

Retrospektives Monitoring der *Nuphar pumila* im Gräppelensee



Maturitätsarbeit

an der Kantonsschule Wattwil
November 2014
Fach Biologie

Verfasserin
Larissa Graf

Betreuer
Rolf Heeb

Experte
Stefan Eggenberg

Inhaltsverzeichnis

1	Vorwort	3
1.1	Danksagung	4
2	Einleitung	5
3	<i>Nuphar pumila</i> (Timm) DC.	6
3.1	Familie der Seerosengewächse (<i>Nymphaeaceae</i>)	6
3.2	Gattung der Teichrosen	7
3.3	<i>Nuphar pumila</i>	8
4	Monitoring	12
4.1	Einleitung	12
4.2	Methode	13
4.2.1	Aufnahmen	13
4.2.2	Auswertung	15
4.3	Resultate	18
4.4	Fazit	26
	Quellenverzeichnis	27
	Anhang	29
A.	Selbstständigkeitserklärung	29
B.	Luftbilder Daten	30
C.	Molekulargenetische Analysen	31
a)	Intro	31
a)	Methode	31
i)	Probensammeln	31
i)	Gentechnische Methoden	35

1 Vorwort

Für meine Maturaarbeit wollte ich etwas im biologischen Bereich erarbeiten. Vor allem spannend finde ich die genetischen Analysen in den Naturwissenschaften. Daraus entwickelte sich die Idee, das langjährige Projekt der Kantonsschule Wattwil über die Kleine Teichrose (*Nuphar pumila*) weiterzuführen und mit meinem Interesse an Genetik zu erweitern. Meine Vorstellung war, eine genetische Analyse dieser Art selbst durchzuführen. Nach einigen Nachfragen stellte sich jedoch heraus, dass dies den Rahmen einer Maturaarbeit sprengen würde, worauf ich mich auf die Suche nach Alternativen machte. Dank einem Kontakt meines Betreuers Prof. Dr. Rolf Heeb ergab sich die Möglichkeit, doch noch einige Einblicke in die Genetik erhalten zu können. Diese Möglichkeit fanden wir in der Mitarbeit in einem nationalen Forschungsprojekt zu *Nuphar pumila*. Dieses Projekt steht unter der Leitung von Dr. Gregor Kozlowski. Das Ziel war, eine molekulargenetische Studie zur *Nuphar pumila* zu machen, um somit deren Herkunft und Verbreitung aufzeigen zu können. Meine Aufgabe in dieser Gruppe umfasste das Probensammeln der Schweizer Populationen. Dazu zählten alle Vorkommen in den botanischen Gärten wie auch die Wildpopulationen im Kanton St. Gallen und Zürich. Die gesammelten Proben brachte ich anschliessend nach Lausanne ins Labor, in welchem sie molekulargenetisch untersucht wurden. Einen Tag durfte ich die einzelnen Arbeitsschritte im Labor begleiten und konnte sie somit in meine Arbeit einbringen. Diese Laboranalysen sind noch nicht vollständig abgeschlossen. Die Proben selbst wurden bereits analysiert, sodass im Moment die erhaltenen Daten ausgewertet werden.

Um nicht vollständig an die Forschungsgruppe gebunden zu sein, wollte ich zusätzlich etwas selbstständig zur Kleinen Teichrose erarbeiten. Meine Entscheidung fiel auf die Fortsetzung der drei bisherigen Projekte zum Gräppelensee. All diese Projekte wurden betreut von Prof. Dr. Rolf Heeb oder Prof. Dr. Christian Peisker. Im Sommer 2009 entschlossen sie, jährliche Aufnahmen dieses Vorkommens zu machen. Dies war der Ausgangspunkt meiner Langzeitstudie. Um eine möglichst informative Studie zu erhalten, versuchte ich über mehrere Wege die bereits vorhandenen Bilder mit älteren archivierten Bildern zu ergänzen. Mithilfe von SJF und meinem Experten Dr. Stefan Eggenberg bot sich ein Kontakt zu Christian Ginzler. Von Herr Ginzler erhielt ich über die WSL (Eidg. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft) vier georeferenzierte Luftbilder. Weitere elf Bilder wurden mir von meiner Schule gesponsert. Alle Bilder zusammen umfassen eine Zeitspanne von 80 Jahren. Dazu fertigte ich über das Jahr 2014 einen Jahresverlauf an, mit welchem ich eine Populationsentwicklung aufzeigen kann. Die Fotos hierfür nahm ich in einem Zeitraum zwischen Juni und Oktober auf, womit ich die Zeitspanne ab der Bildung der Schwimmblätter bis zu deren Zersetzung fotografisch darlegen kann.

Mit diesem Teil meiner Maturaarbeit konnte ich Informationen zu einer bestimmten Population gewinnen, während dessen beschäftigt sich die Forschungsgruppe mit dem gesamten Vorkommen der Schweiz und dem angrenzenden Ausland. Neben diesen zwei Hauptzielen der Arbeit, durfte ich viele weitere Erfahrungen rund um die Kleine Teichrose machen. Dazu zählen Einblicke in die Aufzucht und Erhaltung, weiterführende Informationen zu den botanischen Gärten, das Miterleben einer Bestandskontrolle und das Prüfen eines neuen Standortes. All diese unterschiedlichen Arbeiten rund um eine Pflanze zeigten mir den Aufwand, welcher für eine seltene Pflanze gemacht werden muss, um diese zu schützen.

1.1 Danksagung

Ganz herzlich möchte ich mich bedanken für die tatkräftige Unterstützung, die ich während meiner ganzen Arbeit erhalten durfte. Besonders bedanken möchte ich mich bei meinem Betreuer Prof. Dr. Rolf Heeb. Er brachte mich auf die Idee meiner Arbeit und verschaffte mir den Kontakt zur Forschungsgruppe. Diese angesprochene Forschungsgruppe unter der Leitung von Dr. Gregor Kozłowski besteht aus mehreren Fachkräften, wie Sébastien Bétrisey, Dr. Emanuel Gerber, Dr. Nils Arigo und Clement Benoît. Bei ihnen möchte ich mich auch herzlich für die gute Zusammenarbeit und den sehr spannenden Einblick in eine Forschungsgruppe bedanken. Ich durfte in viele Arbeitsschritte Einblick erhalten, was sowohl für die Arbeit als auch für mich persönlich von grossem Nutzen war. Beim Probensammeln unterstützen mich die einzelnen botanischen Gärten, hierzu zählen jene in Freiburg, Zürich, St. Gallen und Lausanne, und Aufzuchtstellen in Uster und Wangen mit ihrem Wissen über die Haltung dieser seltenen Teichrose und mit der Erlaubnis der Probenahme. Durch Dr. sc. nat. Andreas Keel erhielt ich die Kontakte zu den Zürcher Erhaltungskulturen sowie jener von liz. phil. nat. Claudia Huber. Dazu erhielt ich von ihm die Betrettbewilligung und die Erlaubnis Proben zu sammeln im Kanton Zürich. Für die Probennahme in den Wildpopulationen im Kanton Zürich durfte ich auf die Unterstützung von liz. phil. nat. Claudia Huber zählen, ebenfalls bei einigen pflanzenspezifischen Fragen. Von InfoFlora erhielt ich Auskünfte über die Verbreitung der *Nuphar pumila* in der Schweiz, dazu folgen genaue Daten zu jeder Fundstelle. Diese Angaben werden für die späteren Auswertungen von grosser Bedeutung sein. Um an weiterführende Informationen und Berichte der Kleinen Teichrose zu kommen, unterstützte mich Corinne Eicher.

Im Weiteren erhielt ich grosse Unterstützung während des Monitorings. Die Gemeinde Wildhaus (Gemeindepräsident Rolf Züllig) unterstützte mich mit der Fahr- und Arbeitsbewilligung des Gräppelsees. Eine grosse Hilfe war ebenfalls dipl. phil. II René Güttinger, er half bei der Vermittlung diverser Kontakte, welche vorallem für den Drohnenflug wichtig waren. Durchgeführt wurde dieser von der Schällibaum AG und gesponsert vom Kanton St. Gallen. Hier ist speziell Guido Ackermann, Leiter Amt für Natur, Jagd und Fischerei des Kantons St. Gallen, zu erwähnen. Er unterstützte mich mit der Finanzierung des Drohnenfluges und der Bewilligung des Probensammelns im Gräppelsee. Ganz herzlich bedanken möchte ich mich ebenfalls bei Familie Näf, Familie Streichenberg und meine Familie für die grossen Unterstützung beim Jahresverlauf. Sie ermöglichten mir die Fahrten zum See und wanderten mit mir gemeinsam zum Lütispitz. Die archivierten Luftbilder kamen erst mit der Teilnahme an Schweizer Jugend forscht zusammen. Dabei half mir mein Experte Dr. Stefan Eggenberg mit der Kontaktvermittlung zu Christian Ginzler. Ebenfalls sehr grosse Unterstützung erhielt ich von meiner Schule. Sie sponsorte mir elf weitere Luftbilder. Für die Auswertung dieser erhaltenen Bilder durfte ich von Prof. Felix Berger profitieren, welcher mir die Anwendung mit dem GIS-Programm näher brachte.

2 Einleitung

Die Vorkommen der einheimischen Kleinen Teichrose sind gesamtschweizerisch stark zurückgegangen. Von ursprünglich 17 Standorten sind heute lediglich vier erhalten geblieben. Diese sind der Lac de Lussy (FR), der Lac de Joncs (FR), der Kämmoosweiher (ZH) und der Gräppelensee (SG) (Info Flora /GEOSTAT, 2013). Zurzeit bestehen Projekte zur Erhaltung und Wiederansiedlung der Seltenheit.

„Ein Sorgenkind“: Kleine Teichrose (*Nuphar pumila*)

Die Kleine Teichrose ist heute in der Schweiz eine sehr seltene Art. Sie kommt nur noch an wenigen Standorten vor. Um die Schweizer Genotypen zu erhalten, findet hier im Botanischen Garten von zwei Standorten eine Erhaltungskultur statt. Bei Bedarf können diese ursprünglichen Typen am natürlichen Standort ausgesetzt werden.

Bedroht ist die Art aufgrund der Nährstoffanreicherung in den Gewässern, durch Bade- und Bootsbetrieb, aber auch durch Veränderungen des Wasserstands.

Die Kleine Teichrose ist ein späteiszeitliches Relikt und kommt nur in Gebieten vor, die in der letzten Eiszeit von Gletschern überdeckt waren. Sie liebt Randbereiche in eher kühlen, sauren und nährstoffarmen Moor- und Gebirgsseen.“

Informationstafel im Botanischen Garten Zürich

Die Erhaltung dieser wenigen verbliebenen Restpopulationen sowie deren natürlichem Lebensraum ist ein Bestreben des Naturschutzes. Jedoch reicht das vorhandene Wissen oft nicht aus, um zielorientiert zu arbeiten. So fehlen zur Kleinen Teichrose genaue Erforschungen zur Arten-Abgrenzung und Arten-Verwandtschaft. Denn das Entstehen von Kreuzungen zwischen *Nuphar pumila* und *Nuphar lutea*, die unter dem Namen *Nuphar x intermedia* bekannt sind, ist ein bekanntes Phänomen in allen Regionen, wo beide Arten zusammen vorkommen oder vorkamen. Diese neuen Hybriden sind anhand der äusseren Gestalt und Form meist sehr schwer richtig einzuordnen und es ist somit nicht immer klar, um welche Art es sich handelt.

Aus diesem Grund wurde von Dr. Gregor Kozłowski im Frühjahr 2014 eine Forschungsgruppe zusammengestellt, welche sich genau mit dieser Fragestellung befasst. Dazu wurden in der gesamten Schweiz, im Süden Deutschlands, im Osten Frankreichs und an einem Standort in Österreich Proben der Kleinen Teichrose aus Wildpopulationen und botanischen Gärten gesammelt. In Lausanne werden sie mit molekulargenetischen Methoden auf ihre Verwandtschaft untereinander geprüft. Mit dieser neuen Information kann eine klare Arten-Abgrenzung aufgezeigt werden. Weiter kann auf die Abstammung und Verwandtschaft der einzelnen Populationen zurückgeschlossen werden.

Daneben ist es wichtig, gute Kenntnisse dieser Art und ihres Lebensraum zu haben, um sie gezielt schützen zu können. Dazu eignen sich Beobachtungen eines bestimmten Vorkommens besonders gut. Die Population im Gräppelensee ist die grösste der Schweiz und somit ein Anzeichen für einen guten Lebensraum. Aus diesem Grund wurde dieses Vorkommen genauer untersucht. Die erhaltenen Ergebnisse können in bestimmten Situationen auch auf andere Standorte angewendet werden.

3 *Nuphar pumila* (Timm) DC.

3.1 Familie der Seerosengewächse (*Nymphaeaceae*)

Die *Nuphar pumila*, auch Kleine Teichrose genannt, ist aus der Klasse der Bedecktsamer (*Magnoliopsida*) und gehört zur Ordnung der Seerosenartigen (*Nymphaeales*). Diese Ordnung umfasst 3 Familien, die Haarnixengewächse (*Cabombaceae*), die *Hydatellaceae* sowie die Seerosengewächse (*Nymphaeaceae*), die Familie der Kleinen Teichrose. Beschrieben werden sie als krautige, also nicht verholzende, am Grund von Gewässern verankerte Sumpf- und Wasserpflanzen. Zu dieser zählen 58 Arten (je nach Quelle auch 75) in sechs Gattungen, den *Barclaya*, *Euryale*, *Nuphar*, *Nymphaea*, *Ondinea* und *Victoria*. Die Verwandtschaften innerhalb der Gattungen sind noch nicht vollständig erforscht und deshalb ist es möglich, dass noch einige Veränderungen bei dieser Einteilung erfolgen werden (Berry).

Nymphaeaceae sind ausschliesslich Süsswasserpflanzen, welche ausserhalb der polaren Klimazonen weltweit vertreten sind. Es sind Wasserpflanzen mit Rhizomen, in diesem Falle dicht über dem See-Grund wachsende Sprossen, von welchen nach unten die Wurzeln ausgehen und nach oben die Blättertriebe. Ein bekanntes Beispiel eines Rhizoms ist das Ingwerrhizom, welches als Gewürz und Heilmittel verwendet wird.

In dieser Familie können Unterwasser- und Schwimmblätter vorhanden sein. Die Blätter sind rund, mit einer strahlenförmigen Einkerbung bei den Gattungen *Nymphaea* und *Nuphar*. Im Gegensatz dazu sind sie kreisrund und riesig (bis zu zwei Metern) bei *Victoria* und bei der Gattung der *Euryale* sind sie ebenfalls gross, jedoch auch mit Stacheln bedeckt (*Nymphaeaceae*: Kompaktlexikon der Biologie: Lexika: Spektrum.de) (Stevens, 2014). Anders als die anderen Familien besitzt die *Ondinea* längliche gekrauste und die *Barclaya* keine.

