

## **Pollensterilität bei der Echten Kamille – Wege der Zielerreichung in der ökologisch verträglichen Pflanzenzüchtung**

Bettina Faehnrich<sup>1,2,3</sup>, Sarah Wagner<sup>1</sup>, Chlodwig Franz<sup>1</sup>, Beate Fraust<sup>4</sup>, Maria Wehrle<sup>4</sup>,  
Johannes Novak<sup>1</sup>, Joana Ruzicka<sup>1</sup>, Lars-Gemot Otto<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Veterinärmedizinische Universität Wien, AG Funktionelle Pflanzenstoffe, Österreich

<sup>2</sup>Universität für Bodenkultur, Institut für Pflanzenbau, Tulln, Österreich

<sup>3</sup>Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, Biomasse-Institut, Weidenbach

<sup>4</sup>Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK),  
AG Quantitative Genetik, Gatersleben

### **Zusammenfassung**

Die Echte Kamille ist eine Hauptkultur des Arzneipflanzenanbaus in Bayern, dessen Öko-Anteil stetig wächst. Mittels Bestäubungslenkung und Kreuzung werden Sorten mit erhöhter Anbaueignung gezüchtet. Dazu untersuchten wir 21 di- ( $2x$ ) und tetraploide ( $4x$ ) Herkünfte über drei Generationen auf spontane oder thermisch induzierte Pollensterilität (PS). Zwei Kreuzungsversuche mit den  $2x$  Herkünften *Bona* (BON) und *Hungary 2* (HUN2) wurden zur zytoplasmatischen männlichen Sterilität (CMS) durchgeführt. Nachkommen von zwei Pflanzen ( $2x$ ,  $4x$ ) mit spontan degenerierten Antheren ohne Pollen zeigten völlige männliche Sterilität bereits in der  $F_1$  (4 %, bei  $4x$ ) oder in der  $F_2$  und  $F_3$  (26 u. 18 %, bei  $2x$ ). Erhöhte Temperatur (30/28 °C Tag/Nacht) bewirkte erniedrigte Fertilität (42 % an Tag 3-7 vs. Kontrolle 77 %) und Nekrosen, die nach 2 Wochen regenerierten. Die Nachkommen der BONxHUN2 Kreuzungen (BH) zeigten im Mittel 30 und 22 % PS, vs. 8 und 20 % bei reziproker Kreuzung. P vs.  $F_1$  resultierte in signifikante PS-Erhöhung ( $p < 0.001$ ). Rückkreuzungen von BH mit HUN2 in väterlicher und mütterlicher Richtung erhöhten die PS (24 u. 32 %), wobei Richtungsgebundenheit und CMS nicht bestätigt werden konnten.

### **Abstract**

German chamomile is one of the main medicinal crops in Bavaria, shares of the organic cultivation of which are growing continuously. Controlled pollination and crossing lead to new cultivars with increased suitability. Therefore, we screened 21 di- ( $2x$ ) and tetraploid ( $4x$ ) accessions over three generations for spontaneous or temperature-induced pollen sterility (PS) of hermaphroditic mother lines. Two trials with the  $2x$  accessions *Bona* (BON) and *Hungary 2* (HUN2) tested maternally inherited cytoplasmic male sterility (CMS). Progeny of two plants ( $2x$ ,  $4x$ ) with spontaneously degenerated anthers without pollen showed 100 % PS in  $F_1$  (4 %, from  $4x$ ) or in  $F_2$  and  $F_3$  (26 and 18 %, from  $2x$ , resp.). High temperature (30/28 °C day/night) decreased male fertility (42 % on days 3-7 vs. 77 % control) and caused general capitula necrosis. After two weeks, the plants recovered. Progeny of two BON x HUN2 crossing trials (BH) revealed means of 30 and 22 % PS, vs. 8 and 20 % after reciprocal crossings. P vs.  $F_1$  in both trials showed increasing PS with inter-cultivar crossings ( $p < 0.001$ ).

Backcrosses of BH with HUN2 in paternal and maternal direction again revealed increasing mean PS (24 and 32 %), whereas CMS could not be verified.

