

## ***Dryopteris* × *alpirsbachensis*, hybr. nov. – erster Nachweis der Naturhybride zwischen *Dryopteris carthusiana* und *Dryopteris remota* (Dryopteridaceae, Pteridophyta)**

JENS FREIGANG, GÜNTHER ZENNER, WALTER BUJNOCH, STEFAN JESSEN & MARIANNE MAGAUER

**Zusammenfassung:** Die Hybride zwischen *Dryopteris carthusiana* und *D. remota* wird beschrieben als *D. ×alpirsbachensis* FREIGANG, ZENNER, BUJNOCH, S. JESS. & MAGAUER. Sie wurde in Deutschland, Österreich, Frankreich und Italien gefunden. Die intermediären morphologischen Eigenschaften, überwiegend abortierte Sporen, die Ergebnisse karyologischer Untersuchungen sowie der Analyse eines Fragmentes des nukleären PgiC-Gens bestätigen die vermutete Abstammung. Weiterhin wird sie mit der ähnlichen *D. ×brathaica* (*D. carthusiana* × *D. filix-mas*) verglichen.

**Abstract:** *Dryopteris* × *alpirsbachensis*, hybr. nov. – First evidence for the natural hybrid between *D. carthusiana* and *D. remota* (Dryopteridaceae, Pteridophyta). The hybrid *Dryopteris carthusiana* × *D. remota* is described as *D. ×alpirsbachensis* FREIGANG, ZENNER, BUJNOCH, S. JESS. & MAGAUER. It was found in Germany, Austria, France and Italy. The morphological intermediate character, the mainly abortive spores, the results of karyology and the analysis of a fragment of the nuclear PgiC gene confirm the expected origin. Moreover, comparative studies with the similar *D. ×brathaica* (*D. carthusiana* × *D. filix-mas*) are given.

Stefan Jeßen  
Walter-Meusel-Stiftung, Arktisch-Alpiner-  
Garten, Schmitt-Rottluff-Straße 90,  
09114 Chemnitz;  
jessen.walter-meusel-stiftung@gmx.de

Marianne Magauer  
Institut für Botanik, Universität Innsbruck,  
Sternwartestraße 15,  
A-6020 Innsbruck;  
marianne.magauer@uibk.ac.at

### **1. Einleitung**

Die allotetraploide *Dryopteris carthusiana* ist in Mitteleuropa ein häufiger Waldfarn, der in kaum einem feuchten Waldbestand fehlt. Diese Art ist in der submeridionalen bis borealen Klimazone Nordamerikas, Europas und Asiens weit verbreitet (DOSTÁL & al. 1984, S. 164ff.). Sie pflanzt sich normal sexuell fort und erzeugt fast ausschließlich gut entwickelte Sporen.

*D. remota* ist ein nur regional verbreiteter Waldfarn, der in niederschlagsreichen Gebieten schattige, luftfeuchte und wasserzügige Standorte besiedelt. Ihr Verbreitungsareal ist disjunkt und reicht von Westeuropa bis nach Vorderasien. (Westeuropa: Irland und Schottland – vormalige Vorkommen vermutlich ausgelöscht, England – ein Exemplar, Kantabrien, spanische und französische Zentral- bis Ostpyrenäen, nördliches Pyrenäenvorland, französisches Zentralmassiv, Nordostfrankreich mit Schwerpunkt in den Vogesen; südliches Mitteleuropa: Pfalz, Schwarzwald, Schurwald in Württemberg, Oberschwaben, Allgäu und Bayerische Alpen mit Vorland, Nord- und Zentralschweiz, südliches Tessin [Jeßen unpubl.], Norditalien, fast ganz Österreich, südliches Böhmen, Mährischer Karst, nördliches und westliches Slowenien; östliches und südöstliches Europa: Sudeten, Beskiden, nördliches Kroatien, Karpato-Ukraine, Apuseni-Gebirge [Freigang unpubl.] und

Jens Freigang  
Tal 11, 88368 Bergatreute;  
jens.freigang@t-online.de

Günther Zenner  
Freiherr-vom-Stein-Straße 33,  
55606 Kirn

Walter Bujnoch,  
Neuwiese 13, 54296 Trier;  
wrbujnoch@onlinehome.de



Abb. 1: *Dryopteris xalpirsbachensis*, SJ-3941: am Fundort im Tresatal; mittlerer Spreitenabschnitt; S. Jeßen 19.6.2014. – *D. xalpirsbachensis*, SJ-3941: discovered in Tresatal; median area of leaf blade.

Karpatenbogen in Rumänien; Vorderasien: Nordosttürkei, Abchasien und westlicher Kleiner Kaukasus in Georgien, Ossetien; – JERMY 2002, CROUCH, H. J. & RUMSEY, F., SALVO & ARRABAL 1986, PÉREZ CARRO & FERNÁNDEZ ARECES 2007, PRELLI 2001, DOSTÁL & al. 1984, LANG & WOLF 2011, BECK 1998, BENL & ESCHELMÜLLER 1973, ESCHELMÜLLER 1980, ESCHELMÜLLER & ESCHELMÜLLER 2000, NETPHYD & BfN 2013, LAUBER & WAGNER 2012, FISCHER & al. 2008, MARCHETTI 2003, TLAŁKA & PIĄTEK 2010, SZCZĘŚNIAK & al. 2009, GRINȚESCU 1952, EKRT & al. 2007).

*D. remota* ist eine triploide, apomiktische Art (FISCHER 1909, DÖPP 1932, MANTON 1950, DOSTÁL & al. 1984), die in der Regel neben abortierten überwiegend gut ausgebildete, keimfähige Sporen ausbildet (PERONI & al. 1991). Morphologisch vermittelt *D. remota* zwischen Sippen der ebenfalls apomiktischen *D. affinis* (LOWE) FRASER-JENK. s. l. und Sippen der *D. carthusiana*-Gruppe.

Nach bisherigem Kenntnisstand bildet *D. carthusiana* in Mitteleuropa mit vier weiteren *Dryopteris*-Arten Hybriden, während für *D. remota* zumindest in der Natur die Beteiligung an einer

Hybridbildung bisher nicht nachgewiesen wurde (DOSTÁL & al. 1984, S. 164ff.). Allerdings gelang es laut DÖPP (1935, 1939) Hybridpflanzen zwischen *D. carthusiana* und *D. remota* experimentell zu erzeugen. Die Pflanzen waren aber nur kurzlebig und konnten nicht zu weiteren Untersuchungen herangezogen werden.

Die neu beschriebene Hybride *D. xalpirsbachensis* wurde von drei Autoren (J. Freigang, G. Zenner und S. Jeßen) in den Jahren 2011 bis 2014 an mehreren Wuchsorten zwischen ihren Elternarten *D. carthusiana* und *D. remota* nachgewiesen.

Die Bildung von interspezifischen Hybriden in der Gattung *Dryopteris* wird in Europa insbesondere zwischen Arten beobachtet, die näher miteinander verwandt sind. Ausführliche Erklärungen und Angaben zu „Generationswechsel“, „Zytologie“ und „Apomixis“ bei Farnen finden sich bei DOSTÁL & al. (1984: S. 11ff.) sowie KRAMER & al. (1995). Ausführungen zu den *Dryopteris*-Sippen in Deutschland und ein Schema zur retikulären Evolution der *D.-carthusiana*- sowie der *D.-filix-mas* Gruppe finden sich bei KRAUSE (1998).

## 2. Fundorte und Material

Das untersuchte Material wurde jeweils an den Fundorten entnommen und herbarisiert, bzw. lebende Pflanzen im Garten Freigang in Bergatreute (Landkreis Ravensburg) oder im Arktisch-Alpinen-Garten in Chemnitz in Kultur genommen. Für Messungen der relativen Genomgröße wurde frisches Blattmaterial der im Garten Freigang in Kultur genommenen Pflanzen von Alpirsbach, Ramsau, Hörbranz und Boutx entnommen. Zur Ermittlung des 2C-Wertes der Pflanze aus Norditalien diente Material der im Arktisch-Alpinen-Garten Chemnitz kultivierten Pflanze (SJ-3941). Das Material für die karyologische Untersuchung stammt von dem alpirsbacher Vorkommen (FrV1063).

### 2.1 *Dryopteris xalpirsbachensis*

Die Wuchsorte in Deutschland, Österreich und in den französischen Pyrenäen befinden sich in montaner bis hochmontaner Höhenlage, in Norditalien dagegen in wärmebegünstigter, colliner Lage im Tresatal östlich des Lago Maggiore. Entsprechend den standörtlichen Bedingungen für Vorkommen der *D. remota*, hohe Luftfeuchtigkeit und wasserzügiger Untergrund, befinden sich die Hybridpflanzen an Fundstellen mit reichen Farnbeständen in lichtreichen bis mäßig beschatteten, nadelholzreichen Wäldern. Im näheren Umkreis der Fundorte von *D. xalpirsbachensis* konnten weitere Gefäßkryptogamen aufgefunden werden (Tab. 3 im Anhang).

Einzelpflanzen der Hybride wurden an fünf Fundorten nachgewiesen. Die geographischen Angaben zu mitteleuropäischen Fundorten werden durch Nummer des Grundfeldes (hier Viertelquadrant) im Kartiernetz der Flora von Mitteleuropa nach NIKLFELD (1971) ergänzt. Die geographischen Koordinaten wurden mit Google-Earth ermittelt, die Ungenauigkeit der Fundortangaben beträgt ca. 50 Meter. Die Information zum Rasterfeld des Fundes im Tresatal orientiert sich an BONA (2005) sowie BECK & WILHALM (2010). Für die kartographische Zuordnung des Fundes in den Pyrenäen wird die Nummer der entsprechenden amtlichen französischen topographischen Karte 1: 25 000, „série bleue“, des IGN genannt. Die durchflusszytometrisch, molekulargenetisch bzw. karyologisch untersuchten Belege oder Pflanzen sind nachstehend durch

die Abkürzungen „FLOW“, „MOLE“ bzw. „KARY“ gekennzeichnet.

#### Fundort Alpirsbach:

Deutschland, Baden-Württemberg, mittlerer Schwarzwald, Kreis Freudenstadt, südlich Freudenstadt, nordwestlich Alpirsbach, Tal des Alpirsbächle, 540 m NN, 8°23'31"E, 48°21'05"N; 7616/14; feuchte Quellmulde im Hang; eine vielköpfige Pflanze.

#### Herbarbelege:

- Jena (JE):
  - FrX-179: J. Freigang (15.7.2015) von FrV1063 ex horto Freigang, JE (**Holotypus**)
- Herb. Zenner:
  - 16.07.2011 Dr 4: J. Freigang & G. Zenner (16.7.2011) à MOLE
  - 25.11.2013 Dr 2: J. Freigang (25.11.2013) von FrV1063 ex horto
  - 16.08.2014 Dr 1: J. Freigang (16.8.2014) von FrV1063 ex horto
- Herb. Freigang:
  - Fr2922: J. Freigang (8.7.2011)
  - FrX-010 (Nov. 2012); FrX-045 (Juli 2013); FrX-180 und FrX-182 (Okt. 2014); FrX-185 (Okt. 2015); alle Belege J. Freigang von FrV1063 ex horto
- kultivierte Pflanze in Garten Freigang:
  - FrV1063: J. Freigang & G. Zenner (16.7.2011) à FLOW, KARY

#### Fundort Hörbranz:

Österreich, Vorarlberg, Pfändermassiv, nordnord-östlich Bregenz, südöstlich Hörbranz, westsüd-westlich Ruggburg, Talgebiet des Ruggbaches, 650 m NN, 9°46'18"E, 47°32'29"N; 8424/41; auf humusbedecktem Lehm Boden im Nordhang; vier Exemplare.