Überwiegend sind die Seerosengewächse in den Tropen aufzufinden, in der Schweiz sind nur die Gattungen Seerose (*Nymphaea*) und Teichrose (*Nuphar*) einheimisch (Abbildung 1). Es wird davon ausgegangen, dass diese Familie seit der frühen Kreidezeit besteht, da die grossen genetischen Unterschiede innerhalb der Familie, wie auch die weite räumliche Verbreitung darauf hinweisen.

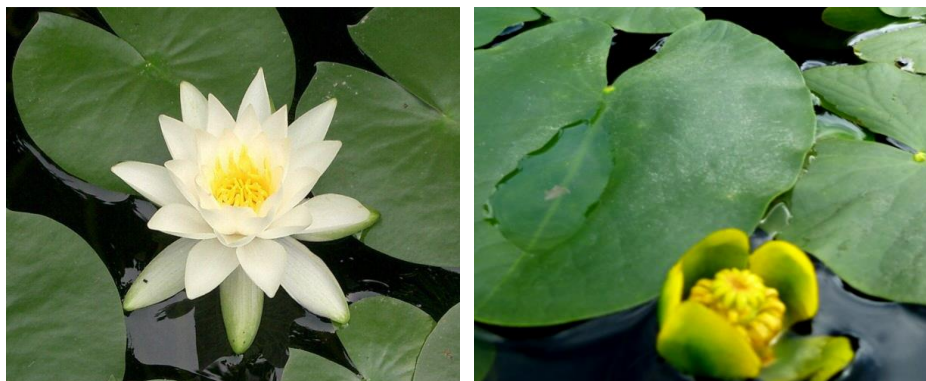


Abbildung 1: Veranschaulichung der in der Schweiz vorkommenden Seerosengewächse. Links abgebildet ist die Weisse Seerose (*Nymphaea alba*) als Vertretung der Gattung der Seerosen (*Nymphaea*) im rechten Bild ist die *Nuphar pumila* zu sehen, sie zählt zu den Teichrosen.

3.2 Gattung der Teichrosen

Im Gegensatz zu den Seerosen bilden die Teichrosen sowohl Schwimmblätter wie auch Unterwasserblätter. Unterwasserblätter können sich jedoch nicht in zu tiefem und schnell strömendem Wasser entwickeln. Die Schwimmblätter sind rund und mit einer strahlenförmigen Einkerbung versehen. Eine Besonderheit ist, dass diese Gattung keine Kelchblätter hat, aber meist gelb gefärbte Blütenblätter (Perigonblätter), welche zusammen eine kugelige Blüte bilden. Die eigentlichen Honigblätter sind relativ klein und zwischen den Staubblättern oft nicht erkennbar (Wilstermann-Hildebrand). Die gelbe kugelige Blüte ist ein Merkmal dieser Art (Abbildung 2). Es gibt Züchtungen einer Roten Japanischen Teichrose, mit speziell gezüchteten roten Blüten. Diese durch Mutationen hervorgerufene Art wird als *Nuphar japonica* var. *Rubriticum* bezeichnet (Breukel, *Nuphar japonica* var. *rubra*: Nuphar: Gattung Nymphaea: Seerosenforum, 2010).

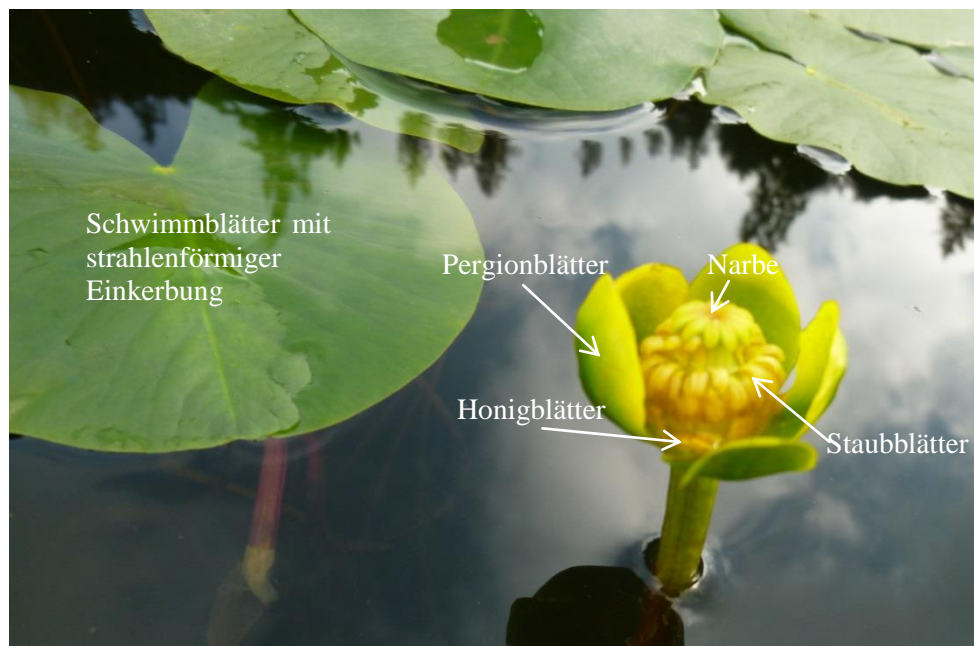


Abbildung 2: Blüte der *Nuphar pumila*. Die Kelchblätter bilden eine kugelige Blüte, während die Kronblätter deutlich kleiner sind und teilweise unter den Staubblättern verborgen sein können.

Früher waren zehn bis zwanzig Arten dieser Gattung zugehörig, heute sind es nur noch acht. Vier dieser Arten sind in Nordamerika verbreitet. Zu diesen gehören die Amerikanische Teichrose (*Nuphar advena*), die Indianer-Teichrose (*Nuphar polysepala*), die Pfeilblättrige Teichrose (*Nuphar sagittifolia*) und die Stierkopf-Teichrose (*Nuphar variegata*). Daneben heissen Vorkommen aus Japan *Nuphar japonica*, über die ganze Nordhalbkugel verteilt ist die *Nuphar microphylla* wie auch die Gelbe Teichrose (*Nuphar lutea*). Im selben Lebensraum ist auch die *Nuphar pumila* beheimatet. Dies führt dazu, dass Kreuzungen innerhalb der Familie auftreten, solche werden als Hybride bezeichnet. Insgesamt sind deren drei dokumentiert. Der Hybrid aus *N. microphylla* und *N. variegata* wird *N. x rubrodisca* genannt. Mit der *Nuphar pumila* existieren zwei Kreuzungen. Zum einen mit der *N. japonica* zu *Nuphar x saijoensis* und zum anderen mit der *N. lutea* zu *N. x intermedia* auch *N. x spenneriana* genannt.

Der Hybrid *N. x intermedia* ist fertil, also fruchtbar, jedoch soll die Pollenfertilität stark vermindert sein. Das bedeutet, dass sich weniger, dafür rascher Samen bilden. Die Rückkreuzungen mit der *N. pumila* oder der *N. lutea* verstärkt die Hybridisation. Bei jeder Rückkreuzung bleibt das Hybrid fertil. Die genaue Abgrenzung zwischen diesen Pflanzen ist nicht immer eindeutig. So wurden im Bericht über die Vorkommen der Kleinen Teichrose *Nuphar pumila* und des Hybrids *N. x intermedia* in der Schweiz (Kozłowski & Eggenberg, 2005) alle morphologischen Unterschiede zusammengeführt und im Feld angewendet. Dabei wurde festgestellt, dass alle Übergangsformen aufzufinden sind und sich die Abgrenzung der Arten als Schwierigkeit erwies. Eine eindeutige Sonderung der Vorkommen ist somit nur mit molekulargenetischen Methoden möglich.

3.3 *Nuphar pumila*

Im Frühling bildet die Pflanze weiche, wellige, fast durchsichtige Wasserblätter, auch Salatblätter genannt, welche sich bei ungenügendem Lichtangebot unter der Wasseroberfläche befinden. Ab etwa 10°C bilden sich Schwimmblätter, dies ist etwa Mitte Mai. Vielen Wassertieren dienen die Schwimmblatffurchen als Unterstand oder zum Anheften. Die Blütezeit der *N. pumila* liegt zwischen Juli und September, während dieser Zeit wird nur wenig Nektar produziert. Die Bestäubung erfolgt durch Insekten (Käfer, Fliegen) und durch Selbstbestäubung. Nach dem die Frucht bestäubt wurde, neigt sich der Blütenstiel sodass die Frucht unter Wasser reifen kann. Die Fruchtblätter selbst sind schwimmfähig und lassen die reifen Samen auf den Gewässerboden sinken. Wasservögel und Fische, die mit den Samen in Berührung kommen, dienen der Verbreitung. Die ungeschlechtliche Vermehrung durch die ausbreitenden verzweigten Rhizome am Seegrund ist die Stärke einer Rhizompflanze (Eggenberg & Kozlowski, 2002).

Die Kleine Teichrose wächst in stehenden, 0.5 bis 3.5 m tiefen, nährstoffarmen bis mässig nährstoffreichen, kühlen und schwach sauren Gewässern, welche meist aus Toteis- oder Karseen entstanden sind. Solche Toteisseen entstehen durch das Schmelzen des Gletschers, wobei die sich darauf befindenden Sedimente nachsacken. Diese entstandenen Löcher werden anschliessend mit Grundwasser gefüllt. Karseen dagegen werden vom Gletscher und den darin mitgeführten Steinen ausgeschürft, wodurch kesselförmige Eintiefungen an Berghängen entstehen. Neben diesen durch Gletscher hervorgerufenen Seen, entwickelt sich die *Nuphar pumila* manchmal auch in nährstoffangereicherten (eutrophierten) Fischweihern. Ab einer Wassertiefe von ca. 2 m bleibt die Pflanze steril, also unfruchtbar. Häufig sind Vorkommen in Gegenden mit kühlem Lokalklima und oft in der Nähe von Hochmooren oder in Bergregionen. Dennoch ist sie empfindlich gegen Beschattung.

Merkmale dieser Art sind die 5 bis 15 (17) cm langen, breit oval und tief herzförmigen Schwimmblätter, welche deutlich kleiner sind als jene der nahe verwandten Gelben Teichrose mit einer Länge von 10 bis 30 cm (Abbildung 3). Die Blüte, welche einen Durchmesser von 2 bis 3 cm erreicht, wird geformt von fünf Perigonblättern. Die Pergionblätter sind 1.5 bis 2.5 cm gross. Aussen ist die Blüte oft grün und die Pergionblätter überdecken sich an den Rändern. In dieser Blüte befindet sich die Narbe, diese ist 6 bis 8.5 mm gross, fein sternförmig gezähnt, mit 8 bis 10 strahlenförmig angeordneten Streifen, die den Rand erreichen. Die Frucht dagegen ist 2- 4.5 cm lang und ist im oberen Teil nach einer Seite gekrümmt, bei der *Nuphar lutea* ist diese Krümmung der Frucht nicht dokumentiert.

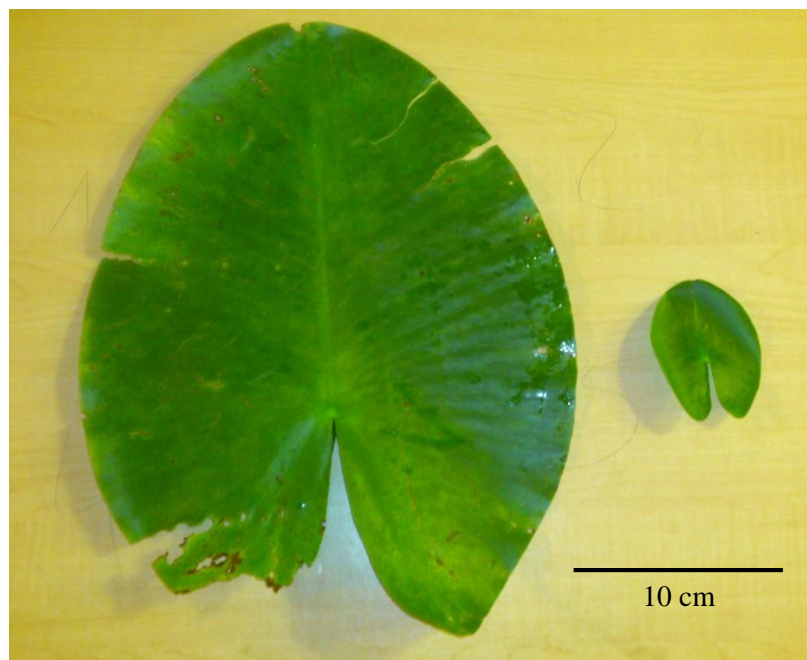


Abbildung 3: Grössenvergleich der zwei Teichrosenarten. Ein extrem grosses Exemplar der *Nuphar lutea* aus dem Lützelsee (links) und ein eher kleines Schwimmblatt der *Nuphar pumila* aus dem Kämmoosweiher (rechts).

Einen weiteren Unterscheidungshinweis bietet der Blattstiel, dieser ist bei der *Nuphar pumila* oben zwei-kantig. Im Gegensatz ist er bei der *Nuphar lutea* drei-kantig (Käsermann & Moser, 1999). Die Verbreitung dieser Art erstreckt sich über Europa und die nördliche Hälfte Asiens. *Nuphar pumila* gilt global als selten. Die mittel- und südeuropäischen Fundorte sind rückläufig und vielerorts erloschen oder gefährdet, trotzdem wird sie in Europa nicht als gefährdet eingestuft (Bilz, Kell, Maxted, & Lansdown, 2011).

In der Schweiz war die Kleine Teichrose verstreut im Alpenvorland verbreitet gewesen. Es waren Fundstellen bekannt im Lac de Lussy und Lac de Joncs (FR), im Wauwilermoos, im Soppen-, im Sempacher-, Baldegger- und Rotsee (LU), wie auch im Hütten-, Lützel-, Egelsee und im Kämmoosweiher (ZH), im Ägerisee (ZG), im Lauerzersee (SZ) und auch im Gräppelensee (SG). Von den ursprünglich 17 belegten Fundorten in der Schweiz, welche sich auf sechs Kantone aufteilten, existieren heute nur noch vier natürliche Populationen. Die heutigen befinden sich im Lac de Lussy (FR), Lac de Joncs (FR), im Kämmoosteich (ZH) wie auch im Gräppelensee (SG). Jedoch ist unsicher, ob im Lac de Lussy und im Kämmoosweiher noch die reine *Nuphar pumila* vorhanden ist, denn es wurde das Vorkommen von *N. lutea* und der *N. intermedia* dokumentiert. In solchen Fällen ist die klare Zuordnung der Arten ohne Molekulargenetik meist nicht möglich. (Kozłowski & Eggenberg, 2005) Für die Forschungsgruppe wurde aus den vier bestehenden Populationen Proben genommen. Somit können diese Vorkommen, zumindest das Vorkommen von Teichrosen, bestätigt werden. Nach Abschluss der Arbeiten werden genauere Daten über die Artenreinheit in den Seen bekannt sein. Der heutige Bestand von *Nuphar pumila* ist auf einem tiefen Niveau ungefähr stabil.