## 1 Einleitung

Kamille ist eine Hauptkultur des ca. 2400 ha umfassenden Heil- und Gewürzpflanzen-Anbaus in Bayern, bei dem man bei ökologischer Produktion mit hoher Wertschöpfung und stetigen Zuwächsen rechnen kann (Baumert 2015, KTBL 2015). Laut LfL (2018) gibt es in Bayern bereits > 500 ha Öko-Anbau von Heil- und Gewürzpflanzen. Zur Erhöhung der Anbaueignung von Kamille, z.B. durch Verhinderung des Durchwuchses in Folgekulturen, werden spezielle Sorten durch entsprechende Kreuzungen gezüchtet. Bei zwittrigen Pflanzen inkludiert dies die Notwendigkeit, Selbstungen zu unterbinden, z.B. durch Verwendung von männlich sterilen (MS) Mutterpflanzen. Es war das Ziel dieser Arbeit, bei der Echten Kamille (*Matricaria recutita* L.), (i) spontane MS aufzufinden, bzw. die Vererbung in den Folgegenerationen zu beobachten, (ii) induzierte MS durch Temperaturerhöhung zu generieren und deren Stabilität im Zeitverlauf zu verfolgen, sowie (iii) vorangegangenen Hinweisen auf natürliche zytoplasmatische männliche Sterilität (CMS) bei Kreuzungen bestimmter Herkünfte (Sorte 'Bona' (BON) als Mutterlinie, Faehnrich *et al.* 2013) über Folgegenerationen und Rückkreuzungen nachzugehen. Die Züchtungsansätze verstehen sich mit der ganzen Pflanze, ohne Verwendung von Gentechnologie, ohne Anwendung chemisch synthetischer Stoffe (BÖLW 2018).

## 2 Material und Methoden

Das Versuchsdesign gliederte sich in drei Teile

- 1) spontane MS bei den 2x und 4x Herkünften BON und 'Aromi' (ARO), bis zu 3 Folgegenerationen von jeweils einer MS-Parentalpflanze, Merkmal: Pollensterilität (PS)
- 2) Thermische Induktion von MS bei 21 2x- u. 4x Herkünften, 1 Generation, Merkmale: PS, Blütenkopfzustand
- 3) Zwei Versuche zur Erreichung von CMS nach Kreuzungen zwischen BON und 'Hungary 2' (HUN2), zwei Folgegenerationen, Merkmal: PS.

Folgegenerationen wurden entweder durch offenes Abblühen der Parentalpopulation oder durch gezielte Kreuzungen nach manueller Emaskulierung, Isolation und Bestäubung erzielt. Zur thermischen MS-Induktion wurden 96 Pflanzen in der Phytokammer bei Langtag und 70 % rF für 6 Tage bei erhöhter Temperatur (30/28 °C - Tag/Nacht) gehalten. In vier Abschnitten (3-7, 8-13, 14-19 und 20-24 Tage) nach der Erhöhung wurde PS gemessen. Pollensterilität wurde nach visueller Evaluierung und nach Karmin-Essigsäurefärbung (KES) von reifem Pollen von bis zu fünf Blütenkörbchen unter dem Lichtmikroskop in Prozent festgestellt (Abb.1).

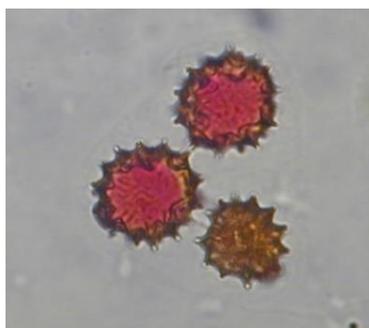


Abb. 1: Pollen von *Matricaria recutita* KES-Färbung. Rechts unten ein infertiles Pollenkorn, gelblich und kollabiert. Die anderen Pollen, links und oben, sind vital. Sie erscheinen deutlich rot mit intaktem äußeren Sporoderm und Zytoplasma im Inneren

### 3 Ergebnisse

(i) Eine zu 100 % MS-Ausgangspflanze der 2x Sorte BON zeigte in der F<sub>1</sub>-Generation nur männlich fertile Nachkommen (52 Pflanzen, 49 blühend) mit Werten der Pollenfertilität vergleichbar zur Kontrolle (29 diploide Pflanzen mit einem Mittel von 82 % Fertilität). In F<sub>2</sub> (732 blühende Pflanzen) fanden sich 26 % völlig MS-Pflanzen. F<sub>3</sub> zeigte 18 % MS-Pflanzen. Eine zu 100 % MS-Ausgangspflanze der Herkunft 'Aromi' produzierte 290 F<sub>1</sub> Pflanzen, davon 198 blühend, von denen 8 MS (4 %) waren.

