

Identität, Verbreitung und mögliche Verwandtschaft von *Elymus arenosus*

PHILLIP D. H. BERNHARDT, MARKUS S. DILLENBERGER & JOACHIM W. KADEREIT

Zusammenfassung: Die Sand-Quecke, *Elymus arenosus*, ist eine in ihrer Umgrenzung, taxonomischen Bewertung und geographischen Verbreitung umstrittene Art. Während einige Autoren sie als Endemiten des Mainzer Sandes betrachten, wird sie von anderen Autoren, häufig als Unterart, als auch an den Küsten Nordwesteuropas weitverbreitet aufgefasst. Unter Verwendung von plastidären trnL-trnF und nukleär-ribosomalen ITS-Sequenzen wird hier versucht, die Identität, Verbreitung und mögliche Verwandtschaft von *E. arenosus* zu klären. Individuen vom Mainzer Sand haben einen nur ihnen eigenen trnL-trnF-Haplotypen, der auch in als *E. arenosus* identifiziertem Material aus den Niederlanden (Millingerwaard) gefunden wurde, sowie einige nur ihnen eigene ITS-Ribotypen. In Verbindung mit der ihr eigenen Morphologie und älteren Berichten der Art vom Oberrhein führt uns das zu dem Schluss, dass *E. arenosus* als Art bewertet werden sollte und ehemals entlang des Rheins weiter verbreitet war. *E. arenosus* hat eine Chromosomenzahl von $2n = 28$. Molekulare und morphologische Ähnlichkeiten lassen es möglich erscheinen, dass *E. campestris* der engste Verwandte von *E. arenosus* ist.

Abstract: Identity, distribution and possible relationship of *Elymus arenosus*. *Elymus arenosus* is controversial in terms of its delimitation, taxonomic assessment and geographical distribution. Whereas some authors consider it an endemic of the Mainzer Sand region in Germany, others regard it as a taxon, often at subspecific rank, more widely distributed along the coasts of northwest Europe. Using plastid trnL-trnF and nuclear ribosomal ITS sequences we aimed at clarifying the identity, geographical distribution and possible relationships of the species. We found that Mainzer Sand material of *E. arenosus* contains an unique trnL-trnF haplotype, also found in Dutch material (Millingerwaard) identified as *E. arenosus*, as well as some unique ITS-ribotypes. In combination with its unique morphology and older records

of the species from the upper Rhine valley we conclude that *E. arenosus* should be treated as a species which was more widely distributed along the Rhine in the past. The species has $2n = 28$ chromosomes. Molecular and morphological similarities may imply that *E. campestris* is the closest relative of *E. arenosus*.

Phillip D. H. Bernhardt
Institut für Organismische und Molekulare
Evolutionssystematik,
Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
55099 Mainz;
pbernh@students.uni-mainz.de

Markus S. Dillenberger
Institut für Biologie, Arbeitsgruppe
Systematische Botanik und
Pflanzengeographie,
Freie Universität Berlin,
Königin-Luise-Straße 1–3, 14195 Berlin;
m.dillenberger@fu-berlin.de

Joachim W. Kadereit
Institut für Organismische und Molekulare
Evolutionssystematik,
Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
55099 Mainz;
kadereit@uni-mainz.de

1. Einleitung

Elymus arenosus, die Sand-Quecke, ist eine in ihrer Umgrenzung, taxonomischen Bewertung und geographischen Verbreitung umstrittene Art. Während SCHOLZ (1993, als *Elytrigia arenosa*), CONERT (1997, 2000) und KRISCH (2021) sie als endemische Art des Mainzer Sandes betrachten, wird sie von MELDERIS (1980), MELDERIS & McCLINTOCK (1983, beide als *Elymus repens* subsp. *arenosus*), TRIST

(1995), SELL & MURRELL (1996, beide als *Elytrigia repens* subsp. *arenosa* (SPENN.) Á. LÖVE) und KOLTZENBURG (2019) als hauptsächlich an den Küsten Nordwesteuropas weitverbreitete und auf dem Mainzer Sand vorkommende Unterart oder Art aufgefasst. COPE & GRAY (2009) führen *E. repens* subsp. *arenosus* für die Britischen Inseln auf. Die taxonomische Geschichte dieses Taxons wurde ausführlich von SCHOLZ (1993) dargestellt, der auch die aus seiner Sicht für das Taxon typischen Merkmale zusammenfasste.

Vor diesem Hintergrund wird hier versucht, mit DNA-Sequenzmerkmalen zur Diskussion über die Eigenständigkeit und Verbreitung der Art beizutragen. Dafür wurden zusätzlich zu *E. arenosus* vom Mainzer Sand für alle in Deutschland heimischen (KRISCH 2021) *Elymus*-Taxa außer *E. repens* subsp. *littoreus* sowie für niederländische Herkünfte, die von DUISTERMAAT (2020) als *E. arenosus* („Mainzerkweek“) bezeichnet werden, plastidäre (trnL-trnF) und nukleär-ribosomale Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA-Sequenzen generiert. Diese beiden DNA-Marker wurden deswegen gewählt, weil bei GenBank zahlreiche Vergleichssequenzen von nicht in Deutschland vorkommenden Arten zur Verfügung stehen. Außerdem wurde für *E. arenosus* vom Mainzer Sand erstmalig die Chromosomenzahl bestimmt.

