_06	Bad Hofgastein Bergstation	47.156570, 13.057160	16.08.2025	2114
BadG_07	Bad Hofgastein Lungkogel	47.149740, 13.051960	08.09.2025	2129
BadG_08	Bad Hofgastein Lungkogel	47.149060, 13.051300	08.09.2025	2149
BadG_09	Bad Hofgastein Lungkogel	47.147370, 13.053110	08.09.2025	2124
Glock_01	Großglockner Hochalpenstr.	47.121160, 12.820310	13.08.2025	2299
Glock_02	Großglockner Hochalpenstr.	47.121110, 12.820300	13.08.2025	2307
Glock_03	Großglockner Hochalpenstr.	47.121920, 12.821780	13.08.2025	2323
Glock_04	Großglockner Hochalpenstr.	47.121070, 12.821660	13.08.2025	2322
Glock_05	Großglockner Hochalpenstr.	47.121070, 12.821480	13.08.2025	2330
Glock_06	Großglockner Hochalpenstr.	47.097760, 12.833120	13.08.2025	2390
Glock_07	Großglockner Hochalpenstr.	47.083840, 12.843120	13.08.2025	2571
Glock_08	Großglockner Hochalpenstr.	47.085020, 12.841900	13.08.2025	2514
Glock_09	Großglockner Hochalpenstr.	47.085010, 12.841940	13.08.2025	2518
Glock_10	Großglockner Hochalpenstr.	47.085150, 12.841880	13.08.2025	2536
Glock2_01	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.073880, 12.763400	14.08.2025	2204
Glock2_02	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.080430, 12.765570	14.08.2025	2282
Glock2_03	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.080360, 12.765410	14.08.2025	2296
Glock2_04	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.080390, 12.765000	14.08.2025	2276
Glock2_05	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.079830, 12.764510	14.08.2025	2313
Glock2_06	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.080640, 12.765870	20.08.2025	2296

Anhang

Probenname	Standort	Koordinaten	Datum	Seehöhe in m
Glock2_07	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.080710, 12.765720	20.08.2025	2298
Glock2_08	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.082270, 12.766300	20.08.2025	2313
Glock2_09	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.082020, 12.766050	20.08.2025	2312
Glock2_10	Glocknerstr. Naßfeldspeicher	47.081470, 12.765960	20.08.2025	2304
Glock3_01	Glockner Wasserfallwinkel	47.092778, 12.729167	25.08.2025	2225
Gold_01	Goldberggr. Göritzer Törl	46.971450, 12.950880	12.08.2025	2490
Gold_02	Goldberggr. Göritzer Törl	46.971540, 12.950720	12.08.2025	2496
Gold_03	Goldberggr. Göritzer Törl	46.971800, 12.950450	12.08.2025	2494
Gold_04	Goldberggr. Göritzer Törl	46.972040, 12.950210	12.08.2025	2503
Gold_05	Goldberggr. Göritzer Törl	46.972120, 12.950240	12.08.2025	2505
Gold_06	Goldberggr. Göritzer Törl	46.972070, 12.950390	12.08.2025	2506
Gold_07	Goldberggr. Göritzer Törl	46.972020, 12.950450	12.08.2025	2505
Gold_08	Goldberggr. Göritzer Törl	46.971450, 12.950870	12.08.2025	2495
Gold_09	Goldberggr. Göritzer Törl	46.971300, 12.950970	19.08.2025	2503
Gold_10	Goldberggr. Göritzer Törl	46.971260, 12.951300	19.08.2025	2501
Gold_11	Goldberggr. Göritzer Törl	46.972020, 12.950320	19.08.2025	2504
Kals_01	Kals Lucknerhütte	47.040030, 12.690190	17.08.2025	2292
Kals_02	Kals Glorerhütte	47.031220, 12.715720	18.08.2025	2695
Kals_03	Kals Glorerhütte	47.031220, 12.715870	18.08.2025	2695
Kals_04	Kals Glorerhütte	47.030980, 12.716140	18.08.2025	2697
Kals_05	Kals Glorerhütte	47.030870, 12.714640	18.08.2025	2688
Kals_06	Kals Glorerhütte	47.030460, 12.713230	18.08.2025	2672
Kals_07	Kals Glorerhütte	47.030410, 12.712160	18.08.2025	2667
Kitz_01	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_02	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_03	Sölkpass	47.271749, 14.079901	30.07.2025	1794
Kitz_04	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_05	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_06	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-

