

Evaluierung von Fertilitätsmerkmalen tetraploider S₁-Populationen der Kreuzung *Pelargonium xdomesticum* x *Pelargonium xcrispum*

Sylvia Plaschil, Susanne Kalich, Michael Wiedemann, Eva Rietze

DGG-Proceedings, Vol. 7, 2017, No. 5, p. 1-5

DOI: 10.5288/dgg-pr-sp-2017

Corresponding Author:

Sylvia Plaschil

Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen

Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Erwin-Baur-Straße 27

06484 Quedlinburg

Germany

Email: sylvia.plaschil@julius-kuehn.de

DGG-Proceedings

Short Communications (peer reviewed, open access)

German Society of Horticultural Sciences (DGG)

www.dgg-online.org

Evaluierung von Fertilitätsmerkmalen tetraploider S₁-Populationen der Kreuzung *Pelargonium ×domesticum* x *Pelargonium ×crispum*

Sylvia Plaschil¹, Susanne Kalich², Michael Wiedemann³, Eva Rietze²

¹ Julius Kühn-Institut, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen

² Hochschule für Wirtschaft und Technik Dresden, Fakultät Landbau/Umwelt/Chemie

³ Kühne Jungpflanzen, Claus Kühne

1. Einleitung, Stand des Wissens, Zielsetzung

Die Gattung *Pelargonium* L'Hér. besteht aus ungefähr 280 Arten, die 16 Sektionen zugeordnet werden (Bakker et al., 2004; Weng et al., 2012; Röschenbleck et al., 2014), und ist die zweitgrößte Gattung in der Familie Geraniaceae Juss.. Die meisten Pelargonienarten stammen aus Südafrika. Seit vielen Jahrzehnten gehören Pelargonien zu den wichtigsten Beet- und Balkonpflanzen in Deutschland und weltweit. Innerhalb bekannter Sortimenten erfreuen sich Edelpelargonien (*P. ×domesticum* L.H. Bailey) und *P. crispum*-Hybriden zunehmender Beliebtheit. Beide Sortengruppen gewinnen steigende Marktanteile, auch wenn sie in bedeutend kleineren Stückzahlen als *P. ×hortorum* und *P. peltatum*-Hybriden produziert werden.

Die dokumentierte Züchtung der *P. crispum*-Hybriden begann in den 1920er Jahren durch Langley-Smith in England (Brawner, 2003). Wahrscheinlich erfolgte die interspezifische Hybridisierung mit *P. crispum* (P.J. Berg.) L'Hér. bereits kurz nach der Einführung verschiedener Pelargonienarten nach Europa im 17. Jahrhundert. Die Art *P. crispum* stammt aus dem Südwesten der Kapprovinz Südafrikas (van der Walt und Vorster, 1988), ist ein kleiner Strauch mit krausen, nach Zitrone duftenden Blättern und Blüten der Farben Weiß, Dunkelrosa bis Purpur. Sorten, die auf *P. crispum* zurückzuführen sind, sollten als Hybriden angesehen und mit *P. ×crispum* bezeichnet werden (Olbricht, 2013). In der Vergangenheit entstanden solche Sorten häufig aus Kreuzungen zwischen Edelpelargonien, *P. ×crispum* sowie deren Wildform (Brawner, 2003) und zeigten eine geringe morphologische Variabilität. Deshalb wird ein sehr enger Genpool angenommen. Um diese eingeschränkte genetische Vielfalt deutlich zu erhöhen, sollten neue Kreuzungspartner wie moderne Edelpelargonien und verschiedene Wildformen für die weitere Züchtungsarbeit genutzt werden. Für Pelargonien sind keine lebensfähigen Nachkommen aus Kreuzungen von Genotypen unterschiedlicher Ploidiestufen bekannt (Horn, 1994). Deshalb war es notwendig, die diploiden *P. ×crispum* ($2n=2x=22$) den modernen, tetraploiden Edelpelargonien ($2n=4x=44$) im Ploidieniveau anzugleichen (Plaschil et al., 2012, 2015, 2017). Zunächst existierte nur ein männlich steriler, tetraploider Zufallssämling, der die männliche Sterilität an seine Nachkommen vererbte (Plaschil et al., 2012). Daraufhin wurden durch Polyploidisierung mit Amiprofos-Methyl weitere tetraploide *P. ×crispum*-Genotypen entwickelt und für Kreuzungen mit Edelpelargonien eingesetzt (Plaschil et al., 2015). In einer Masterarbeit (Kalich,

2016) erfolgte die Evaluierung morphologischer Merkmale der S₁-Populationen von 25 selektierten F₁-Hybriden für weitere Züchtungszwecke. Dabei lag der Schwerpunkt in der Erhöhung der Fertilität des Zuchtmaterials.