In diesen Abbildungen, welche von Info Flora im Jahr 2013 zusammengestellt wurden, sind die aktuellen und die ursprünglichen Fundorte aufgezeichnet (Abbildung 4). Die obere Darstellung ist eine 5x5km-Karte. Dabei wurde die gesamte Schweiz in 5x5km-Gebiete eingeteilt. Aus diesem Grund sind sowohl beim Kämmoosweiher wie auch beim Gräppelensee zwei Punkte für ein Vorkommen vermerkt. Die zwei Populationen, welche hellgrün aufgezeichnet sind, wurden in den letzten Jahren intensiv untersucht, jedoch konnten die *Nuphar pumila* nicht mehr gesichtet werden. Die untere Karte ist eine aus dem Atlas Welten-Sutter. Im Gegensatz zu dem 5x5km-Raster der oberen Abbildung ist hier die Schweiz nach Regionen eingeteilt. Diese Regionen umfassen jeweils den ganzen Kämmoosweiher bzw. den ganzen Gräppelensee, so dass nur ein Punkt eingetragen ist. Das in dieser Abbildung noch dunkelgrün eingezeichnete Vorkommen am Nordufer des Lauerzersees konnte nach ausgiebigen Suchaktionen in den Jahren 2013 und 2014 nicht mehr bestätigt werden. Die blau gekennzeichneten Fundorte konnten belegt werden, während die grauen Angaben aus dem Atlas entnommen sind. (Info Flora/GEOSTAT, 2013)

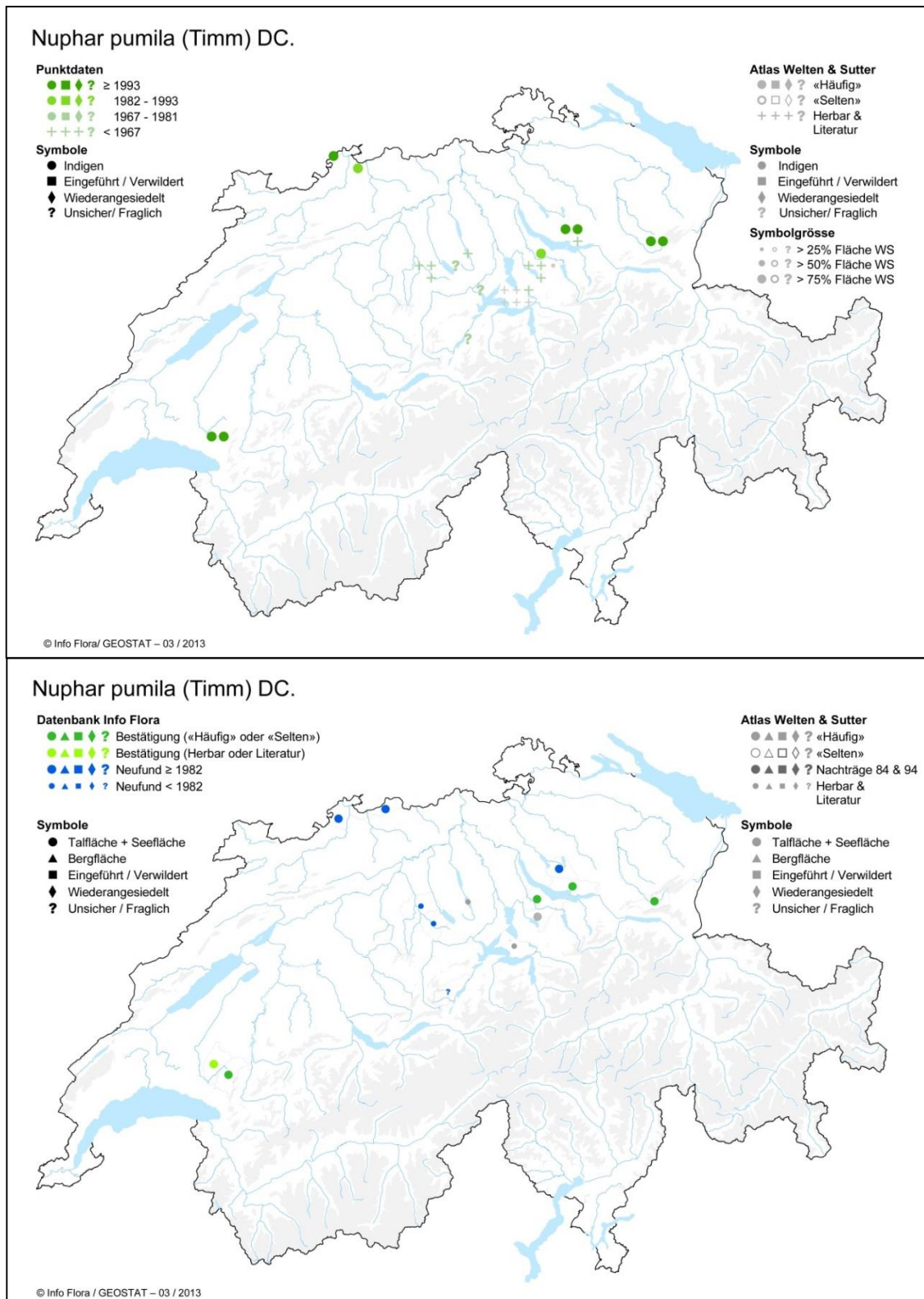


Abbildung 4: Verbreitung der *Nuphar pumila* in der Schweiz. Die obere Abbildung ist eine 5x5 km- Karte und die untere eine aus Welten-Suter. Die bestehenden Populationen sind jeweils dunkelgrün eingezeichnet. Zu diesen gehören jene im Lac de Lussy (FR), Lac de Jones (FR), Kämmoosweiher (ZH) und Gräp-pelensee (SG) (Info Flora /GEOSTAT, 2013).

In den Merkblättern für Artenschutz (Käsermann & Moser, 1999) werden unterschiedliche Gefährdungsursachen für den starken Rückgang der Populationen angegeben. Zur Kräftigung der Kleinen Teichrose Populationen wurden für jede mögliche Ursache Gegenmassnahmen entworfen.“

Gefährdungsursachen	Massnahmen
Eutrophierung (Landwirtschaft, die Fischerei mit Fütterung und Kalkdüngung)	Genügend grosse Pufferzonen; keine Fütterung und Kalkdüngung für die Fischerei; Massnahmen zur Reduktion des Nährstoffgehalts in den Seen weiterführen
Loslösung vom Substrat durch Freizeitaktivitäten (Boots-, Badebetreib, Angeln, Surfen)	Schutzzonen; evtl. Boots- und Surfverbot
Wasserverschmutzung	Wasserverschmutzung vermindern
Entwässerung, Trockenlegung oder Aufstau	Keine negativen Veränderungen
Verlandung, Sukzession	Pflegemassnahmen (partiell Konkurrenten entfernen)
Sammeln	Hinweistafeln zum Schutz, evtl. absperren
Wenige, isolierte Populationen	Schutz inkl. Pufferzonen (z.B. Ortsplanung); regelmässige Bestandeskontrollen; Ex Situ-Vermehrung mit indigenem Material (z.T. angelaufen); Wiederansiedlung prüfen; Erfolgskontrollen

Abbildung 5: Gefährdungsursachen und Massnahmen gegen den Rückgang der Populationen

Einige von diesen Massnahmen wurden bereits umgesetzt, beispielsweise jene gegen die wenigen, isolierten Populationen. Die regelmässigen Bestandeskontrollen werden im Kanton Bern und Zürich von der UNA Bern organisiert und von Claudia Huber durchgeführt. Solche Kontrollen sind sehr zeitintensiv, denn für jeden See wird die Anzahl Blätter, Früchte und Blüten geschätzt. Ende Sommer kann dies durch den Beginn der Rückbildung der Populationen enorm erschwert werden.

4 Monitoring

4.1 Einleitung

Ein Monitoring ist eine längere Beobachtung eines bestimmten Systems über einen bestimmten Zeitraum. In dieser Arbeit wurde der Gräppelensee und dessen Population der Kleinen Teichrose als System gewählt. Dazu wurden zwei unterschiedliche Zeiträume bearbeitet, dies ist zum einen ein Jahresverlauf, welcher die Populationsentwicklung innerhalb des Jahres 2014 aufzeigt, zum anderen ein Langzeitverlauf, welcher 80 Jahre zurückführt und somit Hinweise über die vergangene Entwicklung darlegt.

Der Jahresverlauf besteht aus mehreren Bildern, welche im Abstand von zwei bis drei Wochen aufgenommen wurden. Bei schönem Wetter wurden die Fotos vom Lütispitz (Abbildung 6 rot dargestellt) aus aufgenommen, war die Wetterlage jedoch zu gefährlich für die Wanderung oder die Sicht zu schlecht, musste auf den zweiten Standort (in Abbildung 6 dunkelrot) ausgewichen werden. Der zweite Standort ist sehr nahe beim See und kann bei jedem Wetter über eine Strasse erreicht werden.

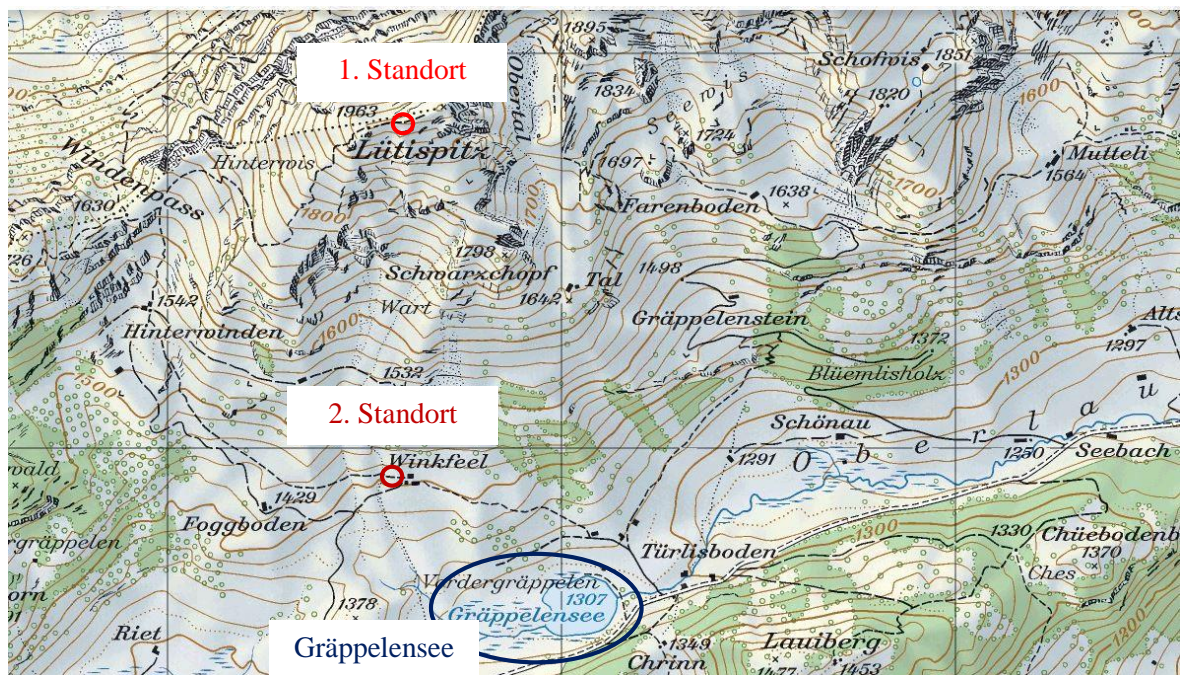


Abbildung 6: Aufnahmestandorte. Der Gräppelensee ist dunkelblau eingekreist. Der erste Standort, von welchem die meisten Fotos gemacht wurden, ist rot umrandet und der zweite dunkelrot.

Zusätzlich zu diesen Bildern wurde im Sommer 2014 ein Orthophoto aufgezeichnet. Nach Fertigstellung der Maturaarbeit waren diese Auswertungen noch nicht abgeschlossen, sodass erst mit der Teilnahme an Schweizer Jugend Forscht die letzten Bilder zusammenkamen. 17 Orthophotos standen für die Überarbeitung zur Verfügung. Insgesamt umfassen diese Bilder eine Zeitspanne von 80 Jahren.

Damit die Daten vergleichbar sind, mussten die Bilder georeferenziert werden. Das bedeutet, dass alle Bilder deckungsgleich zum Orthophoto sein mussten. Für die Auswertung, also die Flächenzählung, wurden die See- und Blattflächen umrandet und die interessanten Daten konnte ausgelesen werden. Jedes Bild lieferte dadurch einen Wert für die See- und einen für die Blattfläche.

4.2 Methode

4.2.1 Aufnahmen

Der Gräppelensee ist ein Natursee und liegt im Südwesten des Alpsteingebirges im Toggenburg. Er befindet sich in einem Tal, das parallel zum Thurtal verläuft und liegt auf Boden der Gemeinde Wildhaus-Alt St. Johann. Der See ist umgeben von einer Moorlandschaft. Diese entstand aufgrund von Ablagerungen der eiszeitlichen Grundmoräne, die das Tal abdichtete. Dadurch wurde die unterirdische Entwässerung verhindert und es entstanden Flachmoore in dieser Gegend. Diese Flachmoore sind von nationaler Bedeutung und stehen aus diesem Grund unter Naturschutz.



Abbildung 7: Blick auf den Gräppelensee vom zweiten Standort. Um den See ist die Moorlandschaft zu erkennen.

Der Gräppelensee ist einer der wenigen natürlichen Lebensräume der *Nuphar pumila* in der Schweiz, weshalb diese Population von grosser Bedeutung ist. Mit dem Monitoring können Aussagen über eine Gefährdung, einen Rückgang oder eine Ausdehnung der Population gemacht werden. Diese Aussagen sind wichtige Hinweise für die Erhaltung der natürlichen Standorte.

Lukas Comolli kristallisierte in seiner Maturaarbeit die relevanten Bedingungen heraus, um ein geeignetes Bild vom See zu erhalten. Zu diesen zählt eine grosse Entfernung, eine möglichst uneingeschränkte Sicht und möglichst viele Referenzpunkte, welche für die weiteren Auswertungen von Nutzen sind. Hinzu kamen noch weitere Faktoren, wie ein steiler Winkel auf den See und optimales Wetter. (Comolli, 2010) Um sicherlich genügend Referenzpunkte zu haben, wurden jeweils immer am selben Ort Markierungen um den See verteilt. In dieser Arbeit wurde nicht der von Lukas Comolli gewählte Standort verwendet, da dieser einen Nachteil hatte. Zwei Tannenspitzen verhinderten eine ideale Sicht auf den See. In der Arbeit von Timo Büchler wurde der Standort auf dem Lütispitz genutzt. Diesen Standort wurde auch in dieser Arbeit verwendet. (Büchler, 2011) Dieser hat zwar einen guten Sichtwinkel auf den gesamten See ohne Einschränkungen, jedoch ist die grössere Entfernung zum See sowie der Aufwand um auf den Gipfel zu gelangen ein Nachteil. Die Entfernung und die damit verbundene schlechtere Auflösung konnte mit einer passenden Kamera und dem optischen Zoom gut ausgeglichen werden. Die Wanderung, welche vom See auf den Lütispitz und zurück gut zweieinhalb Stunden beträgt, musste für jedes Foto absolviert werden.

