

KURZE MITTEILUNG

Die Ursachen der Sterilität von *Allium sativum* L.

O. KONVIČKA

Institut für experimentelle Botanik der Tschechoslowakischen Akademie
der Wissenschaften, Praha; Arbeitsstelle Olomouc*

Eingegangen am 1. Oktober 1972

Causes of Sterility in *Allium sativum* L.

Abstract. A fully normal meiosis was found in *Allium sativum* L. by means of PMC analysis. Quadrivalents were formed only in several cultivars. The cultivation of inflorescence stem (after the extirpation of bulblets) in a tetracycline solution of 900 i.u. induced a formation of fertile flowers. The first pollen mitosis was studied and the pollen parameters compared with those of *Allium cepa* L. Evidence for the pollen sterility was given by crossings on sterile types. A microbiological factor was not isolated.

Allium sativum ist eine alte Kulturpflanze. Ihre Reproduktion erfolgt ausschliesslich vegetativ — entweder durch kollaterale Knospen oder durch Brutzwiebeln (Viviparumzwiebeln). Aus diesem Grunde wurde ihre Evolution meistens auf somatische Mutationen von Klonen begrenzt. Die Blüten werden durch die Brutzwiebeln bedrückt und nach deren Extirpation können sich die Blüten entwickeln. Die Meiose verläuft meistens normal mit Ausnahme einiger Kultivare, die einen Ring (z. B. die Provenienz aus Lund u. a.) mit Folgen in IA bilden. Die Meiose ist durch 8 freie Bivalenten gekennzeichnet und IA ist vollkommen normal (LEVAN 1929, KONVIČKA und LEVAN 1972). In der normalen Meiose treten jedoch in späteren Stadien Störungen auf. Nach dem Tetradenzerfall verläuft unter normalen Verhältnissen bei *Allium* die 1. pM, welche bei *Allium sativum* blockiert ist (KONVIČKA 1972). Mikroskopische Schnittpräparate zeigen hypertrophierte Tapetumstörungen, welches als sekretorisches Gewebe für die Ernährung von PMZ und Mikrosporen verantwortlich ist. Das Tapetum bleibt viel länger funktionsfähig als bei normal fertilen Pflanzen und wächst oft zu einem Plasmodium aus. Die Blockade der 1. pM ist ein Zeichen der Stagnierung der Entwicklung und Degenerierung von Mikrosporen. Die jungen Pollenkörner, welche zwar charakteristisch behautet sind, bleiben einkernig; der plasmatische Inhalt schrumpft ein, weitgehend kommt es zum Verlust der selektiven Anfärbbarkeit und schliesslich kommt es zur Abortion. Die Staubbeutel verlieren ihr Aussehen, sind ohne Spannung und bleiben geschlossen, eingeschrumpft.

Ein ähnliches Bild zeigen die pollensterilen Pflanzen von *A. cepa*, *Sorghum*, *Beta*, *Daucus*, *Nicotiana*, *Lycopersicum* u. a. (BROOKS und CHIEN 1966, ANDRASZALVY 1969, ZERNEKE 1972). Diese Sterilitätstypen, wie sie allgemein charakterisiert werden, haben ihren Ursprung in Mutationen. Das würde bedeuten, dass falls es sich bei *A. sativum* um eine cytoplasmatische oder genetische Sterilität handeln würde, man im Verlauf der Evolution von *A. sativum* eine Rück-

* Adresse: Sokolovská 6, 772 00 Olomouc, Tschechoslowakei.

mutation finden müsste, welche zur Entwicklung von fertilen Kultivaren führen würde. Das zeigt auf die Tatsache hin, dass bei *A. sativum* die Sterilität anderer Herkunft als eine Mutation ist. Der Hybridisierungsbeweis kann nicht vorgelegt werden, da kein Pollenspender vorhanden ist. Die tapetelle Funktionsstörung sagt an, dass die Sterilität durch Nahrungsstörung (KOTL und GOHRL 1970) zustandekommen kann und dass ausser der genetischen Einflüsse auch physiologische oder mikrobielle Einflüsse Anteil haben können. Das führte uns in Einklang mit EHRMANN (1967) zur Erwägung, dass die Störung durch einen mikrobiellen Faktor, welcher in Symbiose lebt, verursacht werden könnte. Dieser würde nicht die diploiden somatischen Zellen, sondern nur die haploiden Zellen oder den mikrosporischen Apparat beschädigen. Dieser kann entweder direkt in den Reproduktionsorganen oder in den Ernährungswegen lokalisiert werden. Seine Wirkung kann auf eine bestimmte genetische Konstitution gebunden sein. KERNAGHAM und EHRMANN (1970) erbrachten den Nachweis, dass bei *Drosophila paulistorum* die männliche Sterilität gewisse Stämme von mikrobiellen Symbionten, die den Vertretern der Reihe Mycoplasmales ähnlich sind, verursachen.