(ii) Die thermische Induktion verursachte eine deutliche Erniedrigung der Pollenfertilität in den Zeitabschnitten 3-7 Tage und 8-13 Tage nach der Temperaturerhöhung. Es zeigte sich keine 100 % pollensterile Pflanze, die Pflanzen regenerierten nach mehr als zwei Wochen (Abb. 2). Starke Genotyp-Variationen fanden sich in den ersten beiden Zeitabschnitten. Der allgemeine Blütenkopfzustand zeigte zeitlich etwas versetzt im Zeitabschnitt 8-13 Tage nach Temperaturerhöhung den höchsten Anteil an schweren Schäden mit komplett verbräunten Blütenköpfen, danach ergab sich auch hier eine Regeneration.

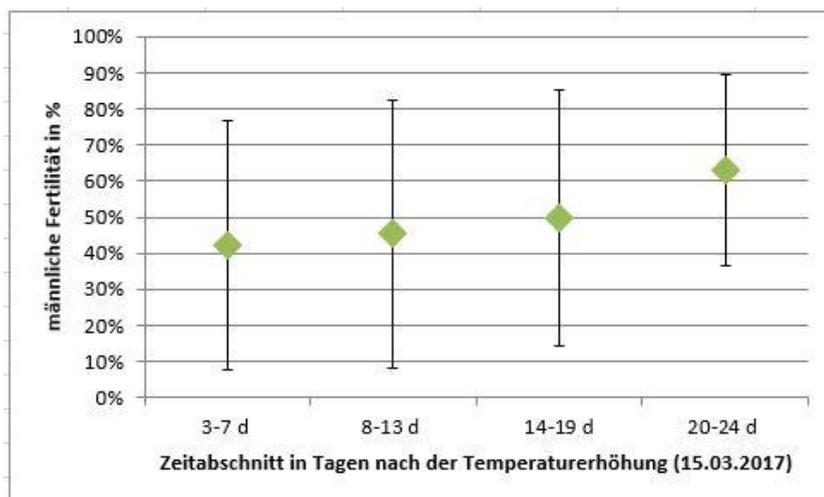


Abb. 2 Durchschnittliche männliche Fertilität im zeitlichen Verlauf nach erhöhter Temperatur (30 °C/28 °C - Tag/Nacht). Auswertung von 96 Pflanzen aus 21 Herkünften, die männliche Fertilität der Kontrollen liegt im Durchschnitt bei 77 %

(iii) Im ersten Versuch zeigten die reinen Parentalpopulationen BON und HUN2 durchschnittliche PS-Werte von 0,55 und 1,27 %, im zweiten Versuch lagen diese Werte bei 1,60 und 1,62 %. Eine statistische Absicherung ergab mit  $p = 0,242$  vergleichbare Ausgangsbedingungen der beiden Versuche. Die PS der Nachkommen der Kreuzung BONxHUN2 (BH) ergaben 30,36 % und 22,42 %. Die reziproke Kreuzung HUN2xBON (HB) zeigte 8,20 und 20,07 % PS. Es ergab sich damit bei beiden Versuchen eine signifikante Verstärkung der PS durch interkultivare Kreuzungen ( $p < 0,001$ ), die Kreuzungsrichtung spiegelte diesen Effekt nicht wider ( $p > 0,05$ ). Rückkreuzungen der BH mit HUN2 erhöhten die PS wiederum (24 und 32 %, je nach Kreuzungsrichtung) und zehn Pflanzen entwickelten  $< 30$  % Pollenfertilität.