Anhang

Probenname	Standort	Koordinaten	Datum	Seehöhe in m
Kitz_07	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_08	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_09	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_10	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_11	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_12	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Kitz_13	Kitzbühler Horn	-	30.07.2025	-
Malta_01	Maltaberg	46.999580, 13.519770	24.08.2025	1901
Malta_02	Maltaberg	47.001010, 13.520600	24.08.2025	1915
Malta_03	Maltaberg	46.999060, 13.521090	24.08.2025	1917
Malta_04	Maltaberg	46.999170, 13.521170	24.08.2025	1919
Malta_05	Maltaberg	47.000070, 13.521730	24.08.2025	1919
Malta_06	Maltaberg	47.002350, 13.516230	25.08.2025	2070
Malta_07	Maltaberg	47.003280, 13.515850	25.08.2025	2084
Malta_08	Maltaberg	47.003840, 13.514490	25.08.2025	2086
Malta_09	Maltaberg	47.002380, 13.513480	25.08.2025	2087
Moos_01	Mooserboden Höhenburg	47.169270, 12.722840	15.08.2025	2123
Moos_02	Mooserboden Höhenburg	47.169660, 12.723060	15.08.2025	2107
Moos_03	Mooserboden Höhenburg	47.170000, 12.722970	15.08.2025	2140
Moos_04	Mooserboden Höhenburg	47.169910, 12.722980	15.08.2025	2145
Moos_05	Mooserboden Höhenburg	47.169170, 12.722930	15.08.2025	2112
Ober_01	Obertauern Seekarspitze	47.262480, 13.547000	23.08.2025	2023
Ober_02	Obertauern Seekarspitze	47.264170, 13.548080	23.08.2025	2036
Ober_03	Obertauern Seekarspitze	47.272370, 13.545860	26.08.2025	2262
Ober_04	Obertauern Seekarspitze	47.271570, 13.538260	26.08.2025	2226
Ober_05	Obertauern Seekarspitze	47.272340, 13.550980	09.09.2025	2166

Anhang

Tabelle S 2 Ergebnisse der Durchflusszytometrie mit der verwendeten Signalintensität (Gain), den Mittelwerten der Kurven (MW), dem Koeffizienten der Mittelwerte für die Berechnung der Genomgröße ($1C = pg$; Genomgröße = Koeffizient $\div$ Genomgröße Standard (1,58 pg)) und der Ploidiestufe (diploid = ~ 1 , tetraploid = ~ 2 ; Ploidie = Genomgröße der Probe $\div$ kleinste Genomgröße des Probensatzes (Glock2_06))

