

Erstfunde von *Dryopteris xbrathaica* FRASER-JENK. & REICHST. (*Dryopteridaceae*, *Pteridophyta*) in Süd-Deutschland – morphologische und molekulargenetische Untersuchungen

JENS FREIGANG, WALTER BUJNOCH & GÜNTHER ZENNER

Zusammenfassung: Im Rahmen der botanischen Kartierung im baden-württembergischen Alpenvorland und dem angrenzenden bayerischen Allgäu wurden in den Jahren 2001 bis 2011 sechs Exemplare der seltenen Hybride *Dryopteris xbrathaica* (*D. carthusiana* × *D. filix-mas*) entdeckt. Molekulargenetische Untersuchungen an mitteleuropäischen Vertretern der Gattung *Dryopteris* zeigen sippendifferenzierende Längenunterschiede von DNA-Fragmenten des PgiC-Gens (cytosolic Phosphoglucose-isomerase), die in der vorliegenden Arbeit für einige hier interessierende Taxa in Form von Elektropherogrammen gezeigt werden. Für *D. xbrathaica* und *D. xdeweveri* wird die hybridogene Abstammung molekulargenetisch bestätigt. Nach einem Rückblick auf bisherige Funde von *D. xbrathaica* in England, Deutschland, Frankreich und Österreich werden von den Wuchsorten in Baden-Württemberg und Bayern ökologische Aspekte und das Artenspektrum der begleitenden Farnpflanzen beschrieben. Die ausführliche morphologische Beschreibung von *D. xbrathaica* basiert auf Proben der neu aufgefundenen Pflanzen sowie auf uns vorliegenden Herbarbelegen englischer und österreichischer Herkunft. Ergänzt durch morphometrische Messungen wird die morphologische Mittelstellung von *D. xbrathaica* zu beiden Elternarten an verschiedenen Merkmalen verdeutlicht und die Hybride gegen *D. remota* abgegrenzt. An einer der neu aufgefundenen Pflanzen von *D. xbrathaica* wurde eine Chromosomenzählung durchgeführt.

Abstract: First records of *Dryopteris xbrathaica* FRASER-JENK. & REICHST. (*Dryopteridaceae*, *Pteridophyta*) in South Germany – morphological and molecular studies. During botanical mappings from 2001 to 2011 six plants of the rare hybrid *D. xbrathaica* (*D. carthusiana* × *D. filix-mas*) were discovered in

the alpine foothills of Baden-Württemberg and the adjacent Bavarian Allgäu. Molecular genetic studies on different Central European species of the genus *Dryopteris* have revealed length-polymorphisms in fragments of the PgiC gene (cytosolic Phosphoglucose-isomerase), characteristic of some species. These polymorphisms are shown by electropherograms of the taxa involved. The derivation of the two hybrids *D. xbrathaica* and *D. xdeweveri* (*D. dilatata* × *D. filix-mas*) was affirmed by molecular genetic analysis. A retrospective view of previous reports on *D. xbrathaica* is followed by a description of the localities of the new discoveries, some aspects of the taxon's ecology and accompanying ferns. A detailed morphological description is provided based on the plants from Baden-Württemberg and Bavaria as well as on herbarium fronds of the plants originating from England and Austria. The morphologically intermediate position of the hybrid between its parental species is illustrated by various characteristics and morphometric measures. Its distinctiveness from *D. remota* is demonstrated. A chromosome count was carried out for one of the newly recorded plants.

Jens Freigang
Tal 11, 88386 Bergatreute;
jens.freigang@t-online.de

Walter Bujnoch
Biogeographie, Universität Trier,
Universitätsring 15, 54296 Trier;
bujnoch@uni-trier.de,
wrbujnoch@onlinehome.de

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

1. Einleitung

Dryopteris xbrathaica FRASER-JENK. & REICHST. [*D. carthusiana* (VILL.) H. P. FUCHS \times *D. filix-mas* (L.) SCHOTT] gehört zu den seltensten europäischen Hybriden innerhalb der Gattung *Dryopteris*.

Das bis heute anhaltende Interesse der Botaniker an der Erforschung dieser seltenen Hybride geht auf das Jahr 1854 zurück, als I. Huddart im Brathay Wood in England (Nordwestengland, Westmorland, Lake District) erstmals auf die „mutmaßliche“ Hybride zwischen *D. carthusiana* und *D. filix-mas* aufmerksam wurde, deren hybridogene Abstammung mehr als einhundert Jahre später MANTON (1950) in cytologischen Untersuchungen bestätigte. Eine der von I. Huddart aufgefundenen Pflanzen wurde von F. Clowes in Kultur genommen (vgl. BENL & ESCHELMÜLLER 1973). Ein Ableger dieser Pflanze ging zunächst an F. W. Stansfield und später an den Oxford Botanic Garden. Manton zeigte in ihren cytologischen Untersuchungen, dass die im Botanischen Garten in Oxford kultivierte Pflanze tetraploid ist (MANTON 1950) und im Verlauf einer Meiose fast ausschließlich Einzelchromosomen ausbildet (MANTON 1938). Von derselben Pflanze entnahm C. R. Fraser-Jenkins (1969) zwei Wedel (CRFJ-1220) und eine Knospe, die am Newcastle House in Bridgend, Wales, kultiviert wurde. Später reichte C. R. Fraser-Jenkins einen vegetativen Abkömmling dieses Exemplars an T. Reichstein weiter (Kultur in Basel unter der Nummer TR-3330, persönliche Mitteilung von Prof. T. Reichstein).

1992 erhielt S. Jeßen von der Baseler Pflanze einen Ableger, der bis heute unter der Kulturnummer SJ-2427 im Arktisch-Alpinen Garten der Walter-Meusel-Stiftung in Chemnitz gedeiht (persönliche Mitteilung von S. Jeßen). Die Lectotypisierung und Diagnose von *D. xbrathaica* erfolgte durch FRASER-JENKINS und REICHSTEIN (1977): „Lectotype: [Brathay wood], Windermere, Westmorland, England, 1859, F. Clowes ex Herb. T. Moore (K)“. C. R. Fraser-Jenkins & T. Reichstein nehmen dabei Bezug auf die cytologischen Untersuchungen von Manton.

Bei Studien von Herbarbelegen aus dem Rheinischen Herbar in Bonn (NHV) stieß S. Krause 1996 auf einen Wedel, der in den anschließenden morphologischen und vor allem mikromorphologischen Untersuchungen

als *D. xbrathaica* identifiziert wurde (KRAUSE & al. 2001). Dieser Wedel entstammt einer Pflanze, die A. Braun 1859 im Aachener Stadtwald entdeckt hatte und später im Botanischen Garten in Berlin kultiviert wurde. Von diesem kultivierten Exemplar sind mehrere Wedel in verschiedene Herbarien (Bonn, München, Berlin-Dahlem) gelangt. Über den Verbleib der Berliner Pflanze ist nach KRAUSE & al. (2001) nichts bekannt.

Im Südwesten Frankreichs (Les Landes) entdeckte 1989 L. Garraud nahe der Stadt Roquefort eine Pflanze, welche nach morphologischen und cytologischen Untersuchungen durch M. Boudrie und H. Rasbach als *D. xbrathaica* bestimmt wurde (BOUDRIE & al. 1994).

Erstmals für Österreich konnte W. Limberger 2008 eine Pflanze von *D. xbrathaica* nordwestlich von Linz am Hamberg bei Gramastetten auffinden (W. LIMBERGER 2010).

Bei der Kartierungsarbeit im baden-württembergischen und bayerischen Alpenvorland gelangen dem Erstautor seit 2001 sechs Neufunde von *D. xbrathaica*. Mit diesen Neufunden waren die Voraussetzungen gegeben, die morphologische Variabilität dieser Hybridsippe auf einer breiteren Basis zu studieren und eine Abgrenzung gegen die Elternarten differenziert vorzunehmen. Da *D. remota* und *D. xbrathaica* makromorphologisch oft sehr ähnlich sind, was lange Zeit zu erheblicher Verwirrung in der Taxierung der beiden Sippen führte (MOORE 1860, BENL & ESCHELMÜLLER 1973, KRAUSE & al. 2001), wurde *D. remota* in die Untersuchungen einbezogen.

Um die anhand morphologischer Kriterien durchgeführte taxonomische Bestimmung abzusichern, wurde an einem Exemplar eine Chromosomenzählung vorgenommen. Um die Elternarten der Hybride zu bestimmen, wurden molekulargenetische Untersuchungen durchgeführt.

2. Material

Die Namen der in der vorliegenden Arbeit genannten Farnsippen richten sich nach JÄGER (2011). Falls dort nicht genannt, beziehen wir uns auf DOSTÁL & al. (1984).

Benutzte Material-Kürzel: Beleg-Nummern: Fr (J. Freigang), Dr (*Dryopteris*, G. Zenner). Beleg-Nummer oder Kultur-Nummer: SJ- (S. Je-

ßen), TR- (T. Reichstein), CRFJ- (C. R. Fraser-Jenkins). Kultur-Nummern: FrV (J. Freigang), GZ- (G. Zenner), GWBT- (W. Bujnoch). DNA-Extraktionsnummer: DE (W. Bujnoch).

Belegexemplare des benutzten Pflanzenmaterials sind bei den Autoren hinterlegt.

2.1 Morphologisch untersuchtes Material

Für die makro- und mikromorphologischen Untersuchungen an *D. xbrathaica* dienten frische und herbarisierte Wedel der in Kapitel 4.1 vorgestellten Neufunde aus Süddeutschland.

Aus dem Herbarium G. Zenner standen zwei weitere Belege von *D. xbrathaica* zur Verfügung:

- ein Wedel der in Chemnitz kultivierten Pflanze, SJ-2427, Nr. 15.06.2006 Dr 19
- ein Wedel der in Oberösterreich von W. Limberger entdeckten und kultivierten Pflanze, Nr. 14.07.2011 Dr 1

Die Untersuchungen zu *D. remota*, *D. carthusiana* und *D. filix-mas* erfolgten ebenfalls an Herbarbelegen (Herbarien: J. Freigang, G. Zenner) und an Frischmaterial. Die Proben von *D. remota* stammen aus dem Salzburger Land, Vorarlberg, Oberschwaben, Allgäu und Nordschwarzwald, von *D. carthusiana* aus Vorarlberg, Oberschwaben, Allgäu, Nordschwarzwald, Pfälzer Wald, Nahegebiet und Luxemburg, von *D. filix-mas* aus dem Allgäu, Oberschwaben, Nordschwarzwald, Unterfranken, Pfälzer Wald und Nahegebiet. Die Angaben zu den Längen der Sporen und Schließzellen beruhen jeweils auf mindestens 30 Messungen. Für die Ermittlung der „relativen Zahnhöhe“ (siehe Abschnitt 3.1) standen zur Verfügung: *D. xbrathaica* (7 Proben), *D. carthusiana* (6 Proben), *D. filix-mas* (13 Proben) und *D. remota* (9 Proben). Die Messwerte aus den morphometrischen Untersuchungen wurden an Belegen von *D. xbrathaica* (7 Proben), *D. carthusiana* (9 Proben), *D. filix-mas* (10 Proben) und *D. remota* (13 Proben) erhoben.

Tab. 1: Liste der untersuchten Wedel von *Dryopteris xbrathaica*. – *D. xbrathaica*, list of herbarium material (fronds) used in this study.

