

***Rosa abietina* – eine seltene Hundsrose unklaren Ursprungs. Wie können zytologische, genetische und morphologische Daten zum Verständnis der Sippe beitragen?**

ALISIA SMOLKA, MICHEL SIMON, VEIT HERKLOTZ, KATJA REICHEL & CHRISTIANE M. RITZ

Zusammenfassung: Die ausnahmslos polyploiden Hundsrosen (*Rosa* sect. *Caninae*) gehören aufgrund ihrer komplexen hemisexuellen Vererbung zu den bestimmungskritischen Sippen in Mitteleuropa. Die seltene Tannen-Rose (*R. abietina*) ist im Alpenraum und französischen Jura verbreitet, in letzterem Gebiet wurde die Art erstmals von Charles Grenier gesammelt und später von Hermann Christ auch basierend auf Material aus den Alpen beschrieben. Sieben Individuen von *R. abietina* wurden zusammen mit weiteren Vertretern von Hundsrosen zytologisch, genetisch und morphologisch untersucht, um die Verwandtschaftsverhältnisse dieser Sippe innerhalb der *Caninae* zu erforschen. Sowohl die genetischen als auch die morphologischen Daten zeigen eine intermediäre Stellung von *R. abietina* zwischen den Subsektionen *Caninae* und *Vestitae*, sodass ein hybridogener Ursprung der Art wahrscheinlich ist. Im Gegensatz zu bisher gefundenen Hybriden zwischen Subsektionen waren aber alle Aufsammlungen von *R. abietina* pentaploid ($2n = 5x = 35$).

Abstract: *Rosa abietina* – a rare dog rose of unclear origin. How can cytological, genetic and morphological data contribute to the understanding of this taxon? Due to their complex hemisexual inheritance, polyploid dog roses (*Rosa* sect. *Caninae*) belong to the taxonomically challenging plant genera in Central Europe. The rare species *R. abietina* is distributed in the Alpine region and the French Jura Mountains. The species was originally collected by Charles Grenier in the French Jura and later described by Hermann Christ, also based on alpine material. Seven individuals of *R. abietina* were examined cytologically, genetically and morphologically together with other representatives of dog roses in order to investigate the relationships of this species within the *Caninae*. In both the genetic and morphological analyses, *R. abietina* showed an intermediate position between the subsections *Caninae* and *Vestitae*,

suggesting a hybridogenous origin of the species. However, in contrast to previously reported hybrids between subsections, all samples of *R. abietina* were pentaploid ($2n = 5x = 35$).

Alisia Smolka
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Naturwissenschaftliche Fakultät I –
Biowissenschaften
06099 Halle (Saale);
smolka.alisia@gmail.com

Michel Simon
76, Rue de Luttenbach,
F-68140 Munster;
michelsimon68140@gmail.com

Veit Herklotz
Senckenberg Museum für Naturkunde Görlitz
Am Museum 1, 02826 Görlitz;
veit.herklotz@senckenberg.de

Katja Reichel
Freie Universität Berlin, Institut für Biologie
Altensteinstraße 6, 14195 Berlin;
katja.reichel@fu-berlin.de

Christiane M. Ritz
Senckenberg Museum für Naturkunde Görlitz
Am Museum 1, 02826 Görlitz;
christiane.ritz@senckenberg.de

1. Einleitung

In Mitteleuropa gehören die meisten Wildrosen zur Sektion *Caninae* (DC.) SER. (Hundsrosen), die nach HENKER (2000) ca. 30 als bestimmungskritisch geltende Arten umfasst. Die Arten sind durch ihre hemisexuelle Fortpflanzung (s. u.), häufige Hybridisierung und durch das Vorhandensein weniger, dafür aber

sehr plastischer morphologischer Merkmale schwierig voneinander abzugrenzen. Die Sektion *Caninae* ist in die drei größeren Subsektionen *Caninae*, *Rubigineae* CHRIST und *Vestitae* CHRIST sowie in die jeweils nur eine oder zwei Arten umfassenden Subsektionen *Trachyphylae* CHRIST, *Rubrifoliae* CRÉPIN und *Tomentellae* CHRIST gegliedert (HENKER 2000, nach CHRIST 1873). Bereits CHRIST (1873) erkannte, dass die Sippen innerhalb der Hundsrosen nicht anhand einzelner Merkmale, sondern nur durch die Kombination miteinander korrelierter Merkmale getrennt werden können. Trotzdem bleiben die Trennlinien aufgrund des kontinuierlichen Spektrums an morphologischen Merkmalen zwischen Arten unscharf und die Artenzahl hängt stark von der Unterscheidung zwischen infra- und interspezifischer Variabilität ab (siehe auch <https://bestikri.senckenberg.de>; DRESSLER & al. 2017).

Trotz ihrer morphologischen Vielfalt sind alle *Caninae*-Arten durch ein entscheidendes Merkmal vereint – ihre einzigartige *Canina*-Meiose (TÄCKHOLM 1920, BLACKBURN & HARRISON 1921, TÄCKHOLM 1922, BLACKBURN 1925). Obwohl die meisten der ausschließlich polyploiden *Caninae*-Arten mit $2n = 5x = 35$ pentaploid sind (KLÁSTERŠKÁ 1969, KLÁSTERŠKÁ & NATARAJAN 1974, YOKOYA & al. 2000, ROBERTS & al. 2009) und eine ungerade Chromosomenzahl haben, können sie sich hemisexuell fortpflanzen. Während der Meiose verhalten sich die Chromosomensätze in derselben Zelle unterschiedlich: (1) Zwei hochgradig homologe Sätze paaren sich während der Meiose (Bivalente). (2) Die übrigen Chromosomensätze paaren sich nicht und verbleiben als Univalente. Während bei der männlichen Gametenbildung ein Satz der bivalent-bildenden Chromosomen, nicht aber die Univalente in die Pollenkerne gelangen, werden in der weiblichen Gametenbildung ein Satz der Bivalente und alle Univalente in die Megasporenmutterzelle transportiert (TÄCKHOLM 1922). So kann durch die Verschmelzung eines monoploiden Pollenkerns mit einer tetraploiden Eizelle der pentaploide somatische Zustand wiederhergestellt werden. Genetische Studien haben gezeigt, dass die Chromosomenpaarung sehr spezifisch ist und die Bivalente von stets denselben hochgradig homologen Chromosomensätzen gebildet werden (NYBOM & al. 2004, NYBOM & al. 2006, RITZ & WISSEMAN 2011, HERKLOTZ & al. 2018). Aufgrund dieser

asymmetrischen Meiose ähneln die Nachkommen eher dem mütterlichen Elternteil (dieser stellt in der Regel $\frac{1}{2}$ des Genoms bereit), was die rein morphologische Identifizierung von Hybriden erschwert (WERLEMARK & al. 1999, WERLEMARK & NYBOM 2001, RITZ & WISSEMAN 2003). Genetische Untersuchungen konnten jedoch v. a. Hybridisierung zwischen den Subsektionen *Caninae* und *Rubigineae* nachweisen (RITZ & WISSEMAN 2011, HERKLOTZ & RITZ 2014, HERKLOTZ & al. 2017). Darüber hinaus haben Hybriden oft eine höhere Ploidie als die Elternarten, da bei genetisch verschiedenen Arten nicht-reduzierte Gameten das für die Meiose notwendige homologe bivalente Chromosomenpaar liefern können (RITZ & WISSEMAN 2011, HERKLOTZ & RITZ 2017). Da die meisten Hundsrosen pentaploid sind, ist Hexaploidie daher oft ein Hinweis auf einen hybridogenen Ursprung.

