

## Klärung bayerischer Florenprobleme mithilfe der durchflusszytometrischen Ploidiebestimmung – ein geglückter Fall von „Citizen-Science“

THOMAS GREGOR, JURAJ PAULE & LENZ MEIEROTT

**Zusammenfassung:** Für etwa 350 Proben verschiedener kritischer Gattungen wurde im Rahmen des Projektes „Flora von Bayern“ der Ploidiegrad bestimmt. Vorkommen von *Cardamine amara* subsp. *austriaca* wurden für den Bayerischen Wald und die Bayerischen Alpen bestätigt. Als *Danthonia decumbens* subsp. *decipiens* angesehene Vorkommen erwiesen sich als hexaploid, was dem Wert der Nominatunterart entspricht. Die Verbreitung von *Festuca ovina* s.str. ist offenbar in Bayern deutlich kleiner als bisher angenommen und auf das nordöstliche Bayern beschränkt. *Ornithogalum umbellatum* s.l. kommt in Bayern in mindestens drei Ploidiestufen vor, welche zumindest zwei beschriebenen Arten zuzuordnen sind. Mit Stichprobenmessungen aus weiteren Sippenkomplexen wurden bekannte Verbreitungsareale bestätigt (*Amelanchier ovalis* s.l., *Dryopteris*, *Lotus*, *Microthlaspi perfoliatum* agg., *Vaccinium uliginosum*, *Valeriana officinalis* agg.) oder die Daten beweisen, dass weitere Untersuchungen nötig sind, um Sippenstruktur und Verbreitung in Bayern zu klären (z.B. *Hylotelephium*, *Luzula sylvatica* s.l., *Myosotis arvensis*, *Vicia tenuifolia* agg.).

**Key Words:** *Cardamine*, *Danthonia*, flow-cytometry, Bavarian Flora, *Ornithogalum*, ploidy level

**Summary:** Ploidy was determined for ca. 350 samples of taxonomically critical genera in scope of the project “Flora von Bayern” (Flora of Bavaria). Occurrence of *Cardamine amara* subsp. *austriaca* could be confirmed for the Bavarian Forest and the Bavarian Alps. Previously recognized *Danthonia decumbens* subsp. *decipiens* in Bavaria proved to be hexaploid, which corresponds with the nominate subspecies. The distribution range of *Festuca ovina* s.str. in Bavaria is much more limited than previously assumed and restricted to north-eastern Bavaria. For *Ornithogalum umbellatum* s.l., at least three ploidy levels were estimated, which correspond to at least two named species. Random small sampling for other species complexes either confirmed the previously known distribution ranges (*Amelanchier ovalis* s.l., *Dryopteris*, *Lotus*, *Microthlaspi perfoliatum* agg., *Vaccinium uliginosum*, *Valeriana officinalis* agg.) or the data suggested that more research is necessary to be conclusive about the species delimitation and/or distribution in Bavaria (e.g. *Hylotelephium*, *Luzula sylvatica* s.l., *Myosotis arvensis*, *Vicia tenuifolia* agg.).

**Anschriften der Autoren:** Thomas Gregor und Juraj Paule, Senckenberg Forschungsinstitut und Naturmuseum Frankfurt, Abteilung Botanik und molekulare Evolutionsforschung, Senckenberganlage 25, 60325 Frankfurt am Main; E-Mail: thomas.gregor@senckenberg.de, juraj.paule@senckenberg.de; Lenz Meierott, Am Happach 43, 97218 Gerbrunn; E-Mail: lenz.jutta.meierott@t-online.de.

## 1 Einleitung

Botanische Kartierungsarbeiten sind in den vergangenen Jahrzehnten nicht einfacher geworden. Apomiktische Großgattungen wie *Alchemilla*, *Rubus* oder *Taraxacum* sind nur durch umfangreiches Sammeln von Belegen und langjährige Erfahrung beherrschbar. Neubeschreibungen oder die Aufteilung von Arten („splitting“) (u.a. GREGOR et al. 2016, 2018; SCHWARZ & BÄSSLER 1964) erfordern eine erneute Beschäftigung. Eine weitere Herausforderung stellt die Anerkennung sogenannter „Chromosomenrassen“ dar, also Arten, die auch nach der Zahl der vorhandenen Chromosomensätze (Ploidiegrad) definiert wurden (ALI et al. 2016; MARHOLD 1999). Hier unterscheiden sich die Sippen zwar deutlich durch ihre Chromosomenzahl bzw. Ploidie, morphologische Unterscheidungsmerkmale sind aber oft nur gering ausgeprägt („kryptische Arten“). Hier, ähnlich wie bei den Apomikten, gelangen auch erfahrene Kartiererinnen und Kartierer bei der Bestimmung an ihre Grenzen.

Ein Projekt wie die „Neue Flora von Bayern“ (<http://wiki.bayernflora.de>), das auf wissenschaftliche Exaktheit gegründet ist und alle in Bayern bisher beobachteten Sippen von Farn- und Blütenpflanzen mit Sippenkommentaren und Angaben zu ihrer historischen und aktuellen Verbreitung detailliert darstellen möchte, muss auch Artenkomplexe berücksichtigen, deren Taxonomie auf Ploidieunterschieden basiert. Mit Hilfe von Chromosomenzählungen lassen sich derartige Artenkomplexe klären, doch sind diese zeitaufwendig und benötigen zudem Platz für die Kultur von Pflanzen. Hier bietet sich die Ploidiebestimmung mittels Durchflusszytometrie an (DOLEŽEL et al. 2007), die als eine Hochdurchsatzmethode relativ zeitnah exakte Ergebnisse verspricht.

Die Notwendigkeit, solche Artenkomplexe zu bearbeiten, wurde 2016 in der Bayerischen Botanischen Gesellschaft festgestellt und eine Arbeitsgruppe eingerichtet. In Kooperation mit dem Senckenberg Forschungsinstitut und Naturmuseum Frankfurt konnte eine Übereinkunft erzielt werden und 2017 wurden dort die für das Projekt gesammelten Proben bearbeitet.

## 2 Methoden

Ein Aufruf an die Mitglieder der BBG, geeignetes Probenmaterial ausgewählter Sippen und Artenkomplexe zu sammeln und zu festgelegten Terminen nach Frankfurt zu senden, erfuhr regen Zuspruch. Es beteiligten sich 27 erfahrene Floristen mit insgesamt über 350 Proben.