### 4 Diskussion und Schlussfolgerung

Die erst in F<sub>2</sub> und F<sub>3</sub> wiederauftretende MS in der 2x Sorte BON deutet auf eine kerngenetische und nach Mendel vererbte rezessive Disposition der MS hin. In der polyploiden Herkunft ARO trat bereits in der F<sub>1</sub> wieder MS auf.

Thermisch induzierte MS kann transient sein oder durch Hitzeschock-Mutationen stabil erhalten bleiben (Ye *et al.* 2014). In unserer Studie wird zeitlich begrenzt eine teilweise MS

durch Hitzebehandlung erzielt. Da auch keine 100 % PS Pflanze auftrat, ist die Methode zur sicheren Bestäubungslenkung bei der Echten Kamille ungeeignet, sie könnte aber zur Erhöhung der Fremdbefruchtungsrate im Zuchtprozess verwendet werden.

CMS kann durch Kreuzung verwandtschaftlich weit entfernter Zuchtlinien auftreten (Ivanov und Dymshits 2016), wobei oftmals wiederholte Rückkreuzungen notwendig sind, um das nuklear-zytoplasmatische Merkmal der MS zu etablieren. Im Falle von *Matricaria recutita* scheint es eine Erhöhung von PS durch interkultivare Kreuzung innerhalb der Art zu geben, eine besondere Eignung der Muttersorte BON erscheint durch die Ungebundenheit der Kreuzungsrichtung unwahrscheinlich. Die Fragestellung zu der vorliegenden Arbeit entspricht den Anforderungen aus der Praxis, Arzneipflanzen als nachhaltige Spezialkultur sinnvoll in Fruchtfolgesysteme zu integrieren, Unkräuter ohne Herbizide zu kontrollieren, die Biodiversität im Landbau zu erhöhen und den Bedarf an ökologisch produzierten Rohstoffen für die Naturheilkunde abzudecken (Straub 2017; BÖLW 2018).

## Danksagung

Dieses Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) über die Fach-agentur nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) gefördert (FKZ 22006314 und 22008718).

## 5 Literaturverzeichnis

- Baumert A. (2015) Einführung in den Heil- und Gewürzkräuteranbau. Naturland - Verband für ökologischen Anbau e.V. [www.naturland.de](http://www.naturland.de)
- BÖLW (2018) Ökologische Pflanzenzüchtung: ein Beitrag zu Vielfalt und Resilienz in der Landwirtschaft - BÖLW Positionspapier. Bund Ökologischer Lebensmittelwirtschaft, Berlin
- Faehnrich B, Nemaz P & Franz C (2013) Self-incompatibility and male sterility in six *Matricaria recutita* varieties. *Journal of Applied Botany and Food Quality* (86): 167-171
- Ivanov M & Dymshits G (2006) Cytoplasmic male Sterility and Restoration of Pollen Fertility in Higher Plants. *Russian Journal of Genetics* 43 (4): 354-368
- KTBL (2015) Faustzahlen für den ökologischen Anbau. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft, Darmstadt
- LfL (2018) Flächennutzung im Ökologischen Landbau in Bayern 2018. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Ernährungswirtschaft und Märkte, München
- Straub M (2017) Besonderheiten und Potenziale des ökologischen Anbaus von Arznei- und Gewürzpflanzen. In: FNR (Hrsg): Gülzower Fachgespräche, Band 56. Arzneipflanzenanbau in Deutschland - mit koordinierter Forschung zum Erfolg. 20.-21.6.2017, Schweinfurt
- Ye A, Yanhong H, Yan H, Qinghua Z, Chen P & Manzhu B (2014) Characterization of a novel male sterile mutant of *Tagetes patula* induced by heat shock. *Euphytica* (200): 159-173

Zitiervorschlag: Faehnrich B, Wagner S, Franz C, Fraust B, Wehrle M, Novak J, Ruzicka J, Otto L (2020): Pollensterilität bei der Echten Kamille – Wege der Zielerreichung in der ökologisch verträglichen Pflanzenzüchtung. In: Wiesinger K, Reichert E, Saller J, Pflanz W (Hrsg.): Angewandte Forschung und Entwicklung für den ökologischen Landbau in Bayern. Öko-Landbautag 2020, Tagungsband. –Schriftenreihe der LfL 4/2020, 105-108