In den zahlreichen genetischen Untersuchungen (DE COCK & al. 2008, KOOPMAN & al. 2008, DE RIEK & al. 2013, REICHEL & al. 2023) ist die seltene, v. a. im Alpenraum verbreitete Tannen-Rose (*R. abietina* GREN. ex CHRIST) bisher weitgehend unbeachtet geblieben oder wurde nur in geringer Individuenzahl untersucht (BALLMER 2018). Die Art zeichnet sich durch zahlreiche kräftige, leicht gebogene Stacheln, drüsige und behaarte Blätter, nach der Blüte zurückgeschlagene, später ausgebreitete Kelchblätter und lange Blütenstiele aus (Abb. 1; TIMMERMANN & MÜLLER 1994, HENKER 2000). Sie wurde bisher entweder zusammen mit *R. balsamica* zur Subsektion *Tomentellae* (CHRIST 1873, HENKER 2000) oder zur Subsektion *Caninae* (KELLER 1931) geordnet. Das Vorhandensein von Drüsen auf den Blättern könnte auch auf einen hybridogenen Ursprung hinweisen, wobei die wenig drüsigen Vertreter der Subsektion *Caninae* und ein Elternteil mit drüsigen Blättern, d. h. aus den Subsektionen *Rubigineae* oder *Vestitae*, involviert sein könnten. Wie auch bei anderen Hundsrosenarten sind die morphologischen Merkmale von *R. abietina* variabel und selbst in Bestimmungsschlüsseln nicht immer einheitlich angegeben. So beschrieb GRENIER (1865) ursprünglich Stacheln aller Formen – einige gerade, einige leicht und einige stark gebogen –, CHRIST (1873) dagegen schränkte die Definition auf mehr oder weniger hakenförmige Stacheln ein. TIMMERMANN & MÜLLER (2016)

erwähnen nur hakenförmige Stacheln, während HENKER (2000) die Stacheln als sichelförmig oder fast gerade beschreibt. BALLMER (2018) und SIMON (2023b) stellten aufgrund morphologischer Analysen eine intermediäre Stellung von *R. abietina* zwischen den Subsektionen *Caninae* und *Vestitae* fest.

In dieser Studie möchten wir *R. abietina* in Bezug auf ihre Subsektionszugehörigkeit morphologisch und genetisch einordnen und einen möglichen hybridogenen Ursprung der Art untersuchen. Dafür haben wir sechs Individuen von *R. abietina* aus dem Alpenraum und ein Individuum aus La Fresse im Französischen Jura gesammelt, wo die Art erstmals von Grenier gesammelt wurde, und mit umfangreichem Material aus den Subsektionen *Caninae*, *Vestitae*, *Rubigineae* und *Tomentellae* anhand von zytologischen Daten, Mikrosatellitendaten und morphologischen Daten verglichen. Die hier präsentierten Ergebnisse basieren auf der Bachelorarbeit von SMOLKA (2022).

2. Materialien und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

Untersucht wurden insgesamt 162 Individuen von 11 Arten der Sektion *Caninae*: 90 Individuen aus der Subsekt. *Caninae*, 14 Individuen

aus der Subsekt. *Rubigineae* (diese nur für morphologische Untersuchungen), 38 Individuen aus der Subsekt. *Vestitae* und 20 Individuen aus der Subsekt. *Tomentellae* (Tab. 1, S1). Die Bestimmung der Arten erfolgte nach HENKER (2000) und RITZ (2021). Zwischen Juli und September 2020 wurden in Frankreich, in den Vogesen, im französischen Jura und nordwestlich von Paris sowie den italienischen Alpen (Abb. 2) von jedem Individuum Zweige mit Früchten für Herbarbelege (hinterlegt im Herbarium Senckenbergianum Görlitz [GLM]) und Blattmaterial für genetische Untersuchungen (außer Subsekt. *Rubigineae*) gesammelt. Ebenso wurde ein Exemplar von *R. abietina* aus La Fresse im Französischen Jura (Abb. 1) untersucht. In Paris (P) liegt eine Reihe weiterer Belege aus diesem Gebiet, aber auch andere Herbarien, wie Neuchâtel (NEU), beherbergen noch Material von Grenier, das weiterer Nachforschungen bedarf (Mitt. Ch. Bornand). Unser neu gesammelter Beleg wurde mit denjenigen, die von Grenier gesammelt und in Paris hinterlegt sind (Muséum national d'Histoire naturelle [P]: P04202574; P04202577; P04151281; P03327440; P03327442; P03327443¹)

¹ <https://science.mnhn.fr/institution/mnhn/collection/p/item/list?typeStatus=ISOTYPE&scientificName=rosa+abietina>

Tab. 1: Übersicht zu den gesammelten Arten der Sekt. *Caninae* und den Sammelregionen – Overview of sampled species of Sect. *Caninae* and sampling regions.

Subsektion	Art	Individuen pro Lokalität				Gesamt
		(1) Paris	(2) Vogesen	(3) Jura	(4) Alpen	
<i>Caninae</i>	<i>R. caesia</i>	-	1	1	8	10
	<i>R. canina</i>	2	23	6	4	35
	<i>R. corymbifera</i>	2	10	3	5	20
	<i>R. dumalis</i>	-	6	-	8	14
	<i>R. subcanina</i>	-	6	-	-	6
	<i>R. subcollina</i>	-	3	2	-	5
<i>Rubigineae</i>	<i>R. rubiginosa</i>	6	8	-	-	14
<i>Tomentellae</i>	<i>R. abietina</i>	-	-	1	6	7
	<i>R. balsamica</i>	1	8	1	3	13
<i>Vestitae</i>	<i>R. pseudoscabriuscula</i>	-	17	7	-	24
	<i>R. cf. pseudoscabriuscula</i>	-	-	-	2	2
	<i>R. tomentosa</i>	-	11	1	-	12
Gesamt		11	93	22	36	162

verglichen. Er stimmt in den wesentlichen Merkmalen mit diesen überein. Für 75 Individuen der Subsektion *Rubigineae* (*R. agrestis*, *R. gremlii*, *R. inodora*, *R. micrantha* und *R. rubiginosa*) wurden genetische Daten aus HERKLOTZ & RITZ

(2017) vergleichend einbezogen. Diese Proben wurden in den Jahren 2012 und 2013 gesammelt und umfassen nicht die oben genannten 14 Individuen, von denen die morphologischen Messungen stammen.