#### Herbarbelege:

- Herb. Zenner:
  - 20.11.2014 Dr 2: J. Freigang (8.11.2014) von der gleichen Pflanze wie FrA720
- Herb. Freigang:
  - FrA653, FrA654 und FrA660: J. Freigang (22.6.2014)
  - FrA720: J. Freigang (8.11.2014)
  - FrX-181: J. Freigang (Sept. 2014) von FrV1180 ex horto
- kultivierte Pflanze in Garten Freigang:
  - FrV1180: J. Freigang (18.1.2011) à FLOW, MOLE

**Fundort Boutx, Pyrenäen:**

Frankreich, Dép. Haute-Garonne, mittlere Pyrenäen, südwestlich Toulouse, nordöstlich Bagnères-de-Luchon, südwestlich des Col de Menté, ost-südöstlich von Boutx, Nordhang des Montagne de la Seube, 1230 m NN, 0°45'09"E, 42°54'30"N; 1947 OT: Aspet / Pic de Maubermé, Südwestteil; auf humusbedecktem Lehm-boden; ein mehrköpfiges Exemplar.

**Herbarbelege:**

- Herb. Zenner:
  - 25.08.2012 Dr 15: J. Freigang (25.8.2012) von der gleichen Pflanze wie FrF381
  - 16.08.2014 Dr 2: J. Freigang (16.8.2014) von FrV1165 ex horto
- Herb. Freigang:
  - FrF381: J. Freigang (25.8.2012)
- kultivierte Pflanze in Garten Freigang:
  - FrV1165: J. Freigang (25.8.2012) à FLOW, MOLE

**Fundort Ramsau:**

Deutschland, Bayern, Berchtesgadener Land, westlich Berchtesgaden, nordwestlich Ramsau, südwestlich Brunnenhaus und Schwarzbewacht, 860–900 m NN, 12°50'36"E, 47°38'06"N; 8343/31; nordexponierter Tannen-Fichten-Bergwald über Kalkgeröll; fünf Exemplare.

**Herbarbelege:**

- Herb. Zenner:
  - 05.08.2013 Dr 23: J. Freigang & G. Zenner (5.8.2013)
  - 09.08.2014 Dr 22 à MOLE und 09.08.2014 Dr 29: J. Freigang & G. Zenner (9.8.2014)
- Herb. Freigang:
  - Fr3596 und Fr3537: J. Freigang & G. Zenner (5.8.2013)
  - FrX-184: J. Freigang (Sept. 2014) von FrV1220 ex horto
- kultivierte Pflanzen in Garten Freigang:
  - FrV1216 und FrV1220: J. Freigang & G. Zenner (5.8.2013) à beide FLOW

**Fundort Tal der Tresa:**

Italien, Provinz Varese, westlich Lugano, östlich Luino, in einem Seitental zum Tresatal, südlich der Tresa, unweit der Straße nach Biviglione, 278 m NN, 8°47'05"E, 45°59'20"N;

0018/12; Nordostbereich von 1352 Luino (Carta Nazionale della Svizzera 1: 25 000); auf sandig-lehmigem Boden; ein Exemplar.

**Herbarbelege:**

- Herb. Jeßen:
  - SJ-3941: S. Jeßen (19.6.2014) und 21.7.2015 von kultivierter Pflanze
- kultivierte Pflanze im Arktisch-Alpinen-Garten Chemnitz
  - SJ-3941: S. Jeßen (19.6.2014) à FLOW, MOLE

**2.2 *Dryopteris carthusiana*, *D. remota* und *D. xbrathaica***

Die Merkmale von *D. remota* wurden an lebenden Pflanzen und herbarisiertem Material aus Deutschland (Schwarzwald, Pfalz, Allgäu, Oberbayern, Berchtesgadener Land), Österreich (Vorarlberg, Land Salzburg), Frankreich (mittlere Pyrenäen, Nord-Vogesen), Schweiz (Kanton Zürich) und Westrumänien untersucht. Die Merkmalsuntersuchungen bei *D. carthusiana* erfolgten an Material aus Deutschland (vorderes Bergisches Land, Ahrgebiet, Eifel, Hunsrück, Nahegebiet, Rheinhessen, Odenwald, Spessart, Unterfranken, Frankenwald, Saarland, Pfalz, Kurpfalz, Schwarzwald, Bodenseegebiet, Allgäu, Berchtesgadener Land), Luxemburg, Österreich (Vorarlberg, Kärnten) und Frankreich (mittlere Pyrenäen, Vogesen). Zu Vergleichszwecken lag auch Material der Hybride *D. xbrathaica* (*D. carthusiana* × *D. filix-mas*) vor: ein vegetativer Nachkomme der Typuspflanze (Brathay-Wood) im Arktisch-Alpinen-Garten in Chemnitz (SJ-2427), ein Exemplar aus Oberösterreich bei Linz (LIMBERGER 2010) und sechs Exemplare aus Süddeutschland bei Fronhofen, Bergatreute, Bad Waldsee, Tettwang, Oberstaufen und Scheidegg (FREIGANG & al. 2013).

**3. Methoden****3.1 Morphologie**

Zur Bestimmung des uns vorliegenden Materials wurden die **Spreuschuppen** am Wedelstiel und der unteren Rhachis, die **Drüsen** auf den Nerven an der Unterseite der Spreite

und an den Indusien sowie die **violettsschwarze Färbung** an den Stielen der Hauptfiedern (Segmente 1. Ordnung) an frischen sowie an herbarisierten Wedeln mit einer Stereolupe bei 10- bis 100-facher Vergrößerung untersucht. Die Untersuchung der **Sporen** und die Messung der Sporenlänge (Exospor) erfolgten unter einem Mikroskop bei etwa 400-facher Vergrößerung. Zur Feststellung der mittleren Sporenlänge wurden mindestens 50 in Kanadabalsam eingebettete Sporen gemessen und der arithmetische Mittelwert berechnet. Die Messung der **Schließzellenlänge** erfolgte bei gleicher Vergrößerung an in Wasser eingebetteten Stücken der Blattunterseite. Das Probenmaterial wurde aus dem fertilen, mittleren Bereich der Spreite entnommen. Der arithmetische Mittelwert wurde ebenfalls aus mindestens 50 Einzelmesswerten einer Probe berechnet.

Für eine Differenzierung von *D. xalpirsbachensis*, *D. remota* und *D. carthusiana* und den Vergleich von *D. xalpirsbachensis* mit der ähnlichen *D. xbrathaica* wurde die relative Höhe der Spitzen von Zähnen aus dem apikalen Teil der Segmente 2. Ordnung bestimmt und ein **Zahnspitzenquotient** berechnet. Um die angesprochenen Zahnspitzen für einen Längenvergleich messen zu können, wurde folgende Messmethode entwickelt (vgl. auch Beschreibung und Abb. 1 bei FREIGANG & al. 2013): Zunächst werden von Frischmaterial oder von in Wasser eingeweichtem Herbarmaterial ausreichend große Endstücke mehrerer Segmente 2. Ordnung quer abgeschnitten und zwischen Objektträger und Deckglas in Hydromatrix (Micro-Tech-Lab, Graz/Österreich) eingebettet. Wenn das Einbettungsmittel etwas gehärtet ist, kann die Messung an den Zähnen am Ende des abgeschnittenen Segmentstückes bei etwa 100-facher Vergrößerung vorgenommen werden.

Das Messokular muss mit zwei orthogonalen, skalierten Achsen („x- und y-Achse“) ausgestattet sein. Man verschiebt den Kreutzisch mit dem Präparat unter gleichzeitigem Drehen des Okularmikrometers so, dass die Seitenränder der zu vermessenden Zahnspitze die x-Achse bei  $-100\ \mu\text{m}$  und  $+100\ \mu\text{m}$  schneiden (Basislinie). Die y-Achse sollte dabei gleichzeitig durch die Spitze des Zahnes verlaufen. Man misst den Abstand des daraus resultierenden Schnittpunktes in der Zahnspitze

von der Basislinie auf der y-Achse ab und erhält die „relative Höhe der Zahnspitze“. Sehr gebogene Zahnenden kann man nicht berücksichtigen. Wenn möglich, sollte man aus mindestens 20 Einzelmesswerten einen arithmetischen Mittelwert der relativen Höhe von Zahnspitzen in Mikrometer berechnen. Dividiert man diesen Mittelwert durch die Länge der Basisstrecke ( $200\ \mu\text{m}$ ) erhält man einen Zahnspitzenquotienten, der Informationen über die Ausgestaltung der Enden an den betrachteten Zähnen liefert.

### 3.2 Durchflusszytometrie

Zur Bestimmung der relativen Genomgröße wurden durchflusszytometrische Messungen mehrerer Proben von *D. remota*, *D. carthusiana* und *D. xalpirsbachensis* entsprechend dem Protokoll von SUDA & TRÁVNÍČEK (2006) durchgeführt. Um die Zellen aufzuschließen, wurden ca.  $1\ \text{cm}^2$  große Abschnitte frischer, intakter Wedel zusammen mit Blattmaterial des Referenzstandards (*Vicia faba* cv. Inovec;  $2\text{C} = 26,90\ \text{pg}$ , DOLEŽEL & al. 1992) in Otto-I-Puffer ( $0,1\ \text{M}$  Zitronensäuremonohydrat mit  $0,5\%$  Tween 20; OTTO 1990) mit einer Rasierklinge zerhackt. Die so isolierten und anschließend gefilterten Zellkerne wurden durch Zugabe von Otto-II-Puffer ( $0,4\ \text{M}$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  mit  $0,2\%$   $\beta$ -Mercaptoethanol) mit  $4',6$ -Diamidin-2-phenylindol (DAPI) angefärbt. Mit Hilfe eines CyFlow space Durchflusszytometers (Partec) und Partec FloMax Software wurde die relative Intensität der Fluoreszenz von  $3\ 000$  Partikeln aufgenommen und ausgewertet. Die Qualität der Messungen wurde durch die Berechnung des Variationskoeffizienten für die G1 Peaks von Probe und Referenzstandard bestimmt. Messungen, deren Variationskoeffizient über  $4\ \text{lag}$ , wurden verworfen. Die relative Genomgröße wurde als Verhältniswert der x-Achsen-Position von Standard und Probe berechnet.

Zur Bestimmung des  $2\text{C}$ -Wertes der Pflanze aus Norditalien (SJ-3941) wurde eine Probe im Juli 2014 an J. Fuchs (Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben) geschickt. In vier unabhängigen Messungen wurde unter Verwendung von *Secale cereale* ( $16,01\ \text{pg}/2\text{C}$ ) als Referenzstandard und Propidiumjodid als DNA-Farbstoff der DNA-Gehalt ermittelt.

### 3.3 Karyologische Untersuchungen

Da der Ploidiegrad der als *D. xalpirsbachensis* angesehenen Pflanzen durchflusszytometrisch bestimmt wurde, war das Ziel der karyologischen Untersuchung vorrangig die Abschätzung des Paarungsverhaltens der Chromosomen in der Meiose von Sporenmutterzellen des 16-Zell-Typs. Dazu wurden am 1. Juni 2015 Fixierungen (in abs. Ethanol/Eisessig 3:1) an einer im Garten von J. Freigang kultivierten Hybridpflanze (FrV1063, vom locus classicus stammend) durchgeführt. Die Präparation, Bearbeitung und Dokumentation führte W. Bujnoch durch. Die Untersuchung erfolgte nach der von MANTON (1950) beschriebenen Quetschmethode. Es wurde ein Mikroskop von Zeiss benutzt, das mit hochaperturigen Objektiven und einer Fotodokumentationseinrichtung versehen war. Die Auswertung erfolgte an als geeignet angesehenen Metaphasenaufnahmen, von denen eine in Abb. 9 dargestellt ist.

### 3.4 Molekulargenetik

In dieser Arbeit, wie auch bei früheren Untersuchungen (FREIGANG & al. 2013, BUJNOCH 2015), wurde als Marker-System ein Abschnitt des nukleären PgiC-Gens gewählt, das das Enzym Phospho-6-glucose Isomerase des Glykolyse-Zyklus exprimiert (ALBERTS & al. 2004). Das Gen umfasst 23 Exons, die durch 22 Introns getrennt sind (THOMAS & al. 1992). Für die beiden Introns zwischen dem 14. und 16. Exon konstruierten ISHIKAWA & al. 2002 universell anwendbare Primer, die auch bei Arten der Gattung *Dryopteris* zum Teil befriedigend arbeiten. Als kodominanter Marker, der nur in einer Kopie im Kern vorhanden ist (ISHIKAWA & al. 2002), lässt sich mit ihm bei homoploiden Farnen im Prinzip ermitteln, ob der untersuchte Genort homo- oder heterozygot ist, bei heteroploiden Farnen lassen sich unter Umständen darüber hinaus die Eltern bestimmen (ROTHFELS & al. 2013, ZIMMER & WEN 2012).