FrV91: Juli 2011, leg. J. Freigang ex horto J. Freigang ein Wedel	Oberschwaben, NW Ravensburg, SW Fronhofen
FrV366: Juli 2011, leg. J. Freigang ex horto J. Freigang ein Wedel; Juli 2011, FrV366	Oberschwaben, NE Ravensburg, S Bad Waldsee, SE Bergatreute
FrV515: Juli 2011, leg. J. Freigang ex horto J. Freigang ein Wedel	Bodensee-Gebiet, E Friedrichshafen, Tettlinger Wald
FrV774: Juli 2011, leg. J. Freigang ex horto J. Freigang ein Wedel	Bayerisches Allgäu, SW Oberstaufen
FrV881: Juli 2011, leg. J. Freigang ex horto J. Freigang ein Wedel	Oberschwaben, NE Ravensburg, NE Bad Waldsee
FrV1005: Aug. 2012, leg. J. Freigang ex horto J. Freigang ein Wedel	Bayerisches Allgäu, NE Lindau (Bodensee), NW Scheidegg

2.2 Material für die Chromosomenzählung

<i>Dryopteris xbrathaica</i>	10.06.2006, Fixierung: G. Zenner ex horto J. Freigang (FrV91 – Fronhofen); 25.11.2006, Präparation und Zählung: W. Bujnoch
------------------------------	--

2.3 Material für molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 2: Liste der molekulargenetisch untersuchten Pflanzen. – List of plant material used for molecular studies.

Taxon	Herkunft	Abb. Nr.
<i>Dryopteris carthusiana</i>	05.12.2006, leg. J. Freigang; Baden-Württemberg, Bergatreute, Kiliansweiher, Herkunft wie <i>D. xbrathaica</i> FrV366, DE 385	5 + 10
<i>Dryopteris filix-mas</i>	23.07.2006, leg. G. Zenner; Rheinland-Pfalz, Mosel, Bernkastel-Kues, Tiefenbach, DE 315	6
<i>Dryopteris xbrathaica</i>	13.12.2005, leg. J. Freigang (FrV515 – Tettngang); Herkunft siehe Kapitel 4.1, DE 198a	7
<i>Dryopteris xbrathaica</i>	13.12.2005, leg. J. Freigang (FrV91 – Fronhofen); Herkunft siehe Kapitel 4.1, DE 199a	8
<i>Dryopteris xbrathaica</i>	15.07.2006, leg. G. Zenner ex horto Arktisch-Alpiner-Garten in Chemnitz (SJ-2427); Ableger der Typuspflanze, Herkunft Brathay Wood, DE 299	9
<i>Dryopteris dilatata</i>	24.11.2003, leg. W. Bujnoch; Rheinland-Pfalz, Mosel, Trier, Irscher Mühle, DE 68	11
<i>Dryopteris xdeweveri</i>	07.07.2005, leg. W. Bujnoch ex horto W. Bujnoch (GWBT-130); Herkunft: 20.10.1993, leg. G. Zenner und W. Bujnoch; Rheinland-Pfalz, Hunsrück, Deuselbach, am Simmbach, DE 65	12

3. Methoden

3.1 Untersuchungen zur Morphologie

D. carthusiana und *D. filix-mas*, die beiden Elternarten der allotetraploiden *D. xbrathaica*, zeigen in der Ausprägung vieler Merkmale eine hohe morphologische Variabilität. Diese Fähigkeit zur Vielfalt wird offenbar auf ihre Hybridnachkommen übertragen, so dass eine Abgrenzung gegen extreme Formen der Elternarten und gegen die morphologisch ähnliche *D. remota* zufriedenstellend nur über Sporenkontrolle, über eine aufwändige Chromosomenanalyse oder durch die Flowcytometrie erfolgen kann. Da die Sporenreife in diesem Sippenkreis in einem recht engen Zeitkorridor erfolgt, ist es in allen Fällen schwierig, für eine sichere Bestimmung genügend geeignetes Material zu gewinnen. Die Überprüfung abgespörter Herbarbelege verursacht einen beträchtlichen Aufwand und Schwierigkeiten.

Unsere Untersuchungen orientieren sich an KRAUSE & al. (2001), die eine Abgrenzung von *D. xbrathaica* gegen *D. remota* über verschiedene morphologische Kriterien vornehmen.

- Untersuchungen von Spreuschuppen, Sporen und Schließzellen

Die Spreuschuppen im unteren Bereich der Rhachis, die Drüsen an den Indusien und die Färbung an den Fiederstielen wurden an frischen und herbarisierten Wedeln mit einer Stereolupe untersucht.

Die Beurteilung des Sporenbildes und die Messung der Sporenlänge (einschließlich des Exospors) erfolgten bei 400-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop. Hierfür wurden Sporen der Herbarbelege auf einem Objektträger in Kanadabalsam eingebettet. Für die Berechnung des arithmetischen Mittelwertes der Sporenlängen sind die Messwerte von mindestens 20 Sporen einer Probe herangezogen worden.

Die Messung der Länge der Schließzellen wurde bei 400-facher Vergrößerung vorgenommen. Hierfür wurden den herbarisierten Wedeln fertile Fiederabschnitte aus der Mitte der Wedelspreite entnommen und in Wasser eingeweicht. Mit einer Pinzette wurden anschließend von der Unterseite dieser Fiederabschnitte kleine Stücke der Epidermis ohne Sori abgezogen. Die entnommenen Proben wurden für die Messungen in Wasser untersucht. Mindestens 20 Messwerte dienten zur Berechnung des arithmetischen Mittelwertes der Schließzelllänge.

- Morphometrische Messungen an Wedeln
Morphometrisch erfassbare Merkmale könnten beim Vorliegen von abgesperrtem Herbarmaterial eine wesentliche Hilfe bei der Abgrenzung der *D. xbrathaica* vor allem von *D. remota* darstellen. Orientiert an KRAUSE & al. (2001) haben wir an Belegen von *D. xbrathaica*, den Elternarten *D. carthusiana* und *D. filix-mas* wie auch bei *D. remota* verschiedenen Wedelteile vermessen und daraus die Verhältniszahlen berechnet. Bei den Sammlungen von Untersuchungsmaterial im Feld wurden bewusst Pflanzen ausgewählt, die deutliche morphologische Unterschiede aufweisen. Es versteht sich von selbst, dass Jungpflanzen, Kümmerformen, abnormale sowie sterile Wedel nicht berücksichtigt wurden. Die morphometrischen Messungen erfolgten an gepressten Herbarbelegen aus den Herbarien J. Freigang und G. Zenner.

Gemessen wurden die Länge des Wedels (LW), die Länge der Spreite (LS), die Länge des Wedelstiels (LSt), die Länge der untersten Fieder (LuF), die Länge der längsten Fieder (LIF) und deren Position (Pos) ab dem untersten Fiederpaar, Länge des innersten basiskopen Fiederchens der untersten Fieder (LibF) und die Länge des innersten akroskopischen Fiederchens der untersten Fieder (LiaF).

- Morphometrische Messungen an apikalen Zähnen

Die apikalen Zähne der Abschnitte 2. Ordnung bei *D. filix-mas* unterscheiden sich in ihrer Form deutlich von den Zähnen an den Enden der Abschnitte 3. Ordnung bei *D. carthusiana*. Während diese Zähne bei *D. carthusiana* gewöhnlich in eine verlängerte, dünne Spitze ausgezogen sind, bleiben bei *D. filix-mas* auch

spitze Zähne immer kurz und ohne verlängerte Spitze. Die Hybride zwischen den beiden *Dryopteris*-Sippen sollte eine aus dem elterlichen Erbe resultierende intermediäre Ausprägung der Zähne am Ende ihrer Abschnitte 3. Ordnung aufweisen.

Zur Überprüfung dieser Überlegungen wurde von G. Zenner eine Methode entwickelt, um mit einem einfach zu handhabenden Messverfahren die relative Höhe solcher Zähne zu erfassen. Zunächst sollten herbarisierte Fiedern vor ihrer Verwendung ausreichend gewässert werden. Nach dieser Vorbereitung schneidet man die Enden der Abschnitte 2. bzw. 3. Ordnung an den untersten sterilen Fiedern quer ab und überführt sie unmittelbar danach in ein mikroskopisches Präparat mit Hydro-Matrix (MIKRO-TECH-LAB in Graz) als Einbettungsmittel. Da die Zähne an den Enden der Abschnitte auch in einem solchen Präparat meist etwas gebogen bleiben, wird in der Spitze eines Zahnes die Höhe ab einer zugrunde gelegten „Basisbreite“ von 200 Mikrometern gemessen (siehe Abb. 1). Die Messung erfolgt mit einem Durchlichtmikroskop bei 100-facher Vergrößerung mit einem 10x Messokular mit Fadenkreuz. Vom Endpunkt der Zahnspitze aus wird ein Messbalken des Fadenkreuzes mittig durch die Spitze des Zahnes so platziert, dass sich ab der Mitte im Fadenkreuz jeweils beiderseits bis zum seitlichen Rand des Zahnes 100 Mikrometer Abstand ergeben. Die auf diese

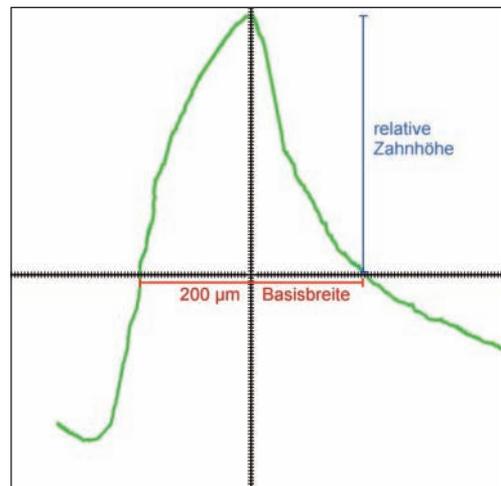


Abb. 1: Darstellung zur Messung der relativen Zahnhöhe. – Method for tooth measurement.

Weise vorgegebene „Basisbreite“ beträgt 200 Mikrometer. Nach der beschriebenen Positionierung des Fadenkreuzes kann auf dem Balken, der durch die Zahnschneide führt, die relative Zahnhöhe von der Basisbreite bis zum Endpunkt abgelesen werden. Für die Berechnung des arithmetischen Mittelwertes der relativen Zahnhöhe wurden je Probe an mindestens 20 Zähnen Messwerte erhoben.

Die hier vorgenommenen morphometrischen Messungen erfolgten an den endständigen Zähnen, aufgrund ihrer vergleichbaren Form, an Fiederabschnitten gleicher Größe und gleichartiger Gestalt. Der Position solcher Abschnitte in der Spreite kommt hierbei keine Bedeutung zu.

3.2 Chromosomenzählung

Zur Bestimmung der Chromosomenzahl der Pflanze werden Fiederabschnitte mit noch unreifen Sporangien unmittelbar nach der Probenahme in frisch hergestelltem Carnoy'schem Gemisch (3 Teile abs. Ethanol/1 Teil Eisessig) fixiert und alsbald in einem Gefrierschrank bei -20°C aufbewahrt. Die mikroskopische Untersuchung erfolgte nach der vom MANTON (1950) beschriebenen Quetschmethode mit einem Photomikroskop (Zeiss) mittels hochaperturiger Phasenkontrast-Objektive.