Abb 1. *Rosa abietina* vom Originalfundort der Aufsammlung von Grenier. Die Typisierung bedarf aber noch der Klärung (Mitt. Ch. Bornand) A: Herbarbeleg GLM 181974, leg. M. Simon 2020, no. R453. B-D: Habitus, Früchte und Stacheln der Aufsammlung R453. – *Rosa abietina* from the original locality sampled by Grenier. Typification needs further clarification (comm. Ch. Bornand). A: herbarium specimen GLM 181974, leg. M. Simon 2020, no. R453. B-D: habit, fruits and prickles of the sample R453.

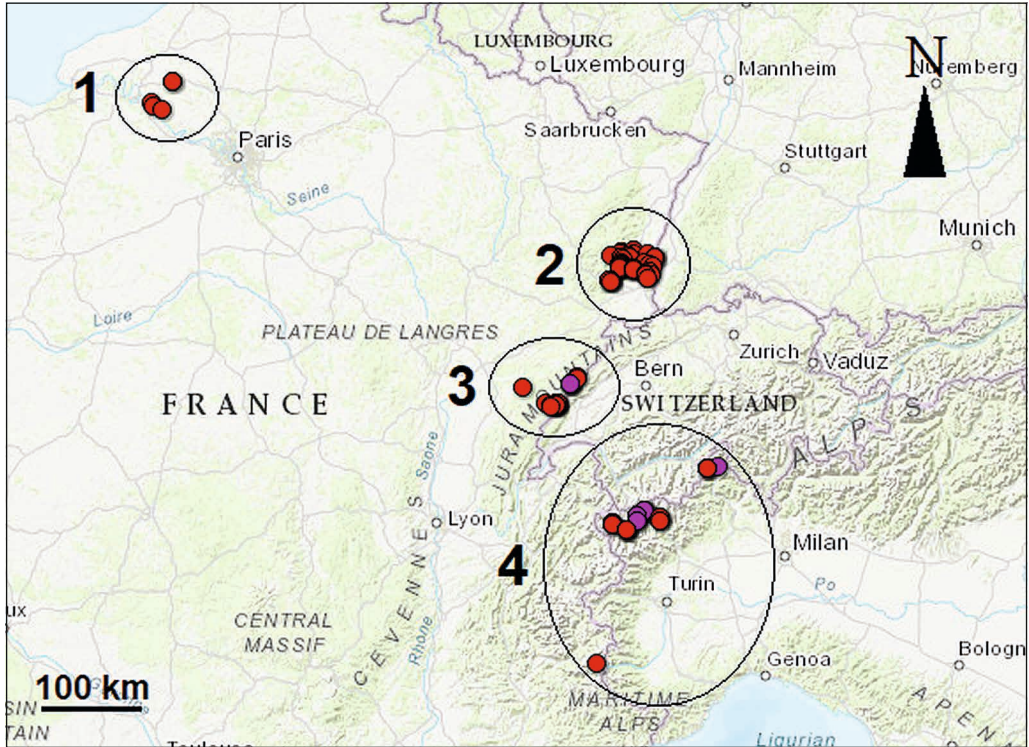


Abb. 2: Sammellokalitäten der untersuchten Individuen (dargestellt in rot; Sammellokalitäten für *R. abietina*: rosa); Ellipsen zeigen die übergeordneten Regionen: (1) Paris, (2) Vogesen, (3) Französischer Jura, (4) Alpen. Karte erstellt mit GPS Visualizer (<https://www.gpsvisualizer.com>). – Collection sites of studied individuals (presented as red dots; sampling localities for *R. abietina*: pink); regions marked by ellipses: (1) Paris, (2) Vosges, (3) Jura, (4) Alps. Map created in GPS Visualizer (<https://www.gpsvisualizer.com>).

2.2 Morphologische Untersuchungen

Morphologische Merkmale zur Kategorisierung der Arten wurden basierend auf SIMON (2022a & b, 2023a & b) ausgewählt (Tab. S2). Für metrische Merkmale wurde pro Pflanze der Mittelwert aus zehn separaten Messwerten gebildet. Insgesamt wurden 49 morphologische Merkmale aufgenommen, davon 21 quantitativ und 28 qualitativ.

2.3 Ploidiestufen

Ploidiestufen wurden von frischen oder mit Silicagel getrockneten Laubblättern mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Als diploiden, internen Standard verwendeten wir Blattmaterial von *R. arvensis* ($2n = 2x = 14$). Gewebestücke von je ca. 1 cm^2 von Probe und Standard wurden in

$500 \mu\text{l}$ Extraktionspuffer (LOUREIRO & al. 2007) mit der Rasierklinge zerkleinert, mit $1000 \mu\text{l}$ DAPI-Färbelösung ($3.6 \mu\text{M}$ DAPI in 400 mM $\text{Na}_2\text{PO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$) (OTTO 1990) versetzt und filtriert. Die Fluoreszenz wurde im CyFlow Ploidy Analyser (Partec, Deutschland) gemessen und die Messung pro Individuum mindestens drei Mal wiederholt. Die Rohdaten wurden mit der Flowing Software 2.5.1 (Turku Bioscience Centre, Finnland) ausgewertet und die Ploidiestufe entsprechend des Verhältnisses der Fluoreszenzintensität der Probe zu der des diploiden Standards ermittelt.

2.4 Analyse der Mikrosatellitenmarker

Die DNA wurde aus Silicagel-getrocknetem Laubblattgewebe anhand des ATMB-Extraktionsprotokolls von DUMOLIN & al. (1995)

extrahiert. Die Extrakte wurden anschließend auf eine Konzentration von 30 ng/µl in TE-Puffer verdünnt. Basierend auf ESSELINK & al. (2003) wurden sieben verschiedene Mikrosatellitenloci (*RhEO506*, *RhD201*, *RhB303*, *RhP507*, *RhP50*, *RhD206* und *RhP518*) amplifiziert. Die Polymerasekettenreaktion fand in Reaktionsgefäßen in einem Volumen von 12,5 µl bestehend aus 1,25 µl Y-Puffer (Peqlab, Erlangen, Deutschland), 1,25 µl 2 mM dNTPs, 1 µl 25 mM MgCl₂, 0,05 µl 10 µM Vorwärts-Primer, 0,2 µl 10 µM Rückwärts-Primer, 0,1 µl 2 µM M13-Primer (fluoreszenzmarkiert), 0,1 µl 5 U/µl DNA-*Taq*-Polymerase (Peqlab), 7,55 µl HPLC-gereinigtem Wasser und 1 µl DNA-Template (30 ng/µl) nach der Methode von SCHUELKE (2000) im Mastercycler proS (Eppendorf, Deutschland) statt. Die Reaktion umfasste folgende Zyklen: 1× 94 °C für 180 s; 25× 94 °C für 30 s, 56 °C für 30 s, 72 °C für 45 s; 7× 94 °C für 30 s, 52 °C für 30 s, 72 °C für 45 s und 1× 72 °C für 300 s. Die Fragmentanalyse wurde in einem ABI3730 Sequenzierautomaten (Life Technology, Deutschland) am Labor des Senckenberg Biodiversitäts- und Klimaforschungszentrums Frankfurt/M. mit dem Größenstandard LIZ 600 durchgeführt. Die Rohdaten wurden mit der peak scanner software v1.0 (Applied Biosystems, Foster City, USA) ausgewertet.

