

Brachypodium *xcugnacii* A. Camus nieuw voor Nederland

Ger Londo* & Hans de Jong**

* Proeftuin 13, 3925 BJ Scherpenzeel; e-mail: glondo@hetnet.nl

** Laboratorium voor Genetica, Wageningen Universiteit;
e-mail: Hans.deJong@wur.nl

***Brachypodium* *xcugnacii* A. Camus nieuw voor Nederland**

Brachypodium *xcugnacii*, de hybride van *B. pinnatum* en *B. sylvaticum*, is spontaan ontstaan in een vegetatie met de oudersoorten op de overgang van kalkgrasland en struikgewas in de ecologische proeftuin van de eerste auteur te Scherpenzeel. De hybride bleek het intermediaire chromosoomgetal (23) te hebben ten opzichte van dat van de oudersoorten (respectievelijk 28 en 18). De kenmerken van *B. xcugnacii* zijn grotendeels intermediair ten opzichte van de oudersoorten. In 2006 werd in Zuid-Limburg een plant met intermediaire kenmerken gevonden, zeer waarschijnlijk betreft deze ook *B. xcugnacii* hoewel dat nog niet door chromosoomonderzoek is bevestigd.

***Brachypodium* *xcugnacii* A. Camus new in The Netherlands**

Brachypodium *xcugnacii*, the hybrid of *B. pinnatum* and *B. sylvaticum*, has originated spontaneously in a vegetation with the parental species at the transition between calcareous grassland and scrub in the first author's ecological experimental garden in Scherpenzeel (The Netherlands) in a vegetation gradient between calcareous grassland and scrub. The hybrid has chromosome number 23, which is intermediate to that of the parental species (being 28 and 18, respectively). The features of *B. xcugnacii* are largely intermediate to those of the parental species. In 2006, a plant with intermediate features was also found in the southern part of the Province of Limburg, The Netherlands. Presumably, this plant also belongs to *B. xcugnacii*, even though this has not yet been confirmed by chromosome research.

Inleiding

In de zomer van 2005 werd *Brachypodium* *xcugnacii*, de hybride van *B. pinnatum* en *B. sylvaticum*, voor het eerst als zodanig herkend in Proeftuin Scherpenzeel, een ecologische proeftuin rond het huis van de eerste auteur in Scherpenzeel (Gelderland). Vanaf 1966 zijn daar kleinschalige natuurontwikkelingsexperimenten gerealiseerd. Door middel van vele aangevoerde grondsoorten (onder andere mergel, löss, leem, klei en diverse soorten zand) is er via (grotendeels) spontane vegetatieontwikkeling een grote variatie aan graslandtypen ontstaan met overgangen naar een struweel en een bosje. In de tuin is *B. pinnatum* een algemene soort in het kalkgrasland alsook op de klei en de löss. *Brachypodium sylvaticum* groeit talrijk langs het struikgewas en het bosje.

De hybride *B. xcugnacii* is ontstaan tussen de oudersoorten op de overgang van het kalkgrasland naar het struikgewas in een vegetatie met onder andere *Vinca minor*, *Lamium maculatum*, *Stellaria holostea*, *Vicia sepium* en *Arrhenatherum elatius*. Doordat de bloeiwijze (Fig. 1 en 2) veel op die van *B. pinnatum* lijkt, is het



enige individu van de hybride aanvankelijk onopgemerkt gebleven. Het individu werd pas opgemerkt, toen het zich vegetatief zo ver had uitgebreid, dat de afwijkende groeiwijze zichtbaar werd: een grote pol, veel groter dan *B. sylvaticum* vormt. De rhizomen van de hybride (Fig. 3) zijn veel korter dan bij *B. pinnatum*. *Brachypodium sylvaticum* vormt geen rhizomen.