3.3 Untersuchungsmethoden zur Molekulargenetik

Im Gegensatz zu den bei phylogenetischen Fragestellungen häufig benutzten cpPrimern, die an die meist maternal vererbte Chloroplasten-DNA anlagern und deshalb lediglich die maternale Linie der Abstammung einer Pflanze zu verfolgen gestatten, lagern nPrimer an nucleäre DNA an, die biparental vererbt wird. Das bedeutet, dass an einem bestimmten Genlocus bei diploiden Hybriden die beiden Allele von beiden Eltern abstammen, also die Untersuchung der Allele Information über beide Elternarten liefert. Bei einer tetraploiden Hybride, deren Eltern sexuell und allotetraploid sind, finden sich an dem betrachteten Genort vier Allele, mit einem Paar fast gleicher (homologer) Allele und zwei weiteren davon und untereinander verschiedenen Allele (z. B. bei *D. xuliginosa*) oder, wie es bei *D. xbrathaica* der Fall

ist, vier unterschiedliche Allele (weitere Erläuterung in der Diskussion der Ergebnisse der Chromosomenzählung). In unserer Untersuchung wird ein Abschnitt des nucleären (cytosolischen) Gens 6-Phosphoglucose-Isomerase (PgiC) als Marker benutzt (ISHIKAWA & al. 2002). Bei Lebewesen, die Kohlenhydrate als Energiequelle benutzen, wird am Beginn der Glycolyse Glucose-6-phosphat mit Hilfe von PgiC in Fructose-6-phosphat isomerisiert (LODISH & al. 1996).

Durch eine PCR mit dem Primerpaar PgiC-15F/PgiC-16R wird das zwischen dem Exon 15 und dem Exon 16 liegende Intron des PgiC-Gens amplifiziert, das eine Länge von etwa 500 Basenpaaren (bp) besitzt (ISHIKAWA & al. 2002). Das Intron ist für einige Arten der *D. carthusiana*-Gruppe längenpolymorph. Durch Vergleich der Fragmentlängen der Hybride mit denen der vermuteten Eltern kann eine begründete Zuordnung erfolgen.

Die für die Amplifikation mittels PCR (polymerase chain reaction) erforderliche DNA wurde mit dem DNeasy Plant Mini Kit von Qiagen nach dem vom Hersteller angegebenen Protokoll gewonnen. Dabei wurde entweder frisches oder mit Silicagel schnellgetrocknetes Pflanzenmaterial benutzt. Die PCR erfolgte in enger Anlehnung an die in der Literatur gegebenen Empfehlungen (ISHIKAWA & al. 2002). Pro 20 μl Ansatz werden je 10 pmol Primer, 1 μl MgCl_2 (10 mM) und 10 μl Qiagen HotStar Taq Plus Master Mix (1 U Polymerase, 1x PCR-Puffer mit 1,5 mM Mg^{2+} und 200 μM je dNTP) eingesetzt. Als Cycler-Programm wurde das in der zitierten Literatur angegebene Touch-down-Protokoll benutzt: Vorschmelzen 5 min; 3 Cyclen 94°C 1 min, 56°C 1 min, 72°C 2 min; 3 Cyclen 94°C 1 min, 53°C 1 min, 72°C 2 min; 33 Cyclen 94°C 45 sek, 50°C 45 sek, 72°C 90 sek; Endverlängerung 8 min. Bei Bedarf wurde dieses Protokoll aber in Hinblick auf die Annealing-Temperaturen, die Zeiten und die Cyclenzahl leicht abgeändert.

Da bei den meisten Proben eine direkte Synthese des PgiC-15/16-Fragmentes nicht gelang, wurde dessen Synthese durch eine 'semi-nested' PCR über das längere PgiC-14/16-Fragment erreicht. Die Längenbestimmung der PgiC-15/16-Fragmente erfolgte durch Genotypisierung mit einem GE-Healthcare-Kapillar-Sequenziergerät. Dazu wurde ein mit FAM gelabelter PgiC-16-Primer benutzt.

Primer-Sequenzen (5' → 3'):

PGI 14F: GTG CTT CTG GGT CTT TTG AGT G

PGI 15F: TTT GCT CCT CAC ATT CAA CA

PGI 16R: GTT GTC CAT TAG TTC CAG GTT
CCC C

Die mit diesen Methoden untersuchten Pflanzen sind in Tab. 2 aufgelistet.

3.4 Kultur der Hybridpflanzen und Keimversuche

Die Bedingungen an den Wuchsorten der aufgefundenen Pflanzen von *D. xbrathaica* waren häufig erheblichen Veränderungen unterworfen: Lichtmangel durch das sich schließende Kronendach der Bäume, Absterben des Fichtenwaldes durch Borkenkäferbefall, Sturmbruch oder anstehende Forstmaßnahmen. Unter diesen schwierigen Bedingungen war der Erhalt dieser seltenen Hybridpflanzen an ihren Wuchsorten nicht immer gesichert, so dass nach Abwägung aller Gegebenheiten jeweils entweder eine Tochterrosette oder die ganze Pflanze in Kultur genommen wurde, um sie der Wissenschaft zu erhalten. Von allen sechs Neufunden werden Pflanzen im Garten des Erstautors kultiviert. Die Kultur erfolgt in einem Gelände, in dem *D. filix-mas* und *Athyrium filix-femina* als Wildpflanzen vorkommen. Der Boden ist humos und feucht, das Sonnenlicht durch den lichten Schatten der Bäume abgemildert, die Luftfeuchtigkeit durch den nahen Bach erhöht. Eine Weitergabe von Tochterrosetten der Hybridpflanzen an botanische Gärten ist beabsichtigt.

Weil sich unter dem Mikroskop im Sporenbild von *D. xbrathaica* neben den überwiegend fehlgebildeten Sporen einzelne kugelförmige Sporen befinden, wurde die Keimfähigkeit in drei Keimversuchen mit Sporen der Hybridpflanzen aus Fronhofen (FrV91) und Tettngang (FrV515) überprüft. Dazu wurden von den im Garten kultivierten Pflanzen sporenenreife Fiedern im Zeitraum Mitte Juli entnommen. Um die Sporen benachbarter Farne zu entfernen, wurden die Fiedern der Hybridpflanzen gründlich unter fließendem Wasser abgewaschen. Die Trocknung der Fiedern erfolgte unter Raumbedingungen in sporendicht gefalteten Papiertüten. In diesen sammelte sich während der Trocknung die ausfallende Sporenmasse. Die Aussaat wurde wenige Wochen nach dem Sporenausfall auf handelsüblicher, gedämpfter und mild feuchter Rhodo-

dendron-Erde vorgenommen. Dabei wurde die Erde direkt in kleine, transparente und luftdicht verschließbare Plastiktüten eingefüllt und anschließend die Sporenmasse der Hybridpflanzen sehr dicht ausgesät. Die fertigen Saattüten wurden bei Raumtemperatur ohne Tageslicht unter einer Pflanzenleuchte aufgestellt. Zum Vergleich dienten weit über einhundert gleichartig vorbehandelte Saaten von normal keimfähigen Farnen des *D.-affinis*-Aggregates, die innerhalb eines Monats zahlreiche, mit dem Auge gut erkennbare Vorkeime ausgebildet hatten. Die Saatproben der Hybridpflanzen wurden in den kommenden 6 Monaten regelmäßig auf die Bildung von Vorkeimen überprüft.

4. Ergebnisse

4.1 Die neuen Fundorte von *Dryopteris xbrathaica*

Allgemeine Informationen zum Untersuchungsgebiet: Die Niederschlagsmengen im Alpenvorland von Baden-Württemberg und dem angrenzenden bayerischen Gebiet liegen im Bereich der Donauniederungen um 670 mm und erreichen etwa 1800 mm in der Adelegg bei Isny. Ausgeprägte sommerliche Trockenphasen sind selten und die Niederschläge sind ziemlich gleichmäßig über das Jahr verteilt (vgl. SEBALD & al. 1993).

Die Böden des Alpenvorlandes sind fast ausschließlich aus den lehmigen bis kiesigen Sedimenten hervorgegangen, die während des Tertiärs und Quartärs von den Flüssen und Gletschern aus dem Alpenraum eingetragen wurden (Karte des GEOLOGISCHEN LANDESAMT BADEN-WÜRTTEMBERG 1962). Bodenfeuchtigkeit und Nährstoffangebot variieren in Abhängigkeit von Landschaftsrelief und geologischem Untergrund regional und lokal sehr stark.

Die zumeist günstigen Bodenvoraussetzungen und das überwiegend feuchte Klima des Alpenvorlandes bilden gute Voraussetzungen für das Wachstum von Farnen. Bezogen auf die Farnpflanzen im Allgemeinen nimmt die Artenvielfalt und Bewuchsdichte im Alpenvorland von Norden nach Süden gegen das höhere Bergland deutlich zu (vgl. SEBALD & al. 1993). Im gesamten Alpenvorland gehören, wie eigene Erhebungen ergaben, *D. dilatata*, *D. carthusiana* und *D. filix-mas* zu den häufigsten Farnen.

Fronhofen

- Erstnachweis: 27.10.2001 durch J. Freigang.
- Fundort: Deutschland, Baden-Württemberg, Landkreis Ravensburg, Gemeinde Fronreute; Oberschwaben, NW Ravensburg, SW Fronhofen, Ergetsweiler Holz, 680 m ü. NN; 8123/13 Weingarten.

- Wuchsort: ein etwas nach Norden geneigten Hang am Rande einer kleinen Lichtung mit hoher Bodenfeuchtigkeit, in einer etwa 40-jährigen Douglasienkultur. Die Pflanze kümmerte 2004 zunehmend infolge zu starker Beschattung.

- Begleitende Farnpflanzen (2001): Häufig sind die Elternarten *D. carthusiana* und *D. filix-mas*, weiter *Athyrium filix-femina* und bestandsbildend *D. dilatata*, vielfach auch *D. borrieri*. In etwa 500 Meter Entfernung liegt ein für Oberschwaben bemerkenswert individuenreicher Bestand von *D. pseudodisjuncta* (60 Stöcke), seltener *Polystichum aculeatum* (30 Stöcke), *Equisetum arvense* und verbreitet *E. telmateia*.

- Belege:

27.10.2001, leg. J. Freigang zwei Wedel am Fundort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr12, Herbar G. Zenner 02.11.2001 Dr 7.

7.7.2004, leg. J. Freigang zwei Wedel am Fundort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr12a, Herbar G. Zenner 07.07.2004 Dr 1.

18.7.2004, leg. J. Freigang und G. Zenner ein Wedel am Fundort; Herbarbeleg: Herbar G. Zenner 18.07.2004 Dr 19; Kulturbeleg: Garten J. Freigang FrV91.

18.7.2004, leg. J. Freigang; Pflanze zur Kultivierung in den Garten J. Freigang versetzt: Kulturnummer FrV91.

Weitere Belege von der kultivierten Pflanze in den Herbarien der Autoren.

Tett nang

- Erstnachweis: 5.9.2003 durch J. Freigang.
- Fundort: Deutschland, Baden-Württemberg, Bodenseekreis, Stadt Tett nang; Bodensee-Gebiet, E Friedrichshafen, 3 km SW Tett nang, Tett nanger Wald, SE Schussenreute, Mariabrunner Moos, 412 m ü. NN; 8323/32 Tett nang.

