

RP- 276

Sonderdruck aus „Zeitschrift für Pflanzenzüchtung“

[Z. Pflanzenzüchtg. 77, 80—82, 1976]

Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdruckes, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten.

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

---

## Kurze Mitteilungen / Short Communications

*Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut),  
Köln-Vogelsang*

### Fruchtknotenkultur bei Gräsern

Von

W. NITZSCHE und L. HENNIG

## Kurze Mitteilungen / Short Communications

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut),  
Köln-Vogelsang

### Fruchtknotenkultur bei Gräsern

Von

W. NITZSCHE und L. HENNIG

Eingegangen am 30. Oktober 1975

Schwierigkeiten bei Art- und Gattungskreuzungen können durch Embryonenkultur (LAIBACH 1930) oder in-vitro-Befruchtung (KANTA et al. 1962) überwunden werden. Voraussetzung für die Embryonenkultur ist dabei ein Wachstum des Embryos bis zu einer Größe, die seine manuell-operative Trennung von Endosperm und Samenschale ermöglicht. Für die in-vitro-Befruchtung müssen für praktische Anwendbarkeit viele Ovarien in einem Fruchtknoten vereint sein. Die zweite Bedingung ist bei Gräsern nie, die erste nur teilweise erfüllt. Einen Ausweg aus diesen Schwierigkeiten bietet die Fruchtknotenkultur, deren Anwendbarkeit für die Herstellung von Bastarden bei *Gossypium* von JOSHI und JOHRI (1972) diskutiert wurde. Eine Anwendung für die Anzucht von Bastarden bei Gramineen ist noch nicht bekannt.

Im Jahre 1975 wurden bei Versuchen zur Kreuzung von *Lolium perenne* L., *Lolium multiflorum* Lam. und *Festuca pratensis* Huds. mit *Festuca rubra* L. der Sorten Encota und Topie nach Bestäubung von 15 577 Blüten keine Samen geerntet, bei der reziproken Kreuzung brachten 7529 Blüten ebenfalls keinen Ansatz. Auch Embryonenkultur war nicht möglich. Doch deuteten nach der Bestäubung angeschwollene Fruchtknoten darauf hin, daß eine Befruchtung stattgefunden haben könne. Die Embryonen scheinen bereits wenige Tage nach der Befruchtung abzusterben. Aufgrund dieser negativen Ergebnisse wurden zum Ende der Kreuzungsperiode eine Anzahl Fruchtknoten in Kultur genommen.

### Material und Methode

*Lolium perenne* L. der Sorte Perma wurde von Hand kastriert und mit Pollen von *Festuca rubra* L. der Sorte Encota bestäubt. Der Pollen war nach der von NITZSCHE (1970) beschriebenen Methode nach Mischung mit Eialbumin bei  $-80^{\circ}\text{C}$  für 43 Tage gelagert worden. 2, 5, 6, 7, 8, 9 und 10 Tage nach der Bestäubung wurden Fruchtknoten auf Nährmedien von MURASHIGE und SKOOG (1962), ergänzt mit 6 mg BAP (6-Benzylaminopurin) je Liter, aufgesetzt und bei  $+27^{\circ}\text{C}$  im Dunkeln kultiviert. Nach zwei Monaten wurden die Fruchtknoten für 15 Stunden bei  $+3^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt, anschließend auf ein Medium nach GAMBORG (1968), ergänzt mit 5 mg Folsäure/l, umgesetzt.

Einige infizierte Kulturen mußten vorzeitig ausgeschieden werden. Fruchtknoten aus diesen Kulturen wurden in Alkohol : Eisessig 3 : 1 fixiert, in Paraffin überführt und mit dem Mikrotom geschnitten.

### Ergebnisse und Diskussion

527 Blüten wurden bestäubt. 487 Fruchtknoten konnten auf Nährboden aufgesetzt werden. Nach kurzer Zeit färbten sich die meisten Fruchtknoten braun bis schwarz. Zwei Tage nach dem Umsetzen auf frisches Medium, etwa zwei Monate nach der Befruchtung, konnte an einem Fruchtknoten, der zusammen mit 74 anderen fünf Tage nach dem Bestäuben in Kultur genommen worden war, das erste Wachstum beobachtet werden. Es entwickelte sich eine Keimpflanze, die am Licht schnell ergrünte und 14 Tage später in Erde umgepflanzt werden konnte. Morphologisch ist der Bastardcharakter der Pflanze klar zu erkennen, da sie *Festuca rubra* ähnlicher ist als *Lolium perenne*.