Onderzoek van chromosomen en pollen

Om bevestigd te krijgen dat het hier werkelijk om de hybride *Brachypodium xucugnacii* gaat en niet om een afwijkende vorm van *B. pinnatum*, werden planten van de hybride en van beide oudersoorten in cultuur genomen ten behoeve van chromosoomonderzoek. Uit de topjes van wortels werden chromosoompreparaten gemaakt (Fig. 4). Het chromosoomgetal van *B. pinnatum* blijkt $2n = 28$ te zijn en dat van *B. sylvaticum* $2n = 18$. Dat het hier echt om de hybride *B. xucugnacii* gaat, blijkt uit het intermediaire chromosoomgetal $2n = 23$. De hybride is een allo-diploïd, met een haploïd celcomplement van beide ouders ($14 + 9 = 23$). Door het grote verschil in

Fig. 1. Van links naar rechts de bloeiwijzen van *Brachypodium sylvaticum* (Huds.) P.Beauv., *B. xucugnacii* A.Camus en *B. pinnatum* (L.) P.Beauv. uit Proeftuin Scherpenzeel (maatstrep = 2 cm). Die van *B. pinnatum* en *B. xucugnacii* lijken sterk op elkaar, maar zijn vanaf juli gemakkelijk te onderscheiden doordat die van *B. pinnatum* rijpe zaden vormen en bruin verkleuren. *Brachypodium xucugnacii* is steriel en de bloeiwijzen blijven daardoor groen. De bloeiwijzen van *Brachypodium xucugnacii* zijn vaak langer dan die van de oudersoorten. Foto's: Ben Kieft.