- Wuchsort: Ebenes und bodenfeuchtes Gelände in einem artenreichen Mischwald. 2006 Gefährdung des Stockes durch Forstarbeiten.

- Begleitende Farnpflanzen (2003): In der Umgebung häufig *D. carthusiana* und *D. filix-*

mas, *Athyrium filix-femina* und *D. dilatata*. Im Waldstück Mariabrunner Moos gedeihen außerdem mehrere hunderte Pflanzen von *D. borrieri*, drei Exemplare von *D. pseudodisjuncta* und zwei kleine Pflanzen von *D. cambrensis* subsp. *insubrica*. In unterschiedlicher Häufigkeit wachsen *Blechnum spicant*, *Pteridium aquilinum*, *Thelypteris palustris*, *Oreopteris limbosperma*, *Phegopteris connectilis*, *Lycopodium annotinum*, *Equisetum arvense*, *E. sylvaticum* und *E. telmateia*. Die große Vielfalt der Farne im Mariabrunner Moos ist typisch für die niederschlagsreichen Waldgebiete im südlichen Oberschwaben und Allgäu.

- Belege:

5.9.2003, leg. J. Freigang zwei Wedel am Fundort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr331, Herbar G. Zenner 05.09.2003 Dr 1.

25.7.2004, leg. J. Freigang ein Wedel am Fundort; Herbarbeleg: Herbar J. Freigang Fr540.

1.9.2006, leg. J. Freigang Stock am Fundort; Kulturbeleg: Garten J. Freigang FrV515.

Weitere Belege von der kultivierten Pflanze in den Herbarien der Autoren.

Bergatreute

- Erstnachweis: 22.10.2006 durch J. Freigang.

- Fundort: Deutschland, Baden-Württemberg, Landkreis Ravensburg, Gemeinde Bergatreute; Oberschwaben, NE Ravensburg, S Bad Waldsee, 2 km SE Bergatreute, Waldgebiet um Kiliansweiher, ca. 550 m ü. NN; 8124/32 Wolfegg; zum Schutz der Pflanze wird im Rahmen dieser Arbeit auf eine genauere Fundortangabe verzichtet.

- Wuchsort: Bodenfeuchte, lichtoffene Verebnung in einem von Fichten dominierten Mischwald. Die Pflanze bestand 2006 aus sieben verlängerten Rhizomen mit teilweise über einem Meter Länge. Im Frühjahr 2007 wurden bei einem Sturm drei Rosetten von einem umgestürzten Baum vollständig begraben.

- Begleitende Farnpflanzen (2012): In der unmittelbaren Umgebung wenig häufig *D. carthusiana* und *D. filix-mas*, häufig dagegen *D. dilatata* und *Athyrium filix-femina*, vereinzelt *D. expansa*, vielfach die Hybriden *D. xdeweveri* (*D. carthusiana* × *D. dilatata*) und *D. xambroseae* (*D. dilatata* × *D. expansa*), außerdem *Phegopteris connectilis* und *Oreopteris limbosperma*, in einiger Entfernung auch *D. borrieri*, *D. cambrensis* subsp. *insubrica*, *Pteridium aquilinum* und *Equisetum sylvaticum*.

- Belege:

22.10.2006, leg. J. Freigang zwei Wedel am Fundort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr1208; Herbar G. Zenner 22.10.2006 Dr 2.

20.4.2007, leg. J. Freigang; 2 Rosetten der Wildpflanze zur Kultur in den Garten J. Freigang genommen: Kulturnummer FrV366.

30.7.2007, leg G. Zenner, eine Rosette aus dem Garten J. Freigang entnommen zur Kultur im Garten G. Zenner: Kulturnummer GZ-695.

8.8.2011, leg. J. Freigang ein Wedel am Fundort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr3044. Weitere Belege von den kultivierten Pflanzen in den Herbarien der Autoren.

Oberstaufen

- Erstnachweis: 27.9.2009 durch J. Freigang.

- Fundort: Deutschland, Bayern, Landkreis Oberallgäu, Gemeinde Oberstaufen; bayerisches Allgäu, SW Oberstaufen, Wald E Steinebach, ca. 670 m ü. NN; 8426/31 Oberstaufen; zum Schutz der Pflanze wird im Rahmen dieser Arbeit auf eine genauere Fundortangabe verzichtet.

- Wuchsort: Schwemmfächer des Angerbachs auf leicht geneigtem Gelände mit kiesigem Boden. In dem von Fichten dominierten Wald entwickelt sich ein starker Aufwuchs von Laubgehölzen. Unter dem reduzierten Lichtangebot zeigte *D. xbrathaica* im September 2009 einen kümmerlichen Wuchs. Nach Beseitigung des beschattenden Unterholzes erholte sich die verbliebene Rosette bis zum Herbst 2011.

- Begleitende Farnpflanzen (2009): Häufig *D. carthusiana*, *D. filix-mas*, *D. dilatata* und *Athyrium filix-femina*, seltener *D. borrieri*, *Phegopteris connectilis*, *Polystichum aculeatum* und *Equisetum arvense*, ein Exemplar *D. pseudodisjuncta*.

- Belege:

27.9.2009, leg. F. Freigang einen Wedel am Fundort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr2190.

27.9.2009, leg. J. Freigang; eine Rosette zur Kultur in Garten J. Freigang genommen: Kulturnummer FrV774.

19.7.2010, leg. J. Freigang einen Wedel am Fundort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr2320.

Weitere Belege von der kultivierten Pflanze in den Herbarien der Autoren.

Bad Waldsee

- Erstnachweis: 1.6.2010 durch J. Freigang.

- Fundort: Deutschland, Baden-Württemberg, Landkreis Ravensburg, Gemeinde Eberhardzell; Oberschwaben, NE Ravensburg, NE Bad Waldsee, SW Eberhardzell, Eichholz, ca. 605 m ü. NN; 8024/22 Bad Waldsee.

- Wuchsort: Nahezu ebenes Gelände, Boden von oberflächennahem Grundwasser durchzogen, durch Windbruch und Borkenkäfer geschädigte etwa 30-jährige Fichtenmonokultur. 2010 Gefährdung durch Forstarbeiten.

- Begleitende Farnpflanzen (2010): Häufig kleine Pflanzen von *D. carthusiana* und *D. dilatata*, etwas seltener *D. filix-mas*. In der Umgebung verbreitet *Athyrium filix-femina*, *Pteridium aquilinum* und *Equisetum sylvaticum*, seltener *D. expansa*, *D. borrieri*, *D. pseudodisjuncta*, *D. cambrensis* subsp. *insubrica*, *Phegopteris connectilis* außerdem ein kräftiger Stock des in Oberschwaben sehr seltenen *Athyrium distentifolium*.

- Belege:

1.6.2010, leg. J. Freigang ein Wedel am Fundort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr2244.

14.7.2010, leg. J. Freigang; die Pflanze zur Kultur in den Garten J. Freigang genommen: Kulturnummer FrV881.

Weitere Belege von der kultivierten Pflanze in den Herbarien der Autoren.

Scheidegg

- Erstnachweis: 21.10.2010 durch J. Freigang.

- Fundort: Deutschland, Bayern, Landkreis Lindau (Bodensee), Gemeinde Scheidegg; bayerisches Allgäu, NE Lindau (Bodensee), 2 km NW Scheidegg, Wald N Lötz, ca. 790 m ü. NN; 8425/11 Weiler-Simmerberg.

- Wuchsort: lichtarme und bodentrockene Stelle in einem westexponierten, steilen Hang, naturnaher Bergwald mit einem ausgewachsenen Mischwald aus Tannen, Buchen und Fichten. Der Wald weist eine für Bergwälder typisch wechselhafte Kleinökologie auf, mit kleinräumig wechselndem Angebot an Nährstoffen, Kalkgehalt, Bodenfeuchtigkeit und Licht. Die wenig kräftig entwickelte Pflanze (ein Haupt- und zwei kleine Nebentriebe) litt im Frühherbst 2010 an einem starken Mangel an Licht und Bodenfeuchtigkeit. 2011 kümmerte der Stock zunehmend.

- Begleitende Farnpflanzen (2011): Die Bergwälder zwischen Scheidegg und Bregenz zeigen die höchste Vielfalt an Farngewächsen in der Region Allgäu-Oberschwaben. In der nahen Umgebung des Fundortes *D. carthusiana*, *D. fi-*

lix-mas und *D. remota* in wenigen schwach entwickelten Pflanzen, etwas häufiger sind *D. dilatata* und *Athyrium filix-femina*. In der weiteren Umgebung verbreitet *D. borrieri*, *D. pseudodisjuncta*, *Polystichum aculeatum*, *Oreopteris limbosperma*, *Gymnocarpium dryopteris*, *Pteridium aquilinum*, *Blechnum spicant* und *Equisetum sylvaticum*.

• Belege:

21.10.2010, leg. J. Freigang einen Wedel am Fundort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr2636.

4.6.2011, leg. J. Freigang einen Wedel am Wuchsort; Herbarbelege: Herbar J. Freigang Fr2697.

4.6.2011, leg. J. Freigang; die Pflanze zur Kultur in den Garten J. Freigang genommen: Kulturnummer FrV1005.

Weitere Belege von der kultivierten Pflanze in den Herbarien der Autoren.

4.2 Beschreibung von *Dryopteris xbrathaica*

Das Rhizom von *D. xbrathaica* wächst kurz aufsteigend oder kriecht entlang der Bodenoberfläche, dabei können die zugehörigen Tochterrosetten einige Dezimeter voneinander entfernt sein. Das Rhizom ist meist in mehrere Tochterrosetten verzweigt, bei einem Exemplar bleibt es seit vielen Jahren solitär. Die Rosette wirkt durch seine deckenden Spreuschuppen hellbraun und unterscheidet sich hierin deutlich von der grünlichen Rosette bei *D. carthusiana*. Eine kräftige Rosette entwickelt bis zu 20 Wedel, diese bilden einen locker aufgebauten Trichter. Die Spreuschuppen des Stiels sind überwiegend hell- bis selten mittelbraun, erscheinen krepptartig geknittert und können in ihrer basalen Zone gelegentlich ein wenig dunkler gefärbt sein.