### Beteiligte Sammler

- B. & J. Adler (Nördlingen) – *Danthonia*
- J. Bauer (Marktoberdorf) – *Cardamine*
- R. Boesmiller (Landshut) – *Ornithogalum*
- M. Breitfeld (Markneukirchen) – *Cardamine*, *Festuca*, *Ornithogalum*
- W. Diewald (Straubing) – *Cardamine*, *Danthonia*, *Festuca*, *Luzula*, *Ornithogalum*,  
*Vaccinium*
- F. Eberlein (Bad Reichenhall) – *Cardamine*
- F. Fürnrohr (Schnufenhofen) – *Festuca*, *Ornithogalum*
- T. Gregor (Schlitz) – *Ornithogalum*
- H. Hein (Inzell) – *Cardamine*
- G. Hetzel (Bamberg) – *Ornithogalum*
- W. Hildel (Marktheidenfeld) – *Dryopteris*

- R. Höcker (Eckental) – *Festuca*  
G. Kasper (Neumarkt i.d.Opf.) – *Ornithogalum*  
S. Kattari (Grassau) – *Cardamine*  
J. Klotz (Regensburg) – *Cardamine, Festuca, Hylotelephium*  
A. Mayer (Eschenau) – *Amelanchier, Luzula, Vaccinium*  
L. Meierott (Gerbrunn) – *Cardamine, Festuca, Hylotelephium, Lotus, Luzula, Microthlaspi, Myosotis, Ornithogalum, Vicia*  
N. Meyer (Oberasbach) – *Festuca*  
D. Nuhn (Landshut) – *Ornithogalum*  
H. Parker (Weißach) – *Amelanchier, Danthonia*  
P. Rességuier (Marktheidenfeld) – *Dryopteris*  
M. Scheuerer (Nittendorf) – *Danthonia, Festuca*  
H. Schöndorfer (Bayerisch-Gmain) – *Cardamine*  
J. Wagenknecht (Eckental) – *Ornithogalum*  
W. Winter (Gessertshausen) – *Valeriana*  
W. Zahlheimer (Passau) – *Cardamine, Festuca, Ornithogalum*

Die Ploidiebestimmungen wurden mittels Durchflusszytometrie aus frischen Blättern bzw. Blattstielen (*Amelanchier*) mit einem Partec CyFlow Space (Münster) mit einer UV-LED Lichtquelle bestimmt. Die Proben wurden in zwei Schritten nach dem Otto-Protokoll bearbeitet (zusammengefasst in DOLEŽEL et al. 2007) mit den internen Referenzstandards *Glycine max* Merr. cv. (Kultivar) ‚Polanka‘, *Pisum sativum* L. cv. ‚Ctirad‘, *Solanum lycopersicum* L. cv. ‚Stupické polní rané‘, *Vicia faba* L. cv. ‚Inovec‘ oder *Zea mays* L. cv. ‚CE-777‘ (DOLEŽEL et al. 2007). Nach dem Zerkleinern des Materials mit einer Rasierklinge in Otto-I-Puffer und Färbung mit DAPI (enthaltend 4µg/ml 4',6-Diamidin-2-phenylindol) in Otto-II-Puffer wurde die Fluoreszenz-Intensität von 3000 Zellkernen aufgezeichnet. Die Probe/Standard-Fluoreszenzverhältnisse (PSF) wurden aus den mittleren Werten der Proben- und Standard-Fluoreszenzhistogramme berechnet. Nur Histogramme mit Variationskoeffizienten (CVs) von  $G_0/G_1$ -Peak der analysierten Probe unter 5,0 % wurden berücksichtigt.

In den meisten Fällen wurde die Ploidiestufe durch Vergleich mit bereits publizierten PSF abgeleitet. In wenigen Fällen (z.B. *Vicia, Hylotelephium*) wurde die Ploidie anhand von Vergleichen mit bereits für Deutschland publizierten Chromosomenzählungen und den Intervallen der PSF-Werte zugeordnet. Die Daten wurden auch in die Datenbank ‚Chromosomenzahlen zur Flora von Deutschland‘ (<http://chromosomes.senckenberg.de>, PAULE et al. 2017) übernommen.

Die Ergebnisse der durchflusszytometrischen Ploidiebestimmungen befinden sich im elektronischen Anhang zu diesem Artikel: [https://www.bbgev.de/berichte/088\\_2018/appendix\\_Gregor\\_et\\_al.pdf](https://www.bbgev.de/berichte/088_2018/appendix_Gregor_et_al.pdf).

### 3 Ergebnisse und Diskussion

#### *Amelanchier ovalis* MEDIK. s.l.

In Ergänzung zu einem Projekt der Gesellschaft zur Erforschung der Flora Deutschlands (GREGOR et al. 2018) wurden weitere zehn *Amelanchier*-Proben aus Bayern und dem angrenzenden Tirol bearbeitet.

Die Ergebnisse bestätigten das Vorkommen des diploiden *Amelanchier ovalis* s. str. und des tetraploiden *Amelanchier ovalis* subsp. *embergeri* Favarger & Stern in den bayerischen Alpen. Die Analysemethoden und die Funddaten wurden im oben zitierten Artikel publiziert.

### *Cardamine amara* L.

Abb. 1, 2

Die nach TEPPNER (1980) im Ostalpenraum überwiegend tetraploide Sippe höherer Lagen wurde von MARHOLD (1999) als *Cardamine amara* subsp. *austriaca* Marhold beschrieben. Diese Unterart ist von der Nominatunterart durch an der Basis dickere Stängeldurchmesser, größere Zahl von Stängelblättern und Fiederpaaren, etwas längere Kronblätter und Staubfäden, sowie durch größeren Durchmesser der Pollenkörner unterschieden. Bisher existierten für Bayern nur wenige Nachweise aus dem Chiemgau (MARHOLD 1999) und aus dem Bayerischen Wald (ZOZOMOVÁ-LIHOVÁ et al. 2015).

Es wurden 99 *Cardamine-amara*-Proben bearbeitet. Als Standards wurden *Solanum lycopersicum* und *Glycine max* verwendet, wobei die beiden Standards für diploide und tetraploide PSF-Mittelwerte von  $0,25 \pm 0,00$  zu  $0,50 \pm 0,01$  bzw.  $0,20 \pm 0,00$  zu  $0,40 \pm 0,00$

aufwiesen. Die Zuordnung der PSF-Werte zur Ploidie erfolgte nach ZOZOMOVÁ-LIHOVÁ et al. (2015) sowie Hinweisen von P. Vit. Elf Proben wurden als diploid (*C. a.* subsp. *amara*) und 47 Proben als tetraploid (*C. a.* subsp. *austriaca*) bestimmt. Bei etwa der Hälfte der Proben gelang es nicht, ein sicheres Ergebnis zu erhalten, da im Bereich des diploiden Peaks Störmessungen vorhanden waren.