Der Weg auf den Lütispitz führt am Ende über einen steilen, mit Gras bewachsenen Hang nach oben. Dieser letzte Abschnitt kann bei nassem Wetter sehr glatt und deshalb gefährlich sein. Ebenfalls bei Nebel war dieser Standort nicht ideal, da durch den Nebel die Sichtweite zu stark eingeschränkt wurde. Aus diesen Gründen wurde zwei Mal ein Foto von einem tiefer gelegenen Standort genommen, welcher freie Sicht auf den See hatte. (Abbildung 7) Wegen der kleinen Entfernung und dem flachen Winkel waren diese Bilder ungenauer beim Auswerten. Die grösste Schwierigkeit beim Zusammenstellen eines Jahresverlaufs war jedoch die Suche nach potentiellen Fahrern für den etwa einstündigen Weg. Dies ist auf die starke Abhängigkeit von schönem Wetter zurück zu führen, welches meistens nicht über längere Zeit geplant werden konnte. Insgesamt kamen neun Fotos in einem Zeitraum zwischen Juni und Oktober zusammen.

Für die Langzeitbeobachtung waren archivierte Luftbilder die Informationsträger. Schlussendlich standen mir 17 Bilder zur Verfügung. Die Informationsbeschaffung stellte sich als schwieriger heraus als anfangs erwartet und konnte erst mit der Teilnahme an Schweizer Jugend forscht fertig gestellt werden. Bei Abschluss der Maturaarbeit selbst waren zwei Orthophotos vorhanden. Das eine aus dem Jahr 2014, welches auch für den Jahresverlauf verwendet wurde und das andere aus dem Jahr 200. Das Ältere wurde für eine frühere Maturaarbeit der Kantonsschule Wattwil bereits einmal

verwendet. Durch einen Kontakt zu Christian Ginzler der WSL kamen weitere vier archivierte Orthophotos zusammen, diese aus den Jahren 1983, 1996, 2008 und 2011. Um eine wirklich aussagekräftige Arbeit zu erhalten, wurden noch weitere 11 Bilder bei swisstopo bestellt. So kamen 17 Orthophotos zusammen, welche Daten für die Langzeitstudie lieferten.

Für die Auswertung wurden alle Bilder des Jahresverlaufs mit dem Orthophoto georeferenziert. Dieses vom Kanton St. Gallen finanzierte Orthophoto wurde diesen Sommer am 31. Juli mit einer Drohne von der Schällibaum AG aufgezeichnet. Für diese Aufnahme wurden am Boden acht Markierungen gesetzt, welche exakt vermessen wurden, um anschliessend das gesamte Bild mit Koordinaten zu versehen (Abbildung 8). Mit der Drohne wurden insgesamt 143 Bilder aufgenommen auf einer mittleren Flughöhe von 50 m über Boden. Diese Bilder wurden von der Schällibaum AG zusammengetragen zu einem Bild, hervorging eine mittlere Pixelauflösung von 1.4 cm (Abbildung 9). Mit dieser Auflösung sind einzelne Schwimmblätter mühelos erkennbar, sofern nicht eine Bildüberlagerung vermessen werden muss. Diese Eigenschaft ist für die folgenden Auswertungen von Bedeutung.

Aufgrund des starken Nebels an diesem Tag konnte leider keine Vergleichsaufnahme vom Lütispitz gemacht werden. Mit einer solchen Vergleichsaufnahme liesse sich der Entzerrungsfehler berechnen.



Abbildung 8: Damit die Aufnahmen mit Koordinaten versehen werden konnten, mussten acht Markierungen am Boden gesetzt werden. Diese Markierungen mussten genau vermessen werden (links). Mit der Drohne (rechts) wurden mehrere Bilder aufgenommen und am Schluss zu einem einzigen Bild zusammengefügt, dem Orthophoto.

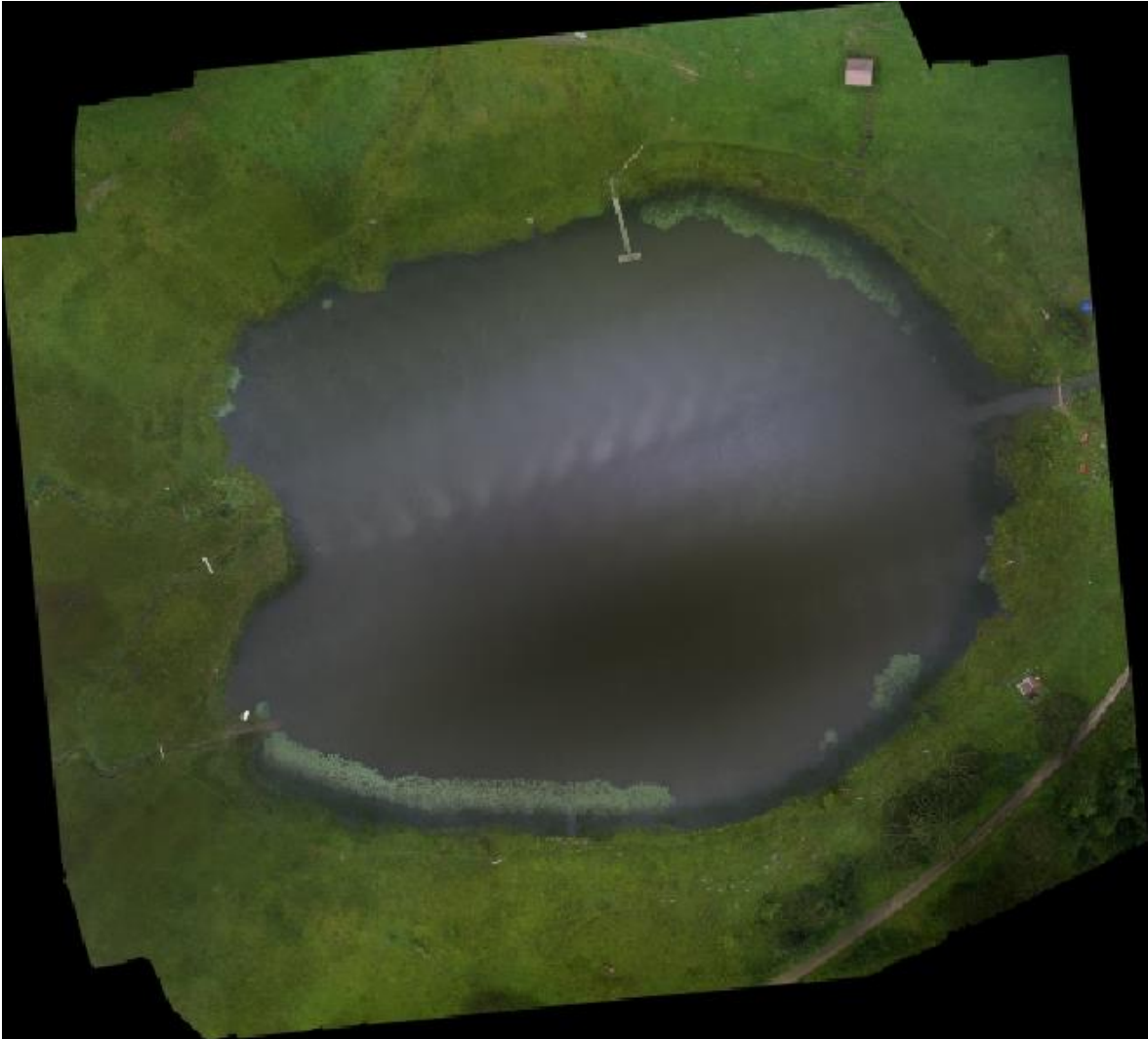


Abbildung 9: Orthophoto vom 31. Juli 2014. Diese Aufnahme diente als Referenz für den gesamten Jahresverlauf.

4.2.2 Auswertung

Das oben abgebildete Orthophoto war die Grundlage für die Auswertung. Dazu wurde es im Programm ArcMap von der Software GIS (Geografisches Informationssystem) geöffnet, da dieses Programm kann die Koordinateninformation, welche im Bild gespeichert sind, verwenden und aufzeigen. Im Programm wird es folglich maßstabsgetreu abgebildet.

Jede Aufnahme für den Jahresverlauf wurde mit 10 Punkten georeferenziert. Das bedeutet, dass das Programm jeden Punkt auf der selbstgemachten Aufnahme einem Punkt auf dem Orthophoto zuordnet (Abbildung 10).



Abbildung 10: Aufnahme vom 25 Juli 2014. Der See (links) ist verzerrt und kann deshalb in diesem Zustand nicht ausgewertet und verglichen werden. Diese Aufnahme wurde im Programm georeferenziert. (rechts). In diesem Schritt wurden die 10 Punkte der Aufnahme jeweils einem Punkt zugeordnet.

Mithilfe dieser Methode wurde die Verzerrung grösstmöglich verringert. Die Verzerrung kommt zustande, weil das Foto nicht direkt senkrecht, sondern schief aufgenommen wurde. Der daraus folgende Effekt lässt nähere Objekte grösser und entfernte kleiner erscheinen. Gut erkennbar ist dies an der Seefläche, welche nach der Entzerrung runder dargestellt wird. Die Population würde ohne diesen Schritt somit falsch eingeschätzt werden. Leider konnte mit dem Programm noch nicht die beste Entzerrungstechnik gefunden werden und es entstanden immer kleine Abweichungen zwischen den unterschiedlichen Standorten. Anfangs wurde angenommen, dieser Fehler könnte durch den Höhenunterschied der einzelnen Punkte zustande gekommen sein. Jedoch konnte nach einer Testauswertung, bei welcher nur Punkte auf derselben Höhe (direkt am Seeufer) verwendet wurden, keine Besserung erkannt werden. Der Höhenunterschied ist folglich nicht die Hauptursache für die falsche Entzerrung. Eine weitere Fehlermöglichkeit wurde in der Menge gewählter Punkte gesucht, leider wieder ohne Erfolg. Die Entstehungsursache des Fehlers wird momentan noch gesucht.

Nach der Entzerrung wurde im selben Programm die See- und Blattfläche bestimmt. Dazu wurde der Editor benötigt, mit welchem die Teilpopulationen beziehungsweise der See einzeln umrandet wurden. Die Umrandung bestand aus manuell gesetzten Punkten entlang des Farbunterschieds. Dargestellt ist dieses Verfahren in Abbildung 11. Die Seefläche ist dunkelblau eingezeichnet, während die Populationen hellblau gefärbt sind. Für die Auswertung wurden die Populationen in vier Hauptbereiche 1, 2, 3 und 4 unterteilt. Die Grenzen erzogen sich zwischen Steg und Brücke am anderen Ufer wie auch zwischen Zu- und Abfluss. Nummeriert wurde im Uhrzeigersinn, begonnen beim Zufluss. Innerhalb der Sektoren wurde jede einzelne abgeschlossene Schwimmblatdecke einzeln gewertet. Die Unterteile wurde vorwiegend bei der Langzeitstudie verwendet um die Populationsentwicklung aufzeigen zu können. Im Jahresverlauf dient sie der besseren Übersicht.



Abbildung 11: Bestimmung der Blatt- (hellblau) und Seefläche (dunkelblau) von der Abbildung 10. Die Blattflächen wurden zur besseren Übersicht in vier Hauptgruppen unterteilt.

Die Luftbilder wurden mit einem ähnlichen Verfahren bearbeitet. Der grosse Unterschied lag darin, dass die Luftbilder nicht mehr Entzerrt werden müssen. Im Programm GIS konnten sie mithilfe von acht Anhaltspunkten genau über die Karte gelegt werden (Abbildung 12). Die Karte wurde verwendet, da diese einen grösseren Ausschnitt als das Orthophoto hat wodurch die Anhaltspunkte grösser verteilt werden konnten. Mit diesem Schritt sollte der Fehler möglichst klein gehalten werden. Um so auswerten zu können, muss jedoch angenommen werden, dass Anhaltspunkte wie Strassen und Brücken nicht versetzt wurden. Neuere Bilder konnten mithilfe dieser Annahme problemlos entzerrt werden. Bei älteren Bildern waren jedoch weniger solcher Anhaltspunkte ersichtlich oder es war unsicher, ob jene bis heute gleich sind. Die Ungenauigkeit bei diesen Bildern ist deshalb grösser. Sobald die Bilder deckungsgleich waren, konnten die Flächen bestimmt werden. Hierfür wurde dieselbe Methode verwendet wie beim Jahresverlauf. Der See wurde in vier Hauptgruppen geteilt und die darin enthaltenen Populationen durchnummeriert.

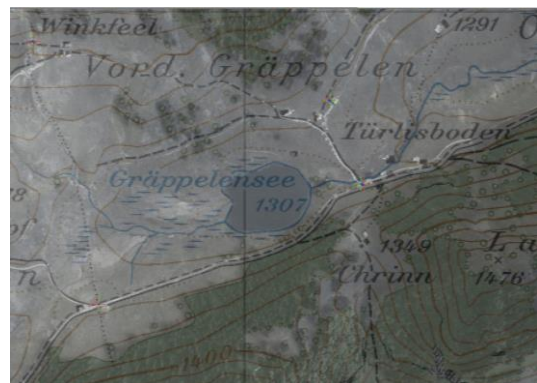


Abbildung 12: Überlagerung der Luftbilder auf die Karte. Das linke Bild ist aus eine georeferenzierte Aufnahme aus 1983 (an Koordinaten angepasst), während das rechte aus 1984 entzerrt werden musste. Bei beiden Bildern liegen die Gräben und Strassen sehr genau übereinander. Das deutet auf eine genaue Auswertung hin.

4.3 Resultate

Die Auswertung setzt sich aus den drei Teilen Orthophoto, Jahersverlauf und Langzeitstudie zusammen. Die Auswertungen des Orthophotos umfasste eine genaue Datenerhebung der maximalen Populationsgrösse. Die hohe Auflösung ermöglichte eine Zählung der Blätter. Kleine abgeschlossene Schwimmblattflächen wurden ganz ausgezählt, für die grossen wurde mithilfe von drei Zählungen eine mittlere Blattdichte bestimmt. Im Diagramm (Abbildung) sind nur die mittlere Blatt- oder Blütendichte angegeben, wenn mit dieser hochgerechnet wurde, ansonsten ist nur die ausgezählte Anzahl aufgelistet. Zusammen ergab das eine Anzahl Blätter von $124'781 \pm 5'787$ und eine Anzahl Blüten von $3'654 \pm 24$. Der selbsteingeschätzte Fehler umfasste die maximale Abweichung zur durchschnittlichen Blattdichte bzw. Blütendichte pro Quadratmeter.