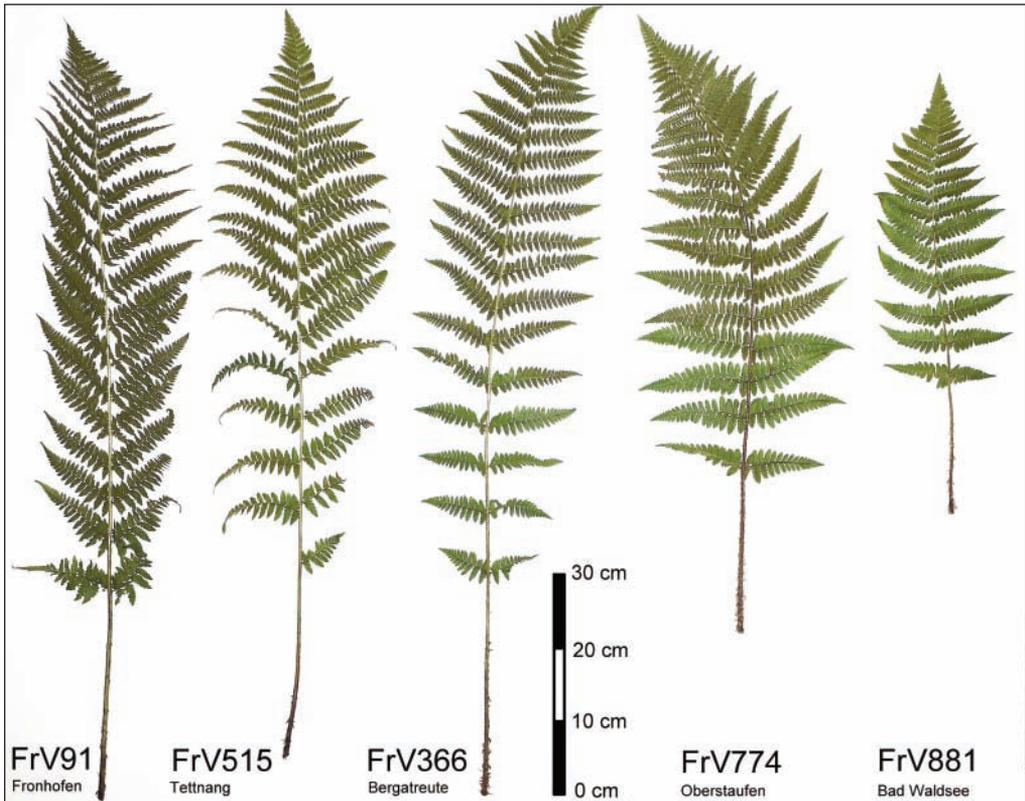


Abb. 2: *Dryopteris xbrathaica*, Wedel von 5 Neufunden. – *D. xbrathaica*, fronds from 5 different new sites.

Die Wedel erreichen Längen bis etwa 110 cm (siehe Abb. 2), zeigen einen aufrechten bis bogig überhängenden Wuchs. Unter günstigen Bedingungen sind sie bis in den Winter grün. Die Spreite misst bis 80 cm Länge. Ihre Unterseite ist spärlich mit gestielten Drüsen besetzt. Der Wedelstiel kann eine Länge von über 30 cm erreichen, im mittleren Bereich einen Durchmesser bis zu 7 mm aufweisen und ist mit zahlreichen hell- bis selten mittelbraunen Spreuschuppen besetzt. Die Rhachis ist in der Basis der Spreite bis zu 5 mm dick und locker mit hellbraunen Spreuschuppen besetzt. Die Fiederstiele sind grün und können im Herbst gelegentlich an ihrer Basis durch unregelmäßige Flecken braun verfärbt sein. Die untersten Fiedern erreichen Längenmaße zwischen 8 und 14 cm, sind ungleichmäßig durch eine Serie verlängerter basiskoper Abschnitte 2. Ordnung (siehe Abb. 2). An den untersten Fiedern messen

die innersten basiskopen Abschnitte 2. Ordnung an den verschiedenen Individuen 1,7 bis 5 cm, gelegentlich sind sie gestielt, die innersten akroskopen Abschnitte 2. Ordnung sind mit 1,4 bis 3,7 cm etwas kürzer als die gegenüber liegenden basiskopen Abschnitte.

Lateral weisen die Fiederabschnitte 2. Ordnung bis zu 8 mm lange Lappen (Abschnitte 3. Ordnung) mit 2–6 Zähnen auf. Die Enden ihrer endständigen Zähne sind zwar stärker verschmälert, laufen jedoch nicht in eine lang ausgezogene Spitze aus (siehe auch Methoden, Abschnitte 3.1 und Tab. 5).

In der Regel sind in einer Spreite die 5. bis 7. Fieder (ab der Spreitenbasis betrachtet) mit 10,5 bis 17 cm am längsten. In diesem Bereich sind die basiskopen Abschnitte 2. Ordnung mit 1,5 bis 2,9 cm ebenso lang wie die entsprechenden, gegenüber liegenden 1,5 bis 2,8 cm langen akroskopen Abschnitte.



Abb. 3: *Dryopteris xbrathaica*: Wedelunterseite, Ausschnitt aus der mittleren Spreite. – *D. xbrathaica*, lower side of front, central part.

Die Indusien schrumpfen nach der Sporenreife ein und fallen in der Regel über Winter nicht von der Fiederunterseite ab. Bei den Indusien ist vor der Sporenreife der etwas ausgefrante Rand nicht umgeschlagen und weist selten einzelne Drüsen auf. Auf der Außenfläche der Indusien wurden bisher noch keine Drüsen beobachtet.

Die Sporenreife erfolgt im Juli.

Die Sporenmasse besteht aus kleinen bis großen, hell-durchscheinenden bis schwarzen, unregelmäßig geformten und geschrumpften Sporen mit stark ausgefrantem, zerrissen erscheinenden, bizarren Perispor. Darunter mischen sich vereinzelt große bis kleine kugelförmige Sporen. In Keimversuchen wurde bisher niemals eine Ausbildung von Vorkeimen beobachtet.

Alle arithmetisch errechneten Mittelwerte der Schließzelllänge, gemessen in Wasser, liegen in dem angegebenen Intervall von 56 bis 64 μm (7 Proben, jeweiliger Stichprobenumfang über 50 Messungen).

4.3 Differenzierende Merkmale

Die Ausprägung der Merkmale für eine Unterscheidung der vier in Betracht kommenden Sippen wird in den anschließenden Ausführungen und den Tab. 3 bis 5 beschrieben.

- Färbung der Spreuschuppen im unteren Bereich der Rhachis

Bei *D. carthusiana*, *D. filix-mas* und *D. xbrathaica* sind diese Spreuschuppen blass- bis mittelbraun und nur selten an ihrer Basis ein wenig dunkler gefärbt. Bei *D. remota* dagegen sind solche Schuppen meist rötlich- bis dunkelbraun gefärbt und an ihrer Basis nochmals eine Stufe dunkler getönt. Nur bei einem der vielen überprüften Exemplare von *D. remota* waren die Spreuschuppen sogar an ihrer Basis hellbraun.

- Färbung der Fiederstiele

Bei *D. remota* ist an frischem Material der Stiel der Fiedern auffällig und intensiv dunkelviolettfärbt. Diese Färbung wurde in Feldbeobachtungen an mehreren hundert Pflanzen in Süddeutschland, Vogesen, Österreich und der Schweiz durch J. Freigang und G. Zenner beobachtet. Sie erwies sich dabei als sehr persistent. Nur bei wenigen Exemplaren war sie et-

was schwächer ausgeprägt. Niemals wurden rein grüne Fiederstiele an *D. remota* beobachtet. Bei den uns vorliegenden Exemplaren von *D. xbrathaica* konnten wir diese dunkelviolettfärbung niemals beobachten. Lediglich im Herbst können an den Fiederstielen unregelmäßig verteilte bräunliche Flecken auftreten. Eine derartige herbstliche Braunfärbung kann man regelmäßig auch bei *D. filix-mas* und *D. carthusiana* beobachten. An Herbarbelegen von *D. remota* bleibt die dunkelviolettfärbung an den Fiederstielen nicht erhalten.

- Drüsen an den Indusien

An dem von uns untersuchten Frischmaterial konnten bei *D. xbrathaica* mit Ausnahme eines noch lebenden Ablegers der Brathay-Pflanze im Arktisch-Alpinen Garten in Chemnitz (SJ-2427) einzelne Drüsen am Rande der Indusien beobachtet werden. In über 200 Proben an Frischmaterial von *D. filix-mas* waren bei etwa 10 Prozent der Pflanzen einzelne Drüsen am Indusiumrand festzustellen. Bei *D. carthusiana* wurden etwa 50 Proben untersucht, davon wies etwa die Hälfte der Pflanzen mehrere Drüsen an den Indusiumsrändern auf, während sie bei den anderen fehlten.

Bei *D. remota* ist die Verteilung der Drüsen am Indusium andersartig als bei den drei übrigen Sippen. An der Außenfläche der Indusien waren oft mehr als 20 kleine Drüsen vorhanden. Niemals haben wir bei unseren Untersuchungen auf der Außenfläche der Indusien von *D. xbrathaica*, *D. filix-mas* und *D. carthusiana* Drüsen feststellen können. Andererseits konnten wir kein Exemplar von *D. remota* mit drüsenlosen Indusien entdecken. Nach dem Einschrumpfen der Indusien und an trockenem Herbarmaterial kann die Bedrüsung der Indusien nach Einweichen in Wasser und Rückbildung der Indusiengestalt noch erkannt werden.

- Länge der Schließzellen und Sporen

Die Schließzellen sind bei tetraploider *D. filix-mas* und *D. xbrathaica* mit Mittelwerten zwischen 56 und 67 μm relativ groß, wenn man sie mit den relativ kleinen Schließzellen bei ebenfalls tetraploider *D. carthusiana* (50–63 μm) vergleicht. Die triploide *D. remota* weist die kleinsten Schließzellen (47–58 μm) unter den vier Sippen auf. Allerdings sind die Differenzen in den Längen der Schließzellen nicht besonders eklatant.

Bei den Sporen ist es anders. Die triploide *D. remota* bildet größere Sporen aus, während die tetraploiden Vertreter kleinere Sporen, wenn vorhanden, hervorbringen.

• Sporenbeschaffenheit

Das Sporenbild bei *D. xbrathaica* weist die für Hybriden in der Gattung *Dryopteris* typische Ausprägung auf: kleine bis große, hell-durchscheinende bis schwarze, unregelmäßig geformte und geschrumpfte defekte Sporen mit einem stark ausgefransten, zerrissen erscheinendem Perispor, selten auch kugelförmige Sporen unterschiedlicher Größe. In drei Aus-

saatversuchen konnte bisher keine Prothallienbildung beobachtet werden.

Im Gegensatz dazu zeigen sich in den Sporenbildern von *D. carthusiana* und *D. filix-mas* die arttypischen, bohnenförmigen Sporen. Defekte Sporen sind nur vereinzelt zu beobachten.

In den Sporenbildern von *D. remota* weisen etwa 1/3 bis 2/3 der Sporen eine reguläre Ausbildung der Sporengestalt auf, allerdings zeigen sie eine gewisse Variabilität bezüglich ihrer Größe und Form. Die restliche Masse besteht aus kleinen, dunkleren und uneinheitlich ausgeformten defekten Sporen.

Tab. 3: Übersicht über die sippendifferenzierende Ausprägung der betrachteten Merkmale. – Diagnostic characters.