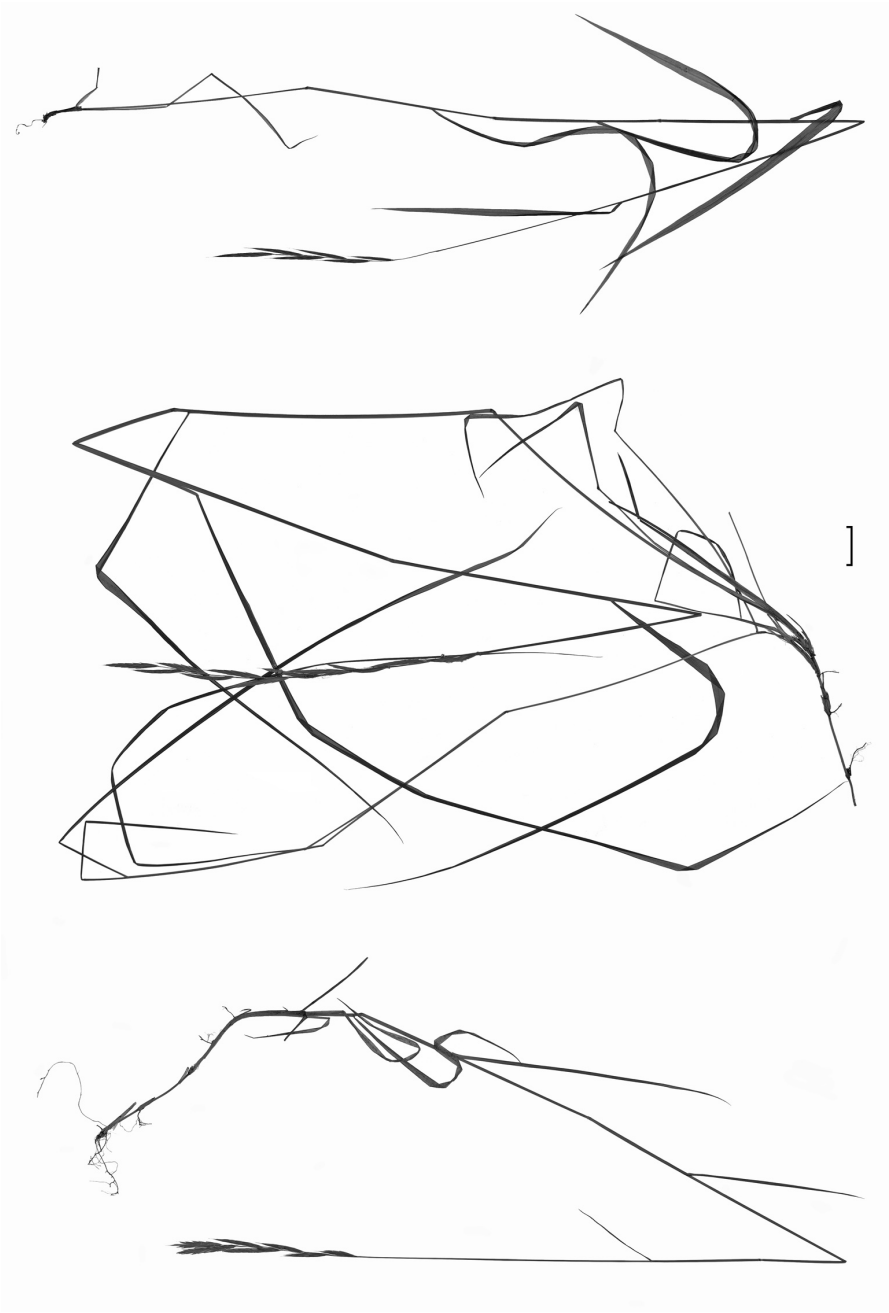


Fig. 2. Van boven naar beneden herbariumcollecties van *Brachypodium sylvaticum* (Huds.) P. Beauv., *B. xcugnacii* A. Camus en *B. pinnatum* (L.) P. Beauv. uit Proeftuin Scherpenzeel (maatstreef = 2 cm). De stengelbladen van *Brachypodium xcugnacii* A. Camus zijn meestal aanzienlijk langer dan die van de oudersoorten. De bovenste stengelbladen steken vaak boven de bloeiwijze uit. Foto's: Ben Kieft.



Fig. 3. Rhizomen en stengelbases van *Brachypodium pinnatum* (L.) P.Beauv. (linksboven), *B. sylvaticum* (Huds.) P.Beauv. (rechtsboven) en *B. x cugnacii* A.Camus (onder) uit Proeftuin Scherpenzeel (maatstreep = 2 cm). *Brachypodium pinnatum* heeft lange rhizomen en vormt losse zoden. *Brachypodium x cugnacii* A.Camus heeft korte rhizomen en vormt grote pollen. *Brachypodium sylvaticum* heeft geen rhizomen en vormt kleine, dichte pollen. Foto's: Ben Kieft.

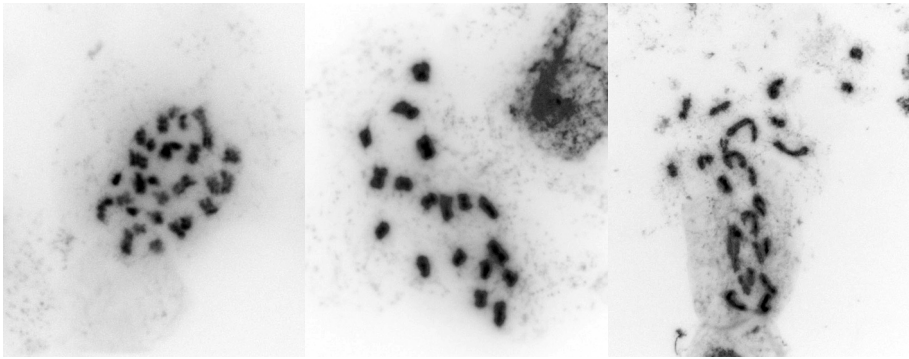


Fig. 4. Van links naar rechts chromosoomportretten van *Brachypodium pinnatum* (L.) P.Beauv., *B. sylvaticum* (Huds.) P.Beauv. en *B. x cugnacii* A.Camus. Foto's: Hans de Jong.