Nach den vorliegenden Ergebnissen ist die tetraploide *Cardamine amara* subsp. *austriaca* in Bayern in mittleren bis höheren Lagen der östlichen Kalkalpen (Berchtesgadener Alpen bis westlich des Inns) verbreitet (Abb. 1). Eine am 15. Juli 2018 von Thomas Gregor in den Allgäuer Alpen gesammelte Pflanze erwies sich ebenfalls als tetraploid (MTB 8628/21, Bad Hindelang, 0,5 km n Prinz-Luitpold-Haus, T. Gregor 17598, Herb. T. Gregor). Dies lässt vermuten, dass die

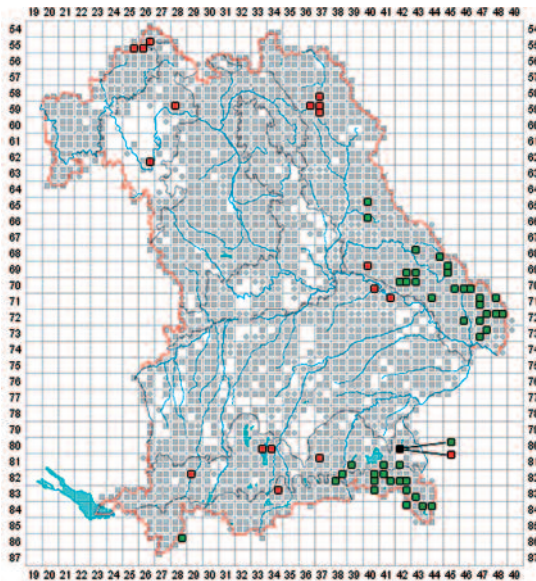


Abb. 1: Geprüfte Vorkommen von *Cardamine amara* in Bayern, rot *Cardamine amara* subsp. *amara*, grün *Cardamine amara* subsp. *austriaca*. Grau hinterlegt Nachweise von *Cardamine amara* s.l. aus www.bayernflora.de (Abruf am 07.09.2018).

Arealgrenze weiter nach Westen verschoben werden muss und in der ganzen Kette der bayerischen Alpen weitere Funde zu erwarten sind. Im ostbayerischen Grenzgebirge reicht das Areal der subsp. *austriaca* vom Bayerischen Wald bis zum südlichen Oberpfälzer Wald. Die diploide *Cardamine amara* subsp. *amara* ist in Bayern vermutlich weit verbreitet, scheint aber den höheren Lagen zu fehlen.



**Abb. 2:**  
*Cardamine amara*  
 subsp. *austriaca*, bei  
 Sportgastein, Salz-  
 burg, Österreich,  
 07.07.2006.

Foto: ROLF  
 MARSCHNER



### ***Danthonia decumbens* (L.) DC.**

Neben der hexaploiden Nominatunterart wurde aus Thüringen von kalkreichen Böden die tetraploide *Danthonia decumbens* subsp. *decipiens* Bässler beschrieben (SCHWARZ & BÄSSLER 1964), die sich durch lockere Rasen und höhere, schlanke, zierliche Halme unterscheiden soll. Aus Bayern wurde diese Unterart mehrfach aus Nordschwaben (ARBEITSGEMEINSCHAFT FLORA VON NORDSCHWABEN 2017) angegeben und auch in Mittel- und Oberfranken vermutet (GREGOR et al. 2017).

Es wurden Proben von neun Fundorten analysiert. Als Standard wurde *Pisum sativum* verwendet, wobei ein PSF-Mittelwert von  $0,35 \pm 0,01$  ermittelt wurde. Alle Proben erwiesen sich als hexaploid, wobei die Zuordnung der PSF-Werte zur Ploidie nach GREGOR et al. (2017) folgt. Danach wurde nur die Nominatunterart nachgewiesen (SCHWARZ & BÄSSLER 1964).

Alle elf analysierten Proben stammten von kalkreichen Standorten, so von Kalkmagerrasen im Ries oder von flachgründigen Almweiden auf Wettersteinkalk oder Nagelfluh. Bisher ist also nur *D. d.* subsp. *decumbens* für Bayern nachgewiesen, die tetraploide *D. d.* subsp. *decipiens* bleibt für Bayern unbestätigt.

### ***Dryopteris***

Zur weiteren Klärung der schwierigen *Dryopteris-affinis*-Gruppe wurden 18 Proben aus dem Spessart bearbeitet. Als Standard wurde *Pisum sativum* verwendet. Es wurden vier PSF-Klassen ermittelt ( $1,92$ ;  $2,87 \pm 0,02$ ;  $3,65 \pm 0,04$  und  $4,64$ ). Diese Werte wurden in Anlehnung an EKRT et al. (2010) als  $2x$ ,  $3x$ ,  $4x$  und  $5x$  interpretiert.

Eine Probe erwies sich als diploid und danach als zu *Dryopteris affinis* (Lowe) Fraser-Jenk. s.str. gehörig, 12 triploide Proben gehören zur weiter verbreiteten *Dryopteris borrieri* (Newman) Oberh. & Tavel. Die tetraploide *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott wurde als Ver-

gleich genutzt. Noch ungeklärt ist die Identität der mit 5x gemessenen Probe vom „Silberholz“ bei Neustadt am Main. Die zugehörige Pflanze, vermutlich eine Hybride, muss noch genauer beobachtet werden.

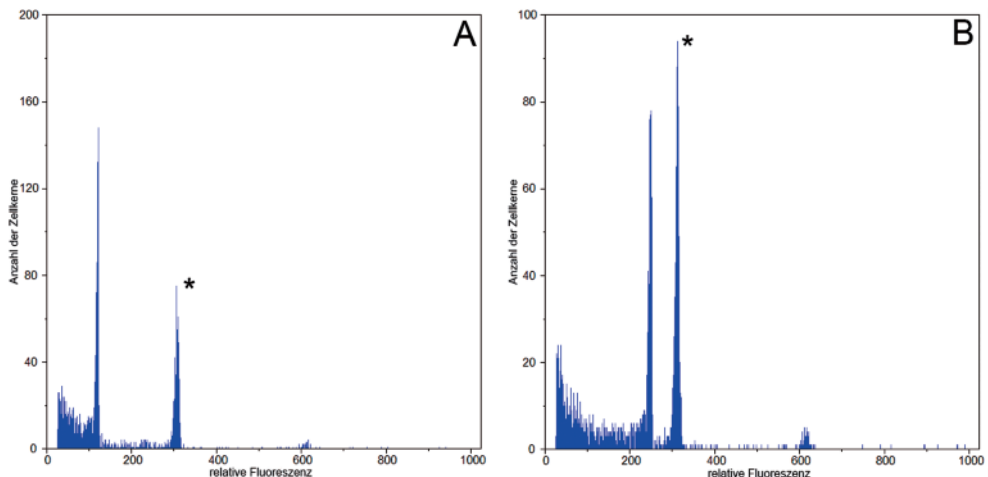
### *Festuca ovina* L. s.l.

