

Phylogenie und Evolution von *Saxifraga*
sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*
(Saxifragaceae)

Dissertation
zur Erlangung des Grades
Doktor der Naturwissenschaften

Am Fachbereich Biologie
Der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(D77)

Michael Alexander Gerschwitz-Eidt
geb. am 27.02.1989 in Karlsruhe

Mainz, 2022

Dekan: Herr Prof. Dr. Eckhard Thines

1. Berichterstatter: Herr Prof. Joachim W. Kadereit, Ph.D.

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: Dienstag, 14.03.2023

Inhalt

1	Allgemeine Einleitung	1
1.1	Die Entstehung der europäischen alpinen Flora im Quartär	1
1.2	<i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i> (ENGL. & IRMSCH.) TKACH ET AL.	3
1.3	Ziele der Arbeit	7
1.4	Literaturverzeichnis	9
2	Artenzusammensetzung von <i>S.</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	17
2.1	Zusammenfassung.....	17
2.2	Species composition of <i>Saxifraga</i> sect. <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i> (Saxifragaceae) based on DNA sequence evidence	19
2.3	Electronic Supplement.....	28
2.4	Literaturverzeichnis	36
3	Phylogenie und Evolution der Ökologie von <i>S.</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	38
3.1	Einleitung	38
3.2	Methoden.....	43
3.2.1	Untersuchungsmaterial.....	43
3.2.2	DNA-Sequenzierung	44
3.2.3	DNA-Sequenzassemblierung und -Alignments	45
3.2.4	Phylogenetische Untersuchungen.....	48
3.2.5	Molekulare Datierung	51
3.2.6	Rekonstruktion der ancestralen Ökologie.....	53
3.2.7	Bestimmung der Ploidiestufen aus DNA-Sequenzdaten	55
3.3	Ergebnisse.....	57
3.3.1	DNA-Sequenzassemblierung und -Alignments	57
3.3.2	Phylogenetische Untersuchungen.....	58
3.3.3	Molekulare Datierung	61
3.3.4	Bestimmung der Ploidiestufen aus DNA-Sequenzdaten	62
3.3.5	Rekonstruktion der ancestralen Ökologie.....	66
3.4	Diskussion	70
3.4.1	Kladogenese in <i>Saxifraga</i> sect. <i>Saxifraga</i>	70
3.4.2	Ploidiestufen von <i>S.</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	72
3.4.3	Die Entstehung von ökologisch divergenten Arten als periphere Isolate .	75

3.4.4	<i>Saxifraga facchinii</i> , eine Hybridart	78
3.4.5	Anzestrale Ökologie von <i>S.</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	80
3.4.6	Ökologische Diversifizierung durch adaptive Evolution in Glazialrefugien	81
3.5	Literaturverzeichnis	86
3.6	Anhang.....	109
3.6.1	Anhang 1: Tabellen	110
3.6.2	Anhang 2: Abbildungen	119
3.6.3	Anhang 3: Elektronischer Anhang	131
4	Zusammenfassung	132
5	Summary	134
6	Tabellenverzeichnis	135
7	Abbildungsverzeichnis	136
8	Danksagung.....	137
9	Lebenslauf.....	138

1 Allgemeine Einleitung

1.1 Die Entstehung der europäischen alpinen Flora im Quartär

Die Entstehung der heutigen europäischen alpinen Flora¹ wurde in besonderem Maße durch die globalen Klimaveränderungen geprägt, die mit dem Ende des Klimaoptimums im mittleren Miozän einsetzten. In Mitteleuropa sank die jährliche Durchschnittstemperatur im Laufe des Pliozäns von 20°C auf 10°C und mit dem Anbruch des Quartärs vor ca. 2,6 Millionen Jahren begann die Quartäre Eiszeit mit ihrem Wechsel aus Kalt- und Warmzeiten, den sog. Glazialen und Interglazialen (Ozenda 2009). Pflanzen reagierten auf die Klimaschwankungen des Quartärs mit Aussterben, Migration oder Evolution (Bennett 1997). Während das Aussterben von Arten zwar selten war, aber durchaus belegt ist (Bennett 1997), ist die Migration in und aus Refugialgebieten, welche als Gebiete definiert sind, in denen eine bestimmte Art einen gesamten Glazial-Interglazial-Zyklus überlebt hat (Hewitt 2004), anhand fossiler Belege, insbesondere Pollenfossilien (Bennett 1997; Birks 2019; Lang 1994), der Phylogeografie (Hewitt 1996, 2000, 2004), der Analyse alter DNA (Birks & Birks 2016) und *species distribution modelling* (Svenning et al. 2011) umfassend dokumentiert. Es ist argumentiert worden, dass die für Artbildung erforderlichen Phasen von Isolation im Quartär nie lang genug gewesen sind (Willis & Niklas 2004).² Dennoch haben die klimatischen Schwankungen des Quartärs nachweislich zu Evolution geführt, nämlich zu genetischer Differenzierung und Artbildung, häufig ausgelöst durch Veränderungen der geografischen Verbreitung. Diese Veränderungen führten durch Fragmentierung der Verbreitungsgebiete sowohl zu einer Divergenz in geografischer Isolation als auch zu Introgression und Hybridartbildung

¹ Mit dem Begriff „alpine Flora“ wird im weiteren Sinne die gesamte Vegetation der alpinen Höhenzone oberhalb der Baumgrenze und unterhalb der klimatischen Schneegrenze (in den Alpen mit einer ganzjährig geschlossenen Schneedecke) bezeichnet. Im engeren Sinne umfasst der Begriff die Gesamtheit der Pflanzenarten, die ausschließlich in der alpinen Zone vorkommen oder deren Verbreitungsschwerpunkt dort liegt. Für weiterführende Informationen zur Begriffsgeschichte und eine vertiefende Definition vgl. Körner (2021).

² Zu Beginn des Quartärs dauerte ein Glazial-Interglazial-Zyklus ca. 41.000 Jahre. Spätestens mit Anbruch des Mittelpleistozäns verlängerte sich die Dauer der Glazial-Interglazial-Zyklen abrupt auf ca. 100.000 Jahre, wobei die Dauer der Interglaziale nur 10.000–30.000 Jahre betrug (Past Interglacials Working Group of PAGES 2016).

bei sekundärem Kontakt der vormals geografisch getrennten Linien (Kadereit & Abbott 2021).

In Europa wurden sowohl die Verbreitung von intraspezifischer genetischer Variation als auch die Verbreitungsmuster von regional endemischen Arten, in Verbindung mit geologischen und paläoökologischen Belegen, dazu genutzt, um wichtige Refugialgebiete zu identifizieren, z. B. für alpine Arten in und um die Alpen (Schönswetter et al. 2005; Tribsch & Schönswetter 2003) und für den Mittelmeerraum (Hewitt 2011; Médail & Diadema 2009; Nieto Feliner 2011). Neben Artbildung durch Isolation als Folge der Fragmentierung der Verbreitungsgebiete waren auch die jeweils unterschiedlichen abiotischen und biotischen Bedingungen in den fragmentierten Verbreitungsgebieten von großer Bedeutung (Bennett 1997; Davis & Shaw 2001; Hewitt 1996, 2000, 2004). Dementsprechend waren die Umweltbedingungen in Gebieten, die als eiszeitliche Refugien dienten, nicht dieselben wie in den Gebieten, in denen die Arten in den Eiszeiten des Quartärs ausstarben. Glazialrefugien waren also nicht einfach nur Zufluchtsorte, in denen Arten vor dem Aussterben bewahrt wurden (Nieto Feliner 2011), sondern Orte, an denen die Anpassung an unterschiedliche Bedingungen zu genetischer Divergenz und schließlich zur Artbildung führen konnte (Davis & Shaw 2001; Hewitt 1996, 2000; Lafontaine et al. 2018; Stewart et al. 2010; Stewart & Stringer 2012). Außerdem waren die abiotischen und biotischen Bedingungen in Refugialgebieten im Quartär eindeutig Veränderungen unterworfen. Betrachtet man alpine Arten, d. h. die Arten der Hochgebirgsflora, so wären die von Schönswetter et al. (2005) identifizierten Glazialrefugien in und um die europäischen Alpen Kaltzeitrefugien (Birks & Willis 2008). Da viele alpine Arten in den Kaltzeiten viel weiter außerhalb dieser Refugien verbreitet waren, wie fossile Belege zeigen (Birks & Willis 2008; Tzedakis et al. 2013), waren diese Kaltzeitrefugien zumindest einiger alpiner Arten viel größer als ihre heutigen Verbreitungsgebiete. In den Interglazialen des Quartärs und des Holozäns haben sowohl die sich ändernden klimatischen Bedingungen als auch die zunehmende Konkurrenz mit Komponenten der Vegetation, die die Kaltzeitrefugien wiederbesiedelten, die meisten alpinen Arten, sofern sie nicht ausgestorben sind, auf ihre derzeitigen Verbreitungsgebiete beschränkt. Diese kann man deshalb als Interglazial- (Bennett & Provan 2008) oder Warmzeitrefugien verstehen (Bhagwat & Willis 2008; Birks & Willis 2008). Allerdings konnten Populationen alpiner Arten auch in überwiegend kleinen Gebieten innerhalb des

ehemaligen Kaltzeitrefugiums überleben, wenn diese für konkurrenzfähigere Komponenten der Warmzeit-Vegetation ungeeignet waren (Birks & Willis 2008; Gentili et al. 2015; Pigott & Walters 1954). Solche Populationen oder Arten haben im Laufe der Zeit dramatische Veränderungen der Umweltbedingungen im Wechsel der Warm- und Kaltzeiten erlebt. Diese Veränderungen müssen notwendigerweise nicht nur ökologische, sondern auch evolutionäre Folgen gehabt haben.

1.2 *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (ENGL. & IRMSCH.) TKACH ET AL.

Die Gattung *Saxifraga* L., mit 440–500 Arten die mit Abstand artenreichste Gattung der Saxifragaceae (Tkach et al. 2015; Webb & Gornall 1989; Zhmylev 2004), ist eine ökologisch ungemein formenreiche Gattung mit vielfältigen Lebensformen und besiedelt so unterschiedliche Lebensräume wie Gewässerufer, Wälder, Grasland, Moore und Felsen in allen Höhenzonen vom Tiefland bis hinauf in die nivale Zone (Engler 1872; Webb & Gornall 1989). Die von *Saxifraga* besiedelten Standorte zeichnen sich in der Regel durch relativ niedrige Jahresmitteltemperaturen, Trockenheit oder eine Kombination beider Merkmale aus (Engler 1872; Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989). *Saxifraga* besitzt eine ausgeprägte arktisch-alpine Verbreitung und tritt in den größten Artenzahlen in Hochasien und im Europäischen alpinen System auf (Engler 1872, 1891, 1930; Tkach et al. 2015; Webb & Gornall 1989). Engler (1872) vermutete einen tertiären Ursprung und führte die heutige Verbreitung der Gattung auf die arktischen und alpinen Vergletscherungen des Quartärs zurück. In bisher veröffentlichten molekularphylogenetischen Studien wurde für *Saxifraga* überwiegend ebenfalls ein tertiärer Ursprung rekonstruiert (Deng et al. 2015; Folk et al. 2019; Gao et al. 2015; Zhu et al. 2013), wengleich Ebersbach, Müllner-Riehl et al. (2017) einen deutlich älteren kretazeischen Ursprung postulierten. Auch wenn Englers Erklärungsversuch nach heutigem Kenntnisstand zu eindimensional war und beispielsweise die Hebung von Gebirgen und die damit verbundenen Entstehung neuer Lebensräume sowie die Zunahme der Habitatheterogenität wichtige Faktoren für die Diversifizierung von *Saxifraga* darstellen (Ebersbach, Müllner-Riehl et al. 2017; Ebersbach, Schnitzler et al. 2017; Liu et al. 2020, 2022), so belegen doch zahlreiche Studien die Bedeutung der globalen Abkühlung im Pliozän und der Quartären Eiszeit für die Diversifizierung dieser

überwiegend an kalte Lebensräume angepassten Gattung (z. B. Conti et al. 1999; Ebersbach, Müllner-Riehl et al. 2017; Folk et al. 2019; Tkach et al. 2019).

Saxifraga sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (ENGL. & IRMSCH.) TKACH ET AL. wurde erstmals von Tkach et al. (2015) beschrieben und umfasst mindestens zehn Arten (Ebersbach, Müllner-Riehl et al. 2017; Tkach et al. 2019). Diese sind *S. aphylla* STERNB., *S. arachnoidea* STERNB., *S. berica* (BÉG.) D. A. WEBB, *S. facchinii* W. D. J. KOCH, *S. hohenwartii* VEST EX STERNB., *S. paradoxa* STERNB., *S. petraea* L., *S. presolanensis* ENGL., *S. sedoides* L. und *S. tenella* WULFEN (Abb. 1). Diese Arten kommen nur in oder in der Nähe der Alpen vor. Die Untersektion *Arachnoideae*, die durch die sehr

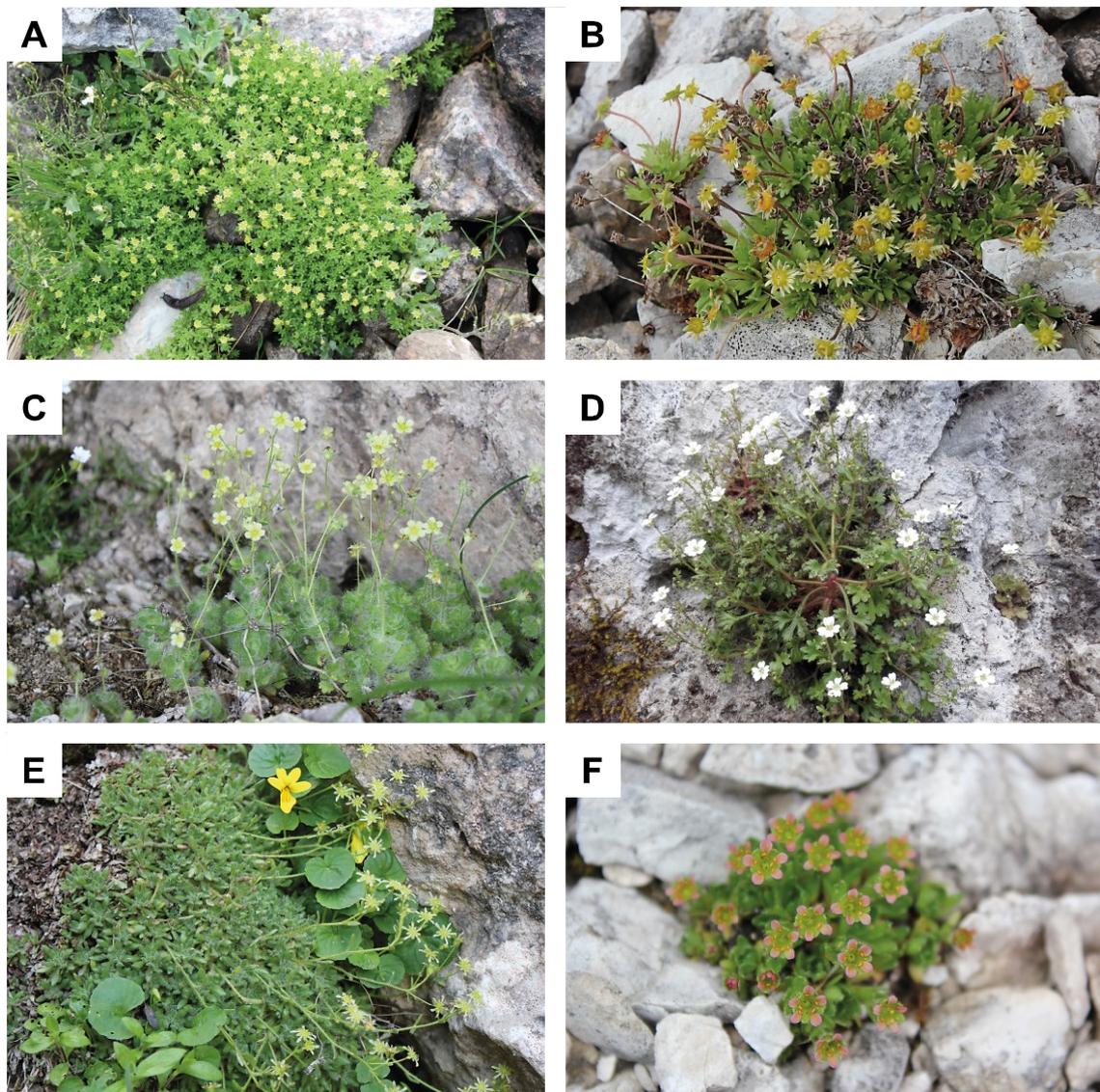


Abb. 1: Einige Steinbreche der Untersektion *Arachnoideae* in ihrem natürlichen Habitat. (A) *Saxifraga sedoides*; (B) *S. aphylla*; (C) *S. arachnoidea*; (D) *S. petraea*; (E) *S. presolanensis*; (F) *S. facchinii*.

detaillierten Beschreibungen von Webb & Gornall (1989) und Kaplan (1995), aber vor allem durch die Verfügbarkeit von ökologischen Zeigerwerten für die meisten Arten (Landolt et al. 2010) ökologisch gut beschrieben ist, ist in Bezug auf die ökologische Diversifizierung äußerst bemerkenswert (Tab. 1). Während beispielsweise *S. aphylla* weitgehend oberhalb der Baumgrenze in Höhen bis zu 3200 m wächst, ist *S. berica* auf ein kleines Gebiet in den Colli Berici nahe Vicenza (Norditalien) außerhalb der Alpen beschränkt, wo sie in schattigen Nischen unter überhängenden Felsen in Höhen unter 444 m wächst. Andere Arten der Untersektion, die meist in niedrigeren als alpinen und häufig in kollinen oder montanen Höhenlagen unter sehr schattigen und feuchten Bedingungen unter überhängenden Felsen, in Nischen und Höhlen oder an Höhleneingängen wachsen, sind die kalkliebende *S. arachnoidea* und die kalkmeidende *S. paradoxa*, die beide in der Vergangenheit oft als Tertiärrelikte interpretiert worden sind (Gams 1933; Hayek 1908; Meusel 1943; Pitschmann & Reisigl 1959).

Bisher veröffentlichte phylogenetische Analysen der Untersektion *Arachnoideae* umfassten möglicherweise nicht alle Taxa und konnten die phylogenetischen Beziehungen nicht vollständig aufklären (Ebersbach, Müllner-Riehl et al. 2017; Tkach et al. 2015, 2019). Zwei offensichtliche Kandidaten für eine Zugehörigkeit zur Untersektion *Arachnoideae* sind einerseits *Saxifraga prenja* BECK aus den Dinarischen Alpen, Teil der *S. sedoides*-Gruppe (Hörandl 1993) und entweder im Artrang (Hörandl 1993) oder als Unterart (Webb & Gornall 1989) geführt, sowie andererseits *S. muscoides* ALL. aus den Alpen, die in der Vergangenheit als eng verwandt mit *S. facchinii* angesehen wurde (Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989). Zudem wurden in bisherigen Arbeiten Konflikte zwischen den aus DNA-Sequenzen des ribosomalen *internal transcribed spacer* (ITS) berechneten phylogenetischen Bäumen und den aus Plastidengenom-Sequenzen berechneten Stammbäumen festgestellt. Als mögliche Ursache für diese Konflikte zwischen ITS- und Plastiden-Phylogenien wurden *incomplete lineage sorting* (ILS)³ und (adaptive) Introgression genannt (Ebersbach et al. 2020; Tkach et al. 2015).

³ Der Begriff Incomplete lineage sorting (ILS; Syn. deep coalescence), bezeichnet ein Phänomen in der Populationsgenetik, bei dem ein Genbaum eine vom entsprechenden Artbaum abweichende Topologie zeigt. ILS entsteht, wenn ancestrale Polymorphismen ein oder mehrere Artbildungsereignisse überdauern und ein nachträglicher Verlust mancher Genvarianten (oder das Unvermögen alle Genvarianten zu identifizieren) nicht alle Nachfahren eines Artbildungsereignisses gleichermaßen betrifft. Dies führt dazu, dass die verbleibenden Genvarianten unabhängig vom Artbaum in die Nachfahren segregieren (Maddison 1997; Nei 1987; Tajima 1983).

Tab. 1: Höhenverbreitung und Habitate von *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (sensu Ebersbach, Müller-Riehl et al. 2017), *S. prenja* und *S. muscoides* nach Hörandl (1993), Kaplan (1995) und Webb & Gornall (1989).

Art	Höhenverbreitung	Habitat
<i>S. aphylla</i>	alpin (1730–3200 m)	Volllichtexponiertes karbonatreiches Geröll und steiniger Boden
<i>S. arachnoidea</i>	montan–subalpin (600–1850 m)	Im Halbschatten in Feinsubstrat/Staub in Nischen unter überhängenden Felsen von Karbonatgestein
<i>S. berica</i>	kollin (bis 444 m)	Feuchte Nischen unter überhängenden Felsen von Karbonatgestein, im tiefen Schatten
<i>S. facchinii</i>	alpin (2250–3000 m)	Lichtexponiert auf Felsen von Karbonatgestein
<i>S. hohenwartii</i>	subalpin–alpin (1700–2200 m)	Auf Karbonatgestein und -geröll im Halbschatten
<i>S. muscoides</i>	alpin (2250–4200 m)	Auf volllichtexponierten Felsen von basenarmen Gesteinen
<i>S. paradoxa</i>	kollin–submontan (bis 500 m)	Im Schatten unter überhängenden Felsen und an Höhleneingängen auf basenarmen Gesteinen
<i>S. petraea</i>	kollin–submontan (bis 500 m, selten an wärmebegünstigten Standorten bis zu 1900 m)	Im Halbschatten auf oder unter überhängenden Karbonatgestein-Felsen und an Höhleneingängen
<i>S. prenja</i>	Subalpin(–alpin) (ca. 1400–2000 m)	Auf Karbonatgestein und -geröll im Halbschatten, oft in Dolinen.
<i>S. presolanensis</i>	subalpin–alpin (1800–2100 m)	An senkrechten oder überhängenden halbschattigen Felsen von Karbonatgestein
<i>S. sedoides</i>	subalpin–alpin (1800–2800 m)	Auf volllichtexponiertem Karbonatgestein und -geröll
<i>S. tenella</i>	montan–subalpin (700–2000 m)	Felsen und Geröllhalden von Karbonatgestein, im Halbschatten

Interspezifische Hybride, sowohl natürliche als auch künstlich erzeugte, sind in *Saxifraga* insgesamt und besonders in *Saxifraga* sect. *Saxifraga* ein häufig zu beobachtendes Phänomen (Ebersbach et al. 2020; McGregor 2008; McGregor & Harding 1998; Webb & Gornall 1989). Hybridisierung findet in *Saxifraga* meistens innerhalb der Sektionen zwischen nahverwandten Arten statt, jedoch sind auch intersektionale Hybride bekannt (Ebersbach et al. 2020; Webb & Gornall 1989). Mit *S. osloensis* KNABEN (Brochmann et al. 1996; Knaben 1954; Nilsson & Jorde 1998) und *S. wahlenbergii* BALL (Tkach et al. 2019) wurden bereits zwei etablierte Hybridarten in *Saxifraga* sect. *Saxifraga* nachgewiesen, die als eigenständige Linien aus der Hybridisierung von jeweils zwei Elternarten hervorgegangen sind. In *S.* subsect. *Arachnoideae* wurden mit *S.* × *muretii* RAMB. (*S. aphylla* × *S. muscoides*), *S.* × *angelisii* STROBL (*S. aphylla* × *S. sedoides*) und *S.* × *reyeri* HUTER EX A.KERN. (*S. sedoides* × *S. tenella*) drei natürlich auftretende Hybride beschrieben (Ebersbach et al. 2020; McGregor & Harding 1998). Retikulation

infolge von Hybridisierung ist deshalb eine plausible Erklärung für die in bisherigen Arbeiten festgestellten Konflikte zwischen nukleären und plastidären Phylogenien, wenngleich molekularphylogenetische Nachweise solcher Ereignisse für die Untersektion *Arachnoideae* bisher noch nicht vorliegen. Auch wenn in den letzten Jahren intensive Anstrengungen unternommen wurden, um ein tieferes Verständnis für Hybridisierung und Hybridartbildung zu schaffen (Payseur & Rieseberg 2016), ist die Bedeutung von ökologischer Differenzierung und geografischer Verbreitung für Hybridisierung und Hybridartbildung nicht sehr gut erforscht, obwohl ein Zusammenhang seit langem impliziert wird (Kadereit 2015). Zumindest für homoploide Hybridartbildung kann die ökogeografische Differenzierung der Hybride von den Elternarten als gut etabliert angesehen werden (Yakimowski & Rieseberg 2014) und wurde auch in Modellierungsstudien als wesentlicher Teil des homoploiden hybriden Speziationsprozesses identifiziert (Buerkle et al. 2000, 2003). Das wahrscheinlichste Resultat von interspezifischer Hybridisierung ist aber nicht Hybridartbildung, sondern adaptive Introgression⁴ (Anderson & Hubricht 1938; Arnold 2016). Intra- und interspezifische introgressive Hybridisierung erhöhen die genetische Variation der introgressierten Arten (Anderson & Stebbins 1954; Arnold 2016) und könnten dazu beigetragen haben, dass Arten während der Klimaschwankungen des Quartärs sich an neue Bedingungen in den Glazialrefugien anpassen konnten. Die ökologische Vielfalt in *S. subsect. Arachnoideae* könnte daher aus dem Zusammenspiel von Veränderungen der geografischen Verbreitung während des Quartärs und einer erhöhten genetischen Variation infolge von interspezifischer Hybridisierung entstanden sein.

1.3 Ziele der Arbeit

Vor diesem Hintergrund wurde in dieser Arbeit versucht, die Phylogese von *S. subsect. Arachnoideae* zu rekonstruieren, einen möglichen Einfluss von Hybridisierung und

⁴ Introgression bezeichnet einen Prozess, bei dem es infolge von Rückkreuzung eines Hybriden mit einer seiner Elternlinien zum Transfer von genetischer Variation aus einer Elternlinie in die andere kommt. Anderson & Hubricht (1938) waren die ersten, die diesen Prozess unter dem Begriff „introgressive Hybridisierung“ analysierten. Die Übertragung von adaptiven Merkmalen als mögliches Ergebnis der Introgression wurde schon früh postuliert (Anderson 1949) und war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (Arnold 2016; Heiser 1973; Rieseberg & Wendel 1993).

Introgression auf dieselbe zu bestimmen und den Vorgang sowie den zeitlichen Rahmen der Evolution der ökologischen Nische näher zu charakterisieren.

Folgende Hypothesen wurden in dieser Arbeit untersucht:

1. *Saxifraga prenja* und *S. muscoides* sind weitere Mitglieder von *S. subsect. Arachnoideae*.
2. Die Diversifizierung der ökologischen Nische von *S. subsect. Arachnoideae* wurde ausgelöst und maßgeblich beeinflusst von den Quartären Klimaschwankungen.
3. Die ökologische Vielfalt von *S. subsect. Arachnoideae* ist außerdem eine Folge von interspezifischer Hybridisierung.

Dazu wurde im ersten Teil der Arbeit (Kapitel 2) zunächst mithilfe von klassischen molekularphylogenetischen Untersuchungen die Artzusammensetzung von *S. subsect. Arachnoideae* bestimmt und die Ergebnisse vor dem Hintergrund der existierenden Klassifikationen diskutiert. Im zweiten Teil der Arbeit (Kapitel 3) wurde die Phylogenese mithilfe moderner molekularphylogenetischer Methoden unter Berücksichtigung von Hybridisierung näher untersucht und die molekularen Phylogenien dazu verwendet, die möglichen Ursachen der ökologischen Diversifizierung dieser Abstammungslinie zu untersuchen.

1.4 Literaturverzeichnis

- Anderson, E. (1949). *Introgressive hybridization*. John Wiley and Sons.
- Anderson, E., & Hubricht, L. (1938). Hybridization in *Tradescantia*. III. The evidence for introgressive hybridization. *American Journal of Botany*, 25(6), 396–402. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1938.tb09237.x>
- Anderson, E., & Stebbins, G. L. (1954). Hybridization as an evolutionary stimulus. *Evolution*, 8(4), 378. <https://doi.org/10.2307/2405784>
- Arnold, M. L. (2016). Anderson's and Stebbins' prophecy comes true: Genetic exchange in fluctuating environments. *Systematic Biology*, 41(1), 4–16.
- Bennett, K. D. (1997). *Evolution and ecology: The pace of life*. Cambridge University Press.
- Bennett, K. D., & Provan, J. (2008). What do we mean by 'refugia'? *Quaternary Science Reviews*, 27(27–28), 2449–2455. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2008.08.019>
- Bhagwat, S. A., & Willis, K. J. (2008). Species persistence in northerly glacial refugia of Europe: A matter of chance or biogeographical traits? *Journal of Biogeography*, 35(3), 464–482. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01861.x>
- Birks, H. J. B. (2019). Contributions of Quaternary botany to modern ecology and biogeography. *Plant Ecology & Diversity*, 12(3–4), 189–385. <https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1646831>
- Birks, H. J. B., & Birks, H. H. (2016). How have studies of ancient DNA from sediments contributed to the reconstruction of Quaternary floras? *New Phytologist*, 209(2), 499–506. <https://doi.org/10.1111/nph.13657>
- Birks, H. J. B., & Willis, K. J. (2008). Alpines, trees, and refugia in Europe. *Plant Ecology & Diversity*, 1(2), 147–160. <https://doi.org/10.1080/17550870802349146>
- Brochmann, C., Nilsson, T., & Gabrielsen, T. M. (1996). A classic example of postglacial allopolyploid speciation re-examined using RAPD markers and nucleotide sequences: *Saxifraga osloensis* (Saxifragaceae). *Acta Universitatis Upsaliensis Symbolae Botanicae Upsalienses*, 31(3), 75–89.

- Buerkle, C. A., Morris, R. J., Asmussen, M. A., & Rieseberg, L. H. (2000). The likelihood of homoploid hybrid speciation. *Heredity*, 84(4), 441–451. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2000.00680.x>
- Buerkle, C. A., Wolf, D. E., & Rieseberg, L. H. (2003). The origin and extinction of species through hybridization. In C. A. Brigham & M. W. Schwartz (Hrsg.), *Population Viability in Plants* (Bd. 165, S. 117–141). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-09389-4_5
- Conti, E., Soltis, D. E., Hardig, T. M., & Schneider, J. (1999). Phylogenetic relationships of the silver saxifrages (*Saxifraga*, Sect. Ligulatae Haworth): Implications for the evolution of substrate specificity, life histories, and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 13(3), 536–555.
- Davis, M. B., & Shaw, R. G. (2001). Range shift and adaptive responses to quaternary climate change. *Science*, 292, 673–679.
- Deng, J. B., Drew, B. T., Mavrodiev, E. V., Gitzendanner, M. A., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2015). Phylogeny, divergence times, and historical biogeography of the angiosperm family Saxifragaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 83, 86–98. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.11.011>
- Ebersbach, J., Müllner-Riehl, A. N., Michalak, I., Tkach, N., Hoffmann, M. H., Röser, M., Sun, H., & Favre, A. (2017). In and out of the Qinghai-Tibet Plateau: Divergence time estimation and historical biogeography of the large arctic-alpine genus *Saxifraga* L. *Journal of Biogeography*, 44(4), 900–910. <https://doi.org/10.1111/jbi.12899>
- Ebersbach, J., Schnitzler, J., Favre, A., & Müllner-Riehl, A. N. (2017). Evolutionary radiations in the species-rich mountain genus *Saxifraga* L. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1), 119. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0967-2>

- Ebersbach, J., Tkach, N., Röser, M., & Favre, A. (2020). The role of hybridisation in the making of the species-rich arctic-alpine genus *Saxifraga* (Saxifragaceae). *Diversity*, 12(11), 440.
- Engler, H. G. A. (1872). *Monographie der Gattung Saxifraga L.: Mit besonderer Berücksichtigung der geographischen Verhältnisse*. Kern.
- Engler, H. G. A. (1891). Saxifragaceae. In H. G. A. Engler & K. A. E. Prantl (Hrsg.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien: Nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten insbesondere den Nutzpflanzen: Bd. III, 2a* (S. 41–93). Engelmann.
- Engler, H. G. A. (1930). Saxifragaceae. In H. G. A. Engler & K. A. E. Prantl (Hrsg.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten, insbesondere den Nutzpflanzen* (2. Aufl., Bd. 18a, S. 74–226). Engelmann.
- Folk, R. A., Stubbs, R. L., Mort, M. E., Cellinese, N., Allen, J. M., Soltis, P. S., Soltis, D. E., & Guralnick, R. P. (2019). Rates of niche and phenotype evolution lag behind diversification in a temperate radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(22), 10874–10882. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817999116>
- Gams, H. (1933). Der tertiäre Grundstock der Alpenflora. *Jahrbuch des Vereins zum Schutze der Alpenpflanzen*, 5, 7–37.
- Gao, Q.-B., Li, Y.-H., Gornall, R. J., Zhang, Z.-X., Zhang, F.-Q., Xing, R., Fu, P.-C., Wang, J.-L., Liu, H.-R., Tian, Z.-Z., & Chen, S.-L. (2015). Phylogeny and speciation in *Saxifraga* sect. *Ciliatae* (Saxifragaceae): Evidence from *psbA-trnH*, *trnL-F* and ITS sequences. *Taxon*, 64(4), 703–713. <https://doi.org/10.12705/644.3>
- Gentili, R., Bacchetta, G., Fenu, G., Cogoni, D., Abeli, T., Rossi, G., Salvatore, M. C., Baroni, C., & Citterio, S. (2015). From cold to warm-stage refugia for boreo-alpine plants in southern European and Mediterranean mountains: The last chance to survive or an opportunity for speciation? *Biodiversity*, 16(4), 247–261. <https://doi.org/10.1080/14888386.2015.1116407>

- Hayek, A. von. (1908). Die xerothermen Pflanzenrelikte in den Ostalpen. *Verhandlungen des Zoologisch-Botanischen Vereins in Wien*, 58, 302–322.
- Heiser, C. B. (1973). Introgression re-examined. *The Botanical Review*, 39(4), 347–366. <https://doi.org/10.1007/BF02859160>
- Hewitt, G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58(3), 247–276. <https://doi.org/10.1006/bijl.1996.0035>
- Hewitt, G. M. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405(6789), 907–913. <https://doi.org/10.1038/35016000>
- Hewitt, G. M. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 359(1442), 183–195. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1388>
- Hewitt, G. M. (2011). Quaternary phylogeography: The roots of hybrid zones. *Genetica*, 139(5), 617–638. <https://doi.org/10.1007/s10709-011-9547-3>
- Hörandl, E. (1993). Revision der *Saxifraga sedoides*-Gruppe (Saxifragaceae) hinsichtlich Systematik, Verbreitung und Vegetationsanschluß. *Phyton - Annales Rei Botanicae*, 33(1), 87–119.
- Kadereit, J. W. (2015). The geography of hybrid speciation in plants. *Taxon*, 64(4), 673–687. <https://doi.org/10.12705/644.1>
- Kadereit, J. W., & Abbott, R. J. (2021). Plant speciation in the Quaternary. *Plant Ecology & Diversity*, 14(3–4), 105–142. <https://doi.org/10.1080/17550874.2021.2012849>
- Kaplan, K. (1995). *Saxifraga*. In H. J. Conert, E. J. Jäger, J. W. Kadereit, W. Schultze-Motel, G. Wagenitz, & H. E. Weber (Hrsg.), *Gustav Hegi. Illustrierte Flora von Mitteleuropa: Band IV, Teil 2A: Spermatophyta: Angiospermae: Dicotyledones 2* (2) (3. Aufl., S. 136–223). Blackwell Wissenschaft.
- Knaben, G. (1954). *Saxifraga osloensis* n. Sp., a tetraploid species of the Tridactylites section. *Nytt Magasin for botanikk*, 3, 117–138.

- Körner, C. (2021). *Alpine plant life: Functional plant ecology of high mountain ecosystems* (third edition). Springer.
- Lafontaine, G., Napier, J. D., Petit, R. J., & Hu, F. S. (2018). Invoking adaptation to decipher the genetic legacy of past climate change. *Ecology*, *99*(7), 1530–1546. <https://doi.org/10.1002/ecy.2382>
- Landolt, E., Bäumler, B., Erhardt, A., Hegg, O., Klötzli, F., Lämmli, W., Nobis, M., Rudmann-Maurer, K., Schweingruber, F. H., Theurillat, J.-P., Urmi, E., Vust, M., & Wohlgemuth, T. (2010). *Flora indicativa: Ökologische Zeigerwerte und biologische Kennzeichen zur Flora der Schweiz und der Alpen* (2., völlig neu bearb. und erw. Aufl.). Haupt.
- Lang, G. (1994). *Quartäre Vegetationsgeschichte Europas: Methoden und Ergebnisse*. G. Fischer.
- Liu, L., Xu, X., Zhang, L., Li, Y., Shrestha, N., Neves, D. M., Wang, Q., Chang, H., Su, X., Liu, Y., Wu, J., Dimitrov, D., Wang, Z., & Liu, J. (2022). Global patterns of species richness of the holarctic alpine herb *Saxifraga*: The role of temperature and habitat heterogeneity. *Journal of Plant Ecology*, *15*(2), 237–252. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtab085>
- Liu, L., Xu, Y., Tang, Y., Du, W., Shao, C., Wu, J., Zhao, L., Zhang, L., Liu, J., & Xu, X. (2020). The importance of including soil properties when disentangling the drivers of species richness: The case of the alpine genus *Saxifraga* L. in China. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *8*, 244. <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00244>
- Maddison, W. P. (1997). Gene trees in species trees. *Systematic Biology*, *46*(3), 523–536. <https://doi.org/10.1093/sysbio/46.3.523>
- McGregor, M. (2008). *Saxifrages: A definitive guide to the 2000 species, hybrids & cultivars*. Timber Press.

- McGregor, M., & Harding, W. (1998). *Saxifrages: The complete list of species*. The Saxifrage Society.
- Médail, F., & Diadema, K. (2009). Glacial refugia influence plant diversity patterns in the Mediterranean Basin. *Journal of Biogeography*, 36(7), 1333–1345. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.02051.x>
- Meusel, H. (1943). *Vergleichende Arealkunde*. Bornträger.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. <https://doi.org/10.7312/nei-92038>
- Nieto Feliner, G. (2011). Southern European glacial refugia: A tale of tales. *Taxon*, 60(2), 365–372.
- Nilsson, T., & Jorde, P. E. (1998). Allozyme variation in allotetraploid *Saxifraga osloensis* and its diploid progenitors. *Nordic Journal of Botany*, 18, 425–430.
- Ozenda, P. (2009). On the genesis of the plant population in the Alps: New or critical aspects. *Comptes Rendus Biologies*, 332(12), 1092–1103. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2009.09.018>
- Past Interglacials Working Group of PAGES. (2016). Interglacials of the last 800,000 years. *Reviews of Geophysics*, 54(1), 162–219. <https://doi.org/10.1002/2015RG000482>
- Payseur, B. A., & Rieseberg, L. H. (2016). A genomic perspective on hybridization and speciation. *Mol Ecol*, 25(11), 2337–2360. <https://doi.org/10.1111/mec.13557>
- Pigott, C. D., & Walters, S. M. (1954). On the interpretation of the discontinuous distributions shown by certain British species of open habitats. *The Journal of Ecology*, 42(1), 95. <https://doi.org/10.2307/2256981>
- Pitschmann, H., & Reisigl, H. (1959). Endemische Blütenpflanzen der Südalpen zwischen Luganersee und Etsch. *Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes Rübel in Zürich*, 35, 44–68. <https://doi.org/10.5169/SEALS-308131>

- Rieseberg, L. H., & Wendel, J. F. (1993). Introgression and its consequences in plants. In R. G. Harrison (Hrsg.), *Hybrid zones and the evolutionary process* (S. 70–109). Oxford University Press.
- Schönswetter, P., Stehlik, I., Holderegger, R., & Tribsch, A. (2005). Molecular evidence for glacial refugia of mountain plants in the European Alps. *Molecular Ecology*, *14*(11), 3547–3555. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02683.x>
- Stewart, J. R., Lister, A. M., Barnes, I., & Dalén, L. (2010). Refugia revisited: Individualistic responses of species in space and time. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1682), 661–671. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1272>
- Stewart, J. R., & Stringer, C. B. (2012). Human evolution out of Africa: The role of refugia and climate change. *Science*, *335*(6074), 1317–1321. <https://doi.org/10.1126/science.1215627>
- Svenning, J.-C., Fløjgaard, C., Marske, K. A., Nógues-Bravo, D., & Normand, S. (2011). Applications of species distribution modeling to paleobiology. *Quaternary Science Reviews*, *30*(21–22), 2930–2947. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2011.06.012>
- Tajima, F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, *105*(2), 437–460. <https://doi.org/10.1093/genetics/105.2.437>
- Tkach, N., Röser, M., Miehe, G., Müllner-Riehl, A. N., Ebersbach, J., Favre, A., & Hoffmann, M. H. (2015). Molecular phylogenetics, morphology and a revised classification of the complex genus *Saxifraga* (Saxifragaceae). *Taxon*. <https://doi.org/10.12705/646.4>
- Tkach, N., Röser, M., Suchan, T., Cieślak, E., Schönswetter, P., & Ronikier, M. (2019). Contrasting evolutionary origins of two mountain endemics: *Saxifraga wahlenbergii* (Western Carpathians) and *S. styriaca* (Eastern Alps). *BMC Evolutionary Biology*, *19*(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12862-019-1355-x>

- Tribsch, A., & Schönswetter, P. (2003). Patterns of endemism and comparative phylogeography confirm palaeo-environmental evidence for Pleistocene refugia in the Eastern Alps. *Taxon*, 52(3), 477–497.
- Tzedakis, P. C., Emerson, B. C., & Hewitt, G. M. (2013). Cryptic or mystic? Glacial tree refugia in northern Europe. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(12), 696–704. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.09.001>
- Webb, D. A., & Gornall, R. J. (1989). *Saxifrages of Europe. With notes on African, American and some Asiatic Species*. Christopher Helm.
- Willis, K. J., & Niklas, K. J. (2004). The role of Quaternary environmental change in plant macroevolution: The exception or the rule? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1442), 159–172. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1387>
- Yakimowski, S. B., & Rieseberg, L. H. (2014). The role of homoploid hybridization in evolution: A century of studies synthesizing genetics and ecology. *American Journal of Botany*, 101(8), 1247–1258. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400201>
- Zhmylev, P. Y. (2004). *Rod Saxifraga L.(Saxifragaceae): Biomorfologia, sistematika i evolutsia zhiznennykh form [Genus Saxifraga L.(Saxifragaceae): Biomorphology, systematics and evolution of the life forms]* [Dissertation]. Moscow State University.
- Zhu, W.-D., Nie, Z.-L., Wen, J., & Sun, H. (2013). Molecular phylogeny and biogeography of *Astilbe* (Saxifragaceae) in Asia and eastern North America. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171(2), 377–394. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01318.x>

2 Artenzusammensetzung von *S. subsect. Arachnoideae*

2.1 Zusammenfassung

Die Geschichte der infragenerischen Klassifizierung von *Saxifraga* L. (Saxifragaceae) wurde ausführlich von Webb & Gornall (1989) beschrieben. Die wohl wichtigsten Beiträge zur Kenntnis der Gattung waren Adolf Englers Monografie (1872) und alle Abhandlungen in den beiden Ausgaben von „Die natürlichen Pflanzenfamilien“ und in „Das Pflanzenreich“ (Engler 1891, 1930; Engler & Irmscher 1916, 1919). Die Klassifizierung von Engler & Irmscher (Engler & Irmscher 1916, 1919) wurde später von Gornall (1987) modifiziert, der damit die Grundlage für die von Webb & Gornall (1989) in ihrer Monografie „Saxifrages of Europe“ verwendete Klassifizierung schuf. In ihrer Analyse von *Saxifraga* unter Verwendung von DNA-Sequenzdaten von 254 Arten (inzwischen erweitert durch Ebersbach et al. 2017), führten Tkach, Röser, Miede et al. (2015) *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* basierend auf *S. sect. Nephrophyllum* GAUD. grex *Arachnoideae* ENGL. & IRMSCH. ein. Tkach, Röser, Miede et al. (2015) identifizierten *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. paradoxa*, *S. petraea*, *S. presolanensis*, *S. sedoides* (von der nur ssp. *hohenwartii* (VEST EX STERNB.) SCHWARZ von diesen Autoren sequenziert wurde) und *S. tenella* als Mitglieder von *S. subsect. Arachnoideae*. Die Gruppe wurde von Ebersbach et al. (2017), die *S. sedoides* subsp. *hohenwartii* im Artrang als *S. hohenwartii* behandelten, um *S. sedoides* subsp. *sedoides* sowie von Tkach et al. (2019) um *S. facchinii* erweitert.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde die Artzusammensetzung von *S. subsect. Arachnoideae* mithilfe von DNA-Sequenzdaten, nämlich dem *internal transcribed spacer* der ribosomalen DNA sowie den Plastidenmarkern *trnL-trnF* und *rpl32-trnL(UAG)*, molekularphylogenetisch untersucht. Neben den bereits bekannten Mitgliedern der subsect. *Arachnoideae* wurden die offensichtlichen Kandidaten *S. muscoides* und *S. prenja* sowie weitere bisher nicht sequenzierte Arten der Sektion *Saxifraga* sequenziert. Die neu erzeugten DNA-Sequenzen wurden gemeinsam mit DNA-Sequenzen aus bereits veröffentlichten Untersuchungen (Ebersbach et al. 2017; Folk et al. 2019; Tkach, Röser, Miede et al. 2015; Tkach, Röser & Hoffmann 2015; Tkach et al. 2019; Vargas et al. 1999; Vargas 2000) für eine phylogenetische Rekonstruktion verwendet.

Basierend auf den Ergebnissen dieser Untersuchungen besteht die Untersektion *Arachnoideae* aus 12 Arten, nämlich *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. muscoides*, *S. paradoxa*, *S. petraea*, *S. prenja*, *S. presolanensis*, *S. sedoides* und *S. tenella*. Damit liefert diese Studie den ersten molekularen Beweis für die Zugehörigkeit von *S. muscoides* und *S. prenja* zu *S. subsect. Arachnoideae*. Die molekularphylogenetischen Untersuchungen wurden um eine erweiterte morphologische Charakterisierung der Untersektion und einen Bestimmungsschlüssel für ihre Arten ergänzt. Die Ergebnisse dieser Studie wurde 2020 in der Fachzeitschrift *Willdenowia* veröffentlicht (Gerschwitz-Eidt & Kadereit 2020) und sind in den beiden folgenden Abschnitten in unveränderter Form abgedruckt.

2.2 Species composition of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (Saxifragaceae) based on DNA sequence evidence

Willdenowia

Annals of the Botanic Garden and Botanical Museum Berlin



MICHAEL A. GERSCHWITZ-EIDT¹* & JOACHIM W. KADEREIT¹

Species composition of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (Saxifragaceae) based on DNA sequence evidence

Version of record first published online on 26 May 2020 ahead of inclusion in August 2020 issue.

Abstract: We investigated the species composition of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*, a recently recognized taxon, using DNA sequence data (ITS, *trnL-trnF*, *rpl32-trnL*^{UAG}). We conclude that the subsection contains 12 species, i.e. *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. muscoides*, *S. paradoxa*, *S. petraea*, *S. prenja*, *S. presolanensis*, *S. sedoides* and *S. tenella*. Of these, we provide the first molecular evidence for the membership of *S. muscoides* and *S. prenja* in *S.* subsect. *Arachnoideae*. We provide an extended morphological characterization of the subsection and an identification key to its species.

Key words: ecology, homoplasy, ITS, morphological characters, *rpl32-trnL*^{UAG}, *Saxifraga*, *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*, *Saxifragaceae*, *trnL-trnF*

Article history: Received 16 October 2019; peer-review completed 9 March 2020; received in revised form 7 April 2020; accepted for publication 9 April 2020.