In dem hier untersuchten Fall gelingt es, einige Arten der Gattung *Dryopteris* anhand der teilweise spezifischen Fragmentlänge zusammen mit der Ausprägung morphologischer und karyologischer Merkmale zu

identifizieren. Die Fragmente wurden durch PCR-Reaktionen synthetisiert und die Längen der Fragmente mit einem Sequenziergerät ermittelt (Kapillarsequenzierer MegaBace von GE-Healthcare). In den Abbildungen wird der Längenbereich (Abszisse) zwischen 450 bp und 550 bp und die Signalintensität (Ordinate) in gerätespezifischen Einheiten dargestellt. Die Intensität eines Signals hängt von der Menge der eingesetzten DNA ab. Zwischen den mit Längenangaben quantifizierten Signalen sind die Signale des Längenstandards, ROX600, sichtbar.

Die Auswertesoftware dieses Gerätes (Fragmentprofiler) gestattet es, die Signalflächen als Maß für die relative Signalintensität zu messen.

Die von den Sequenziergeräten angezeigten Fragmentlängen sind keine Absolutwerte, sondern geräteabhängig. Wechselt man das Gerät, so kann es zu Längenverschiebungen kommen, die sich von den Längenangaben eines anderen Gerätes durch einen konstanten Faktor unterscheiden. Im vorliegenden Falle weist das Sequenziergerät infolge einer Hardware-Umrüstung im Jahre 2013 eine Längenverschiebung gegenüber den in den Arbeiten FREIGANG & al. (2013) und BUJNOCH (2015) publizierten Längenwerten um 4–5 bp auf. Um absolute Längen, gemessen in Basenpaaren, zu erhalten, müssen Sequenzierungen durchgeführt werden.

DNA-Isolation und PCR: Aus Frischmaterial (100 mg) oder mit Silicagel getrocknetem Material (30 mg) wurde mit dem DNeasy Plant Mini DNA Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) gemäß der Angaben des Herstellers reine DNA der Proben isoliert. Sie diente als Template für die nachfolgende PCR, wobei unterschiedliche DNA-Mengen eingesetzt wurden. Dabei wurde Hot Start Taq Plus Mastermix (Qiagen) mit der Endkonzentration 0,5 U/Rkt, 200 µmol je dNTP, 1,5 µM je Primer eingesetzt. Die Reaktionslösung enthielt 1,5 µM MgCl<sub>2</sub>. Die PCR (ausgeführt mit einem Thermocycler von Biometra) erfolgte unter folgenden Bedingungen: Vorschmelze: 95 °C 5 min; 45 Zyklen von 95 °C 1 min, 36 °C 1 min und 72 °C 1,5 min; Endverlängerung 10 min.

Die benutzten Primer (ISHIKAWA & al. 2002):  
 15F: TTT GCT CCT CAC ATT CAA CA  
 16R: GTT GTC CAT TAG TTC CAG GTT  
 CCC C

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Morphologische Befunde

Die wesentlichen Ergebnisse der vergleichenden makro- und mikromorphologischen Untersuchungen sind in Tab. 1 dargestellt.

**Tab. 1:** Merkmale an Elternarten und Hybride. – Features of parental species and hybrid.

Merkmal	<i>D. carthusiana</i>	<i>D. xalpirsbachensis</i>	<i>D. remota</i>
Beschuppung und Aussehen der Triebrossette (Abb. 3)	Beschuppung nicht sehr dicht; Schuppen heller braun bis fast farblos, die noch eingerollten Wedel bilden keinen kompakten Ring aus, ihr grünes Chlorophyll ist gut erkennbar	Beschuppung dicht; hellbraun, nicht blass; eingerollte Wedel meist kompakt im Ring angeordnet, aber einzelne Wedel nicht dicht im Ring integriert, kein grünes Chlorophyll erkennbar	Beschuppung dicht, mittelbraun; einige Schuppen mit etwas dunklerem, diffusem Basalfeld; eingerollte Wedel kompakt im Ring angeordnet, kein grünes Chlorophyll erkennbar
Beschuppung am unteren Blattstiel	nicht sehr dicht; Schuppen hellbraun bis fast farblos, ohne diffuses, dunkleres Basalfeld	dicht; Schuppen mittelbraun, nicht blass, viele mit kleinerem, diffusem, etwas dunklerem Basalfeld (Abb. 14)	dicht, selten etwas aufgelockert; Schuppen mittel- bis dunkelbraun, fast alle mit diffusem, etwas ausgedehntem, dunklerem Basalfeld
Beschuppung, oberer Blattstiel, untere Rhachis	sehr aufgelockert; Schuppen an der Achse anklebend, blass mit Graustich bis hellbraun, kein dunkleres Basalfeld	aufgelockert bis dicht; Schuppen hell- bis mittelbraun, manche mit diffusem, kleinerem, nur wenig dunklerem Basalfeld (Abb. 14)	aufgelockert bis dicht; Schuppen meist mittel- bis dunkelbraun, viele mit kräftigem, diffusem, dunklerem Basalfeld
Beschuppung auf der Spindel der Hauptfiedern (Segmente 1. Ordnung)	sehr aufgelockert; viele Schuppen blassbraun, andere fast farblos und graustichig	aufgelockert; Schuppen etwas braun, nicht blass	aufgelockert; Schuppen immer deutlich braun
Form der Blattspreite (Abb. 2)	dreieckig-oval bis oval-lanzettlich, zur Basis kaum bis ein wenig verschmälert	oval-lanzettlich, zur Basis seltener kaum, meist aber erkennbar verschmälert	oval-lanzettlich, zur Basis etwas verschmälert
Färbung am Stiel der Hauptfiedern (Abb. 7)	grün; ab Spätsommer zuweilen mit rotbraunen oder blaugrünen Verfärbungen	violett-schwarze Färbung gefleckt bis geschlossen, oft bis in die Adern der untersten Segmente 2. Ordnung reichend	violettschwarz; Färbung oft bis in Adern der untersten Segmente 2. Ordnung reichend
Bedrüsung auf der Blattunterseite, insbesondere auf Nerven	95 % der Proben mit zerstreut auftretenden längeren Stieldrüsen (insgesamt 39 Proben)	60 % der Proben mit einzelnen langen Stieldrüsen (insgesamt 10 Proben)	25 % der Proben mit wenigen und kürzeren Drüsen (insgesamt 21 Proben)
Zähne am Ende der Segmente 2. Ordnung, (Abb. 4)	mit stark verlängerter und domartiger Spitze	mit deutlich zugespitzter bis etwas verlängerter Spitze	mit kurzer, selten ein wenig dornartiger Spitze
Zahnspitzenquotient an Zähnen am Ende der Segmente 2. Ordnung (der jeweilige Mittelwert von jeder ausgewerteten Probe liegt in dem hier angegebenen Intervall)	1,76–3,76  (31 Proben)	1,22–2,00  (17 Proben)	0,83–1,54  (42 Proben)

Merkmal	<i>D. carthusiana</i>	<i>D. xalpirsbachensis</i>	<i>D. remota</i>
laterale Zähnung an den untersten Segmenten 3. Ordnung der untersten Hauptfiedern	Zähne deutlich und grob, oft mit verlängerter Spitze	Zähne feiner, ihre Spitze nicht verlängert	Zähne meist fehlend, wenn vorhanden sehr klein
Drüsen am Indusium	Rand bei ca. 30 % der Proben mit mehreren Drüsen, Oberfläche fast immer drüsenlos, selten mit einzelnen Drüsen (insgesamt 111 Proben)	Rand und Oberfläche drüsenlos oder mit einzelnen Drüsen (insgesamt 26 Proben)	Rand und Oberfläche meist mit vielen Drüsen, (insgesamt 177 Proben)
Schließzellenlänge (der jeweilige Mittelwert von jeder ausgewerteten Probe liegt in dem hier angegebenen Intervall)	50–68 µm  (57 Proben)	61–68 µm  (18 Proben)	47–59 µm  (74 Proben)
Schließzellenlänge, Mittelwert aller Messungen	59,2 µm	64,3 µm	52,5 µm
Sporen (in Kanadabalsam) Abb. 5 und 6	fast immer ± einförmig homomorph, oval bis bohnenförmig, selten (bis ca. 2 %) deformiert oder kugelförmig, im Durchlicht hellbraun mit einem Grauton; Perispor fast immer mit feinen Stacheln besetzt	sehr heteromorph, zu 80–90 % deformiert, oft kugelig bis eingedellt, seltener oval bis bohnenförmig, einzelne Sporen recht groß, im Durchlicht dunkelbraun bis fast schwarz; Perispor oft bizarr, mit kurzen Stacheln übersät	heteromorph, zum Teil deformiert, kugelig, oval, bohnenförmig, im Durchlicht hellbraun; Perispor mit feinen Stacheln besetzt
Sporenlänge (der jeweilige Mittelwert von jeder ausgewerteten Probe liegt in dem hier angegebenen Intervall; es wurde das Exospor von ovalen bis bohnenförmigen, nicht an kugeligen oder deformierten Sporen gemessen.)	37–47 µm  (44 Proben)	42–56 µm  (12 Proben)	43–55 µm  (49 Proben)
Sporenlänge Mittelwert aller Messungen	41,1 µm	49,3 µm	50,1 µm
Fortpflanzung	sexuell	wahrscheinlich apomiktisch	apomiktisch
Chromosomenzahl (2n = Chromosomenzahl der Zellkerne des Sporophyten, n = der des Gametophyten)	2n = 164, n = 82,	ermittelt: 2n = ca. 205	2n = 123, n = 123,
Ploidiegrad	tetraploid	pentaploid	triploid