Abb. 3, 4

Es wurden 72 Proben analysiert. Als Standard wurde *Pisum sativum* verwendet. Es ergaben sich bei 68 Proben PSF-Mittelwerte von 0,39 ( $\pm 0,01$ ); 0,55; 0,81 ( $\pm 0,02$ ); 0,94; 1,14 ( $\pm 0,04$ ) sowie 1,39, die nach GREGOR & PAULE (2018) als 2x (31 Proben), 3x (1 Probe), 4x (15 Proben), 5x (2 Proben), 6x (18 Proben) und 8x (1 Probe) interpretiert wurden.

Die Suche nach der diploiden *Festuca ovina* L. s.str. stand im Vordergrund. 31 Proben erwiesen sich als diploid und zu *Festuca ovina* s.str. gehörig. Mehrere Proben, die als *Festuca ovina* gesammelt wurden, erwiesen sich als tetraploid und dürften zu *Festuca guestfalica* Boenn. ex Rchb. gehören. Bemerkenswert waren drei Hybriden. Matthias Breitfeld sammelte am Waldrand nahe der Autobahn 93 bei Regnitzlosau eine triploide Pflanze, pentaploide Pflanzen wurden am Kalvarienberg östlich Stamsried bei Waldhäusl von Jürgen Klotz und in Gefrees, Metzlesreuther Straße, von Matthias Breitfeld gesammelt.

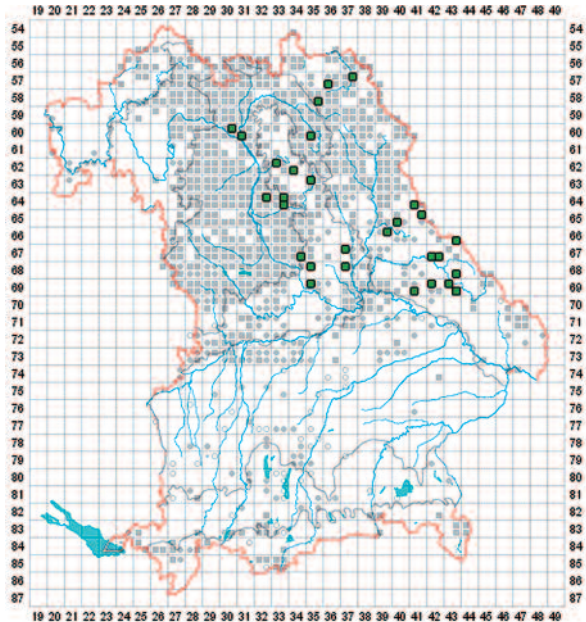
Die im Botanischen Informationsknoten Bayern BIB ([www.bayernflora.de](http://www.bayernflora.de)) veröffentlichte Karte von *Festuca ovina* s.str. ist irreführend und konnte nur teilweise bestätigt werden (Abb. 4). Durch Chromosomenzählung oder Ploidiebestimmung abgesicherte Nachweise existieren bisher nur aus dem nördlichen Bayern östlich einer Linie Bamberg-Nürnberg/Erlangen-Neumarkt/Oberpfalz. Der Großteil der bisherigen Angaben aus dem westlichen Bayern wird vermutlich zu *Festuca guestfalica* zu stellen sein. Ob diploide *Festuca ovina* s.str. auch Vorkommen südlich der Donau hat, müssen weitere Analysen erweisen.



**Abb. 3:** Fluoreszenz-Histogramme von DAPI gefärbten Zellkernen von (A) diploider *Festuca ovina* s.str. (Probe RHöcker\_20170615\_12, PSF = 0,39) und (B) tetraploider *Festuca guestfalica* (Probe JKlotz7, PSF = 0,80), analysiert mit dem internen Referenzstandard *Glycine max* cv. ‚Polanka‘. Das Signal des Referenzstandards ist markiert mit einem Stern.

**Abb. 4:**

Karte von *Festuca ovina* s.str. (diploid) nach geprüften Proben (grün), grau hinterlegt Nachweise von „*F. ovina* s.str.“ aus [www.bayernflora.de](http://www.bayernflora.de) (Abruf am 07.09.2018).

***Hylotelephium***

Von zwölf Proben konnten elf analysiert werden, wobei als Standard *Glycine max* diente. Es ergaben sich PSF-Mittelwerte von  $0,77 (\pm 0,01)$  und  $1,52 (\pm 0,01)$ , die nach den Intervallen der PSF-Werte als diploid und tetraploid interpretiert wurden. Bei den meisten Messungen wurden nur schwache Signale der Probe ermittelt.

Nach der Morphologie wurden die Pflanzen dem diploiden und morphologisch gut charakterisierten *Hylotelephium vulgare* (Haw.) Holub sowie dem diploiden und tetraploiden *Hylotelephium maximum* (L.) Holub zugeordnet.

Klärungsbedarf besteht bei *Hylotelephium maximum*, das nach dem unveröffentlichten taxonomischen Konzept von Günther Dersch (MEIEROTT 2008) aus zwei Sippen besteht, die sich durch Ploidiegrad, morphologische Merkmale und Ökologie unterscheiden: a) eine diploide Sippe mit zweizählig gegenständiger Beblätterung und mehr oder minder keilig verschmälertem Blattansatz, b) einer tetraploiden Sippe mit überwiegend dreizähliger, wirteliger Beblätterung und breiterem bis schwach stängelumfassendem Blattansatz. Die zahlreichen von Dersch durchgeführten Chromosomenzählungen (DERSCH in <http://chromosomes.senckenberg.de>, PAULE et al. 2017) zeigen, dass beide Sippen in Deutschland unterschiedliche Verbreitungsschwerpunkte haben. In Bayern bevorzugt die diploide Sippe felsige, felsdurchsetzte Standorte oder steinige Abhänge; die tetraploide Sippe bevorzugt lehmige oder sandig-lehmige Weg- und Straßenböschungen sowie leicht ruderalisierte Sandtrockenrasen.