Citation: Gerschwitz-Eidt M. A. & Kadereit J. W. 2020: Species composition of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (Saxifragaceae) based on DNA sequence evidence. – *Willdenowia* 50: 225–233. doi: <https://doi.org/10.3372/wi.50.50208>

Introduction

The history of the infrageneric classification of *Saxifraga* L. (Saxifragaceae), a genus of between 440 to 500 species in its current circumscription (Tkach & al. 2015), has been described in detail by Webb & Gornall (1989). Probably the most important contributor to the knowledge of the genus was Adolf Engler as author of a monograph (Engler 1872) and of all treatments in both editions of *Die natürlichen Pflanzenfamilien* and in *Das Pflanzenreich* (Engler 1891; Engler & Irmscher 1916, 1919; Engler 1930). The Engler & Irmscher (1916, 1919) classification was later modified by Gornall (1987), who provided the basis for the classification used by Webb & Gornall (1989) in their account of *Saxifraga* in Europe. The use of DNA sequence data for the study of *Saxifraga* soon revealed that the genus is monophyletic only

after exclusion of *Micranthes* Haw. (Soltis & al. 1993; Fernández Prieto & al. 2013), and non-monophyly of several infrageneric taxa had been demonstrated in other early DNA studies (e.g. Conti & al. 1999; Vargas 2000). In their analysis of *Saxifraga* using DNA sequence data of 254 species (since expanded by Ebersbach & al. 2017), Tkach & al. (2015) identified several further instances of non-monophyly of infrageneric taxa recognized by Engler & Irmscher (1916, 1919) or Gornall (1987).

Tkach & al. (2015) also introduced *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (Engl. & Irmsch.) Tkach & al., based on *S.* sect. *Nephrophyllum* Gaud. grex *Arachnoideae* Engl. & Irmsch. Tkach & al. (2015) identified *S. aphylla* Sternb., *S. arachnoidea* Sternb., *S. berica* (Bég.) D. A. Webb, *S. paradoxa* Sternb., *S. petraea* L., *S. presolanensis* Engl., *S. sedoides* L. (of which only ssp. *hohenwartii* (Vest ex Sternb.) Schwarz was sequenced by

¹ Institut für Organismische und Molekulare Evolutionsbiologie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 55099 Mainz, Germany; *e-mail: migersch@uni-mainz.de (author for correspondence); kadereit@uni-mainz.de

these authors) and *S. tenella* Wulfen as members of *S. subsect. Arachnoideae*. They described the group as follows: “The biennial to perennial plants are characterized by a diffuse habit, fragile, decumbent to ascending stems, soft leaves, frequently have long hairs, and pale white to yellowish or greenish petals. The species occur in shady, rocky places, frequently at high altitudes. They are distributed in the Alps and extend to the Apennines and the Balkan Peninsula.” The group was expanded by *S. sedoides* subsp. *sedoides* by Ebersbach & al. (2017), who also treated *S. sedoides* subsp. *hohenwartii* at specific rank as *S. hohenwartii* Vest ex Sternb., and by *S. facchinii* W. D. J. Koch by Tkach & al. (2019). *Saxifraga facchinii* had earlier been identified as closely related to *S. aphylla* by Vargas (2000). *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* in this circumscription contained elements of Engler & Irmscher’s (1916, 1919) *S. sect. Tridactylites* Haw., *S. sect. Dactyloides* Tausch and *S. sect. Nephrophyllum* and of the genus *Zahlbrucknera* Rchb., which surprisingly was used to accommodate *S. paradoxa* (as *Z. paradoxa* (Sternb.) Rchb.) even in the last of Engler’s treatments of *Saxifraga* (Engler 1930). Of the taxa recognized by Gornall (1987) and Webb & Gornall (1989), members of their *S. sect. Saxifraga* subsect. *Triplinervium* (Gaudin) Gornall and *S. sect. Saxifraga* subsect. *Holophyllae* Engl. & Irmsch were found in *S. subsect. Arachnoideae*.

Ecologically, *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* as understood by Tkach & al. (2015) and Ebersbach & al. (2017) is a highly diverse lineage. Whereas some species (*S. berica*, *S. paradoxa*) grow exclusively at very low altitudes mostly in shady recesses of calcareous or non-calcareous rocks, others (*S. aphylla*, *S. hohenwartii*, *S. sedoides*) are distributed at mostly subalpine to alpine altitudes in the Alps, where they mostly grow on calcareous gravel, scree or rocks, while a third group of species (*S. arachnoidea*, *S. petraea*, *S. presolanensis*, *S. tenella*) shows various combinations of the ecological properties of the preceding two groups (Webb 1993; Kaplan 1995; Aeschimann & al. 2004). Supported topological incongruencies between phylogenies reconstructed from nuclear (ITS) and plastid sequences as found by Tkach & al. (2015) and ourselves (see Results) raise the suspicion that interspecific transfer of adaptive traits by hybridization may play an important role in the evolution of *S. subsect. Arachnoideae*.

In preparation of a detailed analysis of this hypothesis, we here make an effort to identify all possible members of the subsection. Obvious candidates for such membership are *Saxifraga prenja* Beck from the Dinaric Alps, part of the *S. sedoides* group (Hörandl 1993) and treated at either specific (Hörandl 1993) or subspecific (Webb & Gornall 1989) rank, and *S. muscoides* All., which had been considered closely related to *S. facchinii* by Webb & Gornall (1989) and Kaplan (1995).

As evident from the above comparison of lineages identified by DNA sequence data and non-molecular classifications, morphology alone clearly is no reliable basis for identifying the complete species composition of *Saxifraga*

subsect. *Arachnoideae*. However, all species of *S. subsect. Arachnoideae* as understood to date (Tkach & al. 2015; Ebersbach & al. 2017) belong to *S. subsect. Triplinervium* and *S. subsect. Holophyllae* as understood by Webb & Gornall (1989). Therefore we obtained, in addition to using DNA sequences of *Saxifraga* available at GenBank, DNA sequences (ITS, *trnL-trnF*, *rpl32-trnL(UAG)*) of those species of *S. subsect. Triplinervium* and *S. subsect. Holophyllae* as understood by Webb & Gornall (1989) that were available to us and had not been sequenced before. We also considered the possibility of a close relationship to *S. subsect. Arachnoideae* of species of *S. sect. Saxifraga* for which no DNA sequences were available.

Material and methods

Sample collection and DNA extraction

Samples of species of *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*, *S. subsect. Androsaceae* (Engl. & Irmsch.) Tkach & al. and *S. subsect. Tridactylites* (Haw.) Gornall sensu Tkach & al. (2015), corresponding to *S. subsect. Holophyllae*, *S. subsect. Triplinervium* and *S. subsect. Tridactylites* sensu Webb & Gornall (1989), were collected in 2016 from wild populations in the European Alps, the Apennines and the Dinaric Alps. Fresh leaves were collected and dried on silica gel. Vouchers were deposited at MJG (herbarium codes according to *Index herbariorum*; <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>). Additional samples from *S. subsect. Holophyllae* and *S. subsect. Triplinervium* sensu Webb & Gornall (1989) were obtained from BC, GJO, LZ, MA and WU (see Supplementary Table 1 in Supplemental content online). Correct species identification was checked for all herbarium specimens prior to sampling, particularly in order to avoid inclusion of hybrid individuals. Herbarium specimens were used only when all morphological traits necessary for species identification were visible. DNA was extracted with a Macherey-Nagel NucleoSpin Plant II kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Germany) using the SDS-based Lysis Buffer PL2. We mostly followed the manufacturer’s instructions, but extended the duration of the cell lysis step to 60 min. DNA was quantified with a Qubit 3.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, U.S.A.) using the dsDNA HS Assay. DNA was purified using ethanol precipitation to remove plant compounds that inhibited PCR (Sambrook & Russell 2001).

DNA sequencing and genome skimming

The nuclear Internal Transcribed Spacer (ITS), the plastid *trnL-trnF* intergenic spacer (IGS) and the *rpl32-trnL(UAG)* IGS were chosen for Sanger sequencing. PCR amplification of the ITS region was performed using primers ITS 17SE_m and ITS 26SE_m (Grudinski & al. 2014). The *trnL-trnF* IGS was amplified using primers *trnL* f and *trnL* f (Taberlet & al. 1991). The *rpl32-trnL(UAG)* IGS

was amplified using primers *rpl32-F* and *trnL_(UAG)* (Shaw & al. 2007). PCRs were carried out using the following programs: 120 s at 95 °C, followed by 30 cycles of 30 s at 95 °C, 30 s at 59 °C for ITS, 51 °C for *trnL-trnF* IGS, and 48 °C for *rpl32-trnL_(UAG)* IGS, 120 s at 72 °C and a post-treatment of 600 s at 72 °C. PCR products were cleaned using a NucleoSpin Gel and PCR Cleanup kit (Machery-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Germany). Cycle Sequencing was carried out by StarSEQ GmbH, Mainz, Germany. We obtained an ITS sequence for *Saxifraga coarctata* W. W. Sm. by mapping the reads from NCBI short read archive SRR7901466 (deposited under the synonym *S. humilis* Engl. & Irmsch.) against the ITS sequence of *S. arachnoidea* MG16072311 using BMAP v.38.58 (Bushnell 2019) with a minimum identity of 80 percent. The consensus sequence of the 946 mapped reads was called in Geneious v9.0.5 (<https://www.geneious.com/>). All new sequences obtained in this study were submitted to GenBank and accession numbers for new and existing sequences are given in Supplementary Table 1 (Supplemental content online).

Sanger sequence alignment and phylogenetic analyses

Sanger sequencing raw data were manually edited in PortableSequencer 4.1.4 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI) and aligned in MEGA 10.0.5 (Kumar & al. 2018). We added additional samples from GenBank (Supplementary Table 1) for all subsections of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* sensu Tkach & al. (2015). To take into account the possibility that one or more of the species sampled belong to other sections of *Saxifraga*, we also sampled more distantly related outgroups. These were *S. sect. Cotylea* Tausch, *S. sect. Cymbalaria* Griseb., *S. sect. Gymnopera* D. Don, *S. sect. Ligulatae* Haw., *S. sect. Mesogyne* Sternberg, *S. sect. Porphyryon* Tausch and *S. sect. Trachyphyllum* (Gaudin) W. D. J. Koch. Alignments were trimmed at both ends to ensure that at least 50 percent of all samples of each alignment had sequence data at both ends of the alignment. Sequences of plastid (cp) markers *trnL-trnF* and *rpl32-trnL_(UAG)* IGS were combined. For samples of *S. subsect. Arachnoideae*, only plastid sequences of the same individual sample or from the same sampling locations were combined. For species of all other subsections of *S. sect. Saxifraga* and of all outgroup sections, plastid sequences were combined. Sequence alignments were annotated and alignments were inspected in Partitionfinder2 v2.1.1 (Lanfear & al. 2017) on the CIPRES Science Gateway (Miller & al. 2010). Maximum likelihood (ML) analyses were carried out in RAxML v8.2.12 (Stamatakis 2014) under an unpartitioned GTR+ Γ substitution model. Bootstrapping was conducted under GTR+ Γ with automated bootstrapping halt under the extended majority-rule consensus tree criterion (autoMRE). Bayesian inferences (BI) were carried out in MrBayes 3.2.6 (Ronquist & al. 2012) under substitution models SYM+I+G for ITS and GTR+ Γ

for the plastid markers. Markov chains were run for 1M generations with the first 250K generations discarded as burn-in to ensure that minimum estimated sample sizes for all parameters were greater than 200. Two independent runs were conducted, each sampling 7501 trees. Trees were rooted with *S. sect. Cymbalaria*. All alignments and trees are available in TreeBASE (<http://purl.org/phylo/treebase/phylo/study/TB2:S25221>).

Results

Sample collection and DNA sequencing

We added 90 new DNA sequences to the existing record of DNA sequences of *Saxifraga*, including the first sequences for *S. glabella* Bertol., *S. maireana* Luizet, *S. maweana* Baker, *S. muscoides* and *S. prenja*. Therefore, of the 86 accepted species (Gornall 1987; Webb & Gornall 1989; Tkach & al. 2015; Ebersbach & al. 2017) of *S. sect. Saxifraga*, DNA sequences of 77 species were included in the present study.

Sanger sequence alignment and phylogenetic analyses

The phylogenetic trees obtained using *trnL-trnF* and *rpl32-trnL_(UAG)* IGS were topologically congruent. Accordingly, these two markers were combined. Total alignment lengths for ITS and the combined cpDNA sequences were 812 bp and 1888 bp, respectively.

Phylogenetic trees from both datasets, ITS and cpDNA, support a monophyletic *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* comprising *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. muscoides*, *S. paradoxa*, *S. petraea*, *S. prenja*, *S. presolanensis*, *S. sedoides* and *S. tenella* (Fig. 1, 2). In the ITS trees (Fig. 1), *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. paradoxa*, *S. petraea* and *S. tenella* were reconstructed as monophyletic (all ML Bootstrap support \geq 99/ BI posterior probability = 1.00). Accessions of *S. prenja* and *S. sedoides* constitute a well-supported clade (96/1.00), with *S. prenja* inferred as monophyletic under BI and ML but with low bootstrap support in the ML tree (63/0.96). Accessions of *S. muscoides* and *S. presolanensis* together formed a well-supported clade (86/1.00), but the two species were not inferred as monophyletic. These 12 species form the monophyletic *Arachnoideae* clade in both ML and BI reconstructions (99/1.00). In contrast to the ITS tree, the cpDNA tree is less well resolved (Fig. 2). *Saxifraga paradoxa* was reconstructed as monophyletic (100/1.00) and placed as sister to a clade with all other species of the *Arachnoideae* clade (99/0.89). This relationship, however, is supported only in the ML tree (99/0.94). Of all other species of which more than one accession was sequenced, only *S. arachnoidea* was reconstructed as monophyletic under ML and BI, but with low support in ML and no support in BI (72/0.71).

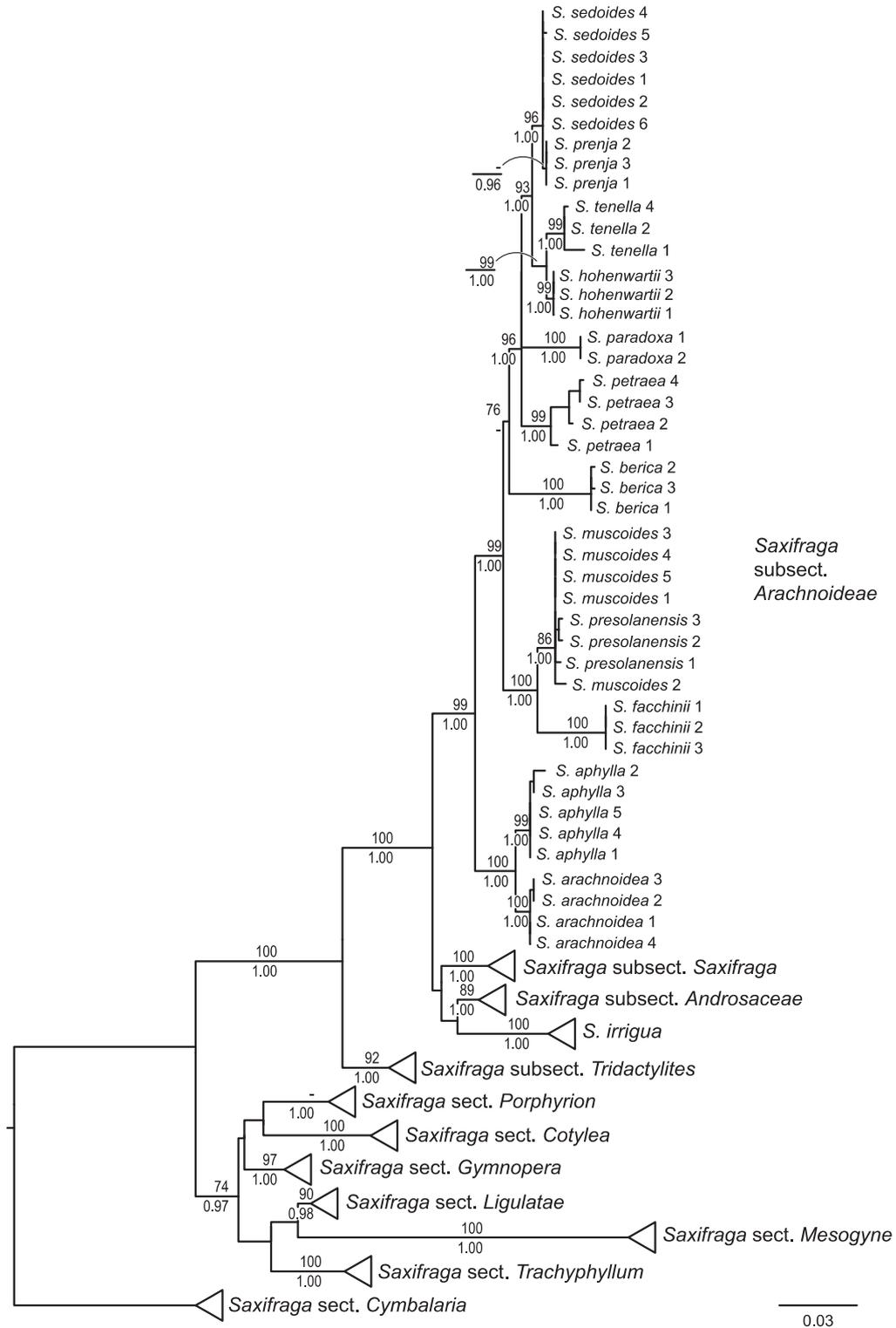


Fig. 1. Maximum likelihood phylogeny of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* based on ITS. Triangles represent collapsed clades, *S.* subsect. *Arachnoideae* is shown uncollapsed. Values above branches are maximum likelihood bootstrap values, values below branches are posterior probability values. Only bootstrap values ≥ 70 and posterior probabilities ≥ 0.95 are shown. Intraspecific support values are not shown. Scale bar: no. of substitutions per site.

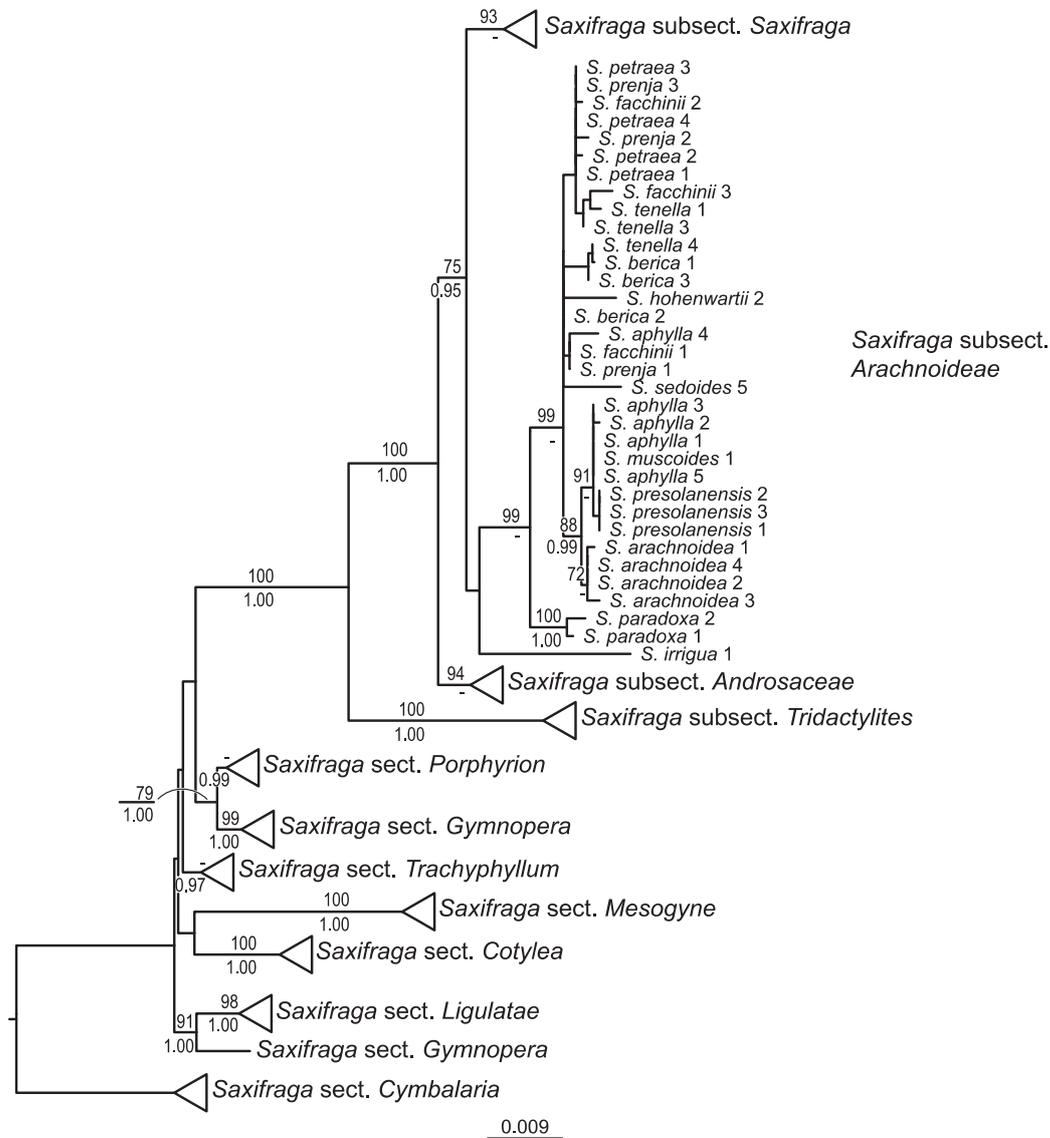


Fig. 2. Maximum likelihood phylogeny of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* based on plastid *rpl32-trnL_(UAG)* and *trnL-trnF* IGS. Triangles represent collapsed clades, *S.* subsect. *Arachnoideae* is shown uncollapsed. Values above branches are maximum likelihood bootstrap values, values below branches are posterior probability values. Only bootstrap values ≥ 70 and posterior probabilities ≥ 0.95 are shown. Intraspecific support values are not shown. Scale bar: no. of substitutions per site.

Discussion

As indicated in the introduction, and as found earlier by Tkach & al. (2015), the phylogenies based on ITS and cpDNA sequences respectively contain supported topological incongruities. Whereas *Saxifraga paradoxa* is supported sister (ML only) to the remainder of the subsection in the cpDNA tree (Fig. 2), it is part of a supported trichotomy with *S. petraea* and *S. hohenwartii*/*S. prenja*/*S. sedoides*/*S. tenella* in the ITS tree (Fig. 1). Also, *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. muscoides* and *S. presolanensis* form one of only three clades supported under ML

in the cpDNA tree. However, in the ITS tree *S. muscoides* and *S. presolanensis* as well as *S. aphylla* and *S. arachnoidea* are found in two supported clades, which cannot be closest relative to each other and which partly contain species from outside the cpDNA clade just described. In view of these incongruities, which we suspect are the result of interspecific hybridization (but also may reflect incomplete lineage sorting), we refrain from discussing possible interspecific relationships. Instead, we will discuss the species composition of *S.* subsect. *Arachnoideae*.

Based on our data, *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* contains twelve species (for further discussion of species

status see below), i.e. *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. muscoides*, *S. paradoxa*, *S. petraea*, *S. prenja*, *S. presolanensis*, *S. sedoides* and *S. tenella*. The nine species of *S.* sect. *Saxifraga* not included in the present analysis are *S. adenodes* Poepp. ex Sternb. and *S. boussingaultii* Brongn. (both distributed in the Andes), *S. embergeri* Maire, *S. luizetiana* Emb. & Maire, *S. numidica* Maire, *S. tricrenata* Pau & Font Quer and *S. wernerii* Font Quer & Pau. (all Atlas Mountains) and *S. trautvetteri* Manden. and *S. verticillata* Losinsk. (both Caucasus). We believe to have good reason to assume that none of these nine species is part of *S.* subsect. *Arachnoideae*. First, all these species belong to former *S.* ser. *Gemmiferae* (Willk.) Pawłowska, *S.* ser. *Cespitosae* (Rchb.) Pawłowska and *S.* ser. *Ceratophyllae* (Haw.) Pawłowska. The vast majority of species of these three series were included in our (and earlier) analyses and all fell into *S.* subsect. *Saxifraga*. This finding makes it likely that the unsampled species of the three series also belong to *S.* subsect. *Saxifraga*. Second, whereas all species now identified as belonging to *S.* subsect. *Arachnoideae* are distributed in or near the S and SE Alps (and in the Apennines and Balkan Peninsula in the case of *S. prenja*), all unsampled species have an extra-European distribution. Considering the continuous geographical range of *S.* subsect. *Arachnoideae* as circumscribed using DNA sequence data, it seems unlikely to us that extra-European species are part of this lineage. However, given discrepancies between morphological classification and phylogenetic evidence, and given the existence of unusual geographical disjunctions, we cannot completely rule out that DNA sequences may show that unsampled species of *Saxifraga* fall into *S.* subsect. *Arachnoideae*.

In comparison to previous molecular studies by Vargas (2000), Tkach & al. (2015; 2019) and Ebersbach & al. (2017), *Saxifraga muscoides* and *S. prenja* are new additions to *S.* subsect. *Arachnoideae*. This is not surprising at all for *S. prenja*. This species had been treated as one of three species of the *S. sedoides* group by Hörandl (1993), and as one of three subspecies of *S. sedoides* by Webb & Gornall (1989). Following Hörandl (1993), this group of three taxa is characterized by mucronate to apiculate leaf tips and rather small yellowish white petals. As regards *S. muscoides*, Engler (1872) had treated *S. facchinii* as a variety of *S. muscoides*, implying close similarity between the two. Morphological similarities between *S. facchinii* and *S. muscoides* and particularly *S. presolanensis* had been pointed out earlier. Webb & Gornall (1989) emphasized that only these three species (*S. facchinii*, *S. muscoides*, *S. presolanensis*, with the exception of some variants of *S. moschata* Wulfen) share obtuse, entire and glandular hairy leaves and a compact, cushion-like habit. Kaplan (1995) used the firm cushions formed by *S. facchinii* and *S. muscoides* and the silvery grey colour of recently withered leaves as characters linking them again to *S. presolanensis*. From a morphological point of view, it is therefore perfectly plausible that *S. muscoides* is part of *S.* subsect. *Arachnoideae*.

Of the 12 species belonging to *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*, eight were supported as monophyletic in the ITS tree. These were *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. paradoxa*, *S. petraea* and *S. tenella*. The accessions of *S. muscoides* and *S. presolanensis* together fell into one polytomy, and the six accessions of *S. sedoides* formed a polytomy with the three accessions of *S. prenja*, which formed a supported clade in the BI but not in the ML analysis. While ITS variation is clearly not sufficient to resolve these four taxa as monophyletic, the ITS topology does not contradict their taxonomic recognition provided they can be distinguished morphologically. This clearly is the case for *S. muscoides* and *S. presolanensis*. For example, flowering stems of *S. muscoides* have one or rarely up to three flowers with ovate, light lemon-yellow or pale yellow petals. In contrast, flowering stems of *S. presolanensis* have two to eight flowers with oblong-cuneate and pale greenish yellow petals (Webb & Gornall 1989; Kaplan 1995).

Although, as stated at the beginning of this discussion, our main aim is not to discuss interspecific relationships, it is evident that the three species of the *Saxifraga sedoides* group do not form a monophylum. Instead, *S. hohenwartii* groups apart from *S. prenja* and *S. sedoides* and is sister to *S. tenella* in our ITS tree. Following the descriptions provided by Hörandl (1993), a possibly closer relationship between *S. prenja* and *S. sedoides* might be supported by the shared possession of short glandular hairs (longer in *S. hohenwartii*) and bright yellow (orange-red in *S. hohenwartii*) fresh anthers. The same assessment of similarities among the three species was given by Hörandl (1993). The ITS topology found by us (Fig. 1) clearly implies that *S. hohenwartii*, treated as a subspecies (Webb & Gornall 1989) or species (Hörandl 1993) in the past, should be treated at specific rank because *S. hohenwartii* and *S. tenella* can be easily distinguished (Webb & Gornall 1989; Hörandl 1993; Kaplan 1995). Following Hörandl (1993), we prefer specific rank also for *S. prenja* and *S. sedoides*, which are rather distinct morphologically (see below), geographically and ecologically (Hörandl 1993). Interestingly, one sample from the Apennines falls into *S. prenja* (*S. prenja* 1; Supplementary Table 1 in Supplemental content online), which extends the known distribution range of the species and makes it an example of an amphi-Adriatic distribution (Trotter 1912).

Tkach & al. (2015) stated that *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* is characterized by, among other traits, a diffuse habit and fragile, decumbent to ascending stems. However, this characterization does not cover the compact, cushion-like habit of *S. facchinii*, *S. muscoides* and, to some extent, *S. presolanensis*. As now understood, it is not possible in our opinion to reliably distinguish *S.* subsect. *Arachnoideae* from all other species of *S.* subsect. *Saxifraga* using morphological characters alone because *S.* subsect. *Saxifraga* shows substantial morphological and ecological diversity (Webb & Gornall 1989; Kaplan 1995; Aeschmann & al. 2004) with high levels of homoplastic

character evolution according to Tkach & al. (2015). Nevertheless, below we provide an improved description of the group that is sufficient to distinguish *S. subsect. Arachnoideae* from almost all species of *S. subsect. Saxifraga*.

Using existing keys (Webb & Gornall 1989; Webb 1993), all species of *Saxifraga subsect. Arachnoideae* except *S. hohenwartii*, *S. prenja* and *S. sedoides* can be identified when flowering. Special attention is required in the identification of *S. muscoides*. Of the c. 30 herbarium specimens labelled as *S. muscoides* and examined by us, about half belonged to *S. moschata*. A reliable character to distinguish these two species is the silvery grey colour of recently withered leaves in *S. muscoides*, which are brownish in *S. moschata*. *Saxifraga hohenwartii*, *S. prenja* and *S. sedoides* together can be identified as *S. sedoides* using the keys by Webb & Gornall (1989) and Webb (1993). Based on the extensive descriptions provided by Webb & Gornall (1989), Webb (1993) and Hörandl (1993), and on our own observations, we provide an identification key that, together with our description of the group, is sufficient to identify members of *S. subsect. Arachnoideae* and to avoid misidentification with members of *S. subsect. Saxifraga*.

Saxifraga subsect. Arachnoideae (Engl. & Irmsch.) Tkach & al. in Taxon 64: 1181. 2015 ≡ *Saxifraga* grex *Arachnoideae* Engl. & Irmsch. in Engler, Pflanzenr. 67: 233. 1919. – Type (designated by Gornall 1987: 288): *Saxifraga arachnoidea* Sternb.

Description — Biennial or evergreen perennial *herbs* with leafy stems. *Stems* straggling or ascending (habit diffuse), prostrate (forming loose mats) or erect (forming dense cushions). *Bulbils* and conspicuous summer-dormant *buds* absent. *Hairs* at least on margins or petioles of basal leaves; most species with conspicuous glandular hairs, at least on leaf margins. *Leaves* always without calcareous incrustations, hydathodes absent in almost all species; *leaf segments* flat on upper surface, never furrowed. *Petals* white or pale greenish-yellow in most species, ovate, obovate, oblong or linear, ± non-touching, apex often slightly to deeply notched. *Ovary* inferior or very nearly so.

Key to the species of *Saxifraga subsect. Arachnoideae*

1. Habit diffuse, plant with straggling or ascending leafy stems; leaves thin and soft, crenate or lobed; petiole usually longer than lamina **2**
 - Leafy shoots erect or prostrate, forming cushions or mats; leaves entire or shortly 3-lobed at apex; petiole indistinct or very short **5**
2. Plant almost glabrous; leaves very thin, shiny and almost translucent; petals greenish ***S. paradoxa***
 - Leafy shoots with glandular hairs; leaves not very thin, shiny and almost translucent; petals pure white or yellowish white **3**
3. Glandular hairs on stems and petioles up to 10 mm long, viscid, tangled; petals yellowish white, apex truncate or slightly notched ***S. arachnoidea***
 - Glandular hairs shorter, not tangled; petals pure white, apex deeply notched **4**
4. Blades of basal leaves divided almost to base; petals 8–10 mm, in one flower of equal or slightly unequal size (when slightly unequal, smallest petal c. $\frac{1}{5}$ size of largest petal), touching ***S. petraea***
 - Blades of basal leaves divided for not more than $\frac{1}{2}$ their length; petals 4–8 mm, in one flower of markedly unequal size (smallest petal $\frac{1}{2}$ – $\frac{3}{4}$ size of largest petal), non-touching ***S. berica***
5. Leaves entire, linear, with a long, slender, translucent point, straw-coloured or silvery grey, with a single hydathode on upper surface near apex ***S. tenella***
 - Leaves entire or 3-lobed at apex, oblong-elliptic to oblong-oblancoolate, without hydathodes **6**
6. Leafy stems forming a dense cushion; recently withered leaves on living plants silvery grey, at least toward apex **7**
 - Leafy stems prostrate or decumbent, forming an open mat or a loose cushion; recently withered leaves on living plants brown **9**
7. Petals 3.5–5 mm long, obovate, apex obtuse or slightly notched, overlapping ***S. muscoides***
 - Petals 1.5–2 mm long and obovate or 3–4 mm long and oblong-cuneate, apex truncate to slightly notched, non-overlapping **8**
8. Petals 1.5–2 mm long, obovate, dull yellow, ± strongly tinged purple or red, sometimes completely purple or red ***S. facchinii***
 - Petals 3–4 mm long, oblong-cuneate, translucent, dirty white, variably tinged pale greenish-yellow ***S. presolanensis***
9. Leaves mostly shortly 3-lobed at apex, with obtuse lobes, but some leaves entire and oblanceolate, never apiculate; petals narrowly linear, much narrower than sepals ***S. aphylla***
 - Leaves mostly entire, oblanceolate to narrowly oblong, sometimes 3-toothed at apex or with a small lateral tooth, at least some leaves apiculate; petals linear to ovate, as wide as sepals or only slightly narrower **10**
10. Anthers orange-red in living plants, dark reddish-brown in older herbarium specimens; petals linear; glandular hairs on leaves 0.7–1.5 mm long ***S. hohenwartii***
 - Anthers bright yellow in fully opened flowers in living plants, pale yellow in older herbarium specimens; glandular hairs on leaves 0.1–0.7(–0.9) mm long **11**
11. Petals ovate-lanceolate or ovate, apex acuminate to apiculate ***S. sedoides***
 - Petals rectangular, apex truncate, retuse or emarginate, or petals obtuse ***S. prenja***

Acknowledgements

We would like to thank the directors and curators of BC, GJO, LZ, MA and WU for permission to use their material for DNA extraction. We are grateful to Peter Schönschwetter (Innsbruck, Austria) and Boštjan Surina (Koper, Slovenia) for supplying field-collected samples, to Federico Mangili (Milano, Italy) for assistance during field work and to Markus S. Dillenberger (Mainz, Germany) for providing DNA sequences of *Saxifraga maireana* and *S. maweana*. We gratefully acknowledge constructive comments by two anonymous reviewers.

References

- Aeschimann D., Lauber K., Moser D.M., & Theurillat J.-P. 2004: Flora alpina. – Bern, Stuttgart, Wien: Haupt.
- Bushnell, B. 2019+ [continuously updated]: BBMap short read aligner. Computer program and documentation distributed by the author. – Published at <https://sourceforge.net/projects/bbmap/> [accessed 17 Jul 2019].
- Conti E., Soltis D. E., Hardig T. M. & Schneider J. 1999: Phylogenetic relationships of the silver saxifrages (*Saxifraga*, sect. *Ligulatae* Haworth): implications for the evolution of substrate specificity, life histories, and biogeography. – *Molec. Phylogen. Evol.* **13**: 536–555.
- Ebersbach J., Muellner-Riehl A. N., Michalak I., Tkach N., Hoffmann M. H., Röser M., Sun H. & Favre A. 2017: In and out of the Qinghai-Tibet Plateau: divergence time estimation and historical biogeography of the large arctic-alpine genus *Saxifraga* L. – *J. Biogeogr.* **44**: 900–910.
- Engler H. G. A. 1872: Monographie der Gattung *Saxifraga* L. mit besonderer Berücksichtigung der geographischen Verhältnisse. – Breslau: Kern.
- Engler H. G. A. 1891: *Saxifragaceae*. – Pp. 41–93 in: Engler H. G. A. & Prantl K. A. E. (ed.), Die natürlichen Pflanzenfamilien Bd. **III**, **2a**. – Leipzig: Engelmann.
- Engler H. G. A. 1930: *Saxifragaceae*. – Pp. 74–226 in: Engler H. G. A. & Prantl K. A. E. (ed.), Die natürlichen Pflanzenfamilien, ed. 2, Bd. **18a**. – Leipzig: Engelmann.
- Engler H. G. A. & Irmscher E. 1916: *Saxifragaceae*. – Pp. 1–448 in: Engler H. G. A. (ed.), Das Pflanzenreich **67 (IV, 117)**. – Leipzig: Engelmann.
- Engler H. G. A. & Irmscher E. 1919: *Saxifragaceae*. – Pp. 449–709 in: Engler H. G. A. (ed.), Das Pflanzenreich **69 (IV, 117)**. – Leipzig: Engelmann.
- Fernández Prieto J. A., Arjona J. M., Sanna M., Pérez R. & Cires E. 2013: Phylogeny and systematics of *Micranthes* (*Saxifragaceae*): an appraisal in European territories. – *J. Pl. Res.* **126**: 605–611.
- Gornall R. J. 1987: An outline of a revised classification of *Saxifraga* L. – *Bot. J. Linn. Soc.* **95**: 273–292.
- Grudinski M., Pannell C. M., Chase M. W., Ahmad J. A. & Muellner-Riehl A. N. 2014: An evaluation of taxonomic concepts of the widespread plant genus *Aglaiia* and its allies across Wallace's Line (tribe *Aglaiaceae*, *Meliaceae*). – *Molec. Phylogen. Evol.* **73**: 65–76.
- Hörandl E. 1993: Revision der *Saxifraga sedoides*-Gruppe (*Saxifragaceae*) hinsichtlich Systematik, Verbreitung und Vegetationsanschluß. – *Phyton (Horn)* **33**: 87–119.
- Kaplan K. 1995: *Saxifraga*. – Pp. 136–223 in: Conert H. J., Jäger E. J., Kadereit J. W., Schultze-Motel W., Wagenitz G. & Weber H. E. (ed.): Gustav Hegi. Illustrierte Flora von Mitteleuropa, ed. 3, Bd. **IV**, **2A**. – Berlin: Blackwell.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C. & Tamura K. 2018: MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. – *Molec. Biol. Evol.* **35**: 1547–1549.
- Lanfear R., Frandsen P. B., Wright A. M., Senfeld T. & Calcott B. 2017: PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. – *Molec. Biol. Evol.* **34**: 772–773.
- Miller M. A., Pfeiffer W. & Schwartz T. 2010: Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. – Pp. 45–52 in: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE) New Orleans, Louisiana, 14 Nov. 2010. – Piscataway: IEEE.
- Ronquist F., Teslenko M., van der Mark P., Ayres D. L., Darling A., Höhna S., Larget B., Liu L., Suchard M. A. & Huelsenbeck J. P. 2012: MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. – *Syst. Biol.* **61**: 539–542.
- Sambrook J. R. & David W. 2001: Molecular cloning. A laboratory manual. Ed. 3. – Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Shaw J., Lickey E. B., Schilling E. E. & Small R. L. 2007: Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms. The tortoise and the hare III. – *Amer. J. Bot.* **94**: 275–288.
- Soltis D. E., Morgan D. R., Grable A., Soltis P. S. & Kuzoff R. 1993: Molecular systematics of *Saxifragaceae* sensu stricto. – *Amer. J. Bot.* **80**: 1056–1081.
- Stamatakis A. 2014: RAxML version 8. a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. – *Bioinformatics* **30**: 1312–1313.
- Taberlet P., Gielly L., Pautou G. & Bouvet J. 1991: Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. – *Pl. Molec. Biol.* **17**: 1105–1109.
- Tkach N., Röser M., Miede G., Muellner-Riehl A. N., Ebersbach J., Favre A. & Hoffmann M. H. 2015:

- Molecular phylogenetics, morphology and a revised classification of the complex genus *Saxifraga* (*Saxifragaceae*). – *Taxon* **64**: 1159–1187.
- Tkach N., Röser M., Suchan T., Cieślak E., Schönswetter P. & Ronikier M. 2019: Contrasting evolutionary origins of two mountain endemics. *Saxifraga wahlenbergii* (western Carpathians) and *S. styriaca* (eastern Alps). – *BMC Evol. Biol.* **19**: 18 [1–19].
- Trotter A. 1912: Gli elementi Balcanico-Orientali della flora Italiana e l'ipotesi dell' "Adriatide". – *Atti Reale Ist. Incoragg. Napoli*, ser. 6, **9**: 1–119.
- Vargas P. 2000: A phylogenetic study of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* (*Saxifragaceae*) based on nrDNA ITS sequences. – *Pl. Syst. Evol.* **223**: 59–70.
- Webb D. A. 1993: *Saxifraga* L. – Pp. 437–458 in: Tutin T. G., Burges N. A., Chater A. O., Edmondson J. R., Heywood V. H., Moore D. M., Valentina D. H., Walters S. M. & Webb D. A. (ed.), *Flora europaea*, ed. 2, **1**. – Cambridge: Cambridge University Press.
- Webb D. A. & Gornall R. J. 1989: *Saxifragae of Europe*. With notes on African, American and some Asiatic Species. – London: Christopher Helm.

Willdenowia

Open-access online edition bioone.org/journals/willdenowia



Online ISSN 1868-6397 · Print ISSN 0511-9618 · 2018 Journal Impact Factor 1.156

Published by the Botanic Garden and Botanical Museum Berlin, Freie Universität Berlin

© 2020 The Authors · This open-access article is distributed under the CC BY 4.0 licence

2.3 Electronic Supplement

Willdenowia 50(2) – Electronic supplement

MICHAEL A. GERSCHWITZ-EIDT & JOACHIM W. KADEREIT

Species composition of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (*Saxifragaceae*) based on DNA sequence evidence

Electronic supplement to: Gerschwitz-Eidt M. A. & Kaderait J. W. 2020: Species composition of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (*Saxifragaceae*) based on DNA sequence evidence. – *Willdenowia* 50: 225–233. doi: <https://doi.org/10.3372/wi.50.50208>

Supplementary Table 1. Taxon sample, herbarium voucher information and GenBank accession numbers (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). New sequences generated for this study are indicated by *italics*.