Probenname	Zytometriename	Datum	Gain	MW Probe	MW Standard	Koeffizient der MW	Genomgröße	Ploidie
BadG_01	BadG_01vsBellis_28102025	28.10.2025	385	155,73	254,33	0,612	0,967	2,05
BadG_02	BadG_02vsBellis_28102025	28.10.2025	295	171,95	275,05	0,625	0,988	2,09
BadG_03	BadG_03vsBellis_28102025	28.10.2025	385	152,4	249,15	0,612	0,966	2,05
BadG_04	BadG_04vsBellis_28102025	28.10.2025	295	169,19	267,97	0,631	0,998	2,11
BadG_05	BadG_05vsBellis_28102025	28.10.2025	295	162,99	261,7	0,623	0,984	2,09
BadG_06	BadG_06vsBellis_27102025	27.10.2025	295	160,44	264,89	0,606	0,957	2,03
BadG_07	BadG_07vsBellis_21102025	21.10.2025	290	153,59	249,56	0,615	0,972	2,06
BadG_08	BadG_08vsBellis_21102025	21.10.2025	375	148,16	245,93	0,602	0,952	2,02
BadG_09	BadG_09vsBellis_21102025	21.10.2025	290	153,8	246,11	0,625	0,987	2,09
Glock_01	Glock_01vsBellis_30102025	30.10.2025	385	152,07	242,83	0,626	0,989	2,10
Glock_02	Glock_02vsBellis_30102025	30.10.2025	385	149,75	242,64	0,617	0,975	2,07
Glock_03	Glock_03vsBellis_30102025	30.10.2025	385	80,93	258,8	0,313	0,494	1,05
Glock_04	Glock_04vsBellis_29102025	29.10.2025	295	173,41	268,89	0,645	1,019	2,16
Glock_05	Glock_05vsBellis_29102025	29.10.2025	385	83,23	264,4	0,315	0,497	1,05
Glock_06	Glock_06vsBellis_29102025	29.10.2025	295	166,19	260,54	0,638	1,008	2,14
Glock_07	Glock_07vsBellis_29102025	29.10.2025	385	157,76	258,23	0,611	0,965	2,05
Glock_08	Glock_08vsBellis_29102025	29.10.2025	-	-	-	-	-	-
Glock_09	Glock_09vsBellis_29102025	29.10.2025	-	-	-	-	-	-
Glock_10	Glock_10vsBellis_29102025	29.10.2025	295	165,91	263,47	0,630	0,995	2,11
Glock2_01	Glock2_01vsBellis_29102025	29.10.2025	385	175,29	242,84	0,722	1,140	2,42
Glock2_02	Glock2_02vsBellis_29102025	29.10.2025	295	84,79	261,79	0,324	0,512	1,08
Glock2_03	Glock2_03vsBellis_29102025	29.10.2025	385	80,55	255,1	0,316	0,499	1,06
Glock2_04	Glock2_04vsBellis_29102025	29.10.2025	295	88,83	259,08	0,343	0,542	1,15
Glock2_05	Glock2_05vsBellis_28102025	28.10.2025	295	94,1	268,19	0,351	0,554	1,18

Anhang

Probenname	Zytometriename	Datum	Gain	MW Probe	MW Standard	Koeffizient der MW	Genomgröße	Ploidie
Glock2_06	Glock2_06vsBellis_24102025	24.10.2025	385	79,88	263,57	0,303	0,479	1,02
Glock2_07	Glock2_07vsBellis_24102025	24.10.2025	385	80,98	271,21	0,299	0,472	1,00
Glock2_08	Glock2_08vsBellis_24102025	24.10.2025	385	80,23	267,35	0,300	0,474	1,01
Glock2_09	Glock2_09vsBellis_24102025	24.10.2025	385	171,63	275,35	0,623	0,985	2,09
	Wahrscheinlich diploid (Abbildung S 5)							
Glock2_10	Glock2_10vsBellis_24102025	24.10.2025	385	88,57	288,68	0,307	0,485	1,03
Glock3_01	Glock3_01vsBellis_21102025	21.10.2025	290	157,66	245,34	0,643	1,015	2,15
Gold_01	Gold_01vsBellis_31102025	31.10.2025	385	150,77	240,79	0,626	0,989	2,10
Gold_02	Gold_02vsBellis_31102025	31.10.2025	385	154,61	236,58	0,654	1,033	2,19
Gold_03	Gold_03vsBellis_31102025	31.10.2025	385	136,87	227,75	0,601	0,950	2,01
Gold_04	Gold_04vsBellis_31102025	31.10.2025	385	147,85	222,63	0,664	1,049	2,22
Gold_05	Gold_05vsBellis_31102025	31.10.2025	385	143,37	233,41	0,614	0,971	2,06
Gold_06	Gold_06vsBellis_30102025	30.10.2025	385	159,5	257,22	0,620	0,980	2,08
Gold_07	Gold_07vsBellis_30102025	30.10.2025	385	167,81	267,72	0,627	0,990	2,10
Gold_08	Gold_08vsBellis_30102025	30.10.2025	385	159,47	262,61	0,607	0,959	2,03
Gold_09	Gold_09vsBellis_27102025	27.10.2025	295	165,49	271,01	0,611	0,965	2,05
Gold_10	Gold_10vsBellis_27102025	27.10.2025	385	154,83	253,79	0,610	0,964	2,04
Gold_11	Gold_11vsBellis_27102025	27.10.2025	385	157,78	257,2	0,613	0,969	2,05
Kals_01	Kals_01vsBellis_27102025	27.10.2025	295	86,13	268,03	0,321	0,508	1,08
Kals_02	Kals_02vsBellis_27102025	27.10.2025	385	164,48	261,94	0,628	0,992	2,10
Kals_03	Kals_03vsBellis_27102025	27.10.2025	295	159,01	267,75	0,594	0,938	1,99
Kals_04	Kals_04vsBellis_27102025	27.10.2025	385	162,45	271,79	0,598	0,944	2,00
Kals_05	Kals_05vsBellis_27102025	27.10.2025	295	166,59	269,37	0,618	0,977	2,07
Kals_06	Kals_06vsBellis_27102025	27.10.2025	385	172,21	270,24	0,637	1,007	2,13
	Ungenaueres Ergebnis			83,45	269,48	0,310	0,489	1,04
Kals_07	Kals_07vsBellis_27102025	27.10.2025	295	161,18	274,06	0,588	0,929	1,97
Kitz_01	Kitz_01vsBellis_03112025	03.11.2025	385	71,47	214,82	0,333	0,526	1,11
Kitz_02	K2vsBellis_20102025	20.10.2025	-	-	-	-	-	-