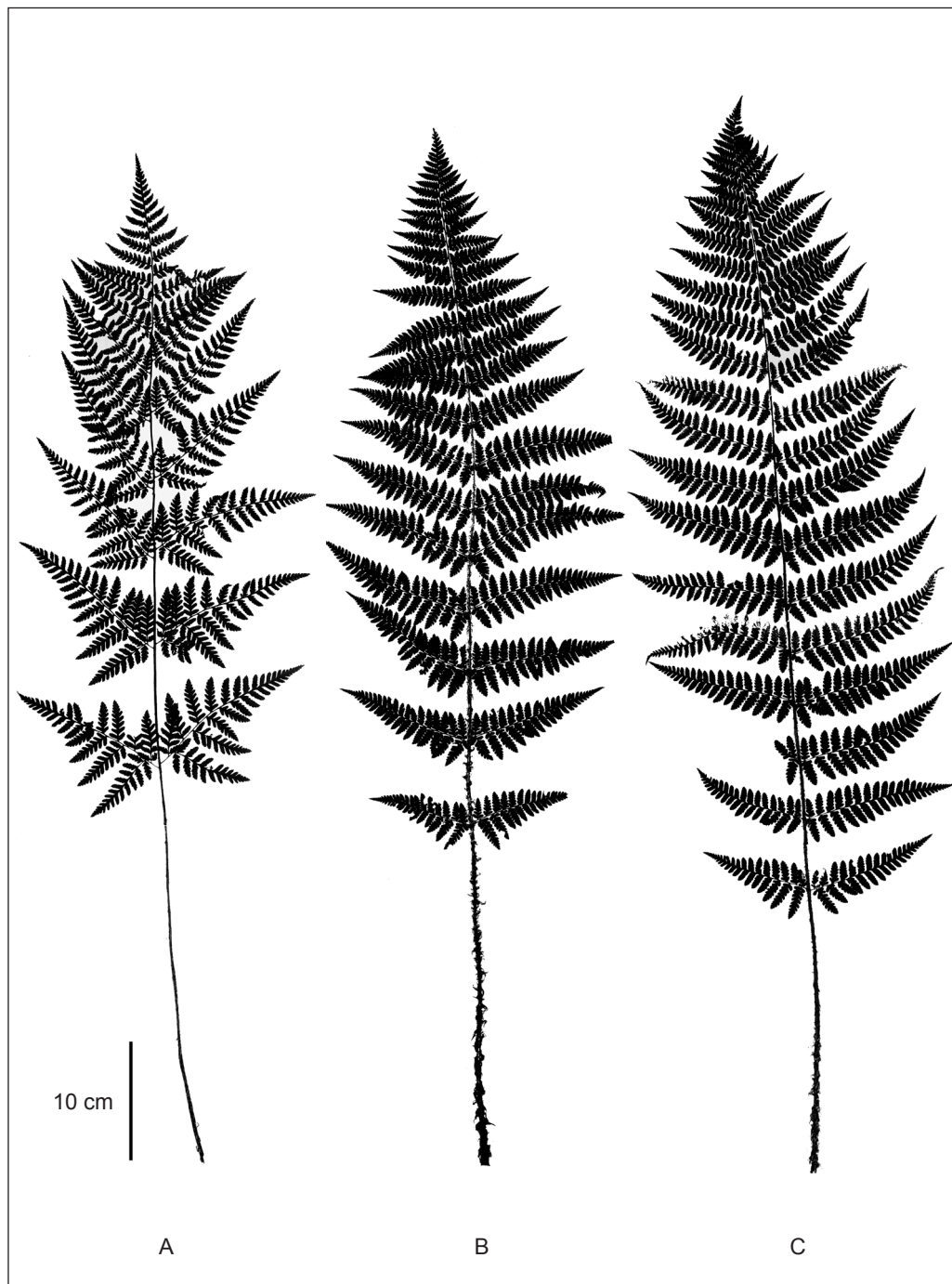


Abb. 2: Silhouetten von *Dryopteris carthusiana* (A: Fr3191, Weißenbronner Wald, Oberschwaben), *D. xalpirsbachensis* (B: FrX-179, Holotypus) und *D. remota* (C: FrA561, Hörbranz, Vorarlberg): J. Freigang. – Silhouettes of *D. carthusiana* (A: Fr3191, Weissenbronner forest, Upper Swabia), *D. xalpirsbachensis* (B: FrX-179, Holotypus) and *D. remota* (C: FrA561, Hörbranz, Vorarlberg).



A

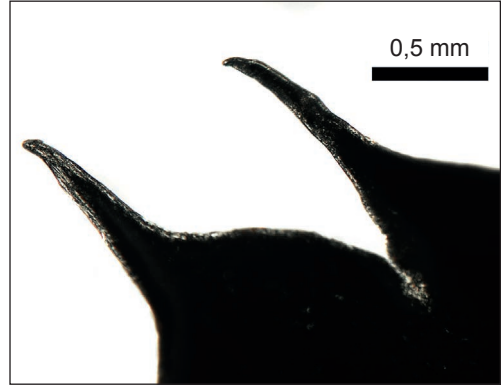


B

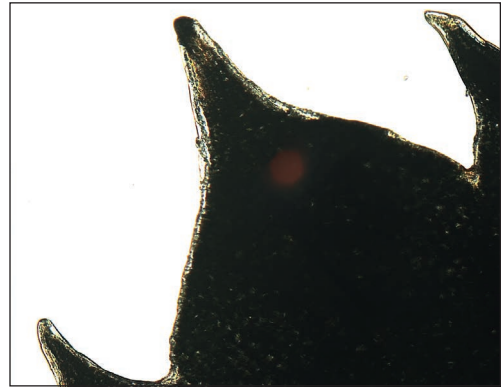


C

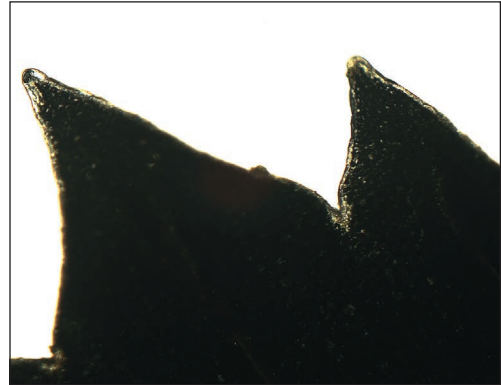
Abb. 3: Triebrosetten am Rhizom im Frühjahr von *Dryopteris carthusiana* (A: Wangen im Allgäu), *D. xalpirsbachensis* (B: Alpirsbach, Garten Freigang, FrV1063) und *D. remota* (C: Alpirsbach, Garten Freigang, FrV1062). – Shoot rosette on the rhizome in spring of *D. carthusiana* (A: Wangen, Allgäu), *D. xalpirsbachensis* (B: Alpirsbach, garden Freigang, FrV1063) and *D. remota* (C: Alpirsbach, garden Freigang, FrV1062).



A

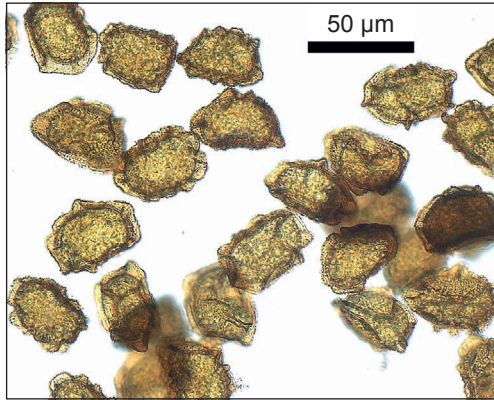


B

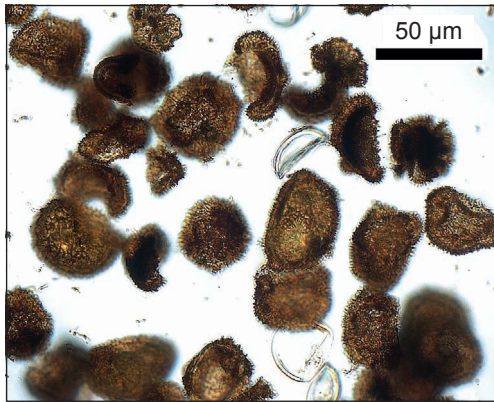


C

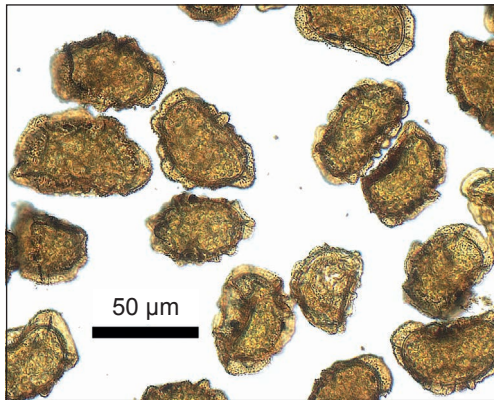
Abb. 4: Apikale Zähne an Segmenten 2. Ordnung von *Dryopteris carthusiana* (A: FrV1164), *D. xalpirsbachensis* (B: FrV1165) und *D. remota* (C: FrV1162); alle kultiviert in Garten Freigang; Herkunft: Boutx, Pyrenäen; Präparate in Hydromatrix, W. Bujnoch. – Apical teeth at segments of second order of *D. carthusiana* (A: FrV1164), *D. xalpirsbachensis* (B: FrV1165) and *D. remota* (C: FrV1162); all cultivated in garden Freigang, origin: Boutx, Pyrenees; preparations in Hydromatrix.



A

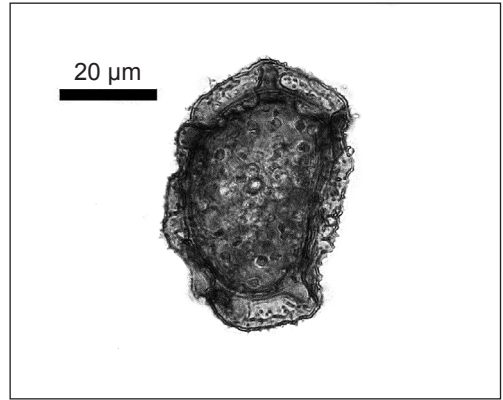


B

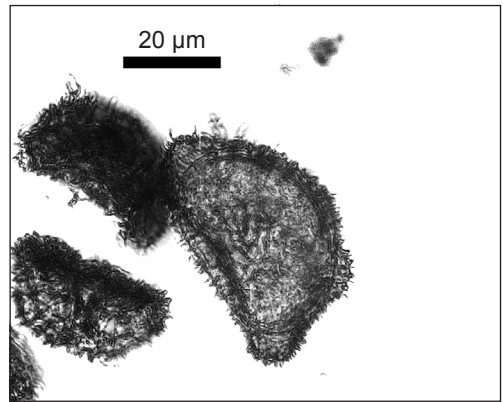


C

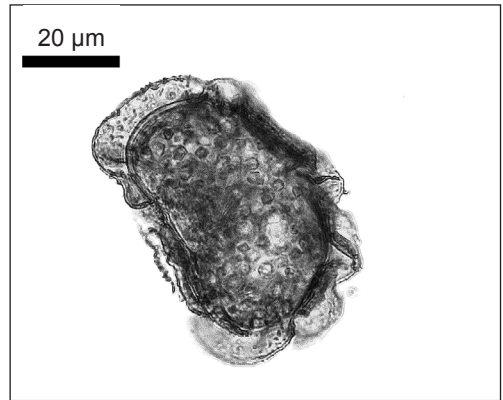
Abb. 5: Sporen von *Dryopteris carthusiana* (A), *D. xalpirsbachensis* (B) und *D. remota* (C); Material vom locus classicus der *D. xalpirsbachensis*; Präparate in Kanadabalsam; W. Bujnoch. – Spores of *D. carthusiana* (A), *D. xalpirsbachensis* (B) and *D. remota* (C); plant material from locus classicus *D. xalpirsbachensis*; preparations in Canada balsam.



A



B



C

Abb. 6: Feine Stacheln am Perispor von *Dryopteris carthusiana* (A), *D. xalpirsbachensis* (B) und *D. remota* (C); Material vom locus classicus der *D. xalpirsbachensis*; Präparate in Kanadabalsam; W. Bujnoch. – Aculeolate perispore of *D. carthusiana* (A), *D. xalpirsbachensis* (B) and *D. remota* (C); plant material from locus classicus *D. xalpirsbachensis*; preparations in Canada balsam.

**4.2 Morphologische Unterscheidung von *Dryopteris*  $\times$  *alpirsbachensis* und *D.*  $\times$  *brathaica* (*D. carthusiana*  $\times$  *D. filix-mas*)**

Die beiden Hybriden *D.*  $\times$  *alpirsbachensis* (*D. carthusiana*  $\times$  *D. remota*) und *D.*  $\times$  *brathaica* (*D. carthusiana*  $\times$  *D. filix-mas*) sind sich makromorphologisch recht ähnlich. Die Unterscheidungsmerkmale werden in folgender Tabelle zusammengefasst.

**Tab. 2:** Unterscheidende Merkmale. – Distinctive characteristics of the fern hybrids *D.*  $\times$  *alpirsbachensis* and *D.*  $\times$  *brathaica*.

Merkmal	<i>D.</i> $\times$ <i>alpirsbachensis</i>	<i>D.</i> $\times$ <i>brathaica</i>
Färbung am Stiel der Hauptfiedern	oft violett-schwarz, Färbung kompakt bis fleckig, selten fehlend	immer grün
Zahnspitzen an Zähnen am Ende der Segmente 2. Ordnung	verlängert mit kurzgrannigem, dornartigem Ende	höchstens kurz verlängert, kein dornartiges Ende
Zahnspitzenquotient an Zähnen am Ende der Segmente 2. Ordnung (der jeweilige Mittelwert von jeder ausgewerteten Probe liegt in dem hier angegebenen Intervall)	1,23–2,00	0,8–1,18
Sporen	zu 80–90 % deformiert	zu 100 % deformiert
Ploidiegrad, Chromosomenzahl	pentaploid, 2n = ca. 205	tetraploid, 2n = 164



**Abb. 7:** *Dryopteris*  $\times$  *alpirsbachensis*, Unterseite der mittleren Spreite mit deutlich dunkleren Fiederstielen; Pflanze von Alpirsbach kultiviert im Garten Freigang (FrV1063), FrX-185: J. Freigang (15.7.2015). – *D.*  $\times$  *alpirsbachensis*, back of the middle leaf blade with distinct dark pinna stalk; plant material from Alpirsbach: cultivated J. Freigang (FrV1063).