Classification (sensu Tkach & al. 2015)	Taxon	Tip label	DNA accession	Sampling site; collector; collection no.; herbarium	ITS	<i>rpl32-trnL</i> _(UAG)	<i>trnL-trnF</i>
<i>S. sect. Corylea</i>	<i>S. coriifolia</i> Grossh.	<i>S. coriifolia</i>	–	–	LN812398.1	LT971084.1	LN812632.1
<i>S. sect. Corylea</i>	<i>S. taygetea</i> Boiss. & Heldr.	<i>S. taygetea</i>	–	–	LN812545.1	–	LN812780.1
<i>S. sect. Corylea</i>	<i>S. rotundifolia</i> L.	<i>S. rotundifolia</i>	–	–	LN81251.1	LT971198.1	LN812754.1
<i>S. sect. Cymbalaria</i>	<i>S. cymbalaria</i> L.	<i>S. cymbalaria</i>	–	–	LN812405.1	LT971092.1	LN812640.1
<i>S. sect. Cymbalaria</i>	<i>S. hederacea</i> L.	<i>S. hederacea</i>	–	–	AF261182.1	–	LN812679.1
<i>S. sect. Cymbalaria</i>	<i>S. sibirhorpii</i> Boiss.	<i>S. sibirhorpii</i>	–	–	LN812533.1	–	LN812767.1
<i>S. sect. Gymnopera</i>	<i>S. cuneifolia</i> L.	<i>S. cuneifolia</i>	–	–	LN812404.1	LT971091.1	LN812639.1
<i>S. sect. Gymnopera</i>	<i>S. spathularis</i> Brot.	<i>S. spathularis</i>	–	–	AF087626.1	LT971216.1	LN812770.1
<i>S. sect. Gymnopera</i>	<i>S. umbrosa</i> L.	<i>S. umbrosa</i>	–	–	LN812560.1	LT971238.1	LN812794.1
<i>S. sect. Ligulatae</i>	<i>S. callosa</i> Sm.	<i>S. callosa</i>	–	–	LN812374.1	LT971074.1	LN812614.1
<i>S. sect. Ligulatae</i>	<i>S. cartilaginea</i> Willd.	<i>S. cartilaginea</i>	–	–	LN812378.1	–	LN812612.1
<i>S. sect. Ligulatae</i>	<i>S. hostii</i> Tausch	<i>S. hostii</i>	–	–	LN812452.1	LT971136.1	LN812687.1
<i>S. sect. Ligulatae</i>	<i>S. lingulata</i> Bellardi	<i>S. lingulata</i>	–	–	LN812470.1	LT971153.1	LN812705.1
<i>S. sect. Ligulatae</i>	<i>S. paniculata</i> Mill.	<i>S. paniculata</i>	–	–	–	–	LN812731.1
<i>S. sect. Mesogyne</i>	<i>S. bracteata</i> D. Don	<i>S. bracteata</i>	–	–	LN812366.1	LT971059.1	LN812601.1
<i>S. sect. Mesogyne</i>	<i>S. granulifera</i> Harry Sm.	<i>S. granulifera</i>	–	–	LN812442.1	LT971129.1	LN812677.1
<i>S. sect. Mesogyne</i>	<i>S. sibirica</i> L.	<i>S. sibirica</i>	–	–	LN812532.1	LT971212.1	LN812766.1
<i>S. sect. Porphyron</i>	<i>S. caesia</i> L.	<i>S. caesia</i>	–	–	LN812373.1	LT971064.1	LN812607.1

Gerschwitz-Eidt & Kadereit: Species composition of *Saxifraga subsect. Arachnoideae*

S-2

Classification (sensu Tkach & al. 2015)	Taxon	Tip label	DNA accession	Sampling site; collector; collection no.; herbarium	ITS	<i>rpl32-trnL</i> (UAG)	<i>trnL-trnF</i>
<i>S. sect. Porphyryon</i>	<i>S. florulenta</i> Moretti	<i>S. florulenta</i>	–	–	AF087621.1	–	–
<i>S. sect. Porphyryon</i>	<i>S. iranica</i> Bormm.	<i>S. iranica</i>	–	–	LN812456.1	–	LN812691.1
<i>S. sect. Porphyryon</i>	<i>S. mutata</i> L.	<i>S. mutata</i>	–	–	LN812486.1	LT971170.1	LN812720.1
<i>S. sect. Porphyryon</i>	<i>S. oppositifolia</i> L.	<i>S. oppositifolia</i>	–	–	LM654419.1	LT971175.1	LM654503.1
<i>S. sect. Porphyryon</i>	<i>S. porophylla</i> Bertol.	<i>S. porophylla</i>	–	–	LN812505.1	LT971186.1	LN812741.1
<i>S. sect. Porphyryon</i>	<i>S. retusa</i> Gouan	<i>S. retusa</i>	–	–	LN812514.1	LT971194.1	LN812749.1
<i>S. sect. Porphyryon</i>	<i>S. spruneri</i> Boiss.	<i>S. spruneri</i>	–	–	LN812538.1	LT971217.1	LN812772.1
<i>S. sect. Saxifraga</i>	<i>S. compositii</i> Boiss. & Reut.	<i>S. compositii</i>	–	–	LN812375.1	LT971065.1	LN812609.1
<i>S. sect. Saxifraga</i>	<i>S. irrigua</i> M. Bieb.	<i>S. irrigua</i> 1	GJO0071452	Ukraine, Autonomous Republic of Crimea, Crimean Mountains; Karl 2013; –; GJO 0071452	MN543602.1	MN556739.1	MN556762.1
<i>S. sect. Saxifraga</i>	<i>S. irrigua</i> M. Bieb.	<i>S. irrigua</i> 2	–	–	LN812457	–	–
<i>S. subsect. Androsaceae</i>	<i>S. androsaceae</i> L.	<i>S. androsaceae</i>	–	–	LT970993.1	LT971044.1	LN812584.1
<i>S. subsect. Androsaceae</i>	<i>S. depressa</i> Stermb.	<i>S. depressa</i>	–	–	AF261173.1	–	KU524358.1
<i>S. subsect. Androsaceae</i>	<i>S. italica</i> D. A. Webb	<i>S. italica</i>	MG16073114	Italy, Abruzzo, Gran Sasso d'Italia; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16073114; MJG 022204	–	–	MN556778.1
<i>S. subsect. Androsaceae</i>	<i>S. italica</i> D. A. Webb	<i>S. italica</i>	–	–	LN812459	–	–
<i>S. subsect. Androsaceae</i>	<i>S. seguieri</i> Spreng.	<i>S. seguieri</i>	MG16080126	Switzerland, Grisons, Western Rhaetian Alps; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16080126; MJG 022186	–	–	MN556769.1
<i>S. subsect. Androsaceae</i>	<i>S. seguieri</i> Spreng.	<i>S. seguieri</i>	–	–	LN812350.1	LT971206.1	–
<i>S. subsect. Androsaceae</i>	<i>S. styriaca</i> Kockinger	<i>S. styriaca</i>	–	–	LT971388.1	LT969525.1	LT970867.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. aphylla</i> Stermb.	<i>S. aphylla</i> 1	FR0111282	Austria, Salzburg, Eastern Tauern Alps; Gregor 2013; Gregor 10966; FR-0111282	MN543586.1	MN556730.1	MN556753.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. aphylla</i> Stermb.	<i>S. aphylla</i> 2	FR0129982	Germany, Bavaria, Bavarian Alps; Gregor 2015; Gregor 14013; FR-0129982	MN543587.1	MN556731.1	MN556754.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. aphylla</i> Stermb.	<i>S. aphylla</i> 3	–	–	LT970994.1	LT971047.1	–
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. aphylla</i> Stermb.	<i>S. aphylla</i> 4	MG16080223	Switzerland, Grisons, Albula Alps; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16080223; MJG 022187	MN543588.1	MN556732.1	MN556755.1

Classification (sensu Tkach & al. 2015)	Taxon	Tip label	DNA accession	Sampling site; collector; collection no.; herbarium	ITS	rpl32-trnL(UAG)	trnL-trnF
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. aphylla</i> Stemb.	<i>S. aphylla</i> 5	–	–	LN812352.1	LT971046.1	LN812586.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. arachnoidea</i> Stemb.	<i>S. arachnoidea</i> 1	FR0202403	Italy, Trentino-Alto Adige/Südtirol, Brescia and Garda Prealps; Hachmann 2001; Hachmann 8.7.01; FR-0202403	MN543589.1	MN556733.1	MN556776.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. arachnoidea</i> Stemb.	<i>S. arachnoidea</i> 2	MG16072311	Italy, Trentino-Alto Adige/Südtirol, Brescia and Garda Prealps; Gerschütz-Eidt 2016; MG16072311; MJG 022199	MN543590.1	MN556734.1	MN556756.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. arachnoidea</i> Stemb.	<i>S. arachnoidea</i> 3	MG16072611	Italy, Lombardy, Brescia and Garda Prealps; Gerschütz-Eidt 2016; MG16072611; MJG 022191	MN543591.1	MN556735.1	MN556757.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. arachnoidea</i> Stemb.	<i>S. arachnoidea</i> 4	–	–	LN812353.1	LT971048.1	LN812587.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. berica</i> (Bég.) D. A. Webb	<i>S. berica</i> 1	–	–	LN812360.1	LT971055.1	LN812594.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. berica</i> (Bég.) D. A. Webb	<i>S. berica</i> 2	LZ224384	Italy, Veneto, Berici Hills; Ebersbach 2017; Ebersbach 1458; LZ 224384	MN543592.1	–	MN556758.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. berica</i> (Bég.) D. A. Webb	<i>S. berica</i> 3	MG16060115	Italy, Veneto, Berici Hills; Gerschütz-Eidt 2016; MG16060115; MJG 022246	MN543593.1	MN556736.1	MN556759.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. facchinii</i> W. D. J. Koch	<i>S. facchinii</i> 1	–	–	LT970995.1	LT971105	–
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. facchinii</i> W. D. J. Koch	<i>S. facchinii</i> 2	MG16072215	Italy, Trentino-Alto Adige/Südtirol, Dolomites; Gerschütz-Eidt 2016; MG1672215; MJG 022198	MN543594.1	MN556737.1	MN556761.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. facchinii</i> W. D. J. Koch	<i>S. facchinii</i> 3	WU18-38/8	Italy, Trentino-Alto Adige/Südtirol, Dolomites; Hörandl 2006; Hörandl 9572; WU 18-38/8	MN543595.1	MN556738.1	MN556777.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. hohenwartii</i> Vest ex Stemb.	<i>S. hohenwartii</i> 1	LZ162908	Austria, Carinthia, Carinthian-Slovenian Alps; Gutte 2000; Gutte 252/2000; LZ 162908	MN543599.1	–	–
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. hohenwartii</i> Vest ex Stemb.	<i>S. hohenwartii</i> 2	MG16071421	Austria, Carinthia, Carinthian-Slovenian Alps; Gerschütz-Eidt 2016; MG16071421; MJG 025627	MN543600.1	–	MN556765.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. hohenwartii</i> Vest ex Stemb.	<i>S. hohenwartii</i> 3	WU18-38/9	Austria, Carinthia, Carinthian-Slovenian Alps; Hörandl & Hadaček 1992; Hörandl 4101; WU 18-38/9	MN543601.1	–	–

Gerschwitz-Eidt & Kadereit: Species composition of *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*

S-4

Classification (sensu Tkach & al. 2015)	Taxon	Tip label	DNA accession	Sampling site; collector; collection no.; herbarium	ITS	rpl32-trnL(UG)	trnL-trnF
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. muscoides</i> All.	<i>S. muscoides</i> 1	FR0203944	France, Auvergne-Rhône-Alpes, Graian Alps; Hachmann 1998; Hachmann 9.8.98; FR-0203944	MN543603.1	MN556740.1	MN556763.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. muscoides</i> All.	<i>S. muscoides</i> 2	GJO0081449	Austria; Carinthia, Western Tauern Alps; Ocepik 2011; -, GJO_0081449	MN543604.1	-	-
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. muscoides</i> All.	<i>S. muscoides</i> 3	WU029048	France, Auvergne-Rhône-Alpes, Graian Alps; Schönswetter & Tribtsch 2000; P-13874-Bio 4748; WU 029048	MN543605.1	-	-
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. muscoides</i> All.	<i>S. muscoides</i> 4	WU029049	Italy, Aosta Valley, Graian Alps; Schönswetter & Tribtsch 2000; P-13874-Bio 4806; WU 029049	MN543606.1	-	-
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. muscoides</i> All.	<i>S. muscoides</i> 5	WU18-38/16	France, Auvergne-Rhône-Alpes, Graian Alps; Schneeweiß, Schönswetter & Tribtsch 1998; Gutermann & al. 33417; WU 18-38/16	MN543607.1	-	-
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. paradoxa</i> Stemb.	<i>S. paradoxa</i> 1	-	-	LN812495.1	LT971177.1	LN812732.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. paradoxa</i> Stemb.	<i>S. paradoxa</i> 2	MG16071611	Austria, Styria, Styrian Prealps; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16071611; MJG 022203	MN543608.1	MN556741.1	MN556768.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. petraea</i> L.	<i>S. petraea</i> 1	MG16053112	Slovenia, Julian Alps and Prealps; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16053112; MJG 022250	MN543609.1	MN556742.1	MN556764.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. petraea</i> L.	<i>S. petraea</i> 2	MG16071911	Slovenia, Julian Alps and Prealps; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16071911; MJG 022190	MN543610.1	MN556743.1	MN556766.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. petraea</i> L.	<i>S. petraea</i> 3	MG16072717	Italy, Lombardy, Brescia and Garda Prealps; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072717; MJG 023532	MN543611.1	MN556744.1	MN556767.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. petraea</i> L.	<i>S. petraea</i> 4	MRoeser10236	-	LN812501.1	LT971183.1	LN812738.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. prenjia</i> Beck	<i>S. prenjia</i> 1	MG16072937	Italy, Abruzzo, Maiella; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072937; MJG 022200	MN543612.1	MN556750.1	MN556770.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. prenjia</i> Beck	<i>S. prenjia</i> 2	WU18-38/25	Bosnia and Herzegovina, Federation of Bosnia and Herzegovina, Dinaric Alps; Schönswetter & Surina & al. 2007; W. Gutermann 38835; WU 18-38/25	MN543613.1	MN556745.1	MN556771.1

Classification (sensu Tkach & al. 2015)	Taxon	Tip label	DNA accession	Sampling site; collector; collection no.; herbarium	ITS	rpl32-trnL(UAG)	trnL-trnF
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. prenjia</i> Beck	<i>S. prenjia</i> 3	WU18-38/26	Bosnia and Herzegovina, Republika Srpska, Dinaric Alps; Schönswetter & Surina & al. 2007; W. Gutermaun 38607; WU 18-38/26	MN543614.1	MN556746.1	MN556774.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. presolanensis</i> Engl.	<i>S. presolanensis</i> 1	FR0129983	Italy, Lombardy, Bergamasque Alps and Prealps; Lippert 1977; Lippert 15985; FR-0129983	MN543615.1	MN556747.1	MN556779.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. presolanensis</i> Engl.	<i>S. presolanensis</i> 2	MG16072512	Italy, Lombardy, Bergamasque Alps and Prealps; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072512; MJG 022197	MN543616.1	MN556748.1	MN556772.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. presolanensis</i> Engl.	<i>S. presolanensis</i> 3	–	–	LN812507.1	–	LN812743.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. sedoides</i> L.	<i>S. sedoides</i> 1	GJO 0043514	Austria, Tyrol, Carnic and Gailltal Alps; Ster 2007; –; GJO 0043514	MN543617.1	–	–
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. sedoides</i> L.	<i>S. sedoides</i> 2	GJO 0088872	Austria, Styria, Northern Styrian Alps; Ocepek 2014; –; GJO 0088872	MN543618.1	–	–
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. sedoides</i> L.	<i>S. sedoides</i> 3	–	–	KU524182.1	–	–
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. sedoides</i> L.	<i>S. sedoides</i> 4	MG16071723	Italy, Friuli Venezia Giulia, Julian Alps and Prealps; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16071723; MJG 025628	MN543619.1	–	–
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. sedoides</i> L.	<i>S. sedoides</i> 5	MG16072111	Italy, Trentino-Alto Adige/Südtirol, Dolomites; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072111; MJG 022196	MN543620.1	MN556749.1	MN556780.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. sedoides</i> L.	<i>S. sedoides</i> 6	WU18_38/32	Italy, Trentino-Alto Adige/Südtirol, Brescia and Garda Prealps; Hörandl & Hadaček 1992; Hörandl 4591; WU 18-38/32	MN543621.1	–	–
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. tenella</i> Wulfen	<i>S. tenella</i> 1	GJO26592/12	Austria, Carinthia, Carinthian-Styrian Alps; Karl 1997; –; GJO 26592/12	MN543622.1	MN556751.1	MN556775.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. tenella</i> Wulfen	<i>S. tenella</i> 2	–	–	LN812547.1	–	–
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. tenella</i> Wulfen	<i>S. tenella</i> 3	MA777464	Slovenia, Julian Alps and Prealps; Hörandl, Hadaček & Englisch 1993; Hörandl 5339; MA 777464	–	MN556752.1	MN556773.1
<i>S. subsect. Arachnoideae</i>	<i>S. tenella</i> Wulfen	<i>S. tenella</i> 4	–	–	LN812548.1	–	LN812783.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. hypnoides</i> L.	<i>S. hypnoides</i>	–	–	LN812454.1	LT971139.1	LT970895.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. aquatica</i> Lapeyr.	<i>S. aquatica</i>	–	–	AF261161.1	–	KU524334.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. babiana</i> T. E. Diaz & Fern. Prieto	<i>S. babiana</i>	–	–	LN812358	LT971053.1	LN812592.1

Classification (sensu Tkach & al. 2015)	Taxon	Tip label	DNA accession	Sampling site; collector; collection no.; herbarium	ITS	<i>rpl32-trnL</i> (UAG)	<i>trnL-trnF</i>
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. biternata</i> Boiss.	<i>S. biternata</i>	–	–	LN812362.1	LT971056.1	LN812596.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. bourgaeana</i> Boiss. & Reut.	<i>S. bourgaeana</i>	–	–	LN812364.1	LT971057.1	LN812598.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. bulbifera</i> L.	<i>S. bulbifera</i>	–	–	LN812372.1	LT971063.1	LN812606.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. canaliculata</i> Boiss. & Reuter ex Engl.	<i>S. canaliculata</i>	–	–	LN812376.1	LT971066.1	LN812610.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. carpetana</i> Boiss. & Reut.	<i>S. carpetana</i>	–	–	AF261168.1	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. cebennensis</i> Rouy & E. G. Camus	<i>S. cebennensis</i>	–	–	LN812383.1	LT971071.1	LN812617.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. cespitosa</i> L.	<i>S. cespitosa</i>	–	–	LN812385.1	LT971072.1	LN812619.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. cintrana</i> Kuzinsky ex Willk.	<i>S. cintrana</i>	–	–	AF261171.1	–	KU524351.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. coarctata</i> W. W. Sm.	<i>S. coarctata</i>	–	–	SRR7901466	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. conifera</i> Coss. & Durieu	<i>S. conifera</i>	–	–	LN812394.1	–	LN812628.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. continentalis</i> (Engl. & Immsch.) D. A. Webb	<i>S. continentalis</i>	–	–	LN812396.1	LT971082.1	LN812630.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. corsica</i> Gren. & Godr.	<i>S. corsica</i>	–	–	LN812399.1	LT971085.1	LN812633.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. cossoniana</i> Boiss. & Reut.	<i>S. cossoniana</i>	–	–	AF261172.1	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. cuneata</i> Willd.	<i>S. cuneata</i>	–	–	LN812403.1	LT971090.1	LN812638.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. dichotoma</i> Willd.	<i>S. dichotoma</i>	–	–	LN812409.1	LT971096.1	LN812644.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. erioblasta</i> Boiss. & Reut.	<i>S. erioblasta</i>	–	–	LN812415.1	LT971101.1	LN812649.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. exarata</i> Vill.	<i>S. exarata</i>	–	–	LN812417.1	LT971104.1	LN812652.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. fragilis</i> Schrank	<i>S. fragilis</i>	–	–	LN812429.1	–	LN812664.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. fragosoi</i> Semmen	<i>S. fragosoi</i>	–	–	LN812430.1	LT971118.1	LN812665.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. gemmulosa</i> Boiss.	<i>S. gemmulosa</i>	–	–	LN812434.1	LT971122.1	LN812669.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. genesiana</i> P. Vargas	<i>S. genesiana</i>	–	–	AF261178.1	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. geranioides</i> L.	<i>S. geranioides</i>	–	–	LN812436.1	LT971124.1	LN812671.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. globulifera</i> Desf.	<i>S. globulifera</i>	–	–	LN812437.1	LT971125.1	LN812672.1

S-7

Willdenowia 50 – 2020

Classification (sensu Tkach & al. 2015)	Taxon	Tip label	DNA accession	Sampling site; collector; collection no.; herbarium	ITS	<i>rpl32-trnL</i> (UAG)	<i>trnL-trnF</i>
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. graeca</i> Boiss. & Heldr.	<i>S. graeca</i>	–	–	LN812440.1	–	LN812675.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. granulata</i> L.	<i>S. granulata</i>	–	–	LN812441.1	LT971128.1	LN812676.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. haenseleri</i> Boiss. & Reut.	<i>S. haenseleri</i>	–	–	AF261180.1	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. hariotii</i> Luizet & Soulie	<i>S. hariotii</i>	–	–	AF261181.1	–	KU524384.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. intricata</i> Lapeyr.	<i>S. intricata</i>	–	–	AJ133030.1	KJ774295.1	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. latepetiolata</i> Willk.	<i>S. latepetiolata</i>	–	–	LN812467.1	–	LN812702.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. maderensis</i> D. Don	<i>S. maderensis</i>	–	–	LN812475.1	LT971158.1	KU524399.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. magellanica</i> Poir.	<i>S. magellanica</i>	–	–	LN812476.1	LT971159.1	LN812710.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. maireana</i> Luizet	<i>S. maireana</i>	Sax5	Morocco, Marrakech, High Atlas, Charpin & al. 1980, MAR 530, MA 309500	MT192302	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. maweana</i> Baker	<i>S. maweana</i>	Sax6	Morocco, Tanger-Tetouan-Al Hoceima, Rif mountains, Andrés & al. 2008, AQ2747, MA 782505	MT192303	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. moncayensis</i> D. A. Webb	<i>S. moncayensis</i>	–	–	LN812480.1	LT971165.1	LN812714.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. moschata</i> Wulfen	<i>S. moschata</i>	–	–	LN812483.1	LT971167.1	LN812717.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. nevadensis</i> Boiss.	<i>S. nevadensis</i>	–	–	LN812488.1	LT971172.1	LN812722.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. pedemontana</i> All.	<i>S. pedemontana</i>	–	–	LN812497.1	LT971179.1	LN812734.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. pentadactylis</i> Lapeyr.	<i>S. pentadactylis</i>	–	–	LN812498.1	LT971180.1	LN812735
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. pontica</i> Albov	<i>S. pontica</i>	–	–	LN812504.1	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. portosantana</i> Boiss.	<i>S. portosantana</i>	–	–	AJ233883.1	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. praetermissa</i> D. A. Webb	<i>S. praetermissa</i>	–	–	LT970997.1	T971187.1	LN812742.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. pubescens</i> Purr.	<i>S. pubescens</i>	–	–	LN812511.1	LT971190.1	LN812746.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. reuteriana</i> Boiss.	<i>S. reuteriana</i>	–	–	AJ233877.1	–	KU524422.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. rigoi</i> Freyn ex Porta.	<i>S. rigoi</i>	–	–	AJ233878.1	–	KU524423.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. rosacea</i> Moench	<i>S. rosacea</i>	–	–	LN812518.1	LT971197.1	LN812753.1

Gerschwitz-Eidt & Kadereit: Species composition of *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*

S-8

Classification (sensu Tkach & al. 2015)	Taxon	Tip label	DNA accession	Sampling site; collector; collection no.; herbarium	ITS	<i>rpl32-trnL</i> (UAG)	<i>trnL-trnF</i>
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. terekensis</i> Bunge	<i>S. terekensis</i>	–	–	LN812549.1	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. trabutiana</i> Engl. & Imseh.	<i>S. trabutiana</i>	–	–	LN812553.1	–	–
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. trifurcata</i> Schrad.	<i>S. trifurcata</i>	–	–	LN812557.1	LT971235.1	LN812791.1
<i>S. subsect. Saxifraga</i>	<i>S. vayredana</i> Luizet	<i>S. vayredana</i>	–	–	LN812565.1	LT971241.1	LN812799.1
<i>S. subsect. Tridaactylites</i>	<i>S. adscendens</i> L.	<i>S. adscendens</i>	–	–	LN812341.1	LT971037.1	LN812575.1
<i>S. subsect. Tridaactylites</i>	<i>S. discolor</i> Velen.	<i>S. discolor</i>	–	–	LN812411.1	LT971097.1	–
<i>S. subsect. Tridaactylites</i>	<i>S. glabella</i> Bertol.	<i>S. glabella</i> 1	MG16072922	Italy, Abruzzo, Maiella; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072922; MJG 022201	MN543596.1	–	–
<i>S. subsect. Tridaactylites</i>	<i>S. glabella</i> Bertol.	<i>S. glabella</i> 2	MG16082012	Montenegro, Prokletije Mountains; Frajman & Schönswetter 2016; Schönswetter 14522; MJG 027742	MN543597.1	–	–
<i>S. subsect. Tridaactylites</i>	<i>S. glabella</i> Bertol.	<i>S. glabella</i> 3	MG16082412	North Macedonia, Korab; Frajman & Schönswetter 2016; Schönswetter 14543; MJG 027740	MN543598.1	–	MN556760.1
<i>S. subsect. Tridaactylites</i>	<i>S. osloensis</i> Knaben	<i>S. osloensis</i>	–	–	LN812493.1	–	LN812730.1
<i>S. subsect. Tridaactylites</i>	<i>S. tridaactylites</i> L.	<i>S. tridaactylites</i>	–	–	LN812556.1	LT971233.1	LN812790.1
<i>S. subsect. Tridaactylites</i>	<i>S. wahlenbergii</i> Ball	<i>S. wahlenbergii</i>	–	–	LT971005.1	LT969537.1	LN812802.1
<i>S. sect. Trachyphyllum</i>	<i>S. aspera</i> L.	<i>S. aspera</i>	–	–	LN812356	LT971051.1	LN812590.1
<i>S. sect. Trachyphyllum</i>	<i>S. bryoides</i> L.	<i>S. bryoides</i>	–	–	LN812371.1	LT971062.1	LN812605.1

Willdenowia

Open-access online edition bioone.org/journals/willdenowia

Online ISSN 1868-6397 · Print ISSN 0511-9618 · 2018 Journal Impact Factor 1.156

Published by the Botanic Garden and Botanical Museum Berlin, Freie Universität Berlin

© 2020 The Authors · This open-access article is distributed under the CC BY 4.0 licence

2.4 Literaturverzeichnis

- Ebersbach, J., Müllner-Riehl, A. N., Michalak, I., Tkach, N., Hoffmann, M. H., Röser, M., Sun, H., & Favre, A. (2017). In and out of the Qinghai-Tibet Plateau: Divergence time estimation and historical biogeography of the large arctic-alpine genus *Saxifraga* L. *Journal of Biogeography*, *44*(4), 900–910. <https://doi.org/10.1111/jbi.12899>
- Engler, H. G. A. (1872). *Monographie der Gattung Saxifraga L.: Mit besonderer Berücksichtigung der geographischen Verhältnisse*. Kern.
- Engler, H. G. A. (1891). Saxifragaceae. In H. G. A. Engler & K. A. E. Prantl (Hrsg.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien: Nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten insbesondere den Nutzpflanzen: Bd. III, 2a* (S. 41–93). Engelmann.
- Engler, H. G. A. (1930). Saxifragaceae. In H. G. A. Engler & K. A. E. Prantl (Hrsg.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten, insbesondere den Nutzpflanzen* (2. Aufl., Bd. 18a, S. 74–226). Engelmann.
- Engler, H. G. A., & Irscher, E. (1916). Saxifragaceae. In H. G. A. Engler (Hrsg.), *Das Pflanzenreich: Regni vegetabilis conspectus* (S. 1–448). Engelmann.
- Engler, H. G. A., & Irscher, E. (1919). Saxifragaceae. In H. G. A. Engler (Hrsg.), *Das Pflanzenreich: Regni vegetabilis conspectus* (S. 449–709). Engelmann.
- Folk, R. A., Stubbs, R. L., Mort, M. E., Cellinese, N., Allen, J. M., Soltis, P. S., Soltis, D. E., & Guralnick, R. P. (2019). Rates of niche and phenotype evolution lag behind diversification in a temperate radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(22), 10874–10882. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817999116>
- Gerschwitz-Eidt, M. A., & Kadereit, J. W. (2020). Species composition of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (Saxifragaceae) based on DNA sequence evidence. *Willdenowia*, *50*(2), 225. <https://doi.org/10.3372/wi.50.50208>
- Gornall, R. J. (1987). An outline of a revised classification of *Saxifraga* L. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *95*, 273–292.

- Tkach, N., Röser, M., & Hoffmann, M. H. (2015). Molecular phylogenetics, character evolution and systematics of the genus *Micranthes* (Saxifragaceae): Phylogenetics and Systematics of *Micranthes*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 178(1), 47–66. <https://doi.org/10.1111/boj.12272>
- Tkach, N., Röser, M., Miehe, G., Müllner-Riehl, A. N., Ebersbach, J., Favre, A., & Hoffmann, M. H. (2015). Molecular phylogenetics, morphology and a revised classification of the complex genus *Saxifraga* (Saxifragaceae). *Taxon*. <https://doi.org/10.12705/646.4>
- Tkach, N., Röser, M., Suchan, T., Cieślak, E., Schönswetter, P., & Ronikier, M. (2019). Contrasting evolutionary origins of two mountain endemics: *Saxifraga wahlenbergii* (Western Carpathians) and *S. styriaca* (Eastern Alps). *BMC Evolutionary Biology*, 19(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12862-019-1355-x>
- Vargas, P. (2000). A phylogenetic study of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* (Saxifragaceae) based on nrDNA ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 223, 59–70.
- Vargas, P., Morton, C. M., & Jury, S. L. (1999). Biogeographic patterns in Mediterranean and Macaronesian species of *Saxifraga* (Saxifragaceae) inferred from phylogenetic analyses of ITS sequences. *American Journal of Botany*, 86(5), 724–734. <https://doi.org/10.2307/2656582>
- Webb, D. A., & Gornall, R. J. (1989). *Saxifrages of Europe. With notes on African, American and some Asiatic Species*. Christopher Helm.

3 Phylogenie und Evolution der Ökologie von *S. subsect. Arachnoideae*

3.1 Einleitung

Saxifraga subsect. Arachnoideae wurde erstmals von Tkach et al. (2015) beschrieben und umfasst 12 Arten, nämlich *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. muscoides*, *S. paradoxa*, *S. petraea*, *S. prenja*, *S. presolanensis*, *S. sedoides* und *S. tenella* (Gerschwitz-Eidt & Kadereit 2020; Kapitel 2). Diese Arten kommen, mit Ausnahme von *S. prenja* auf dem Balkan, nur in oder in der Nähe der Alpen vor (Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989; Abb. 2). Die bisherigen Untersuchungen zur Phylogenie der Untersektion (Ebersbach et al. 2017; Gerschwitz-Eidt & Kadereit 2020; Tkach et al. 2015) beruhen allesamt auf der Sequenzierung eines oder weniger molekularer Marker mittels klassischer Sanger-Sequenzierung und konnten die Verwandtschaftsbeziehungen nicht vollständig auflösen, weil erstens die verwendeten Standardmarker zu konserviert sind und deshalb keine ausreichende Information liefern und zweitens die Entschlüsselung der Verwandtschaftsbeziehungen aufgrund von ILS, Hybridisierung und Introgression (Degnan & Rosenberg 2006; Kubatko & Degnan 2007; Maddison 1997; Pamilo & Nei 1988) zusätzlich erschwert ist. Da verschiedene Teile eines Genoms unterschiedliche evolutionäre Hintergründe haben können, wurden besonders im letzten Jahrzehnt vielfältige phylogenetische Methoden etabliert, mithilfe derer mehrere Genomregionen gleichzeitig und unter Berücksichtigung von ILS analysiert werden können (z. B. Chifman & Kubatko 2014; Ogilvie et al. 2017; Solís-Lemus et al. 2017). Die gemeinsame mathematische Grundlage dieser Methoden ist die Koaleszenztheorie (Hudson 1983; Kingman 1982; Tajima 1983) sowie deren Erweiterung für die Rekonstruktion von Artbäumen⁵ (engl. *species trees*), das *multispecies coalescent*-Modell (Rannala & Yang 2003), mithilfe dessen ILS bei der Rekonstruktion von Artbäumen

⁵ In der molekularen Phylogenetik wird zwischen Artbäumen und Genbäumen unterschieden. Der Begriff „Artbaum“ bezieht sich auf denjenigen phylogenetischen Stammbaum einer Gruppe von biologischen Arten, der den tatsächlichen Divergenzprozess, d. h. die Auftrennung der Arten, widerspiegelt. Hingegen bezeichnet der Begriff „Genbaum“ den phylogenetischen Stammbaum einer Gruppe von homologen (orthologen) Genen (Nei 1987; Tateno et al. 1982). Ein Genbaum stellt also die Diversifizierung einer bestimmten genetischen Region dar und kann deshalb topologisch vom Artbaum abweichen.

modelliert werden kann (Jiao et al. 2021; Kubatko 2019). Wiederum als Erweiterung des *multispecies coalescent* -Modells wurde das *multispecies network coalescent*-Modell (Degnan 2018; Wen et al. 2016) eingeführt, mithilfe dessen in phylogenetischen Netzwerken Retikulation und damit die biologischen Prozesse Introgression und Hybridartbildung gemeinsam mit ILS in einem phylogenetischen Kontext rekonstruiert werden können.

Um das volle Potenzial von phylogenetischen Netzwerk-Methoden zu realisieren, wird als Datengrundlage ein Multimarker-Sequenzdatensatz benötigt. Hochdurchsatz-Sequenzierungstechnologien (engl. *high throughput sequencing*) und die Laborarbeitsabläufe für die Probenvorbereitung wurden in den letzten beiden Jahrzehnten enorm verbessert und bieten mittlerweile zahlreiche Möglichkeiten, umfangreiche Multimarker-Sequenzdatensätze für phylogenetische Rekonstruktionen zu erzeugen (Good 2012; Mardis 2017; McKain et al. 2018; Reuter et al. 2015). Als besonders geeignet für die phylogenetische Rekonstruktion von Abstammungslinien, in deren Evolution Hybridisierung eine besondere Bedeutung zukommt, haben sich solche Methoden erwiesen, die auf Target Enrichment basieren (Cronn et al. 2012; Egan et al. 2012; Grover et al. 2012). Mit diesen Methoden können hunderte genetische Loci mit potenziell beliebiger Länge gleichzeitig sequenziert werden (z. B. Gnirke et al. 2009; Lemmon et al. 2012; Weitemier et al. 2014), was diese Datensätze im besonderen Maße für die Anwendung von Koaleszenz-Methoden qualifiziert. Die ersten molekularphylogenetischen Untersuchungen mittels Target Enrichment in den Saxifragaceae wurden von Folk et al. (2015) in *Heuchera* L. und Stubbs et al. (2018; 2020) in *Micranthes* HAW. durchgeführt. Stubbs et al. (2018) identifizierten 518 mutmaßliche *single-copy*-Kerngene und entwickelten einen Satz von komplementären biotynilierten RNA-Baits, um diese Gene mittels Target Enrichment anzureichern. Parallel zu dieser Entwicklung adaptieren Folk et al. (2019) die Methode für die Anwendung in den gesamten Saxifragales und entwickelten ihrerseits einen Bait-Satz für die Anreicherung von 301 *single-copy*-Kerngenen. In Verbindung mit Koaleszenz-Methoden existiert somit ein mächtiges Werkzeug, um die Phylogenie von *S. subsect. Arachnoideae* unter Berücksichtigung von ILS und Hybridisierung zu rekonstruieren.

DNA-Short Read-Datensätze können jedoch nicht nur für phylogenetische Rekonstruktionen verwendet werden. Neue statistische Methoden erlauben es auch, aus Short Read-Datensätzen Informationen über die Ploidiestufe einer Probe abzuleiten (Bao

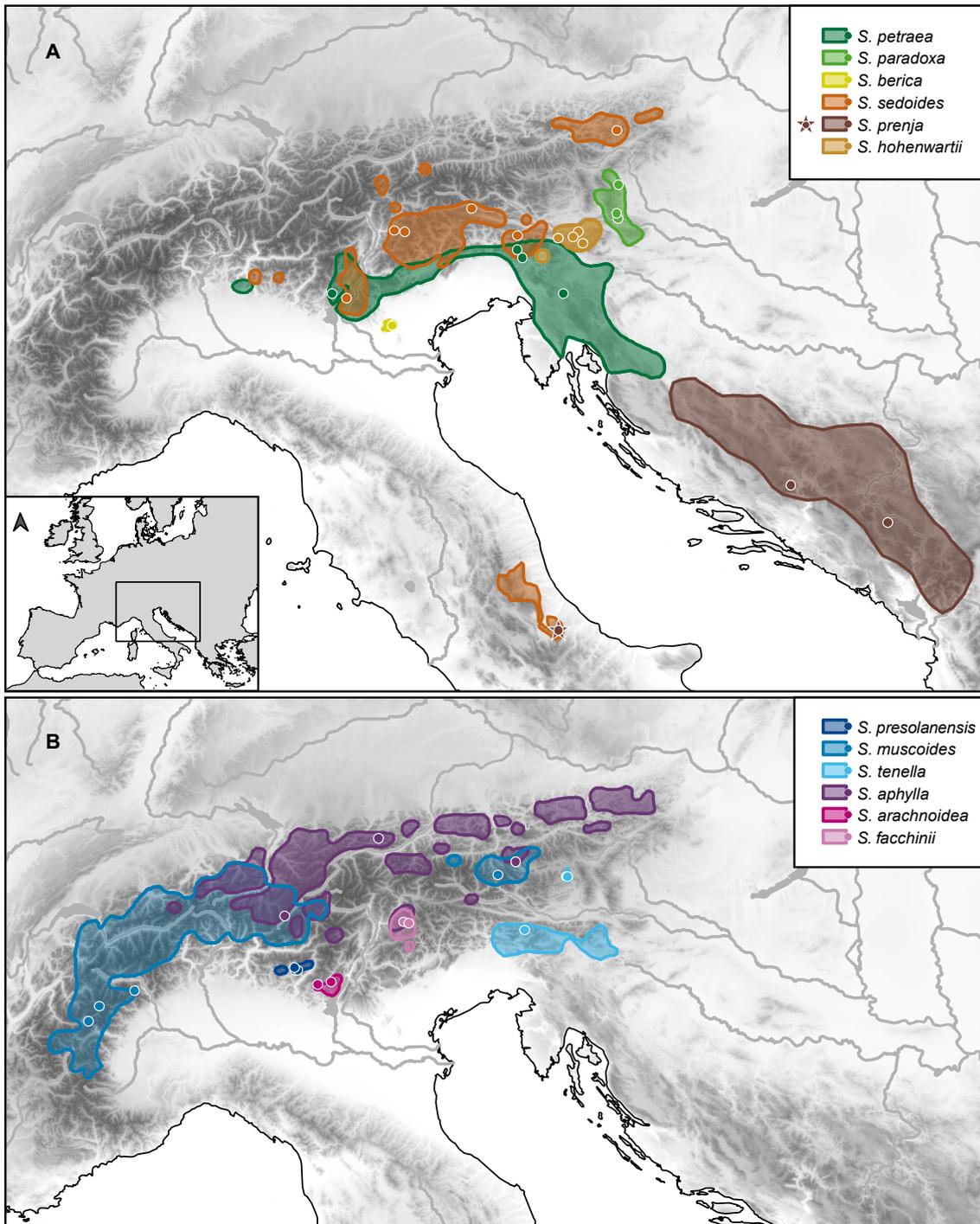


Abb. 2: Verbreitung der Arten von *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* nach Kaplan (1995). (A) Das braune Sternchen zeigt eine disjunkte Population von *S. prenja* im Apennin an, die von Gerschwitz-Eidt & Kadereit (2020) erstmals gefunden wurde. Zur leichteren Lesbarkeit werden die Verbreitungsgebiete der Arten in zwei Karten gezeigt (A, B). Farbige Punkte zeigen die Fundorte der untersuchten Proben.

et al. 2014; Corrêa dos Santos et al. 2017; Margarido & Heckerman 2015; Yu et al. 2014) und ergänzen damit die bereits existierenden Methoden zur Ploidiebestimmung, nämlich die direkte Zählung von Chromosomen mittels mikroskopischer Beobachtung von Mitose-Stadien und die Bestimmung des zellulären DNA-Gehalts mittels Durchflusszytometrie (engl. *flow cytometrie*), welcher in der Regel innerhalb nahverwandter Taxa mit der Ploidiestufe korreliert (Bennett & Leitch 1995; DeLaat et al. 1987; Galbraith et al. 1983). *Saxifraga* ist eine zytologisch hochdiverse Gattung mit einer großen Bandbreite von berichteten Chromosomenzahlen (Rice et al. 2015). Eine besonders große Spanne von Chromosomenzahlen wurde für *Saxifraga* sect. *Saxifraga* berichtet und die Literaturangaben reichen von $2n=22$ in *S. subsect. Tridactylites* bis hin zu $2n=220$ in *S. androsacea* (Zhmylev 2004). Eine ähnlich hohe Diversität existiert innerhalb von *S. subsect. Arachnoideae* (Tab. 2), wo unter anderem Angaben von $2n=16$ in *S. presolanensis* (Damboldt & Podlech 1963) über $2n=36-38$ in *S. muscoides* (Favarger 1965; Küpfer & Rais 1983) bis zu $2n=66$ in *S. arachnoidea* (Damboldt 1965), *S. aphylla* (Damboldt 1965; Favarger 1965) und *S. tenella* (Skovsted 1934) existieren. Mas De Xaxars et al. (2015) wiesen mithilfe von Durchflusszytometrie nach, dass die für *S. sect. Saxifraga* existierenden Chromosomenzahlen nicht mit dem zellulären DNA-Gehalt korrelieren und benannten als Hauptgrund für diese Entwicklung ein Zusammenwirken von mehreren zytogenetischen Mechanismen, hauptsächlich zentrische Fission und Autopolyploidie. In anderen Untersuchungen wurden als weitere Gründe für die zytologische Diversität in *Saxifraga* Dysploidie (Küpfer & Rais 1983), Aneuploidie (Vargas & Nieto Feliner 1995), das Auftreten von B-Chromosomen (Soltis 1983) und Polyploidie (Brochmann et al. 1996) genannt. Es ist deshalb offensichtlich, dass aus den bekannten Angaben der Chromosomenzahlen allein keine sicheren Schlüsse über die Ploidieverhältnisse der Untersektion *Arachnoideae* gezogen werden können. Die Kenntnis der Ploidieverhältnisse ist jedoch eine Grundlage für ein tieferes Verständnis von möglichen Hybridisierungsprozessen in *S. subsect. Arachnoideae*.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde deshalb mithilfe einer Target Enrichment-Methode ein Multilocus-DNA-Sequenzdatensatz erstellt. Mit diesem Datensatz wurden erstens mithilfe von Koaleszenz-Methoden phylogenetische Artbäume und Netzwerke rekonstruiert und zweitens wurden die Ploidiestufen der Arten bestimmt. Die molekularen

Tab. 2: Bisher veröffentlichte Chromosomenzahlen in *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*.

Art	Chromosomen	Literaturangabe
<i>S. petraea</i>	64	Damboldt (1965), Teppner (1982)
<i>S. paradoxa</i>	64	Teppner (1982)
<i>S. berica</i>	-	-
<i>S. hohenwartii</i>	52-56	Hörandl (1993), Dobes et al. (1997)
	60	Favarger (1965)
<i>S. prenja</i>	-	-
<i>S. sedoides</i>	52	Hörandl (1993), Dobes et al. (1997)
	64	Favarger (1965)
<i>S. muscoides</i>	36-38	Favarger (1965)
<i>S. muscoides</i>	38	Küpfer und Rais (1983)
<i>S. presolanensis</i>	16	Damboldt & Podlec (1963)
<i>S. tenella</i>	64	Dobes et al (1997)
	66	Skovsted (1934)
<i>S. aphylla</i>	64, 66	Favarger (1965), Damboldt (1965)
	60	Küpfer und Rais (1983)
	58-62	Favarger (1965)
<i>S. arachnoidea</i>	56	Damboldt & Podlec (1963)
	66	Damboldt (1965)
<i>S. facchinii</i>	-	-

Phylogenien wurden dazu verwendet die möglichen Ursachen der ökologischen Diversifizierung dieser Abstammungslinie zu untersuchen.

3.2 Methoden

3.2.1 Untersuchungsmaterial

Proben aller zwölf Arten von *Saxifraga subsect. Arachnoideae* und Proben von allen fünf Arten der *Saxifraga subsect. Androsaceae* (ENGL. & IRMSCH.) TKACH, RÖSER & M.H.HOFFM. wurden 2016 von natürlichen Populationen in den europäischen Alpen, dem Apennin und den Dinarischen Alpen gesammelt (Tab. A 1). Angaben über die Verbreitungsgebiete und bekannte Standorte der Arten wurden den Sammlungen der Herbarien BC, GJO, FR, LZ, M, MA, MJG und WU sowie der Fachliteratur entnommen (Aeschimann et al. 2004; Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989). Vor der Probenentnahme wurden die Pflanzen im Gelände mithilfe zweier Bestimmungsschlüssel nachbestimmt (Webb 1993; Webb & Gornall 1989). Wegen artenschutzrechtlicher Restriktionen durften von den meisten Taxa an jedem Standort nur wenige Individuen entnommen werden. Daher wurde von den meisten Population nur je ein vollständiges und repräsentatives Belegexemplar gesammelt und von allen weiteren Individuen lediglich einzelne Triebe oder Laubblätter entnommen. Die frischen Blätter wurden sofort nach der Entnahme auf Kieselgel getrocknet. Die Belegexemplare wurden noch im Gelände gepresst und später als Herbariumbelege im Herbarium MJG hinterlegt (Tab. A 1).

Zusätzliche getrocknete Proben von *Saxifraga subsect. Arachnoideae*, *Androsaceae* und eine Probe von *Saxifraga irrigua* M.BIEB. wurden von den Herbarien GJO, LZ, M, MA und WU zur Verfügung gestellt (Tab. A 1). Dazu wurden ca. 600 Herbarbelege mithilfe der Bestimmungsschlüssel von Webb & Gornall (1989) und Gerschwitz-Eidt & Kadereit (2020; Kapitel 2) nachbestimmt und von allen Herbarbelegen der *Saxifraga subsect. Arachnoideae* und *Androsaceae*, welche unter Berücksichtigung des allgemeinen Zustandes, des Alters und der Konservierungsmethode für molekulare Untersuchungen geeignet waren, je 5–20 mg Blattmasse entnommen. Vor der weiteren Verwendung in den molekularen Untersuchungen wurde die korrekte Artzuordnung für alle Proben mit Hilfe der genannten Bestimmungsschlüssel ein zweites Mal überprüft. Dabei wurden auch die detaillierten Artbeschreibungen in der Fachliteratur (Hörandl 1993; Kaplan 1995; Tutin et al. 1993; Webb & Gornall 1989) herangezogen, um mögliche Hybridindividuen zu identifizieren und aus den molekularphylogenetischen Untersuchungen auszuschließen.

Die DNA-Extraktion erfolgte mit einem Macherey-Nagel NucleoSpin Plant II Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) unter Verwendung des SDS-basierten Lysepuffers PL2 nach Anweisungen des Herstellers. Einzig abweichend vom Herstellerprotokoll wurde die Dauer des Zellyse-Schrittes auf 60 min verlängert, um die DNA-Ausbeute zu maximieren. Die DNA-Extrakte wurden mittels Ethanol-fällung nach Sambrook & Russell (2001) gereinigt, um PCR-hemmende Sekundärmetabolite zu entfernen. Anschließend wurden die DNA-Extrakte mit einem Qubit 3.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) unter Verwendung des dsDNA HS Assays quantifiziert.

3.2.2 DNA-Sequenzierung

Unter Abwägung der geografischen Herkunft sowie der Reinheit und Gesamtmenge der extrahierten DNA wurden 47 Proben für die Genotypisierung ausgewählt. Dabei wurde darauf geachtet, von jeder Art von *Saxifraga subsect. Arachnoideae* mindestens zwei Individuen einzuschließen. Arten mit relativ großen Verbreitungsgebieten wurden dabei mit einer größeren Individuenzahl repräsentiert als solche Arten mit relativ kleinen Verbreitungsgebieten.

Von jeder Probe wurden 400–2.000 ng DNA verwendet, um eine *next generation sequencing* (NGS)-DNA-Bibliothek zu erstellen. Je fünf bis sieben NGS-DNA-Bibliotheken von nah verwandten Arten mit ähnlichen Qualitäten der DNA-Extrakte wurden zu jeweils gleichen Konzentrationen gepoolt und die Komplexität der gepoolten NGS-DNA-Bibliotheken durch *hybrid capture-based target enrichment* (Lemmon et al. 2012; Lemmon & Lemmon 2013) reduziert. Für das Target Enrichment wurde die RNA-Baits für 301 single-copy-Gene von Folk et al. (2019) sowie Baits für 28 weitere Loci von Stubbs et al. (2018) verwendet, um Sequenzen für insgesamt 329 Loci anzureichern (Folk, persönliche Kommunikation 2019; Elektr. Anhang 1). Die angereicherten NGS-DNA-Bibliotheken wurden vor der Sequenzierung mit 10 Volumenprozent nichtangereicherter NGS-DNA-Bibliothek gemischt. Anschließend wurden die DNA-Bibliotheken auf einem Illumina HiSeq 2500-Sequenzierautomaten mit einer Readlänge von 2×250 bp und einer Gesamtanzahl von 2×138 M Reads sequenziert. Die Erstellung der NGS-Bibliotheken, das Target Enrichment und die DNA-Sequenzierung wurden von Arbor Biosciences (Ann Arbor, Michigan, USA) durchgeführt. Alle in dieser Studie neu

erstellten DNA-Sequenzen wurden an das NCBI Short-Read-Archiv übermittelt (Tab. A 1). Die eigenen Proben wurden um DNA-Sequenzen von 17 Arten aus *Saxifraga* sect. *Saxifraga* (sensu Tkach et al. 2015) und von *Saxifraga hirsuta* L. aus *Saxifraga* sect. *Gymnopera* D.DON ergänzt (NCBI-BioProjekt PRJNA492276; Folk et al. 2019; Tab. A 1).

3.2.3 DNA-Sequenzassemblierung und -Alignments

Vor der DNA-Sequenzassemblierung wurden die *Forward*- und *Reverse*-Reads für jede Probe zusammengeführt und PCR-Duplikate mit ParDRe v2.2.5 (González-Domínguez & Schmidt 2016) entfernt. Adaptersequenzen sowie ganze Reads und einzelne Readabschnitte mit niedrigen *Phred quality scores* wurden in Trimmomatic v0.36 (Bolger et al. 2014) mit einer *sliding window size* von 4 bp und einer *sliding window minimum quality* von 20, einer *head crop length* von 5 bp und einer *minimum read length* von 25 bp entfernt und der Erfolg dieser Maßnahmen mit FASTQC v0.11.5 (Andrews 2010) und MultiQC v1.7 (Ewels et al. 2016) kontrolliert.

Die Sequenzassemblierung wurde mit der BWA-Version von HybPiper v1.3.1 (Johnson et al. 2016) mit Standardeinstellungen durchgeführt. Für fast alle Loci und Proben von *Saxifraga* sect. *Saxifraga* wurden mehrere Contigs pro Locus assembliert. Diese Contigs können entweder orthologe Sequenzen oder paraloge Sequenzen repräsentieren. Da die Verwendung von paralogen Sequenzen in phylogenetischen Rekonstruktionen zu falschen Stammbaum-Rekonstruktionen führen kann, sollten diese idealerweise vollständig aus dem Datensatz entfernt oder zumindest soweit wie möglich reduziert werden. Daher wurden alle Exonsequenzen auf das Vorkommen von Paralogen untersucht.

Zur Unterscheidung von orthologen und paralogen Sequenzen wurde ein dreistufiges Verfahren angewendet: Im ersten Schritt wurden die qualitätsgefilterten DNA-Reads mit HybPiper unter Verwendung der ursprünglichen Sequenzreferenz aus Folk et al. (2019) assembliert. Anschließend wurden die HybPiper-Post-Processing-Skripte wie von Johnson et al. (2016) beschrieben verwendet, um Orthologe und Paraloge in *Saxifraga* sect. *Saxifraga* zu identifizieren: Die HybPiper-Skripte "paralog_investigator.py" und "paralog_retriever.py" wurden dazu genutzt, an jedem Locus die exonischen Sequenzen aller Contigs zu extrahieren, sie für alle Proben mit MAFFT v7.305 (Kato & Standley

2013) zu alignieren und aus jedem Alignment mit FastTree v2.1.10 (Price et al. 2010) einen phylogenetischen Maximum Likelihood (ML)-Baum zu berechnen. Die ML-Genbäume wurden dann visuell auf Vorkommen von paralogen Sequenzen untersucht. Mutmaßlich paraloge Sequenzen wurden in den ML-Genbäumen identifiziert, indem für jeden Genbaum, in dem für mindestens zwei Individuen je mindestens zwei DNA-Sequenzen assembliert wurden, das Segregationsmuster der Sequenzen analysiert wurde: Unter der Annahme, dass ein bestimmtes Individuum einer Art mit mehreren orthologen Sequenzen in einem phylogenetischen Baum vertreten ist, bilden die Sequenzen dieses Individuums im phylogenetischen Baum entweder ein Monophylum (kein ILS) oder sind zumindest nahe Verwandte (unter geringem ILS). Paraloge Sequenzen eines Individuums hingegen sind im Stammbaum nicht eng miteinander verwandt, sondern bilden Klade mit den jeweils orthologen Sequenzen anderer Individuen (Abb. 3). Für alle Loci, bei denen nach dieser Regel Paraloge identifiziert wurden, wurden zwei bis vier Sequenzen verschiedener *Saxifraga*-Arten aus jeder Gruppe von mutmaßlichen Orthologen ausgewählt und einer aktualisierten Referenzsequenzdatei als neue Referenzsequenzen für ihr jeweiliges Ortholog hinzugefügt (Elektr. Anhang 1). Die vorhergehenden Sequenzreferenzen für die betroffenen Loci wurden gelöscht. Unter Verwendung dieser aktualisierten Referenzsequenzdatei wurden die DNA-Assemblierung mit HybPiper und das Post-Processing wie oben beschrieben wiederholt, die Exonsequenzen ein zweites Mal auf das Vorhandensein von Paralogen untersucht und zusätzliche Referenzsequenzen von mutmaßlichen Orthologen zu einer erneut aktualisierten Referenzdatei hinzugefügt (Elektr. Anhang 1). Schließlich wurden nach einem dritten DNA-Assemblierungsdurchgang alle Loci, die noch Paraloge in Proben von *S. subsect. Arachnoideae* enthielten, aus den weiteren Untersuchungen ausgeschlossen. Für die verbleibenden Loci wurden alle weiteren Schritte von HybPiper durchgeführt, um auch die nicht-exonischen Sequenzdaten zu erhalten.