Anhang

Probenname	Zytometriename	Datum	Gain	MW Probe	MW Standard	Koeffizient der MW	Genomgröße	Ploidie
Kitz_03	K3vsBellis_20102025	20.10.2025	375	156,9	238,63	0,658	1,039	2,20
Kitz_04	K4vsBellis_20102025	20.10.2025	-	-	-	-	-	-
Kitz_05	K5vsBellis_20102025	20.10.2025	295	83,67	255,74	0,327	0,517	1,10
Kitz_06	K6vsBellis_20102025	20.10.2025	375	82,38	240,69	0,342	0,541	1,15
Kitz_07	Kitz_07vsBellis_03112025	03.11.2025	395	89,26	267,23	0,334	0,528	1,12
Kitz_08	K8vsBellis_20102025	20.10.2025	-	-	-	-	-	-
Kitz_09	Kitz_09vsBellis_03112025	03.11.2025	390	83,43	242,46	0,344	0,544	1,15
Kitz_10	Kitz_10vsBellis_03112025	03.11.2025	390	72,66	221,81	0,328	0,518	1,10
Kitz_11	Kitz_11vsBellis_03112025	03.11.2025	390	72,13	222,16	0,325	0,513	1,09
Kitz_12	Kitz_12vsBellis_03112025	03.11.2025	395	86,49	257,63	0,336	0,530	1,12
Kitz_13	Kitz_13vsBellis_03112025	03.11.2025	395	93,17	273,85	0,340	0,538	1,14
Malta_01	Malta_01vsBellis_23102025	23.10.2025	385	154,23	274,35	0,562	0,888	1,88
Malta_02	Malta_02vsBellis_23102025	23.10.2025	385	175,25	292,29	0,600	0,947	2,01
Malta_03	Malta_03vsBellis_23102025	23.10.2025	385	87,65	282,07	0,311	0,491	1,04
Malta_04	Malta_04vsBellis_22102025	22.10.2025	290	171,2	258,33	0,663	1,047	2,22
	Ungenaues Ergebnis			87,42	258,99	0,338	0,533	1,13
Malta_05	Malta_05vsBellis_22102025	22.10.2025	385	184,83	299,38	0,617	0,975	2,07
	Ungenaues Ergebnis			90,11	299,09	0,301	0,476	1,01
Malta_06	Malta_06vsBellis_22102025	22.10.2025	290	149,66	251,46	0,595	0,940	1,99
Malta_07	Malta_07vsBellis_22102025	22.10.2025	290	152,49	258,32	0,590	0,933	1,98
Malta_08	Malta_08vsBellis_22102025	22.10.2025	385	180,26	294,89	0,611	0,966	2,05
Malta_09	Malta_09vsBellis_22102025	22.10.2025	290	155,34	260,61	0,596	0,942	2,00
Moos_01	Moos_01vsBellis_28102025	28.10.2025	385	87,97	243,07	0,362	0,572	1,21
Moos_02	Moos_02vsBellis_28102025	28.10.2025	385	93,37	256,57	0,364	0,575	1,22
Moos_03	Moos_03vsBellis_28102025	28.10.2025	295	83,3	270,31	0,308	0,487	1,03
Moos_04	Moos_04vsBellis_28102025	28.10.2025	385	85,51	260,43	0,328	0,519	1,10
Moos_05	Moos_05vsBellis_28102025	28.10.2025	295	98,27	262,13	0,375	0,592	1,26
Ober_01	Ober_01vsBellis_23102025	23.10.2025	385	184,53	302,66	0,610	0,963	2,04