	Fläche	Blätter/m ²	Anzahl Blätter	Blüten/m ²	Anzahl Blüten
1a	11.62	110	1278.18	4	46.48
1b	12.15	110	1336.67	4	48.61
1c	3.81		200.00		24.00
2a	356.31	80	28504.87	3	1068.93
2b	7.16	80	572.58	3	21.47
2c	0.51		41.00	3	1.52
3a	3.18		150.00		9.00
3b	15.82	100	1582.44	4	63.30
3c	88.83	100	8882.89	4	355.32
3d	11.71		300.00		50.00
4a	644.05	125	80506.54	3	1932.16
4b	0.69		25.00		0.00
4c	11.00	125	1375.32	3	33.01
4d	0.59		25.00		0.00
Summe:	1167.43		124780.50		3653.79

Abbildung 13: Auswertung des Orthophotos, die Blatt- und Blüten wurde hierbei bestimmt.

Neben dem Orthophoto wurden die Aufnahmen aus dem Jahr 2014 ausgemessen. Bei der ersten Aufnahme vom 12. Juni 2014 waren noch keine Schwimmblätter zu erkennen. Erst ab der zweiten Aufnahme vom 22. Juni. Die darauffolgende Messung ergab bereits einen maximalen Flächenwert. Dieser bleibt für längere Zeit ungefähr gleich. Ein konstantes Stadium erreichte die *Nuphar pumila* zwischen Juni und Mitte September. Mitte September bildeten sich die Blätter zurück, so dass im Oktober die Zersetzung abgeschlossen ist und keine Blätter mehr zu sehen sind. Zusammengefasst bildet die Kleine Teichrose im Gräppelensee innerhalb eines Monats ihre gesamte Schwimmblattfläche. Diese hielt sie während des Sommers für zweieinhalb Monate ungefähr stabil und begann Mitte September mit der Zersetzung. Anfangs Oktober ist die Zersetzung abgeschlossen. In der folgenden Abbildung (Abbildung 14) ist dies ersichtlich. Die Daten vom 31. Juli stammen aus dem Orthophoto und sind somit genauer. Die zwei Messungen vom 23. August und dem 13. September mussten aufgrund des schlechten Wetters vom 2. Standort gemacht werden. Im Entzerrungsschritt entstand somit ein Fehler, welcher noch nicht behoben werden konnte und zu grosser Ungenauigkeit führt (graue Linie umfasst alle Datenpunkte). Im Weiteren werden meist nur die Daten des 1. Standortes miteinander verglichen (schwarze Linie).

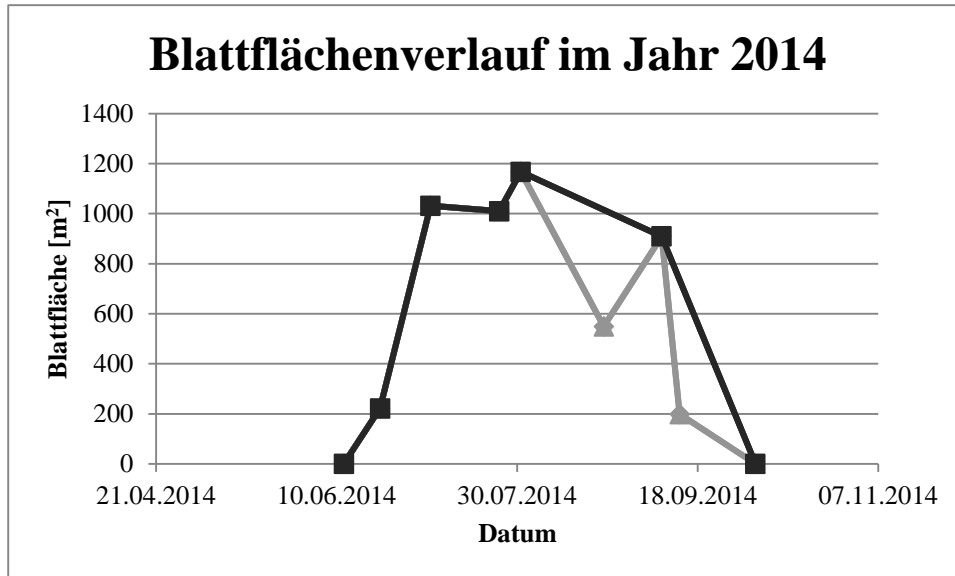


Abbildung 14: : Blattflächenverlauf im Jahr 2014. Die schwarze Lini stellt die Daten der Lütispitzaufnahmen dar. Diese wurden auch für die weitere Auswertung verwendet. Die graue Linie zeigt alle Auswertungen.

Für die nächste Grafik wurden alle Flächen auf diejenige des Orthophotos hochgerechnet, um sie vergleichen zu können. Der Fehler welcher in Abbildung 15 eingetragen ist, besteht aus dem statistischen und dem systematischen Fehler. Der statistische Fehler errechnete sich aus vier Messungen desselben Datums. Hierfür wurde nacheinander dasselbe Foto vollständig bearbeitet, das heisst mit Entzerrung und Flächenberechnung. Aus diesen Differenzen wurde der Vertrauensintervall von 68.3% berechnet. Um diesen Fehler möglichst gering zu halten, wurden alle Aufnahmen direkt nacheinander bearbeitet und immer in derselben Reihenfolge. Somit waren gewisse Unsicherheiten bei den Übergängen überall möglichst gleich. Mit 68.3% Wahrscheinlichkeit befindet sich die wirkliche See- oder Blattfläche in einer Spannbreite von $\pm 68\text{m}^2$. Der systematische Fehler umfasst minimal und maximal Messungen. Das sind Messungen, bei denen die Extremwerte angenommen werden. Dieser Schritt war notwendig, da die Farbunterschiede nicht immer sehr klar einzuordnen sind. In den Aufnahmen ist der Übergang als ein Farbverlauf erkennbar, somit nicht immer klar ist, was Wasser- bzw. was Blattfläche ist. Das Seemaximum beispielsweise wurde als möglichst grosse Fläche gewertet, also der äussere Rand des Farbübergangs. Diese Ungenauigkeit der Unterteilung ist in diesem Fehler enthalten. Dasselbe wurde je zweimal für das Maximum und fürs Minimum gemacht. Zusammen ergab sich eine grosse Spannbreite, welche den schlimmst möglichen Fall beschreibt. Dieser Fehler belief sich auch 134m^2 . Addiert ergibt es einen Fehler von 202m^2 . Mit der Fläche des Orthophotos ergäbe dies eine Abweichung von 17%. Da dies jedoch Extremwerte sind, wurde für die Grafik ein Fehler von 10% eingezeichnet.

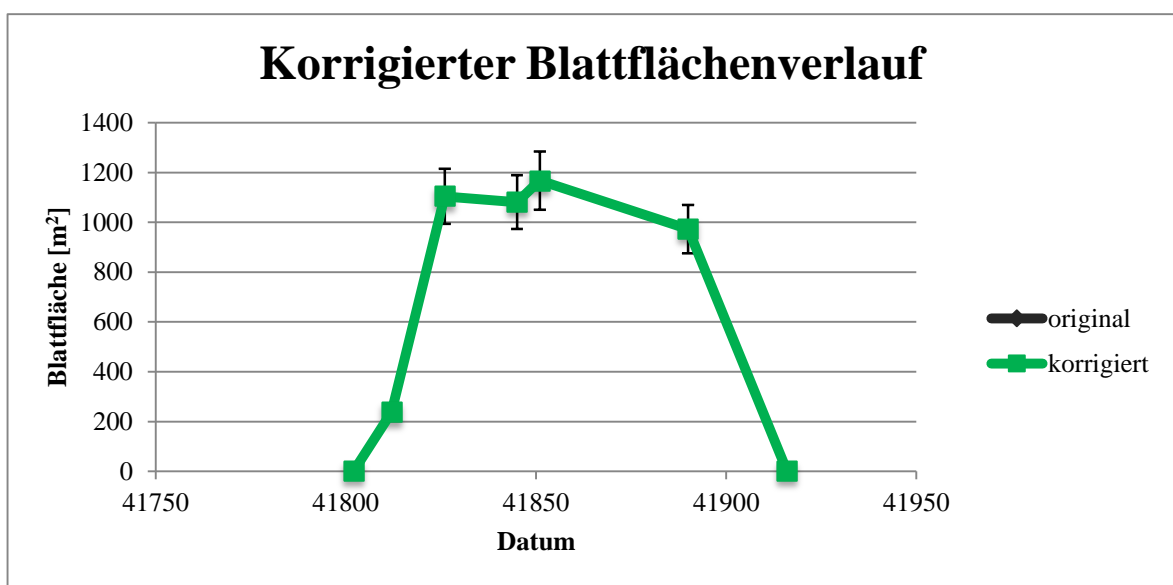


Abbildung 15: Korrigierter Blattflächenverlauf im Jahr 2014. Die grünen Punkte umfassen den verbesserten Wert. Die schwarze Linie zeigt die verwendeten original Datenpunkte aus Abbildung 14.

Um diesen Jahresverlauf zu veranschaulichen, wurden alle See- und Blattumrandungen in einem Bild zusammengetragen (Abbildung 16). Die obere Abbildung stellt nur jene Daten dar, welche vom 1. Strandort aufgenommen wurden. Diese Angaben sind auch untereinander vergleichbar. Die gute Überlagerung der Bilder spricht für eine gelungene Entzerrung. Die kleinen Abweichungen wie unten links sind wetterbedingt, bei strahlendem Sonnenschein reflektiert der See stärker, so dass auch dichtbewachsene Stellen eindeutig dem See zugeordnet werden können. Der Zeitverlauf in dieser Abbildung ist durch den Farbverlauf gegeben. Die erste Aufnahme ist Violett und durchgeht die Farbe blau bis die letzte Aufnahme grün abgebildet ist. Die hellrosa umrandete Population wurde am 22. Juni vermessen. Erkennbar sind die einzelnen Fragmente, welche die Population zu Beginn bildet. Bei den weiteren Aufnahmen sind diese Einzelteile zusammen gewachsen und nicht mehr zu sehen. Daraus lässt sich schliessen, dass die Pflanze viele alleinstehende Triebe bildet, somit kann sie in kurzer Zeit die gesamte Breite bewachsen. Später können sich die Blätter verdichten um genügend Energie zu gewinnen während den zweieinhalb Monaten. Diese Energie kann sie in den Rhizomen speichern indem diese wachsen. Genauso die Energie, welche die Blätter bei ihrer Zersetzung anfangs Oktober zurückgibt, kann gespeichert werden.

Unten in Abbildung 16 sind alle neun ausgewerteten Aufnahmen. Zwei der Aufnahmen wurden vom 2. Standort gemacht (gelb, grün), trotz der Entzerrung konnten sie nicht richtig an die Seefläche angepasst werden. Aus diesem Grund scheinen die Daten nicht korrekt zu sein und es wurden die Lütispitzaufnahmen für die weiteren Auswertungen verwendet.

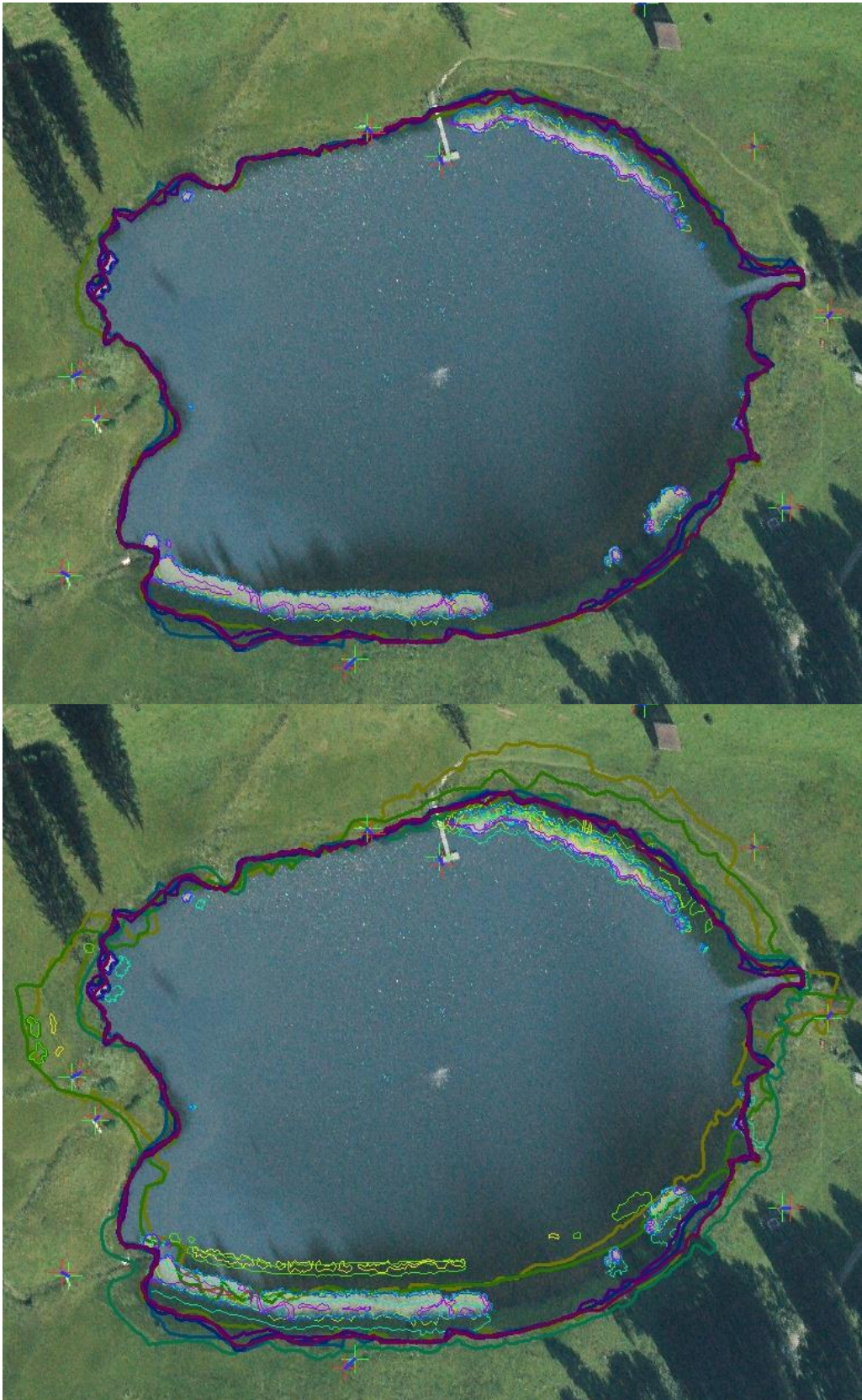


Abbildung 16: Veranschaulichung des Jahresverlaufes. Oben: nur die Daten wurden aufgezeichnet, welche am 1. Standort aufgenommen wurden. Der Farbverlauf (rot über blau zu grün) zeigt den Zeitverlauf der Aufnahmen.
Unten: alle gesammelten Daten zusammengefasst. Gut erkennbar sind die starken Abweichungen (grün und gelb) des 2. Standortes.