Sieben Arten von *Saxifraga subsect. Saxifraga*, nämlich *S. adscendens* L., *S. canaliculata* BOISS. & REUTER EX ENGL., *S. conifera* COSS. & DURIEU, *S. continentalis* WEBB, *S. exarata* VILL., *S. magellanica* POIR. und *S. portosanctana* BOISS., waren an den meisten Loci schlecht aligniert und wiesen eine hohe Anzahl von Basen-Mismatches sowie zahlreiche Insertionen und Deletionen (Indels) auf. Diese Proben wurden aus dem Datensatz entfernt und das Alignment der Exons mit den 58 verbleibenden Proben

wiederholt. Anschließend wurden die nicht-exonischen Sequenzen, d.h. Introns und Spacer-Sequenzen, mit der Option "-addlong" in MAFFT zu den exonischen Alignments hinzugefügt. Die resultierenden Alignments enthielten häufig Indel-reiche Abschnitte mit schlecht alignierten nicht-exonischen Sequenzen und einer Länge von mehreren tausend Basenpaaren. Um die Anzahl dieser Regionen zu reduzieren, wurde BuddySuite v1.3.0 (Bond et al. 2017) verwendet und alle Alignment-Positionen, die zu mehr als 50 Prozent aus Lücken bestanden, aus den Alignments entfernt. Alle Alignments, in denen nach diesem Schritt mehr als 20 Prozent der Proben oder die *S. hirsuta*-Probe fehlten, wurden ebenfalls von den weiteren Untersuchungen ausgeschlossen. Die restlichen der in den Introns immer noch sporadisch auftretenden Paraloge wurden mit TreeShrink v1.3.3 (Mai & Mirarab 2018) weitestgehend entfernt: Mit TreeShrink können einzelne Proben oder Klade identifiziert werden, die überproportional zur Länge eines phylogenetischen Baums beitragen. Dies können Sequenzen mit einer beschleunigten Evolutionsrate sein oder aber Gruppen von paralogen Sequenzen in einem ansonsten überwiegend orthologen Datensatz. Mit TreeShrink können diese Ausreißer identifiziert und ihre DNA-Sequenzen automatisch aus den Alignments entfernt werden. Dazu wurden für alle Loci ML-Genbäume mit RAxML v8.2.12 (Stamatakis 2014) unter Verwendung eines

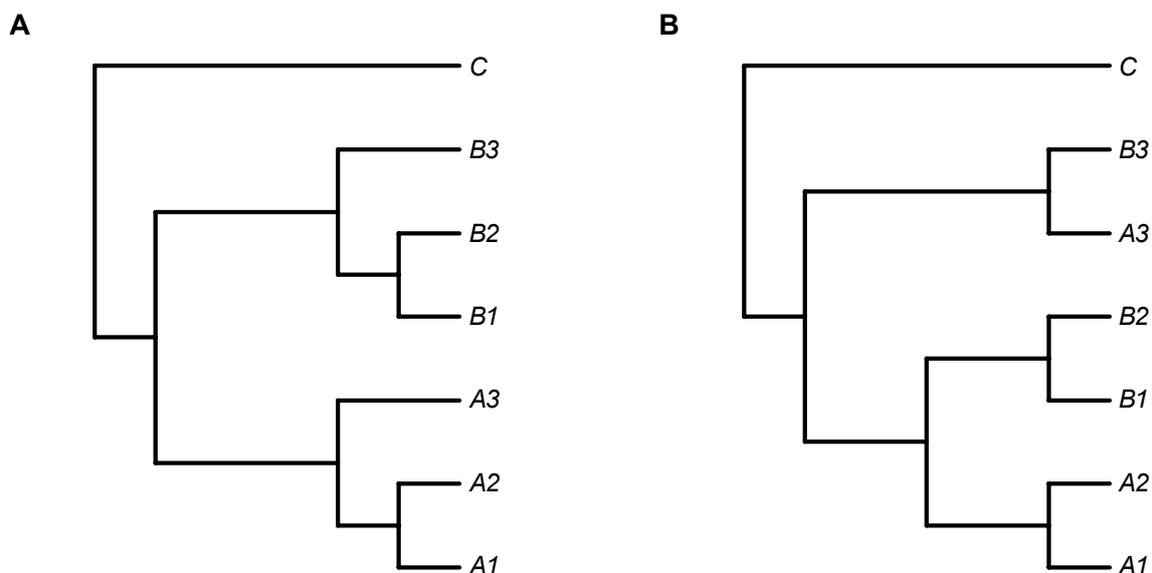


Abb. 3: Beispiele für die Identifizierung von Paralogen nach der Methode von Johnson et al. (2016). (A) Die Sequenzen der Proben A und B fallen in je eine monophyletische Klade. Die Sequenzen A1-3 und B1-3 stellen deshalb echte Allele dar. (B) Die Sequenzen der Proben A und B fallen nicht in je eine einzige monophyletische Klade. Die Sequenzen B1-2 und A1-2 sind zueinander ortholog und deshalb echte Allele. Zu den Sequenzen A3 und B3 hingegen sind sie keine Allele, sondern Paraloge.

unpartitionierten GTR + Γ -Nukleotid-Substitutionsmodells mit *S. hirsuta* als Außengruppe berechnet. Anschließend wurden alle Genbäume und Alignments in einem einzigen TreeShrink-Lauf gemeinsam analysiert, um Ausreißer zu entfernen. Die Alignments wurden schließlich mit BuddySuite v1.3.0 erneut überprüft, um alle Alignment-Positionen auszuschneiden, die zu mehr als 50 Prozent aus Lücken bestanden, und um alle Alignments zu entfernen, in denen mehr als 20 Prozent der Proben oder die *S. hirsuta*-Probe fehlten. Der resultierende Datensatz bestand aus 405 Loci in 58 Proben.

3.2.4 Phylogenetische Untersuchungen

Zunächst wurden aus den Alignments der 405 Loci mit RAxML v8.2.12 (Stamatakis, 2014) 405 *Maximum Likelihood* (ML) -Genbäume unter dem Nukleotid-Substitutionsmodell GTR + Γ mit 1.000 Bootstrap-Replikaten pro Genbaum mit *Rapid Bootstrapping* berechnet. Die 405 Genbäume wurden mit *S. hirsuta* als Außengruppe gewurzelt.

Aus diesen 405 ML-Genbäumen wurden mit ASTRAL v5.7.3 (Zhang, Rabiee et al. 2018) unter dem *multispecies coalescent*-Modell zwei *summary coalescent* (SC)-Artbäume⁶ mit je 100 Bootstrap-Replikaten berechnet. Bei der Berechnung des ersten Artbaumes wurden die Informationen über die Artzugehörigkeit der Proben nicht verwendet, um anhand dieses Artbaums überprüfen zu können, ob es sich bei den 12 Arten von *S. subsect. Arachnoideae* um monophyletische Arten handelt. Bei der Berechnung des zweiten Artbaumes wurde die Artzugehörigkeit berücksichtigt und floss in Form einer sog. *taxon map* (Rabiee et al. 2019) in die Stammbaumberechnung ein, wodurch die DNA-Sequenzen von mehreren Individuen einer Art als Allele dieser Art betrachtet wurden. Basierend auf dem Ergebnis der ersten Artbaumberechnung wurden in dieser *taxon map*

⁶ Für die Berechnung von phylogenetischen Artbäumen mit dem multispecies coalescent-Modell existieren zwei Klassen von Methoden. Erstens kann die Artbaum-Berechnung im vollständigen Koaleszenz-Modell durchgeführt werden und wird dann als full coalescent (FC)-Methode bezeichnet. Da in FC-Methoden der Artbaum und die Genbäume bestimmte Modellparameter teilen und deshalb gleichzeitig und in Wechselwirkung miteinander berechnet werden müssen, steigt die Berechnungszeit exponentiell mit der Anzahl der genetischen Loci und Proben, was in der Praxis die Anwendung auf relativ kleine Datensätze beschränkt. Daher wurden Methoden entwickelt, welche mittels statistischer Methoden aus zuvor einzeln und unabhängig voneinander berechneten Genbäumen den Artbaum rekonstruieren (engl. *summary coalescent*; SC), was die Berechnungszeit im Vergleich zu FC-Methoden enorm beschleunigt und damit auch auf große Datensätze angewendet werden kann.

die Proben von *S. muscoides* in zwei Gruppen (*S. muscoides* 1 und *S. muscoides* 2) eingeteilt.

Die ersten 100 Bootstrap-Replikate der 405 Genbäume wurden mit SplitsTree v.4.16.1 (Huson & Bryant 2006) unter Verwendung der *FilteredSuperNetwork*-Methode (Huson & Bryant 2006; Whitfield et al. 2008) visualisiert. Nur diejenigen *Splits*, welche in mindestens 20 Prozent der Bootstrap-Genbäume vorhanden waren, wurden bei der Rekonstruktion berücksichtigt.

Um sowohl ILS als auch Retikulation als Folge von Hybridisierungsereignissen in den phylogenetischen Rekonstruktionen zu berücksichtigen, wurden phylogenetische Netzwerke unter dem *multispecies network coalescent*-Modell (Wen et al. 2016) berechnet: Mithilfe der 405 ML-Genbäume wurden mit PhyloNet v3.8.0 (Than et al. 2008; Wen et al. 2018) mehrere SC-Artnetzwerke unter Verwendung der *Maximum Pseudolikelihood* (MPL) Methode "InferNetwork_MPL" (Yu & Nakhleh 2015) berechnet. Die Rekonstruktionen erfolgten unter Verwendung einer *taxon map* und alle Knoten in den Genbäumen mit einer Bootstrap-Unterstützung kleiner als 70 (Hillis & Bull 1993) wurden bei der Berechnung als Polytomien interpretiert. Insgesamt wurden 11 MPL-Artnetzwerke mit einer Anzahl von null bis zehn Hybridknoten pro Netzwerk (K) berechnet. Jede dieser insgesamt elf Berechnungen wurde mit zehn unabhängigen Läufen zur Optimierung der Pseudo-Likelihood durchgeführt. Für jeden Wert von K wurde, gewichtet nach der Pseudo-Likelihood, das beste Netzwerk beibehalten. Um die wahrscheinlichste Anzahl von Retikulationen mithilfe der rekonstruierten Netzwerke zu identifizieren, wurde ein Log-Likelihood-Profil erstellt (Solís-Lemus et al. 2017; Wen et al. 2018). Die Gemeinsamkeiten der besten Netzwerke für K=1-10 wurden mithilfe der *major trees*, d. h. der den Netzwerken mehrheitlich zugrunde liegenden Artbäume, abgeleitet. Dazu wurden mit PhyloNetworks v.0.11.0 (Solís-Lemus et al. 2017), implementiert im Julia-REPL v.1.2.0 (Bezanson et al. 2017), mit der Methode "majorTree" alle *minor edges* der zehn Netzwerke entfernt. Die *major trees* wurden visuell miteinander verglichen, um Aussagen über die Monophylie von *S. subsect. Arachnoideae* zu treffen und ihre wahrscheinlichste Schwesterklade unter den verschiedenen Retikulationsszenarien zu identifizieren.

Zur Bestimmung der statistischen Unsicherheit bei der Berechnung der phylogenetischen Netzwerke wurde eine Bootstrap-Analyse durchgeführt. Dazu wurde der Datensatz

verkleinert und nur die 41 Proben von *S. subsect. Arachnoideae* und eine Probe von *Saxifraga pedemontana* ALL. zur Verwendung als Außengruppe behalten. In BuddySuite v1.3.0 wurde die übrigen 16 Proben aus allen Alignments gefiltert und anschließend alle Alignments entfernt, in denen die Außengruppe *S. pedemontana* fehlte. Der daraus resultierende Datensatz umfasste 42 Proben und die Alignments von 388 Loci.

Für jeden der 388 Loci wurde ein ML-Genbaum in RAxML v8.2.12 unter dem Nukleotid-Substitutionsmodell GTR + Γ -mit Rapid Bootstrapping und 100 Bootstrap-Replikaten abgeleitet. Die 388 besten ML-Bäume und ihre Bootstrap-Replikate wurden dazu verwendet, um unter Verwendung einer *taxon map* in ASTRAL v5.7.3 einen Artbaum mit 100 Bootstrap-Replikaten zu rekonstruieren.

Darauf aufbauend wurden mit SNaQ (Solís-Lemus & Ané 2016) wie in PhyloNetworks v0.11.0 implementiert phylogenetische Netzwerke berechnet. Dazu wurde zunächst in PhyloNetworks aus den 388 ML-Genbäumen eine Tabelle mit Quartett-Konkordanzfaktoren (Cfs) für alle möglichen Kombinationen von Proben aus je vier verschiedenen Arten erstellt. Aus der Cfs-Tabelle wurden dann in SNaQ unter Verwendung einer *taxon map* iterativ sechs phylogenetische MPL-Netzwerke für null bis fünf Hybridknoten (H) berechnet. Die Rekonstruktion wurde für H=0 mit dem ASTRAL-Artbaum als Startbaum initialisiert. Die Netzwerke für H=1–3 wurden jeweils mit dem besten Netzwerk des vorangegangenen Laufs als Startnetzwerk initialisiert. Die Berechnung des Netzwerks für H=4 konnte nicht mit dem besten Netzwerk für H=3 initialisiert werden, da diesem keine weiteren *reticulation edges* hinzugefügt werden konnten, ohne einen sogenannten *intersecting cycle* zu erzeugen. Netzwerk-Topologien mit *intersecting cycles* sind in SNaQ nicht zugelassen. Stattdessen wurden die Berechnungen des Netzwerks für H=4 mit dem besten Netzwerk für H=2 initialisiert. Aus denselben Gründen konnte für die Berechnung für H=5 weder das beste Netzwerk für H=3 noch das für H=4 als Startnetzwerk verwendet werden. Sie wurde deshalb ebenfalls mit dem besten Netzwerk für H=2 initialisiert. Für jeden Wert von H=0–5 wurden 50 voneinander unabhängige Netzwerkberechnungen durchgeführt und ein gemeinsames Log-Likelihood-Profil erstellt.

Für die besten Netzwerke mit H=1 und H=2 wurden in SNaQ Bootstrap-Analysen durchgeführt, um die statistische Unsicherheit bei der Rekonstruktion der Genbäume in die Netzwerkberechnung einzubeziehen (Solís-Lemus, persönliche Kommunikation

2020). Als Berechnungsgrundlage wurden die 38.800 Bootstrap-Replikate der 388 ML-Genbäume verwendet. Zur Berechnung eines einzelnen Netzwerk-Bootstrap-Replikats wurde zunächst für jeden der 388 Genbäume je ein zufälliges Genbaum-Bootstrap-Replikat ausgewählt. Aus diesen 388 Genbaum-Bootstrap-Replikaten wurde dann eine Tabelle mit Quartett-Cfs berechnet und das beste Netzwerke in 50 unabhängigen Durchgängen ermittelt. Dieser Vorgang wurde insgesamt je 100-mal für H=1 und H=2 durchgeführt, um je 100 Netzwerk-Bootstrap-Replikate zu erzeugen. Für jedes Bootstrap-Replikat wurde von allen Netzwerken, die mit *S. pedemontana* als Außengruppe gewurzelt werden konnten, das Netzwerk mit der besten Pseudolikelihood behalten.

3.2.5 Molekulare Datierung

Um die Alter und Divergenzzeiten der Arten von *S. subsect. Arachnoideae* zu ermitteln, wurde eine molekulare Datierung durchgeführt. Die Datierung von phylogenetischen Netzwerken durch bayessche Inferenz ist durch neuere bioinformatische Methoden zwar theoretisch möglich (Zhang, Ogilvie et al. 2018), aber die Berechnungszeit des *multispecies network coalescent*-Modells steigt exponentiell mit der Anzahl der Proben, der Anzahl der untersuchten genetischen Marker und der Anzahl der Hybridisierungsereignisse. Mit der zum Zeitpunkt dieser Arbeit verfügbaren Computerhardware war deshalb die Datierung der in dieser Untersuchung berechneten Netzwerke praktisch nicht durchführbar.

Daher wurden die Divergenzzeiten für *Saxifraga subsect. Arachnoideae* stattdessen mithilfe eines mehrfach gelabelten phylogenetischen Baumes (engl. *multilabeled phylogenetic tree*; Blanco-Pastor et al. 2012; Huber et al. 2006; Pirie et al. 2009) modelliert. Der hier datierte mehrfach gelabelte Artbaum basierte auf dem aus dem vollständigen Datensatz (58 Proben, 405 Loci) berechneten ASTRAL-Baum. In Übereinstimmung mit den Artnetzwerken wurde für die Hybridart *S. facchinii* eine zweite Abstammungslinie in den ASTRAL-Artbaum integriert. Als weitere Datengrundlage für die molekulare Datierung wurden außerdem aus dem vollständigen Datensatz (58 Proben, 405 Loci) 20 Alignments ausgewählt, deren ML-Genbäume eindeutig je einer der beiden im mehrfach gelabelten phylogenetischen Artbaum enthaltenen Topologien zugeordnet werden konnten. Für beide Topologien wurden je 10 Alignments ausgewählt.

Zu diesem Zweck wurden zunächst in PhyloNetworks v0.11.0 für jeden der 405 ML-Genbäume im Datensatz mit 58 Proben die Robinson-Foulds (RF)-Distanzen (Robinson & Foulds 1981) zu den beiden Artbaum-Topologien berechnet. Für die Berechnung der RF-Distanzen zur ersten Topologie wurde der unveränderte Artbaum verwendet. Für die Berechnung der RF-Distanzen zur zweiten Topologie wurde der ASTRAL-Artbaum permutiert, indem die *S. facchinii*-Klade entsprechend der in den phylogenetischen Artnetzwerken rekonstruierten Verwandtschaftsbeziehungen (siehe Ergebnisse, Kapitel 3.3.2) aus Klade 4 nach Klade 3 verschoben wurde. Im nächsten Schritt wurden die ML-Genbäume identifiziert, welche zwei unterschiedliche RF-Distanzen zu den beiden Artbaum-Topologien aufwiesen. Diese Genbäume wurden visuell daraufhin geprüft, ob ihre Topologien, unter Berücksichtigung der Bootstrap-Unterstützung, eindeutig je einer der beiden im mehrfach gelabelten phylogenetischen Artbaum enthaltenen Topologien zugeordnet werden konnten. Knoten mit Bootstrap-Unterstützung kleiner als 70 (Hillis & Bull 1993) wurden dabei als Polytomien interpretiert und deshalb nicht als eindeutige Zuordnung zu einer der beiden Topologien gewertet. Nach diesen Kriterien wurden für jede der beiden Artbaum-Topologien 10 genetische Loci mit einer möglichst vollständigen Stichprobe für die molekulare Datierung ausgewählt. Die 20 zugehörigen DNA-Alignments wurden in MEGA X v10.0.5 (Kumar et al. 2018) visuell überprüft und manuell nachaligniert, um eine gute Alignment-Qualität sicherzustellen. Die für die Abstammungslinie in Klade 4 repräsentativen DNA-Sequenzen von *S. facchinii* wurden in den Alignments mit dem Suffix 1 und die für die Abstammungslinie in Klade 3 repräsentativen DNA-Sequenzen mit dem Suffix 2 gekennzeichnet.

Die zeitkalibrierten phylogenetischen Bäume wurden mit STARBEAST2 v0.15.5 (Ogilvie et al. 2017), implementiert in BEAST v2.6.3 (Bouckaert et al. 2019), unter Verwendung einer unkorrelierten lognormal-verteiltern molekularen Uhr (engl. *uncorrelated lognormal relaxed molecular clock*; Drummond et al. 2006) mit einem Geburts- und Todesprozess (engl. *birth-death speciation process*; Gernhard 2008; Stadler 2009) und dem Nukleotid-Substitutionsmodell GTR + Γ berechnet. Basierend auf den Ergebnissen einer molekularen Datierung der Saxifragales (Folk et al. 2019) wurde in einer sekundären Kalibrierung ein uniform verteilter Prior von 9,12–24,4 Ma für das Stammalter von *S. sect. Saxifraga* gesetzt. Für die Berechnung wurde die Baumtopologie auf den mehrfach gelabelten Artbaum festgelegt, um einerseits eine Verzerrung der

Divergenzzeiten durch eine mögliche Berücksichtigung von mit den Artnetzwerken inkompatiblen Topologien zu verhindern und andererseits die immense Berechnungszeit zu verkürzen. Alle übrigen Parameter des Modells wurden in STARBEAST2 optimiert. Es wurden vier unabhängige Berechnungsdurchgänge mit je 62 parallelen adaptiven Markovketten (engl. *Metropolis-coupled Markov chain Monte Carlo*; Altekar et al. 2004; Müller & Bouckaert 2020) und insgesamt 450 Mio. Generationen durchgeführt. Jede 5000. Generation wurde gesampelt. Die Parameterverteilungen wurden in Tracer v.1.7.1 (Rambaut et al. 2018) auf Konvergenz und eine effektive Stichprobengröße von mindestens 200 kontrolliert, um für jeden der vier unabhängigen Durchgänge eine geeignete *Burn-in*-Länge von 234 Mio., 279 Mio., 351 Mio. und 270 Mio. Generationen festzusetzen. Die vier Läufe wurden mit LogCombiner v.2.6.3 (Drummond & Rambaut 2007) kombiniert. Aus der kombinierten Artbaum-Verteilung wurde mit TreeAnnotator v.2.6.3 (Drummond & Rambaut 2007) ein *maximum clade credibility tree* berechnet. Die Alter der Knotenpunkte (engl. *node heights*) des *maximum clade credibility tree* wurden auf die Mediane der jeweils entsprechenden *node height*-Verteilungen aus den gesampelten Artbäumen gesetzt. Die Abbildung des Chronograms wurde im R-Paket phyloch (Heibl 2013) in R v.4.1.2 (R Core Team 2021) erstellt.

3.2.6 Rekonstruktion der ancestralen Ökologie

Die Entwicklung von drei ökologischen Merkmalen von *S. subsect. Arachnoideae* wurde anhand der ökologischen Zeigerwerte von Landolt et al. (2010; Tab. A 2) rekonstruiert. Nach Silvertown et al. (2006) können Zeigerwerte als numerische Darstellung von Eigenschaften ökologischer Nischen betrachtet und deshalb dafür verwendet werden, einzelne Aspekte der Evolution der ökologischen Nische in einem phylogenetischen Rahmen zu rekonstruieren (Prinzing et al. 2001; Silvertown et al. 2006). Da Zeigerwerte quasikardinal Zahlen darstellen (Ellenberg 1992), können sie direkt in kontinuierliche Merkmalszustände übersetzt werden, solange die betrachteten Zeigerwerte, wie beispielsweise im Falle von *S. subsect. Arachnoideae* (Landolt et al. 2010), eine geringe intraspezifische Variation aufweisen.

Zwei klimabezogene Zeigerwerte, nämlich die Temperaturzahl (T) als Indikator für die Höhenverbreitung, und die Lichtzahl (L) als Indikator für die relative Beleuchtungsstärke am Standort, sowie der Zeigerwert für den Boden-pH-Wert, die Reaktionszahl (R),

wurden von Landolt et al. (2010) übernommen (Tab. A 2). Zeigerwerte aus anderen Quellen (z. B. Ellenberg 1992; Ellenberg & Leuschner 2010; Pignatti et al. 2005) wurden mangels direkter Vergleichbarkeit nicht verwendet. Da für *S. prenja* keine Landolt-Zeigerwerte verfügbar waren, wurde die Information zur Ökologie von *S. prenja* aus allen verfügbaren Quellen gesammelt und verglichen (Hörandl 1993; Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989). Daraus ergab sich, dass die ökologischen Merkmale von *S. prenja* mit denen von *S. hohenwartii* vergleichbar sind. Die Zeigerwerte von *S. hohenwartii* wurden deshalb für *S. prenja* übernommen. Alle Taxa, für die keine Landolt-Zeigerwerte existieren sowie die Probe von *S. rosacea* MOENCH (wahrscheinlich eine Probe einer anderen Art; siehe Diskussion) wurden mit dem R-Package ape v5.0 (Paradis & Schliep 2019) aus dem datierten Artbaum entfernt. Die Hybridart *S. facchinii* (siehe Diskussion) wurde ebenfalls entfernt, weil ihre Einbeziehung die wesentliche Grundannahme aller der Rekonstruktion zugrunde liegenden Modelle verletzt, nämlich die Annahme eines gerichteten, sich binär verzweigenden Baumes (engl. *bifurcating tree*).

Als zwei unabhängige Maße für die Stärke des phylogenetischen Signals wurden Blombergs K (Blomberg et al. 2003) und Pagels λ (Pagel 1999) mit dem R-Package phytools v.0.7-90 (Revell 2012) berechnet. Mit dem R-Package geiger v2.0.7 (Pennell et al. 2014) wurden vier Modelle der ökologischen Merkmalsentwicklung an alle drei Zeigerwerte gefittet, nämlich (1) ein einfaches Brownsches Bewegungsmodell (BM; Felsenstein 1973), (2) ein Ornstein-Uhlenbeck-Modell (OU; Butler and King 2004), (3) ein Early-Burst-Modell (EB; Harmon et al. 2010) und (4) ein *White-Noise*-Modell ohne statistische Vorhersagekraft. Aus den korrigierten Akaike-Informationskriterien (AICc) der vier Modelle wurden die AICc-Gewichte (w_i) als relatives Maß für die Vorhersagekraft der Modelle berechnet. Für jeden der drei Zeigerwerte wurde die ancestralen Merkmale unter dem Modell mit dem jeweils größten AICc-Gewicht mit der phytools-Funktion "anc.ML" mit je 1 Million Iterationen rekonstruiert. In den Fällen, in denen ein White-Noise-Modell als bestes Modell identifiziert wurde, wurde die Rekonstruktion der ancestralen Merkmale stattdessen mit dem jeweils zweitbesten Modell durchgeführt. Die abgeleiteten Merkmalszustände wurden in phytools mit der Funktion „contMap“ auf den gekürzten Artbaum projiziert.

3.2.7 Bestimmung der Ploidiestufen aus DNA-Sequenzdaten

Short Read-Datensätze können dazu verwendet werden Aussagen über den Ploidiegrad einer Probe abzuleiten, indem man die Anzahl der Reads zählt, die an jeder Position des Genoms verschiedene Allele unterstützen. Beispielsweise zeigen in einem haploiden Organismus an jeder Position des Genoms alle Reads, mit Ausnahme von Sequenzierfehlern, nur ein einziges Allel. In einem diploiden Organismus gibt es je nach dem Grad der Heterozygotität neben monomorphen oder homozygoten Positionen auch solche, bei denen die Hälfte der Reads ein Allel und die andere Hälfte ein anderes Allel unterstützt. In einem triploiden Organismus wird an multiallelischen Genompositionen jedes Allel von je einem Drittel der Reads unterstützt, bei biallelischen Stellen würden zwei Drittel der Reads das häufigere Allel unterstützen und das verbleibende Drittel das seltenere, und so weiter für alle weiteren Ploidiegrade (Tab. 3). Daher kann bei Betrachtung der Allelfrequenzen vieler Genompositionen eines Organismus der Ploidiegrad desselben abgeleitet werden. In der Praxis weichen die empirischen Allelfrequenzen von den theoretisch zu erwartenden Zahlenverhältnissen ab. Ursächlich dafür sind beispielweise stochastische Effekte während der PCR und des Target Enrichments bei der Erstellung der DNA-Bibliotheken, Sequenzierfehler sowie Fehler beim Mappen der Reads. Dies führt dazu, dass die empirischen Allelfrequenzen normalverteilt um die theoretischen zu erwartenden Werte streuen. Aus den Histogrammen können trotzdem Rückschlüsse auf die Ploidiestufe der entsprechenden Probe gezogen werden, wenn sowohl die Sequenziertiefe als auch die Heterozygotität groß genug sind, um eine hinreichend scharfe Häufigkeitsverteilung zu ergeben.

Tab. 3: Beispiele für die theoretische Verteilung der Allelfrequenzen in Short Read-Datensätzen an biallelischen Basenpositionen in Organismen verschiedener Ploidiestufen.

Ploidiestufe	Zweithäufigstes Allel B	Häufigstes Allel A	Allelverteilung
Diploid	50	50	AB
Triploid	33,33	66,67	AAB
Tetraploid	25	75	AAAB
Tetraploid	50	50	AABB
Pentaploid	20	80	AAAAB
Penaploid	40	60	AAABB
Hexaploid	16,67	83,33	AAAAAB
Hexaploid	33,33	66,67	AAAABB
Hexaploid	50	50	AAABBB
Heptaploid	14,29	85,71	AAAAAAB
Heptaploid	28,57	71,43	AAAAABB
Heptaploid	42,86	57,14	AAAABBB

Nach dem oben beschriebenen Prinzip wurden mit PloidyNGS v3.1.2 (Corrêa dos Santos et al. 2017) Allelfrequenz-Profile der 41 Proben von *S. subsect. Arachnoideae* erstellt. PloidyNGS berechnet die Allelfrequenz als den Anteil der Reads, die ein bestimmtes Nukleotid gemessen an der Sequenzierungstiefe an der jeweiligen Position unterstützen. Die Allelfrequenzen der Allele an jeder Position werden vom niedrigsten zum höchsten Wert geordnet und als vierte, dritte, zweite und erste Position gekennzeichnet in einem Histogramm für alle Positionen aufsummiert. Das Histogramm kann dann mit aus simulierten Daten bekannter Ploidiestufe erstellten Histogrammen verglichen werden (https://github.com/diriano/ploidyNGS/blob/master/simulation/results/results_ploidy_simulations.html), um die Ploidiestufe der jeweiligen Probe zu bestimmen. Optional kann ploidyNGS die empirischen Daten mit simulierten Datensätzen bekannter Ploidie vergleichen, die Kolmogorov-Smirnov-Distanz (KS) zwischen beiden Datensätzen berechnen und die Ploidie des simulierten Datensatzes mit der kleinsten KS-Distanz zum empirischen Datensatz angeben.

Zunächst wurde für eine neue Referenzdatei die originalen Referenzsequenzen so gekürzt, dass für jeden der 329 ursprünglichen Loci nur die Referenzsequenz des zu *S. subsect. Arachnoideae* jeweils nächstverwandten Taxons (in der Regel *S. magellanica*) behalten wurde. Für jede der 41 Proben aus *S. subsect. Arachnoideae* wurden mit Bowtie2 v2.3.5.1 (Langmead & Salzberg 2012) alle qualitätsgefilterten und getrimmten Reads mit den Einstellungsparametern „--no-unal --local -D 30 -R 5 -N 1 -L 20 -i S,1,0.50 -X 1000 -p 64“ gegen die Referenzdatei gemappt. Die resultierenden Mapping-Dateien wurden mit SAMtools v1.9 (Li et al. 2009) vom SAM- ins BAM-Format konvertiert und sortiert. Aus den sortierten BAM-Dateien wurden schließlich mit PloidyNGS v3.1.2 mit einer maximalen Coverage von 1.000 die Allelfrequenzen berechnet und Histogramme für die Allelfrequenzen von 0,05–0,95 erstellt. Allelfrequenzen unter 0,05 und über 0,95 wurden ignoriert, weil im Normalfall davon auszugehen ist, dass diese Allelfrequenzen ausschließlich auf PCR-, Sequenzier- oder Assemblierfehler an monomorphen oder homozygoten Basenpositionen zurückzuführen sind (Corrêa dos Santos et al. 2017). Die Histogramme wurden manuell und automatisiert mithilfe der KS-Distanz mit simulierten Datensätzen bekannter Ploidiestufe verglichen.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 DNA-Sequenzassemblierung und -Alignments

Insgesamt wurden 2×138 Millionen Reads in 47 Proben neu sequenziert. Nach dem Qualitätsfiltern und Trimmen der Sequenzen verblieben insgesamt 244,4 Millionen Reads. Pro Probe verblieben durchschnittlich 2,6 (Standardabweichung [SD] = 0,9) Millionen Reads mit einer mittleren Länge von 221,4 (SD = 7,8) bp (Tab. A 3).

Im ersten Assemblierungsdurchgang wurden die Reads auf 326 der ursprünglichen 329 Referenzloci gemappt. Für 19 dieser Loci wurden entweder nur für wenige Taxa Reads gemappt oder in den Genbäumen konnte nicht zuverlässig zwischen Orthologen und Paralogen unterschieden werden. Diese Loci wurden deshalb bei allen weiteren Untersuchungen nicht mehr berücksichtigt. Von den verbleibenden 307 Loci hatten 163 zwei oder mehr Paraloge, wobei für die meisten Loci Paraloge nur in Proben der *Saxifraga*-Untersektionen *Androsaceae* und *Arachnoideae* auftraten. Die aktualisierte Referenzsequenz-Datei für die zweite Assemblierung enthielt Referenzsequenzen für 555 Loci. Die Reads wurden erfolgreich auf 514 Loci gemappt, von denen 41 nur für wenige Taxa gemappt und deshalb verworfen wurden. Von den verbleibenden 473 Loci zeigten 87 immer noch Paraloge. Diese wurden erneut geteilt und zur dritten Version der Referenzsequenz-Datei mit 649 Referenzsequenzen hinzugefügt. In der dritten und letzten Assemblierung wurden die Reads erfolgreich auf 567 Loci gemappt, von denen 463 für die weiteren Untersuchungen behalten wurden. Es wurden in den ursprünglichen 329 Loci also 163 Loci mit mindestens zwei Paralogen identifiziert, innerhalb derer in 87 Loci mindestens drei Paraloge vorhanden waren.

Der vollständige Datensatz enthielt die gefilterten Alignments von 405 Loci mit einer Gesamtlänge von ca. 1,33 Millionen bp und einer mittleren Taxonabdeckung von 53,5 von 58 Taxa (Elektr. Anhang 2). Die durchschnittliche Alignmentlänge betrug 3.293 bp, der durchschnittliche Anteil der *missing data* in den Alignments 18 Prozent, der durchschnittliche Anteil variabler Alignmentpositionen 60 Prozent und der durchschnittliche Anteil der parsimonisch informativen Alignmentpositionen 40 Prozent. Der gekürzte Datensatz enthielt 388 Loci mit einer Gesamtlänge von ca. 1,28 Millionen bp (Elektr. Anhang 3). Die durchschnittliche Taxonabdeckung betrug 39,3 von 42 Taxa, die durchschnittliche Alignmentlänge 3.294 bp, der durchschnittliche Anteil der *missing*

data 10 Prozent, der durchschnittliche Anteil variabler Alignmentpositionen 40 Prozent und der durchschnittliche Anteil der parsimonisch informativen Alignmentpositionen 20 Prozent.

3.3.2 Phylogenetische Untersuchungen

Für den vollständigen Datensatz mit 58 Proben und 405 Loci waren die beiden ASTRAL-Artenbäume (Abb. 4, Abb. A 1), das SplitsTree-Hybridnetzwerk (Abb. A 2) und die *major trees* der wahrscheinlichsten PhyloNet-Netzwerke für K=1 bis K=10 (Abb. A 3, Elektr. Anhang 4) weitgehend kongruent. In allen phylogenetischen Analysen wurde *S. subsect. Arachnoideae* (sensu Gerschwitz-Eidt & Kadereit 2020) als monophyletisch rekonstruiert.

In den ASTRAL-Artenbäumen wurde eine Klade aus *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. petraea* (Klade 1) als Schwester zum Rest der Gruppe rekonstruiert. Innerhalb der übrigen Arten war eine Klade aus *S. hohenwartii*, *S. prenja* und *S. sedoides* (Klade 2) Schwester zu einer Klade aus *S. muscoides*, *S. presolanensis* und *S. tenella* (Klade 3). Eine Klade mit *S. facchinii*, *S. aphylla* und *S. arachnoidea* (Klade 4) war Schwester zu den Kladen 2 und 3. Die Kladen 1–4 finden sich in identischer Form nur im PhyloNet-Netzwerk für K=1 (Abb. A 3a). In den PhyloNet-Netzwerken für K=2 bis K=10 wurden die Kladen 1–4 insofern weitestgehend übereinstimmend rekonstruiert, als dass in jedem *major tree* lediglich jeweils ein bis zwei Taxa in einer der anderen Kladen platziert wurden (Abb. A 3b–j). Im SplitsTree-Hybridnetzwerk sind die Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb der *Arachnoideae* durch das Auftreten von zahlreichen *reticulation edges* gekennzeichnet (Abb. A 2), die allerdings neben echter Retikulation methodenbedingt auch ILS darstellen.

Mit allen drei phylogenetischen Methoden wurden stets drei weitere Kladen rekonstruiert: Erstens eine Klade bestehend aus *S. moschata* WULFEN, *S. fragilis* SCHRANK, *S. pedemontana*, *S. humilis* ENGL. & IRMSCH. und *S. latepetiolata* WILLK. (Klade 5) als Schwester zu *S. subsect. Arachnoideae* (Kladen 1–4). Eine Klade von *S. subsect. Androsaceae*, *S. irrigua* und *S. rosacea* (Klade 6) wurde als Schwestergruppe der Kladen 1–5 identifiziert. Eine Klade, bestehend aus *S. cebennensis* ROUY & E.G. CAMUS, *S. globulifera* DESF., *S. corbariensis* TIMB.-LAGR. und *S. pubescens* POURR. (Klade 7), wurde als Schwester der Kladen 1–6 rekonstruiert. Aus der Form des Log-Likelihood-

Profils der phylogenetischen Netzwerke für $K=0-10$ (Abb. A 4a) konnte keine optimale Anzahl von Retikulationen eindeutig abgeleitet werden.

Für den reduzierten Datensatz mit 42 Proben und 388 Loci zeigte das Log-Likelihood-Profil eine starke Abnahme von $H=0$ zu $H=1$ und eine moderate Abnahme von $H=1$ zu $H=2$ (Abb. A 4b). Eine weitere Zunahme von H führte nur noch zu geringen

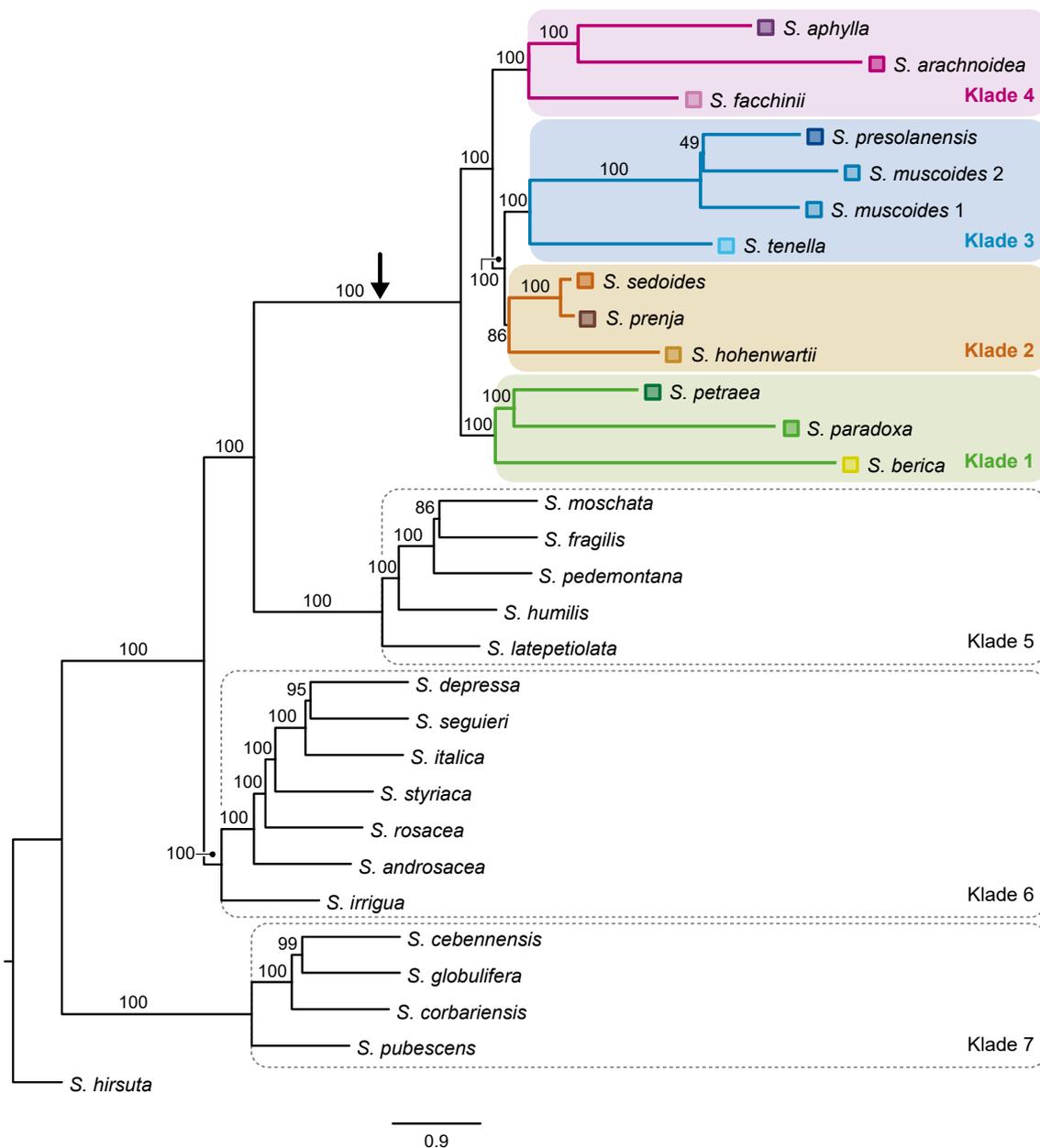


Abb. 4: Summary coalescent-Artbaum von *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*. Die Astlängen sind in Koaleszenz-Einheiten angegeben. Die Zahlen über den Ästen sind Bootstrap-Unterstützungswerte. Die Stammlinie von *S. subsect. Arachnoideae* ist mit einem schwarzen Pfeil gekennzeichnet.

Verbesserungen der Pseudo-Likelihood. Daher ist Artnetzwerk mit einem oder zwei Hybridknoten die wahrscheinlichste Hypothese für *S. subsect. Arachnoideae*.

Der ASTRAL-Artbaum und die *major trees* der Artnetzwerke sind zueinander kongruent. In Übereinstimmung mit dem vollständigen Datensatz (58 Proben, 405 Loci) wurden die

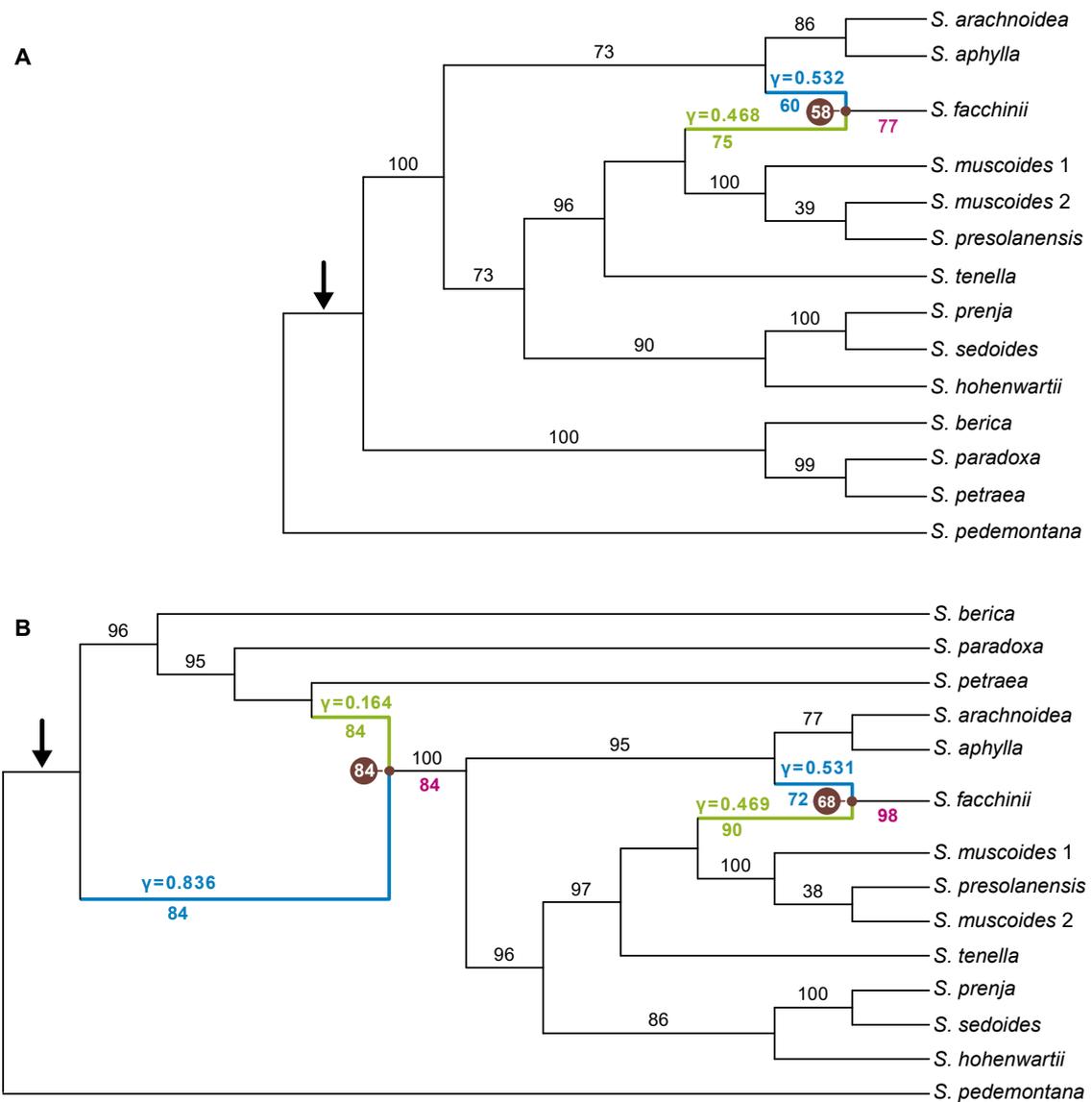


Abb. 5: Summary Coalescent-Artnetze von *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*, modelliert mit (A) einem und (B) zwei Retikulationen. Die Astlängen sind nicht informativ. Die *reticulation edges* sind mit blauen Linien für den *major parent* und grünen Linien für den *minor parent* einer Retikulation gekennzeichnet. Blaue oder grüne Zahlen oberhalb der *reticulation edges* geben die *inheritance probability* (γ) an, blaue oder grüne Zahlen unterhalb der *reticulation edges* die zugehörigen Bootstrap-Unterstützungswerte. Schwarze Zahlen über den Ästen sind die Bootstrap-Unterstützungswerte der normalen Äste. Zahlen in Magenta unter den Ästen zeigen Hybridäste an und sind deren Bootstrap-Unterstützungswerte. Zahlen in braunen Kreisen neben einem Netzwerkknoten sind Unterstützungswerte für diese spezifische Kombination aus zwei elterlichen *reticulation edges* und den aus dem Retikulationsereignis hervorgegangenen Hybridast. Die Stammlinie von *S. subsect. Arachnoideae* ist mit einem schwarzen Pfeil gekennzeichnet.

bereits oben beschriebenen Kladen 1–4 auch in den Artnetzwerken des reduzierten Datensatzes rekonstruiert (Abb. 5).