Im Falle von *Hylotelephium vulgare* existieren in Bayern offensichtlich zwei morphologisch weitgehend identische „Öko-Sippen“. Eine Sippe besiedelt Silikatfelsspalten oder Basaltschutt in vorwiegend montanen Regionen, die andere *Molinia*-reiche, feuchte bis wechsellasse Laubwaldgesellschaften vorwiegend in der kollinen Region. Die beiden untersuchten Pflanzen gehörten zu der Laubwaldsippe.

### **Lotus**

Es wurden vier Proben analysiert, wobei als Standard *Glycine max* diente. Es ergaben sich PSF-Mittelwerte von 0,46 (1 Pflanze) und  $1,06 \pm 0,02$  (3 Pflanzen). Diese Werte wurden nach der Morphologie der Pflanzen und publizierten Zählungen (siehe <http://chromosomes.senckenberg.de>, PAULE et al. 2017) als diploid (*Lotus tenuis* Waldst. & Kit. ex Willd.) und tetraploid (*Lotus corniculatus* L.) interpretiert.

Hintergrund der Messungen war ein Mischbestand von *Lotus corniculatus* und *Lotus tenuis* in einer Wiesensenke bei Nassach, Unterfranken, wo die Hybride beider Arten vermutet wurde (MEIEROTT 2008). Die von dieser Stelle untersuchten Proben, die allerdings keine eindeutig intermediären Merkmale zeigten, erwiesen sich als *Lotus corniculatus* (tetraploid) und *Lotus tenuis* (diploid).

### **Luzula sylvatica (HUDS.) GAUDIN s.l.**

Es wurden fünf Proben mit dem Standard *Glycine max* analysiert. Es ergab sich ein PSF-Mittelwert von 0,54 ( $\pm 0,01$ ).

Es besteht noch Klärungsbedarf über die genaue Verbreitung von *L. s.* subsp. *sieberi* (Tausch) K.Richt. und *L. s.* subsp. *sylvatica* in den Alpen sowie über die Frage, wie weit das Areal von *L. s.* subsp. *sieberi* in das Voralpengebiet reicht. Durchflusszytometrische Ploidiebestimmungen von *Luzula sylvatica* konnten zu dieser Frage nichts beitragen. Die somatische Chromosomenzahl beider Sippen beträgt  $2n = 12$  (LIPPERT 2006). Unterschiede im relativen DNA-Gehalt (PSF) zwischen den untersuchten Arten von gleichem Ploidiegrad konnten nicht ermittelt werden.

### **Microthlaspi perfoliatum agg.**

**Abb. 5**

Es wurden acht Proben mit dem Standard *Glycine max* analysiert. Eine Probe ergab einen PSF-Wert von 0,15, die anderen einen PSF-Mittelwert von 0,45 ( $\pm 0,01$ ). Nach ALI et al. (2016) kann der erste Wert dem diploiden *Microthlaspi erraticum* (Jord.) T.Ali & Thines und der zweite dem hexaploiden *M. perfoliatum* (L.) K.F.Meyer zugeordnet werden.

KOCH (1997) und ALI et al. (2016) haben dargelegt, dass sich unter dem in Bayern weit verbreiteten *Microthlaspi perfoliatum* s.l. zwei Sippen verbergen, ein polyploides, zumeist hexaploides, *M. perfoliatum* sowie das diploide *M. erraticum*. Beide Sippen unterscheiden sich geringfügig durch die Form und das Längen/Breiten-Verhältnis der Schötchen. Allerdings soll die Morphologie des polyploiden *M. perfoliatum* sehr variabel sein und teilweise mit der von *M. erraticum* überlappen, was eine klare Unterscheidung im Gelände schwierig macht.

Die wenigen Proben stammen aus Unterfranken. Sie zeigen ein deutliches Vorherrschen von *M. perfoliatum* s.str. Aber auch das diploide *M. erraticum* konnte von KOCH (1997) mehrfach in der Frankenalb und der Gegend von Bayreuth nachgewiesen werden. Eine Aufsammlung aus Rüdilsbronn (Unterfranken) zeigte eine Mischpopulation aus *M. erraticum* und *M. perfoliatum* s.str.

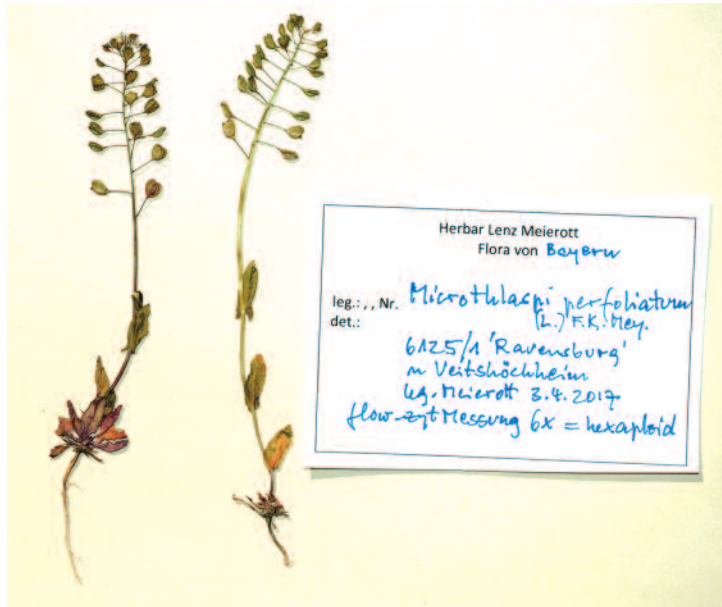
Eine größere Anzahl von Samenproben aus ganz Bayern liegt derzeit zur Untersuchung am Lehrstuhl von Prof. Marcus Koch in Heidelberg. Erst nach Vorliegen der dort gewonnenen Ergebnisse wird die regionale Verbreitung der beiden Sippen in Bayern klarer zu fassen sein. Alle älteren Angaben aus Bayern müssen momentan einem undifferenzierten *Microthlaspi perfoliatum* agg. zugeordnet werden.



**Abb. 5:**

Durchflusszytometrisch bestätigtes *Microthlaspi perfoliatum* s.str. bei Würzburg. Gut zu erkennen sind die relativ kleinen, kurzen Schötchen und der breite, weite Ausschnitt zwischen den Flügeln an der Spitze der Schötchen (Herbarbeleg).

