

Lokalisierung von Hybridisierungsbarrieren zwischen Mittagsblumengewächsen (*Aizoaceae*)

Philipp Braun & Traud Winkelmann

Institut für Zierpflanzen- und Gehölzwissenschaften, Abteilung Baumschule, Leibniz Universität Hannover, braun@baum.uni-hannover.de

Hintergrund

Mit mehr als 100 Gattungen und über 1800 Arten stellen die Mittagsblumengewächse die größte Sukkulentenfamilie weltweit dar (Klak et al. 2003). Viele ihrer Vertreter zeichnen sich durch intensiv gefärbte Blütenblätter aus und finden daher Verwendung als Zierpflanzen. Züchterisch wurden *Aizoaceen* in der Vergangenheit jedoch nur wenig bearbeitet, was unter anderem auf mangelnde Kreuzbarkeit verschiedener Arten und Gattungen zurückgeführt werden kann.

Die Blütenbiologie von Genotypen mehrerer Gattungen (v.a. *Delosperma* und *Lampranthus*, Abb.1) wurde mit unterschiedlichen Methoden untersucht, um ihr Potential für die Zierpflanzenzüchtung genauer zu charakterisieren. Ein wesentliches Ziel war hierbei die Lokalisierung von Hybridisierungsbarrieren, um nachfolgend Methoden zu deren Überwindung erarbeiten zu können.



Abb. 1: Blüten der untersuchten *Delosperma*-Genotypen I-IV und der *Lampranthus*-Genotypen I-IV

Bestimmung der Pollenvitalität

Material & Methoden

- Pollen der *Delosperma*-Genotypen I und II sowie des *Lampranthus*- Genotyps I.
- Pollen-Mischproben aus 25 Blüten jedes Genotyps
- Lagerung bei 20 °C und -20 °C.
- Vergleich verschiedener Methoden zur Bestimmung der Vitalität:

• Vitalfärbung mittels Fluorescein Diacetat (FDA)

- 0,25 % FDA gelöst in DMSO → grün fluoreszierende Pollenkörner sind vital

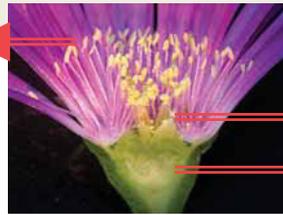
• Vitalfärbung mittels Tetrazoliumbromid (MTT)

- 1 % MTT, 5 % Saccharose → rot bis violett gefärbte Pollenkörner sind vital

• In-vitro-Pollenkeimtest (PKf)

• Keimmedium: 50 g/l Saccharose, 1 g/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$, 0,35 g H_3BO_3 , 5 g/l Gelrite®, pH 5,8

- Für die prozentuale Angabe der Vitalität wurden in zwei Wiederholungen jeweils mindestens 300 Pollenkörner ausgezählt.



Verfolgung des Pollenschlauchwachstums in situ

Material & Methoden

- Untersuchungen erfolgten nach intra- und intergenerischen Kreuzungen sowie nach Selbstbestäubungen.
- Die Emaskulation der Blüten erfolgte in einem späten Knospenstadium.
- Blüternerte: 4, 24, 48, 72 und 120 Stunden nach der Bestäubung; anschließende Fixierung in einer Lösung aus Ethanol (99 %) und Milchsäure (90 %) (2:1).
- Anfärbung der Fruchtknoten mit Anilinblau (10 mg Anilinblau; 768 mg K_3PO_4 H_2O gelöst in 100 ml dest. H_2O) nach Mazeration in NaOH.
- Fluoreszenzmikroskopische Beobachtung von Pollenkeimung und Pollenschlauchwachstum nach 24 h Inkubation in der Färbelösung.

Ergebnisse

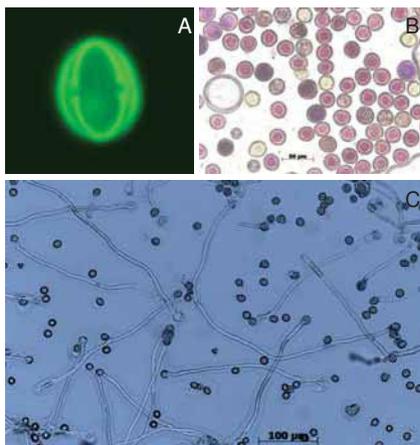


Abb. 2: Pollenkörner des *Lampranthus*-Genotyps I nach Anfärbung mit FDA (A) und MTT (B); In-vitro-Keimtest an Pollen des *Delosperma*-Genotyps I (C).