2. Material und Methoden

Die Edelpelargonien-Sorten 'Burgundy', 'Clarina', 'Darling', 'Schoko' und 'Velvet Red' der Gruppe Aristo® sowie 'Dark Red', 'Lavender' und 'Salmon Orange' der Gruppe Regalia® (Samenträger) wurden mit fünf tetraploiden *P. x crispum*-Klonen von P616 (Pollenspender) 2013 gekreuzt. Da die Klone als genetisch identisch betrachtet werden können (Plaschil et al., 2015), wurden sie als P616-x zusammengefasst. 25 selektierte F₁-Hybriden aus diesen acht Kreuzungen konnten charakterisiert und 2015 selbstbefruchtet werden. Evaluierungskriterien waren u.a. Samenansatz, Keimungsraten, die Ausbildung von Antheren sowie weitere morphologische Blütenmerkmale, die im Detail hier nicht dargestellt werden (Kalich, 2016).

Außerdem wurden mit dem Thiazolyl blue-Vitalitätstest (Khatun und Flowers, 1995) von den F₁-Hybriden und jeweils einem S₁-Sämling ihrer Population 3 x 100 Pollenkörner analysiert. Unter dem Auflichtmikroskop ließen sich vitale Pollen (rot) von nicht vitalen, Pollen (grau, schwarz) unterscheiden. Die statistische Auswertung erfolgte mit IBM SPSS Statistics 21. Für die Mittelwertvergleiche wurde der Tukey-Test bei $\alpha=5\%$ verwendet.

3. Ergebnisse

Je nach Kreuzung betrugen die Keimungsraten 0-90 %, wobei die F₁-Hybriden 717, 725 und 726 keine lebensfähigen Nachkommen erzeugten. F₁-Hybriden (706, 720, 721) mit einem Samenansatz von mehr als 100 Körnern hatten eine Keimungsrate von mindestens 60 %. Im Gegensatz dazu erreichten F₁-Hybriden (723) mit einem Samenansatz von weniger als zehn Körnern eine maximale Keimungsrate von 50 %. Zwischen Geschwistern (F₁) gleicher Kreuzung (z.B. 'Aristo® Schoko', 'Regalia® Lavender') gab es zum Teil deutliche Unterschiede im Samenansatz und in den Keimungsraten. Einen relativ ausgeglichenen Samenansatz und Keimungsraten auf mittlerem Niveau (37-76 %) hatten die jeweils drei F₁-Hybriden der Samenträger 'Aristo® Velvet Red' und 'Regalia® Dark Red'. 22 S₁-Populationen kamen im Untersuchungszeitraum zur Blüte. Die Mehrzahl der Sämlinge (78-100 %) bildete sichtbar fertile Antheren aus (Tab. 1). Zehn der 22 S₁-Populationen bestanden aus Pflanzen mit ausschließlich gut ausgebildeten Antheren. Bei den drei S₁-Populationen der Kreuzung 'Aristo® Schoko' (716, 718, 738) traten keine Sämlinge mit sterilen Antheren auf.

Die ermittelte Pollenvitalität nach Färbung mit Thiazolyl blue lag bei 47-93 % bei den S₁-Sämlingen bzw. 48-86 % bei den F₁-Eltern (Tab. 1). Der höchste prozentuale Anteil vitaler Pollen findet sich bei den Genotypen der Kreuzung 'Aristo® Schoko' (S₁) und 'Aristo® Velvet Red' (F₁ und S₁). Herausragend ist die F₁-Hybride 732, deren sehr gute Pollenvitalität auch in dem S₁-Sämling zu finden ist.