2.5 Statistische Analysen

Alle Analysen wurden mit der R-Version 4.3.2 (R CORE TEAM 2023) durchgeführt. Die Hauptkoordinatenanalyse (PCoA) für Mikrosatelliten Daten wurde mit dem Paket *ape* (PARADIS & SCHLIEP 2019) basierend auf einer Bruvo-Distanzmatrix (BRUVO & al. 2004) erstellt, die wiederum mithilfe des Pakets *polysat* (CLARK & JASENIUK 2011) berechnet wurde.

Für die Hauptkomponentenanalysen (PCA) der morphologischen Daten mit dem Paket *stats* (R CORE TEAM 2023) wurden qualitative Merkmale in „Dummy-Variablen“ umgewandelt (WESCHE & LEYER 2008). Mantel-Tests zur Bestimmung von Korrelationen zwischen genetischen (Bruvo), morphologischen und geografischen Distanzen (euklidisch) wurden mit 9999 Permutationen im Paket *vegan* (OKSANEN & al. 2017) berechnet. Alle Plots wurden mit Hilfe des Paketes *ggplot2* (WICKHAM 2016) erstellt.

3. Ergebnisse

3.1 Ploidiestufen

Insgesamt wurden 132 pentaploide und 16 hexaploide Individuen ermittelt (Abb. 3). Hexaploide Individuen wurden nur für *R. canina*, *R. corymbifera*, *R. dumalis* und *R. balsamica* gefunden.

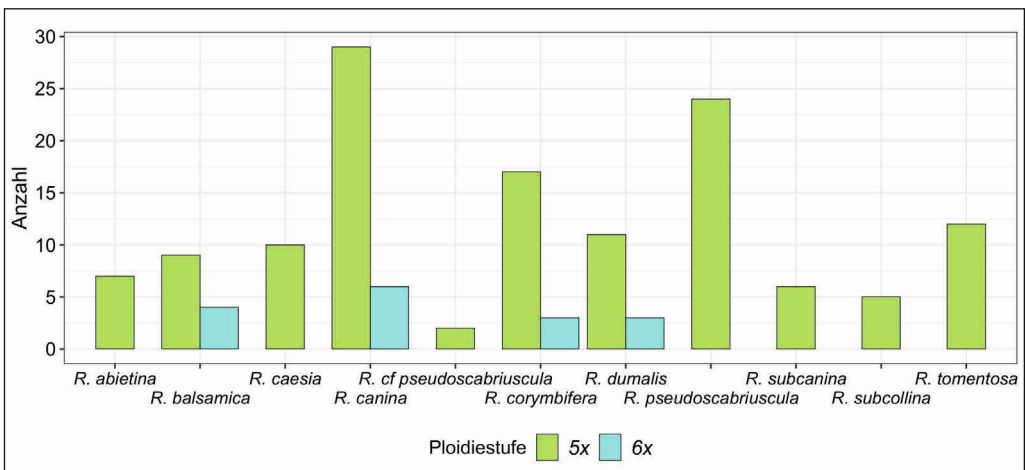


Abb. 3: Ploidiestufen von 148 Hundsrosen. – Ploidy levels of 148 dog roses.

3.2 Mikrosatellitenanalyse

Der Mikrosatellitendatensatz umfasste für 148 Proben 176 Allele an sieben Loci. Die Gesamtzahl der Allele pro Locus schwankte zwischen sieben (*RhP518* und *RhB303*) und 54 (*RhP50*) Allelen. Bei den untersuchten Individuen wurden zumeist 3–5 Allele pro Locus gefunden. Bei 16 Individuen konnten bei 1–3 Loci keine Ergebnisse ermittelt werden, diese wurden als Proben mit z. T. fehlenden Daten in die Analyse einbezogen.

Die Hauptkoordinatenanalysen (PCoA) ergaben keine deutliche Trennung der 148 Proben aus den drei Subsektionen *Caninae*, *Vestitae* und *Tomentellae* (Abb. 4B), aber einen starken Unterschied zu 75 weiteren (Daten aus HERKLOTZ & RITZ 2017), zum Vergleich hinzugezogenen Proben der Subsektion *Rubigineae* (Abb. 4A). Entlang der ersten Hauptkoordinate (Abb. 4B, horizontal) lässt sich ein Übergang *Vestitae* (grün) – *Caninae* (blau) – *Tomentellae* (rot) erkennen, während die zweite (vertikal), ebenfalls ohne klare Trennung, von den Aufsammlungen aus den italienischen Alpen (Fundort 4 in Abb. 2) zu denen nördlicher gelegener Fundpunkte verläuft. Die sieben Proben von *R. abietina* finden sich zwischen Proben der Subsektionen *Caninae* und *Vestitae*. Es konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen den geografischen und genetischen Distanzen der 148 Proben zueinander gefunden werden (Ein Mantel-Test: $n = 148$, $r = 0,1046$, $p \leq 0,01$).

3.3 Morphologische Auswertung

Die Hauptkomponentenanalyse mit 162 Rosen (inkl. *R. rubiginosa*) basierend auf 49 morphologischen Merkmalen ergab eine deutliche Trennung der Subsektionen *Caninae*, *Vestitae* und *Rubigineae*, nicht jedoch der Subsektion *Tomentellae* (Abb. 5). Innerhalb der Subsektionen waren die Arten nicht deutlich voneinander abgegrenzt. Merkmale mit besonders hoher Korrelation mit der jeweiligen Hauptkomponente sind in Abb. 5 zusätzlich als Pfeile dargestellt, wobei die Länge der Pfeile die Stärke der Korrelation angibt.

Die Subsektion *Caninae* war entlang der ersten Achse unter anderem durch geruchlose Laubblätter und drüsenlose Kelchblätter, Stiele und Früchte von den Subsektionen *Rubigineae*

und *Vestitae* getrennt. Entlang der zweiten Achse war die Subsektion *Rubigineae* von den Subsektionen *Caninae*, *Tomentellae* und *Vestitae* unter anderem durch einen apfelähnlichen Duft, stärkere Behaarung der Griffel und kürzere Blätter getrennt. Die Individuen von *R. abietina* nahmen meist eine intermediäre Stellung zwischen den Subsektionen *Caninae* und *Vestitae* ein, während *R. balsamica*, die zweite Art der Subsektion *Tomentellae*, eher mit der Subsektion *Caninae* gruppierte.