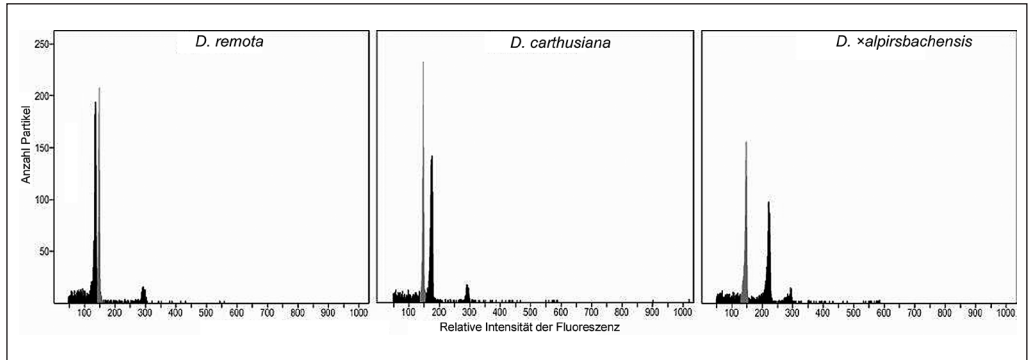


Abb. 8: Histogramme der relativen Genomgrößenmessung von *Dryopteris remota*, *D. carthusiana* und *D. xalpirsbachensis* (schwarz) mit einem Referenzstandard (*Vicia faba* cv. Inovec; G1 Peak in grau). – Histogram of the relative genome size of *D. remota*, *D. carthusiana* and *D. xalpirsbachensis* (black), Standard: *Vicia faba* cv. Inovec; G1 Peak in grey.

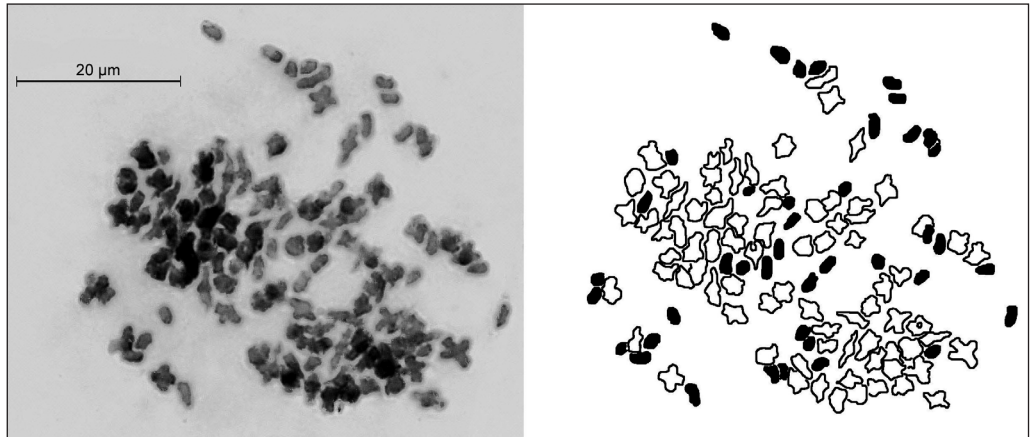


Abb. 9: Metaphase I einer Sporenmutterzelle des 16-Zell-Typs von *Dryopteris xalpirsbachensis* (FrV1063, Typusstock); links: Fotografie (W. Bujnoch), rechts: Interpretationsdiagramm (S. Jeßen). Es wurden ca. 81 Bivalente (im Umriss) und ca. 41 Univalente (schwarz) ermittelt. – Spore mother cell in Metaphase I (16-cell type) of *D. xalpirsbachensis* (FrV1063, Type plant; left: image (W. Bujnoch), right: interpretation of the image (S. Jeßen). approx. 81 bivalent (black-rimmed) and approx. 41 univalent (black) were observed.

### 4.3 Durchflusszytometrische Befunde zur Genomgröße

Die durchflusszytometrischen Messungen der relativen Genomgröße ergaben drei Ploidiestufen (Abb. 8). Die Proben der triploiden *D. remota* weisen die kleinste Genomgröße auf (Verhältniswerte zum Standard von 0,90 bis 0,92). Die relative Genomgröße der tetraploiden *D. carthusiana* beträgt zwischen 1,15 und 1,19.

*D. xalpirsbachensis* kann mit einer relativen Genomgröße zwischen 1,46 und 1,51 als pentaploid bestimmt werden.

Die Messungen der Probe aus Norditalien (SJ-3941) haben einen DNA-Gehalt von  $42,91 \pm 0,94$  pg/2C (J. Fuchs in litt.) ergeben. Im Vergleich mit den Werten für triploide, tetraploide und pentaploide Vertreter der Gattung *Dryopteris* aus Zentraleuropa nach EKRT & al. (2009) weist dieser Wert gleichfalls auf eine pentaploide Pflanze hin.

#### 4.4 Karyologische Befunde

Die Auswertung mehrerer Metaphasen von Sporenmutterzellen des 16-Zell-Typs von *D. xalpirsbachensis* ergab stets eine hohe Zahl von Bivalenten. In der Abb. 9 sind ca. 81 Bivalente und ca. 41 Univalente erkennbar. Es ergibt sich eine Gesamtzahl von ca. 203 Chromosomen. Die Chromosomenbasiszahl in der Gattung *Dryopteris* beträgt  $x = 41$ . Eine pentaploide Hybride sollte demnach 5 mal 41 = 205 Chromosomen

besitzen. Die ermittelte Chromosomenzahl liegt dicht am Erwartungswert.

#### 4.5 Molekulargenetische Befunde

Die molekulargenetische Untersuchung der Hybride und ihrer vermuteten Eltern mit Hilfe des 15/16 Fragments des nukleären PgiC-Gens ergab folgende Elektropherogramme (Abb. 10 bis 12):

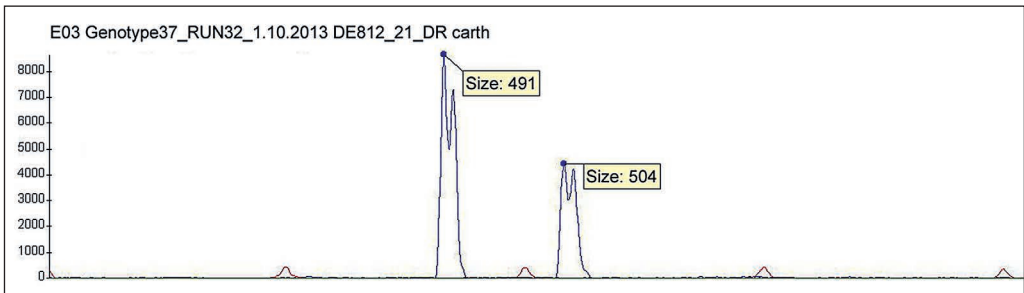


Abb. 10: Elektropherogramm der PgiC-15/16 Fragmente von *Dryopteris carthusiana*, N. Neikes (7.6.2013), Nettetal. – Electropherogram, PgiC-15/16 fragment of *D. carthusiana*.

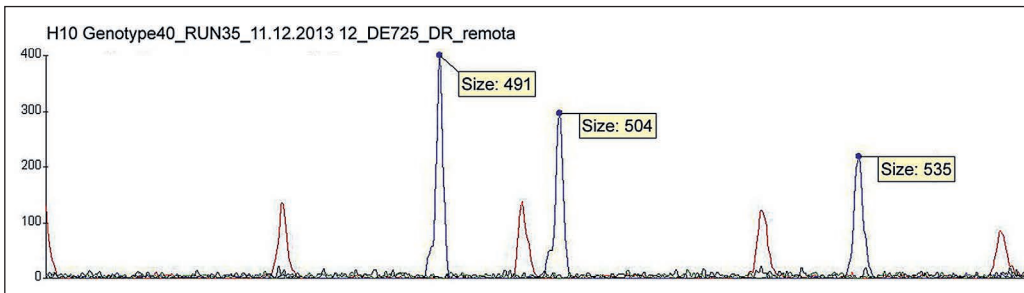


Abb. 11: Elektropherogramm der PgiC-15/16 Fragmente von *Dryopteris remota*, 16.07.2011 Dr 2: J. Freigang & G. Zenner (16.7.2011), Alpirsbach. – Electropherogram, PgiC-15/16 fragment of *D. remota*.

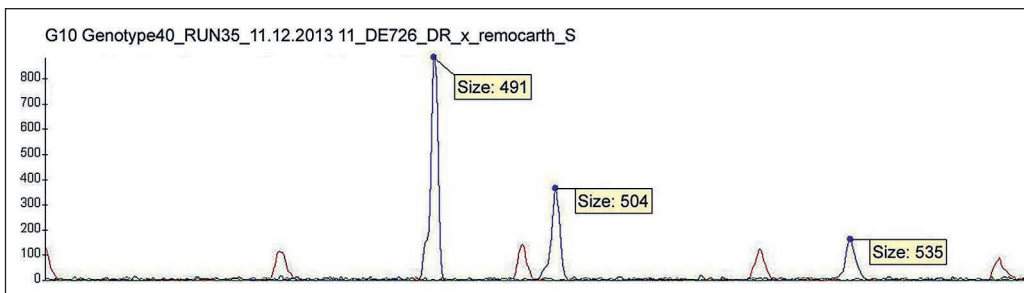


Abb. 12: Elektropherogramm der PgiC-15/16 Fragmente von *Dryopteris xalpirsbachensis*, 16.07.2011 Dr 4: J. Freigang & G. Zenner (16.7.2011), Alpirsbach. – Electropherogram, PgiC-15/16 fragment of *D. xalpirsbachensis*.

Es wurden Exemplare von *D. xalpirsbachensis* aller Fundorte analysiert. Die untersuchten Pflanzen sind im Abschnitt „Material“ durch das Kürzel „MOLE“ gekennzeichnet. Es ergaben sich stets Elektropherogramme der in Abb. 12 gezeigten Art.

Die beiden Signale im Elektropherogramm von *D. carthusiana* (Abb. 10) bei 491 Basenpaaren (bp) und 504 bp finden sich auch in dem darunter abgebildeten Elektropherogramm von *D. remota* (Abb. 11) wieder, bei der ein drittes Signal bei 535 bp hinzukommt, das dem entsprechenden PgiC-Allel von *D. „semiaffinis“*, des zweiten Elter von *D. remota*, zugeschrieben werden kann (BUJNOCH 2015). Daraus kann abgeleitet werden, dass *D. carthusiana* einer der Eltern der triploiden *D. remota* ist (BUJNOCH 2015). Vergleicht man dieses Elektropherogramm mit dem der darunter stehenden pentaploiden Hybride *D. xalpirsbachensis*, so zeigt sich ein fast unverändertes Signalmuster (Abb. 12). Der Hybridisierungspartner *D. carthusiana* hat durch seine beiden dem Chromosomenbestand von *D. remota* hinzugefügten Chromosomensätze das Signalmuster des Elektropherogramms nicht verändert. Der genauere Vergleich der beiden letztgenannten Elektropherogramme (Abb. 11 und 12) zeigt aber, dass sich das Signalfächenverhältnis der „*D. carthusiana*-Signale“ zum dritten im Spektrum vorhandenen Signal vergrößert hat. Die Berechnung der Flächenverhältnisse ergab bei *D. remota* einen Wert von 2,34:1, bei *D. xalpirsbachensis* einen von 5,53:1.