Sippen	<i>D. carthusiana</i>	<i>D. xbrathaica</i>	<i>D. filix-mas</i>	<i>D. remota</i>
Färbung der Spreuschuppen im unteren Rhachisbereich	blass hellbraun, an ihrer Basis nicht dunkler gefärbt	hell- bis selten mittelbraun, teilweise an ihrer Basis etwas dunkler gefärbt	hell- bis selten mittelbraun, teilweise an ihrer Basis etwas dunkler gefärbt	meist mittel bis dunkelbraun und an ihrer Basis kräftig dunkelbraun gefärbt, selten Pflanzen mit hellbraunen Schuppen ohne dunkle Basis
Färbung des Fiederstiel	grün	grün	grün	dunkelviolett
Drüsen am Indusium	Rand: bei 50 % der Pflanzen mehrere Drüsen Fläche: ohne Drüsen	Rand: meist ohne Drüsen, selten Pflanzen mit einzelnen Drüsen Fläche: ohne Drüsen	Rand: meist ohne Drüsen, selten Pflanzen mit einzelnen Drüsen Fläche: ohne Drüsen	Rand: zahlreiche Drüsen Fläche: zahlreiche Drüsen
Länge der Schließzellen: (µm) Längenintervall, das alle verwerteten Mittelwerte enthält	50–63	56–64	56–67	47–58
Sporenbeschaffenheit	nahezu 100 % in arttypischer, bohnenförmiger Gestalt; keimfähig Stachelchen am Perispor	zu 100 % defekt, selten Kugelsporen, nicht keimfähig	nahezu 100 % in arttypischer, bohnenförmiger Gestalt; keimfähig keine Stachelchen am Perispor	etwa 1/3 bis 2/3 deformiert, Rest meist bohnenförmig, seltener heteromorph, viele keimfähig, Stachelchen am Perispor
Sporenlänge: (µm) Längenintervall, das alle verwerteten Mittelwerte enthält	35–48	Sporen defekt	34–47	42–56
Ploidiestufe	tetraploid	tetraploid	tetraploid	triploid
Fortpflanzung	sexuell und vegetativ	nur vegetativ	sexuell und vegetativ	apomiktisch und vegetativ
Zahl der Chromosomen	2n = 164	2n = 164	2n = 164	2n = 123
Metaphase Meiose	82 Chromosomenpaare	fast 164 Einzelchromosomen, wenige Chromosomenpaare	82 Chromosomenpaare	123 Chromosomenpaare in 8-zelligen Sporangien; 123 Einzelchromosomen in 16-zelligen Sporangien (PERONI & al. 1991)

Tab. 4a: Ergebnisse der morphometrischen Messungen an Wedeln der vier untersuchten Sippen und Proportionsverhältnisse an ausgewählten Wedelteilen. – Results of morphometric measurements in frond characters.

untersuchte Sippen (alle Längenmaße in cm)	<i>D. carthusiana</i>	<i>D. xbrathaica</i>	<i>D. filix-mas</i>	<i>D. remota</i>
Zahl der vermessenen Proben	9	8 (vgl. Tab. 4b)	10	13
LW – Länge des Wedels	bis 94	bis 111	bis 140	bis 121
LSp – Länge der Spreite	bis 54	bis 80	bis 106	bis 75
LSt – Länge des Wedelstiels	bis 46	bis 33	bis 43	bis 46
LIF – Länge der längsten Fieder	bis 14,5	bis 17	bis 19	bis 17,5
LuF – Länge der untersten Fieder	9–14	8–14	6–13	7,5–13
LibF – Länge des innersten basiskopfen Fiederchens der untersten Fieder	3,2–6,5	1,7–5,0	1,3–3,3	2,1–4,3
LiaF – Länge des innersten akroskopfen Fiederchens der untersten Fieder	2,3–4,2	1,4–3,7	1,3–3,2	1,5–2,9
Position der längsten Fieder (von der untersten an gezählt)	Pos. 2–4	Pos. 4–9	Pos. 3–11	Pos. 3–5
Verhältnis LSp / LW	0,45–0,70	0,66–0,78	0,66–0,81	0,59–0,74
Verhältnis LSt / LW	0,30–0,55	0,22–0,34	0,19–0,34	0,26–0,41
Verhältnis LIF / LuF	1,0–1,3	1,1–1,7	1,3–2,5	1,1–1,5
Verhältnis LIF / LSp	0,25–0,34	0,17–0,25	0,14–0,24	0,19–0,31
Verhältnis LibF / LiaF	1,19–1,89	1,18–1,52	0,93–1,54	1,18–1,64

Tab. 4b: Ergebnisse der morphometrischen Messungen an Wedeln der *Dryopteris xbrathaica* und Proportionsverhältnisse an ausgewählten Wedelteilen. – Results of morphometric measurements in frond characters of *D. xbrathaica*.

<i>D. xbrathaica</i> mit Beleg-Nr. (siehe Kap. 4.1) (alle Längenmaße in cm)	FrV91 2011	FrV366 2011	FrV515 2011	FrV774 2011	FrV881 2011	FrV1005 2012	SJ- 2427	Limberger 2011
LW – Länge des Wedels	101	111	108	79	64	80	92	81
LSp – Länge der Spreite	76	78	80	62	42	58	69	58
LSt – Länge des Wedelstiels	25	33	28	17	22	22	23	23
LIF – Länge der längsten Fieder	16,5	13,5	17	15	10,5	13	13,5	13
LuF – Länge der untersten Fieder	13	8	10	14	8	11	8,5	10
LibF – Länge des innersten basiskopfen Fiederchens der untersten Fieder	5,0	3,2	3,2	3,5	2,9	3,0	1,7	2,0
LiaF – Länge des innersten akroskopfen Fiederchens der untersten Fieder	3,7	2,1	2,1	2,7	2,1	2,4	1,4	1,7
Position der längsten Fieder (von der untersten an gezählt)	5.	7.	5.	6.	6.	5.	9.	–
Verhältnis LSp / LW	0,76	0,70	0,74	0,78	0,66	0,73	0,75	0,72
Verhältnis LSt / LW	0,25	0,30	0,26	0,22	0,34	0,28	0,25	0,28
Verhältnis LIF / LuF	1,27	1,69	1,70	1,07	1,31	1,18	1,59	1,30
Verhältnis LIF / LSp	0,22	0,17	0,21	0,24	0,25	0,22	0,20	0,22
Verhältnis LibF / LiaF	1,35	1,52	1,52	1,30	1,38	1,25	1,21	1,18

Tab. 5.: Übersicht zu den Ergebnissen der Messungen an apikalen Zähnen der Abschnitte 2. bzw. 3. Ordnung.
– Results of measurements in teeth of frond segments.

	<i>D. carthusiana</i>	<i>D. xbrathaica</i>	<i>D. filix-mas</i>	<i>D. remota</i>
Position der Zähne	Abschnitt 3. Ordnung	Abschnitt 3. Ordnung	Abschnitt 2. Ordnung	Abschnitt 3. Ordnung
relative Zahnhöhe: sippen-spezifisches Intervall, das alle erhobenen Mittelwerte einschließt; Maßeinheit: µm	343–627	159–235	86–164	178–257
relative Zahnhöhe: gemessene Minimal- bzw. Maximalwerte; Maßeinheit: µm	170–784	70–476	24–216	46–360
Verhältniszahl: relative Zahnhöhe / relative Basisbreite; sippen-spezifisches Intervall, das alle erhobenen Mittelwerte einschließt	1,72–3,14	0,80–1,18	0,43–0,82	0,89–1,29
Verhältniszahl: relative Zahnhöhe / relative Basisbreite; Minimal- bzw. Maximalwert	0,85–3,92	0,35–2,38	0,12–1,11	0,23–1,80

4.4 Chromosomenzählung

Die Chromosomenzählung an einer Sporenmutterzelle der Pflanze aus Fronhofen (FrV91) ergab ca. 158 Univalente und 3 Bivalente, insgesamt also 164 Chromosomen (siehe Abb. 4a

und 4b). Da die Chromosomen-Basiszahl x der beteiligten Arten 41 beträgt, ist die Hybridpflanze tetraploid.

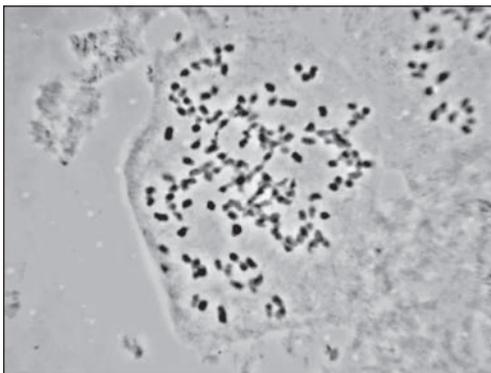


Abb. 4a: Metaphase einer Sporenmutterzelle in Meiose von *Dryopteris xbrathaica*. – *D. xbrathaica*, metaphase of spore mother cell in meiosis.

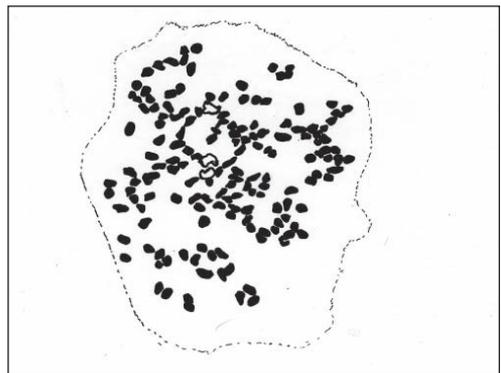


Abb. 4b: Erläuterungsdiagramm zu der nebenstehend abgebildeten Zelle. Es lassen sich ca. 158 Univalente und 3 Bivalente (umrandet) erkennen. – Diagram explaining fig. 4a, showing c. 158 univalents and 3 bivalents (white).

4.5 Molekulargenetische Untersuchungen am nucleären Pgi-Gen

- Die Elektropherogramme der PgiC-15/16-Fragmente der Elternarten der Hybride *D. xbrathaica*.

Man erkennt im Elektropherogramm von *D. carthusiana* (Abb. 5), bei dem auf der Ordinate die Signalintensität und auf der Abszisse die Länge des Fragments in Basenpaaren (bp) aufgetragen ist, dass erwartungsgemäß zwei Signale zu sehen sind, da *D. carthusiana* eine allotetraploide Sippe mit zwei unterschiedlichen Allelenpaaren ist.

Das Elektropherogramm von *D. filix-mas* zeigt unerwartet nur ein Signal, obwohl auch diese Art allotetraploid mit zwei unterschiedlichen PgiC-Allelenpaaren ist (Abb. 6). Der Grund für das Fehlen einer zweiten Bande ist die gleiche Länge des 15/16-Fragments der beiden Eltern von *D. filix-mas*, also von *D. oreades* und von *D. caucasica* (unpublizierte Ergebnisse). Diese Fragmente sind aber deutlich länger als die beiden *D. carthusiana*-Fragmente.

- Elektropherogramme von als *Dryopteris xbrathaica* bestimmten Pflanzen

Die Abb. 7 und 8 zeigen Elektropherogramme von *D. xbrathaica*. Das für *D. xbrathaica* cha-

rakteristische Signalmuster (Abb. 7–9) resultiert aus einer Addition der Signale der Elternarten (Abb. 5 und 6).

Die in Tabelle 1 genannten vier weiteren *D. xbrathaica* Pflanzen wurden ebenfalls mittels des PgiC-15/16-Markers untersucht. Es ergaben sich gleichartige Elektropherogramme.

Zum Vergleich wurde eine DNA-Probe eines Ablegers der Typus-Pflanze untersucht (Abb. 9)

Auch bei der aus England stammenden Pflanze sind die drei Signale der elterlichen Fragmente zu erkennen. Die Peaks weichen in ihrer Form von denen der übrigen Proben ab, was eventuell durch die etwa zehnfache Konzentration der PCR-Produkte bedingt ist. Auffallend ist die Umkehrung der Intensitätsverhältnisse zwischen dem *D. carthusiana*- und dem *D. filix-mas*-Anteil in den Abb. 7 und 8 auf der einen und 9 auf der anderen Seite. Eine Erklärung für diese Erscheinung könnten die Bedingungen in der PCR sein. Die Ausbeute einer Amplifikation hängt von vielen Parametern ab, so dass in einem bestimmten PCR-Lauf die die Anlagerungsbedingungen der Primer für die jeweiligen Allele unterschiedlich günstig sein können. Darauf ist wohl auch die unterschiedliche Signalstärke bei den Signalmustern der allotetraploiden Arten zurückzuführen.