Aus diesem Grunde wurden in dieser Arbeit drei tetracyclische Antibiotika verwendet und deren Einfluss auf die Gonogenese verfolgt:

Applizierte Antibiotika	Wirksamkeit [int. Einh. mg ⁻¹]	Verdünnung [g l ⁻¹ H ₂ O]	Variante Nr.
Tetracyclin-hydrochlorid	900	1	1
		2	2
Oxytetracyclin-hydrochlorid	960	1	3
		2	4
Chlortetracyclin-Base	900	1	5
		2	6

Die Applikation wurde bei einigen Kultivaren von *A. sativum* (Sammlung des Institutes) durchgeführt, welche in der Zeit der ersten Applikation, d. h. am 10. Juni, entwickelte Blütenstengel zeigten.

Die Formen der Applikation waren folgende:

P = erste Besprühung (Aerosol) auf das Blatt am 10. Juni; 2 ml der Lösung auf 1 Pflanze

Po = zweite Besprühung (Aerosol) auf das Blatt am 10. Juni; 2 ml/Pfl.

it = Injektion in den Köcher am 10. Juni; 0,2 ml/Pfl.

ip = Injektion in die Blattscheide am 10. Juni; 0,5 ml/Pfl.

K = Kultivierung der Blütenstiele nach Extirpation der Brutzwiebeln in 300 ml Wasser mit 1 ml Antibiotikumlösung No. 1 bis 6. In 1 Dosis (300 ml) je 2 Stiele. Die Lösung wurde jede Woche gewechselt.

Ko = Kontrolle

M = Beizung des Blütenstandes nach Extirpation der Brutzwiebeln in der Antibiotikumlösung; 0,2 ml/Pfl.

Die einzelnen Antibiotika haben bei derselben Applikationsform verschiedene Toxizität erwiesen: Tetracyclin-hydrochlorid war wenig toxisch, Oxytetracyclin-hydrochlorid war mittel toxisch, und Chlortetracyclin-Base war stark toxisch (Tab. 1).

Im Verlauf der Entwicklung der Blütenknospe wurde die Abnahme der PMZ durchgeführt. In der Zeit der Anthese wurde die Erscheinung von fertilen Antheren und der Verlauf der 1. pMZ beobachtet.

Nach bestimmten Applikationen haben sich bei einigen Kultivaren in der Zeit der Anthese fertile Blüten gezeigt. Das erste Zeichen der fertilen Blüten war die „lila“ Farbe der Staubbeutel (Antheren), während die sterilen Antheren gelb sind. Die Oberfläche war glatt und rund, wie sie bei fertilen Alliumarten vorkommt (Abb. 1).