## 5. Diskussion

### 5.1 Morphologie

*D. carthusiana* und *D. remota* sind sich makromorphologisch so ähnlich, dass schon A. BRAUN (1851) eine Beteiligung des *Aspidium spinulosum* (O.F. MÜLLER) SW. (*D. carthusiana*) an der Hybride *Aspidium remotum* (DÖLL) A. BRAUN (*D. remota*) annahm. Die wesentlichen Kriterien zur Unterscheidung von *D. remota* und *D. carthusiana* sind in Kapitel 5.1, Tab. 1 dargestellt. Die wichtigsten Merkmale zum Erkennen von *D. remota* sind die violett-schwarze Färbung am Stiel der Hauptfiedern, die meist vorhandenen Drüsen auf der Schleieroberfläche, die schwache Ausbildung lateraler Zähne an den untersten Segmenten 3. Ordnung in den untersten

Hauptfiedern (PERONI & al. 1991, PHILIPPI 1993: Abb. p. 130), die kompakte, dicht mit braunen Schuppen bedeckte Sprossrosette (Abb. 3C), der Zahnsitzenquotient (siehe auch Abb. 4C) sowie die beachtliche Menge an abortierten und deformierten Sporen.

Bei *D. carthusiana* fehlt die erwähnte violett-schwarze Färbung. Gelegentlich auftretende rotbraune oder blaugüne Verfärbungen sollten nicht zu einer Fehlinterpretation führen. Die Oberfläche der Schleier trägt keine oder selten wenige Drüsen. Die oben erwähnten Segmente 3. Ordnung weisen lateral verlängert zugespitzte Zähne auf. Die eingerollten Wedel der Sprossrosette sind in einem aufgelockerten Kranz und nicht in einem kompakten Ring angeordnet. Ihre Beschuppung lässt deutlich das Grün ihres Chlorophylls durchschimmern (Abb. 3A). Der Zahnsitzenquotient (siehe auch Abb. 4A) ist bei *D. carthusiana* wesentlich größer als bei *D. remota* (siehe auch Abb. 4C) und dieser Unterschied kann vor allem bei der Bestimmung von Herbarmaterial behilflich sein. Die Sporen von *D. carthusiana* (Abb. 6A) sind kleiner als bei *D. remota* (Abb. 6C), homomorph und höchstens bis zu 2 % deformiert. Die Sporen liefern sehr gute Hinweise zur Unterscheidung einer *D. remota* von *D. carthusiana*.

*D. xalpirsbachensis* nimmt makromorphologisch eine Zwischenstellung zu den Elternarten ein. Die Ausprägung der Merkmale kann sich dabei den Elternarten mehr oder weniger annähern.

Die Triebrosette ist wie bei *D. remota* kompakt und vollständig braun beschuppt, aber einzelne noch eingerollte Wedel ordnen sich nicht vollständig in den ringförmigen Verband ein (Abb. 3B). Die intermediär ausgebildete Beschuppung liefert nur eingeschränkt einen Hinweis auf ein Hybridexemplar. Das etwas dunkler braune, nicht scharf abgesetzte Basalfeld am Ansatz vieler Schuppen hebt sich deutlicher ab als bei *D. carthusiana*. Die farbliche Differenz zu Schuppen von *D. remota* ist jedoch schwächer ausgeprägt. Einen guten Hinweis auf das Vorliegen einer Hybride liefert die erwähnte Färbung am Stiel der Hauptfiedern. Bei einer Hybride kann sie an einem Wedel stellenweise so intensiv ausfallen wie bei *D. remota*, an anderen Stellen ist sie auf Flecken begrenzt oder fehlt vollständig (Abb. 7). Das Fehlen der Drüsen auf der Oberfläche der Schleier spricht gegen das Vorliegen von *D. remota*. Selten gibt es Ausnahmen.

Mikromorphologisch können Hybridpflanzen zweifelsfrei von Exemplaren der Elternarten unterschieden werden. Bei der Hybride liegt der Anteil an abortierten Sporen bei 80–90 % (Abb. 5B). Unter den recht einheitlich ausgebildeten Sporen bei *D. carthusiana* treten selten (höchstens bis 2 %) abortierte Sporen auf (Abb. 5A). Die Sporen von *D. remota* sind uneinheitlich ausgebildet und zum Teil deformiert. Das Perispor an allen Sporen der *D. xalpirsbachensis* trägt viele deutliche Stacheln, bei den Elternarten sind die Stacheln viel kleiner ausgebildet (Abb. 6A, B & C).

Die Mittelwerte der Schließzellenlänge von *D. xalpirsbachensis* waren bei allen bisherigen Messungen immer größer als bei *D. remota* und meistens auch größer als bei *D. carthusiana*.

Schwierig ist die Bestimmung älterer Herbarbelege. Bei diesen ist die erwähnte violett-schwarze Färbung oft nicht mehr zu erkennen. Das Fehlen von Sporen erschwert die Bestimmung zusätzlich. In solchen Fällen kann man für die Bestimmung den Zahnsitzenquotienten und den Mittelwert der Schließzellenlänge verwenden. Zusätzlich kann man zur Abgrenzung gegen *D. carthusiana* die Ausprägung der Beschuppung – bei *D. xalpirsbachensis* wesentlich dichter und Schuppen intensiver braun gefärbt (Abb. 14) –, zur Abgrenzung von *D. remota* die Bedrüsung der Indusien heranziehen.

Da *D. xalpirsbachensis* und *D. xbrathaica* (*D. carthusiana* × *D. filix-mas*) sich makromorphologisch in erheblichem Maße ähneln, soll hier auch auf Unterschiede zwischen beiden eingegangen werden (Tab. 2). An frischem Material kann man über die Färbung am Stiel der Hauptfiedern (bei *D. xalpirsbachensis* oft zumindest teilweise violett-schwarz, bei *D. xbrathaica* immer grün) und die Ausbildung der Sporen (bei *D. xalpirsbachensis* zu 80 bis 90 %, bei *D. xbrathaica* zu 100 % abortiert) beide Arthybriden voneinander unterscheiden. Liegt älteres Herbarmaterial ohne Sporen vor, muss man die Ausbildung der Endzähne an Segmenten 2. Ordnung zusammen mit dem Zahnsitzenquotienten zur Unterscheidung heranziehen.

## 5.2 Karyologie und Genomgröße

Wie MANTON (1950) gezeigt hat, ist *D. remota* ein heterotriploider, apomiktischer Farn. Von den drei verschiedenen Chromosomensätzen

der *D. remota* stammen zwei von *D. carthusiana* und einer von *D. „semiaffinis“*<sup>1</sup> (BUJNOCH 2015). Agamodiplospore *D. remota* bildet nur Antheridien mit triploiden Spermatozoiden aus, keine Archegonien. Solch ein Spermatozoid ist in der Lage, eine diploide Eizelle der allotetraploiden, sexuellen *D. carthusiana* zu befruchten. Es entsteht dadurch eine heteropentaploide Hybride mit vier Chromosomensätzen von *D. carthusiana* und einem Chromosomensatz von *D. „semiaffinis“*. Die durchflusszytometrische Bestimmung der Genomgröße bestätigt, dass *D. xalpirsbachensis* pentaploid ist. Es ist anzunehmen, dass *D. „semiaffinis“* ebenfalls Agamodiplosporie bei *D. xalpirsbachensis* verursachen kann, analog wie bei *D. remota* und *D. xcomplexa* bzw. *D. xcritica* (DOSTÁL & al. 1984: 155). Auf der Hybridpflanze könnten bei der Sporogenese aus Sporenmutterzellen des 8-Zell-Typs über einen Restitutionskern-Mechanismus fertile Diplosporen entstehen, also Sporen, die dieselbe Chromosomenzahl besitzen wie die Zellen des Sporophyten. Meistens entstehen aber Sporenmutterzellen des 16-Zell-Typs, bei denen eine Meiose eingeleitet wird, d. h. die elterlichen Chromosomen versuchen sich in einer Metaphasenordnung zu paaren. Da aber in dem hier behandelten Fall nur die Chromosomensätze, die von *D. carthusiana* stammen, zueinander homolog sind, werden in der Metaphase 82 Bivalente (4x) gebildet. Der 5. in der Hybride vorhandene Chromosomensatz von *D. „semiaffinis“* besitzt keinen homologen Syndesepartner und es sollten 41 Univalente (1x) sichtbar werden (die Chromosomenbasiszahl der Gattung *Dryopteris* ist  $x = 41$ ). Zur erfolgreichen Weiterführung der Meiose müssten aber alle elterlichen Chromosomen aufgepaart sein. Da dies hier nicht der Fall ist, entstehen abortierte Sporen. Das Ergebnis der karyologischen Untersuchung bestätigt demnach, dass es sich bei der Bildung der Hybride *D. xalpirsbachensis* um eine

<sup>1</sup> *D. „semiaffinis“*: Nach heutigem Kenntnisstand besitzt die apomiktische, diploide Art *D. affinis* als Eltern *D. oreades* und eine noch unbekannte Art, die von FRASER-JENKINS (in: WIDÉN & al. 1996) als „*Dryopteris wallichiana* ancestral“ bezeichnet wird. Da diese sexuelle Sippe bisher nicht gefunden wurde und auch die Beteiligung von *D. wallichiana* nicht hinreichend bewiesen ist, wird der zweite Elter von *D. affinis* provisorisch als *D. „semiaffinis“* bezeichnet (KRAUSE 1998).

Kreuzung von *D. remota* mit einem ihrer Eltern, *D. carthusiana*, handelt, was man auch als eine Rückkreuzung bezeichnet. DOSTÁL & al. (1984: 164) weisen darauf hin, dass Hybriden vor allem zwischen solchen Arten beobachtet werden, die gemeinsame Chromosomensätze besitzen. Auch aus der Pflanzenzüchtung ist bekannt (BECKER 1993), dass Rückkreuzungen relativ leicht durchzuführen sind. Das Auftreten von *D. xalpirsbachensis* scheint eine weitere Bestätigung dieses Verhaltens zu sein.

### 5.3 Molekulargenetik

*D. carthusiana* ist eine aus der Hybride *D. intermedia* (MÜHL. ex WILLD.) A. GRAY  $\times$  *D. „semicristata“* hervorgegangene allotetraploide Art (WALKER 1955, GIBBY & WALKER 1977, SESSA & al. 2012, BUJNOCH 2015). Vorangehende Untersuchungen (BUJNOCH 2015) zeigten, dass das Signal im Elektropherogramm von *D. carthusiana* (Abb. 10) bei 491 bp (Basenpaaren) vom PgiC-Allel des Chromosomensatzes von *D. „semicristata“* und jenes bei 504 bp durch jenes von *D. intermedia* verursacht wird (BUJNOCH, unpublizierte Ergebnisse und SESSA & 2012). Die Vermutung, dass die Eltern von *D. carthusiana* *D. „semicristata“* und *D. intermedia* sind, wird durch das Elektropherogramm unterstützt (SESSA & al. 2012).

Das Elektropherogramm von *D. remota* (Abb. 11) zeigt neben den beiden Signalen von *D. carthusiana* ein drittes bei 535 bp, das vom entsprechenden Allel des Chromosomensatzes von *D. „semiaffinis“* verursacht wird (BUJNOCH 2015). Bei den untersuchten *D. xalpirsbachensis*-Pflanzen verschiedener Fundorte variiert die Länge dieses PgiC-Allels zwischen 534 bp und 535 bp.

Das Elektropherogramm von *D. xalpirsbachensis* (Abb. 12) zeigt das gleiche Signalmuster wie *D. remota*. Dies lässt sich dadurch erklären, dass durch die Hybridisierung zu den in *D. remota* vorhandenen beiden Chromosomensätzen von *D. carthusiana* zwei der letzteren hinzugekommen sind. Deshalb unterscheiden sich die Elektropherogramme von *D. remota* und *D. xalpirsbachensis* nur durch das Flächenverhältnis der *D. carthusiana*-Signale zum *D. „semiaffinis“*-Signal. Die Flächen der Signale sind ein Maß für die das Signal verursachende Substanzmenge, hier die

Allelmenge. Deshalb sollte im ersten Fall das Verhältnis 2:1 sein, da zwei zu *D. carthusiana* gehörende Allele einem von *D. „semiaffinis“* gegenüberstehen. Dies entspricht in etwa den Messergebnissen. Bei *D. xalpirsbachensis* sollte dieses Verhältnis infolge der durch die Hybridisierung mit *D. carthusiana* hinzukommenden zwei Chromosomensätzen 4:1 betragen, wurde aber größer gemessen. Dass sich nicht die theoretischen Werte einstellen, könnte am Einfluss der Fragmentausbeute in der PCR liegen. Die Fragmentausbeute des *D. „semiaffinis“*-Fragmentes in der PCR scheint geringer als jene der *D. carthusiana*-Fragmente zu sein. Dennoch wird durch die molekulargenetische Untersuchung die Annahme, dass es sich bei der untersuchten Hybride um *D. remota*  $\times$  *D. carthusiana* handelt, gestützt.