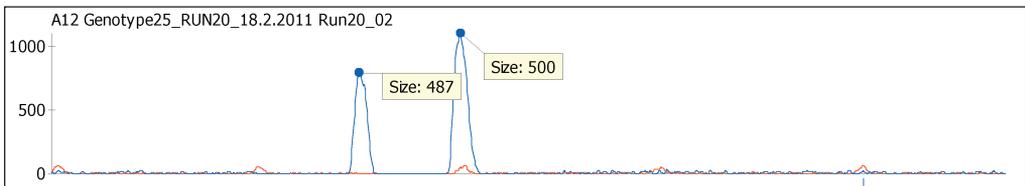


Abb. 5: *Dryopteris carthusiana* (DE385; Bergatreute) – Fig. 5–9: Elektropherograms of PgiC 15/16 fragments of *D. xbrathaica* and its parental species.

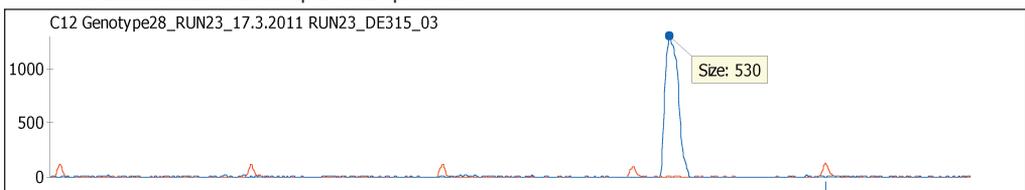


Abb. 6: *Dryopteris filix-mas* (DE315; Bernkastel-Kues).

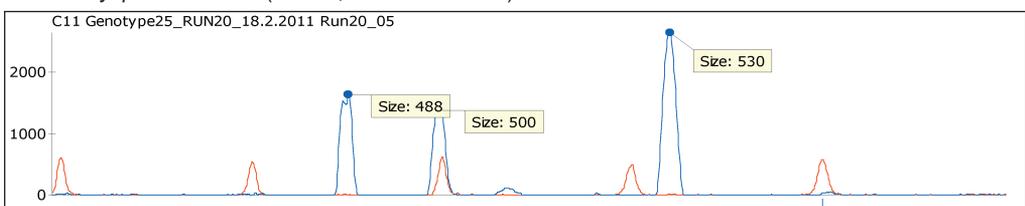


Abb. 7: *Dryopteris xbrathaica* (DE198a; Tettngang – FrV515).

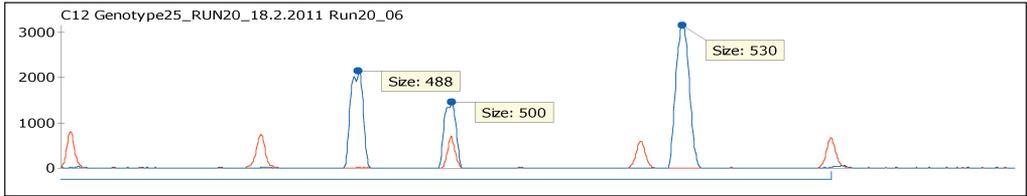


Abb. 8: *Dryopteris xbrathaica* (DE199a; Fronhofen – FrV91).

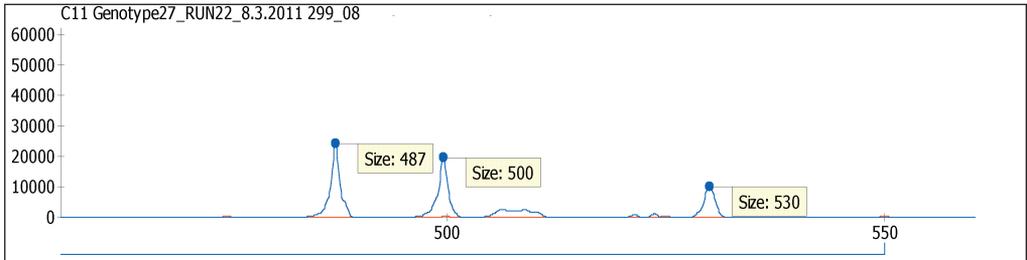


Abb. 9: *Dryopteris xbrathaica* (DE299; Brathay Wood - Ableger der Typuspflanze – SJ-2427).

• Elektropherogramme von *Dryopteris xdeweveri* (Abb. 12) und ihren Eltern, *D. carthusiana* und *D. dilatata*.

D. dilatata und *D. carthusiana* sind allotetraploid mit zwei unterschiedlichen Allelenpaaren (Abb. 10 und 11). Doppelsignale (z. B. in Abb. 11 und 12) könnten bedeuten, dass auch zwischen den homologen Allelen gewisse Unterschiede vorhanden sind.

Auch diese Teiluntersuchung zeigt, dass sich das Signalmuster von *D. xdeweveri* additiv aus denen der Elternarten (Abb. 10 und 11) zusammensetzt. Statt der 530-bp-Bande von *D. filix-mas* treten hier die wesentlich kürzeren Banden bei 500 bp und 516/517 bp von *D. dilatata* auf, was sich in der vergrößerten Signalfäche der 500-bp-Bande zeigt.

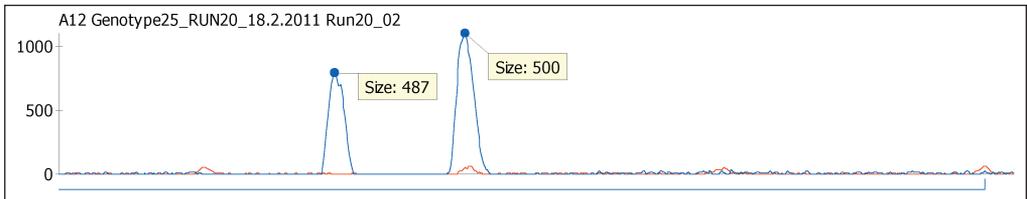


Abb. 10: *Dryopteris carthusiana* (DE385; Bergatreute) – Fig. 10–12: Electropherograms of PgiC 15/16 fragments of *D. xdeweveri* and its parental species.

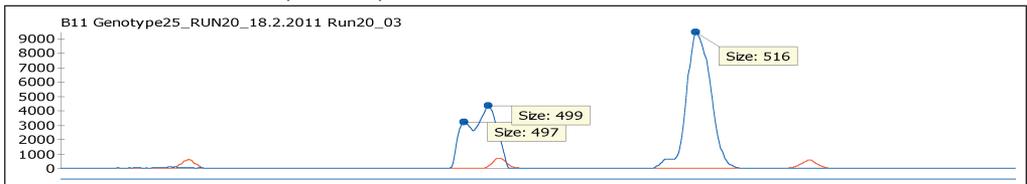


Abb. 11: *Dryopteris dilatata* (DE68; Trier).

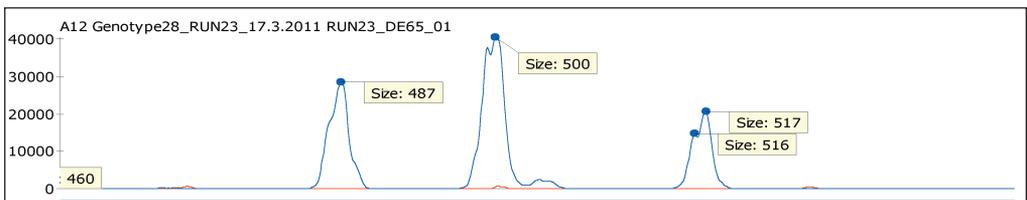


Abb. 12: *Dryopteris xdeweveri* (DE65; Deuselbach).

5. Diskussion

5.1 Morphologische Befunde

Die Ausprägung vieler makromorphologischer Merkmale ist bei *D. carthusiana*, *D. filix-mas*, *D. xbrathaica* und *D. remota* sehr variabel. Das wird durch die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse der morphometrischen Untersuchungen bestätigt (siehe Tab. 4). Danach kann *D. xbrathaica* makromorphometrisch bei bestimmungskritischen Belegen infolge zu großer Überlappungsbereiche in den meisten Mittelwerten und Verhältniszahlen von den anderen Sippen nicht in allen Fällen zweifelsfrei unterschieden werden. Lediglich über das Längenverhältnis zwischen der längsten Fieder zur Spreite und dem Stiel zum Wedel sowie der Position der längsten Fieder in der Spreite ließ sich *D. xbrathaica* in Beständen neben *D. carthusiana* makromorphologisch von *D. carthusiana* unterscheiden. Von *D. remota* kann man *D. xbrathaica* makromorphometrisch kaum zufriedenstellend abgrenzen. Allerdings können im Gelände und an frischem Material Vertreter beider Sippen an der Färbung der Fiederstiele (bei *D. xbrathaica* grün, bei *D. remota* dunkelviolet), schnell und zuverlässig auseinander gehalten werden. Die Versuche in Beständen der *D. filix-mas* bei Exemplaren mit feingliedrigeren Wedeln rein morphometrisch ein Vorliegen von *D. xbrathaica* zu erkennen, führten zu höchst unbefriedigenden Ergebnissen (Kontrolle über die Ausprägung der Sporen).

Die dunkler braune Färbung der Fläche und Basis der Spreuschuppen aus dem unteren Teil der Rhachis liefert sowohl bei Frisch- als auch Herbarmaterial, vor allem, wenn am Herbarmaterial eine Violettfärbung an den Stielen der Fiedern nicht mehr erkennbar ist, einen wertvollen Hinweis bei der Bestimmung eines Beleges von *D. remota*. Die entsprechenden Spreuschuppen bei den drei anderen Sippen sind meistens deutlich heller braun getönt. Somit ist die Färbung der Spreuschuppen an der unteren Rhachis geeignet, auch bei älterem Material zwischen *D. xbrathaica* und *D. remota* zu unterscheiden.

Sogar in dichten Beständen der *D. filix-mas* mit nicht so stark unterteilten Blattspreiten können Exemplare der *D. xbrathaica* zunächst als außergewöhnlich aussehende Individuen ausfindig gemacht werden. Wenn aber die Wedel einer *D. filix-mas*-Pflanze feiner als gewöhnlich gegliedert sind, kann man die beiden Sippen ma-

kromorphologisch kaum sicher auseinander halten. Liegt das Material ohne Sporen vor, hilft nach den Ergebnissen der mikromorphologischen Messungen in den Spitzen der endständigen Zähne an Abschnitten der 2. bzw. 3. Ordnung eine entsprechende Messreihe zur relativen Zahnhöhe weiter (siehe Tab. 5). Sogar bei Exemplaren der *D. filix-mas* mit stärker gegliederter Spreite sind die Spitzen der erwähnten Zähne im Mittel nicht so fein ausgezogen wie bei Exemplaren der *D. xbrathaica*. Das hier dargestellte Merkmal ist auch für eine Abgrenzung der *D. xbrathaica* gegen *D. carthusiana* bestens geeignet. Für eine entsprechende Abgrenzung gegen *D. remota* ist es infolge eines weiten Überlappungsbereiches bei den erhobenen Mittelwerten untauglich (siehe Tab. 3).