2. Material und Methoden

Insgesamt wurden 34 verschiedene Individuen der Gattung *Elymus* von neun verschiedenen Arten ausgewählt, die alle einheimischen *Elymus*-Arten abdecken. Für die DNA-Extraktion wurde Herbarmaterial aus den Herbarien FR, M, MJG, NMNL und STU verwendet (Abkürzungen nach THIERS 2021; Tab. 1). Für die Chromosomenzählung wurden im Botanischen Garten der Johannes Gutenberg-Universität Mainz in Töpfen kultivierte Pflanzen verwendet. Wenn nicht anders angegeben, folgt die Taxonomie KRISCH (2021).

Die DNA wurde wie in DILLENBERGER & KADEREIT (2017) beschrieben mit dem DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) extrahiert. Die Proben Ely9–17 wurden von Heike Kappes im Grunelius-Möllgaard-Labor am Forschungsinstitut Senckenberg/Frankfurt am Main

extrahiert. Es wurden zwei genetische Marker verwendet, die plastidäre intergenische Region (spacer) trnL-trnF und der nukleär-ribosomale ITS (internal transcribed spacer). Der Marker trnL-trnF wurde mit den Primern TabC und TabF in einem Stück oder mit TabC und TabD sowie TabE und TabF in zwei Stücken amplifiziert (alle Primer nach TABERLET & al.1991). Die PCR erfolgte in 25- μ L-Reaktionen bestehend aus 1 \times Reaktions-Puffer, 1,2 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 80 μ g/ μ L bovines Serumalbumin, je 0,8 μ M Primer, 0,04 U/ μ L NEB-Taq-Polymerase (New England Biolabs GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) und 1 μ L DNA-Extrakt. Die PCR wurde unter folgenden Bedingungen durchgeführt: 94 °C für 60 s, gefolgt von 35 Zyklen aus 94 °C für 20 s, 52 °C für 30 s und 68 °C für 60 s; anschließend folgte einmalig 94 °C für 20 s, 52 °C für 80 s und 68 °C für 8 min, bevor die Proben auf 10 °C gekühlt wurden. Die Aufreinigung der PCR-Produkte erfolgte mit ExoSAP-IT (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) entsprechend den Herstellerangaben.

Zur Sequenzierung von ITS wurde eine Klonierung des Abschnitts für eine reduzierte Probenzahl durchgeführt (siehe Tab. 1), um eventuell vorhandene unterschiedliche Kopien von ITS im Genom zu finden. Dazu wurde zunächst ITS in einer PCR mit den Primern ITS5 und ITS4 (WHITE & al. 1990) und dem gleichen PCR-Reaktionsansatz wie für trnL-trnF beschrieben amplifiziert. Anschließend wurden die PCR-Produkte mit dem Macherey Nagel PCR Clean-Up Kit (Macherey Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) entsprechend den Herstellerangaben mit kleinen Änderungen aufgereinigt. Um die richtige DNA-Menge für die Klonierung einzusetzen, wurde die in den PCRs erhaltene DNA-Menge in Agarose-Gelen abgeschätzt. Die Klonierung erfolgte mit dem pGEM®-T Vector System II von Promega (Fitchburg, Wisconsin, USA) entsprechend den Herstellerangaben. In der zweiten PCR der Klonierung wurde dann das klonierte ITS mit den Primern M13 von Promega entsprechend den Herstellerangaben für je 10 Klone/Individuum amplifiziert und anschließend mit ExoSAP-IT aufgereinigt.

Alle PCR-Produkte wurden von StarSeq (Mainz, Deutschland) sequenziert. Die Sequenzen wurden anschließend manuell überprüft, editiert und aliniert. Zur Reduktion des ITS-Datensatzes wurden jeweils alle klonierten Sequenzen eines Individuums in ein eigenes

Alignment überführt, um in TCS v.1.21 (CLEMENT & al. 2000) ein Ribotypen-Netzwerk zu erstellen, wobei alle Lücken (gaps) im Alignment als fehlende Daten (missing data) behandelt wurden. Hierdurch war es möglich, identische Sequenzen einfach zu identifizieren und zu entfernen. Außerdem wurden die 10 Klone auf 2–3 Sequenzen reduziert, die die Hauptgruppen des jeweiligen Ribotypen-netzwerks repräsentierten. Dazu wurden alle Ribotypen entfernt, die sich durch maximal zwei Punktmutationen vom ausgewählten Ribotyp unterschieden. Dadurch wurden sehr ähnliche Sequenzen entfernt, deren geringe Abweichungen voneinander auch durch Sequenzierfehler erklärbar wären.

Die resultierenden Sequenzen wurden zu einem Gesamt-Alignment zusammengefügt und durch weitere Sequenzen aus GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) ergänzt (siehe Elektronischer Anhang). Zunächst wurden alle verfügbaren Taxa der *Triticeae* hinzugefügt und paarweise Distanzen mit SequenceMatrix v.1.7.8 (VAIDYA & al. 2011) berechnet. Basierend auf diesen Distanzen wurden für ITS solche Sequenzen aus dem Alignment entfernt, die eine genetische Distanz von über 0,5% zu *E. arenosus* aufwiesen. Für trnL-trnF wurden alle Sequenzen mit einer genetischen Distanz von über 0,25% zu *E. arenosus* entfernt, da dieser Marker eine deutlich geringere Variabilität als ITS aufwies. In beiden Alignments wurden alle eigenen Proben aus Deutschland beibehalten. Diese reduzierten Datensätze wurden verwendet, um NeighborNet-Analysen mit Ordinary-Least-Squares-Distanzen (Methode der kleinsten Quadrate) in Splitstree v.4.16.2 (HUSON & BRYANT 2006) durchzuführen.