Neben dem Jahresverlauf wurde eine Langzeitstudie angefertigt. Diese umfasst Daten aus 17 Luftbildern. (Abbildung 18). Die Schwankungen der Blattflächen sind auf die jährlichen Schwankungen, die Fluktuation zurückzuführen. Das bedeutet, dass in diesem Diagramm die Jahreszeiten nicht berücksichtigt wurden. Im Diagramm unterhalb ist die Seefläche dargestellt. Diese schwankt aus diversen Gründen. Ein regnerisches Frühjahr führt dazu, dass der See mehr Wasser fasst. Ebenso beeinflusst die Verschmutzung des Sees den Wasserstand. Ist der Abfluss gesperrt oder nur schwer durchfließbar, steigt der Wasserstand. Diese jährlichen oder teilweise wöchentlichen Veränderungen konnten nicht berücksichtigt werden in dieser Darstellung. Um 1983 wurde Wasserschwelle beim Abfluss gebaut. Diese kontrolliert die abfließende Wassermenge mithilfe eines ganz einfachen Prinzips. Die Schwelle hat eine bestimmte Höhe und das Wasser kann nur abfließen, wenn es über der Schwelle ist. Der Nachteil ist, dass Äste oder andere Verunreinigungen den Abfluss immernoch verhidnern können. So konnte der Wasserstand stabilisiert werden, dennoch bleibt er stark vom Wetter anhängig.

Der Fehler in dieser Studie setzte sich zusammen aus dem systematischen Fehler von 74m^2 und dem statistischen Fehler von 187m^2 . Dieser kam genau gleich wie jener des Jahresverlaufes zusammen. Als Fehlerjahr wurde das Jahr 1971 gewählt, da das etwa in der Mitte ist und auch etwa von mittlerer Qualität. Addiert gibt das einen Fehler von 261m^2 . In den Diagrammen verwendete ich wieder aus dem Grunde, dass dies die Extremwerte sind, einen Fehler von 15%.

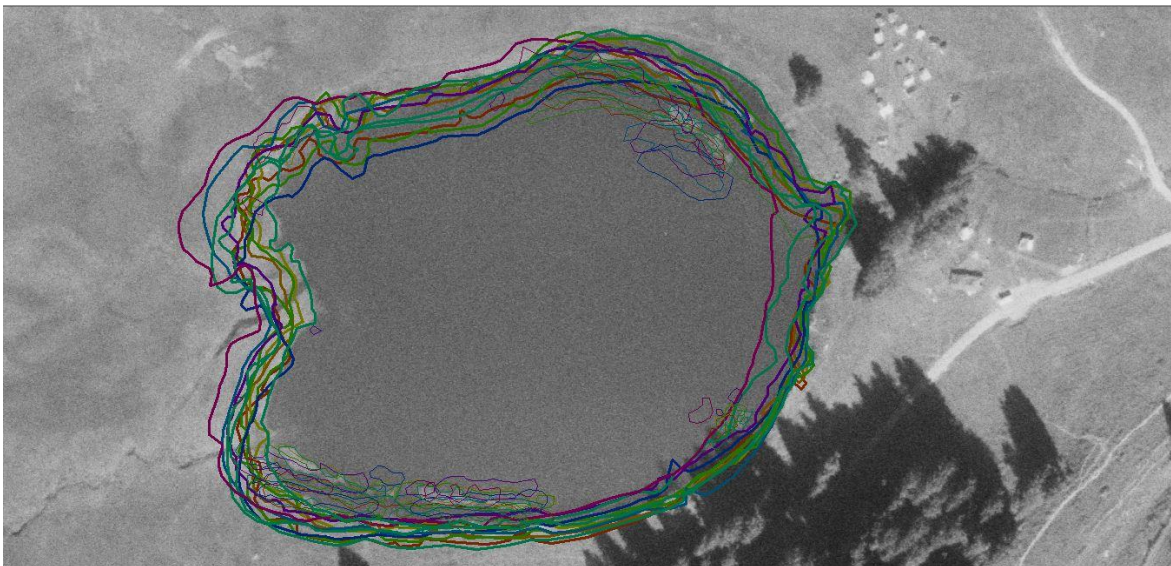


Abbildung 17: Alle Daten der Langzeitstudie zusammengefasst im Luftbild aus 1978. Die ältesten Luftbilder sind violett und gehen über blau nach grün zu den neueren.

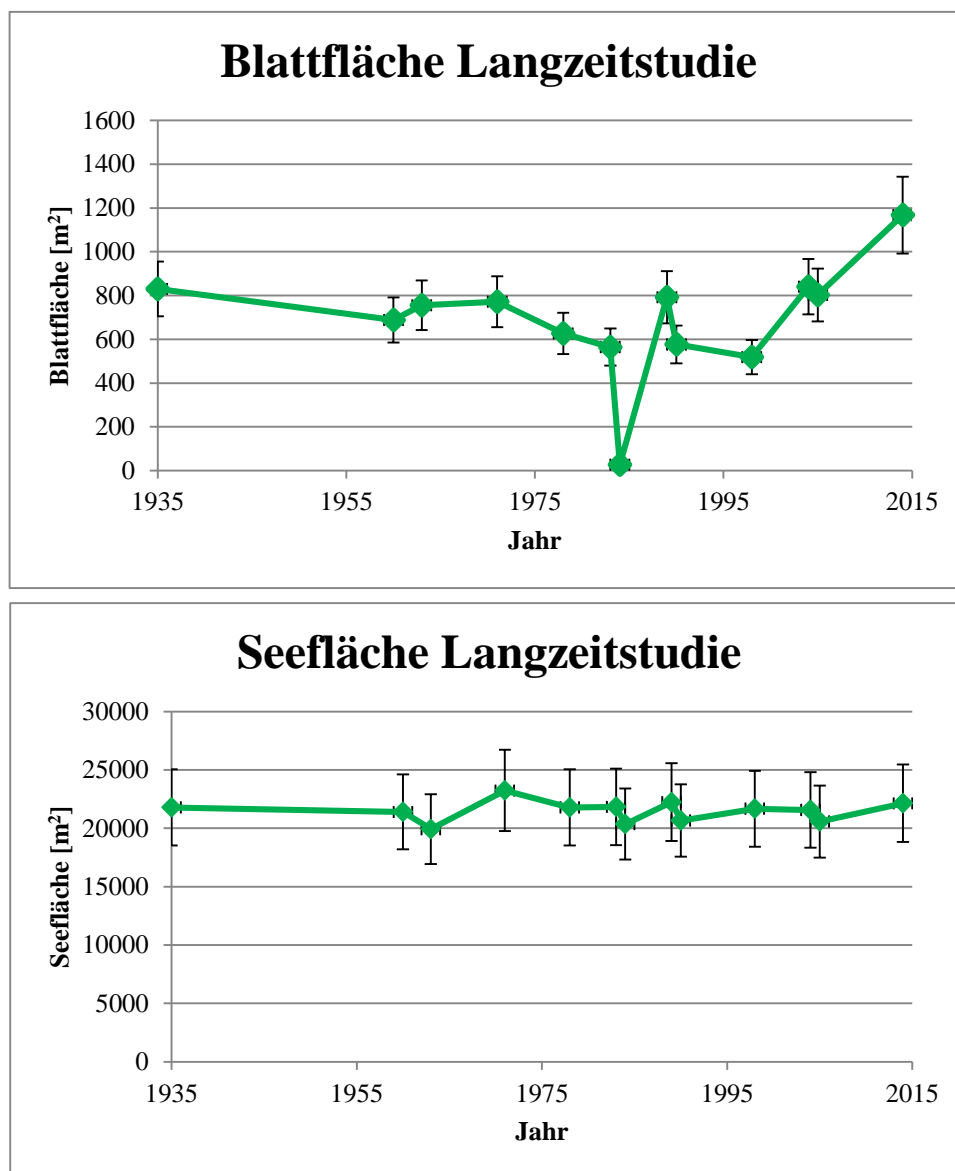


Abbildung 18: Daten der Langzeitstudie umfassen 17 Luftbilder. Im oberen Diagramm ist die Blattfläche erkennbar. Die Schwankungen sind auf die Fluktuation zurückzuführen. Das untere Diagramm enthält die Seefläche. Diese Schwankungen sind einerseits Wettereinflüsse und andererseits auf die 1983 gebaute Wasserschwelle zurückzuführen.

Alle Umrandungen der Flächen zusammengetragen ergeben diese Farbverläufe. Vor 80 Jahren waren aufgrund der Auflösung und möglicherweise gewissen wetterbedingten Einflüssen nur wenige *Nuphar pumila*-Schwimmblätter erkennbar. Zudem ist seit Beginn der Sektor Nummer zwei und vier von Vorkommen bedeckt, im Sektor drei jedoch war lange nichts zu sehen. Dies könnte jedoch auch auf die Tannen zurückzuführen sein, welche Schatten warfen an dieser Stelle. Sektor eins wurde erst gegen heute besiedelt, oder erst mit heutiger Auflösung sind Blätter erkennbar. Die Unterteilung der Bildauswertung in eine vor 1978 und eine nach 1978 lässt den Bau der Wasserschwelle erkennen. Der Bau um 1983 sorgte für einen konstanteren Wasserstand, deshalb sind diese Seeflächen stärker beieinander und die Seeform ist nicht so stark vom Wetter abhängig. Für die Kleine Teichrose ist ein konstanter Wasserstand wichtig, um sich zu entwickeln. Die Blatt-, Früchte, und Blütenstiele nehmen eine feste Länge an und können nur auf kleine Änderungen reagieren. Ist der Wechsel des Standes zu gross, tauchen die Blätter unter und können nicht von der Kamera erfasst werden. Deshalb ist die Wahrscheinlichkeit höher, dass vor 1978 untergetauchte Blätter nicht wahrgenommen wurden.

Zusammengefasst hat sich die Seefläche nicht stark verändert. Vor 1983 schwankte sie etwas mehr, was auf die Wasserschwelle zurückzuführen sein könnte. Dank dieser Wasserschwelle konnte sich die *Nuphar pumila* an einen ungefähr konstanten Wasserspiegel anpassen. Dies könnte ein weiterer Grund sein, weshalb heute mehr Blätter zu sehen sind.



Abbildung 19: Aufteilung der Daten der Langzeitstudie. Links sind alle Daten ab 1978 und rechts sind die Flächenumrandungen zwischen 1935 und 1978. Kurz nach 1978 wurde eine Wasserschwelle gebaut, welche den Wasserstand konstant hält. Diese Erneuerung ist gut erkennbar in der Übereinstimmung der Flächen.

Die jährlichen Schwankungen wurden im Jahresverlauf festgehalten. Mithilfe dessen und den Angaben zu den Flugzeiten konnte der Zeitpunkt innerhalb der Entwicklung festgelegt werden. Im Jahresverlauf wurde für jeden Datenpunkt der prozentuale Anteil zur maximalen Fläche errechnet. Für die Datenerhebung wurde angenommen, dass sich im Zeitraum zwischen den Fotos die Fläche linear entwickelt. Mit dieser Annahme konnte für jeden Zeitpunkt ein Prozentsatz ermittelt werden. Der Prozentsatz wurde dann mit der Fläche multipliziert und man erhält die somit errechnete maximale Fläche. Das Problem dieser Methode besteht darin, dass der Beginn der Blattbildung nicht immer zur selben Zeit stattfindet. Das ist auf die Wassertemperatur zurückzuführen, bei einem milden Winter und somit verbundenen warmen Temperaturen setzt die Schwimmblattproduktion früher ein. Ein weiterer Fehler ist die Annahme einer linearen Zunahme. Der Extremwert aus dem Jahr 1983 ist auf die jährlichen Unterschiede zurückzuführen. Die Aufnahme wurde im September, während der Zersetzung der Blätter gemacht. Wie im Jahresverlauf ersichtlich ist (Abbildung 15), ist innerhalb eines Monats die Zersetzung abgeschlossen. Eine frühere Zersetzung beispielsweise einer Woche führt zu einer enormen Verfälschung der Daten. Bei der Annahme einer linearen Abnahme bewirkt eine Woche eine Fläche von 125% der eigentlichen maximalen Fläche. Ein Fehler in dieser Darstellung umfasst viele unterschiedliche Faktoren, welche nicht alle bekannt sind.

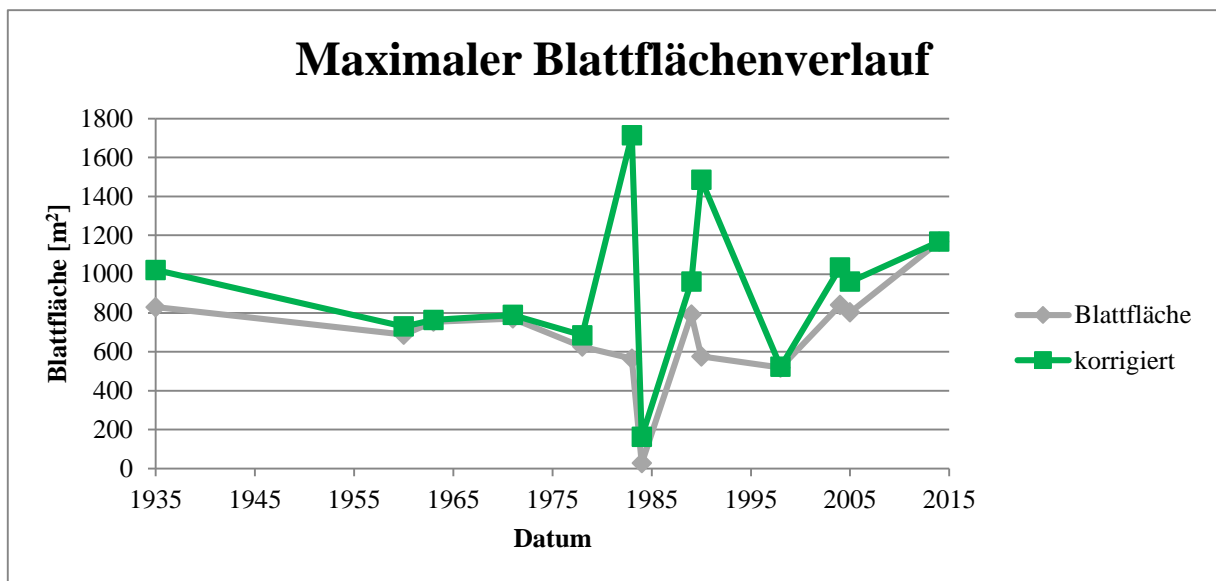


Abbildung 20: Korrigieren der jährlichen Schwankungen mithilfe der Angaben des Flugdatums.. Die erhaltenen Daten wurden auf die Maximalfläche umgerechnet mit der Annahme, dass jedes Jahr zur selben Zeit denselben Zyklus durchläuft. Dieser Auswertungsschritt ist sehr fehleranfällig und die Daten daher mit Vorsicht zu analysieren.

