

Polystichum ×bicknellii (Christ) Hahne, nieuw in Nederland

Piet Bremer* & Arjen (G.A.) de Groot**

* Roelingsbeek 1, 8033 BM Zwolle; e-mail: pietbremer@planet.nl

** Universiteit Utrecht, Leerstoelgroep Ecology & Biodiversity, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht; e-mail: g.a.degroot@uu.nl

Polystichum ×bicknellii, nieuw in Nederland

In 2008 werd in het Kuinderbos (Flevoland) de varenhybride *Polystichum ×bicknellii* (Christ) Hahne gevonden. Het betreft de eerste vondst in Nederland. Het exemplaar stond in een populatie *Polystichum aculeatum* (L.) Roth op een greppelkant op kalkhoudend Blokzijlzand en in de sterke schaduw van *Fagus sylvatica* L. en *Picea sitchensis* (Bong.) Carrière. *Polystichum aculeatum* is een van de ouders; de andere oudersoort, *P. setiferum* (Forssk.) T.Moore ex Woyn., groeide op 90 m afstand van de hybride. Moleculaire analyse en cytometrie bevestigen de hybride status van de plant.

Polystichum ×bicknellii, a first record for the Netherlands

In 2008 the Lowland Hybrid Shield-fern, *Polystichum ×bicknellii* (Christ) Hahne, was recorded for the first time in the Netherlands in a forest ('Kuinderbos') in the Province of Flevoland. A single individual was found amid a population of *Polystichum aculeatum* (L.) Roth, at a side of a drainage trench, where it was growing in the shadow of *Fagus sylvatica* L. and *Picea sitchensis* (Bong.) Carrière on very fine lime containing sand. *Polystichum aculeatum* is one of its parents; the other parent, *P. setiferum* (Forssk.) T.Moore ex Woyn., was found at a distance of 90 m from the hybrid plant. Molecular and cytometric analyses have confirmed the hybrid status.

Inleiding

De afgelopen 25 jaar zijn er in Nederland meer dan tien nieuwe soorten varens dan wel varenhybriden ontdekt¹⁻³, waarvan relatief veel in het zeer varenrijke Kuinderbos. Het Kuinderbos is een gebied dat vanwege zijn varens regelmatig wordt bezocht tijdens excursies en ten behoeve van onderzoek.¹⁻⁴ Op 5 september 2008 brachten leden van de Plantensociologische Kring Nederland (PKN) een bezoek aan dit gebied, waarbij ook het meest soortenrijke deel van het bos werd bezocht. Hier werd op een gedeelte met veel Stijve naaldvaren (*Polystichum aculeatum* (L.) Roth) een exemplaar van een naaldvaren opgemerkt die boven de andere naaldvarens uitstak. Een vergelijking in het veld van deze hoge naaldvaren met de omringende Stijve naaldvarens en de dicht in de buurt groeiende Zachte naaldvaren (*P. setiferum* (Forssk.) T.Moore ex Woyn.) maakte al snel duidelijk, dat de hoge naaldvaren een hybride van deze twee soorten kon zijn. Ter bevestiging werd bladmateriaal van deze mogelijke hybride meegenomen en in Utrecht aan een genetische test onderworpen.

Groeiplaats

De mogelijke hybride staat in een deel van het Kuinderbos waar greppels tot meer dan een meter de bodem doorsnijden. De plant staat in de onderste helft van de greppel, op kalkhoudend Blokzijlzand dichtbij de grens met het onderliggende veen. In het Kuinderbos komt Stijve naaldvaren vaak hoger op greppelkanten voor, terwijl Zachte naaldvaren meer onderin de greppels voorkomt, waar de vocht voorziening beter is gegarandeerd.¹ Beuken (*Fagus sylvatica* L.) en Sitkasparren (*Picea sitchensis* (Bong.) Carrière) zorgen er voor dat minder dan 5% van het volle licht de kruidlaag bereikt. Door de steile kant van de greppel blijft hier geen beukenblad liggen. Tegelijkertijd zorgt dit reliëf er wel voor dat er steeds weer enige erosie optreedt, wat enerzijds de sterfte onder de varens vergroot, maar anderzijds varens ook nieuwe kansen biedt voor vestiging.