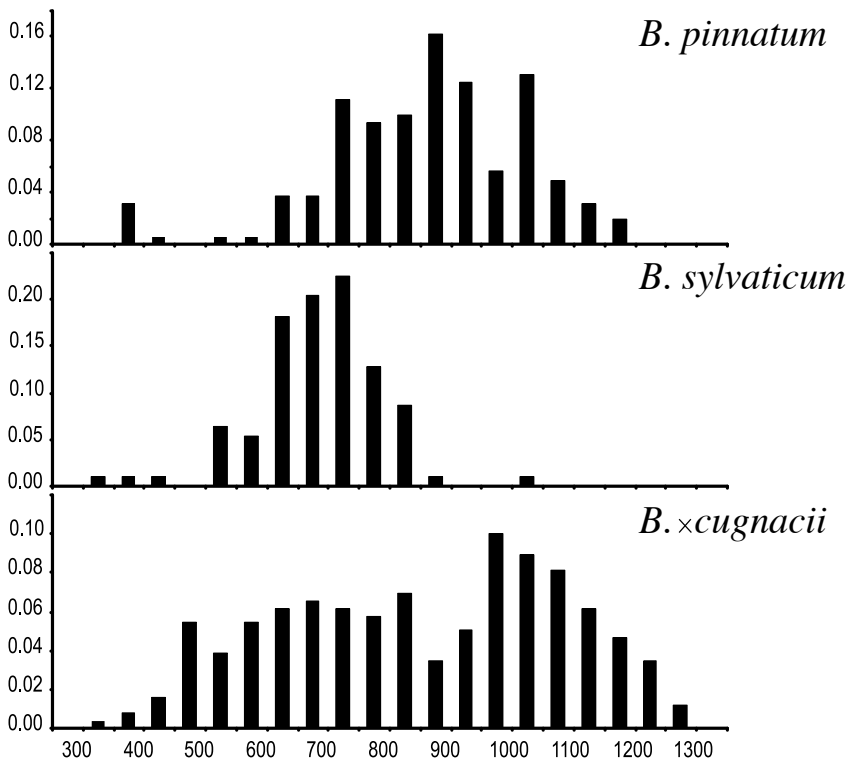


Fig. 5. De spreiding in grootte van het pollen van *Brachypodium pinnatum* (L.) P.Beauv., *B. sylvaticum* (Huds.) P.Beauv. en *B. x cugnacii* A.Camus. Langs de X-as is de relatieve diameter van de pollenkorrels aangegeven (in aantal pixels van de gebruikte digitale camera).

chromosoomaantal van beide ouders is de chromosoomparing in de hybride verstoord met onregelmatige chromosoomsegregaties en steriliteit als gevolg.

Voor genoemde chromosoomgetallen van de oudersoorten stemmen overeen met hetgeen Schippmann¹ en Khan & Stace² vermeldden. *Brachypodium pinnatum* met chromosoomgetal $2n = 28$ wordt als een tetraploïde soort beschouwd met grondgetal $x = 7$ en *B. sylvaticum* met chromosoomgetal $2n = 18$ als een diploïde soort met grondgetal $x = 9$. Van beide soorten zijn ook andere chromosoomgetallen bekend en bij beide soorten komt zowel het grondgetal $x = 7$ als het grondgetal $x = 9$ voor.

Om een idee te krijgen van ploïdie-verschillen tussen de ouders en het verloop van de meiose in de ouders en de hybride werd van de drie bovengenoemde soorten de grootte van het pollen gemeten; daarnaast werd de vitaliteit van het pollen getest met een kleurttest (lactophenol zure fuchsine kleuring³). Het verschil in pollengrootte (Fig. 5) tussen *B. pinnatum* (tetraploïd) en *B. sylvaticum* (diploïd) wordt veroorzaakt door de ploïdie-graden en de verschillen in chromosoomaantal. Pollen van een polyploïd is steeds groter dan dat van een diploïd. Het pollen van *B. ×cugnacii* vertoont een aanzienlijk grotere spreiding in grootte dan de beide oudersoorten. Dit weerspiegelt de grote variatie in de meiose, waarin verschillen in chromosoomsegregaties leiden tot een groot aantal verschillende chromosoomaantallen in de geslachtscellen, wat een kenmerk van de meeste allopoloïde hybriden is.