4.4 Fazit

Die Rarität hat sich im Gräppelensee über die letzten fast 100 Jahre gut entwickelt und weist keine Anzeichen einer Gefährdung auf. Der Stand ist auf einem sicheren Niveau stabil. Genaue Angaben zu einer Populationsvergrößerung oder –verkleinerung können nicht gemacht werden, da die Fehler der Aufnahmen zu gross sind um eine klare Tendenz herauslesen zu können. Es ist jedoch zu erkennen, dass die Kleine Teichrose seit Beginn der Aufzeichnung eine breite Fläche im See besiedelt, was annehmen lässt, dass sie seit Längerem dort anzutreffen ist. Aus dem Jahresverlauf ist zu erkennen, dass die Pflanze zu bereits zu Beginn eine sehr breite Fläche besiedelt und im Verlaufe des Sommers diese verdichtet, wobei die mittlere Anzahl Blätter pro Quadratmeter im Gräppelensee bei ungefähr 100 Blättern liegt. Die Zersetzung dauert etwa einen Monat, dannach ist von der Art nichts mehr zu sehen. Im Vergleich zu anderen Populationen scheint jene im Gräppelensee sehr vital und ohne Hybridisierungen zu sein. Eine Bestätigung oder ein Wiederruf dazu ist nach den molekulargenetischen Analysen möglich. Allgemein kann gesagt werden, dass der Gräppelensee ein optimaler Lebensraum für die Kleine Teichrose ist und es zuzeit keine Anzeichen eines Widerspruches dazu gibt.

Was die Situation gesamtschweizerisch betrifft, bleibt die Kleine Teichrose selten. Obwohl einige Neuansiedlungen geplant und durchgeführt wurden, geht die Pflanze meist nach zwei Jahren wieder ein. Dies zeigt, wie wichtig es ist, die bestehenden Vorkommen zu schützen. Es ist jedoch schwierig eine Pflanze zu schützen, ohne genaueres von ihr zu wissen. Aus diesem Grund ist jedes Projekt über sie von grossem Nutzen. Die in dieser Arbeit erlangten Daten einer bestimmten Population sowie die folgenden molekulargenetischen Analysen werden aufzeigen, für welche Populationen besonders geachtet werden muss und welche bereits keine reinen *Nuphar pumila* mehr enthalten. Mit Abgabe dieser Arbeit ist das Projekt zur Kleinen Teichrose noch nicht abgeschlossen und es werden noch einige Daten zusammenkommen. Zu diesen Daten gehören die Auswertungen und Resultate der molekulargenetischen Analysen. Diese geben Aufschluss über die Notwendigkeit von zukünftigen Handlungen zum Schutz der Art.

Quellenverzeichnis

- anonym. (kein Datum). *Cabomba-aquatica: Wasserpflanzen: Flowgrow*. Abgerufen am 26. Oktober 2014 von Flowgrow: <http://www.flowgrow.de/db/wasserpflanzen/cabomba-aquatica>
- Arrigo, N. (21. Juli 2014). Laboranleitung für den Extraktionsroboter. *Extraction ADN au robot*. Lausanne.
- Arrigo, N. (Stand: 20. Oktober 2014). Zusammenfassung der Laborarbeit.
- Berry, P. E. (kein Datum). *Projects: Encyclopaedia Britannica*. Abgerufen am 16. Oktober 2014 von Encyclopaedia Britannica: <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/423200/Nymphaeales>
- Bilz, M., Kell, S., Maxted, N., & Lansdown, R. (2011). *European Red List of Vascular Plants*. Luxembourg: Publications Office of the European Union.
- Breukel, H. (2010). *Nuphar japonica var. rubra: Nuphar: Gattung Nymphaea: Seerosenforum*. Abgerufen am 28. Oktober 2014 von Seerosenforum: <http://www.seerosenforum.de/Gattung/Nuphar/NupharJaponicaRubra/NupharJaponicaRubra.aspx>
- Breukel, H. (kein Datum). *Register der Nymphaeaceen: Seerosen.org*. Abgerufen am 25. Februar 2015 von Seerosen.org: <http://www.seerosen.org/Seerosen-A/AlbaVarMinor/Nymphaea-alba-minor.aspx>
- Büchler, T. (2011). *Ex-situ Auspflanzungsversuch und Monitoring der Kleinen Teichrose (Nuphar pumila)*. Wattwil.
- Comolli, L. (2010). *Möglichkeiten für ein Monitoring des Teichrosenbestands (Nuphar pumila) im Gräppelensee*. Wattwil.
- Dumortier. (20. Oktober 2014). *Nymphaeales: apweb: Research: Missouri Botanical Garden*. Abgerufen am 23. Oktober 2014 von Missouri Botanical Garden: <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APWeb/orders/nymphaealesweb.htm#Nymphaeales>
- Eggenberg, S., & Keel, A. (2004). *Aktionsplan Kleine Teichrose (Nuphar pumila [Timm] DC.)*. Zürich: Fachstelle Naturschutz Kanton Zürich.
- Eggenberg, S., & Kozłowski, G. (2002). *Artenschutzkonzept Kleine Teichrose Nuphar pumila [Timm]DC. Kanton Sankt Gallen*. Bern.
- Garden, U. B. (kein Datum). *Hydatellaceae: Web Articles: Resources and Writings: UBC Botanical Garden and Center for Plant Research*. Abgerufen am 26. Oktober 2014 von UBC Botanical Garden and Center for Plant Research: <http://www.botanicalgarden.ubc.ca/articles-old/6//>
- Info Flora /GEOSTAT. (03 2013). *Nuphar pumila: Karte*. Abgerufen am 23. 06 2014 von Info Flora/GEOSTAT: <http://www.infoflora.ch/de/flora/113-nuphar-pumila.html#map>
- Info Flora/GEOSTAT. (03 2013). *Nuphar pumila: Karte*. Abgerufen am 23. 06 2014 von Info Flora/GEOSTAT: <http://www.infoflora.ch/de/flora/113-nuphar-pumila.html#map>
- Käsermann, C., & Moser, D. M. (1999). *Merkblätter Artenschutz, Blütenpflanzen und Farne*. Bern: Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL).
- Kozłowski, G., & Eggenberg, S. (2005). Vorkommen der Kleinen Teichrose *Nuphar pumila* und des Hybrids *N. x intermedia* in der Schweiz. *Botanica Helvetica*, 115 (2), S. 125 - 136.
- Nicholl, D. (2002). *Gentechnische Methoden*. (R. FritzRoy, & K. Beginnen, Übers.) Berlin: Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg.
- Nymphaeaceae: Kompaktlexikon der Biologie: Lexika: Spektrum.de*. (kein Datum). Abgerufen am 14. Oktober 2014 von [spektrum.de](http://www.spektrum.de): <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/nymphaeaceae/8286>

Picks, V. (kein Datum). *Victoria amazonica: botanicalgarden.ubc*. Abgerufen am 26. Oktober 2014 von Botanical Garden and Centre for plant research: <http://www.botanicalgarden.ubc.ca/potd/2012/10/victoria-amazonica.php>

Salisbury. (20. Oktober 2014). Abgerufen am 23. Oktober 2014 von <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APWeb/orders/nymphaealesweb.htm#Nymphaeaceae>

Stevens, P. (20. Oktober 2014). *Nymphaeaceae: Angiosperm Phylogeny Website*. Abgerufen am 23. Oktober 2014 von Angiosperm Phylogeny Website: <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APWeb/orders/nymphaealesweb.htm#Nymphaeaceae>

swisstopo, B. f. (kein Datum). *LUBIS-Viewer: Interaktive Anwendungen: Swisstopo admin*. Abgerufen am 30. September 2014 von Swisstopo admin: http://map.geo.admin.ch/?topic=swisstopo&catalogNodes=1044,1067&X=230604.64&Y=740064.00&zoom=8&lang=de&bgLayer=ch.swisstopo.pixelkarte-grau&layers=ch.swisstopo.lubis-luftbilder_schwarzweiss,ch.swisstopo.lubis-luftbilder_farbe

Wilstermann-Hildebrand. (kein Datum). *Nuphar - Teichrosen oder Mummeln: Teichpflanzen: Heimbiotop*. Abgerufen am 28. Oktober 2014 von Heimbiotop: <http://www.heimbiotop.de/nuphar.html>

Anhang

A. Selbstständigkeitserklärung

Bestätigung

Ich habe diese Maturaarbeit unter Benützung der angeführten Quellen selbstständig entworfen, abgefasst, gestaltet und geschrieben.

Ort, Datum

Unterschrift

B. Luftbilder Daten

Num- mer	Herkunft	Aufnahme	Flugdatum
1	Swisstopo	Luftbild	02-09-1935
2	Swisstopo	Luftbild	11-08-1960
3	Swisstopo	Luftbild	02-08-1963
4	Swisstopo	Luftbild	27-07-1971
5	Swisstopo	Luftbild	15-08-1978
6	WSL Ginzler	Orthophoto	23-09-1983
7	Swisstopo	Luftbild	20-06-1984
8	Swisstopo	Luftbild	31-08-1989
9	Swisstopo	Luftbild	25-06-1990
10	WSL Ginzler	Orthophoto	23-07-1996
11	Swisstopo	Luftbild	30-07-1998
12	Swisstopo	Luftbild	02-09-2004
13	Swisstopo	Luftbild	29-08-2005
14	WSL Ginzler	Orthophoto	2008
15	Frühere Maturaarbeit	Orthophoto	2009
16	WSL Ginzler	Orthophoto	2011
17	Diese Maturaarbeit	Orthophoto	31-07-2014

C. Molekulargenetische Analysen

a) Intro

Um eine Pflanze eindeutig bestimmen zu können, wird meistens auf genetischen Analysen zurückgegriffen. Dazu werden von unterschiedlichsten Populationen Proben zum Vergleichen benötigt. Diese werden mithilfe von Silicagel getrocknet und dadurch für längere Zeit haltbar gemacht. Bei dieser Methode wird ausschliesslich das Wasser aus den Pflanzenproben gezogen, was eine Zersetzung der Pflanzen verhindert, das Genom bleibt unbeschädigt vorhanden. Für die weitere Untersuchung wird das Erbgut bestimmt, dadurch lassen sich verschiedene Arten abgrenzen wie auch deren einzelne Individuen. Im Projekt ist diese Methode ausserordentlich wichtig, um Verwandtschaften zwischen den Standorten zu erkennen. Je ähnlicher das Erbgut zweier Populationen ist, desto näher verwandt sind sie. Dies ist zurückzuführen auf die Mutationen in einem Individuum. Dabei gibt es RNA-Sequenzen, die häufiger Mutationen aufweisen, solche sind bereits innerhalb einer einzelnen Pflanze zu erkennen, andere lassen sich beinahe nicht verändern, diese sind bei jeder Pflanze einer Gattung gleich. Um Differenzen innerhalb einer Art zu finden, muss zuerst eine Sequenz gefunden werden, die sich nicht zu häufig verändert und dennoch die einzelnen Populationen kennzeichnen kann. Das Finden dieser Sequenz ist die Aufgabe vom Labor. Sobald diese Sequenz gefunden wurde, kann mit Hilfe eines Primers bei jeder Probe genau dieser Abschnitt transkribiert werden. Dieser Primer bindet an der bekannten vorher ausgewählten mRNA-Sequenz der Proben. Im PCR wird diese Sequenz nun so häufig vermehrt bis die restliche mRNA nur noch einen Bruchteil der gesamten vermehrten mRNA darstellt. Diese Vermehrung wird durch gezielte Temperaturveränderungen hervorgerufen. Diese vermehrten Sequenzen werden nun auf ihre Basenpaare bestimmt. Sobald jede Probe bestimmt wurde, können sie miteinander verglichen werden. Dabei werden die Unterschiede innerhalb einer Population genauer betrachtet wie auch jene zwischen mehreren Populationen. Diese Resultate werden anschliessend meist in Diagrammen dargestellt, welche dann in einem Bericht zu lesen sind.

a) Methode

i) Probensammeln

Für die molekulargenetischen Analysen wurden so viele Proben wie möglich in der Schweiz gesammelt. Zum einen waren dies die natürlichen Vorkommen und zum andern die Erhaltungs- oder Aufzuchtpopulationen in den Gärten. In der Schweiz wurden insgesamt sieben Wildstandorte besucht und jeweils mehrere Proben entnommen, ebenfalls wurden im Ausland natürliche Fundorte besucht, um somit eine bessere Aussage zur Verbreitung und Herkunft machen zu können. Der Beitrag dazu, welcher von mir ausgeführt wurde, war das Sammeln im Kanton Zürich und St. Gallen, dies umfasst den Gräppelensee, den Birchweiher, den Erliweiher, den Kämmoosweiher wie auch den Lützelsee, wobei im letzteren keine reinen *Nuphar pumila* Bestände mehr vorhanden sind, sondern nur noch *Nuphar lutea* und der Hybrid *Nuphar x intermedia*.

Daneben wurden auch die botanischen Gärten der Schweiz angefragt, ob sie eine Erhaltungskultur der Kleinen Teichrose bei sich halten. All jene, welche im Besitz davon waren, wurden von mir aufgesucht um in gleicher Weise Proben zu sammeln. Dazu wurden sie aufgefordert, ein Fragebogen über ihre Population und dessen Herkunft auszufüllen, um später die Ergebnisse, welche von den molekulargenetischen Analysen kommen, besser verstehen zu können. Dieser Fragebogen wurde anschliessend zusammengefasst wie in Abbildung 21.

Population	Herkunft	Alter
Botanischer Garten		
Fribourg	Lac de Jones	unbekannt
Zürich 1	Gräppelensee	unbekannt
Zürich 2	Kämmoosweiher	unbekannt
St. Gallen	Kämmoosweiher	8. Mai 1974
Lausanne	Lac de Jones	1. Juli 1994
Aufzuchtkultur		
Gärtnerei Rosengarten Uster	Kämmoosweiher	Sommer/Herbst 2012
Gartenanlagen Wangen	Kämmoosweiher	Frühling/Sommer 2014

Abbildung 21: Auflistung der besuchten Aufzucht- und Erhaltungskulturen der *Nuphar pumila* mit deren Herkunft, um die Ergebnisse der molekulargenetischen Analysen besser einordnen zu können.

Für diese Probenahme wurden mehrere Materialien gebraucht für unterschiedliche Arbeitsschritte. Vor dem Besuchstermin wurde der Fragebogen ausgefüllt, in welchem die Kontaktdaten des zuständigen Gärtners geschrieben standen. Während der Probenahme wurde ein Blatt zum Zustand des Vorkommens ausgefüllt („Fiche de terrain“) wie auch ein Protokoll für die Beschriftungen der Samples („Feuille de récolter“). Um genaue Angaben zu erhalten, wurden ein GPS und eine Kamera benötigt, dies um die Lage des Vorkommens und die Erscheinungsform dokumentieren zu können. Solche Angaben können wichtig sein, um die Population wieder zu finden und sichtbare Unterschiede schnell zu erkennen.