In den besten Artnetzwerken für H=1 und H=2 wurde außerdem *S. facchinii* als eine Hybridart rekonstruiert (BS=77 bzw. BS=98). In 58 (H=1) und 68 (H=2) von 100 BS-Replikaten wurden als Hybrid-Eltern eine Linie in Klade 3 (BS=75 bzw. BS=90) mit *inheritance values* $\gamma=0,468$ (H=1) und $\gamma=0,469$ (H=2) und eine Linie in Klade 4 (BS=60 bzw. BS=72) mit $\gamma=0,532$ (H=1) und $\gamma=0,531$ (H=2) identifiziert. Ein zweiter Hybridknoten (BS=84) wurde im Netzwerk für H=2 rekonstruiert (Abb. 5b), wobei einer der beiden Hybridäste den Stamm von *S. petraea* (BS=84, $\gamma=0,164$) mit der Stammlinie der Kladen 2–4 verbindet (BS=84, $\gamma=0,836$).

3.3.3 Molekulare Datierung

Für die erste Topologie im mehrfach gelabelten phylogenetischen Artbaum, mit der Abstammungslinie von *S. facchinii* in Klade 4, wurden 10 Alignments mit einer Gesamtlänge von 40.970 bp ausgewählt (Elektr. Anhang 5a). Für die zweite Topologie, mit der Abstammungslinie von *S. facchinii* in Klade 3, wurden zehn Alignments mit einer Gesamtlänge von 33.130 bp ausgewählt (Elektr. Anhang 5b). Der *maximum clade credibility tree* wurde aus insgesamt 133.204 datierten Artbäumen erstellt (Abb. 6). Das Stammalter von *S. subsect. Arachnoideae* wurde auf 5,12 (95%-Konfidenzintervall 3.28–9.32) Millionen Jahre (Ma) datiert. Ihr Kronenalter wurde auf 3,54 (2,21–6,43) Ma geschätzt. Für Klade 1 wurden Stamm- und Kronenalter von 3,54 (2,21–6,43) Ma und 3,16 (1,81–5,79) Ma ermittelt. Die Stamm- und Kronenalter von Klade 4 wurden auf 2,77 (1,66–5,08) Ma und 1,7 (0,94–3,18) Ma geschätzt. Das Stammalter der *S. facchinii*-Linie in dieser Klade entspricht dem Kronenalter der Klade. Für Klade 2 wurden Stamm- und Kronenalter von 2,39 (1,47–4,39) Ma und 2,35 (1,42–4,3) Ma rekonstruiert. In Klade 2 wurde für den letzten gemeinsamen Vorfahren (MRCA) von *S. sedoides* und *S. prenja* der insgesamt jüngste Knoten mit einem Alter von lediglich 0,06 (0–0,16) Ma gefunden. Für Klade 3 wurden Stamm- und Kronenalter von 2,39 (1,47–4,39) Ma und 2,29 (1,41–4,22) Ma berechnet. Das Stammalter der *S. facchinii*-Linie in dieser Klade wurde auf 1,94 (1,10–3,57) Ma datiert.

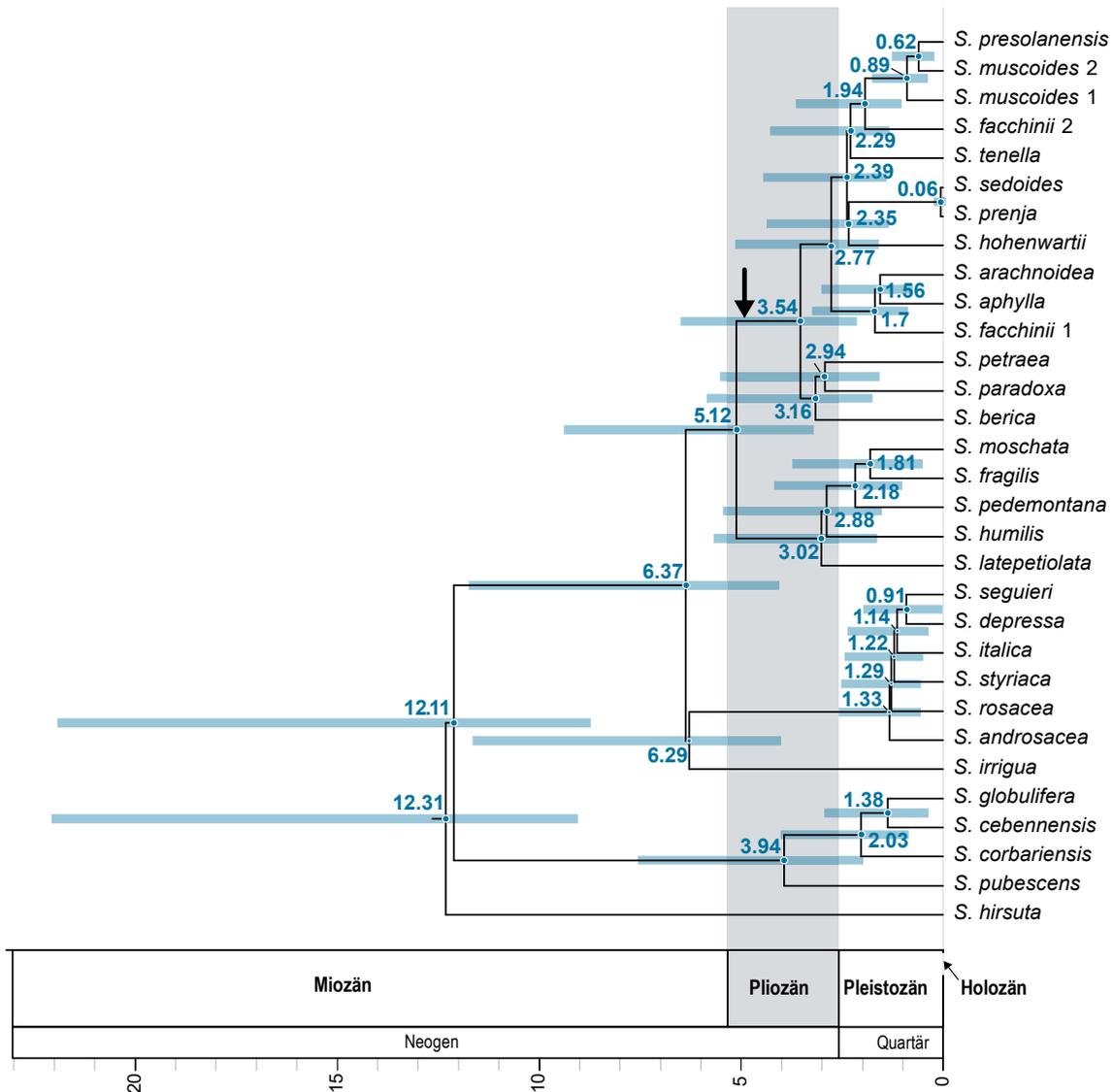


Abb. 6: Chronogramm von *Saxifraga* subsection *Arachnoideae*. Horizontale blaue Balken geben das 95%-Konfidenzintervall an. Die Zahlen an den Knoten geben das Medianalter in Millionen Jahren an. Die Stammlinie von *S. subsect. Arachnoideae* ist mit einem schwarzen Pfeil gekennzeichnet.

3.3.4 Bestimmung der Ploidiestufen aus DNA-Sequenzdaten

In allen Histogrammen der Allelfrequenzen streuen die empirischen Allelfrequenzen im Vergleich zu den simulierten Datensätzen auffällig stark (Abb. A 5). Für die meisten Proben bestand zu den diploiden Simulationsdaten die jeweils kleinste KS-Distanz (Tab. 4). Die automatische Auswertung legte also nahe, dass diese Proben diploide Organismen sind. Abweichend davon bestand die kleinste KS-Distanz in *S. petraea* GJO 25642/104 zu den tetraploiden, in *S. prenja* WU 18-38/25, *S. sedoides* GJO 0043514 und *S. sedoides*

GJO 0088872 zu den hexaploiden und in allen übrigen *S. sedoides*-Proben zu den pentaploiden Simulationsdaten.

Bei der manuellen Auswertung der Allelfrequenzprofile stellte sich der Sachverhalt vielschichtiger dar. Zunächst zeigen alle Histogramme ein globales Maximum bei einer Allelfrequenz von 0,5 (Abb. A 5). Die starke Streuung der Allelfrequenzen verhinderte für die Mehrzahl der Proben ein genaues Auslesen der Histogramme. Nichtsdestotrotz scheinen viele Histogramme der Klade 1, 3 und 4 kleinere lokale Maxima im Bereich von 0,33 und 0,66 aufzuweisen (Abb. A 5A–D, H–M). Relativ deutlich sichtbar ist dies beispielsweise in den Proben *S. berica* LZ 224384 (Klade 1), *S. muscoides* GJO 0081449 (Klade 2) und *S. arachnoidea* MJG 022199 (Klade 4; Abb. 7A–C). Das Auftreten von Maxima bei 0,33, 0,5 und 0,66 entspricht dem für Hexaploide erwarteten Muster.

Die Proben der Klade 2, mit den Arten *S. prenja*, *S. sedoides* und *S. hohenwartii*, zeigten außerdem weitere lokale Maxima bei 0,25 und 0,75 (Abb. 7E–F). Insbesondere bei *S. hohenwartii* sind die Histogramme stark verrauscht, so dass die lokalen Maxima bei 0,25 und 0,75 nur bei *S. hohenwartii* MJG 025627 und WU 18-38/13 zweifelsfrei ausgelesen werden können. Eindeutig erkennbar sind diese lokalen Maxima hingegen bei *S. prenja* und *S. sedoides*. Die Allelfrequenz-Profile entsprechen bei diesen drei Arten deshalb dem für einen tetraploiden Organismus erwarteten Muster (Tab. 3).

Tab. 4: Zusammenfassung der Allelfrequenz-Histogramme. Angegeben sind die Anzahl der gemappten Reads pro Probe, die Ploidiestufe des simulierten Datensatzes mit der kleinsten KS-Distanz und die Lage der visuell abgeleiteten Maxima in den Allelfrequenz-Histogrammen. Maxima-Zahlen ohne Klammern zeigen dominante, eindeutig erkennbare Maxima an. Maxima-Zahlen in Klammern zeigen zusätzliche, kleinere lokale Maxima an.

Probe	Reads	Ploidie nach KS-Distanz	Maxima im Histogramm
<i>S. aphylla</i> LZ 163259	3.565.304	diploid	0,5
<i>S. aphylla</i> MJG 022187	1.715.620	diploid	0,5
<i>S. aphylla</i> WU 18-38/4	4.181.933	diploid	0,5
<i>S. aphylla</i> WU 10832	2.809.436	diploid	0,5
<i>S. arachnoidea</i> MJG 022191	2.346.048	diploid	0,5
<i>S. arachnoidea</i> MJG 022199	2.427.667	diploid	0,5 (0,33; 0,67)
<i>S. berica</i> LZ 224384	2.355.341	diploid	0,5 (0,33; 0,67)
<i>S. berica</i> MJG 022246	2.556.889	diploid	0,5
<i>S. facchinii</i> MJG 022198	2.747.527	diploid	0,5 (0,167; 0,33; 0,67; 0,833)
<i>S. facchinii</i> WU18 38 8	2.963.983	diploid	0,5
<i>S. hohenwartii</i> LZ 162908	4.511.806	diploid	0,5
<i>S. hohenwartii</i> MJG 025627	3.618.870	diploid	0,25; 0,5; 0,75
<i>S. hohenwartii</i> WU 18-38/9	4.742.786	diploid	0,5 (0,25; 0,75)

Fortsetzung auf nächster Seite

Tab. 4, Fortsetzung.

Probe	Reads	Ploidie nach KS-Distanz	Maxima im Histogramm
<i>S. hohenwartii</i> WU-18-38/12	3.789.309	diploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. hohenwartii</i> WU 18-38/13	3.336.136	diploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. muscoides</i> GJO 0081449	2.659.750	diploid	0,5 (0,33; 0,67)
<i>S. muscoides</i> WU 18-38/16	3.645.345	diploid	0,5
<i>S. muscoides</i> WU 029048	3.581.791	diploid	0,5 (0,33; 0,67)
<i>S. muscoides</i> WU 0029049	1.183.788	diploid	0,5
<i>S. paradoxa</i> GJO 25642/11	1.448.924	diploid	0,5
<i>S. paradoxa</i> GJO 47231	1.132.135	triploid	0,5 (0,33; 0,67)
<i>S. paradoxa</i> MJG 022203	2.015.995	diploid	0,5 (0,33; 0,67)
<i>S. petraea</i> GJO 25642/104	7.076.169	tetraploid	0,5
<i>S. petraea</i> MJG 022190	4.048.589	diploid	0,5
<i>S. petraea</i> MJG 022250	2.645.867	diploid	0,5 (0,33; 0,67)
<i>S. petraea</i> MJG 023532	971,27	diploid	0,5 (0,33; 0,67)
<i>S. prenja</i> MJG 022200	4.409.114	diploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. prenja</i> WU 18-38/25	2.261.016	hexaploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. prenja</i> WU 18-38/26	3.337.739	diploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. presolanensis</i> GJO 25582 8	99,715	diploid	0,5
<i>S. presolanensis</i> MJG 022197	2.142.321	diploid	0,5
<i>S. presolanensis</i> WU 029320	3.549.196	diploid	0,5
<i>S. sedoides</i> GJO 0043514	3.880.628	hexaploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. sedoides</i> GJO 0088872	1.503.937	hexaploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. sedoides</i> LZ 046270	4.726.032	pentaploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. sedoides</i> MJG 022196	3.913.140	pentaploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. sedoides</i> MJG 025628	3.228.399	pentaploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. sedoides</i> WU 18-38/32	4.260.474	pentaploid	0,5 (0,25; 0,75)
<i>S. tenella</i> GJO 26592/12	4.503.474	diploid	0,5
<i>S. tenella</i> GJO 0081439	3.724.185	diploid	0,5
<i>S. tenella</i> MA 777464	3.266.647	diploid	0,5

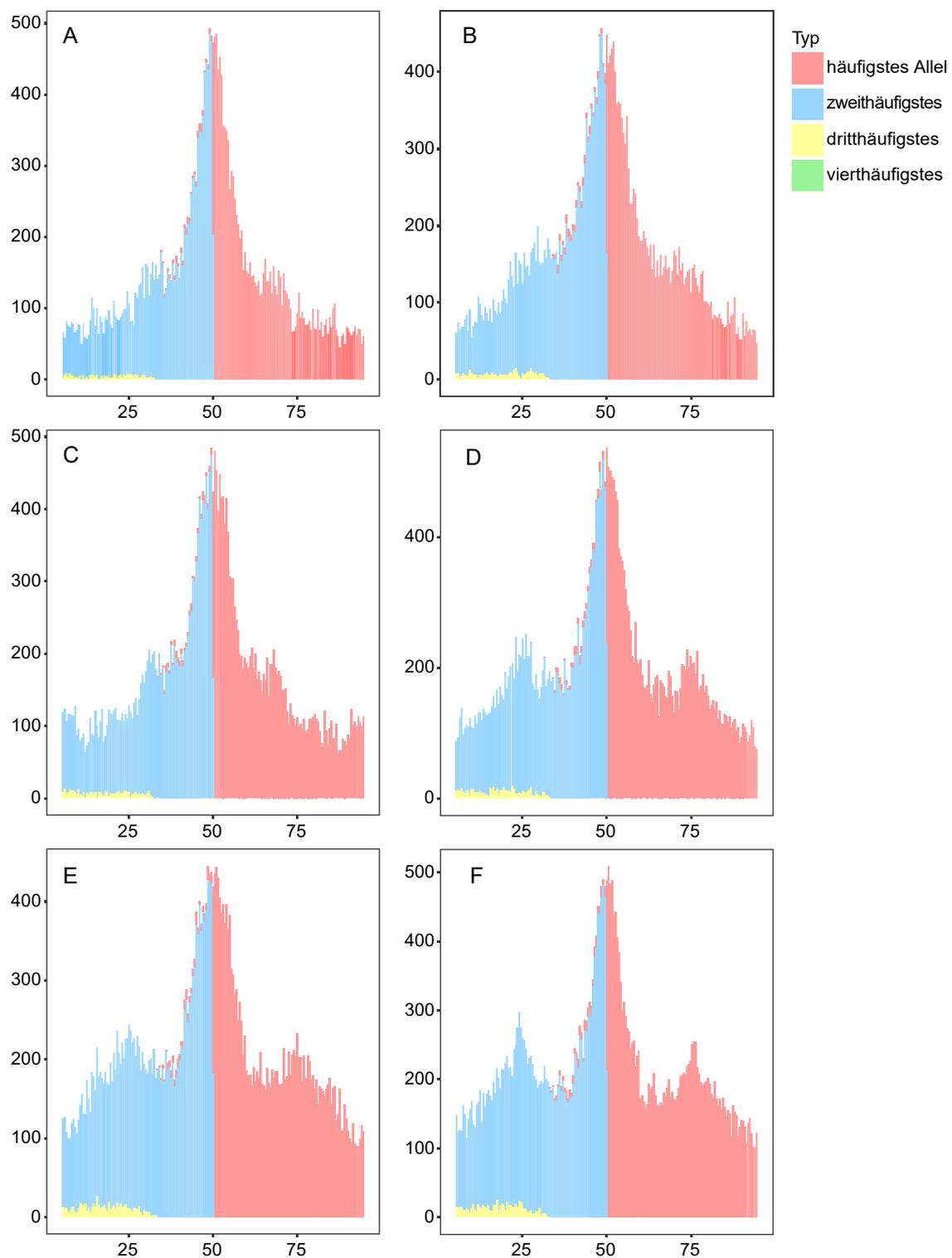


Abb. 7: Allelfrequenzhistogramme für sechs Proben von *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*. Achseneinheiten: x = Allelfrequenz in Prozent; y = kumulative Anzahl der Alignmentpositionen, welche die entsprechende Allelfrequenz aufweisen; (A) *S. berica* LZ 224384; (B) *S. muscoides* GJO 0081449; (C) *S. arachnoidea* MJG 022199; (D) *S. hohenwartii* MJG 025627; (E) *S. prenja* WU 18-38/26; (F) *S. sedoides* MJG 022196.

Tab. 5: Teststatistiken der Bestimmung des phylogenetischen Signals mit Blombergs K und Pagels λ für drei ökologische Zeigerwerte in *Saxifraga subsect. Arachnoideae*.

Zeigerwert (Landolt et al. 2010)	Blomberg's K		Pagel's λ			
	K	P	λ	logL(λ)	LR($\lambda=0$)	P
Temperaturzahl (T)	0.947	0.004	1.009	-17.567	15.556	8.01×10^{-5}
Lichtzahl (L)	0.120	0.627	4.83×10^{-5}	-28.537	-1.04×10^{-4}	1
Reaktionszahl (R)	0.448	0.123	0.234	-30.792	0.468	0.494

3.3.5 Rekonstruktion der ancestralen Ökologie

Basierend auf Blomberg's K und Pagel's λ wurde in der Verteilung der Temperaturzahl T ein starkes phylogenetisches Signal entdeckt (K=0,947, p=0,004; $\lambda=1,009$, p= $8,01 \times 10^{-5}$; Tab. 5). In Übereinstimmung mit diesem Befund wurde ein einfaches BM-Modell als bestes Modell gefittet (wi=0,642; Tab. 6). Der *stem group node* von *S. subsect. Arachnoideae* wurde mit 1,96 rekonstruiert, was der subalpinen Höhenzone entspricht. Seine Nachkommen wechselten in niedrigere (Klade 1) oder höhere Höhenlagen (Kladen 2–4, Abb. 8a). Kein phylogenetisches Signal wurde für die Lichtzahl L (K=0,120, p=0,627; $\lambda=4,83 \times 10^{-5}$, p=1,0) und die Reaktionszahl R (K=0,448, p=0,123; $\lambda=0,234$, p=0,494) nachgewiesen (Tab. 5). In Übereinstimmung mit diesen Befunden wurden für die Evolution der Lichtpräferenz und der edaphischen Präferenz White-Noise-Modelle als wahrscheinlichste Modelle gefittet (Tab. 6). Dies deutet darauf hin, dass beide Merkmale einer starken Selektion unterliegen. Das zweitbeste Modell für die Evolution der edaphischen Präferenz war ein OU-Modell ($\alpha=0,692$, wi=0,390). Unter diesem Modell wurde der *stem group node* von *S. subsect. Arachnoideae* mit 3,66 rekonstruiert, was neutralen oder schwach basischen Böden entspricht. Die Anpassung an basenarme Standorte erfolgte unabhängig voneinander in *S. paradoxa* und dem MRCA von *S. muscoides* and *S. presolanensis* (Abb. 8b). Das zweitbeste Modell für die Evolution der Lichtpräferenz war ebenfalls ein OU-Modell. Dieses war durch einen großen Driftparameter σ^2 (engl. *drift parameter* oder *rate parameter*), einen großen Anpassungsparameter α (engl. *adaptation parameter* oder '*rubber band*' parameter) und ein geringes AICc-Gewicht gekennzeichnet ($\alpha=321.974$, $\sigma^2=898.348$, wi=0.189). Das Modell hat deshalb insgesamt betrachtet eine geringe Vorhersagekraft und einen schlechten Modell-Fit. Unter diesem Modell wurde der *stem group node* von *S. subsect. Arachnoideae* mit 3,77 rekonstruiert, was eher hellen Standorten entspricht. Die

Anpassung an halbschattige, schattige oder sehr schattige Standorte erfolgte unabhängig voneinander in *S. arachnoidea*, *S. paradoxa* und *S. berica* (Abb. 8c).

Tab. 6: Teststatistiken des Model Fits von vier Modellen für die Evolution von drei ökologischen Zeigerwerten in *Saxifraga subsect. Arachnoideae*. (BM) einfaches Brownsches Bewegungsmodell; (OU) Ornstein-Uhlenbeck-Modell; (EB) Early-Burst-Modell; (WN) White-Noise-Modell.

EIV	Model Fit					
	Variable	BM	OU	EB	WN	Bestes Modell
Temperaturzahl (T)	a	–	–	-0,285	–	BM
	alpha	–	0	–	–	
	sigsq	0,214	0,214	0,813	0,978	
	z0	1,807	1,806	1,740	1,778	
	log-likelihood	-20,073	-20,073	-19,754	-25,344	
	AIC	44,146	46,146	45,508	54,689	
	AICc	44,946	47,860	47,222	55,489	
	fDOF	2	3	3	2	
	AIC-Gewicht	0,642	0,149	0,206	0,003	
Lichtzahl (L)	a	–	–	-1×10^{-6}	–	WN
	alpha	–	321,974	–	–	
	sigsq	2,415	898,348	2,415	1,395	
	z0	3,844	3,778	3,844	3,778	
	log-likelihood	-41,875	-28,537	-41,875	-28,537	
	AIC	87,751	63,075	89,751	61,075	
	AICc	88,551	64,789	91,465	61,875	
	fDOF	2	3	3	2	
	AIC-Gewicht	$1,31 \times 10^{-6}$	0,189	3×10^{-7}	0,811	
Reaktionszahl (R)	a	–	–	-1×10^{-6}	–	WN
	alpha	–	0,692	–	–	
	sigsq	0,884	2,556	0,884	1,840	
	z0	3,514	3,809	3,514	3,778	
	log-likelihood	-32,829	-29,830	-32,829	-31,026	
	AIC	69,657	65,659	71,657	66,053	
	AICc	70,457	67,374	73,372	66,853	
	fDOF	2	3	3	2	
	AIC-Gewicht	0,084	0,390	0,019	0,507	

Abgesehen von den Rekonstruktionen der ökologischen Merkmale unterscheidet sich *S. arachnoidea* als eine Art mit hochmontaner bis subalpiner Verbreitung an Standorten im Schatten bis Halbschatten stark von ihrer Schwesterart *S. aphylla*, die nur an sehr hellen Standorten der alpinen Höhenstufe vorkommt (Landolt et al. 2010). Im Falle von *S. berica* und *S. paradoxa* wächst die letztere nur an basenarmen, die erstere aber wie auch *S. petraea* auf basenreichen Standorten. Die Differenzierung der Lichtnische ist weniger stark ausgeprägt als in *S. arachnoidea/S. aphylla*, wobei *S. berica* an sehr

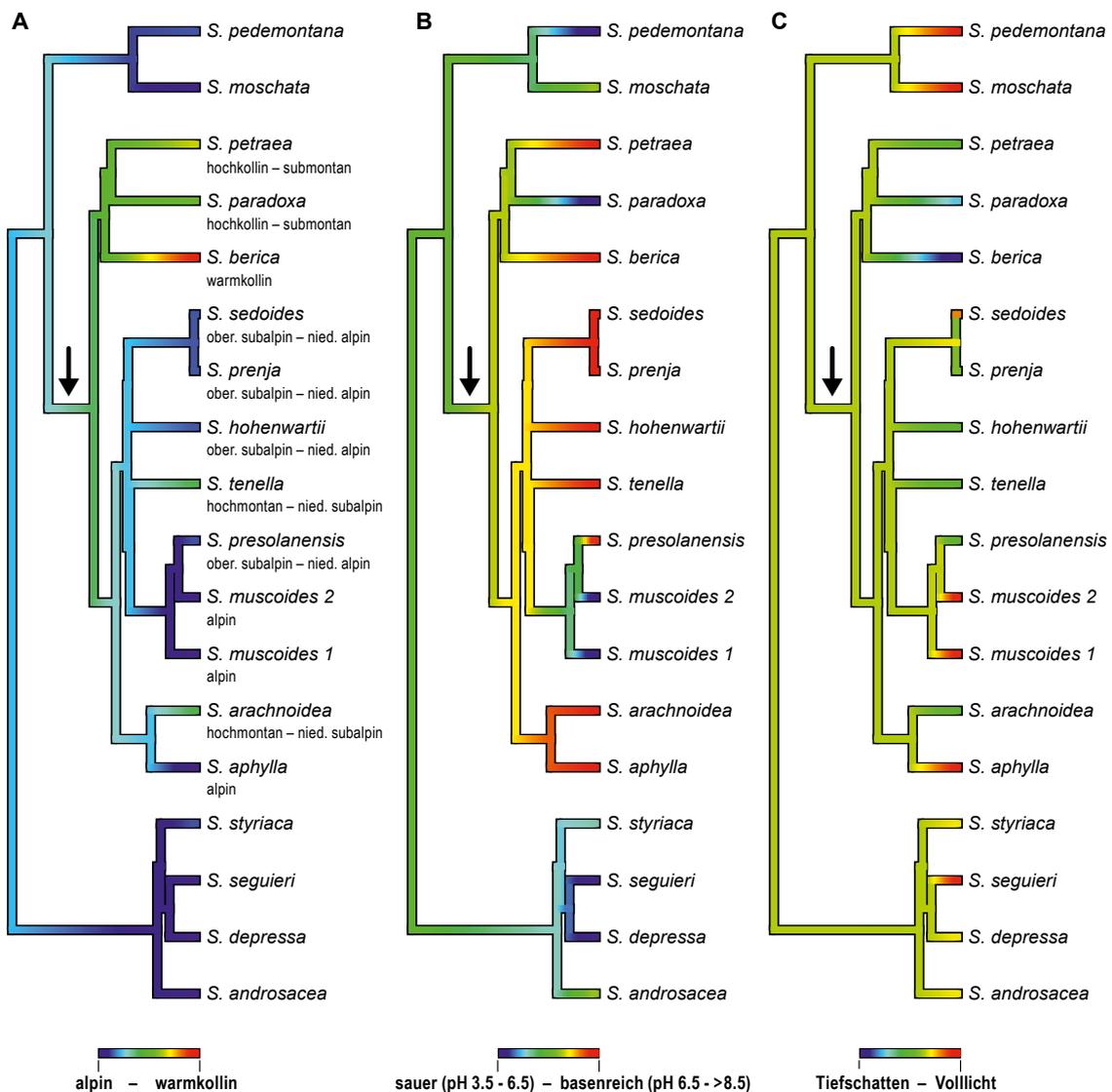


Abb. 8: Rekonstruktionen ancestraler Merkmale in *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* für (A) Temperatur, (B) Boden-pH und (C) Lichtpräferenz. Der Stammknoten (eng. *stem group node*) der Untersektion wurde rekonstruiert mit (A) 1.96 (Kühlezeiger, subalpine Art), (B) 3.66 (neutral bis schwach basenreiche Standorte) und (C) 3.77 (Halbschatten- bis Halblichtpflanze, eher helle Standorte). Die Balken unter den Stammbäumen zeigen die für die Darstellung der Zeigerwerte verwendete Farbskala an. Die Stammlinie von *S. subsect. Arachnoideae* ist mit schwarzen Pfeilen gekennzeichnet.

schattigen, *S. paradoxa* an schattigen und *S. petraea* an halbschattigen Standorten wächst (Landolt et al. 2010).

3.4 Diskussion

3.4.1 Kladogenese in *Saxifraga* sect. *Saxifraga*

Bisherige molekularphylogenetische Untersuchungen zur Kladogenese der Gattung *Saxifraga* basierten auf relativ wenigen Plastidenmarkern und ribosomaler DNA und lieferten unklare und teilweise widersprüchliche Ergebnisse. Mehrere hundert Arten der Gattung wurden in den bisher umfangreichsten Untersuchungen von Tkach et al. (2015), ergänzt durch Ebersbach et al. (2017), für ITS sowie für mehrere plastidäre Marker sequenziert. In beiden Studien wurden die Sequenzen aller genetischen Marker für die phylogenetischen Rekonstruktionen kombiniert, obwohl zwischen den ITS-Phylogenien und den Plastiden-Phylogenien statistisch unterstützte Widersprüche bestanden. Auf Basis ihrer kombinierten Phylogenie beschrieben Tkach et al. (2015) eine monophyletische Untersektion *Arachnoideae*, als deren Schwester sie (nicht unterstützt) die Untersektion *Saxifraga* identifizierten. Dieser Befund kontrastiert mit den Ergebnissen von Gerschwitz-Eidt & Kadereit (2020; Kapitel 2), die in ihrer Plastiden-Phylogenie eine gut unterstützte Klade aus *S. irrigua*, *S. subsect. Saxifraga* und *S. subsect. Arachnoideae* identifizierten, innerhalb derer *S. irrigua* (nicht unterstützt) Schwester der Untersektion *Arachnoideae* war. Außerdem fanden sie eine unterstützte Klade aus *S. irrigua*, *S. subsect. Saxifraga* und *S. subsect. Arachnoideae*. In ihrer ITS-Phylogenie hingegen identifizierten Gerschwitz-Eidt & Kadereit (2020) eine nicht unterstützte Klade aus *S. subsect. Saxifraga*, *S. subsect. Androsaceae* und *S. irrigua* als Schwester zu *S. subsect. Arachnoideae* sowie, übereinstimmend mit Tkach et al. (2019), *S. irrigua* als Schwester der Untersektion *Androsaceae* (nicht unterstützt). Als Erklärung der beobachteten Unstimmigkeiten zwischen ITS- und Plastidenphylogenien wurden *incomplete lineage sorting* und interspezifische Hybridsierung genannt (Ebersbach et al. 2017; Gerschwitz-Eidt & Kadereit 2020; Mas De Xaxars et al. 2015; Tkach et al. 2015; Vargas 2000).

Übereinstimmend mit den ITS-Phylogenien von Tkach et al. (2019) und Gerschwitz-Eidt & Kadereit (2020) wurde in der vorliegenden Untersuchung *S. irrigua* gut unterstützt als Schwester der Untersektion *Androsaceae* identifiziert (Klade 6, Abb. 4), wobei die Trennung dieser beiden Abstammungslinien unmittelbar nach der Trennung der Klade 6 von *S. subsect. Arachnoideae* stattgefunden haben könnte (Abb. 6). Im Sinne des

Gleichrangigkeitsprinzips sollte deshalb *S. irrigua* entweder in *S. subsect. Androsaceae* eingegliedert oder in einer eigenen Untersektion geführt werden. Dabei sollten die morphologischen und ökologischen Gemeinsamkeiten und Unterschiede zu *S. subsect. Androsaceae* berücksichtigt sowie weitere der bisher nicht untersuchten Arten aus *S. sect. Saxifraga* in die phylogenetischen Untersuchungen einbezogen werden. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang die geografische und ökologische Divergenz dieser beiden nächstverwandten Linien: *S. irrigua* ist ausschließlich in tieferen Lagen des Krimgebirges verbreitet (Webb & Gornall 1989). Die Arten der Untersektion *Androsaceae* dagegen besiedeln ausschließlich Standorte der subalpinen und alpinen Höhenzonen und sind mit Ausnahme von *S. androsacea* in ihrer Verbreitung auf die europäischen Alpen beschränkt (Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989).

Die in der vorliegenden Arbeit rekonstruierte Platzierung von *S. rosacea* in *S. subsect. Androsaceae* muss angezweifelt werden. Eine nähere Verwandtschaft von *S. rosacea* zu *S. subsect. Androsaceae* wurde nie zuvor postuliert. Im Gegensatz zu Untersektion *Androsaceae* umfasst das Verbreitungsgebiet von *S. rosacea* Teile von Island, Irland und der mitteleuropäischen Mittelgebirge, wo sie überwiegend Standorte der kollinen Höhenstufe besiedelt (Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989). Morphologische (Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989) und molekularphylogenetische (Tkach et al. 2015) Untersuchungen sprechen für eine Zugehörigkeit zu Untersektion *Saxifraga*. Zudem ist die Art morphologisch außerordentlich variabel (Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989). Da in dieser Arbeit nur eine DNA-Sequenz aus dem NCBI-Sequence Read Archive (SRA) verwendet wurde, ist es möglich und wahrscheinlich, dass entweder eine Fehlbestimmung oder ein Fehler in der Sequenzdatenbank vorliegt und es sich bei der in dieser Arbeit eingeschlossene Probe nicht um *S. rosacea* handelt.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde außerdem *S. subsect. Saxifraga* als nicht-monophyletische Untersektion rekonstruiert. Die Klade 5 mit den Arten *S. moschata*, *S. fragilis*, *S. pedemontana*, *S. humilis* und *S. latepetiolata* wurde als Schwester zu *S. subsect. Arachnoideae* identifiziert. Klade 5 zeichnet sich wie *S. subsect. Arachnoideae* durch eine hohe ökologische Diversität aus (Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989): *Saxifraga fragilis* und *S. latepetiolata* wachsen an wenig besonnten bis schattigen senkrechten Klippen und Felsen der montanen Höhenstufe, *S. moschata* hingegen überwiegend auf exponierten Felsen und Schutthalden der hochmontanen bis alpinen

Höhenstufe. Alle drei Arten kommen nur auf Karbonatgestein vor. *Saxifraga pedemontana* wächst ebenfalls in der hochmontanen bis alpinen Höhenstufe, aber auf schattigen Felsen und Schutthalden aus Silikatgestein. Für *S. humilis* sind keine Informationen zur Ökologie bekannt. Ebenso divers ist die geografische Verbreitung der Klade 5: *S. fragilis* und *S. latepetiolata* sind endemische Arten der iberischen Halbinsel, *S. moschata* und *S. pedemontana* sind im alpinen System Europas weit verbreitete Arten und *S. humilis* ist in der asiatischen Hindukusch-Himalaya-Region verbreitet (Smith & Cave 1911; Webb & Gornall 1989). Es wurde nie zuvor postuliert, dass diese Arten miteinander näher verwandt sein könnten als mit den übrigen Arten der Untersektion *Saxifraga*. Angesichts der begrenzten Arten-Stichprobe aus *S. subsect. Saxifraga* sowie der beschriebenen ökologischen und biogeografischen Unterschiede ist es unwahrscheinlich, dass die Klade 5 tatsächlich die zu *S. subsect. Arachnoideae* nächstverwandten Arten gut repräsentiert. Auf Grundlage der derzeit verfügbaren Daten kann die Schwestergruppe zu *S. subsect. Arachnoideae* deshalb nicht abschließend identifiziert werden.

3.4.2 Ploidiestufen von *S. subsect. Arachnoideae*

Bisherige Untersuchungen zur Ploidie von *Saxifraga* wurden mit Chromosomenzählungen (z. B. Teppner 1982; Küpfer & Rais 1983; Dobeš et al. 1997) oder Durchflusszytometrie (Mas De Xaxars et al. 2015) durchgeführt. Die in der Literatur für *S. subsect. Arachnoideae* genannten Chromosomenzahlen zeichnen das Bild einer zytologisch hochdiversen Gruppe, mit Zählungen von $2n=16-66$ Chromosomen und teilweise erheblichen Variationen innerhalb der Arten (Tab. 2). Mas De Xaxars et al. (2015) zeigten für die iberischen Arten von *S. sect. Saxifraga*, dass Chromosomenzahl und Ploidiegrad in *Saxifraga* nicht zwangsläufig korreliert sind. Allein mithilfe der vorliegenden Chromosomenzahlen lassen sich daher keine sicheren Aussagen über die Ploidiestufen der Arten von *S. subsect. Arachnoideae* treffen. Die vorliegende Arbeit nutzte deshalb zum ersten Mal die Information aus DNA Short Reads, um die Ploidie von *S. subsect. Arachnoideae* weiter zu charakterisieren.

Basierend auf der Auswertung der Allelfrequenz-Profile müssen die Arten der Kladen 1, 3 und 4 als diploid, die Arten der Klade 2 (*S. hohenwartii*, *S. prenja* und *S. sedoides*) hingegen als tetraploid betrachtet werden. Aus der Phylogenie der Untersektion folgt,

dass die Tetraploidie in Klade 2 als abgeleitetes Merkmal interpretiert werden muss. Zudem zeigte sich in vielen Proben der Kladen 1, 3 und 4 neben dem dominanten diploiden Muster ein undeutliches und schwaches hexaploides Muster. Dieser Befund deckt sich mit den Beobachtungen während der Sequenzassemblierung: In fast der Hälfte der untersuchten 329 Loci (die ursprünglichen Referenzsequenzen nach Folk et al. 2019) wurden in der Assemblierung zwei oder mehr Paraloge gefunden, in mehr als einem Viertel der untersuchten Loci sogar mindestens drei Paraloge. Das gehäufte Auftreten von Paralogen in Angiospermen wird zwar allgemein als Folge der in der Evolution der Angiospermen häufigen Genomduplikationen betrachtet (z. B. Adams & Wendel 2005; Jiao et al. 2011; Panchy et al. 2016; Soltis et al. 2009). Im hier diskutierten Fall von *S. subsect. Arachnoideae* jedoch zeigten sich die Paraloge bei Assemblierung gegen Referenzsequenzen aus nahverwandten Arten anderer Untersektionen der *S. section Saxifraga*, in welchen die hier untersuchten 329 Loci in diploiden Individuen als *single copy*-Marker auftreten (Folk et al. 2019). Aus der Gesamtbetrachtung der vorliegenden Daten folgt deshalb, dass der letzte gemeinsame Vorfahre der *S. subsect. Arachnoideae* vermutlich hexaploid war und das rezente, überwiegend diploide Muster durch anschließende Diploidisierung entstanden ist. Polyploidisierung mit anschließender Diploidisierung als Folge von negativer Selektion ist in Eukaryoten ein bekanntes Phänomen (z. B. Lynch & Conery 2000; Wolfe 2001) und kann, in evolutionären Zeiträumen betrachtet, sehr schnell ablaufen. Beispielsweise gaben Lynch & Conery (2003) als Halbwertszeit eines duplizierten Eukaryoten-Gens einen Mittelwert von 4 Millionen Jahren an. Das in dieser Arbeit auf 3,54 (2,21–6,43) Ma datierte Kronenalter der *S. subsect. Arachnoideae* könnte also ausreichend gewesen sein, um eine ancestrale hexaploide Linie zu rediploidisieren. Zwei mögliche Ursachen von Selektion auf kleine Genomgrößen werden in der Literatur regelmäßig genannt (für einen aktuellen Review siehe Wang et al. 2021): Erstens die erhöhten Nährstoffkosten von Nukleinsäuren bei Arten mit großen Genomen, was auf nährstoffarmen Standorten bei Polyploiden gegenüber den diploiden Artgenossen oder nah verwandten diploiden Arten zu einer verringerten Fitness führen kann (z. B. Acquisti et al. 2009; Hessen et al. 2010) sowie zweitens die Auswirkungen der bei polyploiden Taxa erhöhten Zellgröße auf den Gasaustausch und damit auf die Effizienz der Photosynthese und der Wassernutzung (z. B. Wilson et al. 2021), welche insbesondere an trockenen Standorten zu einer

Selektion hin zu kleinen Genomen führen können (z B. Roddy et al. 2020). Letzteres spielt für die Untersektion *Arachnoideae* angesichts der Tatsache, dass ihre Arten ausschließlich an feuchten, frischen oder höchstens mäßig trockenen Standorten vorkommen (Kaplan 1995; Landolt et al. 2010) wahrscheinlich nur eine untergeordnete Rolle. Hingegen sind die Standorte der Untersektion überwiegend nährstoffarm (Kaplan 1995; Landolt et al. 2010; Webb & Gornall 1989), so dass die erhöhten Nährstoffkosten von großen Genomen durchaus ursächlich für die Diploidisierung von *S. subsection Arachnoideae* gewesen sein könnten.

Diese Interpretation der Daten findet Unterstützung in den in der Literatur genannten Chromosomenzahlen für *S. subsect. Arachnoideae* (Tab. 2): In Klade 1 wurden für *S. paradoxa* und *S. petraea* je $2n=64$ Chromosomen gezählt (Damboldt 1965; Teppner 1982). In Klade 2 zeigen Chromosomenzählungen für *S. hohenwartii* Werte von $2n=52-56$ (Dobeš et al. 1997; Hörandl 1993) und $2n=60$ (Favarger 1965), sowie für *S. sedoides* Werte von $2n=52$ (Dobeš et al. 1997; Hörandl 1993) und $2n=64$ (Favarger 1965). In Klade 3 werden für *S. muscoides* Zahlen von $2n=36-38$ (Favarger 1965; Küpfer & Rais 1983), für *S. presolanensis* $2n=16$ Chromosomen (Damboldt & Podlech 1963) und für *S. tenella* $2n=64-66$ Chromosomen (Dobeš et al. 1997; Skovsted 1934) angegeben. In Klade 4 schließlich werden für *S. aphylla* Chromosomenzahlen von $2n=58-66$ (Damboldt 1965; Favarger 1965; Küpfer & Rais 1983) sowie für *S. arachnoidea* Werte von $2n=56-66$ (Damboldt 1965; Damboldt & Podlech 1963) angegeben. Unter Berücksichtigung der Phylogenie der *S. subsect. Arachnoideae* wird deutlich, dass die anzestrale Chromosomenzahl bei ca. $2n=6x=60-66$ liegen muss. Mit Blick auf die abgeleitete anzestrale Hexaploidie ergeben sich als mögliche monoploide Basiszahlen der *S. subsect. Arachnoideae* $x=10$ oder $x=11$. Die Basiszahl $x=11$ wurden bereits für andere Untersektionen von *S. section Saxifraga* postuliert, nämlich für *S. subsect. Tridactylites* (Tkach et al. 2015, 2019) und *S. subsect. Androsaceae* (Tkach et al. 2019). Sie wird außerdem durch die für *S. irrigua* vorliegende Zählungen von $2n=44$ (Hamel 1953; Skovsted 1934) unterstützt und ist unter Berücksichtigung der Phylogenie von *S. sect. Saxifraga* (Tkach et al. 2015) wahrscheinlich die Basiszahl der gesamten Sektion. Von der Zahl 11 teilweise abweichende monoploide Basiszahlen in Untersektion *Saxifraga* sind vermutlich eine Folge der in *Saxifraga* relativ häufig auftretenden chromosomalen Umordnungen (engl. *chromosomal rearrangement*), wie Dysploidie (Küpfer & Rais

1983), Aneuploidie (Vargas & Nieto Feliner 1995) und dem Auftreten von B-Chromosomen (Soltis 1983), und haben, neben Polyploidisierung und Hybridisierung, wahrscheinlich entscheidend zur zytologischen Diversität von *Saxifraga* beigetragen (Ebersbach et al. 2020; Mas De Xaxars et al. 2015; Tkach et al. 2015). Diese Prozesse sind vermutlich auch für die auffälligen Chromosomenzahlen der beiden nahverwandten Arten *S. presolanensis* und *S. muscodies* verantwortlich. Interessanterweise wiesen bereits Damboldt & Podlech (1963) auf die bemerkenswert geringe Chromosomengröße in *S. presolanensis* hin. Die geringe Chromosomengröße in *S. presolanensis* und die für *S. subsect. Arachnoideae* verhältnismäßig kleinen Chromosomensätze in *S. presolanensis* und *S. muscoides* legen die Vermutung nahe, dass in beiden Arten ein starker Selektionsdruck hin zu einer Reduktion der Genomgröße vorliegen muss.

3.4.3 Die Entstehung von ökologisch divergenten Arten als periphere Isolate

In der Kladogenese von *S. subsect. Arachnoideae* zeigt sich ein bemerkenswertes biogeografisches Muster. Die drei Arten der Klade 1, *S. petraea*, *S. paradoxa* und *S. berica*, wachsen alle unter schattigen und feuchten Bedingungen unter überhängenden Felsen, in Nischen und Höhlen oder am Eingang von Höhlen. Während *S. berica*, die nur aus den Colli Berici nahe Vicenza (Norditalien) bekannt ist, in Höhenlagen unter 444 m wächst, wachsen sowohl *S. petraea* als auch *S. paradoxa* meist in Höhenlagen unter 500 m, können aber gelegentlich auch in höheren Lagen gefunden werden (Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989). In Anbetracht der streng allopatrischen Verbreitung der drei Arten (Abb. 2) und ihrer Beziehungen zueinander (Abb. 4, Abb. 5) ist die Hypothese plausibel, dass die eng verbreiteten *S. berica* als peripheres Isolat⁷ der weiter verbreiteten Abstammungslinie von *S. petraea* und *S. paradoxa* entstanden ist und dass *S. paradoxa* wiederum als peripheres Isolat von *S. petraea* entstanden ist. Nach Landolt et al. (2010) unterscheiden sich die drei Arten in ihren Lichtbedürfnissen, wobei *S. berica* (sehr schattig) im Vergleich zu *S. paradoxa* (schattig) und *S. petraea* (halbschattig) den geringsten Lichtbedarf hat. Interessanterweise ist die auf Gneis und Glimmerschiefer

⁷ Das periphere Isolat ist ein klassisches evolutionsbiologisches Konzept und bezeichnet eine relativ kleine, gänzlich oder teilweise isolierte Population am Rande des Verbreitungsgebiets einer Art (Mayr 1954). Periphere Isolate entstehen infolge von Dispersal und/oder Vikarianz (siehe Frey 1993 für eine differenzierte Darstellung der Entstehungsmodi) und sind die theoretische Grundlage mehrerer klassischer Modelle zur Entstehung von Arten (z. B. Brown 1957; Mayr 1963).

vorkommende *S. paradoxa* eine von nur zwei kalkmeidenden Arten der Untersektion. Das Verbreitungsgebiet von *S. paradoxa* liegt im „östlichsten Zentralalpen“-Refugium für kalkmeidende Taxa (Schönswetter et al. 2005; Tribsch & Schönswetter 2003) und das von *S. berica* im “Monte Baldo, Monti Lessini und Prealpi Bellunesi“-Refugium für kalkliebende Taxa (Schönswetter et al. 2005; Tribsch & Schönswetter 2003). Von allen Kladen der *S. subsect. Arachnoideae* (mit Ausnahme von *S. prenja* und von einigen Populationen von *S. sedoides* aus Klade 2, siehe unten) hat Klade 1 das südlichste Verbreitungsgebiet und kommt nur entlang der südlichen und östlichen Peripherie der Alpen vor. Da Klade 1 Schwester zur übrigen Untersektion ist, ist es denkbar, dass sich Klade 1 als Ganzes in einer kalten Phase des späten Pliozäns als peripheres Isolat vom Rest der Untersektion abgetrennt und in der weiteren Evolution seine heutige Ökologie erworben hat (siehe unten). Die Hypothese einer im Wesentlichen parapatrischen Divergenz der Klade 1 vom Rest der Untersektion wird durch den Nachweis einer Hybridisierung zwischen *S. petraea* und dem letzten gemeinsamen Vorfahren der Kladen 2, 3 und 4 unterstützt (Abb. 5b), welche belegt, dass Populationen beider Linien zumindest zeitweise miteinander in Kontakt gestanden haben müssen.