In folgendem Schema (Abb. 13) werden die verwandtschaftlichen Zusammenhänge der behandelten *Dryopteris*-Taxa dargestellt.

## 6. Typisierung und Beschreibung

***Dryopteris xalpirsbachensis*** FREIGANG, ZENNER, BUJNOCH, S. JESS., & MAGAUER,  
**nothospec. nov.** (*D. carthusiana*  $\times$  *D. remota*)

**Descriptio:** Planta hybrida; forma inter parentes media, scilicet *D. carthusiana* et *D. remota*; rhizoma saepe polycephalum, frondes usque ad 100 cm longae; lamina bi- ad tripinnata, ovata-lanceolata, ad basim saepe paulum angustior; petioli pinnarum maculati ad toti violacei; dentes in extremis segmentis secundi ordinis longe fastigati, saepe paulum ut aristae; longitudo media cellularum stomatis circiter 61–68  $\mu$ m; indusia paucis aut nullis glandulis; pleraeque sporae abortivae et semper aculeolis impletae; planta pentaploidea.

**Holotypus:** FrX-179: J. Freigang (15.7.2015). Der Holotypus wurde von der Pflanze Nummer: „FrV1063“, kultiviert im Garten Freigang, Bergatreute entnommen. (Abb. 14)

### Locus classicus:

Deutschland, Baden-Württemberg, mittlerer Schwarzwald, Kreis Freudenstadt, südlich Freudenstadt, nordwestlich Alpirsbach, Tal des Alpirsbächle, 540 m NN, 8°23'31"E, 48°21'05"N; 7516/14

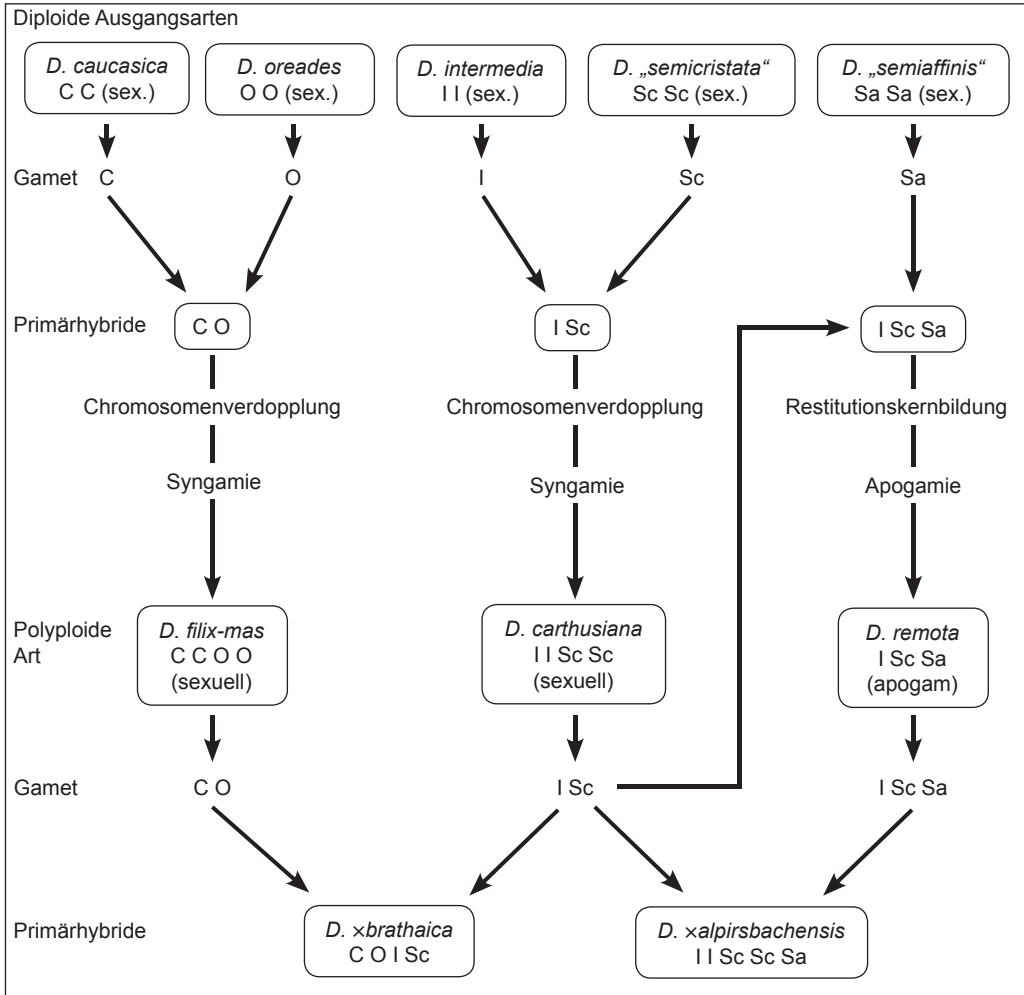


Abb. 13: Schematische Darstellung der Abstammung von *Dryopteris xalpirsbachensis* und *D. xbrathaica* sowie ihrer Elternarten. – Schematic graph of the origin of *D. xalpirsbachensis* and *D. xbrathaica* and their parental species.

Kennzeichnung von Chromosomensätzen. – Chromosome sets: C: *D. caucasica*, I: *D. intermedia*, O: *D. oreades*, Sa: *D. „semiaffinis“*, Sc: *D. „semicristata“*.

**Derivatio:** Benannt nach der Stadt Alpirsbach (bei der ersten Fundstelle).

#### Beschreibung:

**Hemikryptophyt.** Morphologisch intermediär zwischen den Elternarten stehend. **Rhizom** kurz kriechend bis aufsteigend, bei älteren Pflanzen mehrköpfig; **Sprossrosetten** mit mittelbraunen Spreuschuppen ähnlich jenen von *D. remota* bedeckt; eingerollte Wedel der Sprossrosette nicht in einem so kompakten, vollständig geschlossenen Ring wie bei *D. remota*; **Wedel**

bis in das Frühjahr grün, im Sommer aufrecht stehend in einem etwas aufgelockerten Trichter, bis 100 cm lang und 30 cm breit; Unterseite der Spreite spärlich bedrückt bis drüsenlos; **Wedelstiel** bis 4 mm dick, etwa ein Drittel der gesamten Wedellänge erreichend. **Beschuppung** dichter als bei *D. carthusiana*; Schuppen schmal lanzettlich bis oval, mittelbraun und nicht so blass wie bei *D. carthusiana*; viele Schuppen an ihrer Basis oberhalb der Ansatzstelle mit einem diffusen, dennoch deutlich erkennbaren, etwas dunkler braunen Basalfeld; oberer



Abb. 14: *Dryopteris xalpirsbachensis*, Holotypus, Wedel der kultivierten Pflanze im Garten Freigang (FrV1063); FrX-179: J. Freigang (15.7.2015). – frond of cultivated plant from garden Freigang

Stielbereich und untere Rhachis etwas schütter mit Schuppen besetzt, diese noch deutlich braun; **Wedelspreite** unterteilt bis in Segmente 3. Ordnung, im unteren Teil häufig wie bei *D. remota* verjüngt; unterste **Hauptfiedern** deutlich ungleichhälftig, dreieckig; Hauptfiedern im mittleren Spreitenbereich weitgehend gleichhälftig, lang dreieckig; Stiele der Hauptfiedern mit violett-schwarzer Färbung, dieser Farbton gelegentlich in abgeschwächter Intensität, selten auf Flecken reduziert oder vollständig fehlend; **Segmente** 2. Ordnung sehr dicht gestellt bis seitlich sich überlappend; innerstes, basiskopes Segment 2. Ordnung am untersten Hauptfiederpaar etwa 1,6-mal länger als das entsprechende, gegenüber liegende, akroskope Segment 2. Ordnung; im mittleren Spreitenbereich unterste basiskope bzw. akroskope Segmente 2. Ordnung fast gleich lang; unterste Segmente 2. Ordnung in einer Hauptfieder in keinem Fall gestielt, aber mit deutlich verschmälelter Basis an der Hauptfiederspindel sitzend; diese Segmente 2. Ordnung in ihrer unteren Hälfte fiederspaltig bis fiederschnittig, entsprechend mit mehr oder weniger tief voneinander getrennten Segmenten 3. Ordnung; Segmente 2. und 3. Ordnung an ihrem Ende mit spitzen Zähnen, diese öfter mit einer ein wenig verlängerten, dornartigen Spitze; diese Spitzen intermediär im Vergleich mit entsprechenden Spitzen bei *D. carthusiana* und *D. remota*; Durchmesser der **Sori** etwa 1 mm; **Indusien** vor der Sporenreife dünn, zuweilen etwas hochgewölbt, nach der Sporenreife eingeschrumpft oder abfallend; am Rande wie auf der Fläche meist drüsenlos, selten mit einzelnen Drüsen; **Sporen** zu 80–90 % abortiert, ihr Perispor mit markanten kleinen Stacheln (Abb. 6); **Schließzellen** recht lang, Mittelwerte ihrer Länge 61–68 µm, größer als bei *D. remota*, meistens auch größer als bei *D. carthusiana*; Anzahl der Chromosomen: 205.

## Dank

Wir danken Herrn Dr. J. Fuchs (Gatersleben) für eine durchflusszytometrische Untersuchung, Herrn F. Großhans (Kirm) für die lateinische Beschreibung, Herrn C. Pfaff (Aachen) sowie Frau W. Großhans (Kirm) für die Formulierung der englischen Texte. W. Bujnoch dankt den Herren M. Veith und A. Hochkirch (beide: Biogeographisches Institut der Universität, Trier) für die

Möglichkeit, das Sequenziergerät benutzen zu können. Den Herren N. Neikes (Staelen) und W. Limberger (Ottensheim, Österreich) danken wir für die Überlassung von Belegen und Untersuchungsmaterial.

## Literatur

- ALBERTS, B., JOHNSON, A., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K. & WALTER, P. 2004: Molekularbiologie der Zelle, ed. 4. – Weinheim: Wiley – VCH.
- BECK, R. 1998: Erstfunde von *Dryopteris remota* (A. BR.) DRUCE (Entferntfiedriger Wurmfarne, Verkannter Dornfarne) im Baden-Württembergischen Keuperbergland. – Flor. Rundbr. 32: 1–6.
- & WILHALM, T. 2010: Die Farnpflanzen Südtirols. – Veröffentl. Naturmus. Südtirol 7.
- BECKER, H. 1993: Pflanzenzüchtung. – Stuttgart: Ulmer.
- BENL, G. & ESCHMÜLLER, A. 1973: Über „*Dryopteris remota*“ und ihre Vorkommen in Bayern. – Ber. Bayer. Bot. Ges. 44: 101–141.
- BONA, E. (ed.) 2005: Atlante corologico delle Pteridofite nell'Italia nordorientale. – Rovereto: Osiride.
- BRAUN, A. 1851: Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur, insbesondere in der Lebens- und Bildungsgeschichte der Pflanze. – Leipzig: Engelmann.
- BUJNOCH, W. 2015: A contribution to the phylogeny of *Dryopteris remota* by genotyping of a fragment of the nuclear PgiC gene. – Fern Gaz. 20: 79–89.
- CROUCH, H. J. & RUMSEY, F. 2015: *Dryopteris remota* (A. BRAUN ex DÖLL) DRUCE: a new species in the English flora. – Pteridologist 6: 150–151.
- DOLEŽEL, J., SGORBATI, S. & LUCRETTI, S. 1992: Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants – Physiol. Pl. (Copenhagen) 85: 625–631.
- DÖPP, W. 1932: Die Apogamie bei *Aspidium remotum* AL. BR. – Planta 17: 86–152; Taf. I–X.
- 1935: Versuche zur Herstellung von Artbastarden bei Farnen I. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 53: 630–636.
- 1939: Cytologische und genetische Untersuchungen innerhalb der Gattung *Dryopteris*. – Planta 39: 481–533.