Tab. 1: Antherenbildung in den S₁-Populationen und Ergebnisse des Pollen-Vitalitätstests durch Färbung mit Thiazolyl blue für die F₁-Hybriden und ihre selektierten S₁-Sämlinge (Tukey-Test, $\alpha=5\%$, unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede)

F ₁ -Samenträger	S ₁ -Population	Anzahl S ₁ -Pflanzen mit				Pollenvitalität (%)			
		Blüten	fertilen Antheren	sterilen Antheren	sterilen Antheren (%)	S ₁ -Sämlinge	F ₁ -Hybriden		
'Aristo® Burgundy'	P15-707.707	5	5	0	0	P15-707.707-1	77 ^{b,c,d,e}	707	77 ^{c,d}
	P15-728.728	56	52	4	7	P15-728.728-27	71 ^{a,b,c,d,e}	728	78 ^{c,d}
	P15-729.729	31	31	0	0	P15-729.729-18	80 ^{b,c,d,e}	729	79 ^{c,d}
'Aristo® Clarina'	P15-704.704	6	6	0	0	P15-704.704-2	77 ^{b,c,d,e}	704	64 ^{a,b,c}
	P15-723.723	2	1	1	50	-	-	723	65 ^{a,b,c,d}
'Aristo® Darling'	P15-724.724	29	29	0	0	P15-724.724-13	71 ^{a,b,c,d,e}	724	81 ^{c,d}
	P15-706.706	48	46	2	4	P15-706.706-10	68 ^{a,b,c,d,e}	706	66 ^{a,b,c,d}
'Aristo® Schoko'	P15-716.716	32	32	0	0	P15-716.716-2	93 ^e	716	79 ^{c,d}
	P15-718.718	33	33	0	0	P15-718.718-9	73 ^{a,b,c,d,e}	718	75 ^{c,d}
	P15-730.730	11	11	0	0	P15-730.730-5	47 ^a	730	65 ^{a,b,c,d}
'Aristo® Velvet Red'	P15-722.722	59	46	13	22	P15-722.722-8	79 ^{b,c,d,e}	722	86 ^d
	P15-731.731	12	12	0	0	P15-731.731-2	84 ^{c,d,e}	731	71 ^{b,c,d}
	P15-732.732	9	8	1	11	P15-732.732-6	91 ^{d,e}	732	87 ^d
'Regalia® Dark Red'	P15-703.703	24	22	2	8	P15-703.703-21	55 ^{a,b}	703	47 ^a
	P15-733.733	7	6	1	14	P15-733.733-1	66 ^{a,b,c,d}	733	78 ^{c,d}
	P15-734.734	30	30	0	0	P15-734.734-11	67 ^{a,b,c,d,e}	734	75 ^{c,d}
'Regalia® Lavender'	P15-705.705	17	16	1	6	P15-705.705-7	56 ^{a,b}	705	68 ^{a,b,c,d}
	P15-719.719	14	12	2	14	P15-719.719-12	79 ^{b,c,d,e}	719	80 ^{c,d}
	P15-720.720	75	72	3	4	P15-720.720-29	62 ^{a,b,c}	720	72 ^{b,c,d}
	P15-721.721	63	61	2	3	P15-721.721-6	86 ^{c,d,e}	721	82 ^{c,d}
	P15-727.727	21	21	0	0	P15-727.727-6	69 ^{a,b,c,d,e}	727	69 ^{b,c,d}
'R.® Salmon Orange'	P15-735.735	72	63	9	13	P15-735.735-62	82 ^{b,c,d,e}	735	77 ^{c,d}

4. Diskussion

Selektion auf ornamentale Merkmale bei vegetativ vermehrten Zierpflanzen kann zur Reduktion oder zum Verlust der Fertilität im Zuchtmaterial führen. Häufige Ursachen sind männlich sterile Blüten aufgrund von durch Blütenfüllung nicht ausgebildeten Antheren (Sommer et al., 1990; Davies et al., 1999) oder die Ausbildung von sterilen Antheren ohne vitalen Pollen in ungefüllten Blüten. In der vorliegenden Arbeit hatten alle S₁-Sämlinge ungefüllte Blüten (Kalich, 2016). Trotzdem lag in den S₁-Populationen der Anteil der Sämlinge mit sterilen Antheren bei bis zu 50 %. Pollensterilität kann bei allen Pflanzenarten auftreten und auf einer cytoplasmatisch-kerngenetischen Pollensterilität (CMS) oder kerngenetisch männlichen Sterilität (NMS) beruhen. Zur Fertilität von *P. xdomesticum* und *P. xcrispum* finden sich nur wenige Studien (Tokumasu, 1974, 1976; Yano et al., 1974; Chanon und Hanniford, 1989; Plaschil et al., 2012, 2015). Tokumasu (1974, 1976) untersuchte die Pollenfertilität an den diploiden *P. xcrispum* 'Lemon crispum', 'Crispum minor' (beide männlich fertil) und 'Prince Rupert' (männlich steril). Er prüfte die genauen Vorgänge bei der Entwicklung von Pollenkörnern. Nach dem Abschluss der Zellwandbildung verloren bei sterilen Antheren die Mikrosporen ihr Zytoplasma und waren innen leer. Bei fertilen Antheren nahm das Zytoplasma-Volumen der Mikrosporen zu und es bildeten sich fertile Pollenkörner. Meist ist die männliche Sterilität wie bei 'Prince Rupert' partiell, da selten auch Blüten mit fertilen Antheren auftreten. Ebenso bildeten sich bei 'Lemon crispum', obwohl fertil, hin und wieder sterile Antheren. Bei Pflanzen mit partieller Sterilität war der Pollen der vitalen Antheren fertil. Zum Ende der Blütezeit nahm die Fertilität ab. Daraufhin wurde angenommen, dass die Fertilität dominant gegenüber der Sterilität vererbt wird, die Pollensterilität