Anhang

Probenname	Zytometriename	Datum	Gain	MW Probe	MW Standard	Koeffizient der MW	Genom- größe	Ploidie
Ober_02	Ober_02vsBellis_23102025	23.10.2025	385	93,38	301,89	0,309	0,489	1,04
Ober_03	Ober_03vsBellis_22102025	22.10.2025	290	157,55	259,61	0,607	0,959	2,03
Ober_04	Ober_04vsBellis_22102025	22.10.2025	385	176,1	285,03	0,618	0,976	2,07
Ober_05	Ober_05vsBellis_21102025	21.10.2025	375	150,57	241,32	0,624	0,986	2,09

Anhang

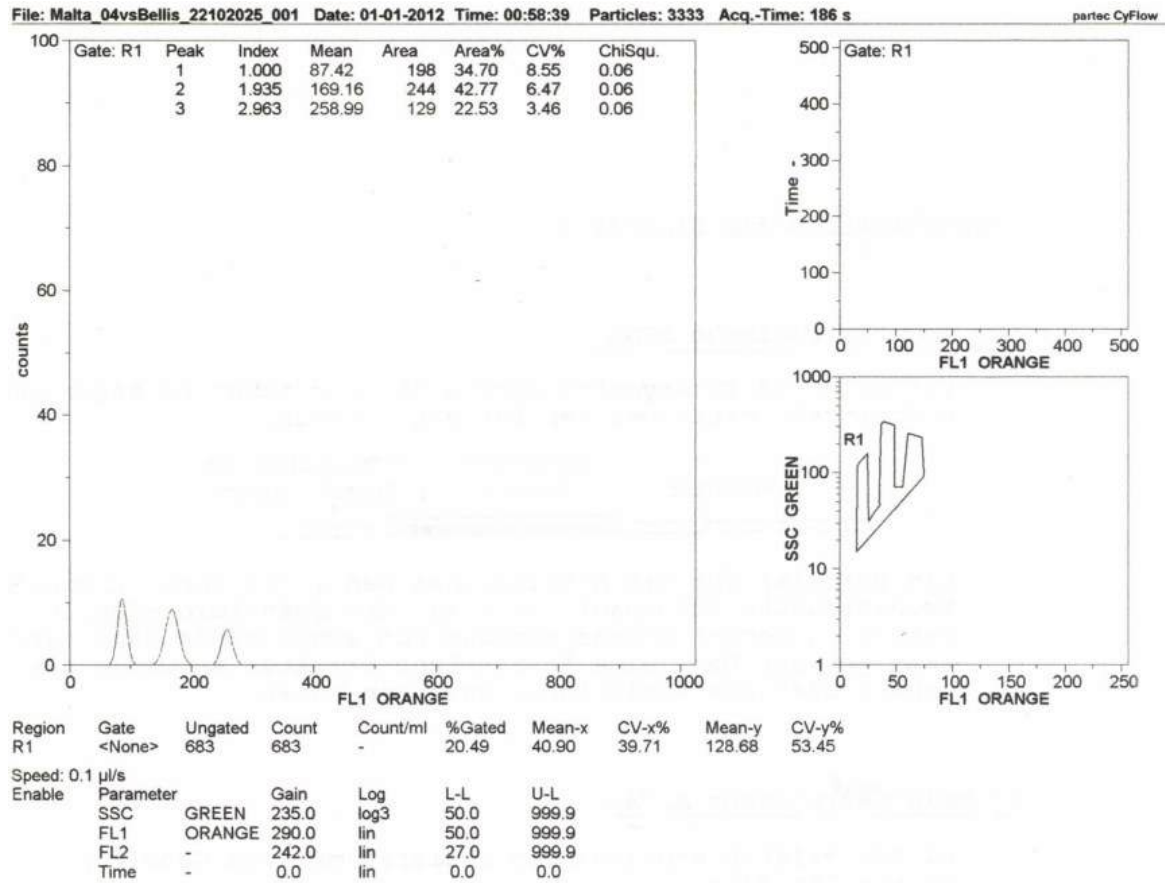


Abbildung S 1 Ungenaues Diagramm der Durchflusszytometrie von Malta_04 (gated)