Wie in Klade 1 sind die drei Arten der Klade 2, *S. sedoides*, *S. hohenwartii* und *S. prenja*, weitgehend allopatrisch verbreitet. Die einzige Ausnahme ist das gemeinsame Vorkommen von *S. sedoides* und *S. prenja* im Apennin. Sie alle wachsen in subalpinen bis alpinen Höhenlagen auf Kalkstein und Dolomitgeröll. Wie von Hörandl (1993) ausführlich dargestellt, ist die ökologische Nische von *S. hohenwartii* viel enger als die von *S. sedoides*. Da *S. hohenwartii* Schwester zu *S. sedoides* und *S. prenja* ist, ist es plausibel, *S. hohenwartii* als peripheres Isolat zu interpretieren, ein reliktscher Endemit nach Hörandl (1993). Ihr derzeitiges Verbreitungsgebiet liegt im "südöstlichsten Kalkalpen"-Refugium für kalkliebende Taxa (Tribsch & Schönswetter 2003). Nach Landolt et al. (2010) sind die Lichtansprüche von *S. hohenwartii* (Halbschatten) geringer als die von *S. sedoides* (Volllicht). In Anbetracht der heutigen Verbreitungsgebiete von *S. sedoides* und *S. prenja* besaß ihr letzter gemeinsamer Vorfahre höchstwahrscheinlich ein großes Verbreitungsgebiet, das auch Gebiete außerhalb der Alpen einschloss, und die beiden Arten sind wahrscheinlich durch Vikarianz entstanden. Auch *S. sedoides* selbst muss in der Vergangenheit ein größeres Verbreitungsgebiet gehabt haben, da sie in den südlichen und nordöstlichen Alpen vorkommt, eine Disjunktion, die von anderen Taxa

schon lange bekannt ist (Merxmüller 1952), und auch in Teilen des Apennins verbreitet ist. Dasselbe gilt für *S. prenja*, die ebenfalls im Apennin vorkommt. Das Teilverbreitungsgebiet von *S. sedoides* in den Nordostalpen liegt im "Nordöstliche Kalkalpen"-Refugium für kalkliebende Taxa (Tribsch & Schönswetter 2003). Klade 2 (mit Ausnahme von *S. prenja*) ist im Wesentlichen allopatrisch mit Klade 1 im Süden und dem Rest der Untersektion im Norden verbreitet (Abb. 2).

Die drei Arten von Klade 3, *S. muscoides*, *S. presolanensis* und *S. tenella*, sind allopatrisch verbreitet. Sie unterscheiden sich stark in ihrer Ökologie. Während die kalkmeidende *S. muscoides* eine eindeutig alpine Art ist, da sie in Höhenlagen zwischen 2250 und 4200 m vorkommt (Kaplan 1995; Webb & Gornall 1989), wächst *S. tenella* in Höhen zwischen 700 und 2000 m auf schattigen Felsen und Geröllhalden, und *S. presolanensis* wächst auf nordexponierten und schattigen senkrechten oder sogar überhängenden Kalksteinfelsen (Kaplan 1995; Merxmüller & Wiedmann 1957; Webb & Gornall 1989) zwischen 1800 und 2100 m Höhe. Die Lichtansprüche von *S. presolanensis* und *S. tenella* (beide Halbschatten) sind geringer als die von *S. muscoides* (Volllicht; Landolt et al. 2010). Sowohl *S. tenella* als auch *S. presolanensis* können als periphere Isolate von *S. muscoides* betrachtet werden. Eine ähnliche Hypothese formulierten bereits Merxmüller und Wiedmann (1957), die *S. presolanensis* (und *S. facchinii*) als südalpine Isolate von *S. muscoides* interpretierten. Das Verbreitungsgebiet von *S. tenella* liegt wie das von *S. hohenwartii* im „südöstlichsten Kalkalpen“-Refugium (Skubic et al. 2018; Tribsch & Schönswetter 2003) und das von *S. presolanensis* am äußersten Rande des Hauptverbreitungsgebiets von *S. muscoides* im "Alpi Bergamasche"-Refugium für kalkliebende Arten (Tribsch & Schönswetter 2003). Obwohl das Verbreitungsgebiet von *S. tenella* und der größte Teil des Verbreitungsgebiets von *S. muscoides* in den westlichen Teilen der Alpen weit auseinander liegen, verbindet das disjunkte Teilgebiet von *S. muscoides* in den Tauern die beiden Arten in gewisser Weise miteinander. Mit Ausnahme von *S. tenella* ist Klade 3 eindeutig allopatrisch mit den Kladen 1, 2 und 4. Obwohl die Verbreitungsgebiete von *S. muscoides* und *S. aphylla* auf einer geografischen Skala betrachtet überlappen, sind sie tatsächlich durch ihre gegensätzlichen edaphischen Präferenzen gut getrennt.

In Klade 4, unter Ausschluss der Hybridart *S. facchinii* (siehe unten), sind *S. aphylla* und *S. arachnoidea* allopatrisch verbreitet und ökologisch stark differenziert. *Saxifraga*

aphylla wächst auf kalkhaltigem Geröll und steinigen Böden, oft dort, wo noch spät im Sommer Schnee liegt, in Höhenlagen zwischen 1730 und 3200 m (Kaplan 1995), meist aber zwischen 2100 und 2800 m (Webb & Gornall 1989). *Saxifraga arachnoidea* hingegen wächst zwischen 600 und 1850 m in Kalksteinstaub unter überhängenden Felsen (Pitschmann & Reisingl 1959), geschützt vor Sonne und Regen (Webb & Gornall 1989). Dementsprechend sind die Lichtansprüche von *S. arachnoidea* (Halbschatten) viel geringer als die von *S. aphylla* (Volllicht; Landolt et al. 2010). *Saxifraga arachnoidea* ist eindeutig ein peripheres Isolat der weiter verbreiteten *S. aphylla*. Ihr Verbreitungsgebiet liegt innerhalb des „Monte Baldo, Monti Lessini und Prealpi Bellunesi“-Refugiums für kalkliebende Arten (Schönswetter et al. 2005; Tribsch & Schönswetter 2003).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl die Divergenz zwischen den vier Kladen als auch die Artbildung innerhalb dieser vier Kladen ein weitgehend para- und allopatrisches Muster aufweist. Dieses Muster ist wahrscheinlich auf durch spätpliozäne und pleistozäne Klimaveränderungen ausgelöste Arealverschiebungen zurückzuführen, insbesondere deshalb, weil diejenigen Arten, welche als periphere Isolate interpretiert werden, allesamt in Gebieten verbreitet sind, die als Glazialrefugien bekannt sind (Schönswetter et al. 2005; Tribsch & Schönswetter 2003).

3.4.4 *Saxifraga facchinii*, eine Hybridart

Wie aus den phylogenetischen Analysen hervorgeht, ist *S. facchinii* durch Hybridisierung zwischen dem letzten gemeinsamen Vorfahren von *S. presolanensis* und *S. muscoides* einerseits und dem letzten gemeinsamen Vorfahren von *S. aphylla* und *S. arachnoidea* andererseits entstanden (Abb. 5). In keiner der bisher veröffentlichten Untersuchungen wurde ein hybrider Ursprung von *S. facchinii* vermutet. Dennoch spiegelt sich seine Verwandtschaft mit *S. muscoides* in seiner Behandlung als Varietät dieser Art durch Engler (1872) und in der gemeinsamen Einordnung mit *S. muscoides* und *S. presolanensis* in die grex *Muscoides* Engl. durch Merxmüller & Wiedmann (1957) wider. Eine enge Verwandtschaft zwischen *S. facchinii* und *S. aphylla* wurde hingegen von Vargas (2000) festgestellt. Gerschwitz-Eidt & Kadereit (2020) stellten fest, dass die Art in ihrer ITS-Phylogenie am engsten mit *S. muscoides* und *S. presolanensis* verwandt ist und in ihrer Plastiden-Phylogenie (ohne Unterstützung) mit einer Probe von *S. aphylla* (Kapitel 2). *Saxifraga facchinii* wächst auf kalkhaltigen Felsen und Geröll in alpinen Höhenlagen

zwischen 2250 und 3000 m und ist in dieser Hinsicht ökologisch mit *S. aphylla* und *S. muscoides* seiner beiden Elternlinien vergleichbar.

Das Verbreitungsgebiet von *S. facchinii* einerseits und seinen beiden Elternlinien andererseits ist allopatrisch, wie es sowohl bei homoploiden als auch bei allopolyploiden Hybridarten sehr häufig zu beobachten ist (Kadereit 2015). In Anlehnung an Kadereit (2015) könnte dies das Ergebnis einer Auseinanderentwicklung der Verbreitungsgebiete von ökologisch differenzierten Linien als Reaktion auf klimatische Veränderungen sein. In Anbetracht der Verbreitung von *S. facchinii* (Abb. 2) und des pleistozänen Ursprungs seiner beiden Elternlinien (Abb. 6) scheint es möglich, dass seine Elternlinien im Bereich des heutigen Verbreitungsgebiets von *S. facchinii* in einer pleistozänen Kaltzeit sympatrisch waren, als das damals vermutlich größere Verbreitungsgebiet des letzten gemeinsamen Vorfahren von *S. muscoides* das Hauptverbreitungsgebiet dieser Art im Westen und das disjunkte Teilverbreitungsgebiet dieser Art in den Tauern einschloss (Abb. 2). In diesem Fall könnte die Hybridart *S. facchinii* in ihrem Ursprungsgebiet überdauert haben und die elterlichen Linien wären in Zeiten des Klimawandels ihren Nischen gefolgt und zurück in ihre vorherigen Verbreitungsgebiete migriert.

Die Identifizierung von *S. facchinii* als Hybridart ist der dritte molekularphylogenetische Nachweis einer Hybridart in *S. sect. Saxifraga*, neben dem südschandinavischen Endemiten *S. osloensis* (Brochmann et al. 1996; Knaben 1954; Nilsson & Jorde 1998) und der in der Tatra endemischen *S. wahlenbergii* (Tkach et al. 2019). Während für *S. osloensis* ein postglazialer Ursprung postuliert wurde (Brochmann et al. 1996), wurde für *S. wahlenbergii* ebenfalls ein pleistozäner Ursprung (Pawłowski 1970) in Folge von Verschiebungen der Verbreitungsgebiete der beiden Elternarten während der Quartären Klimaoszillationen (Tkach et al. 2019) vermutet. Die Tatra umfasst die höchsten Gebirge sowohl der Westkarpaten als auch der gesamten Karpaten und war während der glazialen Kaltzeiten in großen Umfang vergletschert (Mráz et al. 2016; Mráz & Ronikier 2016; Ronikier 2011). Während die gesamten Karpaten als wichtiges nördliches Glazialrefugium betrachtet werden (Mráz & Ronikier 2016; Schmitt 2017; Tzedakis et al. 2013), sind insbesondere die Westkarpaten eine Region mit einer außerordentlichen Anzahl endemischer Pflanzenarten (Mráz et al. 2016; Pawłowski 1970). Im Gegensatz zu *S. facchinii* kommt *S. wahlenbergii*, bedingt durch seine große Höhenverbreitung von 800–2500 m, sympatrisch mit beiden Elternarten vor (Piekos-Mirkowa et al. 1996; Webb

& Gornall 1989), wobei die beiden Elternarten in der Tatra in unterschiedlichen Höhenzonen vorkommen. Beide Beispiele, *S. facchinii* und *S. wahlenbergii*, illustrieren damit die Bedeutung der durch die quartären Klimaschwankungen bedingten Arealverschiebungen von Arten für die Entstehung und Etablierung von Hybridarten.

3.4.5 Anzestrals Ökologie von *S. subsect. Arachnoideae*

Saxifraga subsect. Arachnoideae ist Teil der Sektion *Saxifraga* (Ebersbach et al. 2017; Tkach et al. 2015), zusammen mit *S. subsect. Saxifraga*, die hauptsächlich auf der Iberischen Halbinsel vorkommt, *S. subsect. Androsaceae*, die hauptsächlich in den Alpen verbreitet ist und *S. irrigua* von der Krim, wo diese Art in felsigen Wäldern und auf schattigen Felsen, immer auf Kalkstein, zwischen 500 und 1250 m wächst (Webb & Gornall 1989). Schwester zu all diesen Untersektionen und letzte Untersektion der Section *Saxifraga* ist schließlich die *S. subsect. Tridactylites*, deren Verbreitungsgebiet hauptsächlich das alpine System Europas (Ozenda 1988) und Teile Skandinaviens umfasst.

Die Beziehungen zwischen den drei gut unterstützten Untersektionen *Saxifraga*, *Androsaceae* und *Arachnoideae* sowie *S. irrigua* wurden in der Phylogenie von Tkach et al. (2015) nicht aufgelöst, Tkach et al. (2019) jedoch fanden Unterstützung für eine Schwesterbeziehung zwischen *S. irrigua* und der Untersektion *Androsaceae*. Da die Rekonstruktion der ancestralen Ökologie von *subsect. Arachnoideae* eine Außengruppe benötigt, wurde in dieser Untersuchung ein Teil des auf Target Enrichment-Sequenzen basierenden Artbaums (Abb. 4) verwendet, welcher insgesamt lediglich 9 Arten aus *S. subsect. Saxifraga* umfasste und eine nicht-monophyletische *S. subsect. Saxifraga* zeigte. Auch wenn die Schwestergruppe zu *S. subsect. Arachnoideae* damit keinesfalls vollständig in die Untersuchungen eingeschlossen wurde, so können ancestrale Rekonstruktionen mit unvollständigen Außengruppen dennoch robuste und valide Ergebnisse liefern, solange die Ursache für die Unvollständigkeit der Außengruppen-Stichprobe nicht systematischer, sondern zufälliger Natur ist (Hardy 2006), wovon in Bezug auf die in dieser Arbeit verwendeten Außengruppen-Daten (Folk et al. 2019) auszugehen ist.

Laut der in dieser Arbeit durchgeführten Rekonstruktion wurde der *stem group node* von *S. subsect. Arachnoideae* rekonstruiert als eine Linie, die helle Standorte auf neutralen

oder schwach basischen Böden der hochmontanen bis subalpinen Höhenstufen besiedelte (Abb. 8). Dementsprechend haben sich die edaphische Präferenz von *S. muscoides* und *S. paradoxa* für basenarme Böden und der geringere Lichtbedarf von *S. paradoxa*, *S. berica* und *S. arachnoidea* zweimal unabhängig innerhalb der Untersektion entwickelt. Weder für die Evolution der Lichtpräferenz noch der edaphischen Präferenz wurden ein starkes phylogenetisches Signal oder Hinweise auf stabilisierende Selektion identifiziert (Tab. 5). Dementsprechend scheinen diese Merkmale in *S. subsect. Arachnoideae* wenig konserviert zu sein. Hingegen muss aufgrund des starken phylogenetischen Signals die Temperaturnische als eher konservativ evolvierendes Merkmal betrachtet werden, was in Einklang mit den Befunden für die gesamte Gattung steht (Ebersbach et al. 2017; Folk et al. 2019; Liu et al. 2020, 2022).

3.4.6 Ökologische Diversifizierung durch adaptive Evolution in Glazialrefugien

Die Definition eines Refugiums als ein Gebiet, in dem eine bestimmte Art während eines gesamten Glazial-Interglazial-Zyklus überlebte (Hewitt 2004), impliziert, dass solche Gebiete Zufluchtsorte waren, in denen Arten vor dem Aussterben bewahrt wurden (Nieto Feliner 2011). Es ist jedoch allgemein anerkannt, dass im Quartär evolutionäre Entwicklungen stattfanden, die zu Artbildung führten. Diese Veränderungen wurden einerseits durch geografische Isolation und Hybridisierung bei sekundärem Kontakt angetrieben (Kadereit & Abbott 2021), andererseits aber auch dadurch, dass die Arten in den Refugien neuartigen Selektionsdrücken unter veränderten biotischen und abiotischen Bedingungen ausgesetzt waren, die sich von den Bedingungen der vormaligen Verbreitungsgebiete unterschieden, aus denen die Arten als Folge des jeweils vorangegangenen Klimaphasenwechsels verschwanden (Davis & Shaw 2001; Lafontaine et al. 2018; Nieto Feliner 2011; Stewart et al. 2010; Stewart & Stringer 2012). Außerdem waren die abiotischen und biotischen Bedingungen in den Refugien nicht konstant, sondern veränderten sich im Laufe des Quartärs. Betrachtet man alpine Arten, so waren die von Schönswetter et al. (2005) identifizierten Glazialrefugien im Bereich der europäischen Alpen Kaltzeitrefugien (Birks & Willis 2008). In den Interglazialen und im Holozän führten die sich verändernden Klimabedingungen und insbesondere die zunehmende interspezifische Konkurrenz in den vormaligen Kaltzeitrefugien in den meisten Fällen zu einer Remigration von alpinen Arten in die Habitate der alpinen

Höhenzone, d.h. ihre Warmzeitrefugien (Birks & Willis 2008), in denen sich die konkurrenzstärkeren Arten der Warmzeit-Vegetation nicht etablieren konnten (Birks & Willis 2008; Pigott & Walters 1954).

Unter Berücksichtigung sowohl der gegenwärtigen Verbreitungsgebiete von *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. arachnoidea* in bekannten Glazialrefugien als auch ihrer Entstehung als periphere Isolate, wird hier die Hypothese aufgestellt, dass die gegenwärtige Ökologie dieser Arten in Glazialrefugien entstanden ist, wo sie den Wechsel der Kalt- und Warmzeiten des Quartärs überdauerten. *Saxifraga paradoxa* wächst auf Gneis oder Glimmerschiefer und ist damit eine von nur zwei kalkmeidenden Arten der Untersektion. Es ist allgemein bekannt, dass kalkliebende Arten moderat sauren Böden zwar grundsätzlich erfolgreich besiedeln können (Gigon 1971; Rorison 1960; Tansley 1917), ihre Verbreitung aber durch die Konkurrenz mit den an solchen Standorten konkurrenzstärkeren kalkmeidenden Arten auf basenreiche Standorte beschränkt bleibt (Ellenberg & Leuschner 2010; Gigon 1971). Es ist deshalb möglich, dass der edaphische Wechsel von basenreichen zu basenarmen Standorten auf die klimatisch ausgelöste Migration eines kalkliebenden Vorfahren in ein Glazialrefugium für kalkmeidende Arten in einer Phase reduzierter Konkurrenz zurückgeht. Edaphische Wechsel zwischen kalkliebender und kalkmeidender Ökologie in Korrelation und wahrscheinlich auch kausalem Zusammenhang mit Quartärer Migration und Ausbreitung (engl. *dispersal*) in edaphisch unterschiedliche Gebiete wurden z. B. bereits für *Gentiana* L. (Hungerer & Kadereit 1998), *Saxifraga* (Conti et al. 1999), *Adenostyles* CASS. (Dillenberger & Kadereit 2013), *Cherleria* L. (Moore & Kadereit 2013) sowie für *Jovibarba* (DC.) OPIZ und *Semprevivum* L. (Klein & Kadereit 2015) postuliert.

Die geringen Lichtbedürfnisse von *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. arachnoidea* entstanden wahrscheinlich als Antwort auf sich verändernde Umweltbedingungen in ihren jeweiligen Verbreitungsgebieten. Alle diese drei Arten wurden in dieser Arbeit als periphere Isolate interpretiert und haben sehr kleine Verbreitungsgebiete, welche in bekannten Kaltzeitrefugien liegen (Schönswetter et al. 2005). Es ist daher wahrscheinlich, dass diese Arten in ihren Refugien persistiert haben. In Anbetracht der Tatsache, dass die Kaltzeitrefugien am Alpenrand höchstwahrscheinlich mehr oder weniger alle Lebensraumtypen der heutigen alpinen Arten enthielten, ist es sehr wahrscheinlich, dass die heutigen Lebensräume von *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. arachnoidea* nicht denen

entsprechen, welche die Populationen, aus denen diese Arten hervorgegangen sind, bei ihrer ursprünglichen Migration in die Kaltzeitrefugien vorfanden. Stattdessen ist die Besiedlung dieser marginalen Lebensräume mit geringer interspezifischer Konkurrenz höchstwahrscheinlich das Ergebnis von Konkurrenzausschluss aus anderen Gebieten, nachdem konkurrenzstärkere Arten die Kaltzeitrefugien während der Warmzeiten wiederbesiedelten. Alle drei Arten, im Übrigen auch alle anderen Arten der Untersektion *Arachnoideae*, wurden von Landolt et al. (2010) als Stresstoleranzstrategen (gegenüber Konkurrenzstrategen und Ruderalstrategen; Grime 1974) eingestuft. Interessanterweise ähneln die Lebensräume von *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. arachnoidea* in gewisser Weise manchen der Lebensräume, welche einige heutige alpine Arten bewohnen, wenn sie in niedrigen Höhenlagen wachsen. Dazu gehören auf den britischen Inseln Geröllhalden, nordexponierte Hänge, steile Klippen und kühle Schluchten (Birks & Willis 2008; Pigott & Walters 1954) sowie Schluchten im Mittelmeerraum (Gentili et al. 2015). Während die Ökologie der heutigen Alpenpflanzen in niedrigen Höhenlagen oder südlichen Breiten, soweit bekannt, das Ergebnis von Konkurrenz und damit von ökologischen Prozessen ist, wird hier die Hypothese formuliert, dass die Beschränkung von *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. arachnoidea* auf ihre jeweils spezifischen Lebensräume das Ergebnis von Anpassung und damit von evolutionären Prozessen ist. Eine Anpassung an Bedingungen, in welche Arten durch Konkurrenz gezwungen wurden, wurde bereits von Oberle & Schaal (2011) für einen Lokalendemiten der Gattung *Dodecatheon* L. (Primulaceae) aus dem östlichen Nordamerika postuliert, dessen Verbreitung auf verstreut auftretende, kühle Felswände beschränkt ist, sowie von Moore et al. (2013) für den Serpentinboden-Endemiten *Cherleria* (= *Minuartia*) *laricifolia* subsp. *ophiolitica* (PIGNATTI) IAMONICO aus dem nördlichen Apennin. Interessanterweise stellten Webb & Gornall (1989) fest, dass die Kultivierung von *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. arachnoidea* nur möglich ist, wenn die Bedingungen ihres natürlichen Lebensraums, insbesondere der Schatten, so genau wie möglich reproduziert werden. Dies impliziert eindeutig, dass diese drei Arten nicht allein durch interspezifische Konkurrenz auf ihre derzeitigen Nischen beschränkt sind, sondern die an ihren natürlichen Standorten vorgefundenen Bedingungen für ein erfolgreiches Wachstum und eine erfolgreiche Reproduktion benötigen. Es bleibt unklar, ob diese marginalen Lebensräume erst infolge der zunehmenden Konkurrenz besiedelt wurden oder schon vorher zur Nische dieser Arten gehörten. Im ersten Fall entstand

neuartiger Selektionsdruck, der zur evolutionären Divergenz führte, also nicht nur durch abiotische Umweltbedingungen, sondern wahrscheinlich hauptsächlich durch interspezifische Konkurrenz mit den „neuen Nachbarn“ (engl. *new neighbours*) von Hewitt (1996, 2000, 2001). Zusammen mit ihren nächsten Verwandten können *S. berica* (nächstverwandte Arten: *S. petraea*, *S. paradoxa*), *S. paradoxa* (nächstverwandt mit *S. petraea*) und *S. arachnoidea* (nächstverwandt mit *S. aphylla*), allesamt Arten, die bei Klimaerwärmung in Kaltzeitrefugien überdauerten, als *stable rear edge*⁸-Populationen oder -Arten betrachtet werden (Hampe & Petit 2005). Für solche Populationen formulierte Ackerly (2003) in seiner "*trailing edge hypothesis of adaptive evolution*" die These, dass die wichtigste Voraussetzung für das Auftreten adaptiver Evolution an der *trailing edge* der Ausschluss von Konkurrenten sei. Im Falle von *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. arachnoidea* scheint dies dergestalt realisiert zu sein, dass durch Adaptation an schattige, für konkurrenzfähigere Arten ungeeignete Lebensräume die Konkurrenz mit diesen Arten vermieden wird.

Falls die Adaptation an neue Selektionsdrücke bei *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. arachnoidea* tatsächlich in den warmen Phasen des späten Pliozäns und des Pleistozäns stattfand, wie dies auch für die adaptive Differenzierung bei *Taxus baccata* postuliert wurde (Mayol et al. 2015), so wären die für die evolutionäre Veränderungen zur Verfügung stehende geologischen Zeiträume sogar noch kürzer als in den Kaltzeiten, da die warmen Phasen zumindest im Pleistozän wesentlich kürzer waren als die kalten (Birks 2019). Obwohl behauptet worden ist, dass die für die Artbildung erforderlichen Zeiträume der Isolation im Quartär nie lang genug waren (Willis & Niklas 2004), wurde Artbildung während der Quartären Kaltzeiten von Kadereit et al. (2004) impliziert. Für *S. berica*, *S. paradoxa* und *S. arachnoidea* wird hier nicht postuliert, dass sie in interglazialen Warmzeiten entstanden sind. Stattdessen ist es wahrscheinlicher, dass sie entstanden sind, als sie in späten pliozänen/pleistozänen Kaltphasen in die periphere Isolation gedrängt wurden. Dennoch scheint ihre heutige Ökologie das Ergebnis einer adaptiven Evolution während der quartären Warmzeiten zu sein. Folglich prägten sowohl

⁸ Bei einer Population mit einem sich verschiebenden Verbreitungsgebiet wird der in Migrationsrichtung gelegene Verbreitungsrand als *leading edge* oder *front edge* bezeichnet, der der Migrationsrichtung entgegengesetzte Verbreitungsrand als *trailing edge* oder *rear edge* (vgl. Hampe & Petit 2005).

spätpliozäne/pleistozäne Kaltzeiten, die zur geografischen Isolation führten, als auch warme Phasen, die Anpassungsänderungen bewirkten, die Evolution dieser Arten.

3.5 Literaturverzeichnis

- Ackerly, D. D. (2003). Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *International Journal of Plant Sciences*, 164(S3), S165–S184. <https://doi.org/10.1086/368401>
- Acquisti, C., Elser, J. J., & Kumar, S. (2009). Ecological nitrogen limitation shapes the DNA composition of plant genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 26(5), 953–956. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp038>
- Adams, K. L., & Wendel, J. F. (2005). Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 8(2), 135–141. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.01.001>
- Aeschimann, D., Lauber, K., Moser, D. M., & Theurillat, J.-P. (2004). *Flora alpina: Ein Atlas sämtlicher 4500 Gefäßpflanzen der Alpen* (Bd. 1–3). Haupt.
- Altekar, G., Dwarkadas, S., Huelsenbeck, J. P., & Ronquist, F. (2004). Parallel Metropolis coupled Markov chain Monte Carlo for Bayesian phylogenetic inference. *Bioinformatics*, 20(3), 407–415. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg427>
- Andrews, S. (2010). *FASTQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data*. <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>
- Bao, L., Pu, M., & Messer, K. (2014). AbsCN-seq: A statistical method to estimate tumor purity, ploidy and absolute copy numbers from next-generation sequencing data. *Bioinformatics*, 30(8), 1056–1063. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt759>
- Bennett, M., & Leitch, I. J. (1995). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Annals of Botany*, 76(2), 113–176. <https://doi.org/10.1006/anbo.1995.1085>
- Bezanson, J., Edelman, A., Karpinski, S., & Shah, V. B. (2017). Julia: A fresh approach to numerical computing. *SIAM Review*, 59(1), 65–98. <https://doi.org/10.1137/141000671>
- Birks, H. J. B. (2019). Contributions of Quaternary botany to modern ecology and biogeography. *Plant Ecology & Diversity*, 12(3–4), 189–385. <https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1646831>

- Birks, H. J. B., & Willis, K. J. (2008). Alpines, trees, and refugia in Europe. *Plant Ecology & Diversity*, *1*(2), 147–160. <https://doi.org/10.1080/17550870802349146>
- Blanco-Pastor, J. L., Vargas, P., & Pfeil, B. E. (2012). Coalescent simulations reveal hybridization and incomplete lineage sorting in Mediterranean *Linaria*. *PloS one*, *7*(6), 39089. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039089>
- Blomberg, S. P., Garland, T., & Ives, A. R. (2003). Testing for phylogenetic signal in comparative data: Behavioral traits are more labile. *Evolution*, *57*(4), 717–745. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00285.x>
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, *30*(15), 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Bond, S. R., Keat, K. E., Barreira, S. N., & Baxevanis, A. D. (2017). BuddySuite: Command-line toolkits for manipulating sequences, alignments, and phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, *34*(6), 1543–1546. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx089>
- Bouckaert, R., Vaughan, T. G., Barido-Sottani, J., Duchêne, S., Fourment, M., Gavryushkina, A., Heled, J., Jones, G., Kühnert, D., Maio, N., Matschiner, M., Mendes, F. K., Müller, N. F., Ogilvie, H. A., Du Plessis, L., Poppinga, A., Rambaut, A., Rasmussen, D., Siveroni, I., Suchard, M. A., Wu, C.-H., Dong, X., Zhang, C., Stadler, T. & Drummond, A. J. (2019). BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*, *15*(4), 1006650. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006650>
- Brochmann, C., Nilsson, T., & Gabrielsen, T. M. (1996). A classic example of postglacial allopolyploid speciation re-examined using RAPD markers and nucleotide sequences: *Saxifraga osloensis* (Saxifragaceae). *Acta Universitatis Upsaliensis Symbolae Botanicae Upsalienses*, *31*(3), 75–89.

- Brown Jr, W. L. (1957). Centrifugal speciation. *The Quarterly Review of Biology*, 32, 247–277. <https://doi.org/10.1086/401875>
- Butler, M. A., & King, A. A. (2004). Phylogenetic comparative analysis: A modeling approach for adaptive evolution. *The American Naturalist*, 164(6), 683–695. <https://doi.org/10.1086/426002>
- Chifman, J., & Kubatko, L. (2014). Quartet inference from SNP data under the coalescent model. *Bioinformatics*, 30(23), 3317–3324. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu530>
- Conti, E., Soltis, D. E., Hardig, T. M., & Schneider, J. (1999). Phylogenetic relationships of the silver saxifrages (*Saxifraga*, Sect. *Ligulatae* Haworth): Implications for the evolution of substrate specificity, life histories, and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 13(3), 536–555.
- Corrêa dos Santos, R. A., Goldman, G. H., & Riaño-Pachón, D. M. (2017). ploidyNGS: Visually exploring ploidy with Next Generation Sequencing data. *Bioinformatics*, 33(16), 2575–2576. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx204>
- Cronn, R., Knaus, B. J., Liston, A., Maughan, P. J., Parks, M., Syring, J. V., & Udall, J. (2012). Targeted enrichment strategies for next-generation plant biology. *American Journal of Botany*, 99(2), 291–311. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100356>
- Damboldt, J. (1965). Chromosomenzahlen einiger südalpiner Endemiten. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 78, 373–376.
- Damboldt, J., & Podlech, D. (1963). Chromosomenzahlen einiger alpiner Steinbreche. *Berichte der Bayerischen Botanischen Gesellschaft zur Erforschung der heimischen Flora*, 36, 29–32.
- Davis, M. B., & Shaw, R. G. (2001). Range shift and adaptive responses to quaternary climate change. *Science*, 292, 673–679.

- Degnan, J. H. (2018). Modeling hybridization under the network multispecies coalescent. *Systematic Biology*, 67(5), 786–799. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy040>
- Degnan, J. H., & Rosenberg, N. A. (2006). Discordance of species trees with their most likely gene trees. *PLoS Genet*, 2(5), 68. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020068>
- DeLaat, A. M. M., Gohde, W., & Vogelzack, M. J. D. C. (1987). Determination of ploidy of single plants and plant populations by flow cytometry. *Plant Breeding*, 99(4), 303–307. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1987.tb01186.x>
- Dillenberger, M. S., & Kadereit, J. W. (2013). The phylogeny of the European high mountain genus *Adenostyles* (Asteraceae-Senecioneae) reveals that edaphic shifts coincide with dispersal events. *American journal of botany*, 100(6), 1171–1183. <https://doi.org/10.3732/ajb.1300060>
- Dobeš, C., Hahn, B., & Morawetz, W. (1997). Chromosomenzahlen zur Gefäßpflanzen-Flora Österreichs. *Linzer biologische Beiträge*, 29(1), 5–43.
- Drummond, A. J., Ho, S. Y. W., Phillips, M. J., & Rambaut, A. (2006). Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology*, 4(5), 88. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040088.g001>
- Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 214. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>
- Ebersbach, J., Müllner-Riehl, A. N., Michalak, I., Tkach, N., Hoffmann, M. H., Röser, M., Sun, H., & Favre, A. (2017). In and out of the Qinghai-Tibet Plateau: Divergence time estimation and historical biogeography of the large arctic-alpine genus *Saxifraga* L. *Journal of Biogeography*, 44(4), 900–910. <https://doi.org/10.1111/jbi.12899>

- Ebersbach, J., Tkach, N., Röser, M., & Favre, A. (2020). The role of hybridisation in the making of the species-rich Arctic-Alpine genus *Saxifraga* (Saxifragaceae). *Diversity*, *12*(11), 440.
- Egan, A. N., Schlueter, J., & Spooner, D. M. (2012). Applications of next-generation sequencing in plant biology. *American Journal of Botany*, *99*(2), 175–185. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200020>
- Ellenberg, H. (1992). *Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa* (2., verb.erw. Aufl., Bd. 18). Goltze.
- Ellenberg, H., & Leuschner, C. (2010). *Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen: In ökologischer, dynamischer und historischer Sicht; 203 Tabellen* (6., vollst. neu bearb. und stark erw. Aufl.). Ulmer.
- Engler, H. G. A. (1872). *Monographie der Gattung Saxifraga L.: Mit besonderer Berücksichtigung der geographischen Verhältnisse*. Kern.
- Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., & Käller, M. (2016). MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics*, *32*(19), 3047–3048. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354>
- Favarger, C. (1965). Notes de caryologie alpine. IV. *Bulletin de la Société neuchâteloise des sciences naturelles*, *88*, 5–60.
- Felsenstein, J. (1973). Maximum-likelihood estimation of evolutionary trees from continuous characters. *American journal of human genetics*, *25*(5), 471.
- Folk, R. A., Mandel, J. R., & Freudenstein, J. V. (2015). A protocol for targeted enrichment of intron-containing sequence markers for recent radiations: A phylogenomic example from *Heuchera* (Saxifragaceae). *Applications in plant sciences*, *3*(8), Article 8. <https://doi.org/10.3732/apps.1500039>
- Folk, R. A., Stubbs, R. L., Mort, M. E., Cellinese, N., Allen, J. M., Soltis, P. S., Soltis, D. E., & Guralnick, R. P. (2019). Rates of niche and phenotype evolution lag behind diversification in a temperate radiation. *Proceedings of the National Academy of*

- Sciences of the United States of America*, 116(22), 10874–10882.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1817999116>
- Frey, J. K. (1993). Modes of peripheral isolate formation and speciation. *Systematic Biology*, 42(3), 373–381. <https://doi.org/10.2307/2992471>
- Galbraith, D. W., Harkins, K. R., Maddox, J. M., Ayres, N. M., Sharma, D. P., & Firoozabady, E. (1983). Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science*, 220(4601), 1049–1051.
<https://doi.org/10.1126/science.220.4601.1049>
- Gentili, R., Bacchetta, G., Fenu, G., Cogoni, D., Abeli, T., Rossi, G., Salvatore, M. C., Baroni, C., & Citterio, S. (2015). From cold to warm-stage refugia for boreo-alpine plants in southern European and Mediterranean mountains: The last chance to survive or an opportunity for speciation? *Biodiversity*, 16(4), 247–261.
<https://doi.org/10.1080/14888386.2015.1116407>
- Gernhard, T. (2008). The conditioned reconstructed process. *Journal of theoretical biology*, 253(4), 769–778. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.04.005>
- Gerschwitz-Eidt, M. A., & Kadereit, J. W. (2020). Species composition of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* (Saxifragaceae) based on DNA sequence evidence. *Willdenowia*, 50(2), 225. <https://doi.org/10.3372/wi.50.50208>
- Gigon, A. (1971). *Vergleich alpiner Rasen auf Silikat- und auf Karbonatboden. Konkurrenz- und Stickstoffformenversuche sowie standortkundliche Untersuchungen im Nardetum und im Seslerietum bei Davos* (Nummer Diss. Nr. 4627). <https://doi.org/10.3929/ethz-a-000089178>
- Gnirke, A., Melnikov, A., Maguire, J., Rogov, P., LeProust, E. M., Brockman, W., Fennell, T., Giannoukos, G., Fisher, S., Russ, C., Gabriel, S., Jaffe, D. B., Lander, E. S., & Nusbaum, C. (2009). Solution hybrid selection with ultra-long oligonucleotides for massively parallel targeted sequencing. *Nature Biotechnology*, 27(2), 182–189. <https://doi.org/10.1038/nbt.1523>

- González-Domínguez, J., & Schmidt, B. (2016). ParDRe: Faster parallel duplicated reads removal tool for sequencing studies: Table 1. *Bioinformatics*, 32(10), 1562–1564. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw038>
- Good, J. M. (2012). Reduced representation methods for subgenomic enrichment and next-generation sequencing. In V. Orgogozo & M. V. Rockman (Hrsg.), *Molecular Methods for Evolutionary Genetics* (Bd. 772, S. 85–103). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-228-1_5
- Grime, J. P. (1974). Vegetation classification by reference to strategies. *Nature*, 250(5461), 26–31. <https://doi.org/10.1038/250026a0>
- Grover, C. E., Salmon, A., & Wendel, J. F. (2012). Targeted sequence capture as a powerful tool for evolutionary analysis. *American Journal of Botany*, 99(2), 312–319. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100323>
- Hamel, J. L. (1953). Contribution à l'étude cyto-taxinomique des Saxifragacées. *Revue de cytologie et de biologie vegetales*, 14, 113–314.
- Hampe, A., & Petit, R. J. (2005). Conserving biodiversity under climate change: The rear edge matters: Rear edges and climate change. *Ecology Letters*, 8(5), 461–467. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00739.x>
- Hardy, C. R. (2006). Reconstructing ancestral ecologies: Challenges and possible solutions. *Diversity and Distributions*, 12(1), 7–19. <https://doi.org/10.1111/j.1366-9516.2006.00207.x>
- Harmon, L. J., Losos, J. B., Jonathan Davies, T., Gillespie, R. G., Gittleman, J. L., Bryan Jennings, W., Kozak, K. H., McPeck, M. A., Moreno-Roark, F., Near, T. J., Purvis, A., Ricklefs, R. E., Schluter, D., Schulte II, J. A., Seehausen, O., Sidlauskas, B. L., Torres-Carvajal, O., Weir, J. T., & Mooers, A. Ø. (2010). Early bursts of body size and shape evolution are rare in comparative data. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 64(8), 2385–2396. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2010.01025.x>

- Heibl, C. (2013). *PHYLOCH: R language tree plotting tools and interfaces to diverse phylogenetic software packages*. (1.5.5) [Computer software]. <http://www.christophheibl.de/Rpackages.html>
- Hessen, D. O., Jeyasingh, P. D., Neiman, M., & Weidler, L. J. (2010). Genome streamlining and the elemental costs of growth. *Trends in Ecology & Evolution* 25, 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.08.004>.
- Hewitt, G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58(3), 247–276. <https://doi.org/10.1006/bijl.1996.0035>
- Hewitt, G. M. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405(6789), 907–913. <https://doi.org/10.1038/35016000>
- Hewitt, G. M. (2001). Speciation, hybrid zones and phylogeography—Or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology*, 10(3), 537–549. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2001.01202.x>
- Hewitt, G. M. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 359(1442), 183–195. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1388>
- Hillis, D. M., & Bull, J. J. (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic biology*, 42(2), 182–192.
- Hörandl, E. (1993). Revision der *Saxifraga sedoides*-Gruppe (Saxifragaceae) hinsichtlich Systematik, Verbreitung und Vegetationsanschluß. *Phyton - Annales Rei Botanicae*, 33(1), 87–119.
- Huber, K. T., Oxelman, B., Lott, M., & Moulton, V. (2006). Reconstructing the evolutionary history of polyploids from multilabeled Trees. *Molecular Biology and Evolution*, 23(9), 1784–1791. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl045>

- Hudson, R. R. (1983). Testing the constant-rate neutral allele model with protein sequence data. *Evolution*, 37(1), 203. <https://doi.org/10.2307/2408186>
- Hungerer, K. B., & Kadereit, J. W. (1998). The phylogeny and biogeography of *Gentiana* L. sect. *Ciminalis* (Adans.) Dumort: A historical interpretation of distribution ranges in the European high mountains. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 1(1), 121–135. <https://doi.org/10.1078/1433-8319-00055>
- Huson, D. H., & Bryant, D. (2006). Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution*, 23(2), 254–267. <https://doi.org/10.1093/molbev/msj030>
- Jiao, X., Flouri, T., & Yang, Z. (2021). Multispecies coalescent and its applications to infer species phylogenies and cross-species gene flow. *National Science Review*, 8(12), nwab127. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwab127>
- Jiao, Y., Wickett, N. J., Ayyampalayam, S., Chanderbali, A. S., Landherr, L., Ralph, P. E., Tomsho, L. P., Hu, Y., Liang, H., Soltis, P. S., Soltis, D. E., Clifton, S. W., Schlarbaum, S. E., Schuster, S. C., Ma, H., Leebens-Mack, J., & dePamphilis, C. W. (2011). Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. *Nature*, 473(7345), 97–100. <https://doi.org/10.1038/nature09916>
- Johnson, M. G., Gardner, E. M., Liu, Y., Medina, R., Goffinet, B., Shaw, A. J., Zerega, N. J. C., & Wickett, N. J. (2016). HybPiper: Extracting coding sequence and introns for phylogenetics from high-throughput sequencing reads using target enrichment. *Applications in plant sciences*, 4(7). <https://doi.org/10.3732/apps.1600016>
- Kadereit, J. W. (2015). The geography of hybrid speciation in plants. *Taxon*, 64(4), 673–687. <https://doi.org/10.12705/644.1>
- Kadereit, J. W., & Abbott, R. J. (2021). Plant speciation in the Quaternary. *Plant Ecology & Diversity*, 14(3–4), 105–142. <https://doi.org/10.1080/17550874.2021.2012849>

- Kadereit, J. W., Griebeler, E. M., & Comes, H. P. (2004). Quaternary diversification in European alpine plants: Pattern and process. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 359(1442), 265–274. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1389>
- Kaplan, K. (1995). *Saxifraga*. In H. J. Conert, E. J. Jäger, J. W. Kadereit, W. Schultze-Motel, G. Wagenitz, & H. E. Weber (Hrsg.), *Gustav Hegi. Illustrierte Flora von Mitteleuropa: Band IV, Teil 2A: Spermatophyta: Angiospermae: Dicotyledones 2* (2) (3. Aufl., S. 136–223). Blackwell Wissenschaft.
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software Version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Kingman, J. F. C. (1982). The coalescent. *Stochastic Processes and Their Applications*, 13(3), 235–248. [https://doi.org/10.1016/0304-4149\(82\)90011-4](https://doi.org/10.1016/0304-4149(82)90011-4)
- Klein, J. T., & Kadereit, J. W. (2015). Phylogeny, biogeography, and evolution of edaphic association in the European oreophytes *Sempervivum* and *Jovibarba* (Crassulaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 176(1), 44–71. <https://doi.org/10.1086/677948>
- Knaben, G. (1954). *Saxifraga osloensis* n. Sp., a tetraploid species of the Tridactylites section. *Nytt Magasin for botanikk*, 3, 117–138.
- Kubatko, L. S. (2019). The multispecies coalescent. In D. Balding, I. Moltke, & J. Marioni (Hrsg.), *Handbook of Statistical Genomics* (1. Aufl., S. 219–246). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119487845.ch7>
- Kubatko, L. S., & Degnan, J. H. (2007). Inconsistency of phylogenetic estimates from concatenated data under coalescence. *Syst. Biol.*, 56(1), 17–24. <https://doi.org/10.1080/10635150601146041>

- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, *35*(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Küpfer, P., & Rais, J. R. (1983). Index des nombres chromosomiques des spermatophytes de la Suisse. I, Saxifragaceae. *Botanica Helvetica*, *93*(1), 11–25. <https://doi.org/10.5169/seals-65229>
- Lafontaine, G., Napier, J. D., Petit, R. J., & Hu, F. S. (2018). Invoking adaptation to decipher the genetic legacy of past climate change. *Ecology*, *99*(7), 1530–1546. <https://doi.org/10.1002/ecy.2382>
- Landolt, E., Bäumler, B., Erhardt, A., Hegg, O., Klötzli, F., Lämmli, W., Nobis, M., Rudmann-Maurer, K., Schweingruber, F. H., Theurillat, J.-P., Urmi, E., Vust, M., & Wohlgemuth, T. (2010). *Flora indicativa: Ökologische Zeigerwerte und biologische Kennzeichen zur Flora der Schweiz und der Alpen* (2., völlig neu bearb. und erw. Aufl.). Haupt.
- Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, *9*(4), 357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
- Lemmon, A. R., Emme, S. A., & Lemmon, E. M. (2012). Anchored hybrid enrichment for massively high-throughput phylogenomics. *Systematic biology*, *61*(5), 727–744. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys049>
- Lemmon, E. M., & Lemmon, A. R. (2013). High-throughput genomic data in systematics and phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *44*(1), 99–121. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110512-135822>
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., Durbin, R., & 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. (2009). The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, *25*(16), 2078–2079. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352>

- Liu, L., Xu, X., Zhang, L., Li, Y., Shrestha, N., Neves, D. M., Wang, Q., Chang, H., Su, X., Liu, Y., Wu, J., Dimitrov, D., Wang, Z., & Liu, J. (2022). Global patterns of species richness of the holarctic alpine herb *Saxifraga*: The role of temperature and habitat heterogeneity. *Journal of Plant Ecology*, *15*(2), 237–252. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtab085>
- Liu, L., Xu, Y., Tang, Y., Du, W., Shao, C., Wu, J., Zhao, L., Zhang, L., Liu, J., & Xu, X. (2020). The importance of including soil properties when disentangling the drivers of species richness: The case of the Alpine genus *Saxifraga* L. in China. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *8*, 244. <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00244>
- Lynch, M., & Conery, J. S. (2000). The evolutionary fate and consequences of duplicate genes. *Science*, *290*(5494), 1151–1155. <https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1151>
- Lynch, M., & Conery, J. S. (2003). The evolutionary demography of duplicate genes. In A. Meyer & Y. Van de Peer (Hrsg.), *Genome Evolution* (S. 35–44). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0263-9_4
- Maddison, W. P. (1997). Gene trees in species trees. *Systematic Biology*, *46*(3), 523–536. <https://doi.org/10.1093/sysbio/46.3.523>
- Mai, U., & Mirarab, S. (2018). TreeShrink: Fast and accurate detection of outlier long branches in collections of phylogenetic trees. *BMC Genomics*, *19*(Suppl 5), 272. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4620-2>
- Mardis, E. R. (2017). DNA sequencing technologies: 2006–2016. *Nature Protocols*, *12*(2), 213–218. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.182>
- Margarido, G. R. A., & Heckerman, D. (2015). ConPADE: Genome assembly ploidy estimation from next-generation sequencing data. *PLOS Computational Biology*, *11*(4), e1004229. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004229>