Het pollen van beide oudersoorten vertoont geen verschillen in kleurbaarheid, een kenmerk van normaal levensvatbaar pollen. In het preparaat van *B. ×cugnacii* (Fig. 6) was naast normaal gekleurd (levensvatbaar) pollen ook veel niet of nauwelijks gekleurd (steriel) pollen aanwezig. Die laatste categorie ontstaat uit sterk ongelijke verdeling van de chromosomen over de dochtercellen tijdens de eerste meiotische deling.

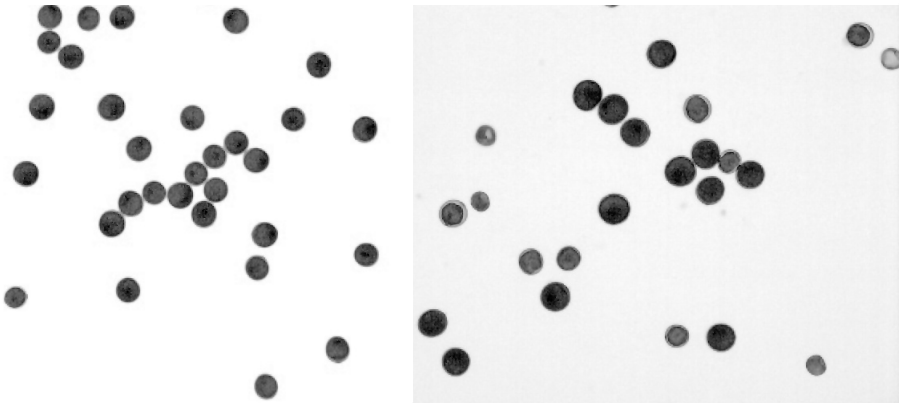


Fig. 6. Het pollen van *Brachypodium sylvaticum* (Huds.) P.Beauv. (links) is, evenals dat van *B. pinnatum* (L.) P.Beauv. (niet afgebeeld) homogeen gekleurd. Het pollen van *B. ×cugnacii* A.Camus (rechts) vertoont variatie van normaal gekleurd tot nauwelijks of niet gekleurd (lactophenol zure fuchsine kleuring³). Foto's: Hans de Jong (opnamen gemaakt met een Zeiss-microscoop en een Plan Neofluar 40× objectief).

Groeiplaats van *Brachypodium xugnacii* in het Gerendal (Zuid-Limburg)

Daar zowel *Brachypodium pinnatum* als *B. sylvaticum* in ons land het talrijkst voorkomen in Zuid-Limburg, zou de kans op het aantreffen van de hybride daar het grootst moeten zijn. In de zomer 2006 werd daarom op diverse plaatsen naar de hybride gespeurd, vooral op de overgang van kalkgrasland naar struweel of bos waar beide soorten in de regel talrijk en vaak door elkaar voorkomen. In het Gerendal werd in de Orchideeëntuin een *Brachypodium*-pol met intermediaire kenmerken aangetroffen. Zeer waarschijnlijk gaat het ook hier om de hybride *B. xugnacii* maar dat is (nog) niet door chromosoomonderzoek bevestigd. De Orchideeëntuin is geen tuin in de gebruikelijke betekenis van het woord, maar een door natuurontwikkeling ontstaan orchideerijk kalkgrasland, aangelegd in 1958.⁴ *Brachypodium xugnacii* groeit daar licht beschaduwd onder *Corylus avellana* tussen enerzijds sterker beschaduwde *B. sylvaticum* met *Campanula trachelium* en anderzijds kalkgrasland met *B. pinnatum* en onder andere *Centaurea jacea*, *Origanum vulgare*, *Rhinanthus alectorolophus*, *Medicago lupulina* en *Heracleum sphondylium*.