Ein Mantel-Test der morphologischen und geografischen Distanzen zwischen allen Proben ergab keine signifikante Korrelation ($n = 162$, $r = 0,001$, $p = 0,4671$), ebenso konnten wir keinen Zusammenhang zwischen morphologischer und genetischer Distanz finden ($n = 148$, $r = 0,0632$, $p \leq 0,05$).

4. Diskussion

Basierend auf den hier analysierten morphologischen und genetischen Daten nahmen die sieben Individuen von *R. abietina* eine intermediäre Stellung zwischen den Subsektionen *Caninae* und *Vestitae* ein. Dies würde für einen hybridogenen Ursprung der Art aus Vertretern dieser beiden Subsektionen sprechen, was auch BALLMER (2018) und SIMON (2023) anhand von morphologischen und/oder genomischen Daten vermuteten. Dem entgegen steht, dass alle untersuchten Individuen von *R. abietina* nicht wie erwartet hexaploid, sondern pentaploid waren. Dieser Befund ließe sich jedoch erklären, wenn *R. abietina* von Vorfahren mit reduzierter Genom-Anzahl abstammte (einige *Vestitae* sind tetraploid, KELLNER & al. 2014), oder aus einer Hybridisierung ohne Erhöhung der Ploidiestufe hervorging.

Unsere morphologischen Untersuchungen unterstützen die Einteilung in die drei Subsektionen *Caninae*, *Rubigineae* und *Vestitae* (Abb. 5). Übereinstimmend mit bisherigen Publikationen (DE COCK & al. 2008, DE RIEK & al. 2013, BALLMER 2018, REICHEL & al. 2023) ordneten sich die Individuen von *R. balsamica* (Subsektion *Tomentellae*) innerhalb der Subsektion *Caninae* ein (Abb. 5). *Rosa abietina* hingegen hatte eine intermediäre Stellung zwischen den Subsektionen *Caninae* und *Vestitae*, aber keine morphologische Beziehung zu Subsektion *Rubigineae* (Abb. 5).

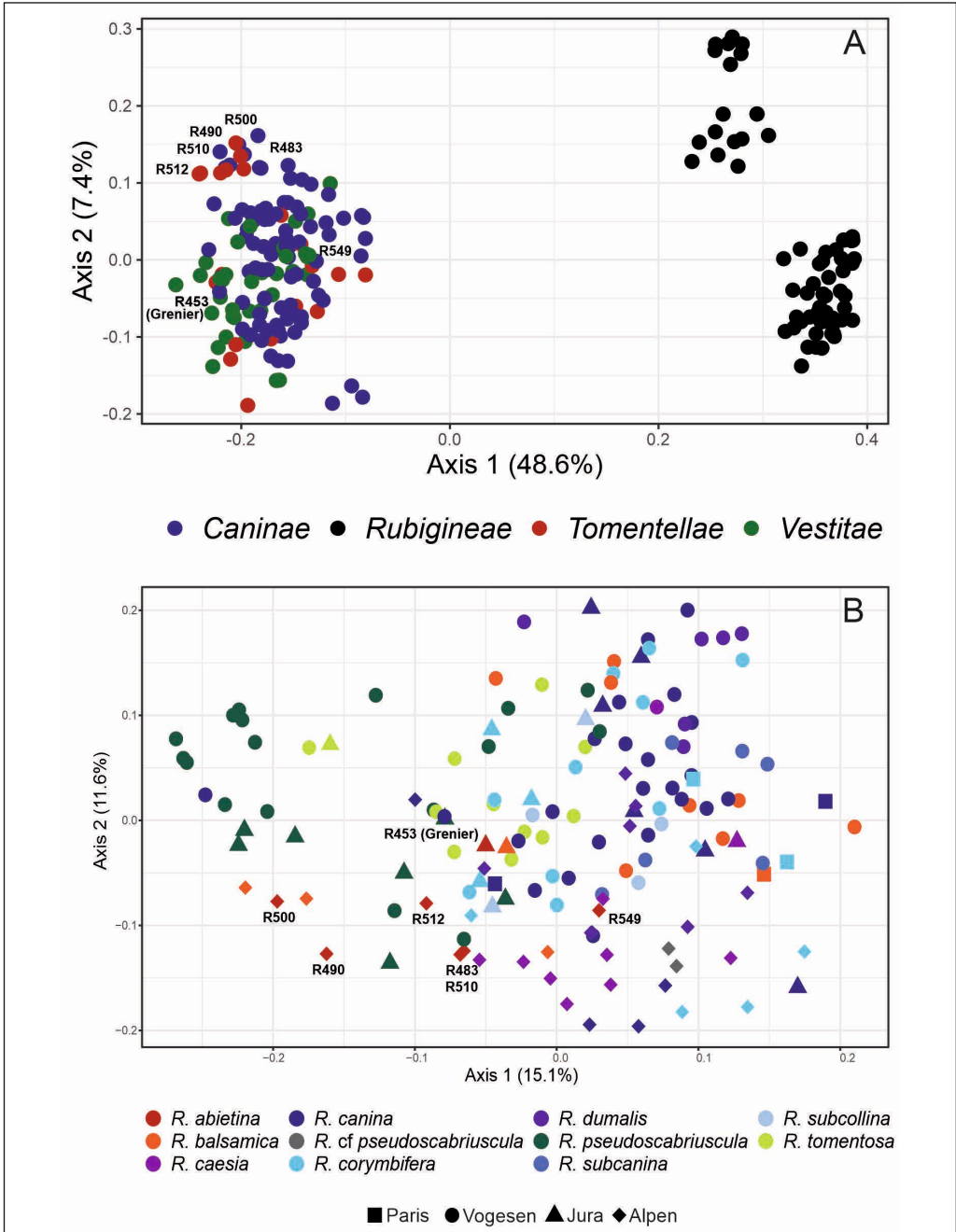


Abb. 4: Hauptkoordinatenanalysen basierend auf sieben Mikrosatellitenloci. A: zwischen Subsektionen. B: zwischen den Arten der Subsektionen *Caninae*, *Vestitae* und *Tomentellae*. Individuen von *R. abietina* sind mit Sammelnummern (Tabelle S1) angegeben. Individuum R453 (s. Abb. 1) wurde am Originalfundort von Grenier gesammelt. Die erklärte Varianz ist in Klammern angegeben. – Principal Coordinate Analyses based on 7 microsatellite loci. A: between subsections. B: between species of subsections *Caninae*, *Vestitae* and *Tomentellae*. Samples of *R. abietina* are listed with collection numbers (Table S1). The sample R453 (see Fig. 1) was sampled on the locality originally given by Grenier. Percentage of explained variance per axis given in brackets.