Het onderscheid tussen de drie taxa

Tabel 1 vat de verschillen tussen beide ouders en de hybride samen. Wat grootte betreft is de hybride groter dan beide ouders. Wat betreft bladtextuur, bladkleur en bladoppervlak lijkt de hybride op Stijve naaldvaren. Wat betreft bladvorm en lengte van 1^e orde blaadjes lijkt de hybride op Zachte naaldvaren (Fig. 1). De 2^e orde blaadjes (pinnae) lijken eveneens op die van Zachte naaldvaren: ze zijn gesteeld en maken een hoek van meer dan 60° met de bladspil van de 1^e orde blaadjes. Anders dan bij Zachte naaldvaren, die gekenmerkt wordt door een getande pinnaerand met diepe insnijdingen, is bij zowel de hybride als de Stijve naaldvaren de rand van de pinnae slechts ondiep ingesneden (Fig. 1).

Tabel 1. Overzicht van uiterlijke kenmerken van *Polystichum aculeatum* (L.) Roth (Stijve naaldvaren), *P. setiferum* (Forssk.) T. Moore ex Woyn. (Zachte naaldvaren) en de hybride *P. ×bicknellii* (Christ) Hahne.

Kenmerk	<i>Polystichum aculeatum</i>	<i>Polystichum ×bicknellii</i>	<i>Polystichum setiferum</i>
Hoogte plant (cm)	40–80	110	60–100
Bladoppervlak	glinsterend	glinsterend	niet glinsterend
Bladtextuur	leerachtig	leerachtig	zacht
Bladkleur	donkergroen	donkergroen	lichtgroen
Bladsteel	kort	matig lang – lang	lang
Bladschijfvorm	ruitvormig	niet ruitvormig	niet ruitvormig
Onderste blaadjes-paar 1 ^e orde	kort	lang	lang
Blaadjes 2 ^e orde (pinnae)	ongesteeld en vergroeid met bladspil van blaadje 1 ^e orde hoek met bladspil van blaadje 1 ^e orde <60° pinnaerand ondiep ingesneden	kort gesteeld hoek met bladspil van blaadje 1 ^e orde >60° pinnaerand ondiep ingesneden	duidelijk gesteeld hoek met bladspil van blaadje 1 ^e orde >60° pinnaerand sterk ingesneden

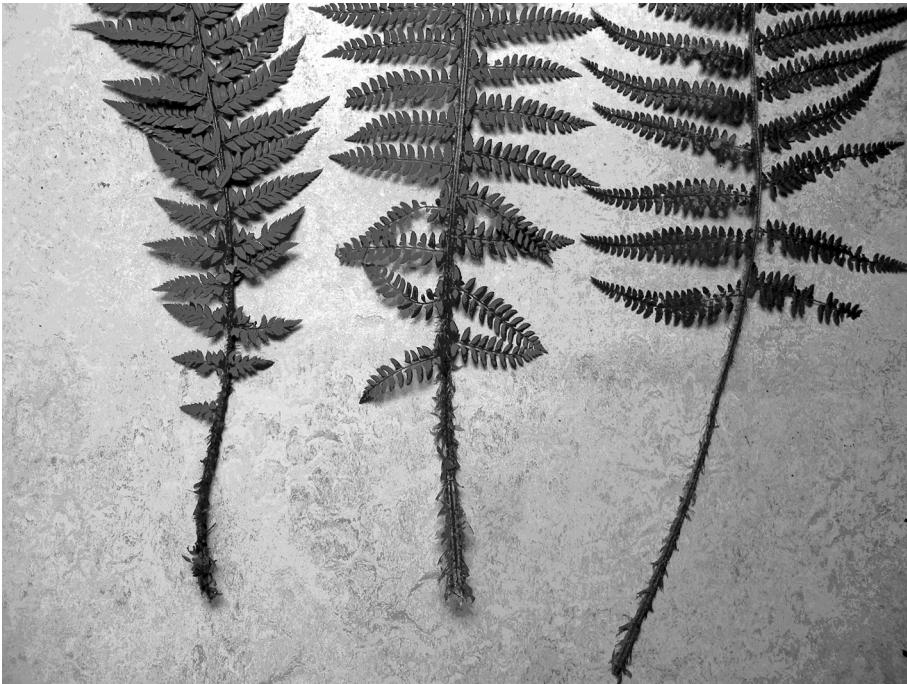


Fig. 1. Van links naar rechts: bladen van *Polystichum aculeatum* (L.) Roth (Stijve naaldvaren), de hybride *P. x bicknellii* (Christ) Hahne en *P. setiferum* (Forssk.) T.Moore ex Woyn. (Zachte naaldvaren).