Zur Herstellung von Chromosomenpräparaten wurden junge Wurzelspitzen verwendet. Die Fixierung und Färbung der Präparate erfolgte mit 0,002 M 8-Hydroxychinolin und fuchsin-schwefeliger Säure nach KADEREIT (1984). Die Hydrolyse wurde auf 7–10 min verlängert und auf die zusätzliche Färbung mit Orcein wurde verzichtet.

3. Ergebnisse

Die Beibehaltung nur solcher trnL-trnF-Sequenzen, die maximal 0,25% Unterschied zu *E. arenosus* aufwiesen, resultierte in einem

Datensatz mit über 50 Taxa (siehe Elektronischer Anhang). Die NeighborNet-Analyse zeigte eine Einteilung in fünf Gruppen von Haplotypen (Abb. 1). Alle Proben mit zwei Ausnahmen von *E. arenosus* vom Mainzer Sand und aus den Niederlanden gruppierten zusammen, wobei die einzige andere Art in dieser Gruppe die nordamerikanische (östlich der Rocky Mountains) *E. virginicus* ist. Die Mainzer-Sand-Proben und die Proben aus den Niederlanden hatten identische Sequenzen. Nur Ely34 wies einen Längenpolymorphismus an einer poly-C-Stelle im Alignment auf. Ebenso unterschied sich *E. virginicus* nur in einem zusätzlichen Längenpolymorphismus an einer poly-T-Stelle von Ely34. Die *E. arenosus* ähnlichsten Haplotypen waren bei verschiedenen *Elymus*-Arten und Vertretern der Gattungen *Pseudoroegneria* und *Thinopyrum* zu finden und unterschieden sich durch eine Punktmutation. *E. arenosus* von der Autobahnraststätte Heidenfahrt an der A60 bei Mainz (Ely2) gruppierte mit Individuen von *E. athericus*, *E. campestris*, *E. junceiformis* und *E. repens* (Abb. 1) und hatte eine mit diesen Arten identische Sequenz.

Der ITS-Datensatz hatte eine höhere Variabilität als der trnL-trnF-Datensatz, sodass dieser trotz der erlaubten doppelten Distanz (0,5%) von *E. arenosus* vom Mainzer Sand nur 17 Taxa enthielt (siehe Elektronischer Anhang). Das Netzwerk zeigt eine Zweiteilung. Während *E. caninus*, *E. farctus*, *E. junceiformis* und *E. obtusiflorus* auf einer Seite gruppierten, waren alle anderen Taxa auf der anderen Seite des Netzwerks zu finden (Abb. 2). Die meisten Ribotypen von *E. arenosus* aus Deutschland gruppierten in der Nähe von *E. athericus*, *E. campestris*, *E. varnensis* (nach MELDERIS 1980 im östlichen Balkan heimisch und von ihm als *E. hispidus* subsp. *varnensis* (VELEN.) MELDERIS klassifiziert), niederländischem *E. arenosus* und einigen *Agropyron*-Arten. Nur ein Ribotyp von deutschem *E. arenosus* (ein Klon von Ely2) zeigte eine höhere Ähnlichkeit mit *E. athericus*, *E. campestris*, *E. hispidus* und *E. repens* sowie einigen *Pseudoroegneria*-Arten (Abb. 2). Die Ribotypen von niederländischem *E. arenosus* zeigten eine deutlich größere Variabilität als die deutschen und waren gleichmäßig verteilt in der zweiten Gruppe zu finden.

An einem Individuum von *E. arenosus* vom Mainzer Sand konnte die Chromosomenzahl von $2n = 28$ gezählt werden (Abb. 3).