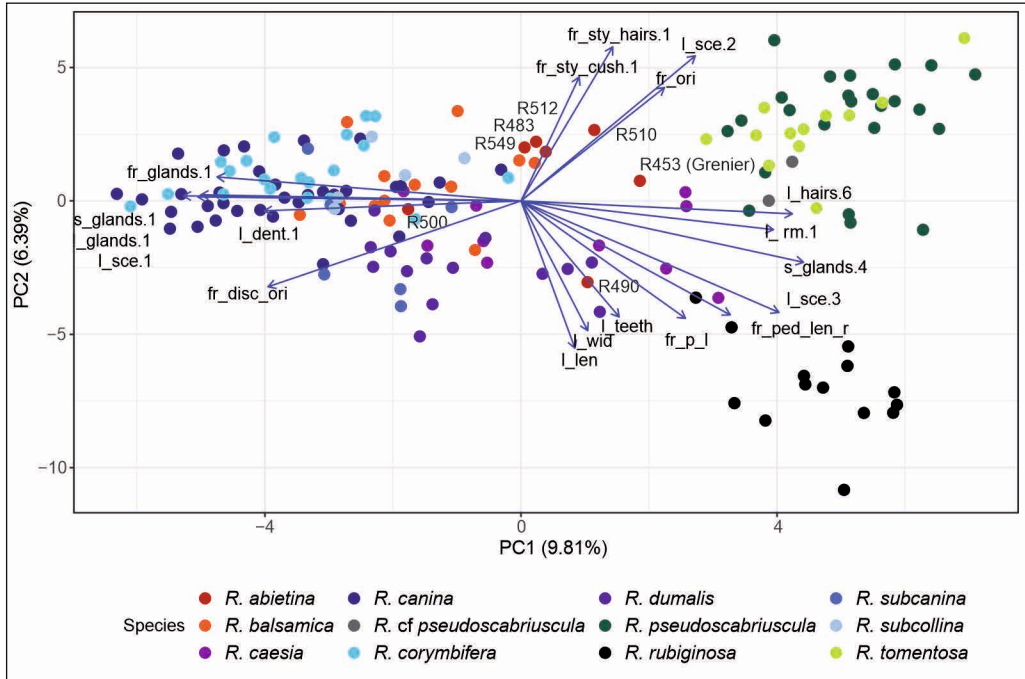


Abb. 5: Hauptkomponentenanalyse von 162 Hundsrosen basierend auf 49 morphologischen Merkmalen. Merkmale mit den höchsten Ladungen als Pfeile, Erklärung der Merkmale siehe Tabelle S2. Das Individuum R453 von *R. abietina* (s. Abb. 1) wurde am Originalfundort von Grenier gesammelt. Die erklärte Varianz ist in Klammern angegeben. – Principal Component Analysis of 162 dog rose samples based on 49 morphological traits. Traits with highest loadings as arrows, explanation of traits see table S2. The sample of *R. abietina* R453 (see Fig. 1) was sampled on the locality originally given by Grenier. Percentage of explained variance per axis given in brackets.

Unsere genetischen Analysen, basierend auf sieben Mikrosatellitenmarkern, wiesen ebenfalls keine Beziehung von *R. abietina* zur Subsektion *Rubigineae* auf (Abb. 4A). Wir konnten keine deutliche Trennung der Subsektionen *Caninae* und *Vestitae* zeigen, obwohl diese mit weit größeren Probenumfängen mit der gleichen Methode (REICHEL & al. 2023) bzw. mit AFLPs (DE COCK & al. 2008, DE RIEK & al. 2013) deutlicher voneinander separiert werden konnten. Eine engere Beziehung der Subsektionen *Caninae* und *Vestitae* haben aber auch DE COCK & al. (2008) und BALLMER (2018) gezeigt. Aufgrund der fehlenden Trennung der beiden Subsektionen ist die intermediäre Position von *R. abietina* hier deutlich schlechter zu erkennen als in den morphologischen Daten; im Vergleich zu *R. balsamica*, der zweiten untersuchten Art aus Subsektion *Tomentellae*, gruppieren sie deutlich näher an den *Vestitae*. Damit weisen unsere Daten auch hier auf einen hybridogenen Ursprung der Art hin.

Wie auch in früheren zytologischen Studien, z. B. KLÁSTERŠKÁ 1969, MAŁECKA & POPEK 1982, 1984, HERKLOTZ & al. 2017, waren die meisten hier untersuchten Hundsrosen pentaploid (Abb. 3). Hexaploide Zytotypen tauchten lediglich bei *R. canina*, *R. corymbifera*, *R. dumalis* (Subsekt. *Caninae*) und bei *R. balsamica* (Subsekt. *Tomentellae*) auf, wie auch schon bei HERKLOTZ & RITZ (2017) und ROBERTS & al. (2009) für dieselben Arten nachgewiesen. Andere Ploidiestufen wurden nicht gefunden, auch wenn aus vorherigen Studien bekannt ist, dass Individuen der Subsektion *Vestitae* sehr häufig tetraploid sind. Nach KELLNER & al. (2014) war sogar die Mehrheit der untersuchten Proben von *R. villosa*, *R. mollis* und *R. sherardii* tetraploid. Bisherige Untersuchungen in gemischten Rosenpopulationen haben gezeigt, dass Hybriden zwischen Subsektionen nicht selten sind und dies oft mit einer Erhöhung der Ploidiestufe von penta- zu hexaploid einhergeht, da nicht-reduzierte Eizellen an der Hybridisierung

beteiligt sind (RITZ & WISSEMAN 2011, HERKLOTZ & RITZ 2014, HERKLOTZ & al. 2017, HERKLOTZ & RITZ 2017). Bei fertilen Hybriden zwischen *Caninae* und *Rubigineae* liefern oft nicht reduzierte Gameten das für eine erfolgreiche *Canina*-Meiose nötige Paar homologer Chromosomensätze. Ist dieses jedoch anderweitig vorhanden, beispielsweise durch eine größere Ähnlichkeit in den Chromosomensätzen von Elternpflanzen aus *Caninae* und *Vestitae*, könnte auch eine Hybridisierung ohne Erhöhung der Ploidiestufe stattfinden. Ebenfalls möglich ist, dass ein tetraploider (*Vestitae*-) Elter nicht-reduzierte Gameten bildete und so pentaploide Nachkommen durch Hybridisierung entstanden sind. Ein eindeutiger Beweis für den hybridogenen Ursprung von *R. abietina* bedarf daher weiterer Studien, v. a. mit aussagekräftigeren genetischen Markern (z. B. nukleäre Kerngene) und einem größeren Probenumfang.