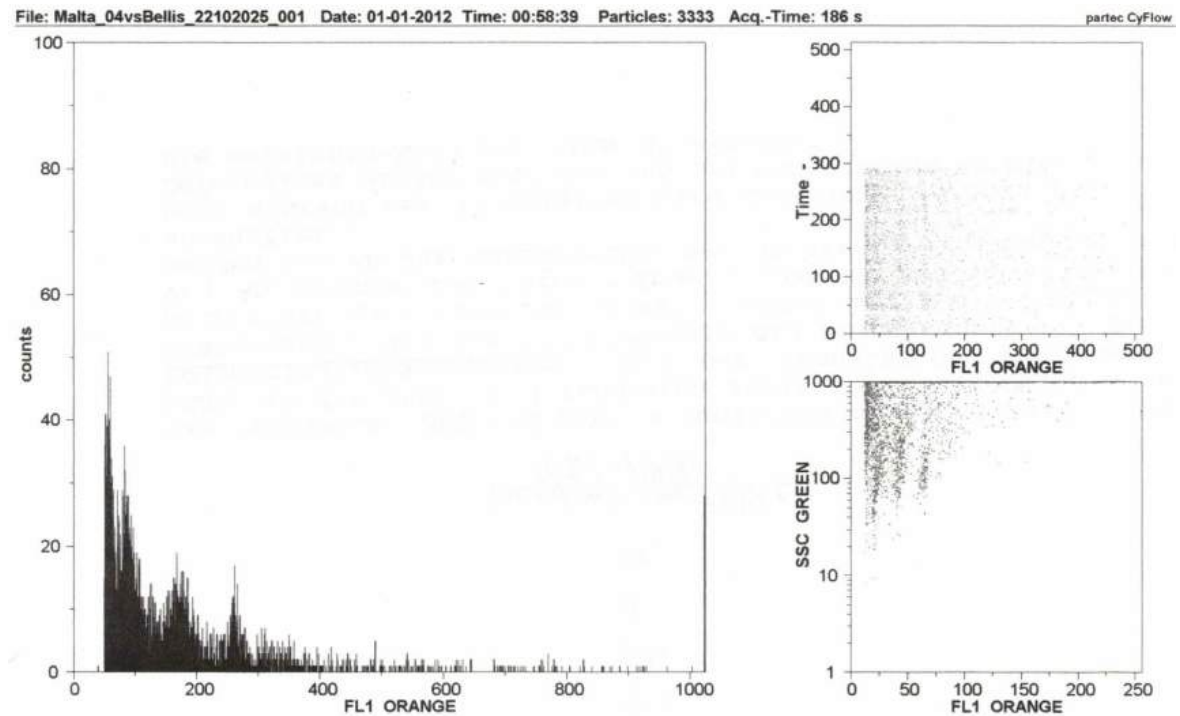


Abbildung S 2 Ungenaues Diagramm der Durchflusszytometrie von Malta_04

Anhang

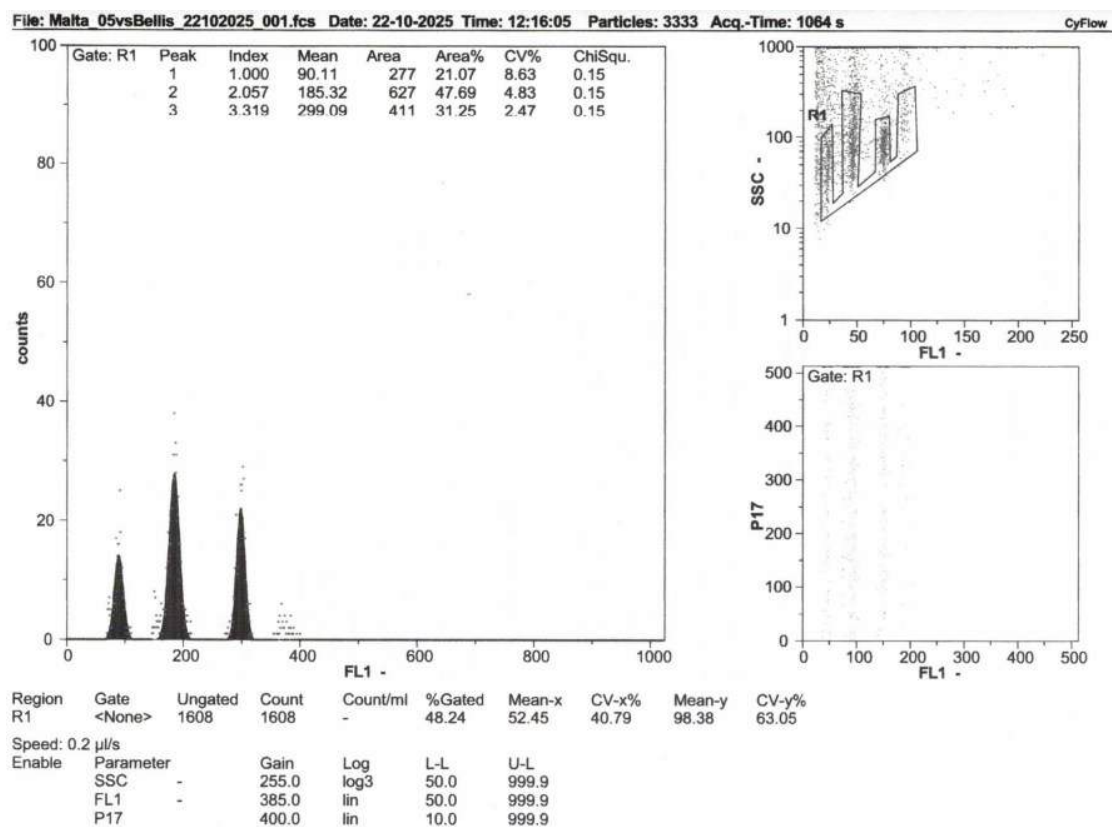