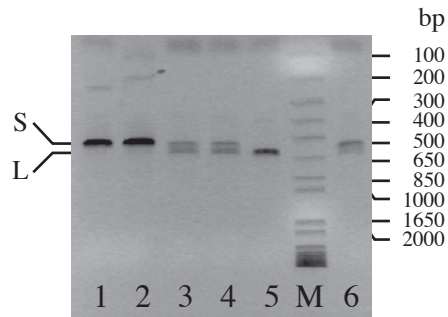
Ondersteuning door DNA sequenties

Om de hybride afkomst van de plant in het Kuinderbos te bevestigen werd gebruik gemaakt van de moleculaire marker *PgiC*, een gen uit het kern-DNA met potentieel grote variatie.⁵ Voor de Nederlandse naaldvarensoorten – Stijve naaldvaren, Zachte naaldvaren en Lansvaren (*Polystichum lonchitis* (L.) Roth) – werd de exacte basenvolgorde van het *PgiC*-gen bepaald door middel van sequencing.

De verwachting was, dat voor *PgiC* afzonderlijke allelen konden worden aangetoond in Stijve naaldvaren, Zachte naaldvaren en Lansvaren, maar voor alle naaldvarensoorten konden maar twee verschillende allelen worden aangetoond, die op basis van een verschil in lengte (aantal basenparen) reeds op een agarose-gel te onderscheiden zijn (Fig. 2). Zowel Zachte naaldvaren als Lansvaren hebben één allel, respectievelijk S en L (Fig. 2). Stijve naaldvaren, een allotetraploïd die zelf ooit via polyploïdisatie is ontstaan uit een kruising van Lansvaren en Zachte naaldvaren (Fig. 3), heeft geen soortspecifiek allel van het gen ontwikkeld, en draagt nog de allelen van beide ouders in zich.

De door ons gevonden mogelijke hybride in het Kuinderbos moet op grond van de *PgiC*-sequenties worden geïdentificeerd als een individu die behoort tot het geslacht *Polystichum*, en drager van de beide allelen (S en L, Fig. 2). Hiermee is

Fig. 2. Bandenpatronen op een 1% agarose gel na PCR-amplificatie van het *PgiC*-gen voor individuen van verschillende *Polystichum* taxa: 1 = *P. setiferum* (Forssk.) T. Moore ex Woyn. (Zachte naaldvaren, monster uit Kuinderbos), 2 = *P. setiferum* (monster uit Bremerbergbos), 3 = *P. aculeatum* (L.) Roth (Stijve naaldvaren, monster uit Kuinderbos), 4 = *P. aculeatum* (monster van Sint Pietersberg), 5 = *P. lonchitis* (L.) Roth (Lansvaren, monster uit Pyreneeën), 6 = *P. ×bicknellii* (monster uit Kuinderbos); M = DNA lengte marker, bp = aantal basenparen. De twee verschillende allelen S en L van het *PgiC* gen kunnen worden onderscheiden op basis van een lengteverschil, allel S heeft minder basenparen (bp) dan allel L.



Binnen elk van beide allelen werd in de exacte DNA-sequenties geen enkele variatie gevonden tussen individuen en taxa.

duidelijk dat onze mogelijke hybride geen individu van Zachte naaldvaren betreft, maar de mogelijkheid dat het een individu van Stijve naaldvaren betreft kan op grond van deze gegevens niet worden uitgesloten, immers beide zijn drager van een combinatie van de twee allelen (Fig. 3). Het bandje voor allel S voor onze mogelijke hybride op de agarose-gel heeft echter een sterkere intensiteit dan dat van allel L (Fig. 2). Dit was een terugkerend resultaat bij herhaling van de analyse en doet vermoeden dat het DNA van de mogelijke hybride voor het *PgiC* gen meer versies van allel S bevat dan van allel L. Zoals zichtbaar in Fig. 3 is dit een onmogelijkheid voor de tetraploïde Stijve naaldvaren, maar kan het een *Polystichum × bicknellii*-hybride betreffen met genotype SSL.⁷

Definitieve bevestiging van de hybride-status van de mogelijke Naaldvarenhybride uit het Kuinderbos werd verkregen middels flow cytometrie⁸, uitgevoerd door Plant Cytometry Services (Schijndel). Het DNA-gehalte van de tetraploïde Stijve naaldvaren was, zoals verwacht, ongeveer twee maal zo hoog als dat van de diploïde Zachte naaldvaren, terwijl de waarde voor het hybride individu vrijwel overeenkwam met het gemiddelde van de waarden van de beide ouders (Tabel 2). Dit bevestigt dat het hierbij gaat om een triploïde plant.