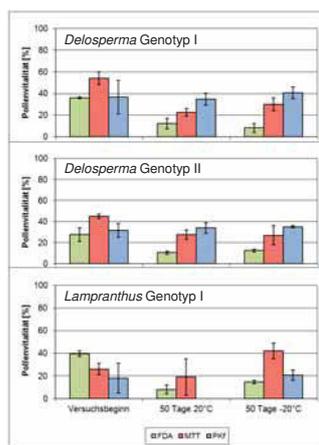


Abb. 3: Vergleich der mit unterschiedlichen Methoden ermittelten Pollenvitalitäten zu Versuchsbeginn, nach 50tägiger Lagerung bei 20 °C bzw. -20 °C; die whisker markieren die Streuung von Ergebnissen beider Wiederholungen.

Ergebnisse

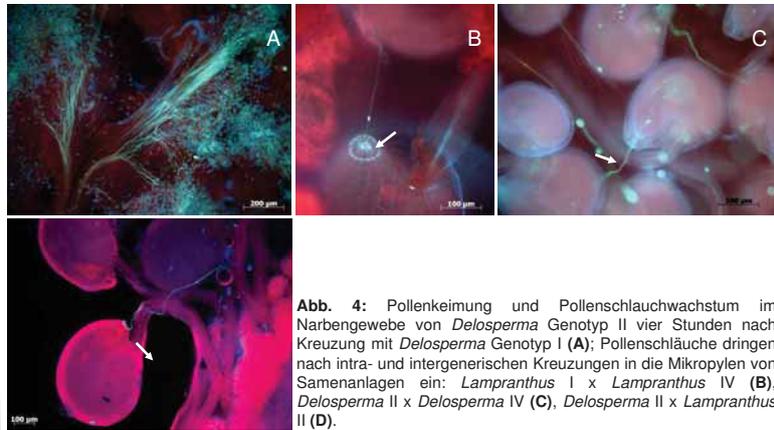


Abb. 4: Pollenkeimung und Pollenschlauchwachstum im Narbengewebe von *Delosperma* Genotyp II vier Stunden nach Kreuzung mit *Delosperma* Genotyp I (A); Pollenschläuche dringen nach intra- und intergenerischen Kreuzungen in die Mikropylen von Samenanlagen ein: *Lampranthus* I x *Lampranthus* IV (B), *Delosperma* II x *Delosperma* IV (C), *Delosperma* II x *Lampranthus* II (D).

Tab. 1: Übersicht der identifizierten Hybridisierungs- und Selbstinkompatibilitätsbarrieren.

- keine präzygotischen Barrieren
- präzygotische Barrieren
- Kombination wurde nicht geprüft

♀ Genotyp	♂ <i>Delosperma</i>				<i>Lampranthus</i>			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<i>Delosperma</i> I	■	■	■	■	■	■	■	■
II	■	■	■	■	■	■	■	■
III	■	■	■	■	■	■	■	■
IV	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>Lampranthus</i> I	■	■	■	■	■	■	■	■
II	■	■	■	■	■	■	■	■
III	■	■	■	■	■	■	■	■
IV	■	■	■	■	■	■	■	■

Schlussfolgerungen

- Mangelnde Pollenvitalität ist nicht die Ursache für das Scheitern von Kreuzungen, da sowohl *in vitro* als auch *in situ* hohe Pollenvitalität festgestellt werden konnte.
- In-vitro-Pollenkeimtests zur Vitalitätsbestimmung von *Aizoaceae*-Pollen optimal.
- Die Pollenvitalität der untersuchten Genotypen bleibt selbst bei 20°C-Lagerung mehrere Wochen lang erhalten. Eine Lagerung des Pollens über längere Zeiträume (mind. 1 Jahr) ist bei -20°C problemlos möglich.

- *Delosperma*: Pollenschlauchwachstum nach Selbstungen bereits im Narbengewebe inhibiert, was auf gametophytischen Selbstinkompatibilitätsmechanismus (GSI) hindeutet.
- *Lampranthus*: keine Hemmung des Pollenschlauchwachstums nach Selbstung.
- Keine Hemmung des Pollenschlauchwachstums, weder nach intragenerischen noch nach intergenerischen Kreuzungen. Hybridisierungsbarrieren treten vermutlich vorrangig nach der Befruchtung auf, was die Anwendung der Embryo-Rescue-Technik zur Regeneration von hybriden Pflanzen nahelegt.