Über unsere Ergebnisse zur Verwandtschaft von *R. abietina* hinaus konnten wir eine leichte Gruppierung unterschiedlicher Hundsrosenarten für den Alpenraum im Vergleich zu den anderen Sammellokalitäten zeigen (Abb. 4). Möglicherweise stellen die Alpen hier eine genetische Barriere dar, die zu einer Differenzierung führte. Da alle hier verwendeten *R. abietina*-Proben aus den Alpen stammen – mit Ausnahme des Individuums, das an der von Grenier beschriebenen Fundstelle gesammelt wurde –, können wir trotz der fehlenden Korrelation zwischen genetischer/morphologischer und geografischer Distanz im Manteltest eine geografische Komponente beim Verhältnis von *R. abietina* zu anderen Hundsrosen nicht ausschließen. Auch andere Autoren fanden denselben Phänotyp später hauptsächlich in Habitaten in den Alpen (CHRIST 1873; TÄCKHOLM 1922). Im Französischen Jura hält sich *R. abietina* in der Nähe von Pontarlier, wo derzeit mehrere Fundorte bekannt sind.

5. Danksagung

Wir danken M. Schwager, J. Lorenz, R. Christian und J. Wesenberg (Senckenberg Museum für Naturkunde Görlitz) und den Mitarbeitenden aus dem Labor des Senckenberg Biodiversitäts- und Klimaforschungszentrums (SBIK-F) für die kompetente technische Unterstützung. Ebenso danken wir dem Ministère de la transition

écologique et de la cohésion des territoires (Frankreich) für die Genehmigung zur Bearbeitung der Proben basierend auf dem Nagoya-Protokoll. Wir danken K. Kaplan für die Angaben zu den Standorten von *Rosa abietina* im Aostatal, Italien und Ch. Bornand für Diskussionen zu *R. abietina*. Wir danken Ch. Bornand und G. Gottschlich für die konstruktiven Hinweise zum Manuskript.

6. Literatur

- BALLMER, D. 2018: Dogrose evolution and its implications for conservation. – MSc-Thesis. University Zuerich (UZH).
- BLACKBURN, K. B. 1925: Chromosomes and classification in the genus *Rosa*. – Am. Nat. 59: 200–204.
- & HARRISON, J. H. W. 1921: The status of the British rose forms as determined by their cytological behaviour. – Ann. Bot. 35: 159–188. – <https://doi.org/10.1093/oxford-journals.aob.a089753>
- BRUVO, R., MICHIELS, N. K., D'SOUZA, T. G. & SCHULENBURG, H. 2004: A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. – Mol. Ecol. 13: 2101–2106. – <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02209.x>
- CHRIST, H. 1873. Die Rosen der Schweiz. – Basel & al.: Georg.
- CLARK, L. V. & JASENIUK, M. 2011: POLYSAT: an R package for polyploid microsatellite analysis. – Molec. Ecol. Res. 11: 562–566. – <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.02985.x>
- DE COCK, K., MIJNSBRUGGE, K., BREYNE, P., VAN BOCKSTAELE, E. & VAN SLYCKEN, J. 2008: Morphological and AFLP-based differentiation within the taxonomical complex section *Caninae* (subgenus *Rosa*). – Ann. Bot. (Oxford) 102: 685–697. – <https://doi.org/10.1093/aob/mcn151>
- DE RIEK, J., DE COCK, K., SMULDERS, M. J. M. & NYBOM, H. 2013: AFLP-based population structure analysis as a means to validate the complex taxonomy of dogroses (*Rosa* section *Caninae*). – Molec. Phylogenet. Evol. 67: 547–559. – <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.02.024>
- DRESSLER, S., GREGOR, T., HELLWIG, F. H., KORSCH, H., WESCHE, K., WESENBERG, J.

- & RITZ, C. M. 2017: Comprehensive and reliable – a new virtual herbarium of critical plant taxa in Germany. – *Plant Syst. Evol.* 303: 1109–1113. – <https://doi.org/10.1007/s00606-017-1419-6>
- DUMOLIN, S., DEMESURE, B. & PETIT, R. J. 1995: Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. – *Theor. Appl. Genet.* 91: 1253–1256. – <https://doi.org/10.1007/BF00220937>
- ESSELINK, G. D., SMULDERS, M. J. M. & VOSMAN, B. 2003: Identification of cut rose (*Rosa hybrida*) and rootstock varieties using robust sequence tagged microsatellite site markers. – *Theor. Appl. Genet.* 106: 277–286. – <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1122-y>
- GRENIER, M. C. 1865: Flore de la Chaîne Jurasique 1. – Paris: Dodivers et Cie.
- HENKER, H. 2000: 25. *Rosa*. – p. 1–108. In: WEBER, H. E. (ed.), *Hegi, Illustrierte Flora von Mitteleuropa*. 4(2C). – Berlin: Parey.
- HERKLOTZ, V., KOVAŘÍK, A., LUNEROVÁ, L., LIPPIITSCH, S., GROTH, M. & RITZ, C. M. 2018: The fate of ribosomal RNA genes in spontaneous polyploid dogrose hybrids (*Rosa* L. sect. *Caninae* (DC.) Ser.) exhibiting non-symmetrical meiosis. – *Plant J.* 94: 77–90. – <https://doi.org/10.1111/tpj.13843>
- , MIEDER, N. & RITZ, C. M. 2017: Cytological, genetic and morphological variation in mixed stands of dogroses (*Rosa* L. sect. *Caninae* (DC.) Ser.) in Germany with a focus on the hybridogenic *R. micrantha* Sm. – *Bot. J. Linn. Soc.* 184: 254–271. – <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box025>
- & RITZ, C. M. 2014: Spontane Hybridisierung von Hundsrosen (*Rosa* L. sect. *Caninae* (DC.) Ser.) an einem natürlichen Vorkommen in der Oberlausitz (Sachsen, Deutschland). – *Peckiana* 9: 119–131.
- & — 2017: Multiple and asymmetric origin of polyploid dogrose hybrids (*Rosa* L. sect. *Caninae* (DC.) Ser.) involving unreduced gametes. – *Ann. Bot. (Oxford)* 120: 209–220. – <https://doi.org/10.1093/aob/mcw217>
- KELLER, R. 1931: Synopsis Rosarum spontaneorum Europae mediae. – *Denkschr. Schweiz. Naturforsch. Ges.* 65.
- KELLNER, A., RITZ, C. M. & WISSEMAN, V. 2014: Low genetic and morphological differentiation in the European species complex of *Rosa sherardii*, *R. mollis* and *R. villosa* (*Rosa* section *Caninae* subsection *Vestitae*). – *Bot. J. Linn. Soc.* 174: 240–256. – <https://doi.org/10.1111/boj.12124>
- KLÁSTERŠKÁ, I. 1969: Cytology and some chromosome numbers of Czechoslovak roses I. – *Fol. Geobot. Phytotax.* 4: 175–189. – <https://doi.org/10.1007/BF02854601>
- & NATARAJAN, A. T. 1974: Cytological studies of the genus *Rosa* with special reference to section *Caninae*. – *Hereditas* 76: 97–108. – <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1974.tb01181.x>
- KOOPMAN, W. J. M., WISSEMAN, V., DE COCK, K., VAN HUYLENBROECK, J., DE RIEK, J., SABATINO, G. J. H., VISSER, D., VOSMAN, B., RITZ, C. M., MAES, B., WERLEMARK, G., NYBOM, H., DEBENER, T., LINDE, M. & SMULDERS, M. J. A. 2008: AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships: A case study in *Rosa* (*Rosaceae*). – *Amer. J. Bot.* 95: 353–366. – <https://doi.org/10.3732/ajb.95.3.353>
- LOUREIRO, J., RODRIGUEZ, E., DOLEŽEL, J. & SANTOS, C. 2007: Two new nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry: A test with 37 species. – *Ann. Bot. (Oxford)* 100: 875–888. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm152>
- MAŁECKA, J. & POPEK, R. 1982: Karyological studies in the Polish representatives of the genus *Rosa* L. I. – *Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.* 14: 79–90.
- & — 1984: Karyological studies in the Polish representatives of the genus *Rosa* L. II. – *Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.* 16: 43–54.
- NYBOM, H., ESSELINK, G. D., WERLEMARK, G., LEUS, L. & VOSMAN, B. 2006: Unique genomic configuration revealed by microsatellite DNA in polyploid dogroses, *Rosa* sect. *Caninae*. – *J. Evol. Biol.* 19: 635–648. – <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2005.01010.x>
- , —, — & VOSMAN, B. 2004: Microsatellite DNA marker inheritance indicates preferential pairing between two highly homologous genomes in polyploid and hemisexual dog-roses, *Rosa* L. sect. *Caninae* DC. – *Heredity* 92: 139–150. – <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800332>
- OKSANEN, J., BLANCHET, F. G., FRIENDLY, M., KINDT, R., LEGENDRE, P., MCGLINN, D., MINCHIN, P. R., O'HARA, R. B., SIMPSON, G. L., SOLYMOS, P., STEVENS, H. H., SZOEC, E.