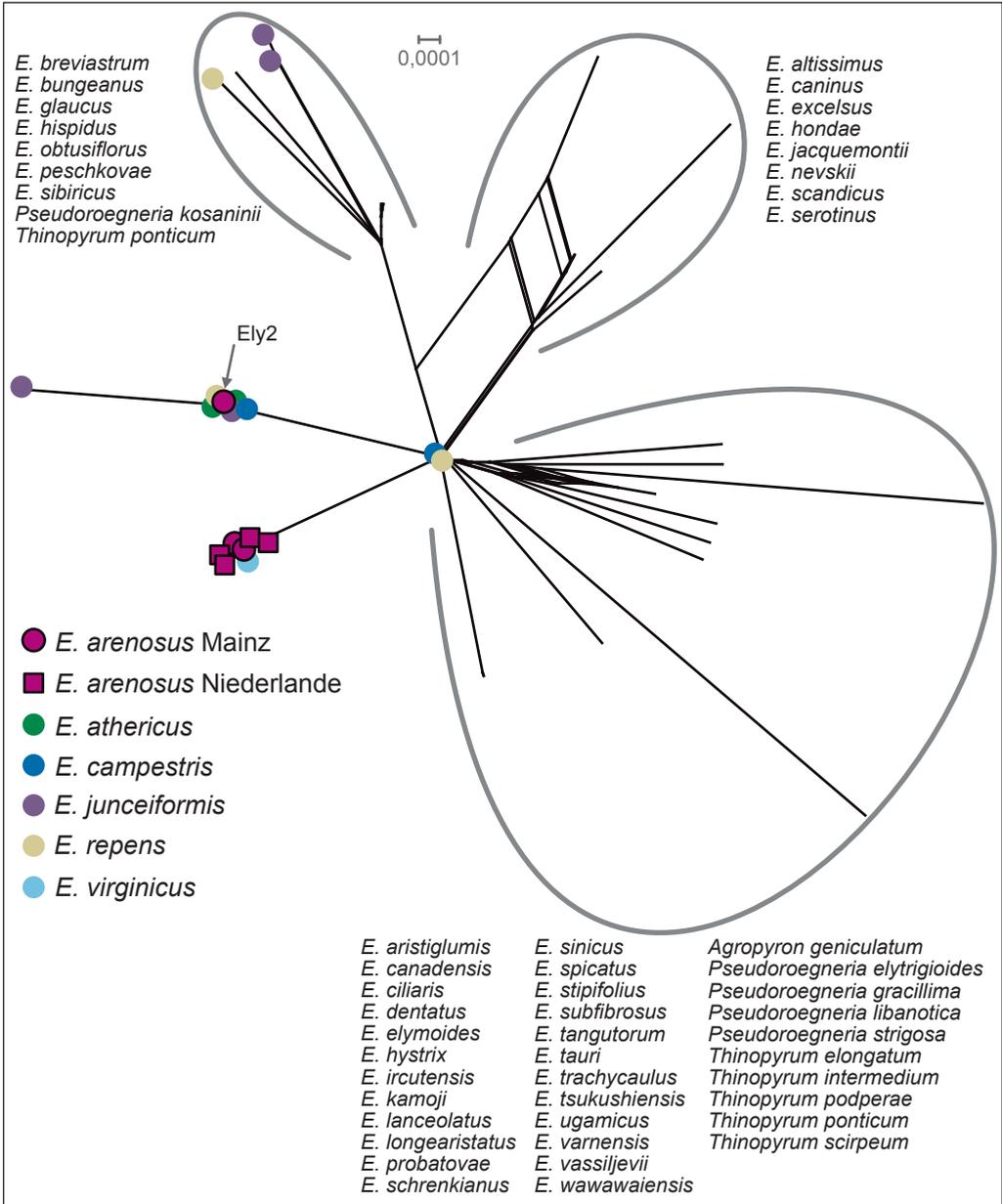


Abb. 1: Netzwerk der NeighborNet-Analyse von trnL-trnF. Ausgewählte Proben sind farblich entsprechend der Legende hervorgehoben. – Network from the NeighborNet-Analysis of trnL-trnF. Selected samples are indicated by colour (see colour code).

4. Diskussion

4.1 Die Identität von *Elymus arenosus*

Elymus arenosus vom Mainzer Sand und aus dem Millingerwaard enthielten einen trnL-trnF-

Haplotypen, der nur in diesem Material und in *E. virginicus* vorkommt (Abb. 1). Was ITS betrifft, enthält *E. arenosus* vom Mainzer Sand drei Ribotypen, die nur in diesem Material gefunden wurden. Drei der zahlreichen Ribotypen des Materials aus dem Millingerwaard sind durch einen