genetisch bedingt ist und von Umwelteinflüssen abhängt. Während die Antherenbildung bei allen S_1 -Populationen erfasst wurde, konnten Pollenvitalitätsuntersuchungen nur im begrenzten Umfang durchgeführt werden. Auffallend ist, dass Genotyp 722 ('Aristo® Velvet Red') trotz einer Pollenvitalität von 86 % einen hohen Anteil (22 %) von Nachkommen mit sterilen Antheren aufwies. Ähnlich verhielt sich der Geschwister-Genotyp 732. Dennoch konnten von beiden Genotypen S_1 -Sämlinge mit hoher Pollenvitalität selektiert werden. Der Genotyp 703 ('Regalia® Dark Red') mit der geringsten Pollenvitalität von 47 % unterschied sich signifikant von seinen Geschwistern 733 und 734, deren Pollenvitalität ebenfalls im mittleren oder unteren Bereich lag (Kalich, 2016). Er gab seine Eigenschaften an den untersuchten S_1 -Sämling weiter (Pollenvitalität 55 %). Darüber hinaus zeigten zwei (703, 733) von drei Geschwistern Nachkommen mit sterilen Antheren. Offensichtlich handelt es sich hierbei um eine Kreuzung mit eingeschränkter Fertilität, die in die S_1 vererbt wird. Von der Kreuzung 'Regalia® Lavender' stand mit sieben F_1 -Hybriden die größte Anzahl vergleichbarer Genotypen zur Verfügung. Schon der Samenansatz und die Keimungsrate von 0-88 % zeigten eine große Variabilität (Kalich, 2016). Nur eine von fünf S_1 -Populationen zeigte ausnahmslos Pflanzen mit fertilen Antheren. Bei den anderen variierte der Anteil der Pflanzen mit sterilen Antheren in der Population zwischen 3-14 %. Die Pollenvitalität mit 68-82 % bei den F_1 -Hybriden und 56-86 % bei den S_1 -Sämlingen zeigte keine signifikanten Unterschiede. Selbst bei den F_1 -Hybriden (725, 726) ohne Nachkommen betrug die Pollenvitalität 74 bzw. 84 % (Kalich, 2016). Ursache für deren mangelnde Fertilität könnte eine Selbstinkompatibilität sein. Zur Bestätigung dieser Annahme sollten mikroskopische Untersuchungen zum Pollenschlauchwachstum und zur Befruchtung durchgeführt werden (Yano et al., 1975), da die In-vitro-Keimung von Pollen auf borhaltigem Nährmedium bei Pelargonien nicht funktioniert (Chanon und Hanniford, 1989).

5. Schlussfolgerung

Mit den vorliegenden Kreuzungen ist es gelungen, F_1 -Hybriden mit interessanten morphologischen Merkmalen und unterschiedlicher Selbstfertilität zu erzeugen, die für die Züchtung genutzt werden können. Da die Fertilität im Züchtungsprozess ein komplexes Merkmal ist, sind zu dessen Beurteilung einzelne Kriterien wie Blütenreichtum, Pollenvitalität, Befruchtungsrate, Samenansatz, Samenqualität und Keimungsrate zu beachten. Es wurde gezeigt, dass durch unterstützende mikroskopische Untersuchungen die Fertilität im Züchtungsmaterial gesteigert werden kann. Aufgrund der Variabilität der für die Fertilität relevanten Merkmale innerhalb der Kreuzungen sollte ohne detaillierte Untersuchungen das Pflanzenmaterial auf einer frühen Zuchtstufe nicht zu stark eingeschränkt werden. Die Bestimmung der Pollenvitalität mit der Färbung durch Thiazolyl blue ist für Pelargonien geeignet und eine schnelle Methode. Jedoch sind vergleichende Untersuchungen mit Fluorescein-Diacetat zur Verifizierung der Ergebnisse zu empfehlen.