- & WAGNER, H. 2017: Package vegan. Community Ecology Package. – <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>; aufgerufen 3.6.2024.
- OTTO, F. 1990: DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. – *Meth. Cell Biol.* 33: 105–110. – [https://doi.org/10.1016/s0091-679x\(08\)60516-6](https://doi.org/10.1016/s0091-679x(08)60516-6).
- PARADIS, E. & SCHLIEP, K. 2019: ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. – *Bioinformatics* 35: 526–528. – <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633>
- R CORE TEAM 2019: A language and environment for statistical computing. – Wien: R Foundation for Statistical Computing.
- REICHEL, K., HERKLOTZ, V., SMOLKA, A., NYBOM, H., KELLNER, A., DE RIEK, J., SMULDERS, M. J. A., WISSEMANN, V. & RITZ, C. M. 2023: Untangling the hedge: genetic diversity in clonally and sexually transmitted genomes of European wild roses, *Rosa* L. – *PLoS ONE* 18: e0292634. – <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0292634>
- RITZ, C. M. 2021: *Rosa*. – p. 404–411. In: MÜLLER, F., RITZ, C. M., WELK, E., WESCHE, K. (ed.), Rothmaler. Exkursionsflora von Deutschland, Gefäßpflanzen: Grundband, ed. 22. – Heidelberg: Springer.
- & WISSEMANN, V. 2003: Male correlated non-matrocinal character inheritance in reciprocal hybrids of *Rosa* section *Caninae* (DC) Ser. (*Rosaceae*). – *Plant Syst. Evol.* 241: 213–221. – <https://doi.org/10.1007/s00606-003-0058-2>
- & — 2011: Microsatellite analyses of artificial and spontaneous dogrose hybrids reveal the hybridogenic origin of *Rosa micrantha* by the contribution of unreduced gametes. – *J. Hered.* 102: 217–227. – <https://doi.org/10.1093/jhered/esq124>
- ROBERTS, A. V., GLADIS, T. & BRUMME, H. 2009: DNA amounts of roses (*Rosa* L.) and their use in attributing ploidy levels. – *Pl. Cell Rep.* 28: 61–71. – <https://doi.org/10.1007/s00299-008-0615-9>
- SCHUELKE, M. 2000: An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. – *Nat. Biotech.* 18: 233–234. – <https://doi.org/10.1038/72708>
- SIMON, M. 2022a: Étude du genre *Rosa*: la croissance des cynorhodons. – *Nouv. Arch. Flore Jurass. Nord-Est France* 19: 55–62.
- 2022b: Étude du genre *Rosa*: la répartition des poils, des glandes et des cils. – *Nouv. Arch. Flore Jurass. Nord-Est France* 19: 63–77.
- 2023a: Étude du genre *Rosa*: le port, les aiguillons, les feuilles et les cynorhodons. – *Nouv. Arch. Flore Jurass. Nord-Est France* 20: 93–116.
- 2023b: Étude de la morphologie du genre *Rosa*: classement des espèces, rapport de l'analyse statistique. – *Nouv. Arch. Flore Jurass. Nord-Est France* 20: 117–134.
- SMOLKA, A. 2022: Cytological, genetic and morphological studies on dog roses (*Rosa* sect. *Caninae*) with a focus on the origin of *Rosa abietina*. – Bachelor-Arbeit. Freie Universität Berlin, Berlin.
- TÄCKHOLM, G. 1920: On the cytology of the genus *Rosa*. A preliminary note. – *Svensk Bot. Tidskr.* 14: 300–311.
- 1922: Zytologische Studien über die Gattung *Rosa*. – *Acta Horti Berg.* 7: 97–381.
- TIMMERMANN, G. & MÜLLER, T. 1998: Wildrosen und Weißdorne Mitteleuropas, ed. 2. – Stuttgart: Schwäb. Albverein, Stuttgart.
- WERLEMARK, G. & NYBOM, H. 2001: Skewed distribution of morphological character scores and molecular markers in three interspecific crosses in *Rosa* section *Caninae*. – *Hereditas* 134: 1–13. – <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.2001.00001.x>
- , UGGLA, M. & NYBOM, H. 1999: Morphological and RAPD markers show a highly skewed distribution in pair of reciprocal crosses between hemisexual dogrose species, *Rosa* sect. *Caninae*. – *Theor. Appl. Genet.* 98: 557–563. – <https://doi.org/10.1007/s001220051104>
- WESCHE, K. & LEYER, I. 2008: Multivariate Statistik in der Ökologie. – Heidelberg: Springer Spektrum.
- WICKHAM, H. 2016. ggplot2: elegant graphics for data analysis. – New York: Springer.
- YOKOYA, K., ROBERTS, V., MOTTLEY, J., LEWIS, R. & BRANDHAM, P. E. 2000: Nuclear DNA amounts in roses. – *Ann. Bot. (Oxford)* 85: 557–561. – <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.1102>