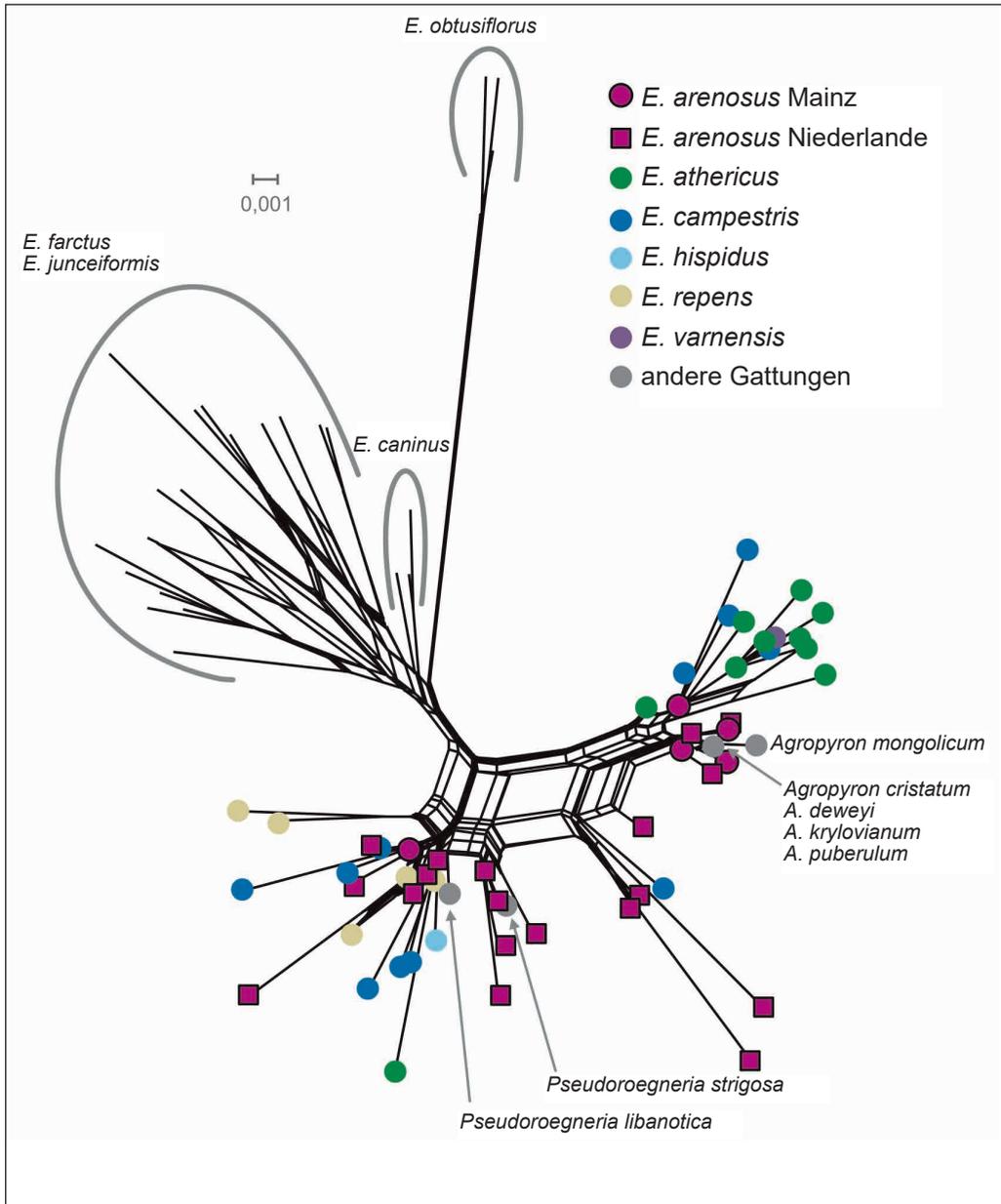


Abb. 2: Netzwerk der NeighborNet-Analyse von ITS. Ausgewählte Proben sind farblich entsprechend der Legende hervorgehoben. – Network from the NeighborNet-Analysis of ITS. Selected samples are indicated by colour (see colour code).

oder zwei Mutationsschritte von den Ribotypen des Mainzer Materials getrennt.

Diese Befunde erlauben unseres Erachtens den Schluss, dass *E. arenosus* vom Mainzer Sand molekular von allen in Deutschland vorkommenden *Elymus*-Arten unterschieden

werden kann und dass das Material aus dem Millingerwaard auch als *E. arenosus* angesprochen werden kann. Ungeachtet des Auftretens des für *E. arenosus* vom Mainzer Sand spezifischen trnL-trnF-Haplotyps auch in der nordamerikanischen *E. virginicus* erscheint eine enge

Verwandtschaft dieser beiden Arten äußerst unwahrscheinlich. Für das Vorkommen eines *E.-repens*-Haplotyps in *E.-arenosus*-Material aus Heidenfahrt (siehe 3. Ergebnisse) ist Hybridisierung die wahrscheinlichste Erklärung, da *E. repens* in Deutschland weitverbreitet ist (KRISCH 2021).

Angesichts der typischen Morphologie von *E. arenosus* (Pflanze mit langen unterirdischen Ausläufern, blaugrün, Blätter steif, wenigstens an der Spitze eingerollt, gehört, freie Ränder der Blattscheiden unbehaart, Blattspreitenoberseite deutlich gerippt, Rippen im Querschnitt abgerundet, dicht mit kurzen Haaren und mehr oder weniger vielen zusätzlichen langen Haaren, Ähren meist < 8 cm, aufeinanderfolgende Ährchen wenig überlappend, Hüllspelzen bei der Frucht reife stehenbleibend), einer Chromosomenzahl von $2n = 28$ und der beschriebenen molekularen Eigenständigkeit erscheint es uns gerechtfertigt, dieses Taxon als Art zu betrachten.

Von anderen Autoren als *E. arenosus* (oder *E. repens* subsp. *arenosus* bzw. *Elytrigia repens* subsp. *arenosa*) benanntes und an den Küsten Nordwesteuropas vorkommendes Material wurde nicht in unsere Untersuchungen eingeschlossen. Angesichts der morphologischen Andersartigkeit solchen Materials, soweit in genügendem Detail beschrieben, scheint es uns aber sehr unwahrscheinlich, dass es tatsächlich zu *E. arenosus* gehört. So werden die Blätter von *E. repens* subsp. *arenosus* von MELDERIS (1980) und TRIST (1995) als auf der Oberseite meist

kahl beschrieben, und TRIST (1995) und SELL & MURRELL (1996, beide als *Elytrigia repens* subsp. *arenosa*) geben an, dass die Deckspelzen dieses Taxons häufig kurze Grannen haben. STACE (2019) betrachtet entsprechendes Küstenmaterial in England als *E. repens* bzw. (C. A. Stace, pers. Mitt. 24.9.2020) als *E. athericus* oder als Hybriden zwischen *E. athericus* und *E. junceiformis* (ebenso eine Herkunft von Calais an der Nordküste Frankreichs) oder zwischen *E. athericus* und *E. repens*. Auch WILCOX (2012) betrachtet englisches Küstenmaterial [als *Elytrigia campestris* subsp. *maritima* (TZVELEV) H. SCHOLZ] als *E. repens*, *E. athericus* oder als Hybriden zwischen diesen beiden Arten. Als *E. athericus* oder Hybrid zwischen *E. athericus* und *E. junceiformis* wird auch das Küstenmaterial der Niederlande betrachtet (DUISTERMAAT 2020). Zu den von TRIST (1995) angegebenen Funden von *E. arenosus* in Skandinavien haben wir keine weitere Information. Unsere Vermutung ist aber, dass dieses Material genauso wie das englische, französische und niederländische Material nicht zu *E. arenosus* gehört.

Die morphologische Unterscheidung von *Elymus*-Arten kann offensichtlich schwierig sein und wird durch vielfache Hybridisierung zwischen Arten zusätzlich erschwert. Mit der von uns für diese Art gefundenen eigenen trnL-trnF Sequenz kann nun aber geprüft werden, ob vermeintliches *E.-arenosus*-Material von den nordwesteuropäischen Küsten zu dieser Art gehört oder nicht.