6. Literatur

Bakker, F.T., Culham, A., Hettiarachi, P., Touloumenidou, T. und Gibby, M. (2004). Phylogeny of *Pelargonium* (Geraniaceae) based on DNA sequences from three genomes. *Taxon* 53: 17-28.

Brawner, F. (2003). Geraniums. The complete encyclopedia. Schiffer Publishing Ltd., Atglen: 63-66, 82-102.

- Chanon, A. und Hanniford, G. (1989). A Study of infertility in *Pelargonium x domesticum* Bailey, ASHS Annual Meeting / Program and Abstracts, HortScience 92: 95.
- Davies, B., Motte, P., Keck, E., Saedler, H., Sommer, H. und Schwarz-Sommer, Z. (1999). PLENA and FARINELLI: redundancy and regulatory interactions between two *Antirrhinum* MADS-box factors controlling flower development. The EMBO Journal 18(14): 4023-4034.
- Horn, W. (1994). Interspecific crossability and inheritance in *Pelargonium*. Plant Breed 113: 3-17.
- Kalich, S. (2016). Evaluierung von tetraploiden S₁-Populationen der Kreuzung *Pelargonium x domesticum x Pelargonium x crispum*. Masterarbeit. Hochschule für Wirtschaft und Technik Dresden, 167 Seiten.
- Khatun, S. und Flowers, T.J. (1995). The estimation of pollen viability in rice. Journal of Experimental Botany 46: 151-154.
- Olbricht, K. (2013). Klonzüchtung ausgewählter gärtnerischer Kulturen unter dem Aspekt der Nachhaltigkeit. Habilitationsschrift. Humboldt-Universität zu Berlin, 197 Seiten.
- Plaschil, S., Budahn, H., Schrader, O., Olbricht, K. und Hofmann, C. (2012). Enhancement of the genetic diversity in *Pelargonium* (Section *Pelargonium*) by species introgression. Acta Horticulturae 953: 155-160.
- Plaschil, S., Budahn, H., Schrader, O., Olbricht, K., Wiedemann, M. und Hofmann, C. (2015). Tetraploid male fertile *Pelargonium crispum* hybrids and their use interspecific hybridization. Acta Horticulturae 1087: 345-350.
- Plaschil, S., Budahn, H., Wiedemann, M. und Olbricht, K. (2017). Genetic characterization of *Pelargonium* L'Hér. germplasm. Genet Resour Crop Evol 64(5): 1051–1059.
- Röschenbleck, J., Albers, F., Müller, K., Weinl, S. und Kulda, J. (2014). Phylogenetics, character evolution and subgeneric revision of the genus *Pelargonium* (Geraniaceae). Phytotaxa 159: 31-76.
- Sommer, H., Beltrán, J. P., Huijser, P., Pape, H., Lönnig, W. E., Saedler, H. und Schwarz-Sommer, Z. (1990). Deficiens, a homeotic gene involved in the control of flower morphogenesis in *Antirrhinum majus*: the protein shows homology to transcription factors. The EMBO Journal 9(3): 605-613.
- Tokumasu, S. (1974). Expression of male sterility in *Pelargonium crispum* L'Her. ex Ait.. Euphytica 23: 209-217.
- Tokumasu, S. (1976). A comparative study on anther development in male fertile and male sterile plants of *Pelargonium crispum* L'Her ex Ait.. Euphytica 25: 151-159.
- van der Walt, J.J.A. und Vorster, P.J. (1988). Pelargoniums of Southern Africa. Vol. 3. National Botanic Gardens Kirstenbosch: 37-38.
- Weng, M.L., Ruhlman, T.A., Gibby, M. und Jansen, R.K. (2012). Phylogeny, rate variation, and genome size evolution of *Pelargonium* (Geraniaceae). Mol Phyl Ev 64: 654-670.
- Yano, F., Tokumasu, S. und Kato, M. (1975). The behavior of Pollen tube and the developmental process of ovules in *Pelargonium*. Euphytica 24: 251-259.