Foto: LENZ MEIEROTT

***Myosotis arvensis* Hill**

Es wurden sechs Proben mit dem Standard *Zea mays* analysiert. Bei einer Probe, die als *M. arvensis* subsp. *umbrata* (Rouy) O.Schwarz bestimmt war, wurde ein PSF-Wert von 0,34 ermittelt. Bei vier weiteren als *M. a.* subsp. *umbrata* bestimmten Proben konnte wegen des starken Hintergrunds das Signal nicht eindeutig bestimmt werden. Auch bei einer als *Myosotis arvensis* subsp. *arvensis* bestimmten Probe gelang wegen des starken Hintergrunds keine eindeutige Messung.

Neben der häufigen Ackersippe *Myosotis arvensis* subsp. *arvensis* ( $2n = 52$ ) existiert eine kontrovers diskutierte *M. a.* subsp. *umbrata* (Rouy) O.Schwarz, die bevorzugt Waldwege und Forststraßenränder besiedelt und sich durch höheren Wuchs, etwas größere Kelchmaße und etwas längere Hakenhaare am Kelch sowie durch abweichende Chromosomenzahl ( $2n = 66$ ) unterscheidet. Sie ist in einigen Regionen Bayerns nicht selten, wurde bisher aber nur zweimal zytologisch bestätigt (GRAU 1968, Zählung aus dem Spessart, als *M. arvensis*; R. Hand in MEIEROTT 2008, Zählung aus den Haßbergen).

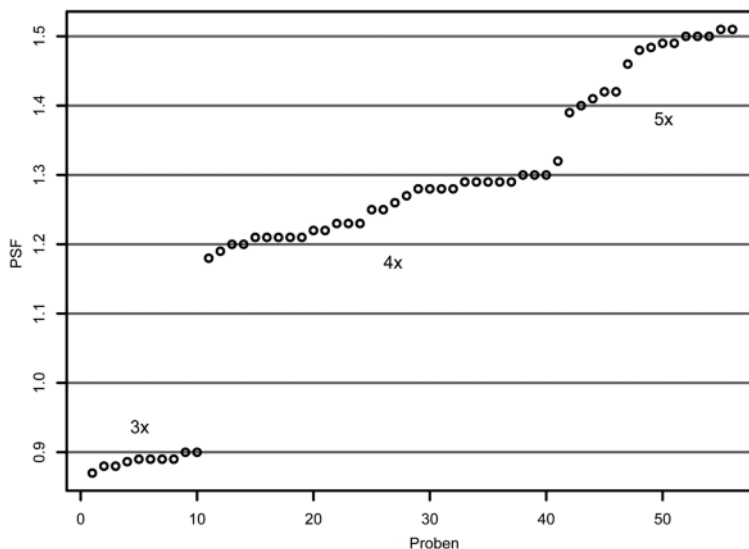
***Ornithogalum umbellatum* agg.****Abb. 6–8**

Es wurden 66 Proben überwiegend mit dem Standard *Vicia faba* analysiert, wenige Proben auch mit dem Standard *Pisum sativum* (Umrechnungsfaktor 0,32). Viele Proben zeigten nur schwache Signale und Messungen wurden bis zu 4 Mal wiederholt. In zehn Fällen gelang es nicht, ein sicheres Ergebnis zu erhalten. Zehn Proben hatten mit dem Standard *Vicia faba* einen PSF-Wert von 0,89 ( $\pm 0,01$ ) und konnten dem triploiden *Ornithogalum umbellatum* L. (Taxonomie nach JÄGER 2011) zugeordnet werden. 32 Proben zeigten einen PSF-Wert von 1,25 ( $\pm 0,04$ ) und waren tetraploid (GREGOR et al. 2017). Diese Pflanzen sollten nach JÄGER (2011) zu *Ornithogalum vulgare* Sailer gehören. 15 Pflanzen hatten PSF-Werte von 1,39 bis 1,51 (1,46

$\pm 0,04$ ) (Abb. 6). In einer früheren Untersuchung (GREGOR et al. 2017) wurde ein engeres PSF-Intervall (1,43-1,50) der pentaploiden Stufe zugeordnet. Nach JÄGER (2011) gehören pentaploide (und hexaploide) Pflanzen zu *Ornithogalum vulgare* oder *Ornithogalum divergens* Boreau. Interessanterweise wurden hier nur pentaploide Zytotypen entdeckt. Eine zweite mögliche Erklärung wäre aber, dass bei der Differenzierung höherploider (pentaploider und hexaploider) Pflanzen die Durchflusszytometrie eine methodische Grenze erreicht und die PSF der beiden Ploidiestufen einen fließenden Übergang bilden. Um diese Frage zu klären, ist sicher durch Chromosomenzählung kalibriertes PSF von hexaploiden Pflanzen nötig.

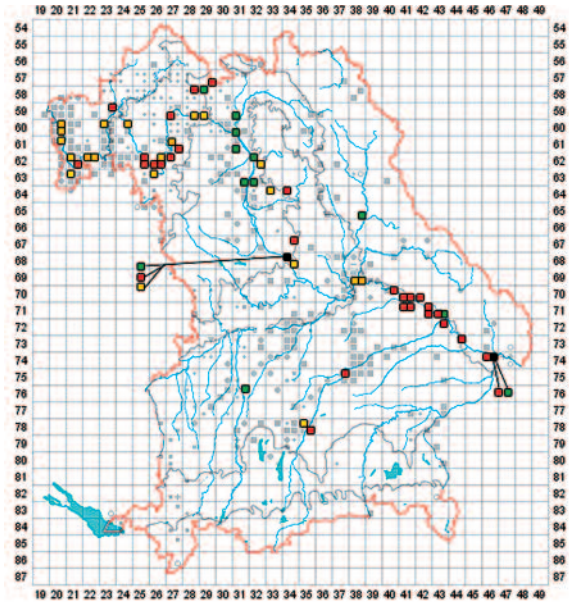
Proben des triploiden *Ornithogalum umbellatum* s.str. stammten vorwiegend aus Friedhöfen oder Parks und gartennahen Orten; es dürfte sich hier um verwilderte Zierpflanzen handeln. Die überwiegende Zahl der tetraploiden Proben stammte von flussnahen Auengesellschaften von Donau und Main, wo die Pflanzen wohl den Status von alten Einbürgerungen haben (Abb. 7). Nimmt man dazu noch das Merkmal der prominenten, mehrminder scharfkantigen Fruchtknotenleisten (vgl. die Zeichnungen in SPETA 2000), wie es an einigen in Töpfen kultivierten Pflanzen beobachtet werden konnte (Abb. 8), so liegt die Vermutung nahe, dass es sich bei diesen Populationen tatsächlich um *Ornithogalum vulgare* handelt. Ob die penta- und hexaploiden Populationen zu *Ornithogalum vulgare* oder *Ornithogalum divergens* gehören, muss noch offen bleiben. Hier sind noch weitere Untersuchungen zur Form der Fruchtknotenleisten, Lage und Zahl der Nebenzwiebeln sowie Zwiebelquerschnitte notwendig. Zählungen hexaploider Pflanzen sind bisher nur von Populationen aus Unterfranken bekannt (LIPPERT 2006; MEIEROTT 2008).