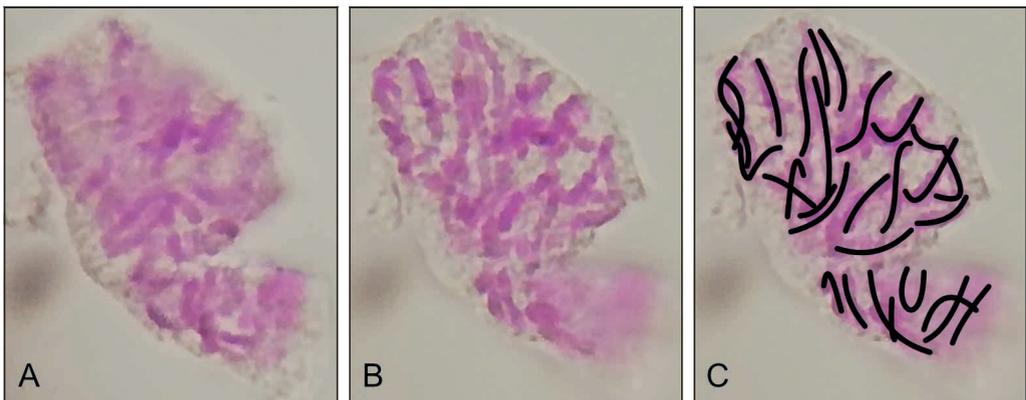


Abb. 3: Mitotische Wurzelspitzenzelle von *Elymus arenosus* mit $2n = 28$ Chromosomen. A+B: Verschiedene Schärfenebenen derselben Zelle. C: Zur Verdeutlichung sind die Chromosomen zeichnerisch hervorgehoben. – Mitotic root tip cell of *E. arenosus* with $2n = 28$ chromosomes. A+B: Different focus levels of the same cell. C: Chromosomes highlighted by drawings.

4.2 Die geographische Verbreitung von *Elymus arenosus*

Unter dem Vorbehalt der von uns untersuchten limitierten Zahl von Proben und vor dem Hintergrund der Einschätzung des englischen und französischen (STACE 2019, Stace pers. Mitt.) und des niederländischen (DUISTERMAAT 2020) Materials kommen wir zu dem Schluss, dass *E. arenosus* kein Endemit des Mainzer Sandes ist, sondern auch im Millingerwaard in den Niederlanden vorkommt. Jenseits dieser zwei Gebiete ist die Art bisher nicht bekannt geworden, und nordwesteuropäisches Küstenmaterial gehört mit größter Wahrscheinlichkeit nicht zu *E. arenosus*. Während NDFF & FLO- RON (2021) das Vorkommen im Millingerwaard als "ingeburgerd na 2000" bezeichnet, wird das Vorkommen dort von DUISTERMAAT (pers. Mitt. 8.7.2021: "We do not know who stated that *E. arenosus* was introduced in the Netherlands. We think it highly unlikely that it arrived through human intervention, even with hay.") als heimisch betrachtet. Interessanterweise wurden von SCHOLZ (1993) erloschene Vorkommen auf den „Rheininseln bei Neuenburg“ westlich von Freiburg i. Br. genannt, die „von *E. arenosa* des Mainzer Gebietes nicht wesentlich verschieden [sind]“. Da das Millingerwaard an der Maas liegt, scheint die Art ehemals weiter entlang des Rheins verbreitet gewesen zu sein, wie schon von SCHOLZ (1993) angenommen.

4.3 Die mögliche Verwandtschaft von *Elymus arenosus*

Abgesehen von generellen Schwierigkeiten der Verwandtschaftsanalyse in *Elymus* (und anderen Gattungen der *Triticeae*), bedingt durch die hybridogene Entstehung vieler Linien sowie fortlaufende Hybridisierung, sind die von uns verwendeten DNA-Sequenzen nicht gut geeignet, um Aussagen über Verwandtschaft zu machen. Das plastidäre trnL-trnF wird üblicherweise maternal vererbt und ist nicht genügend variabel, um wenigstens eine maternale Phylogenie zu erstellen, und ITS liegt in vielen Taxa in zahlreichen paralogen Kopien vor, wobei durch "concerted evolution", einen Prozess, durch den unterschiedliche Kopien homogenisiert werden (ÁLVAREZ & WENDEL 2003), phylogenetisches Signal verwischt werden kann.

Dennoch erscheint es uns möglich, dass *E. arenosus* ein enger Verwandter von *E. campestris* ist. *E. campestris* ist selbst ein umstrittenes Taxon. Während CONERT (1997) die Art als mit *E. athericus* identisch betrachtet, wird sie von ROSENBAUER (1998), HOHLA & SCHOLZ (2011), KOLTZENBURG (2019) und KRISCH (2021) als eigenes Taxon betrachtet. MELDERIS (1980) gibt für *E. campestris* (als *E. pungens* subsp. *campestris*) eine weite Verbreitung von Nordwestfrankreich bis Portugal an. Für Deutschland wird von KOLTZENBURG (2019) eine Verbreitung vom westlichen Hochrhein bis zum Niederrhein angegeben, und für Baden-Württemberg beschreibt ROSENBAUER (1998) eine Verbreitung im Oberrheingebiet zwischen Basel und Karlsruhe in offenen Trockenrasengesellschaften, an Böschungen und Dämmen auf trockenen, feinerdearmen, basenreichen Kies- und Sandböden. Für die Schweiz (als *Agropyron littorale* (HOST.) DUMORT.) beschrieb VESTERGREN (1929) das Rhônetal als Hauptverbreitungsgebiet. Die Verbreitung von *E. campestris* u. a. in Flusstälern (Rhône, Rhein, Durance) an den oben beschriebenen Standorten sowie eine gewisse Ähnlichkeit mit *E. arenosus* veranlasst uns, eine mögliche enge Verwandtschaft zwischen diesen beiden Arten zu postulieren. *E. campestris* ist wie *E. arenosus* eine blaugrüne Pflanze mit langen unterirdischen Ausläufern und steifen, meist eingerollten Blättern, deren freier Scheidenrand kahl ist. Allerdings hat *E. campestris* auf der Blattoberseite pro Rippe nur eine Reihe von Borsten, die Ähren sind meist länger und dichter als bei *E. arenosus* und uns ist nicht bekannt, ob die Hüllspelzen bei der Fruchtreife stehen bleiben. Unsere DNA-Sequenzdaten unterstützen unsere Vermutung einer engen Verwandtschaft zwischen *E. arenosus* und *E. campestris* nur bedingt. Der plastidäre Haplotyp von *E. arenosus* ist nur eine Mutation von dem von *E. campestris* entfernt, allerdings findet man den *E.-campestris*-Haplotypen auch bei *E. caninus* und *E. repens*.