Hoewel beide hybriden een aantal kenmerken gemeenschappelijk hebben, zijn er ook enkele verschillen. Zo lijkt de overhangende bloeiwijze met lang genaalde aartjes van de hybride in het Gerendal meer op die van *B. sylvaticum*.

Kenmerken van *Brachypodium xugnacii*

In Tabel 1 worden de belangrijkste kenmerken van *Brachypodium xugnacii* vergeleken met die van de oudersoorten in Proeftuin Scherpenzeel. De populatie van *B. pinnatum* aldaar is oorspronkelijk grotendeels afkomstig uit Zuid-België. De populatie *B. sylvaticum* is ontstaan uit zaad dat in Zuid-Limburg is verzameld.

In aanvulling op Tabel 1 wordt vermeld dat de hybride van *B. pinnatum* te onderscheiden is door het feit dat de stengel tot ver boven het midden bebladerd is (maar gemiddeld minder ver dan bij *B. sylvaticum*; zie Tabel 1). In de regel is de stengel van *B. pinnatum* tot ongeveer halverwege bebladerd.

De bladkleur van *B. xugnacii* komt met *B. sylvaticum* overeen en is wat donkerder groen dan bij *B. pinnatum*. Ook de duidelijk uitspringende lichtgroene middennerf aan de bladonderzijde heeft de hybride met *B. sylvaticum* gemeen. Bij *B. pinnatum* is deze middennerf minder opvallend en niet uitspringend.

De beharing van de hybride is intermediair ten opzichte van de oudersoorten. *B. sylvaticum* is gewoonlijk sterker behaard dan *B. pinnatum*. Bij beide soorten kan de beharing variëren.⁵

In het algemeen zijn de kenmerken van *B. xugnacii* intermediair vergeleken met de oudersoorten ofwel komen ze met één van de oudersoorten overeen. De hybride uit Proeftuin Scherpenzeel heeft als afwijkend kenmerk dat vooral de hoogste stengelbladen aanzienlijk langer zijn (gemiddeld 23 cm met een maximum van 31 cm; Fig. 2) dan bij *B. pinnatum* (gemiddeld 8 cm en maximaal 11 cm) en bij *B. sylvaticum* (gemiddeld 11 cm en maximaal 14 cm). De hybride uit het Gerendal was in dit opzicht niet afwijkend. Het aantal opgemeten hoogste stengelbladen komt overeen met de aantallen vermeld bij 'afstand bovenste blad tot tros' in Tabel 1.

Tabel 1. Kenmerken van *Brachypodium ×cugnacii* in vergelijking met de oudersoorten *B. pinnatum* en *B. sylvaticum* zoals waargenomen in Proeftuin Scherpenzeel. De hier en daar afwijkende kenmerken van *B. ×cugnacii* uit het Gerendal zijn tussen haakjes met G aangegeven. Bij ‘afstand bovenste blad tot tros in cm’ zijn de uitersten vermeld en in vette cijfers het gemiddelde; n is het aantal opgemeten halmen. Met ‘bovenzijde’ en ‘onderzijde’ van het blad wordt de morfologische onder- en bovenzijde bedoeld.