Diploide Pflanzen (nach JÄGER (2011) *Ornithogalum angustifolium* Boreau, nach SPETA (2000, 2008) *Ornithogalum kochii* s.l. entsprechend) fehlen offenbar in Bayern, obwohl in BIB ([www.bayernflora.de](http://www.bayernflora.de), Abruf am 28.08.2018) einige Angaben aus Nordbayern angezeigt sind.



**Abb. 6:** Probe-Standard-Fluoreszenzverhältnisse (PSF) von Pflanzen der *Ornithogalum umbellatum*-Gruppe im Vergleich zu Referenzstandard *Vicia faba*.

**Abb. 7:**  
Vorkommen von *Ornithogalum umbellatum* agg. in Bayern – grün: triploid (*Ornithogalum umbellatum* L.), rot: tetraploid (*Ornithogalum vulgare* Sailer) und gelb: pentaploid. Grau hinterlegt Nachweise von *O. umbellatum* agg. aus [www.bayernflora.de](http://www.bayernflora.de) (Abruf am 28.08.2018).



**Abb. 8:** Fruchtknotenleisten von *Ornithogalum vulgare* Sailer. Die Pflanze stammt von TK 6221/43 Bürgstadt (Liste im elektronischen Anhang, Zeile 226). Fotos: LENZ MEIEROTT

***Vaccinium uliginosum* L.**

Es wurden vier Proben mit dem Standard *Glycine max* analysiert, wobei sich ein PSF-Mittelwert von  $1,1 \pm 0,01$  ergab. Eine Probe stammt aus dem Bayerischen Wald. Nach Umrechnung der Daten von REGELE et al. (2017) waren alle Proben tetraploid und gehören zu der Nominatunterart.

Die Sippe der Hochlagen der Alpen, *Vaccinium uliginosum* subsp. *pubescens* (Hornem.) Hornem. (= *V. gaultherioides* auct.), wurde für Bayern aus den Berchtesgadener Alpen (LIP-

PERT et al. 1997) und aus dem Allgäu (DÖRR & LIPPERT 2004) angegeben. Eine neue Arbeit (REGELE et al. 2017) hat nun dargelegt, dass die beiden Sippen, die tetraploide Nominatsippe und die diploide *V. u.* subsp. *pubescens*, zwar molekular und chromosomal deutlich getrennt sind, sich aber morphologisch, zumal in Hochlagen, wo sie zusammen wachsen, nicht unterscheiden lassen. Zudem wurde *V. u.* subsp. *pubescens* nur in (sub)alpinen Lagen der Zentral- und Südalpen nachgewiesen. In den Nördlichen Kalkalpen, darunter an zahlreichen Wuchsorten in Bayern, wurde nur *V. u.* subsp. *uliginosum* gefunden. Ob *V. u.* subsp. *pubescens* in Bayern tatsächlich fehlt, sollte eine Untersuchung weiterer Proben aus alpinen Lagen in Beständen des Loiseleurio-Vaccinion zeigen.

### ***Valeriana officinalis* agg.**

Zwei Proben wurden mit dem Standard *Glycine max* analysiert, wobei sich ein PSF von 3,51 ergab. Dieser gehört nach GREGOR et al. (2016) zu der oktoploiden *V. excelsa* Poir.

Die Proben aus dem mittleren Schwaben wurden deshalb analysiert, weil aufgrund der morphologischen Merkmale *Valeriana officinalis* L. s.str. vermutet wurde, dieser aber im Westen Bayerns relativ selten ist.

### ***Vicia tenuifolia* agg.**

Es wurden drei Proben mit dem Standard *Glycine max* analysiert, wobei sich für eine als *Vicia dalmatica* A.Kern. bestimmte Pflanze ein PSF-Wert von 2,69 und für zwei Pflanzen von *Vicia tenuifolia* Roth PSF-Werte von 4,72 und 5,19 ergaben. Nach für Deutschland publizierten Zählungen (<http://chromosomes.senckenberg.de>, PAULE et al. 2017) dürften sich die Werte für *Vicia dalmatica* als diploid, die für *Vicia tenuifolia* als tetraploid interpretieren lassen.

In Unterfranken und im angrenzenden Main-Tauber-Kreis wurden mehrfach Pflanzen gefunden, die nach morphologischen Merkmalen zu *Vicia dalmatica* gestellt werden können (LUDWIG 1992; WÖRZ 1992; MEIEROTT 2001). Es besteht Klärungsbedarf, ob sie tatsächlich zu dieser südeuropäischen Sippe gehören, da bei Pflanzen vom Haarberg bei Euerdorf mit  $2n = 24$  eine abweichende, *Vicia tenuifolia* entsprechende Chromosomenzahl ermittelt wurde (LIPPERT 2006).

Die diploide Pflanze von Karbach wurde als *Vicia dalmatica* bestätigt, die tetraploiden Pflanzen von Erlenbach müssen trotz ihrer morphologischen Merkmale vorerst als *Vicia tenuifolia* bestimmt werden. Es bleibt zu untersuchen, ob sich im *Vicia-tenuifolia*-Aggregat weitere bisher unbekannte Sippen verbergen, worauf die deutlich unterschiedlichen PSF-Werte der beiden mutmaßlich tetraploiden hinweisen können.

## **4 Dank**

Den beteiligten Sammlern und Sammlerinnen wird herzlich gedankt. Dem Vorstand der Bayerischen Botanischen Gesellschaft, Frau Prof. S. Renner und Prof. J. Ewald, gebührt Dank für Genehmigung und Unterstützung des Projekts. Wir danken Rolf Marschner für die Genehmigung, ein Foto von *Cardamine amara* subsp. *austriaca* aus der Internet-Seite botanisch-spaziergaenge.at zu übernehmen sowie Dr. Petr Vit für Hinweise zur Interpretation von PSF von *Cardamine*. Die Verbreitungskarten wurden freundlicherweise von Dr. A. Fleischmann erstellt.