Abbildung S 3 Ungenaues Diagramm der Durchflusszytometrie von Malta_05 (gated)

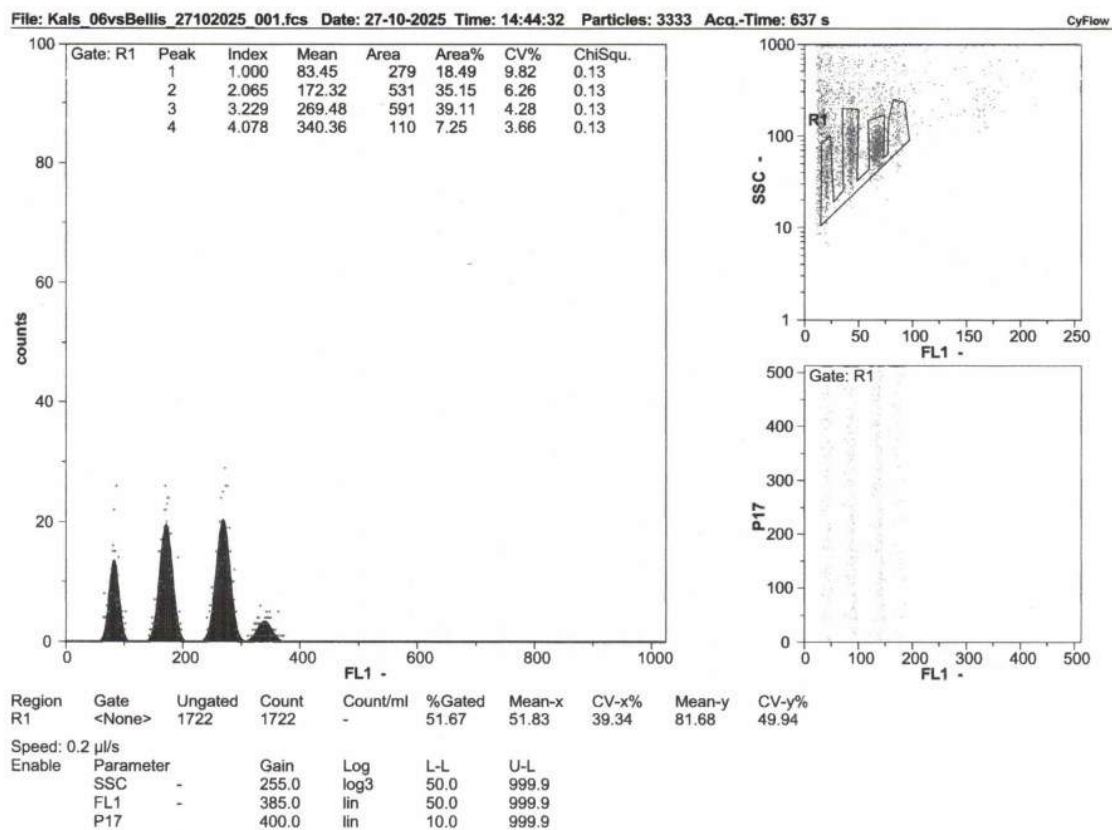


Abbildung S 4 Ungenaues Diagramm der Durchflusszytometrie von Kals_06 (gated)