	<i>B. pinnatum</i>	<i>B. ×cugnacii</i>	<i>B. sylvaticum</i>
rhizomen	lang, losse zoden vormend	kort, grote pollen vormend	geen rhizomen, kleine dichte pollen
stengels	rechttop, zelden aan voet geknikt geen neiging tot legeren 2–3 knopen leden kaal	rechttop tot schuin, vaak aan voet geknikt neiging tot legeren 3–5 knopen leden kaal of verspreid behaard	rechttop tot schuin, meestal aan voet geknikt geen neiging tot legeren 4–5 knopen leden vooral onderaan behaard
	bij knopen dicht zeer kort behaard	bij knopen sterker behaard met haren van intermediaire lengte	bij knopen sterk behaard met lange haren
bladscheden	kaal of matig behaard	kaal tot sterk behaard	sterk behaard
bladkleur	geelgroen	groen	groen
stengelbladen	rechttop of schuin naar boven uitstaand	schuin naar boven uitstaand, vaak in midden geknikt en uiteinde naar beneden gericht	gebogen-overhangend waarbij onderzijde naar boven gekeerd is
	bij droogte samenrollend	bij droogte samenrollend	bij droogte slap hangend, niet samenrollend
	bovenzijde kaal of licht behaard onderzijde kaal	bovenzijde licht behaard [G: bovenzijde behaard] onderzijde kaal [G: onderzijde verspreid behaard]	bovenzijde behaard onderzijde verspreid behaard
afstand bovenste blad tot tros in cm	19– 29 –43 (n = 31)	6– 18 –26 (n = 22) [G: 10– 17 –23 (n = 14)]	2– 13 –24 (n = 32)
tros	rechttop	licht overhangend [G: overhangend]	overhangend
aartjes	kort genaald	kort genaald [G: lang genaald]	lang genaald
begin bloei in 2005	10 juni	19 juni	25 juni
begin bloei in 2006	9 juni	19 juni	28 juni

Uit Tabel 1 en 2 blijkt dat *B. ×cugnacii* niet alleen in morfologisch opzicht intermediair is, maar ook wat de bloeitijd betreft. In Tabel 2 zien we verder dat het eind van de bloei van *B. pinnatum* overlapt met het begin van de bloei van *B. sylvaticum*. Ook in ecologisch opzicht is de hybride intermediair omdat die op beide groeiplaatsen tussen de oudersoorten in voorkomt.

Bij *B. xucugnacii* in Proeftuin Scherpenzeel werd geen zaadvorming geconstateerd. De aartjes bleven slank en lange tijd groen terwijl die van de oudersoorten dikker werden door zaadvorming en lichtbruin verkleurden. Bij rijpheid van de zaden vielen de aartjes van de oudersoorten gemakkelijk uiteen terwijl de aartjes van de hybride goed intact bleven. Over mogelijke zaadvorming bij *B. xucugnacii* in het Gerendal werden geen waarnemingen gedaan.

Materiaal van *B. xucugnacii* van beide groeiplaatsen en materiaal van beide oudersoorten uit Proeftuin Scherpenzeel is gedeponereerd in de Leidse en Wageningse vestigingen van het Nationaal Herbarium Nederland.

Discussie

Brachypodium xucugnacii werd voor het eerst ontdekt en beschreven in Frankrijk door A. Camus⁶ in 1931. In de Flora's van Nederland^{5 7} en omliggende landen wordt *B. xucugnacii* niet vermeld met uitzondering van de 'New Flora of the British Isles' van C.A. Stace.⁸ Stace vermeldt intermediaire planten die in Engeland en Ierland zeer verspreid tussen de oudersoorten zijn aangetroffen. Dat het om de hybride gaat, is niet door cytologisch onderzoek bevestigd. Opmerkelijk is dat het chromosoomgetal van de aldaar onderzochte planten overeenkomt met de ene danwel de andere oudersoort.

Schippmann¹ vermeldt in zijn recente revisie van Europese *Brachypodium*-soorten wel het bestaan van *B. xucugnacii*, maar geeft geen informatie over de verspreiding van deze soort.

Inmiddels is *B. xucugnacii* ook op experimentele wijze ontstaan. Khan & Stace² deden met zeven *Brachypodium*-soorten kruisingsexperimenten. Zowel *B. pinnatum* (2n = 28), als *B. pinnatum* (2n = 18), leverde na kruising met *B. sylvaticum* (2n = 18) levensvatbare F1-planten op. Dat was niet het geval wanneer *B. pinnatum* (2n = 36) werd gebruikt (er trad wel zaadvorming op maar dat resulteerde niet in F1-planten).

Tabel 2. Bloei in 2006 van de drie *Brachypodium*-soorten in Proeftuin Scherpenzeel, weergegeven per decade (periode van 10 dagen).