## 5 Literatur

- ALI, T., SCHMUKER, A., RUNGE, F., SOLOVYEVA, I., NIGRELLI, L., PAULE, J., BUCH, A.-K., XIA, X., PLOCH, S., ORREN, O., KUMMER, V., LINDE-LAURSEN, I., ØRGAARD, M., HAUSER, T. P., ÇELIK, A. & THINES, M. 2016: Morphology, phylogeny, and taxonomy of *Microthlaspi* (Brassicaceae: Coluteocarpeae) and related genera. – *Taxon* **65**: 79-98.
- ARBEITSGEMEINSCHAFT FLORA VON NORDSCHWABEN (Hrsg.) 2017: Flora von Nordschwaben. – Steinmeier-Verlag, Deiningen.
- DOLEŽEL, J., GREILHUBER, J. & SUDA, J. 2007: Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. – *Nature Protocols* **2**: 2233-2244.
- DÖRR, E. & LIPPERT, W. 2004: Flora des Allgäu und seiner Umgebung. Band 2. – IHW-Verlag, Eching.
- EKRT, L., HOLUBOVÁ, R., TRÁVNÍČEK, P. & SUDA, J. 2010: Species boundaries and frequency of hybridization in the *Dryopteris carthusiana* (Dryopteridaceae) complex: A taxonomic puzzle resolved using genome size data. – *American Journal of Botany* **97**: 1208-1219.
- GRAU, J. 1968: Cytotaxonomische Bearbeitung der Gattung *Myosotis* L. III. Die annualen Sippen. – *Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung München* **7**: 17-100.
- GREGOR, T., MEIEROTT, L. & PAULE, J. 2016: Morphologische Variabilität bei tetraploider *Valeriana officinalis* s.l. in Deutschland: *Valeriana pratensis* subsp. *franconica* MEIEROTT & T.GREGOR, subsp. nov. – *Berichte der Bayerischen Botanischen Gesellschaft* **86**: 27-36.
- GREGOR, T., BAUER, J., ENGELHARDT, M., HAND, R., HEIN, H., LIPPERT, W., MEIEROTT, L., MAYER, A., PARKER, H. & PAULE, J. 2018: *Amelanchier ovalis* s. l. - zwei Zytotypen in Deutschland. – *Kochia* **11**: 65-75.
- GREGOR, T., HAND, R. & PAULE, J. 2017: Chromosomenzahlen von Farn- und Samenpflanzen aus Deutschland 10. – *Kochia* **10**: 45-53.
- GREGOR, T. & PAULE, J. (Hrsg.) 2018: Chromosomenzahlen von Farn- und Samenpflanzen aus Deutschland 11. – *Kochia* **11**: 77-89.
- JÄGER, E. J. (Hrsg.) 2011: Rothmaler. Exkursionsflora von Deutschland. Gefäßpflanzen: Grundband. 20. Aufl. – Spektrum, Heidelberg & Berlin.
- KOCH, M. 1997: Zur Morphologie, Systematik und Verbreitung des Polyploidkomplexes *Thlaspi perfoliatum* L. [*Microthlaspi perfoliatum* (L.) F.K. Mey.] in Deutschland. – *Osnabrücker Naturwissenschaftliche Mitteilungen* **23**: 157-167.
- LIPPERT, W. 2006: Chromosomenzahlen von Pflanzen aus Bayern und anderen Gebieten. – *Berichte der Bayerischen Botanischen Gesellschaft* **76**: 85-110.
- LIPPERT, W., SPRINGER, S. & WUNDER, H. 1997: Die Farn- und Blütenpflanzen des Nationalparks. Kommentierte Artenliste. – *Nationalpark Berchtesgaden, Forschungsbericht* **37**.
- LUDWIG, W. 1992: *Vicia dalmatica* – eine neue Adventivpflanze? – *Hessische Floristische Briefe* **44**: 40-41.
- MARHOLD, K. 1999: Taxonomic evaluations of the tetraploid populations of *Cardamine amara* (Brassicaceae) of the Eastern Alps and adjacent areas. – *Botanica Helvetica* **109**: 67-84.
- MEIEROTT, L. 2001: Kleines Handbuch zur Flora Unterfrankens. – Eigenverlag, Würzburg.
- MEIEROTT, L. 2008: Flora der Haßberge und des Grabfelds. 2 Bde. – IHW-Verlag, Eching.
- PAULE, J., GREGOR, T., SCHMIDT, M., GERSTNER, E.-M., DERSCH, G., DRESSLER, S., WESCHE, K. & ZIZKA, G. 2017: Chromosome numbers of the flora of Germany - a new online database of georeferenced chromosome counts and flow cytometric ploidy estimates. – *Plant Systematics and Evolution* **303**: 1123-1129.
- REGELE, D., GRÜNEBACH, M., ERSCHBAMER, B. & SCHÖNSWETTER, P. 2017: Do ploidy level, morphology, habitat and genetic relationships in Alpine *Vaccinium uliginosum* allow for the discrimination of two entities? – *Preslia* **89**: 291-308.
- SCHWARZ, O. & BÄSSLER, M. 1964: *Danthonia (Sieglingia) decumbens*, ein bemerkenswerter Fall chromosomaler und ökologischer Divergenz. – *Oesterreichische Botanische Zeitschrift* **111**: 193-207.



- SPETA, F. 2000: Beitrag zur Kenntnis von *Ornithogalum* (Hyacinthaceae) in Oberösterreich. – Beiträge zur Naturkunde Oberösterreichs **9**: 743-792.
- SPETA, F. 2008: Hyacinthaceae (Liliaceae-Scilloideae) – In: FISCHER, M.A., OSWALD, K. & ADLER, W. (Hrsg.), Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol, 3. Aufl.: 1069-1077. – Biologiezentrum der Oberösterreichischen Landesmuseen, Linz.
- TEPPNER, H. 1980: Karyologie und Systematik einiger Gefäßpflanzen der Ostalpen. Botanische Studien im Gebiet der Planneralm (Niedere Tauern) VII. – Phytion (Horn) **20**: 73-94.
- WÖRZ, A. 1992: *Vicia*. – In: SEBALD, O., SEYBOLD, S. & PHILIPPI, G.: Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs, Bd. 3: 333-363. – Ulmer, Stuttgart.
- ZOZOMOVÁ-LIHOVÁ, J., MÁLANOVÁ-KRÁSNÁ, I., VÍT, P., URFUS, P., SENKO, D., SVITOK, M., KEMPA, M. & MARHOLD, K. 2015: Cytotype distribution patterns, ecological differentiation, and genetic structure in a diploid–tetraploid contact zone of *Cardamine amara*. – American Journal of Botany **102**: 1380-1395, Appendix S1-S7.