Im Ribotypennetzwerk (Abb. 2) sind Ribotypen von *E. campestris* sehr ähnlich zu den Ribotypen von *E. arenosus* aus Heidenfahrt und etwas weniger ähnlich zu den Ribotypen von *E. arenosus* vom Mainzer Sand. Das trifft aber auch auf einen Ribotyp von *E. athericus* zu. Für die Ribotypen von *E. campestris* und *E. arenosus* aus dem Millingerwaard ist ebenso eine hohe Ähnlichkeit zu beobachten. Zusammenfassend

könnten diese Daten als allerdings keineswegs deutliche Unterstützung für eine mögliche enge Verwandtschaft zwischen *E. arenosus* und *E. campestris* interpretiert werden.

5. Danksagung

Wir danken Frau Heike Kappes vom Grunelius-Möllgaard-Labor am Forschungsinstitut Senckenberg/Frankfurt am Main für die Extraktion von DNA von Pflanzenmaterial aus FR, und den Herbarien M, MJG, NMNL und STU für die Überlassung von Blattmaterial.

6. Literatur

- ÁLVAREZ, I. & WENDEL, J. F. 2003: Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. – *Mol. Phylogenet. Evol.* 29: 417–434.
- CLEMENT, M., POSADA, D. & CRANDALL, K.A. 2000: TCS: A computer program to estimate gene genealogies. – *Molec. Ecol.* 9: 1657–1659.
- CONERT, H. J. 1997: *Elymus*. – p. 777–802. In: CONERT, H. J. & al. (ed.), *Gustav Hegi, Illustrierte Flora von Mitteleuropa* 1(3), ed. 3. – Berlin: Parey.
- 2000: *Pareys Gräserbuch. Die Gräser Deutschlands erkennen und bestimmen*. – Berlin: Parey.
- COPE, T. & GRAY, A. 2009: *Grasses of the British Isles*. B.S.B.I. Handbook no. 13. – London: Botanical Society of the British Isles.
- DILLENBERGER, M. S. & KADEREIT, J. W. 2017: Simultaneous speciation in the European high mountain flowering plant genus *Facchinia* (*Minuartia* s.l., *Caryophyllaceae*) revealed by genotyping-by-sequencing. – *Molec. Phylogenet. Evol.* 112: 23–35.
- DUISTERMAAT, H. 2020: *Heukels' Flora van Nederland*, ed. 24. – Groningen/Utrecht: Noordhoff.
- HOHLA, M. & SCHOLZ, H. 2011: Zwei neue indigene *Elytrigia*-Arten (*Poaceae*) der Flora Mitteleuropas. – *Stapfia* 95: 46–54.
- HUSON, D. H. & BRYANT, D. 2006: Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. – *Molec. Biol. Evol.* 23: 254–267.
- KADEREIT, J. W. 1984: The origin of *Senecio vulgaris* (*Asteraceae*). – *Pl. Syst. Evol.* 145: 135–153.
- KOLTZENBURG, M. 2019: *Elymus* L. – Quecke. – p. 323–325. In: PAROLLY, G., & ROHWER, J. G. (ed.), *Schmeil-Fitschen. Die Flora Deutschlands und angrenzender Länder*, ed. 97. – Wiebelsheim: Quelle & Meyer.
- KRISCH, H. 2021: *Elymus* L. – Quecke. – p. 262–266. In: MÜLLER, F., RITZ, C., WESCHE, K., & WELK, E. (ed.), *Rothmaler – Exkursionsflora von Deutschland – Grundband*, ed. 22. – Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum.
- MELDERIS, A. 1980: *Elymus* L. – p. 192–198. In: TUTIN, T. G., HEYWOOD, V. H., BURGESS, N. A., MOORE, D. M., VALENTINE, D. H., WALTERS, S. M., & WEBB, D. A. (ed.), *Flora Europaea* 5. – Cambridge: Cambridge University.
- & McCLINTOCK, D. 1983: The genera *Elymus* L. and *Leymus* Hochst. in Britain. – *Watsonia* 14: 391–395.
- NDFF & FLORON 2021: NDFF Verspreidingsatlas Vaatplanten. – <https://www.verspreidingsatlas.nl/vaatplanten>; aufgerufen am 14.7.2021.
- ROSENBAUER, A. 1998: *Elymus* L. – Quecke. – p. 513–522. In: SEBALD, O., SEYBOLD, S., PHILLIPI, G., & WÖRZ, A. (ed.), *Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs* 7. – Stuttgart: Eugen Ulmer.
- SCHOLZ, H. 1993: *Elytrigia arenosa* (*Gramineae*) – ein mitteleuropäischer Relikt-Endemit. – *Bot. Jahrb. Syst.* 115: 351–366.
- SELL, P. & MURRELL, G. 1996: *Flora of Great Britain and Ireland* 5. – Cambridge: Cambridge University.
- STACE, C. A. 2019: *New Flora of the British Isles*, ed. 4. – Cambridge: Cambridge University.
- TABERLET, P., GIELLY, L., PAUTOU, G. & BOUVET, J. 1991: Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. – *Plant Molec. Biol.* 17: 1105–1109.
- THIERS, B. 2021: *Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff*. – <http://sweetgum.nybg.org/ih/>; aufgerufen am 19.04.2021.
- TRIST, P. J. O. 1995: *Elytrigia repens* (L.) Desv. ex Nevski subsp. *arenosa* (Spencer) A. Löve (*Poaceae*) in north-western Europe. – *Watsonia* 20: 385–390.
- VAIDYA, G., LOHMAN, D. J. & MEIER, R. 2011: *SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multigene datasets with character set and codon information*. – *Cladistics* 27: 171–180.