Bevor von einem Standort Samples genommen werden konnten, musste zuerst versucht werden Blattgruppen von einem Pflanzenindividuen zu finden. Da meist nicht auf den Gewässerboden geblickt werden konnte, musste auf eine Möglichkeit über dem Wasser zurückgegriffen werden. Die nahen, ähnlichen, teilweise verwickelten Blattstiele wurden als ein Pflanzindividuum angesehen. Dieser Arbeitsschritt musste gemacht werden, da bereits innerhalb eines Blattes Mutationen auftreten können, diese jedoch nichts über die Verwandtschaft und Herkunft der Teichrosen verrät, sondern lediglich über die Varianz der genetischen Unterschiede einer Population.

Die eigentliche Probenahme beinhaltete das Ausschneiden von drei etwa 3x3cm großen Stücken von verschiedenen Blättern eines Individuums. Diese wurden anschliessend mit Haushaltspapier von Schmutz und Wasser befreit. Besonders relevant war das Abwischen des Schmutzes, denn auch Kleinlebewesen besitzen DNA, welche in den Auswertungen zu Fehler führen könnte. Ebenfalls von Bedeutung war die Reinigung der Schere mit Bleichmittel nach jeder Probenahme um keinen Schmutz zu verbreiten. Nachdem die drei Proben einer einzelnen Pflanze sauber und trocken waren, wurden sie im ungebleichten Kaffeefilter so platziert, dass sie sich aufgrund des Wassermangels nicht rollten und einander nicht berührten. Sobald sie richtig lagen, konnte der Kaffeefilter oberhalb der Proben einige Male gefaltet, mit Tesafilm verschlossen und mit Bleistift beschriftet werden. Die Beschriftung besteht aus drei Grossbuchstaben und zwei Zahlen, die Schriftzeichen waren für jedes Vorkommen gleich, z.B. Botanischer Garten Freiburg wurde mit BGF abgekürzt, die Ziffern variieren von Probe zu Probe innerhalb eines Standortes, somit sieht eine Beschriftung letztendlich wie folgt aus: BGF01, BGF02, BGF03 usw. Alles in allem wurden pro Gewässer etwa 15 Samples angefertigt und beschriftet. Diese gefüllten, beschrifteten Kaffeefilter wurden pro Population in einen wiederverschliessbaren Plastiksack gepackt, welcher selbst auch mit Inhalt und Datum angeschrieben ist, Beispiel: *Nuphar pumila*, botanischer Garten Freiburg, 29. Juli 2014. Dieser Plastiksack wurde mit Silicagel gefüllt, das sind kleine orange Kügelchen, welche das Wasser anziehen und dadurch weiss werden. Häufig wird diese Art von Trockenmittel bei Schuhen oder elektronischen Geräten verwendet. Die mit Kügelchen gefüllten Säckchen in den Verpackungen haben meist Silicagel, auch Kieselgel genannt, in sich. Das Kieselsäuregel bindet Wasser, wobei sich der darin enthaltene Indikator von orange nach durchsichtig entfärbt und somit aufzeigt, wann das Gel gewechselt werden muss. Mit Hilfe dieses Gels lassen sich die Proben für lange Zeit aufbewahren. Am Ende der Sammelperiode wurden alle zusammen nach Lausanne zu den Analysen gebracht.

Probensammeln Wildpopulationen	Probensammeln ex-situ Populationen
Dokumente in Plastikmüppchen <ul style="list-style-type: none"> ○ „Protocole de récolte“ ○ „Fiche de terrain“ ○ „Feuille de récolter“ 	Dokumente <ul style="list-style-type: none"> ○ „Protocole de récolte“ ○ „Fiche de terrain“ ○ „Feuille de récolter“ ○ Fragebogen/Questionnaire
GPS (mit Batterien!)	Kamera (mit ausreichend Akku!)
Kamera (mit ausreichend Akku! Und evtl. Wasserschutz)	
Schere	Schere
Bleichmittel und Stoffstück	Bleichmittel und Stoffstück
Haushaltspapier	Haushaltspapier
Kaffeefilterpapier (ungebleicht)	Kaffeefilterpapier (ungebleicht)
Tesafilm	Tesafilm
wiederverschliessbare Plastiksäcke	wiederverschliessbare Plastiksäcke
Stifte: Bleistift, wasserfester Stift	Stifte: Bleistift, wasserfester Stift
Silicagel	Silicagel
Evt. Schlauchboot organisieren (mit Paddel)	Wasserfester Rucksack für die Proben
Wasserfester Rucksack für die Proben	
Gummistiefel	
Evtl. Baumschere	
Sonnen- oder Regenschutz	
Evtl. Bikini	

Abbildung 22: Materialliste für die Probenahmen, das grau eingefärbte dient der Dokumentation, das weisse umfasst die eigentliche Probenahme.



Abbildung 23: Sammeln und Aufbewahren der Proben: etwa 3x3cm grosse Flächen säubern und trocknen (oben rechts), ohne Überlappung im Kaffeefilter platzieren (oben rechts, unten links), das Filterpapier kann einige Male gefaltet werden, ohne die Proben zu knicken und wird anschliessend in einem wiederverschliessbaren Plastiksack aufbewahrt. Diesen Proben wird mit Silicagel das Wasser ausgezogen und somit können sie lange haltbar sein. Das abgebildete Silicagel hat bereits Wasser aufgenommen und ist deshalb entfärbt.

i) Gentechnische Methoden

Die DNA befindet sich in jeder Zelle einer Pflanze. Um nicht jede Probe manuell behandeln zu müssen, wird ein Extraktionsroboter benützt, mit Hilfe dessen jeweils 96 Proben parallel analysiert werden können. Dazu müssen als erstes die Proben in die Platte gefüllt werden. Da diese ein Rechteck darstellt und deshalb nur am Rand beschriftet werden kann, ist es von grosser Bedeutung ein Protokoll zu führen, welche Probe in welcher Vertiefung ist wie zum Beispiel A1, H3, D12. Beim Füllen mit den Proben ist darauf zu achten, dass immer etwa die gleiche Menge verwendet wird und dass jedes einzelne Stück in der richtigen Einkerbung platziert wird. Zu jeder Probe muss eine Perle gegeben werden. Die Einkerbungen werden verschlossen und der Inhalt wird nun zerkleinert. Für diesen Schritt wird der TissueLyser benötigt, in welchen die Platte eingespannt wird und bei einer bestimmten Frequenz geschüttelt wird. (Abbildung 25, links) Die Zerkleinerung ist auf die Perlen zurückzuführen, welche wegen der hohen Frequenz so schnell bewegt werden, dass sie wie ein Hammer auf die Proben wirken. Der Vorgang ist beendet, sobald die Proben in Pulverform vorliegen. Als nächstes werden neue Platten mit mehreren Puffern darin vorbereitet. Im Grunde werden mittels Puffer die restlichen Zellbestandteile zerstört und über unterschiedlichen Filtern gewaschen, so dass am Ende nur noch die reine, unbeschädigte DNA übrig bleibt. Die genaue Zusammensetzung der Puffer ist aufgrund des Marktwettbewerbs nicht öffentlich zugänglich. Somit kann nicht genau erläutert werden, was jeweils bei welcher Zugabe mit den Proben geschieht. Als nächster Schritt werden die vorbereiteten Platten, jene mit den Proben wie auch die weiteren sechs, in den Extraktionsroboter hineingestellt. Dieser Roboter erledigt alle weiteren Schritte innerhalb von 20 min selbst. Zum Schluss kann eine Platte gefüllt mit der herausgefilterten DNA entnommen werden und kann somit im Gefrierschrank aufbewahrt werden. Ob die Qualität der erhaltenen DNA gut ist, lässt sich unter einer UV-Lampe bestimmen. Dabei wird die DNA auf einem Laufmittel für eine bestimmte Zeit unter Spannung liegengelassen. Folgend kann das entstandene Muster mit der UV-Lampe erkennbar gemacht werden. (Abbildung 25) (Laboranleitung für den Extraktionsroboter) Bislang wurde die DNA aus 16 Proben extrahiert, 2 davon waren von der Gelben Teichrose und die restlichen 14 von der Kleinen Teichrose, wobei 7 unterschiedliche Standorte gewählt wurden, so dass letztlich von 8 Populationen je zwei bearbeitet wurden. All diese Test ergaben sehr gute Qualitäten. (Arrigo, Zusammenfassung der Laborarbeit, Stand: 20. Oktober 2014)

Darauf folgend werden einzelne Proben mit Mikrosatelliten versetzt. Mikrosatelliten sind kurze,

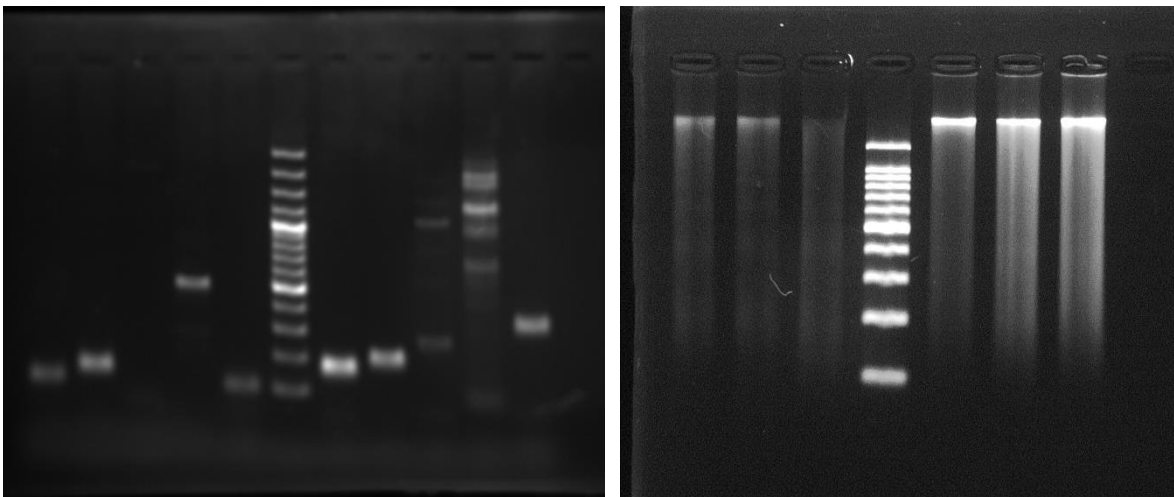


Abbildung 24: Qualitätscheck unter der UV-Lampe. Die Proben links zeigen klare Linien, was auf eine gute Qualität hinweist, dagegen hat es im Abbild rechts verschwommene Balken, diese weisen auf eine zerstörte DNA hin.

nichtcodierende DNA-Sequenzen. Die Anzahl Wiederholungen von kurzen Sequenzen ist bei jedem Individuum unterschiedlich. Deshalb eignen sie sich gut für diese Untersuchung. (Nicholl, 2002) Bis jetzt wurden 10 unterschiedliche Mikrosatelliten auf einer Probe von *N. pumila* und einer von *N. lutea* überprüft. Diese Mikrosatelliten, auch Marker oder SSRs (*Simple Sequence Repeats*) genannt, wurden bereits in einem Projekt zu *Nuphar lutea* entwickelt. Sieben von ihnen funktionierten auf

Anhieb, mit den restlichen drei konnten dank Anpassungen ebenfalls brauchbare Sequenzen verarbeitet werden. Momentan werden sie im Labor in Lausanne mit der PCR (Polymerase-Kettenreaktion) sequenziert. Dies ist eine Methode um die Erbsubstanz zu vervielfältigen, wofür die DNA-Polymerase, ein Enzym, verwendet wird. Dieses Enzym, welches die selbstständige Verdoppelung der DNA vorantreibt, kann mit der Temperatur stark beeinflusst werden. Bei hohen Temperaturen etwa um 95°C denaturiert die DNA. Das bedeutet, dass die beiden DNA-Stränge aufgebrochen werden. Bei tieferen Temperaturen werden sie durch Wasserstoffbrücken zusammengehalten. Diese Brücken werden mit den hohen Temperaturen aufgebrochen. Nachdem die Stränge einzeln vorliegen, kann, während einem kurzen Zeitinterball von einigen Sekunden und Temperaturen um 50-60°C, die DNA-Polymerase an die Stänge binden. Die DNA-Polymerase beginnt bei etwa 70° den einzelnen DNA-Strang wieder neu aufzufüllen. Im ersten Schritt geschieht dies an zwei Stellen. Die Temperatur wird danach wieder auf 95°C erhöht, so dass die DNA wieder denaturiert. Der Zyklus beginnt von neuem. Im zweiten Schritt wird an vier Strängen codiert. Die zuvorcodierten Stränge sind jedoch verkürzt und es wird somit immer nur dieses Stück vervielfacht. Nach einigen Zyklen liegt ein Übermass der sequenzierten DNA vor. Die Menge der restlichen DNA ist dabei vernachlässigbar klein. Mit diesem Übermass kann weiter gearbeitet werden.

Im Kommenden werden im Labor Tests mit den SSRs an allen 16 oben aufgeführten Proben gemacht um zu prüfen, ob die gewählten Sequenzen informativ sind, also ob es bemerkbare Unterschiede zwischen den Populationen gibt.

Sobald alle Überprüfungen erfolgreich abgeschlossen sind, werden routinemässig so viele Proben wie möglich analysiert und anschliessend ausgewertet. Bis Weihnachten sollte 80% der Arbeit gemacht sein.

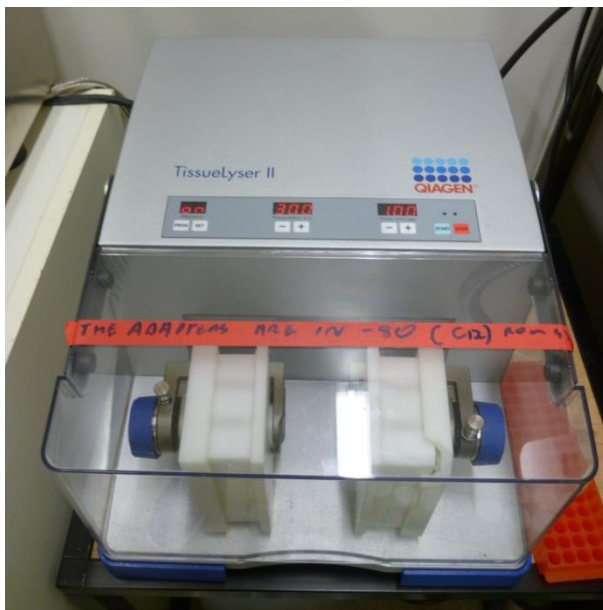


Abbildung 25: Links ist der TissueLyser abgebildet. Dieser wird zum Zerkleinern der Proben benötigt. Während des Betriebes wurden die beiden weissen Platten mit 30 Hertz geschüttelt, so dass die Kugel in den kleinen Gefässen wie ein Hammer wirkt.

Rechts wird die Qualität der extrahierten DNA getestet. Dazu wird sie auf ein Laufmittel getan und unter Spannung gesetzt. Die kleinen DNA-Sequenzen werden stärker durch das Laufmittel gezogen und legen deshalb eine grössere Strecke zurück.