16 Fruchtknoten aus infizierten Kulturen wurden mikroskopisch untersucht. In zwölf von ihnen konnte Embryo und/oder Endosperm nachgewiesen werden, ein Zeichen, daß die Befruchtungsrate recht hoch liegen muß. Bei Entwicklung besserer, speziell angepaßter Nährböden sollte es daher möglich sein, aus einem größeren Anteil befruchteter Samenanlagen Bastardpflanzen heranzuziehen. Damit sollte auch die Kreuzung noch weniger verwandter Arten möglich werden, da anschwellende Fruchtknoten nach der Bestäubung von Gramineen häufig beobachtet worden sind (KAPPERT-RUDOLF 1958).

Die Methode der Fruchtknotenkultur steht damit im Wettbewerb mit der Protoplastenfusion (CARLSON et al. 1972, MELCHERS und LABIB 1974, SCHIEDER 1974), die neue Wege weist, bisher aber noch nicht zu sexuell nicht erzielbaren Bastarden geführt hat. Die Fruchtknotenkultur hat gegenüber der Protoplastenkultur die Vorteile, daß

- a) keine Selektionsmechanismen angewandt werden müssen, um die Hybriden konkurrenzfähig zu machen,
- b) der erforderliche technische Aufwand geringer ist.

Welcher Methode der Vorzug zu geben ist, muß für jeden speziellen Fall im einzelnen entschieden werden.

### Zusammenfassung

Durch Fruchtknotenkultur war es möglich, einen Bastard zwischen *Lolium perenne* L. und *Festuca rubra* L. anzuziehen. Der Fruchtknoten wurde fünf Tage nach dem Bestäuben auf ein verändertes Murashige-Medium aufgesetzt, zwei Monate später auf ein mit Folsäure ergänztes Gamborg-Medium umgesetzt. Die herangewachsene Pflanze ähnelt morphologisch dem Rot-schwengel, so daß der Bastardcharakter wahrscheinlich ist.

## Summary

## Ovule Culture in Gramineae

By means of ovule culture it was possible to grow a hybrid between *Lolium perenne* L. and *Festuca rubra* L. Five days after pollination the ovule was cultured on a modified Murashige medium, and transferred after two months to a supplemented Gamborg medium. The developing plant looks morphologically like *Festuca rubra*, giving credence to its hybrid origin.

## Literaturverzeichnis

- CARLSON, P. S., H. H. SMITH, and R. DEARING, 1972: Parasexual interspecific plant hybridization. Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 69, 2292—2294.
- GAMBORG, O. L., and D. E. EVELEIGH, 1968: Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. Canad. J. Biochem. 46, 417—421.
- JOSHI, P. C., and B. M. JOHRI, 1972: In vitro growth of ovules of *Gossypium hirsutum*. Phytomorphology 22, 195—209.
- KANTA, K., N. S. R. SWAMY, and P. MAHESHWARI, 1962: Test tube fertilization in a flowering plant. Nature 194, 1214—1217.
- KAPPERT, H., und W. RUDOLF, 1958: Handbuch der Pflanzenzüchtung, 2. Aufl. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- LAIBACH, F., 1930: Kreuzungsschwierigkeiten bei Pflanzen und die Möglichkeiten ihrer Behebung. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 48, (58)—(77).
- MELCHERS, G., and G. LABIB, 1974: Somatic hybridization of plants by fusion of protoplasts. Mol. Gen. Genet. 135, 277—294.
- MURASHIGE, T., and F. SKOOG, 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plantarum 15, 473—497.
- NITZSCHE, W., 1970: The storage of grass pollen. Proc. XI Intern. Grassland Congr., 259—260. Surfers Paradise, Queensland, Australia.
- SCHIEDER, O., 1974: Selektion einer somatischen Hybride nach Fusion von Protoplasten auxotropher Mutanten von *Sphaerocarpos donellii* Aust. Z. Pflanzenphysiol. 74, 357—365.

Anschrift der Verfasser: Dr. W. NITZSCHE und L. HENNIG, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut), D-5000 Köln 30.