VESTERGREN, T. 1929: Einige Notizen über schweizerische *Agropyron*-Formen. – Ber. Schweiz. Bot. Ges. 38: 30–42.

WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. & TAYLOR, J. 1990: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. – p. 315–322. In: INNIS, M. A., GELFAND, D. H., SNINSKY, J. J. & WHITE, T. J. (eds.), PCR Protocols. – San Diego: Academic.

WILCOX, M. 2012: Neglected Couch: the enigma of *Elytrigia campestris* ssp. *maritima* – a confused couch! – BSBI News 19: 26–28.

Tab. 1: Neu sequenzierte Proben mit Abkürzung, Herkunft und GenBank-Nummern. Abkürzungen für Herbarien nach THIERS (2021). n. v. = nicht verwendet/not used. – Newly sequenced samples with sample abbreviation, geographical origin and GenBank numbers. Herbarium acronyms according to THIERS (2021).

Abk.	Herkunft	Referenz	GenBank	
<i>Elymus arenosus</i>			trnL-trnF	ITS
Ely1	Deutschland, Mainzer Sand	MJG 28308	OK181346	OK166563–OK166564
Ely2	Deutschland, Heidenfahrt	MJG 28667	OK181347	OK166565–OK166566
Ely3	Deutschland, Mainzer Sand	MJG 28668	OK181348	OK166567
Ely30	Niederlande, Millingerwaard	NMNL 11195	OK181349	OK166568–OK166574
Ely31	Niederlande, Millingerwaard	NMNL 11218	OK181350	n. v.
Ely32	Niederlande, Millingerwaard	NMNL 11182	OK181351	OK166575–OK166578
Ely33	Niederlande, Millingerwaard	NMNL 12429	OK181352	OK166579–OK166582
Ely34	Niederlande, Millingerwaard	NMNL 12428	OK181353	OK166583–OK166588
<i>Elymus athericus</i>				
Ely6	England, Felixstowe	MJG 29305	OK181356	OK166596–OK166597
Ely15	Deutschland, Steinestadt	FR 133877	OK181354	n. v.
Ely19	Deutschland, St. Peter-Ording	MJG 26550	OK181355	n. v.
Ely24	Österreich, Kärnten	Melzer s.n. (M)	n. v.	OK166589–OK166595
<i>Elymus campestris</i>				
Ely13	Deutschland, Ingelheim	FR 133870	OK181357	n. v.
Ely20	Frankreich, Le Thor	M 19883/19884	OK181358	OK166598–OK166603
Ely25	Deutschland, Rußheim	Weckesser s.n. (STU)	OK181359	OK166604–OK166608
<i>Elymus caninus</i>				
Ely9	Norwegen, Oppdal	FR 133875	OK181360	n. v.
Ely27	Deutschland, Kestert	MJG 5615	n. v.	OK166609–OK166611

Abk.	Herkunft	Referenz	GenBank	
<i>Elymus farctus</i>				
Ely22	Italien, Bibione Pineda	M 42229	n. v.	OK166612– OK166620
<i>Elymus hispidus</i>				
Ely11	Deutschland, Sylt	FR 133873	OK181361	n. v.
Ely28	Deutschland, Sporkenheim	MJG 1427	n. v.	OK166621
<i>Elymus junceiformis</i>				
Ely4	England, Walberswick	MJG 29304	OK181365	n. v.
Ely7	Deutschland, St. Peter-Ording	MJG 3997	OK181366	n. v.
Ely10	Deutschland, Juist	FR 113252	OK181362	n. v.
Ely17	Deutschland, Behrendorf	FR 133876	OK181363	n. v.
Ely21	Deutschland, Esperort	Werner 2616 (M)	OK181364	OK166622– OK166629
<i>Elymus obtusiflorus</i>				
Ely14	Deutschland, Frankfurt am Main	FR 133871	OK181367	n. v.
Ely29	Deutschland, Bodenheim	MJG 5357	OK181368	OK166630– OK166632
<i>Elymus repens</i>				
Ely5	England, Stowmarket	MJG 29306	OK181371	OK166633– OK166636
Ely12	Deutschland, Schleid	FR 95286	OK181369	n. v.
Ely18	Deutschland, St. Peter-Ording	MJG 3969	OK181370	n. v.
Ely16	Deutschland, Istein	FR 133874	OK181372	n. v.