1 – Weinig planten/halmen bloeiend (ten opzichte van het totaal)

2 – Vrij veel exemplaren bloeiend, maar nog geen hoofdbloei

3 – Hoofdbloei, de meeste exemplaren bloeiend

De bloei van *B. sylvaticum* ging nog door tot in augustus; dat is niet in de tabel vermeld.

maand	juni			juli		
	1	2	3	1	2	3
<i>Brachypodium pinnatum</i>	1	3	3	3	1	
<i>Brachypodium xucugnacii</i>		1	3	3	2	
<i>Brachypodium sylvaticum</i>			1	3	3	3

Een aantal F1-planten werd op fertiliteit onderzocht. Wanneer *B. ×cugnacii* ontstaan was door pollen van *B. pinnatum* ($2n = 28$) op *B. sylvaticum* ($2n = 18$) als moederplant, bleek deze steriel. In het omgekeerde geval, wanneer *B. sylvaticum* ($2n = 18$) als vaderplant en *B. pinnatum* ($2n = 28$) als moederplant werd gebruikt, werd 0,38% zaadvorming geconstateerd. De fertiliteit is dus zeer laag.

In hun artikel wijden Khan & Stace² ook aandacht aan het zeldzame voorkomen van de diverse *Brachypodium*-hybriden in de natuur, onder andere van *B. ×cugnacii* waarvan de oudersoorten vaak door elkaar voorkomen. Zij vermoeden dat het verschil in bloeitijd van de oudersoorten een belangrijk isolatiemechanisme is. In Engeland begint de bloei van *B. pinnatum* twee tot drie weken eerder dan van *B. sylvaticum*, hetgeen overeenkomt met de waarnemingen uit Nederland (Tabel 1 en 2). Hoewel er een overlap in bloeitijd is, is de kans op het ontstaan van een bastaard natuurlijk veel kleiner dan wanneer de soorten gelijktijdig zouden bloeien. Dit isolatiemechanisme wordt versterkt door verschillen in de tijd van anthese, de ontwikkelingsfase van de bloemorganen waarin de bloem volledig open en functioneel is (dus de fase vanaf het eind van het knopstadium tot het begin van het verwelken). In Leicester (Engeland) bleek de tijd van anthese in begin juli (zonopkomst circa 04.50 uur) voor *B. sylvaticum* circa 03.00–04.00 uur te zijn en voor *B. pinnatum* circa 05.00–06.00 uur.

Waar de zeldzame kans op bastaardering is gelukt, moet dan ook nog eens een geschikt milieu voor de hybride voorhanden zijn. Die kans lijkt het grootst in een nieuw ontstaan milieu waar nog niet alle plekken bezet zijn. Zowel in Proeftuin Scherpenzeel als in de Orchideeëntuin was dit het geval. De groeiplaats in de Orchideeëntuin ligt op een plek waar recent veel houtgewas is gekapt.

1. U. Schippmann. 1991. Revision der europäischen Arten der Gattung *Brachypodium* Palisot de Beauvois (Poaceae). *Boissiera* 45: 1–250.
2. M.A. Khan & C.A. Stace. 1999. Breeding relationships in the genus *Brachypodium* (Poaceae: Pooideae). *Nordic Journal of Botany* 19, 3: 257–269.
3. J.E. Sass. 1964. Botanical microtechnique. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
4. W.H. Diemont. 1969. Zehn Jahre Freilandkultur einiger einheimischer Orchideen im 'Gerendal', Niederl. Limburg. *Vegetatio* 18: 330–347.
5. P. Jansen. 1951. Flora Neerlandica. Deel I, Aflevering 2. Gramineae. KNBV, Amsterdam.
6. A. Camus. 1931. Quelques hybrides des genres *Cistus*, *Bromus* et *Brachypodium*. *Bull. Soc. Bot. France* 78:97–102.
7. R. van der Meijden. 2005. Heukels' Flora van Nederland, ed. 23. Wolters-Noordhoff, Groningen.
8. C.A. Stace. 1997. New flora of the British Isles, ed. 2. Cambridge University Press, Cambridge.