- Mas De Xaxars, G., GarcÍA-FernÁNdez, A., Barnola, P., MartíN, J., MercadÉ, A., VallÈS, J., Vargas, P., Vigo, J., & Garnatje, T. (2015). Phylogenetic and cytogenetic studies reveal hybrid speciation in *Saxifraga* subsect. *Triplinervium* (Saxifragaceae). *Journal of Systematics and Evolution*, 53(1), 53–62. <https://doi.org/10.1111/jse.12105>
- Mayr, E. (1954). Change of genetic environment and evolution. In J. Huxley, A. C. Hardy & E. B. Ford (Hrsg.), *Evolution as a Process* (S. 157–180). George Allen and Unwin. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330130116>
- Mayr, E. (1963). *Animal species and evolution*. Harvard University Press. <https://doi.org/10.4159/harvard.9780674865327>
- Mayol, M., Riba, M., González-Martínez, S. C., Bagnoli, F., Beaulieu, J., Berganzo, E., Burgarella, C., Dubreuil, M., Krajmerová, D., Paule, L., Romšáková, I., Vettori, C., Vincenot, L., & Vendramin, G. G. (2015). Adapting through glacial cycles: Insights from a long-lived tree (*Taxus baccata*). *New Phytologist*, 208(3), 973–986. <https://doi.org/10.1111/nph.13496>
- McKain, M. R., Johnson, M. G., Uribe-Convers, S., Eaton, D., & Yang, Y. (2018). Practical considerations for plant phylogenomics. *Applications in plant sciences*, 6(3), 1038. <https://doi.org/10.1002/aps3.1038>
- Merxmüller, H. (1952). Untersuchungen zur Sipplgliederung und Arealbildung in den Alpen. Teil 1. *Jahrbuch des Vereins zum Schutze der Alpenpflanzen*, 17, 96–133.
- Merxmüller, H., & Wiedmann, W. (1957). Ein nahezu unbekannter Steinbrech der Bergamasker Alpen. *Jahrbuch des Vereins zum Schutze der Alpenpflanzen und -Tiere*, 22, 115–120.
- Moore, A. J., & Kadereit, J. W. (2013). The evolution of substrate differentiation in *Minuartia* series *Laricifoliae* (Caryophyllaceae) in the European Alps: In situ origin or repeated colonization? *American journal of botany*, 100(12), 2412–2425. <https://doi.org/10.3732/ajb.1300225>

- Moore, A. J., Merges, D., & Kadereit, J. W. (2013). The origin of the serpentine endemic *Minuartia laricifolia* subsp. *ophiolitica* by vicariance and competitive exclusion. *Molecular Ecology*, 22(8), 2218–2231. <https://doi.org/10.1111/mec.12266>
- Mráz, P., Barabas, D., Lengyelová, L., Turis, P., Schmotzer, A., Janišová, M., & Ronikier, M. (2016). Vascular plant endemism in the Western Carpathians: Spatial patterns, environmental correlates and taxon traits. *Biological Journal of the Linnean Society*, 119(3), 630–648. <https://doi.org/10.1111/bij.12792>
- Mráz, P., & Ronikier, M. (2016). Biogeography of the Carpathians: Evolutionary and spatial facets of biodiversity. *Biological Journal of the Linnean Society*, 119(3), 528–559. <https://doi.org/10.1111/bij.12918>
- Müller, N. F., & Bouckaert, R. R. (2020). Adaptive Metropolis-coupled MCMC for BEAST 2. *PeerJ*, 8, e9473. <https://doi.org/10.7717/peerj.9473>
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. <https://doi.org/10.7312/nei-92038>
- Nieto Feliner, G. (2011). Southern European glacial refugia: A tale of tales. *Taxon*, 60(2), 365–372.
- Nilsson, T., & Jorde, P. E. (1998). Allozyme variation in allotetraploid *Saxifraga osloensis* and its diploid progenitors. *Nordic Journal of Botany*, 18, 425–430.
- Oberle, B., & Schaal, B. A. (2011). Responses to historical climate change identify contemporary threats to diversity in *Dodecatheon*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(14), 5655–5660. <https://doi.org/10.1073/pnas.1012302108>
- Ogilvie, H. A., Bouckaert, R. R., & Drummond, A. J. (2017). StarBEAST2 brings faster species tree inference and accurate estimates of substitution rates. *Molecular Biology and Evolution*, 34(8), 2101–2114. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx126>

- Ozenda, P. (1988). *Die Vegetation der Alpen im europäischen Gebirgsraum*. Fischer Verlag.
- Pagel, M. (1999). Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature*, *401*(6756), 877–884. <https://doi.org/10.1038/44766>
- Pamilo, P., & Nei, M. (1988). Relationships between gene trees and species trees. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040517>
- Panchy, N., Lehti-Shiu, M., & Shiu, S.-H. (2016). Evolution of gene duplication in plants. *Plant Physiology*, *171*(4), 2294–2316. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00523>
- Paradis, E., & Schliep, K. (2019). ape 5.0: An environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics*, *35*(3), 526–528. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633>
- Pawłowski, B. (1970). Remarques sur l'endémisme dans la flore des Alpes et des Carpates. *Vegetatio*, *21*, 181–243. <https://doi.org/10.1007/BF02269663>
- Pennell, M. W., Eastman, J. M., Slater, G. J., Brown, J. W., Uyeda, J. C., FitzJohn, R. G., Alfaro, M. E., & Harmon, L. J. (2014). geiger v2.0: An expanded suite of methods for fitting macroevolutionary models to phylogenetic trees. *Bioinformatics*, *30*(15), 2216–2218. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu181>
- Piekos-Mirkowa, H., Mirek, Z., & Miechówka, A. (1996). Endemic vascular plants in the Polish Tatra Mts.-distribution and ecology. *Polish Botanical Studies*, *12*, 1–107.
- Pignatti, S., Menegoni, P., & Pietrosanti, S. (2005). Valori di bioindicazione delle piante vascolari della Flora d'Italia. Bioindicator values of vascular plants of the Flora of Italy. *Braun-Blanquetia*, *39*, 3–95.
- Pigott, C. D., & Walters, S. M. (1954). On the interpretation of the discontinuous distributions shown by certain British species of open habitats. *The Journal of Ecology*, *42*(1), 95. <https://doi.org/10.2307/2256981>

- Pirie, M. D., Humphreys, A. M., Barker, N. P., & Linder, H. P. (2009). Reticulation, data combination, and inferring evolutionary history: An example from Danthonioideae (Poaceae). *Systematic Biology*, 58(6), 612–628. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syp068>
- Pitschmann, H., & Reisigl, H. (1959). Endemische Blütenpflanzen der Südalpen zwischen Luganersee und Etsch. *Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes Rübel in Zürich*, 35, 44–68. <https://doi.org/10.5169/SEALS-308131>
- Price, M. N., Dehal, P. S., & Arkin, A. P. (2010). FastTree 2 – Approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS ONE*, 5(3), e9490. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009490>
- Prinzing, A., Durka, W., Klotz, S., & Brandl, R. (2001). The niche of higher plants: Evidence for phylogenetic conservatism. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 268(1483), 2383–2389. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1801>
- R Core Team. (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. (4.1.2) [Computer software]. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rabiee, M., Sayyari, E., & Mirarab, S. (2019). Multi-allele species reconstruction using ASTRAL. *Molecular phylogenetics and evolution*, 130, 286–296. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.10.033>
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., & Suchard, M. A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67(5), 901–904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Rannala, B., & Yang, Z. (2003). Bayes estimation of species divergence times and ancestral population sizes using DNA sequences from multiple loci. *Genetics*, 164(4), 1645–1656. <https://doi.org/10.1093/genetics/164.4.1645>

- Reuter, J. A., Spacek, D. V., & Snyder, M. P. (2015). High-throughput sequencing technologies. *Molecular Cell*, 58(4), 586–597. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.004>
- Revell, L. J. (2012). phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution*, 3(2), 217–223. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x>
- Rice, A., Glick, L., Abadi, S., Einhorn, M., Kopelman, N. M., Salman-Minkov, A., Mayzel, J., Chay, O., & Mayrose, I. (2015). The chromosome counts database (CCDB) – a community resource of plant chromosome numbers. *New Phytologist*, 206(1), 19–26.
- Robinson, D. F., & Foulds, L. R. (1981). Comparison of phylogenetic trees. *Mathematical Biosciences*, 53(1–2), 131–147. [https://doi.org/10.1016/0025-5564\(81\)90043-2](https://doi.org/10.1016/0025-5564(81)90043-2)
- Roddy, A., Thérroux-Rancourt, G., Abbo, T., Benedetti, J. W., Brodersen, C. R., Castro, M., Castro, S., Gilbride, A. B., Jensen, B., Jiang G.-F., Perkins, J. A., Perkins, S. D., Loureiro, J., Syed, Z., Thompson, R. A., Kuebbing, S. E., & Simonin, K. A. (2020). The scaling of genome size and cell size limits maximum rates of photosynthesis with implications for ecological strategies. *International Journal of Plant Sciences*, 181(1), 75–87. <https://doi.org/10.1086/706186>
- Ronikier, M. (2011). Biogeography of high-mountain plants in the Carpathians: An emerging phylogeographical perspective. *TAXON*, 60(2), 373–389. <https://doi.org/10.1002/tax.602008>
- Rorison, I. H. (1960). Some experimental aspects of the calcicole-calcifuge problem: I. The effects of competition and mineral nutrition upon seedling growth in the field. *Journal of Ecology*, 48(3), 585–599.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular cloning: A laboratory manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Schmitt, T. (2017). Molecular biogeography of the high mountain systems of Europe: An overview. In J. Catalan, J. M. Ninot, & M. M. Aniz (Hrsg.), *High Mountain Conservation in a Changing World* (Bd. 62, S. 63–74). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-55982-7>
- Schönswetter, P., Stehlik, I., Holderegger, R., & Tribsch, A. (2005). Molecular evidence for glacial refugia of mountain plants in the European Alps. *Molecular Ecology*, *14*(11), 3547–3555. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02683.x>
- Silvertown, J., Dodd, M., Gowing, D., Lawson, C., & McConway, K. (2006). Phylogeny and the hierarchical organization of plant diversity. *Ecology*, *87*(sp7), 39–49. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[39:PATHOO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[39:PATHOO]2.0.CO;2)
- Skovsted, A. T. (1934). Cytological studies in the tribe Saxifrageae. *Dansk Botanisk Arkiv Udgivet af Dansk Botanisk Forening*, *8*, 1–52.
- Skubic, M., Schönswetter, P., & Frajman, B. (2018). Diversification of *Cerastium sylvaticum* and *C. subtriflorum* on the margin of the south-eastern Alps. *Plant Systematics and Evolution*, *304*(9), 1101–1115. <https://doi.org/10.1007/s00606-018-1535-y>
- Smith, W. W., & Cave, G. H. (1911). The vegetation of the Zemu and Llonakh valleys of Sikkim. In Office of Supt. of Govt. Print., India (Hrsg.), *Records of the Botanical Survey of India* (S. 141–260). Superintendent Government Printing, India.
- Solís-Lemus, C., & Ané, C. (2016). Inferring phylogenetic networks with maximum pseudolikelihood under incomplete lineage sorting. *PLoS genetics*, *12*(3), 1005896. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005896>
- Solís-Lemus, C., Bastide, P., & Ané, C. (2017). PhyloNetworks: A Package for phylogenetic networks. *Molecular Biology and Evolution*, *34*(12), 3292–3298. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx235>

- Soltis, D. E. (1983). Supernumerary chromosomes in *Saxifraga virginensis* (Saxifragaceae). *American journal of botany*, 70(7), 1007–1010.
<https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1983.tb07900.x>
- Soltis, D. E., Albert, V. A., Leebens-Mack, J., Bell, C. D., Paterson, A. H., Zheng, C., Sankoff, D., de Pamphilis, C. W., Wall, P. K., & Soltis, P. S. (2009). Polyploidy and angiosperm diversification. *American Journal of Botany*, 96(1), 336–348.
<https://doi.org/10.3732/ajb.0800079>
- Stadler, T. (2009). On incomplete sampling under birth–death models and connections to the sampling-based coalescent. *Journal of Theoretical Biology*, 261(1), 58–66.
<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2009.07.018>
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312–1313.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Stewart, J. R., Lister, A. M., Barnes, I., & Dalén, L. (2010). Refugia revisited: Individualistic responses of species in space and time. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1682), 661–671.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1272>
- Stewart, J. R., & Stringer, C. B. (2012). Human evolution out of Africa: The role of refugia and climate change. *Science*, 335(6074), 1317–1321.
<https://doi.org/10.1126/science.1215627>
- Stubbs, R. L., Folk, R. A., Xiang, C.-L., Chen, S., Soltis, D. E., & Cellinese, N. (2020). A phylogenomic perspective on evolution and discordance in the Alpine-Arctic plant clade *Micranthes* (Saxifragaceae). *Frontiers in Plant Science*, 10, 1.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01773>
- Stubbs, R. L., Folk, R. A., Xiang, C.-L., Soltis, D. E., & Cellinese, N. (2018). Pseudo-parallel patterns of disjunctions in an Arctic-alpine plant lineage. *Molecular*

- Phylogenetics and Evolution*, 123, 88–100.
<https://doi.org/10.1016/j.ympcv.2018.02.016>
- Tajima, F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105(2), 437–460. <https://doi.org/10.1093/genetics/105.2.437>
- Tansley, A. G. (1917). On competition between *Galium saxatile* L. (*G. hercynicum* Weig.) and *Galium sylvestre* Poll. (*G. asperum* Schreb.) on different types of soil. *Journal of Ecology*, 5(3/4), 173–179. <https://doi.org/10.1111/evo.12758>
- Tateno, Y., Nei, M., & Tajima, F. (1982). Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data: I. Distantly Related Species. *Journal of Molecular Evolution*, 18(6), 387–404. <https://doi.org/10.1007/BF01840887>
- Teppner, H. (1982). *Die Koralpe: Beiträge zur Botanik, Geologie, Klimatologie und Volkskunde*. Institut für Botanik der Universität Graz.
- Than, C., Ruths, D., & Nakhleh, L. (2008). PhyloNet: A software package for analyzing and reconstructing reticulate evolutionary relationships. *BMC Bioinformatics*, 9, 322. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-322>
- Tkach, N., Röser, M., Miehe, G., Müllner-Riehl, A. N., Ebersbach, J., Favre, A., & Hoffmann, M. H. (2015). Molecular phylogenetics, morphology and a revised classification of the complex genus *Saxifraga* (Saxifragaceae). *Taxon*. <https://doi.org/10.12705/646.4>
- Tkach, N., Röser, M., Suchan, T., Cieślak, E., Schönswetter, P., & Ronikier, M. (2019). Contrasting evolutionary origins of two mountain endemics: *Saxifraga wahlenbergii* (Western Carpathians) and *S. styriaca* (Eastern Alps). *BMC Evolutionary Biology*, 19(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12862-019-1355-x>
- Tribsch, A., & Schönswetter, P. (2003). Patterns of endemism and comparative phylogeography confirm palaeo-environmental evidence for Pleistocene refugia in the Eastern Alps. *Taxon*, 52(3), 477–497.

- Tutin, T. G., Burges, N. A., Chater, A. O., Edmondson, J. R., Heywood, V. H., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., & Webb, D. A. (Hrsg.). (1993). *Flora europaea: Bd. Volume 1, Psilotaceae to Plantaceae* (2. Aufl.).
- Tzedakis, P. C., Emerson, B. C., & Hewitt, G. M. (2013). Cryptic or mystic? Glacial tree refugia in northern Europe. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(12), 696–704. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.09.001>
- Vargas, P. (2000). A phylogenetic study of *Saxifraga* sect. *Saxifraga* (Saxifragaceae) based on nrDNA ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 223, 59–70.
- Vargas, P., & Nieto Feliner, G. (1995). Cytotaxonomical study of *Saxifraga* series *Ceratophyllae* s.l. (Saxifragaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 197(1–4), 209–223. <https://doi.org/10.1007/bf00984640>
- Wang, X., Morton, J. A., Pellicer, J., Leitch, I. J., & Leitch, A. R. (2021). Genome downsizing after polyploidy: Mechanisms, rates and selection pressures. *The Plant Journal*, 107(4), 1003–1015. <https://doi.org/10.1111/tpj.15363>
- Webb, D. A. (1993). *Saxifraga* L. In T. G. Tutin, N. A. Burges, A. O. Chater, J. R. Edmondson, V. H. Heywood, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters, & D. A. Webb (Hrsg.), *Flora europaea: Bd. Volume 1, Psilotaceae to Plantaceae* (2. Aufl., S. 437–458).
- Webb, D. A., & Gornall, R. J. (1989). *Saxifrages of Europe. With notes on African, American and some Asiatic Species*. Christopher Helm.
- Weitemier, K., Straub, S. C. K., Cronn, R. C., Fishbein, M., Schmickl, R., McDonnell, A., & Liston, A. (2014). Hyb-Seq: Combining target enrichment and genome skimming for plant phylogenomics. *Applications in plant sciences*, 2(9). <https://doi.org/10.3732/apps.1400042>
- Wen, D., Yu, Y., & Nakhleh, L. (2016). Bayesian inference of reticulate phylogenies under the multispecies network coalescent. *PLOS Genetics*, 12(5), e1006006. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006006>

- Wen, D., Yu, Y., Zhu, J., & Nakhleh, L. (2018). Inferring phylogenetic networks using PhyloNet. *Systematic Biology*, 67(4), 735–740. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy015>
- Whitfield, J. B., Cameron, S. A., Huson, D. H., & Steel, M. A. (2008). Filtered Z-closure supernetworks for extracting and visualizing recurrent signal from incongruent gene trees. *Systematic Biology*, 57(6), 939–947. <https://doi.org/10.1080/10635150802552849>
- Willis, K. J., & Niklas, K. J. (2004). The role of Quaternary environmental change in plant macroevolution: The exception or the rule? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1442), 159–172. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1387>
- Wilson, M. J., Fradera-Soler, M., Summers, R., Sturrock, C. J., & Fleming, A. J. (2021). Ploidy influences wheat mesophyll cell geometry, packing and leaf function. *Plant Direct*, 5:e00314. <https://doi.org/10.1002/pld3.314>
- Wolfe, K. H. (2001). Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *Nature Reviews Genetics*, 2(5), 333–341. <https://doi.org/10.1038/35072009>
- Yu, Y., & Nakhleh, L. (2015). A maximum pseudo-likelihood approach for phylogenetic networks. *BMC Genomics*, 16 Suppl 10, 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-16-S10-S10>
- Yu, Z., Liu, Y., Shen, Y., Wang, M., & Li, A. (2014). CLImAT: Accurate detection of copy number alteration and loss of heterozygosity in impure and aneuploid tumor samples using whole-genome sequencing data. *Bioinformatics*, 30(18), 2576–2583. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu346>
- Zhang, C., Ogilvie, H. A., Drummond, A. J., & Stadler, T. (2018). Bayesian inference of species networks from multilocus sequence data. *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), 504–517. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx307>

- Zhang, C., Rabiee, M., Sayyari, E., & Mirarab, S. (2018). ASTRAL-III: Polynomial time species tree reconstruction from partially resolved gene trees. *BMC Bioinformatics*, *19*(S6), 153. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2129-y>
- Zhmylev, P. Y. (2004). *Rod Saxifraga L.(Saxifragaceae): Biomorfologia, sistematika i evolutsia zhiznennykh form [Genus Saxifraga L.(Saxifragaceae): Biomorphology, systematics and evolution of the life forms]* [Dissertation]. Moscow State University.

3.6 Anhang

3.6.1 Anhang 1: Tabellen.....	110
Tab. A 1: Informationen zur Probennahme.....	110
Tab. A 2: Übersicht über die für die Rekonstruktion der ökologischen Merkmale verwendeten Zeigerwerte nach Landolt et al. (2010).....	115
Tab. A 3: Übersicht der Sequenziererergebnisse.	116
3.6.2 Anhang 2: Abbildungen.....	119
Abb. A 1: Summary coalescent-Artbaum von <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	119
Abb. A 2: Splitstree-Netzwerk nach der „Filtered Super Network“-Methode.	120
Abb. A 3: Major trees der wahrscheinlichsten PhyloNet-Netzwerke für K=1 bis K=10.	121
Abb. A 4: Log Likelihood-Profile der phylogenetischen Netzwerk-Berechnungen.	123
Abb. A 5: Allelfrequenzhistogramme für alle 41 Proben von <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	124
3.6.3 Anhang 3: Elektronischer Anhang.....	131
Elektr. Anhang 1: Referenzsequenzen für das Target Enrichment in <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	131
Elektr. Anhang 2: Vollständiger Alignment-Datensatz mit 58 Proben und 405 Loci.	131
Elektr. Anhang 3: Gekürzter Alignment-Datensatz mit 42 Proben und 388 Loci....	131
Elektr. Anhang 4: Die fünf wahrscheinlichsten Maximum Pseudolikelihood- Netzwerke für K=0–10, berechnet in PhyloNet aus dem Alignment-Datensatz mit 58 Proben und 405 Loci.	131
Elektr. Anhang 5: Alignments für die molekulare Datierung des mehrfach gelabelten Artbaums.....	131

3.6.1 Anhang 1: Tabellen

Tab. A 1: Informationen zur Probenahme. Short Read-Daten mit kursiv gedruckten SRA-Zugangsnummern wurden in dieser Arbeit neu erzeugt.

Klassifikation (sensu Tkach et al. 2015)	Taxon	Probennummer; Probentyp	Sammelort; Sammler und Jahr; Sammelnr.; Herbarnummer.	SRA accession no.
<i>Saxifraga</i> sect. <i>Gymnopera</i>	<i>S. hirsuta</i>	SAMN10066208; NCBI	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	SRR7901338
<i>S. sect. Saxifraga</i>	<i>S. irrigua</i>	GJO 0071452; Herbarium	Ukraine, Awtonomna Respublika Krym, Krimgebirge; Karl 2013; n. a.; GJO 0071452	<i>SRR13754157</i>
<i>S. subsection Androsaceae</i>	<i>S. androsacea</i>	84; Herbarium	Deutschland, Bayern, Bayerische Alpen; Dörr 1984; n. a.; M 0216596	<i>SRR13754166</i>
	<i>S. depressa</i>	209; Frischmaterial	Italien, Trentino-Alto Adige, Dolomiten; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072012, MJG 022182	<i>SRR13754120</i>
	<i>S. italica</i>	203; Frischmaterial	Italien, Abruzzo, Gran Sasso d'Italia; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16073114; MJG 022204	<i>SRR13754156</i>
	<i>S. seguieri</i>	27; Herbarium	Italien, Trentino-Alto Adige, Westliche Rätische Alpen; Doppelbauer & Doppelbauer 1967; 17322; M 0216661	<i>SRR13754129</i>
	<i>S. styriaca</i>	205; Frischmaterial	Österreich, Steiermark, Niedere Tauern; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16053014; MJG 022249	<i>SRR13754128</i>
<i>S. subsection Arachnoideae</i>	<i>S. aphylla</i>	MJG 022187; Frischmaterial	Schweiz, Graubünden, Albula-Alpen; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16080223; MJG 022187	<i>SRR13754154</i>
	<i>S. aphylla</i>	LZ 163259; Herbarium	Deutschland, Bayern, Bayerische Alpen; Krusche 2000; 135/2000; LZ 163259	<i>SRR13754165</i>
	<i>S. aphylla</i>	WU 10832; Herbarium	Österreich, Salzburg, Niedere Tauern; Schönswetter & Tribsch 2005; 10832a; WU 18-38/4	<i>SRR13754132</i>
	<i>S. aphylla</i>	WU 18-38/4; Herbarium	Österreich, Salzburg, Niedere Tauern; Schönswetter & Tribsch 2005; 10832b; WU 18-38/4	<i>SRR13754143</i>
	<i>S. arachnoidea</i>	MJG 022191; Frischmaterial	Italien, Lombardia, Brescianer und Gardasee-Voralpen; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072311MG16072611, MJG 022191	<i>SRR13754124</i>

Fortsetzung auf nächster Seite

Tab. A 1, Fortsetzung.

Klassifikation (sensu Tkach et al. 2015)	Taxon	Probennummer; Probentyp	Sammelort; Sammler und Jahr; Sammelnr.; Herbarnummer.	SRA accession no.
<i>S. subsection Arachnoideae</i>	<i>S. arachnoidea</i>	MJG 022199; Frischmaterial	Italien, Trentino-Alto Adige, Brescianer und Gardasee-Voralpen; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072311, MJG 022199	<i>SRR13754123</i>
	<i>S. berica</i>	MJG 022246; Frischmaterial	Italien, Veneto, Colli Berici; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16060115; MJG 022246	<i>SRR13754121</i>
	<i>S. berica</i>	LZ 224384; Herbarium	Italien, Veneto, Colli Berici; Ebersbach 2017; Ebersbach 1458; LZ 224384	<i>SRR13754122</i>
	<i>S. facchinii</i>	MJG 022198; Frischmaterial	Italien, Trentino-Alto Adige, Dolomiten; Gerschwitz-Eidt 2016; MG1672215; MJG 022198	<i>SRR13754164</i>
	<i>S. facchinii</i>	WU 18-38/8; Herbarium	Italien, Trentino-Alto Adige, Dolomiten; Hörandl 2006; Hörandl 9572; WU 18-38/8	<i>SRR13754163</i>
	<i>S. hohenwartii</i>	MJG 025627; Frischmaterial	Österreich, Kärnten, Kärntnerisch-Slowenische Alpen; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16071421; MJG 025627	<i>SRR13754161</i>
	<i>S. hohenwartii</i>	LZ 162908; Herbarium	Österreich, Kärnten, Kärntnerisch-Slowenische Alpen; Gutte 2000; Gutte 252/2000; LZ 162908	<i>SRR13754162</i>
	<i>S. hohenwartii</i>	WU 18-38/12; Herbarium	Österreich, Kärnten, Kärntnerisch-Slowenische Alpen; Hörandl & Hadaček 1991; 2521; WU 18-38/12	<i>SRR13754159</i>
	<i>S. hohenwartii</i>	WU 18-38/13; Herbarium	Österreich, Kärnten, Kärntnerisch-Slowenische Alpen; Hörandl & Hadaček 1991; 2541; WU 18-38/13	<i>SRR13754158</i>
	<i>S. hohenwartii</i>	WU 18-38/9; Herbarium	Österreich, Kärnten, Kärntnerisch-Slowenische Alpen; Hörandl & Hadaček 1992; Hörandl 4101; WU 18-38/9	<i>SRR13754160</i>
<i>S. muscoides</i>	GJO 0081449; Herbarium	Österreich, Kärnten, Westliche Tauernalpen; Ocepek 2011; n. a.; GJO_0081449	<i>SRR13754155</i>	

Fortsetzung auf nächster Seite

Tab. A 1, Fortsetzung.

Klassifikation (sensu Tkach et al. 2015)	Taxon	Probennummer; Probentyp	Sammelort; Sammler und Jahr; Sammelnr.; Herbarnummer.	SRA accession no.
<i>S. subsection Arachnoideae</i>	<i>S. muscoides</i>	WU 029048; Herbarium	Frankreich, Auvergne– Rhône-Alpes, Grajische Alpen; Schönswetter & Tribtsch 2000; P-13874-Bio 4748; WU 029048	<i>SRR13754152</i>
	<i>S. muscoides</i>	WU 029049; Herbarium	Italien, Aosta valley, Grajische Alpen; Schönswetter & Tribtsch 2000; P- 13874-Bio 4806; WU 029049	<i>SRR13754153</i>
	<i>S. muscoides</i>	WU 18-38/16; Herbarium	Frankreich, Auvergne– Rhône-Alpes, Grajische Alpen; Schneeweiß, Schönswetter & Tribtsch 1998; Gutermann et al. 33417; WU 18- 38/16	<i>SRR13754151</i>
	<i>S. paradoxa</i>	MJG 022203; Frischmaterial	Österreich, Steiermark, Steirisches Randgebirge; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16071611; MJG 022203	<i>SRR13754148</i>
	<i>S. paradoxa</i>	GJO 25642/11; Herbarium	Slowenien, Steirisches Randgebirge; Melzer 1985; n. a.; GJO 25642/11	<i>SRR13754150</i>
	<i>S. paradoxa</i>	GJO 47231; Herbarium	Österreich, Steiermark, Steirisches Randgebirge; Bregant & Melzer 1981; n.a.; GJO 47231	<i>SRR13754149</i>
	<i>S. petraea</i>	MJG 022190; Frischmaterial	Slowenien, Julische Alpen; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16071911; MJG 022190	<i>SRR13754144</i>
	<i>S. petraea</i>	MJG 022250; Frischmaterial	Slowenien, Julische Alpen; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16053112; MJG 022250	<i>SRR13754146</i>
	<i>S. petraea</i>	MJG 023532; Frischmaterial	Italien, Lombardia, Brescianer und Gardasee- Voralpen; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072717; MJG 023532	<i>SRR13754145</i>
	<i>S. petraea</i>	GJO 25642/104; Herbarium	Slowenien, Dinarische Alpen; Melzer 1980s; n. a.; GJO 25642/104	<i>SRR13754147</i>
	<i>S. prenja</i>	MJG 022200; Frischmaterial	Italien, Abruzzo, Maiella; Gerschwitz- Eidt 2016; MG16072937; MJG 022200	<i>SRR13754139</i>
	<i>S. prenja</i>	WU 18-38/25; Herbarium	Bosnien und Herzegovina, Federacija Bosne i Hercegovinea, Dinarische Alpen; Schönswetter & Surina et al. 2007; W. Gutermann 38835; WU 18- 38/25	<i>SRR13754138</i>

Fortsetzung auf nächster Seite

Tab. A 1, Fortsetzung.

Klassifikation (sensu Tkach et al. 2015)	Taxon	Probennummer; Probentyp	Sammelort; Sammler und Jahr; Sammelnr.; Herbarnummer.	SRA accession no.
<i>S. subsection Arachnoideae</i>	<i>S. prenja</i>	WU 18-38/26; Herbarium	Bosnien und Herzegovina, Republika Srpska, Dinarische Alpen; Schönswetter & Surina et al. 2007; W. Gutermann 38607; WU 18-38/26	<i>SRR13754137</i>
	<i>S. presolanensis</i>	MJG 022197; Frischmaterial	Italien, Lombardia, Brescianer und Gardasee- Voralpen; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072512; MJG 022197	<i>SRR13754141</i>
	<i>S. presolanensis</i>	GJO 25582/8; Herbarium	Italien, Lombardia, Bergamasker Alpen und Voralpen; Melzer 1984; n. a.; GJO 25582/8	<i>SRR13754142</i>
	<i>S. presolanensis</i>	WU 029320; Herbarium	Italien, Lombardia, Bergamasker Alpen und Voralpen; Schneeweiß & Schönswetter 2003; 8945; WU 0029320	<i>SRR13754140</i>
	<i>S. sedoides</i>	MJG 022196; Frischmaterial	Italien, Trentino-Alto Adige, Dolomiten; Gerschwitz-Eidt 2016; MG16072111; MJG 022196	<i>SRR13754133</i>
	<i>S. sedoides</i>	MJG 025628; Frischmaterial	Italien, Friuli Venezia Giulia, Julische Alpen; Gerschwitz-Edit 2016; MG16071723; MJG 025628	<i>SRR13754131</i>
	<i>S. sedoides</i>	GJO 0043514; Herbarium	Österreich, Tirol, Karnische Alpen; Ster 2007; n. a.; GJO 0043514	<i>SRR13754136</i>
	<i>S. sedoides</i>	GJO 0088872; Herbarium	Österreich, Steiermark, Steirische Nordalpen; Ocepek 2014; n. a.; GJO 0088872	<i>SRR13754135</i>
	<i>S. sedoides</i>	LZ 046270; Herbarium	Italien, Trentino-Alto Adige, Dolomiten; Gutte & Menhofer 1991; 5315; LZ 046270	<i>SRR13754134</i>
	<i>S. sedoides</i>	WU 18-38/32; Herbarium	Italien, Trentino-Alto Adige, Brescianer und Gardasee-Voralpen; Hörandl & Hadaček 1992; Hörandl 4591; WU 18- 38/32	<i>SRR13754130</i>
	<i>S. tenella</i>	GJO 0081439; Herbarium	Österreich, Kärnten, Steirisch-Kärntnersiche Alpen; Ocepek 2011; n. a.; GJO 0081439	<i>SRR13754126</i>

Fortsetzung auf nächster Seite

Tab. A 1, Fortsetzung.

Klassifikation (sensu Tkach et al. 2015)	Taxon	Probennummer; Probentyp	Sammelort; Sammler und Jahr; Sammelnr.; Herbarnummer.	SRA accession no.
<i>S. subsectio Arachnoideae</i>	<i>S. tenella</i>	GJO 26592/12; Herbarium	Österreich, Kärnten, Steirisch-Kärntnerische Alpen; Karl 1997; n. a.; GJO 26592/12	<i>SRR13754127</i>
	<i>S. tenella</i>	MA 777464; Herbarium	Slowenien, Julische Alpen; Hörandl, Hadaček & Englisch 1993; Hörandl 5339; MA 777464	<i>SRR13754125</i>
<i>S. subsectio Saxifraga</i>	<i>S. adscendens</i>	SAMN10066150; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901359</i>
	<i>S. canaliculata</i>	SAMN10066165; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901413</i>
	<i>S. cebennensis</i>	SAMN10066169; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901761</i>
	<i>S. conifera</i>	SAMN10066177; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901613</i>
	<i>S. continentalis</i>	SAMN10066179; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901611</i>
	<i>S. corbariensis</i>	SAMN10066175; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901525</i>
	<i>S. exarata</i>	SAMN10066190; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901478</i>
	<i>S. fragilis</i>	SAMN10066199; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901318</i>
	<i>S. globulifera</i>	SAMN10066204; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901350</i>
	<i>S. humilis</i>	SAMN10066212; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901466</i>
	<i>S. latepetiolata</i>	SAMN10066223; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901697</i>
	<i>S. magellanica</i>	SAMN10066230; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901512</i>
	<i>S. moschata</i>	SAMN10066239; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901734</i>
	<i>S. pedemontana</i>	SAMN10066248; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901366</i>
	<i>S. portosanctana</i>	SAMN10066254; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901409</i>
<i>S. pubescens</i>	SAMN10066256; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901600</i>	
<i>S. rosacea</i>	SAMN10066259; NCBI sra	n. a.; n. a.; n. a.; n. a.	<i>SRR7901234</i>	

Tab. A 2: Übersicht über die für die Rekonstruktion der ökologischen Merkmale verwendeten Zeigerwerte nach Landolt et al. (2010).

Taxon	Temperaturzahl (T)	Lichtzahl (L)	Reaktionszahl (R)
<i>S. androsacea</i>	1	4	4
<i>S. aphylla</i>	1	5	5
<i>S. arachnoidea</i>	2,5	3	5
<i>S. berica</i>	4,5	1	5
<i>S. depressa</i>	1	4	2
<i>S. hohenwartii</i>	1,5	3	5
<i>S. moschata</i>	1	5	4
<i>S. muscoides_1</i>	1	5	2
<i>S. muscoides_2</i>	1	5	2
<i>S. paradoxa</i>	3	2	2
<i>S. pedemontana</i>	1,5	5	2
<i>S. petraea</i>	3,5	3	5
<i>S. prenja</i>	1,5	3	5
<i>S. presolanensis</i>	1,5	3	5
<i>S. sedoides</i>	1,5	5	5
<i>S. seguieri</i>	1	5	2
<i>S. styriaca</i>	1,5	4	3
<i>S. tenella</i>	2,5	3	5

Tab. A 3: Übersicht der Sequenzierergebnisse.

Probe	Orientierung	Millionen Reads	Länge [bp]	Nukleotide [Mbp]	GC-Gehalt
<i>S. androsacea</i> 84	forward	4,8	227	1089,6	39%
<i>S. androsacea</i> 84	reverse	4,8	218	1046,4	39%
<i>S. aphylla</i> LZ 163259	forward	2,7	225	607,5	39%
<i>S. aphylla</i> LZ 163259	reverse	2,7	219	591,3	39%
<i>S. aphylla</i> MJG 022187	forward	1,6	234	374,4	40%
<i>S. aphylla</i> MJG 022187	reverse	1,6	215	344,0	40%
<i>S. aphylla</i> WU 10832	forward	2,2	229	503,8	41%
<i>S. aphylla</i> WU 10832	reverse	2,2	215	473,0	41%
<i>S. aphylla</i> WU 18-38/4	forward	3,2	228	729,6	39%
<i>S. aphylla</i> WU 18-38/4	reverse	3,2	219	700,8	39%
<i>S. arachnoidea</i> MJG 022191	forward	2,0	231	462,0	39%
<i>S. arachnoidea</i> MJG 022191	reverse	2,0	218	436,0	39%
<i>S. arachnoidea</i> MJG 022199	forward	2,2	234	514,8	39%
<i>S. arachnoidea</i> MJG 022199	reverse	2,2	217	477,4	39%
<i>S. berica</i> LZ 224384	forward	2,3	231	531,3	39%
<i>S. berica</i> LZ 224384	reverse	2,3	218	501,4	38%
<i>S. berica</i> MJG 022246	forward	2,1	233	489,3	39%
<i>S. berica</i> MJG 022246	reverse	2,1	218	457,8	39%
<i>S. depressa</i> 209	forward	1,8	233	419,4	39%
<i>S. depressa</i> 209	reverse	1,8	217	390,6	38%
<i>S. facchinii</i> MJG 022198	forward	2,2	230	506,0	39%
<i>S. facchinii</i> MJG 022198	reverse	2,2	218	479,6	39%
<i>S. facchinii</i> WU 18-38/8	forward	2,7	228	615,6	40%
<i>S. facchinii</i> WU 18-38/8	reverse	2,7	216	583,2	40%
<i>S. hohenwartii</i> LZ 162908	forward	3,4	228	775,2	39%
<i>S. hohenwartii</i> LZ 162908	reverse	3,4	220	748,0	39%
<i>S. hohenwartii</i> MJG 025627	forward	2,9	232	672,8	39%
<i>S. hohenwartii</i> MJG 025627	reverse	2,9	218	632,2	39%
<i>S. hohenwartii</i> WU 18-38/12	forward	3,0	226	678,0	40%
<i>S. hohenwartii</i> WU 18-38/12	reverse	3,0	215	645,0	40%
<i>S. hohenwartii</i> WU 18-38/13	forward	2,7	224	604,8	40%
<i>S. hohenwartii</i> WU 18-38/13	reverse	2,7	218	588,6	40%
<i>S. hohenwartii</i> WU 18-38/9	forward	3,7	225	832,5	40%
<i>S. hohenwartii</i> WU 18-38/9	reverse	3,7	220	814,0	40%
<i>S. irrigua</i> GJO 0071452	forward	2,0	232	464,0	39%
<i>S. irrigua</i> GJO 0071452	reverse	2,0	214	428,0	39%
<i>S. italica</i> 203	forward	2,7	220	594,0	38%
<i>S. italica</i> 203	reverse	2,7	214	577,8	38%
<i>S. muscoides</i> GJO 0081449	forward	2,6	224	582,4	39%
<i>S. muscoides</i> GJO 0081449	reverse	2,6	218	566,8	39%
<i>S. muscoides</i> WU 0029049	forward	1,7	218	370,6	43%
<i>S. muscoides</i> WU 0029049	reverse	1,7	204	346,8	43%
<i>S. muscoides</i> WU 029048	forward	3,5	228	798,0	40%
<i>S. muscoides</i> WU 029048	reverse	3,5	220	770,0	40%
<i>S. muscoides</i> WU 18-38/16	forward	2,7	224	604,8	41%

Fortsetzung auf nächster Seite

Tab. A 3, Fortsetzung

Probe	Orientierung	Millionen Reads	Länge [bp]	Nukleotide [Mbp]	GC-Gehalt
<i>S. muscoides</i> WU 18-38/16	reverse	2,7	218	588,6	41%
<i>S. paradoxa</i> GJO 25642/11	forward	1,3	221	287,3	41%
<i>S. paradoxa</i> GJO 25642/11	reverse	1,3	213	276,9	41%
<i>S. paradoxa</i> GJO 47231	forward	1,1	227	249,7	42%
<i>S. paradoxa</i> GJO 47231	reverse	1,1	213	234,3	42%
<i>S. paradoxa</i> MJG 022203	forward	1,7	233	396,1	39%
<i>S. paradoxa</i> MJG 022203	reverse	1,7	212	360,4	39%
<i>S. petraea</i> GJO 25642/104	forward	5,4	226	1220,4	40%
<i>S. petraea</i> GJO 25642/104	reverse	5,4	218	1177,2	40%
<i>S. petraea</i> MJG 022190	forward	3,2	234	748,8	39%
<i>S. petraea</i> MJG 022190	reverse	3,2	214	684,8	39%
<i>S. petraea</i> MJG 022250	forward	2,3	228	524,4	41%
<i>S. petraea</i> MJG 022250	reverse	2,3	215	494,5	40%
<i>S. petraea</i> MJG 023532	forward	1,0	228	228,0	39%
<i>S. petraea</i> MJG 023532	reverse	1,0	216	216,0	39%
<i>S. prenja</i> MJG 022200	forward	3,4	231	785,4	39%
<i>S. prenja</i> MJG 022200	reverse	3,4	221	751,4	39%
<i>S. prenja</i> WU 18-38/25	forward	1,9	229	435,1	41%
<i>S. prenja</i> WU 18-38/25	reverse	1,9	219	416,1	41%
<i>S. prenja</i> WU 18-38/26	forward	2,6	231	600,6	39%
<i>S. prenja</i> WU 18-38/26	reverse	2,6	221	574,6	39%
<i>S. presolanensis</i> GJO 25582/8	forward	1,1	218	239,8	58%
<i>S. presolanensis</i> GJO 25582/8	reverse	1,1	205	225,5	58%
<i>S. presolanensis</i> MJG 022197	forward	1,8	230	414,0	39%
<i>S. presolanensis</i> MJG 022197	reverse	1,8	218	392,4	39%
<i>S. presolanensis</i> WU 029320	forward	3,1	226	700,6	42%
<i>S. presolanensis</i> WU 029320	reverse	3,1	201	623,1	41%
<i>S. sedoides</i> GJO 0043514	forward	2,9	226	655,4	40%
<i>S. sedoides</i> GJO 0043514	reverse	2,9	219	635,1	40%
<i>S. sedoides</i> GJO 0088872	forward	1,2	226	271,2	41%
<i>S. sedoides</i> GJO 0088872	reverse	1,2	220	264,0	41%
<i>S. sedoides</i> LZ 046270	forward	3,3	216	712,8	39%
<i>S. sedoides</i> LZ 046270	reverse	3,3	205	676,5	39%
<i>S. sedoides</i> MJG 022196	forward	3,1	232	719,2	39%
<i>S. sedoides</i> MJG 022196	reverse	3,1	219	678,9	39%
<i>S. sedoides</i> MJG 025628	forward	2,5	231	577,5	39%
<i>S. sedoides</i> MJG 025628	reverse	2,5	217	542,5	39%
<i>S. sedoides</i> WU 18-38/32	forward	3,3	228	752,4	40%
<i>S. sedoides</i> WU 18-38/32	reverse	3,3	214	706,2	40%
<i>S. seguieri</i> 27	forward	3,1	209	647,9	40%
<i>S. seguieri</i> 27	reverse	3,1	206	638,6	40%
<i>S. styriaca</i> 205	forward	3,2	233	745,6	39%
<i>S. styriaca</i> 205	reverse	3,2	223	713,6	39%
<i>S. tenella</i> GJO 0081439	forward	2,9	232	672,8	40%
<i>S. tenella</i> GJO 0081439	reverse	2,9	222	643,8	40%

Fortsetzung auf nächster Seite

Tab. A 3, Fortsetzung

Probe	Orientierung	Millionen Reads	Länge [bp]	Nukleotide [Mbp]	GC-Gehalt
<i>S. tenella</i> GJO 26592/12	forward	3,4	221	751,4	39%
<i>S. tenella</i> GJO26592/12	reverse	3,4	215	731,0	39%
<i>S. tenella</i> MA 777464	forward	2,7	210	567,0	40%
<i>S. tenella</i> MA 777464	reverse	2,7	208	561,6	40%
Mittelwert	-	2,6	221,4	575,9	40,06%
Standardabweichung	-	0,9	7,8	196,9	2,83%

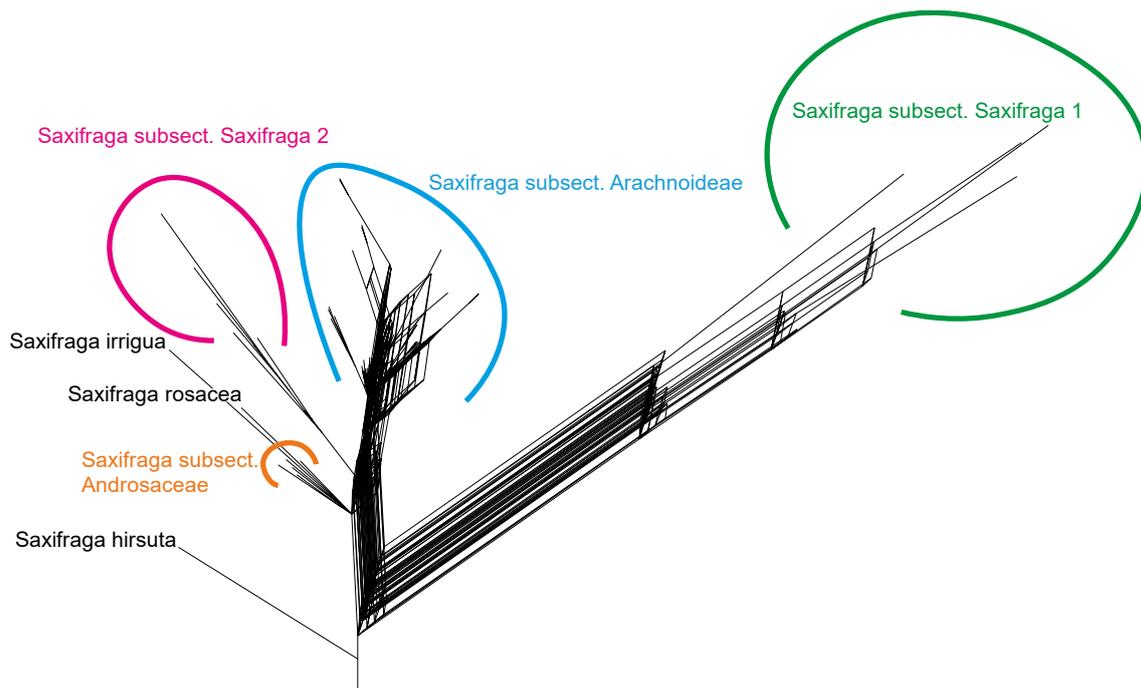


Abb. A 2: Splittree-Netzwerk nach der „Filtered Super Network“-Methode. Zur Verbesserung der Lesbarkeit wurden die Bezeichnungen der Proben entfernt und stattdessen nur größere Kladen farblich markiert und beschriftet. *Saxifraga subsect. Androsaceae*: *S. androsacea*, *S. depressa*, *S. italica*, *S. seguieri*, *S. styriaca*; *Saxifraga subsect. Saxifraga 1*: *S. cebennensis*, *S. corbariensis*, *S. globulifera*, *S. pubescens*; *Saxifraga subsect. Saxifraga 2*: *S. fragilis*, *S. humilis*, *S. latepetiolata*, *S. moschata*, *S. pedemontana*; *Saxifraga subsect. Arachnoideae*: *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. muscoides*, *S. paradoxa*, *S. petraea*, *S. prenja*, *S. presolanensis*, *S. sedoides*, *S. tenella*.