- DOSTÁL, J., REICHSTEIN, T. & FRASER-JENKINS, C. R. 1984: *Dryopteris*. – p. 11–15, 136–169. In: KRAMER, K. U. (ed.), *Hegi, Illustrierte Flora von Mitteleuropa*, 1(1), ed. 3. – Berlin & Hamburg: Paul Parey
- EKRT, L., LEPSÍ, M., BOUBLÍK, K. & LEPSÍ, P. 2007: *Dryopteris remota* rediscovered for the flora of the Czech Republic. – *Preslia* 79: 69–82.
- EKRT, L., TRÁVNÍČEK, P., JAROLÍMOVA, V., VÍT, P. & URFUS, T. 2009: Genome size and morphology of the *Dryopteris affinis* group in Central Europe. – *Preslia* 81: 261–280.
- ESCHELMÜLLER, A. 1980: Floristische Arbeitsblätter für das südliche Allgäu. – *Mitt. Naturwiss. Arbeitskreises Kempten/Allgäu* 24(1): 33–54.
- & ESCHELMÜLLER, H. 2000: Beitrag zur Kartierung von *Dryopteris remota* (A. BRAUN ex DÖLL) DRUCE im südlichen Bayern und westlichen Österreich. – *Mitt. Naturwiss. Arbeitskreises Volkshochschule Kempten/Allgäu* 37(1/2): 43–58.
- FISCHER, H. 1909: Über *Aspidium remotum* AL. BR.: Kreuzung oder Mutation? – Ein neuer Fall von Apogamie. – *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 27: 495–503.
- FISCHER, M. A., OSWALD, K. & ADLER, W. 2008: Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol, ed. 3. – Linz: Land Oberösterreich, Biologiezentrum der Oberösterreichischen Landesmuseen.
- FREIGANG, J., BUJNOCH, W. & ZENNER, G. 2013: Erstfunde von *Dryopteris xbrathaica* FRASER-JENK. & REICHST. (*Dryopteridaceae*, Pteridophyta) in Süd-Deutschland – morphologische und molekulargenetische Untersuchungen. – *Kochia* 7: 67–86.
- GIBBY, M. & WALKER, S. 1977: Further cytogenetic studies and a reappraisal of the diploid ancestry in the *Dryopteris carthusiana* complex. – *Fern Gaz.* 11: 315–324.
- GRINTESCU, G. 1952: *Dryopteris*, p. 96–111. In: SĂVULESCU, T. (ed.), *Flora Republicae Popularis Romanicae* 1. – Bukarest: Academia Republicae Popularis Romanicae.
- ISHIKAWA, H., WATANO, Y., KANO, K., ITO, M. & KURITA, S. 2002: Development of primersets for PCR amplification of the PgiC gene in ferns. – *J. Pl. Res.* 115: 65–70.
- JERMY, C. A. 2000: *Dryopteris remota*, p. 78. In: PRESTON, C. D., PEARMAN, D. A. & DINES, T. D. (ed.), *New Atlas of the British & Irish Flora*. – Oxford: Univ. Press.
- KRAMER, K. U., SCHNELLER, J. J. & WOLLENWEBER, E. 1995: *Farne und Farnverwandte*. – Stuttgart & New York: Georg Thieme.
- KRAUSE, S. 1998: *Dryopteris* ADANS. (*Dryopteridaceae*), p. 182–190. In: WISSKIRCHEN, R. & HAEUPLER, H. (ed.), *Standardliste der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands*. – Stuttgart: Ulmer.
- LANG, W. & WOLFF, P. 2011: *Flora der Pfalz. Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen für die Pfalz und ihre Randgebiete*, ed. 2. – Speyer: Verl. der Pfälzischen Gesellschaft z. Förderung der Wissenschaften e. V. [CD-ROM].
- LAUBER, K. & WAGNER, G. 2012: *Flora Helvetica*, ed. 5. – Bern: Haupt.
- LIMBERGER, W. 2010: *Dryopteris xbrathaica* (FRASER-JENKINS & REICHSTEIN) (*Dryopteridaceae*, Pteridophyta) aus dem oberösterreichischen Donaauraum – diese sehr seltene Hybride ist neu für Österreich. – *Stapfia* 92: 21–24.
- MANTON, I. 1950: Problems of cytology and evolution in the Pteridophyta. – Cambridge: University.
- MARCHETTI, D. 2004: Le Pteridofite d'Italia. – *Ann. Mus. Civici-Rovereto* 19: 71–231, „2003“.
- NETPHYD & BfN (ed.) 2013: *Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands*. – Bonn-Bad Godesberg: NetPhyd & BfN.
- NIKLFIELD, H. 1971: Bericht über die Kartierung der Flora Mitteleuropas. – *Taxon* 20: 545–571.
- OTTO, F. 1990: DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. – *Meth. Cell Biol.* 33: 105–110.
- PÉREZ CARRO, F. J. & FERNÁNDEZ ARECES, M. P. 2007: *Dryopteris remota* an Cantabria y Acerca de un nuevo Híbrido: *Dryopteris xalejandrei*. – *Flora Montiber.* 37: 29–38.
- PERONI, A., PERONI, G., RASBACH, H., RASBACH, K. & REICHSTEIN, T. 1991: *Dryopteris remota* (A. BRAUN) DRUCE in Italien. – *Farnblätter* 23: 1–13.
- PHILIPPI, G. 1993: *Aspidiaceae*, p. 121–149. In: SEBALD, O., SEYBOLD, S. & PHILIPPI, G. (ed.), *Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs* 1, ed. 2. – Stuttgart: Eugen Ulmer.
- PRELLI, R. 2001: Les fougères et plantes alliées de France et d'Europe occidentale. – Paris: Belin.

- ROTHFELS, C. J., LARSSON, A., LI, F.-W., SIGEL, E. M., HUIET, L. & al. 2013: Transcriptome-Mining for Single-Copy Nuclear Markers in Ferns. – PLoS ONE 8(10): e76957.
- SALVO, Á. E. & ARRABAL, M. I. 1986: *Dryopteris*, p. 128–143. In: CASTAROVIEJO, S. & al. (ed.), *Flora Iberica 1*. – Madrid: Real Jardín Botánico C. S. I. C.
- SESSA, E. B., ZIMMER, A. E. & GIVNISH, T. J. 2012: Phylogeny, divergence times and historical biogeography of New World *Dryopteris* (*Dryopteridaceae*). – Am. J. Bot. 99: 730–750.
- SUDA, J. & TRÁVNÍČEK, P. 2006: Estimation of relative nuclear DNA content in dehydrated plant tissues by flow cytometry. 7.30.1–7.30.14. In: ROBINSON, J. P., DARZYŃKIEWICZ, Z., DOBRUCKI, J., HYUN, W., NOLAN, J., ORFAO, A. & RABINOVITCH, P. (ed.), *Current protocols in cytometry*. – New York: John Wiley & Sons.
- SZCZĘŚNIAK, E., TLĄKA, D. & ROSTAŃSKI, A. 2009: Key to identification and descriptions of species of Buckler-ferns (*Dryopteris* ADANS.) occurring in Poland, p. 5–34. In: SZCZĘŚNIAK, E. & GOLA, E. (ed.): *Genus Dryopteris ADANS. in Poland*. – Wrocław: Polish Bot. Soc. & Institute of Plant Biology, University of Wrocław.
- THOMAS, B. R., LAUDENCIA-CHINGCUANCO, D. & GOTTLIEB, L. D. 1992: Molecular analysis of the plant gene encoding cytosolic phosphoglucose isomerase. – Pl. Molec. Biol. 19: 745–757.
- TLĄKA, D. & PIĄTEK, K. 2010: *Dryopteris remota* (A. BRAUN ex DÖLL) DRUCE (*Dryopteridaceae*: *Pteridophyta*) in Poland. – Fern Gaz. 18: 328–332.
- WALKER, S. 1955: Cytogenetic studies in the *Dryopteris spinulosa* complex 1. – Watsonia 3: 193–209.
- ZIMMER, E. A. & WEN, J. 2012: Using nuclear gene data for plant phylogenetics: progress and prospects. – Molec. Phylogen. Evol. 65: 774–785.

**Anhang: Tab. 3:**

Angaben zu weiteren Gefäßkryptogamen an Fundstellen von *D. xalpirsbachensis*. – Information concerning further ferns & fern-allies at the place of discovery of *D. xalpirsbachensis*.

	Alpirsbach	Hörbranz	Boutx	Ramsau	Tresa
<i>Asplenium ruta-muraria</i>	-	XS	SS	S	-
<i>Asplenium scolopendrium</i>	-	S	-	S	-
<i>Asplenium trichomanes</i> subsp. <i>quadrivalens</i>	-	X	S	S	S
<i>Asplenium viride</i>	-	X	-	X	-
<i>Athyrium filix-femina</i>	X	X	X	X	X
<i>Blechnum spicant</i>	XS	XS	XS	-	S
<i>Cystopteris fragilis</i>	-	-	-	S	-
<i>Dryopteris affinis</i> subsp. <i>affinis</i> var. <i>disjuncta</i>	XS	-	S	S	S
<i>Dryopteris affinis</i> subsp. <i>affinis</i> var. <i>affinis</i>	-	-	XS	-	-
<i>Dryopteris affinis</i> subsp. <i>punctata</i>	-	XS	XS	-	S
<i>Dryopteris borrieri</i>	XS	XS	XS	XS	XS
<i>Dryopteris cambrensis</i> subsp. <i>insubrica</i>	-	-	-	S	S
<i>Dryopteris carthusiana</i>	XS	XS	XS	XS	X
<i>Dryopteris dilatata</i>	X	X	XS	X	X
<i>Dryopteris expansa</i>	-	S	-	S	-
<i>Dryopteris filix-mas</i>	X	X	S	XS	XS
<i>Dryopteris filix-mas</i> × <i>D.-affinis</i> -agg.	S	S	S	S	-
<i>Dryopteris lacunosa</i>	-	-	-	-	S
<i>Dryopteris pseudodisjuncta</i>	-	X	-	-	-
<i>Dryopteris remota</i>	S	X	X	X	X
<i>Dryopteris xambroseae</i>	-	S	-	-	-
<i>Equisetum arvense</i>	S	-	XS	-	-
<i>Equisetum hyemale</i>	-	-	-	-	X
<i>Equisetum telmateia</i>	-	X	-	-	XS
<i>Equisetum xilitorale</i>	XS	-	-	-	-
<i>Gymnocarpium dryopteris</i>	-	XS	XS	S	-
<i>Gymnocarpium robertianum</i>	-	X	-	X	-
<i>Huperzia selago</i>	-	-	-	S	-
<i>Lycopodium annotinum</i>	-	S	-	X	-
<i>Matteuccia struthiopteris</i>	-	-	-	-	X
<i>Oreopteris limbosperma</i>	X	X	X	XS	-
<i>Phegopteris connectilis</i>	S	XS	XS	S	-
<i>Polypodium vulgare</i>	-	-	S	S	S
<i>Polystichum aculeatum</i>	-	X	XS	S	S
<i>Polystichum lonchitis</i>	-	S	-	S	-
<i>Polystichum setiferum</i>	-	-	S	-	-
<i>Pteridium aquilinum</i>	XS	XS	X	-	X
<i>Selaginella selaginoides</i>	-	-	-	S	-

Die Angaben zur Häufigkeit der jeweiligen Sippen beziehen sich auf ein untersuchtes Areal im Umkreis von ca. 250 Meter um die jeweilige Wuchsstelle der Hybridpflanzen. – Explanation (of Table 3): The information concerning the frequency of the respective taxa refers to the studied area within a 250 m radius.

0 – nicht vorhanden. – missing

s – selten, einzelne oder wenige Exemplare. – seldom, few or some plants

xs – mehrfach auftretend, teilweise kleine Populationen bildend. – increased occurrence, partly small populations

x – häufig, zahlreiche Individuen bis zu an Individuen reichen Populationen. – frequent, numerous or pre-dominant occurrence