Anhang

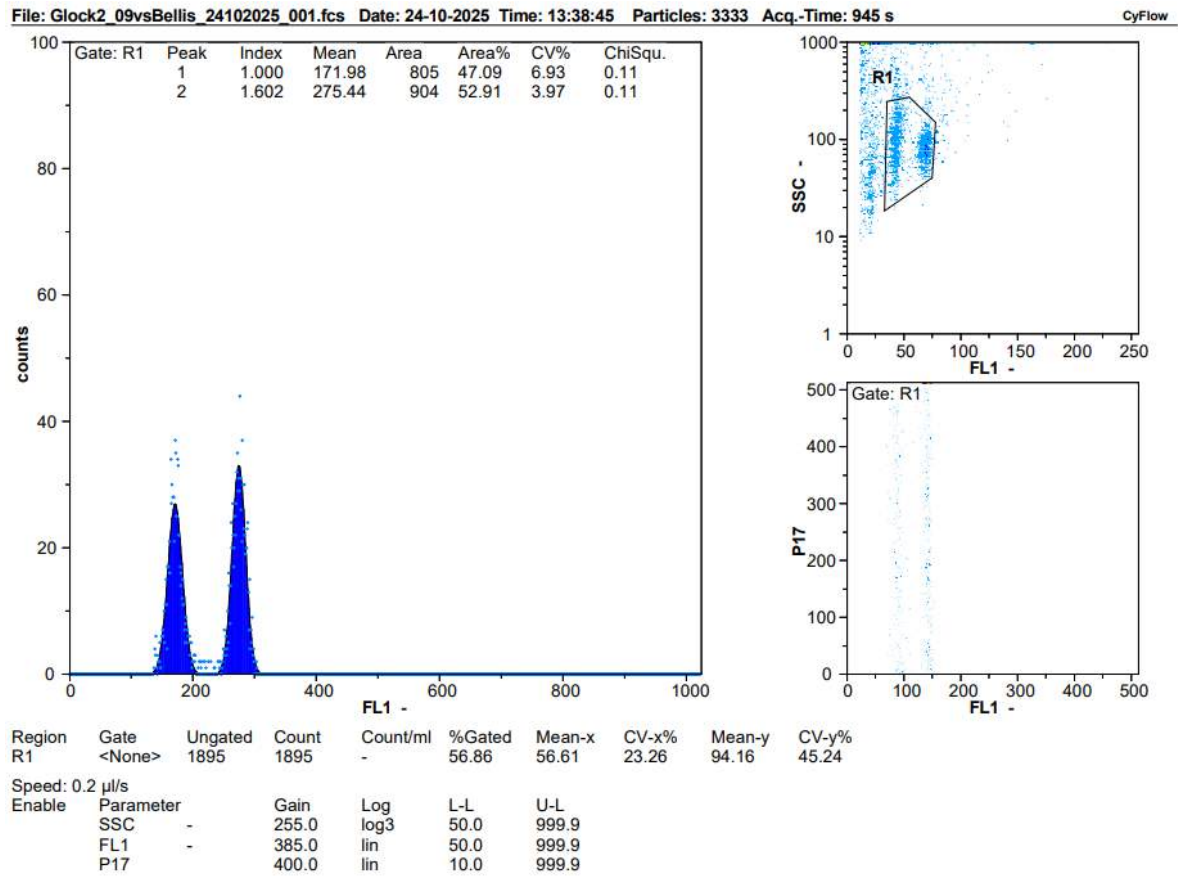


Abbildung S 5 Diagramm der Durchflusszytometrie von Glock2_09, was zu Beginn als tetraploid eingestuft wurde. Im Nachhinein aber wahrscheinlich diploid ist.