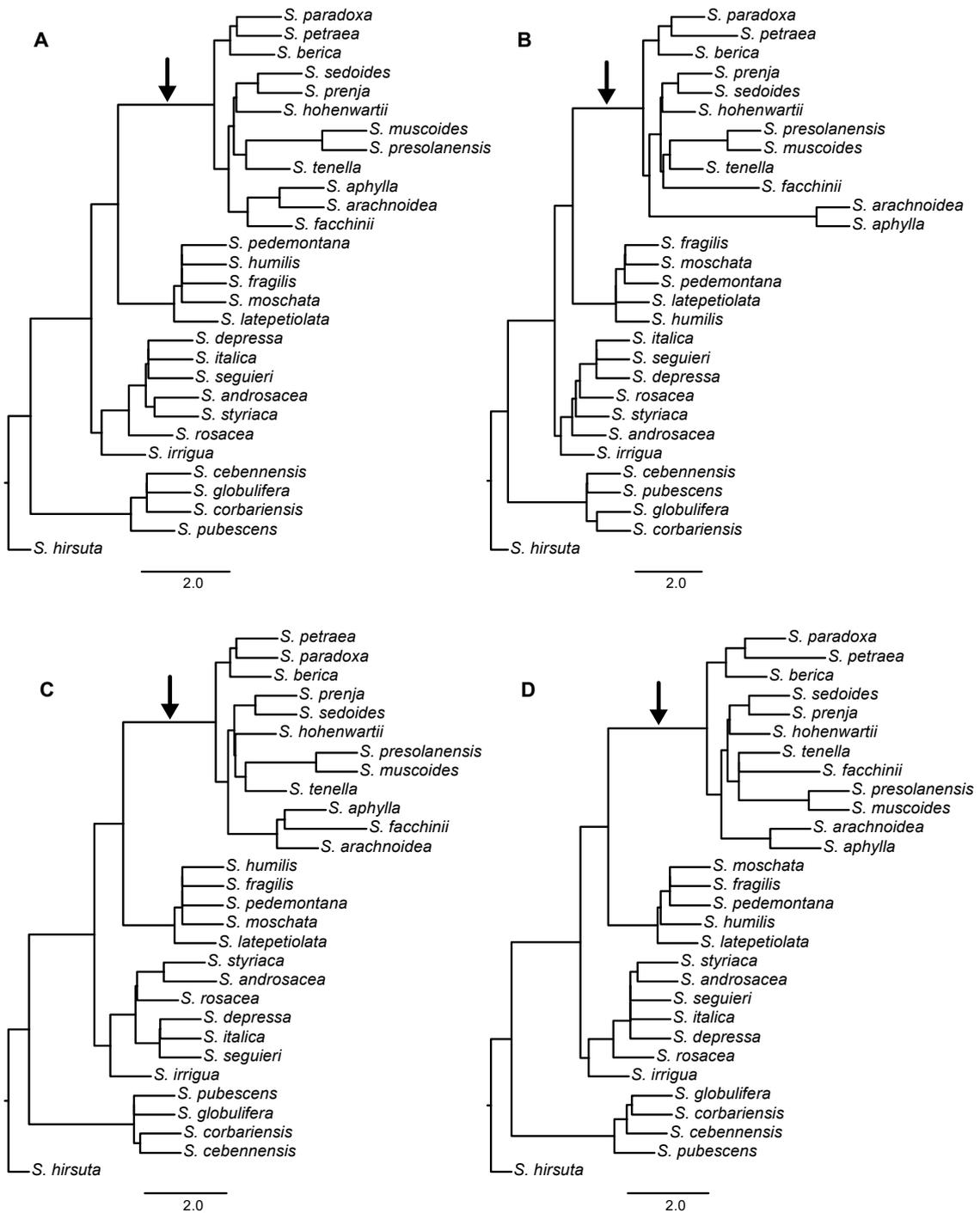


Abb. A 3: Major trees der wahrscheinlichsten PhyloNet-Netzwerke für K=1 bis K=10. (A) K=1; (B) K=2; (C) K=3; (D) K=4; Anhang 3 E–J siehe ff. Die Stammlinie von *S. subsect. Arachnoidea* ist mit schwarzen Pfeilen gekennzeichnet.

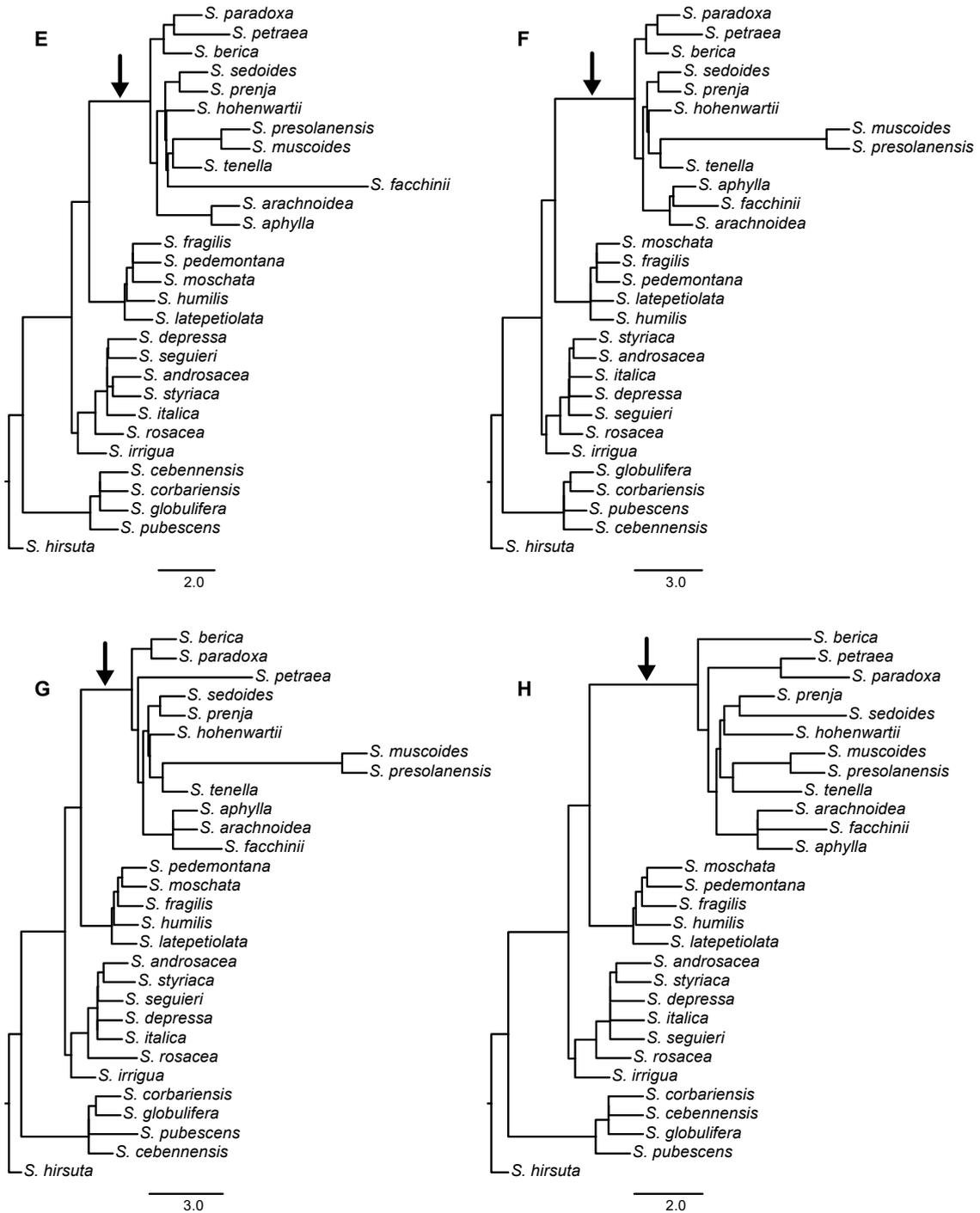


Abb. A 3, Fortsetzung. (E) K=5; (F) K=6; (G) K=7; (H) K=8; Anhang 3 I–J siehe ff. Die Stammlinie von *S. subsect. Arachnoideae* ist mit schwarzen Pfeilen gekennzeichnet.

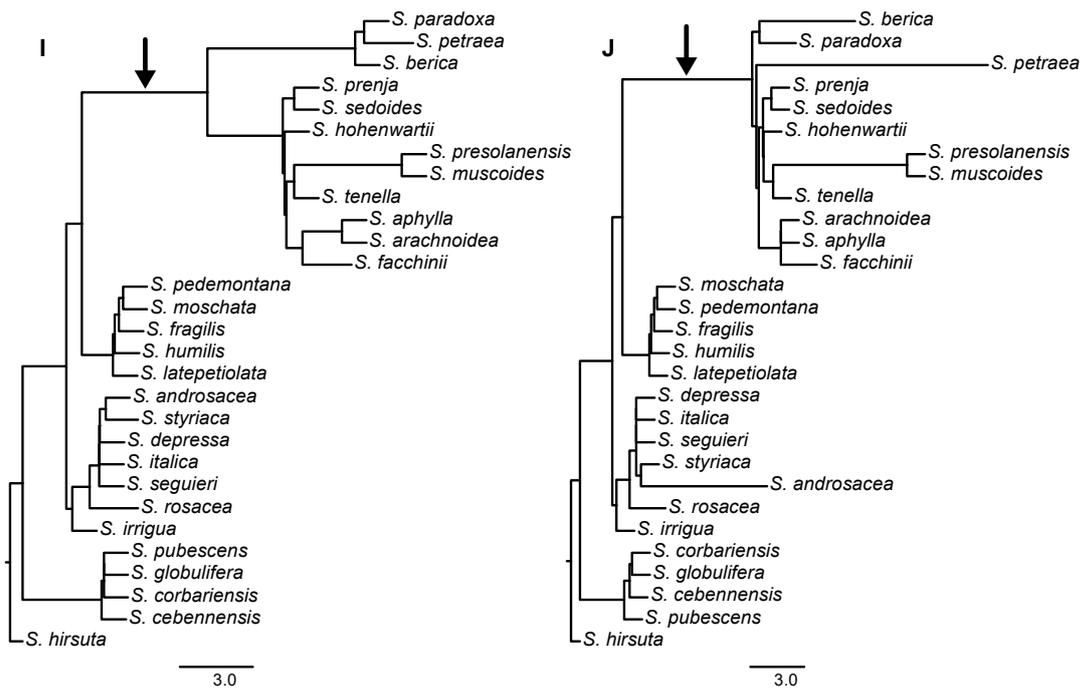


Abb. A 3, Fortsetzung. (I) K=9; (J) K=10. Die Stammlinie von *S. subsect. Arachnoideae* ist mit schwarzen Pfeilen gekennzeichnet.

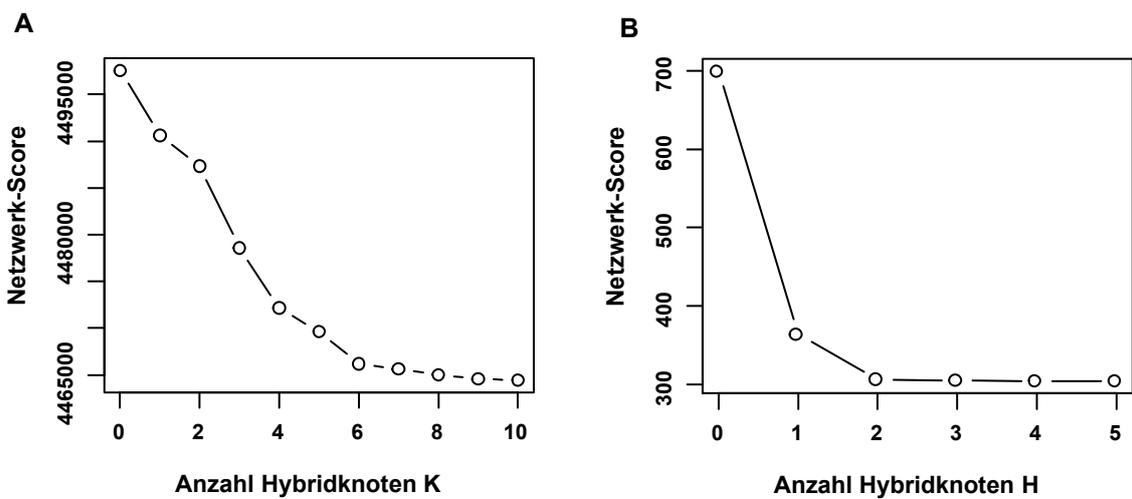


Abb. A 4: Log Likelihood-Profile der phylogenetischen Netzwerk-Berechnungen. (A) Log Likelihood-Profil der PhyloNet-Netzwerke (58 Proben, 405 Loci); (B) Log Likelihood-Profile der Phylonetworks-Netzwerke (42 Proben, 388 Loci).

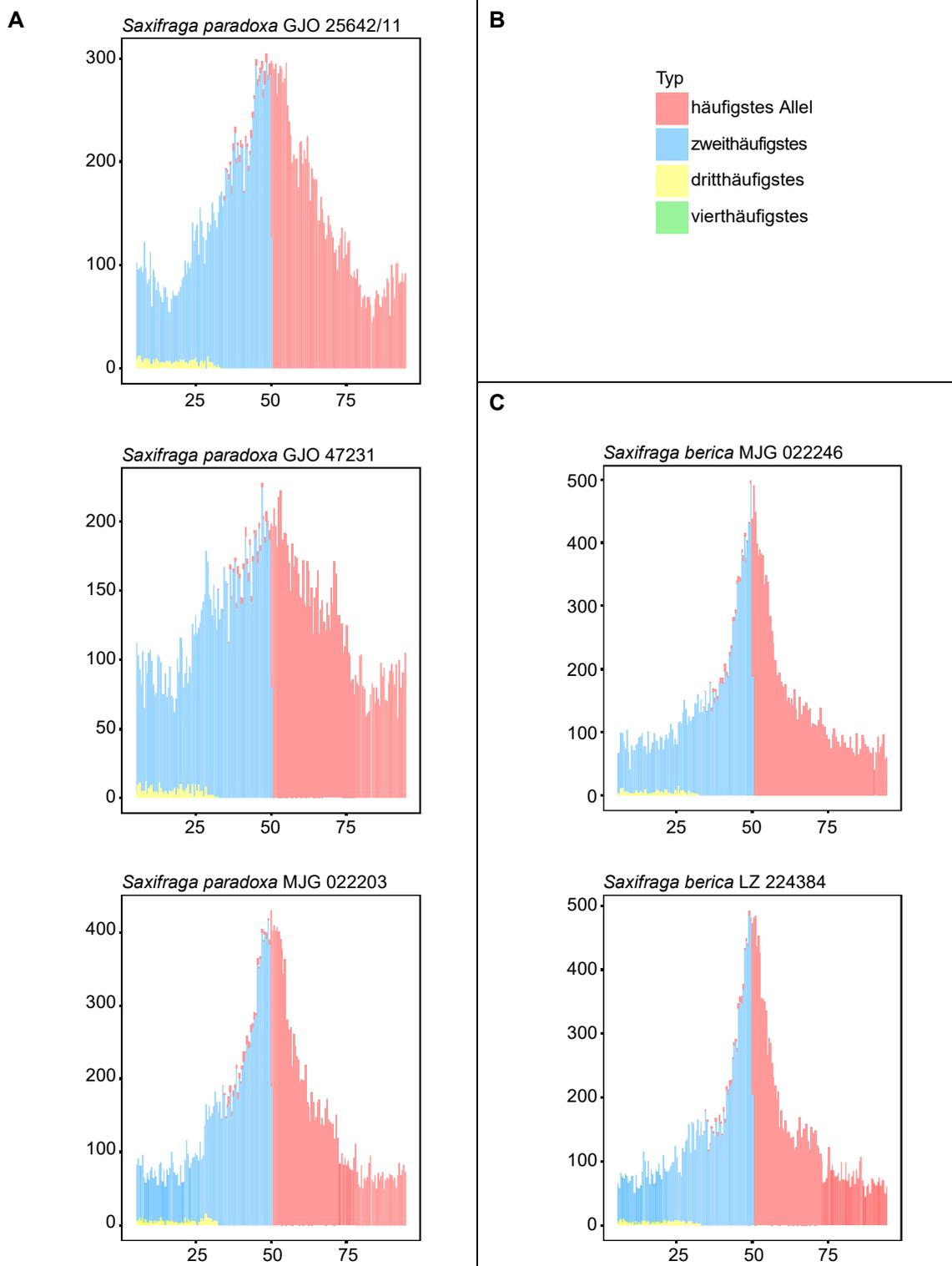
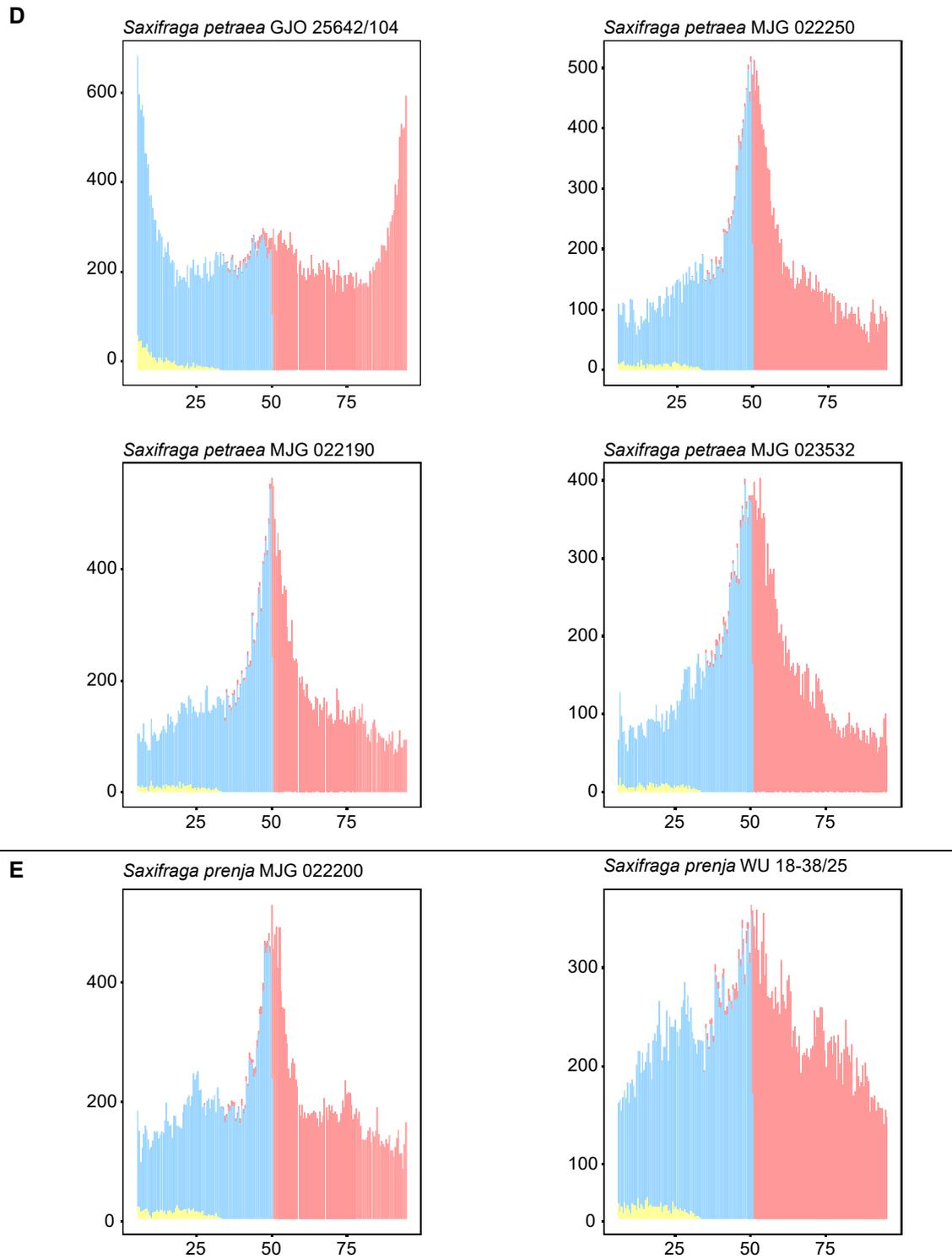
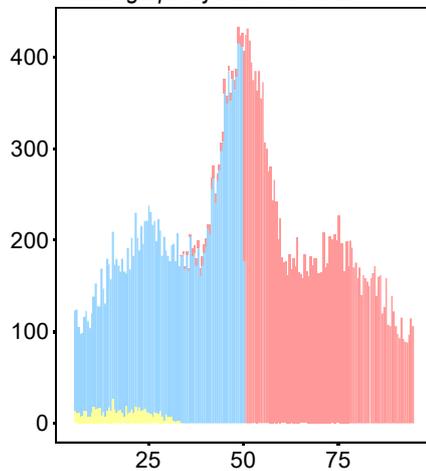
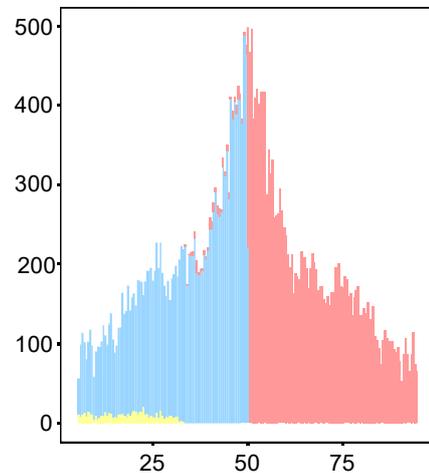
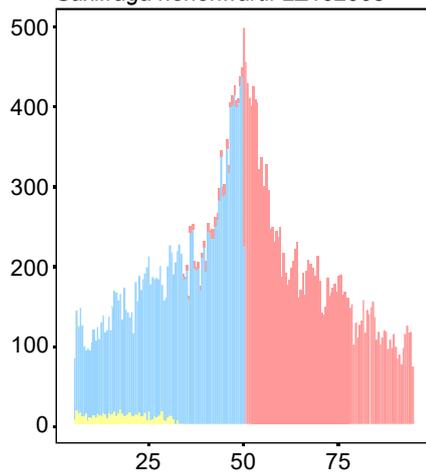
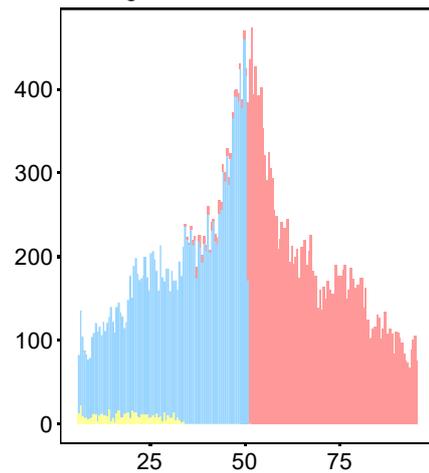
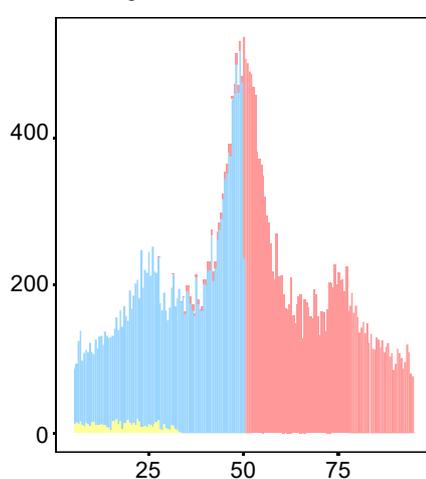
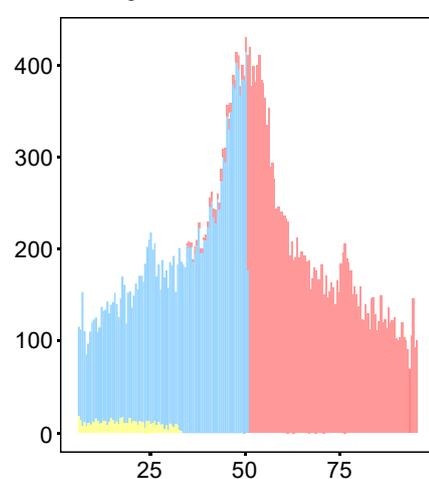
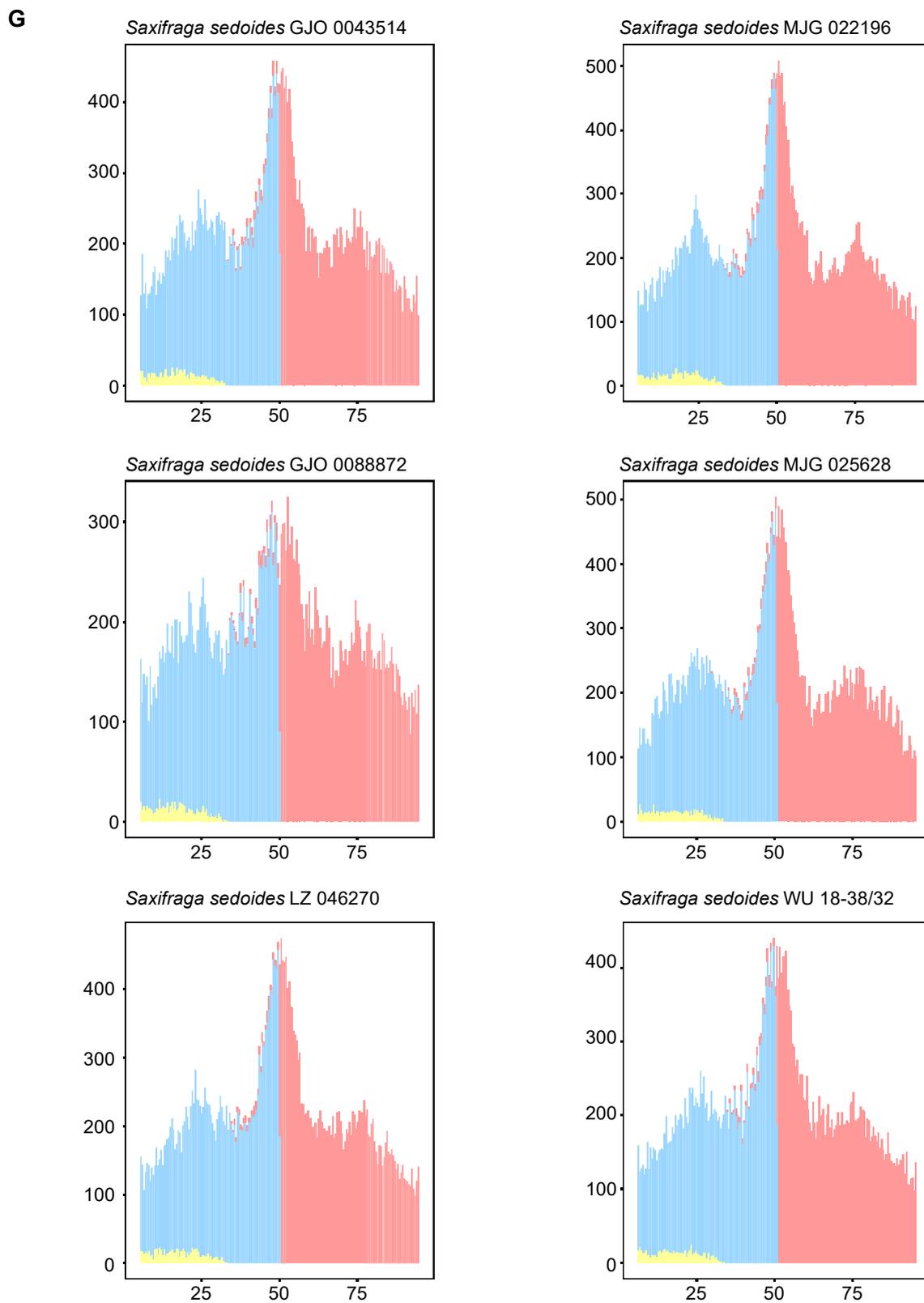


Abb. A 5: Allelfrequenzhistogramme für alle 41 Proben von *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*. Achseneinheiten: x = Allelfrequenz in Prozent; y = kumulative Anzahl der Alignmentpositionen, welche die entsprechende Allelfrequenz aufweisen; (A) *S. paradoxa*; (B) Legende; (C) *S. berica*. Anhang 5 D–M siehe ff.

Abb. A 5, Fortsetzung. (D) *S. petraea*; (E) *S. prenja*. Anhang 5 E Fortsetzung–M siehe ff.

E Forts.*Saxifraga prenja* WU 18-38/26*Saxifraga hohenwartii* WU 18-38/9**F***Saxifraga hohenwartii* LZ162908*Saxifraga hohenwartii* WU 18-38/12*Saxifraga hohenwartii* MJG025627*Saxifraga hohenwartii* WU 18-38/13Abb. A 5, Fortsetzung. (E Fortsetzung) *S. petraea*; (F) *S. hohenwartii*. Anhang 5 G–M siehe ff.

Abb. A 5, Fortsetzung. (G) *S. sedoides*. Anhang 5 G–M siehe ff.

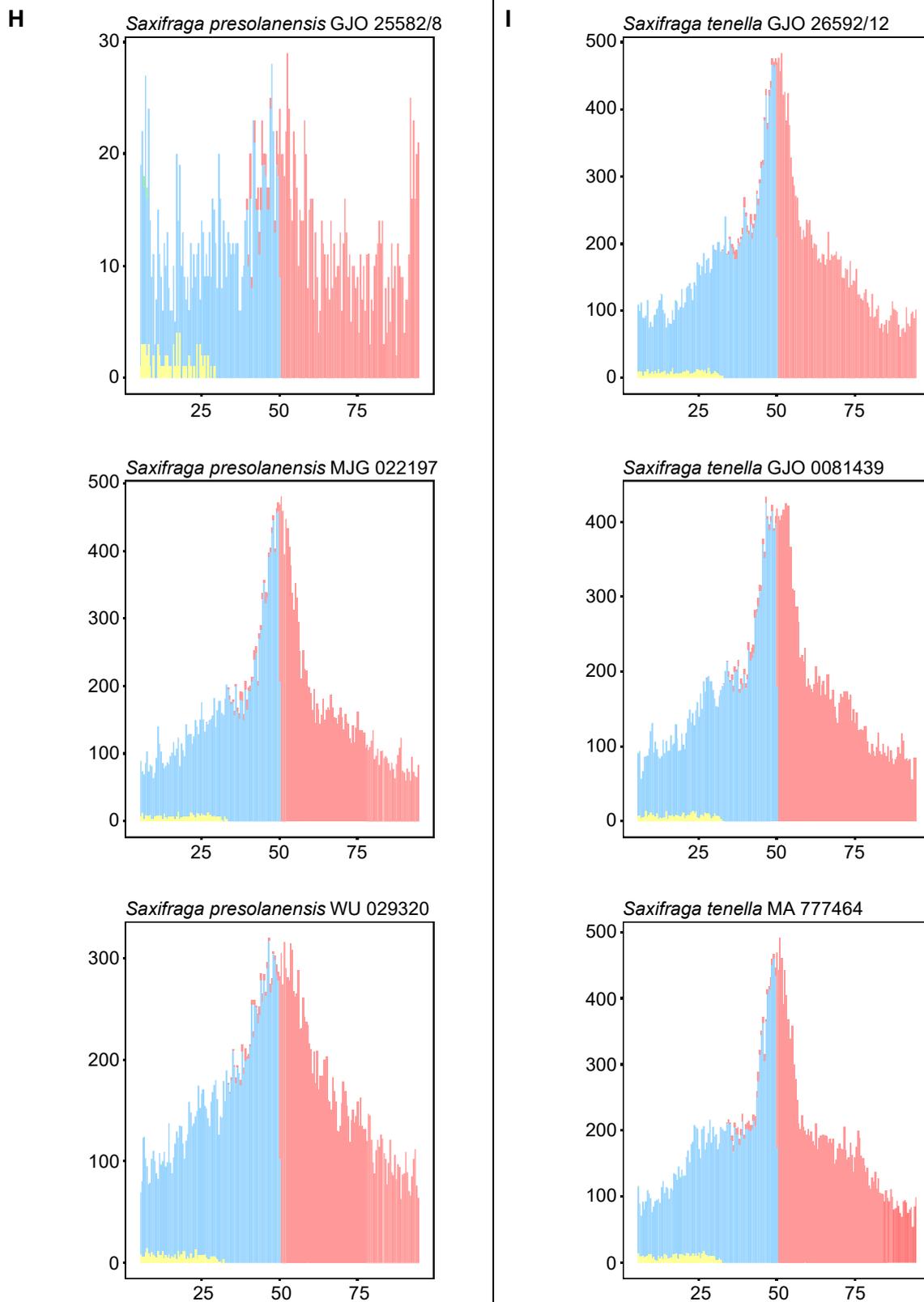
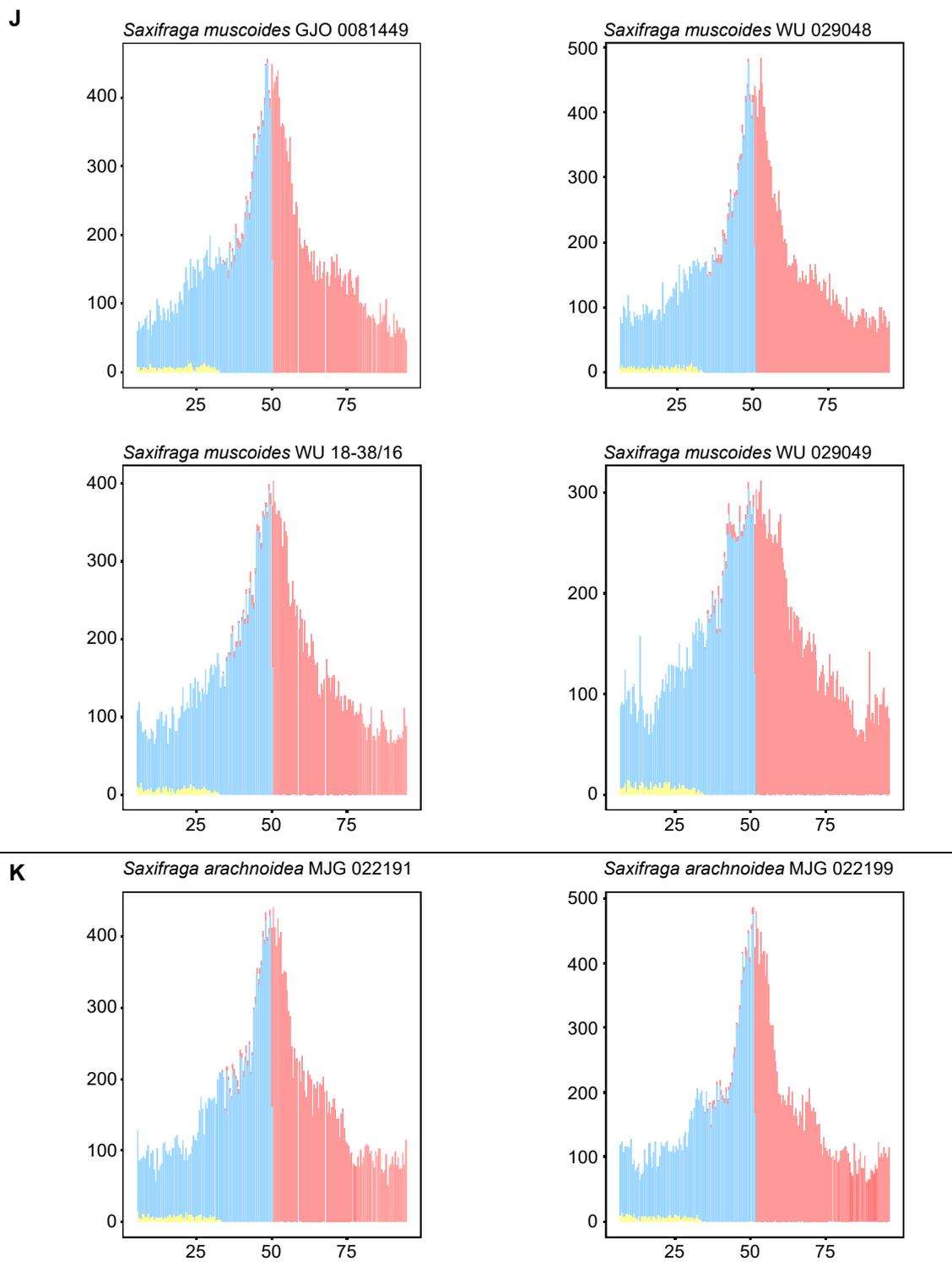
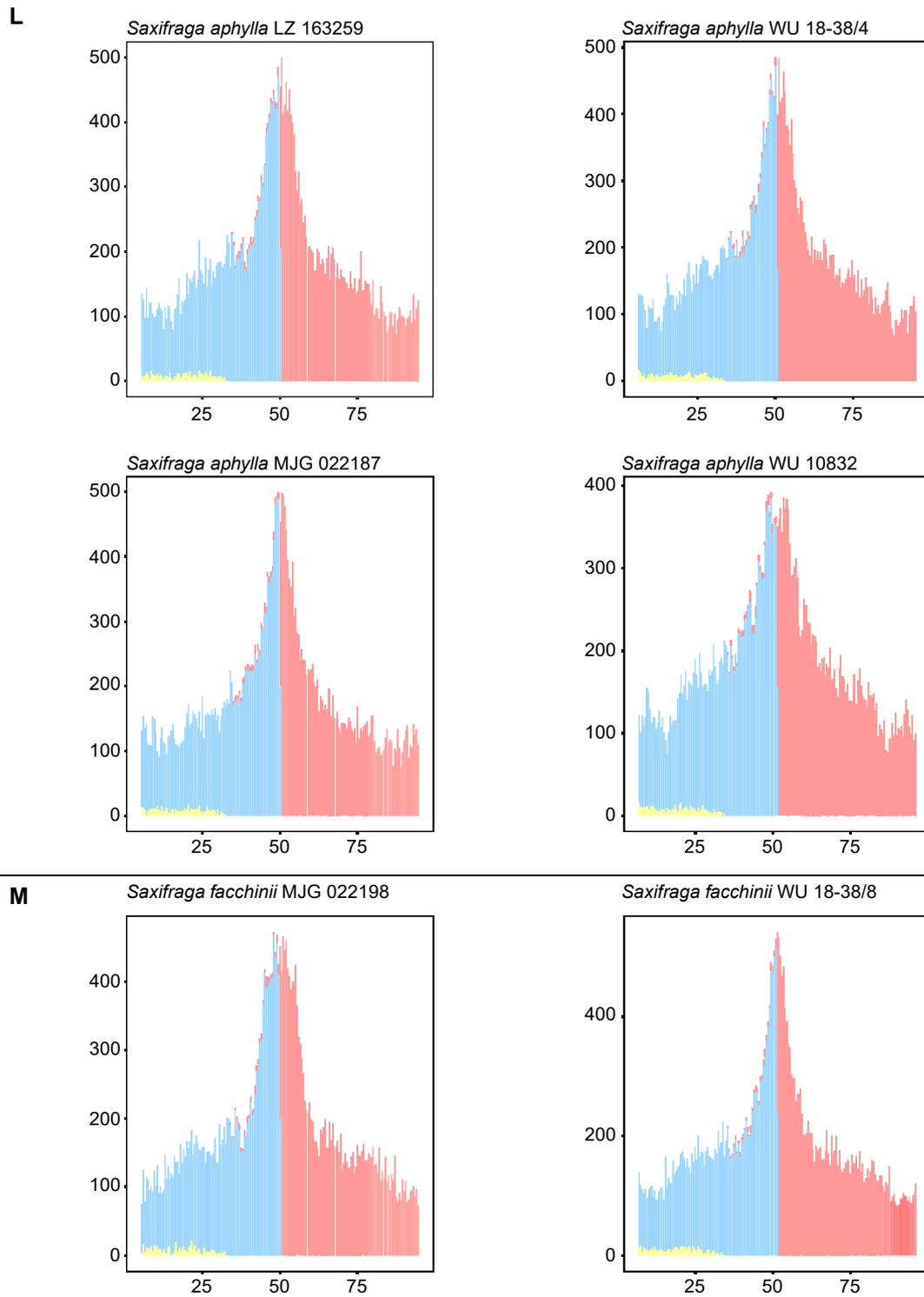


Abb. A 5, Fortsetzung. (H) *S. presolanensis*; (I) *S. tenella*. Anhang 5 J–M siehe ff.

Abb. A 5, Fortsetzung. (J) *S. muscoides*; (K) *S. arachnoidea*. Anhang 5 L–M siehe ff.

Abb. A 5, Fortsetzung. (L) *S. aphylla*; (M) *S. facchinii*.

3.6.3 Anhang 3: Elektronischer Anhang

Elektr. Anhang 1: Referenzsequenzen für das Target Enrichment in *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*. (A) Ursprüngliche Referenzsequenzen für den ersten Assemblierungsdurchgang; (B) Referenzsequenzen für den zweiten Assemblierungsdurchgang; (C) Referenzsequenzen für den dritten Assemblierungsdurchgang. URL: https://irods-web.zdv.uni-mainz.de/irods-rest/rest/fileContents/zdv/project/m2_jgu-hysef/Saxifraga/Arachnoideae/Elekt_r_Anhang_1.tar.gz?ticket=cQi8eUPFJHBb04g

Elektr. Anhang 2: Vollständiger Alignment-Datensatz mit 58 Proben und 405 Loci. URL: https://irods-web.zdv.uni-mainz.de/irods-rest/rest/fileContents/zdv/project/m2_jgu-hysef/Saxifraga/Arachnoideae/Elekt_r_Anhang_2.tar.gz?ticket=CgH5c4NkoVAyYoF

Elektr. Anhang 3: Gekürzter Alignment-Datensatz mit 42 Proben und 388 Loci. URL: https://irods-web.zdv.uni-mainz.de/irods-rest/rest/fileContents/zdv/project/m2_jgu-hysef/Saxifraga/Arachnoideae/Elekt_r_Anhang_3.tar.gz?ticket=GE2lSmSrg3NevqP

Elektr. Anhang 4: Die fünf wahrscheinlichsten Maximum Pseudolikelihood-Netzwerke für $K=0-10$, berechnet in PhyloNet aus dem Alignment-Datensatz mit 58 Proben und 405 Loci. URL: https://irods-web.zdv.uni-mainz.de/irods-rest/rest/fileContents/zdv/project/m2_jgu-hysef/Saxifraga/Arachnoideae/Elekt_r_Anhang_4.tar.gz?ticket=QQL1sY1xdkayCVy

Elektr. Anhang 5: Alignments für die molekulare Datierung des mehrfach gelabelten Artbaums. (A) Zehn Alignments für die Datierung der ersten Topologie im mehrfach gelabelten phylogenetischen Artbaum, mit der Abstammungslinie von *S. facchinii* in Klade 4 (= *S. facchinii* 1) und einer Gesamtlänge von 40.970 bp; (B): Zehn Alignments für die Datierung der zweiten Topologie, mit der Abstammungslinie von *S. facchinii* in Klade 3 (= *S. facchinii* 2) und einer Gesamtlänge von 33.130 bp; (C) Startbaum und BEAUti-XML-Datei für die molekulare Datierung in StarBEAST2. URL: https://irods-web.zdv.uni-mainz.de/irods-rest/rest/fileContents/zdv/project/m2_jgu-hysef/Saxifraga/Arachnoideae/Elekt_r_Anhang_5.tar.gz?ticket=Ca6akIyqdegmq17

4 Zusammenfassung

Saxifraga sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*, ein erst vor wenigen Jahren beschriebenes Taxon, ist hauptsächlich in den europäischen Alpen verbreitet. Sie ist in Bezug auf die ökologische Diversifizierung ungewöhnlich, da sie sowohl Arten großer Höhen aus offenen alpinen Lebensräumen als auch Arten der tieferen Lagen aus schattigen Lebensräumen wie unter überhängenden Felsen und an Höhleneingängen enthält. Ziel dieser Arbeit ist es, die Ursachen für diese bemerkenswerte ökologische Diversifizierung zu erforschen.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde die bisherige Artenzusammensetzung der Untersektion auf Basis morphologischer und molekularer Daten (ITS, *trnL-trnF*, *rpl32-trnL(UAG)*) revidiert. Aus den Ergebnissen dieser Arbeit schließe ich, dass die Untersektion zwölf Arten umfasst, nämlich *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. muscoides*, *S. paradoxa*, *S. petraea*, *S. prenja*, *S. presolanensis*, *S. sedoides* und *S. tenella*. Von diesen Arten wird mit der vorliegenden Arbeit der erste molekulare Beweis für die Zugehörigkeit von *S. muscoides* und *S. prenja* zu *S. subsect. Arachnoideae* erbracht. Weiterhin umfasst der erste Teil der Arbeit eine erweiterte morphologische Charakterisierung der Untersektion und einen Bestimmungsschlüssel für ihre Arten.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde mit einem Target Enrichment-DNA-Sequenzierungsansatz und einer vollständigen Artenstichprobe die Phylogenie der Untersektion *Arachnoideae* rekonstruiert und datiert. Der phylogenetische Baum wurde in Verbindung mit Landolt-Indikatorwerten dazu verwendet, die Evolution der Temperatur-, Licht- und Boden-pH-Präferenz in dieser Linie zu rekonstruieren. Außerdem wurden auf Basis der DNA-Sequenzdaten die Ploidiestufen der subsect. *Arachnoideae* bestimmt. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* ist vermutlich im Ursprung eine hexaploide Linie, die rediploidisiert ist und mit *S. sedoides*, *S. hohenwartii* und *S. prenja* sekundär eine tetraploide Klade hervorgebracht hat. *Saxifraga facchinii* wurde als Hybridart identifiziert. Die Diversifizierung der Untersektion *Arachnoideae* fand im späten Pliozän und im Pleistozän statt. Sowohl die Diversifizierung zwischen als auch innerhalb der Kladen war weitgehend allopatrisch und Arten aus schattigen Lebensräumen mit geringen Lichtansprüchen entstanden in bereits bekannten peripheren Glazialrefugien. Es wird die Hypothese aufgestellt, dass sich die niedrigen

Lichtbedürfnisse entwickelt haben, als Arten in peripheren Kaltzeit-Refugien von konkurrenzfähigerer Warmzeit-Vegetation in marginale Lebensräume verdrängt wurden, was sehr wahrscheinlich zu adaptiver Evolution führte.

5 Summary

Saxifraga sect. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae*, a recently recognized taxon, is distributed mainly in the European Alpen. It is unusual in terms of ecological diversification by containing both high elevation species from exposed alpine habitats and low elevation species from shady habitats such as overhanging rocks and cave entrances. My aim is to explore the drivers of this remarkable ecological diversification. In the first section of this thesis, the previous species composition of the subsection was revised based on morphological and molecular data. From the results of this work, I conclude that the subsection includes twelve species, namely *S. aphylla*, *S. arachnoidea*, *S. berica*, *S. facchinii*, *S. hohenwartii*, *S. muscoides*, *S. paradoxa*, *S. petraea*, *S. prenja*, *S. presolanensis*, *S. sedoides*, and *S. tenella*. Of these, I provide the first molecular evidence for the membership of *S. muscoides* and *S. prenja* in *S.* subsect. *Arachnoideae*. Furthermore, this thesis includes an extended morphological characterization of the subsection and an identification key to its species.

In the second section of this thesis, using a target enrichment DNA-sequencing approach and a complete species sample, I reconstructed and dated the phylogeny of subsection *Arachnoideae*. Using Landolt indicator values, this phylogenetic tree was used for the reconstruction of the evolution of temperature, light and soil pH requirements in this lineage. The DNA sequence data was further used to infer the ploidy levels of subsect. *Arachnoideae*. *Saxifraga* subsect. *Arachnoideae* is likely of hexaploid origin, but became diploid again and secondary gave rise to a tetraploid clade with *S. sedoides*, *S. hohenwartii* and *S. prenja*. *Saxifraga facchinii* was identified as a hybrid species. Diversification of subsect. *Arachnoideae* took place in the late Pliocene and the Pleistocene. Both diversification among and within clades was largely allopatric, and species from shady habitats with low light requirements originated in well-known peripheral glacial refugia. I hypothesize that low light requirements evolved when species in cold-stage peripheral refugia were forced into marginal habitats by more competitive warm-stage vegetation, thus very likely resulting in adaptive evolution.

6 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Höhenverbreitung und Habitate von <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i> (sensu Ebersbach, Müllner-Riehl et al. 2017), <i>S. prenja</i> und <i>S. muscoides</i> nach Hörandl (1993), Kaplan (1995) und Webb & Gornall (1989).....	6
Tab. 2: Bisher veröffentlichte Chromosomenzahlen in <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	42
Tab. 3: Beispiele für die theoretische Verteilung der Allelfrequenzen in Short Read-Datensätzen an biallelischen Basenpositionen in Organismen verschiedener Ploidiestufen.	55
Tab. 4: Zusammenfassung der Allelfrequenz-Histogramme.	63
Tab. 5: Teststatistiken der Bestimmung des phylogenetischen Signals mit Blombergs K und Pagels λ für drei ökologische Zeigerwerte in <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	66
Tab. 6: Teststatistiken des Model Fits von vier Modellen für die Evolution von drei ökologischen Zeigerwerten in <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	67

7 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Einige Steinbreche der Untersektion <i>Arachnoideae</i> in ihrem natürlichen Habitat.	4
Abb. 2: Verbreitung der Arten von <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i> nach Kaplan (1995).	40
Abb. 3: Beispiele für die Identifizierung von Paralogen nach der Methode von Johnson et al. (2016).	47
Abb. 4: Summary coalescent-Artbaum von <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	59
Abb. 5: Summary Coalescent-Artnetze von <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	60
Abb. 6: Chronogramm von <i>Saxifraga</i> subsection <i>Arachnoideae</i>	62
Abb. 7: Allelfrequenzhistogramme für sechs Proben von <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i>	65
Abb. 8: Rekonstruktionen ancestraler Merkmale in <i>Saxifraga</i> subsect. <i>Arachnoideae</i> .	68

8 Danksagung

9 Lebenslauf