TABELE 1
DIE VISUELL BETRACHTETE TOXIZITÄT DER APPLIZIERTEN ANTIBIOTIKA

Antibiotikum	Tetracyclin-hydrochlorid		Oxytetracyclin-hydrochlorid		Chlortetracyclin-Base
	1	2	1	2	
Verdünnung [g l ⁻¹ H ₂ O]	1	2	1	2	1; 2
Applikations- formen: toxische Merk- male	<i>P</i> , <i>it</i> , <i>ip</i> , <i>Po</i> , <i>K</i> , <i>M</i> : keine	<i>P</i> : schwache Schlaf- heit der Blätter <i>it</i> , <i>ip</i> : schwache Ne- krosen traten später zum Vorschein <i>Po</i> , <i>K</i> , <i>M</i> : keine	<i>P</i> : Blätterschlaflheit im späteren Stadium; <i>it</i> : spätere Köcher- nekrosen <i>ip</i> : spätere Blätter- nekrosen; <i>Po</i> : spätere schwache Blätterschlaflheit; <i>K</i> , <i>M</i> : keine	<i>P</i> : spätere Blätter- schlaflheit; <i>it</i> : spätere deutliche Köchernekrosen; <i>ip</i> : spätere deutliche Blätternekrosen; <i>Po</i> : spätere schwache Blätterschlaflheit; <i>K</i> , <i>M</i> : keine	<i>P</i> : sichtbare unmittelbare Blät- terschlaflheit; <i>it</i> : sichtbare Köchernekrose kurz nach Applikation; <i>ip</i> : sichtbare Blätternekrose kurz nach Applikation; <i>Po</i> : Blätterschlaflheit; <i>K</i> , <i>M</i> : keine

TABELLE 2
APPLIKATION DER ANTIBIOTIKA bei *Allium sativum* L.

Kultivar	M	Po	K	P	it	ip	Ko
1. Gruzínský	Sà ps 4	36	90	13	—	—	10
Severský	Sà ps 4	—	5	1	—	—	—
Uzbecký	Sà ps —	—	—	9	—	—	10
Dvuručka	Sà ps —	—	—	2	—	—	—
Gribovský	Sà ps —	—	23	1	—	—	10
Jampolský	Sà ps —	—	1	2	—	—	—
Adižanský	Sà ps —	—	14	2	—	—	10
Olomoucký	Sà ps —	—	2	2	—	—	—
	Sà ps —	—	21	2	—	—	10
	Sà ps —	—	1	1	—	—	—
	Sà ps —	—	17	2	—	—	10
	Sà ps —	—	1	—	—	—	10
	Sà ps —	—	29	1	—	—	10
	Sà ps —	—	3	—	—	—	—
	Sà ps —	—	10	1	—	—	—
	Sà ps —	—	10	2	—	—	10
	Sà ps —	—	1	—	—	—	—
	Sà ps —	—	—	2	—	—	—
	Sà ps —	—	204	26	29	17	11
	Sà ps —	—	4	1	—	—	80
	Sà ps —	—	14	21	—	—	10
	%	10	6,9	8,8	—	—	—

Die Antheren öffnen sich durch einen Längsschlitz (Abb. 2a, b). Der Pollen war zweikernig (Abb. 3), und ziemlich grösser als der Pollen von *A. cepa*. Seine Parameter waren [μm]:

	$\bar{x}$	s	s_x	v
<i>A. sativum</i>	68,72	3,25	0,327	12,98
<i>A. cepa</i>	50,63	3,21	0,281	16,97

Die Analyse der Antheren hat gezeigt, dass die 1. pM normal verläuft (Abb. 4 und 5) und dass die Pollenfertilität je nach Kultivar im Zusammenhang mit dem Meioseverlauf resp. den Meiosestörungen verschieden ist. Die Pollenfertilität nach verschiedenen Applikationen zeigt die Tafel 2. Wirksam waren nur drei Applikationen: Beizung des Blütenstandes (auf der Pflanze), Bespritzung des Blattes in der Zeit vom 6. – 10. Juli und hauptsächlich die Kultivierung der abgeschnittenen Blütenstiele mit extirpierten Brutzwiebeln in der Antibiotikumlösung Nr. 1, d. h. von 2 Stielen in 300 ml Tetracyclin-hydrochlorid-Lösung mit der Wirksamkeit cca 900 int. Einh. Die anderen 2 Antibiotika waren ziemlich toxisch. Die drei erfolgreichen Applikationen führten zu folgendem Prozentsatz an fertilen Pflanzen:

	<i>Samen</i>	partiell fertile		vollkommen fertile	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<i>M</i>	40	4	10	—	—
<i>Po</i>	204	14	6,9	—	—
<i>K</i>	26	1	4,8	21	88,08

Der Pollen wurde künstlich auf die Narben übertragen, einerseits auf einige fertile Blüten, andererseits auf die Narben der pollensterilen und -fertilen Blüten anderer Kultivare. Fast in allen Fällen hat sich bald die Embryoentwicklung der bestäubten Blüten gezeigt und hat die charakteristische Form angenommen (Abb. 6). Der Blütenstiel von *A. sativum* unterliegt jedoch allgemein bald der Nekrose, ohne dass dieser fähig ist die Embryo zu ernähren. Obzwar die kultivierten Stiele länger als unter natürlichen Bedingungen erhalten werden konnten, trugen sie nicht normale Samen. Ein Teil der angesetzten Embryos wurde auf Agarboden kultiviert. Der Rest wurde natürlich reifen gelassen.