Slotopmerkingen

Polystichum × bicknellii (Christ) Hahne kan ontstaan op plaatsen waar beide oudersoorten in elkaars nabijheid groeien. Page⁶ noemt de hybride tamelijk zeldzaam voor Groot-Brittannië, maar vermoedt dat de hybride over het hoofd wordt gezien. Reichstein¹⁰ merkt op, dat de hybride in onder andere de Ardennen (België) en de Vogezen (Frankrijk) op sommige plekken meer voorkomt dan Zachte naaldvaren. De hybride is zeldzaam in Duitsland, omdat Zachte naaldvaren hier zeldzaam is¹¹, maar de hybride is wel bekend van het Zwarte Woud.¹⁰

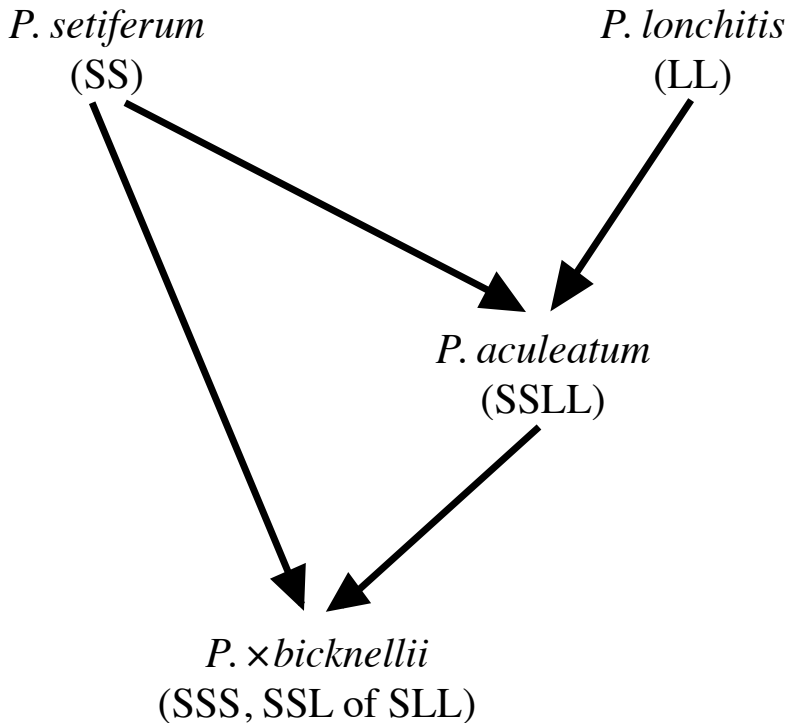


Fig. 3. Onderlinge verwantschap van de vier Nederlandse *Polystichum*-taxa en mogelijke combinaties van allelen in individuen van deze taxa. De allotetraploïde *P. aculeatum* (L.) Roth (Stijve naaldvaren) is waarschijnlijk in het verleden ontstaan uit twee diploïde ouders; de hybride *P. × bicknellii* (Christ) Hahne is een terugkruising van *P. aculeatum* met de diploïde ouder *P. setiferum* (Forssk.) T. Moore ex Woyne. (Zachte naaldvaren), en als gevolg daarvan triploïd.

In het Kuinderbos waren tot 2008 28 varensoorten en hybriden bekend.¹ In 2008 werden in dit gebied twee niet eerder waargenomen varentaxa gevonden: Addertongvaren (*Ophioglossum vulgatum* L.) en de hier behandelde *Polystichum × bicknellii*. In de toekomst zijn mogelijk nog meer hybriden te verwachten. In het Kuinderbos komen alle drie Nederlandse Naaldvaren-soorten voor. De populatie van de Stijve naaldvaren omvat meer dan 1100 exemplaren¹, terwijl die van de Zachte naaldvaren in 2008 240 exemplaren omvatte (alle levensstadia meegerekend). Lansvaren komt hier met een twee planten voor, maar naast deze planten heeft zich de afgelopen 15 jaar wel een populatie van de Stijve naaldvaren ontwikkeld. In theorie is dus ook de vorming van een bastaard tussen deze beide soorten (*P. × illyricum* (Burbas) Hahne) mogelijk. In dezelfde greppel waarin de Lansvaren groeit komt ook Zachte naaldvaren voor. Ook deze beide soorten kunnen hybridiseren tot de in Europa zeer zeldzame *P. × lonchitifforme* (Halacsy) Becherer.¹⁰