Die Länge der Schließzellen (siehe Tab. 3) eignet sich sehr gut für eine Differenzierung zwischen *D. xbrathaica* und *D. remota*. Ein diesbezüglicher Mittelwert über 56 µm weist auf *D. xbrathaica* hin, liegt er unter 56 µm, kommt *D. remota* in Betracht. Zur entsprechenden Abgrenzung gegen *D. filix-mas* und *D. carthusiana* ist die Länge der Schließzellen weniger geeignet.

Recht gute Hinweise für eine Unterscheidung der vier angesprochenen Sippen liefern mikromorphologische Merkmale an den ausgebreiteten Indusien und reifes Sporenmaterial (siehe Tab. 3).

D. xbrathaica bildet nur defekte Sporen. *D. remota* zeigt neben zahlreichen defekten auch viele intakte, etwas heteromorphe Sporen und als einzige der vier Sippen zahlreiche Drüsen auf der Fläche der Schleier. Sporen- und Drüsenmerkmale können mit einer stärkeren Lupe beurteilt werden. *D. carthusiana* und *D. filix-mas* erzeugen fast immer zu 100% intakte Sporen. Die leicht zugänglichen Merkmale an Schleiern und Sporen erleichtern die Ansprache bestimmungskritischer Pflanzen.

Die Länge der Sporen ist für eine Differenzierung der vier Sippen weniger geeignet. Bei *D. filix-mas* und *D. carthusiana* ist die Lage des Intervalls, in denen sich jeweils alle erhobenen Mittelwerte befinden, annähernd gleich. Nur bei *D. remota* ergaben sich etwas größere Mittelwerte.

Vermeintliche Exemplare von *D. xbrathaica* könnten mit Vertretern der bislang noch nicht in der Natur erkannten Hybride *D. dilatata* × *D. filix-mas* verwechselt werden. Diese noch unbekannte Hybride sollte sich, falls die morphologischen Merkmale intermediär ausgebildet wären,

von *D. xbrathaica* durch Stielschuppen mit dunkelbraunen Kernen, eine stärkere Bedrüsung auf der Spreitenunterseite, besonders den Adern sowie durch eine größere Anzahl an Drüsen am Rande der Schleier unterscheiden.

5.2 Cytologie

Die allotetraploiden, sexuellen Elternarten von *D. xbrathaica* besitzen jeweils zwei verschiedene Chromosomensätze: *D. carthusiana* die von *D. intermedia* (MÜHL. ex WILLD.) A. GRAY (I) und von *D. „semicristata“* (S) (einer bisher nicht identifizierten Art), *D. filix-mas* von *D. oreades* und *D. caucasica* (DOSTÁL & al. 1984). Ihre Gameten enthalten demgemäß die Chromosomensätze IS bzw. OC und die aus ihnen entstehende Hybride enthalten Kerne mit den Sätzen ISOC. Da es sich um vier nicht homologe Sätze handelt, ist zu erwarten, dass die Meiose bei *D. xbrathaica* fast ausschließlich Univalente zeigt. Diese Erwartung wird durch Abb. 4 bestätigt, es sind fast nur Univalente zu beobachten. Dies deckt sich auch weitgehend mit Angaben in der Literatur. So hat MANTON (1938) die Chromosomenpaarung während der Meiose als extrem irregulär bezeichnet und später nachgewiesen, dass die Hybride tetraploid ist (MANTON 1950). In GIBBY & WALKER (1974) wird eine Untersuchung von G. Vida erwähnt, nach der in der Meiose 8 oder 9 Bivalente zu erkennen waren, der Rest waren Univalente. Als Folge der irregulären Meiose entstehen ausschließlich abortierte Sporen. Die Seltenheit der Hybride könnte, mindestens teilweise, durch das Vorliegen von vier nichthomologen Chromosomensätzen in den Zellkernen erklärt werden. Auch die Misserfolge von W. Döpp bei der künstlichen Erzeugung von *D. xbrathaica* zeigen, dass die Hemmschwelle der Bastardierung hoch ist (DÖPP 1935).

5.3 Molekulargenetik

Die aus morphologischen, cytologischen und chemischen Daten (FRASER-JENKINS & REICHSTEIN 1977, MANTON 1950, WIDÉN & al. 1976) gewonnene Überzeugung, dass die Eltern von *D. xbrathaica* *D. carthusiana* und *D. filix-mas* sind, wird durch die hier durchgeführten molekulargenetischen Untersuchungen bestätigt. Die Elektro-

pherogramme zeigen die Signale von *D. carthusiana* bei 487 und 500 Basenpaaren und von *D. filix-mas* bei 530 Basenpaaren. Wie vorstehend (Kapitel 3.3 und 5.2) ausgeführt wurde sollten eigentlich vier Signale bei der tetraploiden *D. xbrathaica* zu sehen sein, entsprechend ihrer vier verschiedenen im Genom vorhandenen Allele I, S, O und C. Da aber die Fragmentlängen des Introns zwischen den Exons 15 und 16 bei *D. oreades* und *D. caucasica* gleich sind, kann man bei *D. filix-mas* nur 1 Signal und bei der Hybride nur drei Signale beobachten. Aus diesem Grund muss eine Verwechslung mit der morphologisch sehr ähnlichen triploiden Art *D. remota* zuverlässig ausgeschlossen sein, da sie ein gleichartiges Signalmuster liefert (unpublizierte Ergebnisse). Wie die Fundortbeschreibungen in Abschnitt 3 zeigen, wächst in der Umgebung der *D. xbrathaica*-Pflanzen neben den Elternarten immer auch *D. dilatata*. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit der Bildung der Hybride aus *D. dilatata* und *D. carthusiana* d. h. von *D. xdeweveri*, beziehungsweise des Kreuzungsprodukts *D. dilatata* × *D. filix-mas*. Letzteres wurde in der Literatur immer wieder bei einzelnen Pflanzen angenommen und es sind einige Namen zu ihrer Kennzeichnung genannt worden, wie *Aspidium remotum* var. *subalpinum* BORBÁS, *D. xborbasii* LITARD. oder *D. subaustriaca* ROTHM., doch erwiesen sich bisher alle als Fehlbestimmungen (BENL & ESCHMÜLLER 1973, DOSTÁL & al. 1984). Durch die zusätzliche Untersuchung einer DNA-Probe von *D. xdeweveri* wird gezeigt, dass alle drei Hybrid-Sippen durch die hier benutzte molekulargenetische Methode eindeutig zu trennen wären. Bei dem allotetraploiden *D. dilatata* erscheint ein Signal bei 516 bp. Dieses Signal ist in der Hybride *D. xdeweveri* vorhanden und müsste auch in dem Fall sichtbar sein, wenn die Hybride *D. dilatata* × *D. filix-mas* vorläge, was aber nicht der Fall ist, das heißt, alle neu aufgefundenen Hybriden gehören dem Taxon *D. xbrathaica* an.

6. Danksagung

Wir bedanken uns bei Herrn Stefan Jeßen (Chemnitz) und bei Herrn Wilfried Limberger (Ottensheim/Österreich) für die Überlassung von Pflanzenmaterial, bei Frau Katja Kramp (Trier) und Frau Petra Willems (Trier) für die

Hilfe am Sequenziergerät, bei Frau Edelgard Erfurth (Trier) und bei Herrn Prof. Thomas Schmitt (Trier) für die Übersetzung der Zusammenfassung ins Englische. Den beiden Gutachtern und der Redaktion danken wir für die wertvollen Anregungen zur Verbesserung dieser Arbeit.

7. Literatur

- BENL, G. & ESCHELMÜLLER, A. 1973: Über „*Dryopteris remota*“ und ihr Vorkommen in Bayern. – Ber. Bayer. Bot. Ges. 44: 101–141.
- BOUDRIE, M., GARRAUD, L. & RASBACH, H. 1994: Discovery of *Dryopteris xbrathaica* in France (*Dryopteridaceae*: *Pteridophyta*). – Fern Gaz. 14: 237–244.
- DÖPP, W. 1935: Versuche zur Herstellung von Artbastarden bei Farnen I. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 53: 630–636.
- DOSTÁL, J., REICHSTEIN, T. & FRASER-JENKINS, C. R. 1984: *Dryopteris*. – p.136–169. In: KRAMER, U. (ed.), Hegi, Illustrierte Flora von Mitteleuropa, *Pteridophyta* – *Spermatophyta*, Band I *Pteridophyta*, Teil 1, ed. 3. – Berlin & Hamburg: Paul Parey.
- FRASER-JENKINS, C. R. & REICHSTEIN, T. 1977: *Dryopteris xbrathaica* FRASER-JENKINS & REICHSTEIN hybr. nov., the putative hybrid of *D. carthusiana* × *D. filix-mas*. – Fern Gaz. 11: 337.
- GEOLOGISCHES LANDESAMT BADEN-WÜRTTEMBERG (ed.) 1962: Geologische Übersichtskarte von Baden-Württemberg 1:200 000, Blatt 3 und 4. – Freiburg: LGRB.
- 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.
- ISHIKAWA, H., WATANO, Y., KANO, K., ITO, M. & KURITA, S. 2002: Development of primer sets for PCR amplification of the PgiC gene in ferns. – J. Pl. Res. 115: 65–70.
- JÄGER, E. J. 2011: Rothmaler, Exkursionsflora von Deutschland, Gefäßpflanzen: Grundband, ed. 20. – Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- KRAUSE, S., HACHTEL, M. & BENNERT, H. W. 2001: *Dryopteris xbrathaica* FRASER-JENKINS & T. REICHSTEIN (Englischer Wurmfarne; *Dryopteridaceae*, *Pteridophyta*) in Deutschland. – Feddes Repert. 3-4: 247–260.
- LIMBERGER, W. 2010: *Dryopteris xbrathaica* (FRASER-JENKINS & REICHSTEIN) (*Dryopteridaceae*, *Pteridophyta*) aus dem oberösterreichischen Donauraum – diese sehr seltene Hybride ist neu für Österreich. – Stapfia 92: 21–24.
- LODISH, H., BALTIMORE, D., BERK, A., ZIPURSKY, S. L., MATSUDAIRA, P. & DARNELL, J. 1996: Molekulare Zellbiologie, ed. 2. – Berlin: Walter de Gruyter.
- MANTON, I. 1938: Hybrid *Dryopteris* (*Lastrea*) in Britain. – British Fern Gaz. 7:165–167
– 1950: Problems of Cytology and Evolution in the *Pteridophyta*. – Cambridge: University.
- MOORE, T. 1860: Notice of the Discovery of *Lastrea remota* in England. – J. Proc. Linn. Soc., Bot. 4: 192–194
- PERONI, A., PERONI, G., RASBACH, H., RASBACH, K. & REICHSTEIN, T. 1991: *Dryopteris remota* (A. BRAUN) DRUCE in Italien. – Farnblätter 23: 1–13.
- SEBALD, O., SEYBOLD, S. & PHILIPPI, G. (ed.) 1993: Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs, Band 1, ed. 2. – Stuttgart: Ulmer.
- WIDÉN, C.-J., LOUNASMAA, M., JERMY, A. C., EUW, J. VON & REICHSTEIN, T. 1976: Die Phloroglucide von zwei Farnhybriden aus England und Schottland, von authentischen «*Aspidium remotum*» A. BRAUN und von *Dryopteris aemula* (AITON) O. KUNTZE aus Irland. – Helv. Chim. Acta 59: 1725–1744.
- WISSKIRCHEN, R. & HAEUPLER, H. 1998: Standardliste der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands. – Stuttgart (Hohenheim): Ulmer.