Tabel 1. Het aantal chromosomen, ploëdieniveau, en gemiddelde en standaarddeviatie van het DNA-gehalte per celkern, gemeten door middel van flow cytometrie, voor *Polystichum aculeatum* (L.) Roth (Stijve naaldvaren), *P. setiferum* (Forssk.) T.Moore ex Woyn. (Zachte naaldvaren) en *P. ×bicknellii* (Christ) Hahne. Het DNA-gehalte is uitgedrukt als DAPI fluorescentie-waarde: de gemeten fluorescentie per individuele celkern na kleuring met de kleurstof DAPI.⁹

	<i>Polystichum aculeatum</i>	<i>Polystichum ×bicknellii</i>	<i>Polystichum setiferum</i>
Aantal chromosomen	164	123	82
Ploëdie-niveau	tetraploëid	triploëid	diploëid
Gemiddelde DAPI-fluorescentiewaarde	373,7	281,2	197,9
Standaarddeviatie DAPI-fluorescentiewaarde	30,5	17,2	17,2

De kans dat *Polystichum ×bicknellii* elders in ons land wordt gevonden of zal verschijnen is vrijwel uitgesloten, aangezien het Kuinderbos het enige gebied in Nederland is waar beide ouders gezamenlijk met ‘grote’ populaties voorkomen. Andere gebieden waar de soorten bij elkaar zijn aangetroffen betreffen het Jagersveld bij Lelystad (Flevoland)² en Utrecht.¹³ Bij Lelystad waren alleen in 2005 en 2006 beide soorten als sporofyten aanwezig, maar wel met een afstand van 620 m.¹⁴

In het bosgedeelte van het Kuinderbos met de plant van *P. ×bicknellii* vindt een beheer plaats dat is gericht op varens. De afgelopen tien jaar hebben geen bosbouwkundige ingrepen plaatsgevonden in het perceel met de hybride en gezien het huidige lichtklimaat zijn bosbouwkundige ingrepen ook in de nabije toekomst niet gewenst, omdat dan de kans heel groot is dat het varenrijke bosgedeelte verruigt met Grote brandnetel (*Urtica dioica* L.) en Braam (*Rubus* spp.). Onder de huidige omstandigheden heeft de hybride een goed kans zich te handhaven en het is ook heel goed mogelijk dat in het Kuinderbos de hybride ook op andere plaatsen ontstaat.

1. P. Bremer. 2007. The colonisation of a former sea-floor by ferns. Proefschrift, Wageningen Universiteit.
2. F. Verloove, R. van der Ham & T. Denters. 2007. Exotische muurvarens in België en Nederland. *Dumortiera* 92: 1–16.
3. P. Bremer. 1988. *Dryopteris pseudomas* (Wollaston) Holub en Pouzar en *Dryopteris ×tavelii* in Nederland. *Natuur Historisch Maandblad* 77: 13–17.
4. G.A. de Groot, R.H.J. Erkens & H.J. During. 2008. WODAN: de invloed van verspreidings- en vestigingsmogelijkheden op het ontstaan van biodiversiteit. *Gorteria* 33: 59–60.
5. H. Ishikawa, Y. Watano, K. Kano, M. Ito & S. Kurita. 2002. Development of primer sets for PCR amplification of the *PgiC* gene in ferns. *J. Plant. Res.* 115: 65–70.
6. C.N. Page. 1982. *The Ferns of Britain and Ireland*. Cambridge University Press, Cambridge.
7. Schriftelijke communicatie met D. Barrington, Universiteit van Vermont, Burlington, USA.
8. K. Arumuganathan & E.D. Earle. 1991. Estimation of Nuclear DNA Content of Plants by Flow Cytometry. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 229–233.

9. Z. Darzynkiewicz, F. Traganos, J. Kapuscinski & L. Staiano-Coico, M.R. Melamed. 1984. Accessibility of DNA in situ to various fluorochromes: relationship to chromatin changes during erythroid differentiation of Friend leukemia cells. *Cytometry* 5: 355–363.
10. T. Reichstein. 1984. *Polystichum*, In: G. Hegi, *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*. I. Pteridophyta. J.H. Lehmann, München.
11. H.W. Bennart. 1999. Die seltenen und gefährdeten Farnpflanzen Deutschlands. Biologie, Verbreitung, Schutz. Bundesamt für Naturschutz. *Landwirtschaftsverlag*, Münster-Hiltrup.
12. A. Smit. 1989. De naaldvaren (*Polystichum*-soorten) van het Overijssels Hout bij Lelystad. *Gorteria* 15: 90–94.
13. Schriftelijke communicatie met W. Vuik, Utrecht.
14. Schriftelijke communicatie met A. Smit, Lelystad.