Die Entwicklung der Pollenfertilität bei *A. sativum* durch Applikation von Tetracyclin-hydrochlorid zeigt auf eine mikrobielle Ursache der Sterilität bei dieser Art hin. Der mikrobielle Faktor wurde zwar nicht isoliert, jedoch mit Rücksicht auf die Befunde bei *Drosophila paulistorum* (EHRMANN 1937, KERNAGHAN und EHRMANN 1970) und bei Mais (EDWARDSON 1962) und mit Rücksicht auf die Tatsachen in der Einleitung, kann man folgern, dass der mikrobielle Faktor aus dem Bereich der Viren oder Mycoplasmales sein könnte.

Die Kreuzung mit sterilen Blüten hat gezeigt, dass nur der mikrosporische (männliche) Apparat steril ist, und die Störung wahrscheinlich durch das Tapetum realisiert wird. Die Be-

ziehung des mikrobiellen Faktors zum Genotyp kann erst die genetische Analyse der Hybridnachkommenschaften zeigen.

Wo der mikrobielle Faktor lokalisiert ist, ist noch nicht bekannt. Falls der Mikroorganismus, welcher die Sterilität verursacht, isoliert werden könnte und beziehungsweise planmässig auf geeignete Pflanzen übertragen werden könnte, so könnte dies neues Licht auf die Sterilitätsfrage von *A. sativum* werfen. Es wäre wichtig festzustellen, ob es sich um universale oder spezialisierte Symbionten handelt und in welchem Zusammenhang dieser Sterilitätstypus bei *A. sativum* zur *A. cepa*-Sterilität steht.

Weiterhin bleibt die Frage der vorzeitigen Nekrose von Blütenstielen und das Heranreifen der Embryos ungelöst.

Abbildungen am Ende des Heftes.

Literatur

- ANDRASFALVY, A.: Die Pollensterilität und ihre Bedeutung in der Züchtungsforschung. — Vortrag in Rostock 1969, nach ZERNEKE 1972.
- BRČÁK, J., KRÁLÍK, O., LIMBERK, J., ULRYCHOVÁ, M.: Mycoplasma-like bodies in plants infected with the potato witches broom disease and the response of plants to tetracycline treatment. — Biol. Plant. **11** : 470—476, 1969.
- BROOKS, H. M., BROOKS, J. S., CHIEN, L.: The anther tapetum in cytoplasmic genetic male sterile *Sorghum*. — Amer. J. Bot. **53** : 902—908, 1966.
- BREWBAKER, J. L.: Agricultural Genetics. — Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey 1964.
- EDWARDSON, J. R.: Cytoplasmic differences in T-type cytoplasmic male-sterile corn and its maintainer. — Am. J. Bot. **49** : 184—197, 1962.
- EHRMANN, L.: A study of infectious hybrid sterility in *Drosophila paulistorum*. — Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **58** : 195—198, 1967.
- KERNAGHAN, R. P., EHRMANN, L.: An electromicroscopic study of the etiology of hybrid sterility in *Drosophila paulistorum* L. — Chromosoma **29** : 291—304, 1970.
- KONVIČKA, O.: Cytotaxonomische Studien von vier sterilen Arten der Gattung *Allium*. — Biol. Plant. **14** : 62—70, 1972.
- KONVIČKA, O., LEVAN, A.: Chromosome studies in *Allium sativum* L. — Hereditas **72** : 129—148, 1972.
- KOUL, A. K., GOHIL, R. N.: Causes averting sexual reproduction in *Allium sativum* L. — Cytologia **35** : 197—202, 1970.
- LEVAN, A.: Zahl und Anordnung der Chromosomen in der Meiosis von *Allium*. — Hereditas **13** : 80—86, 1929.
- ZERNEKE, F.: Zytologische Untersuchungen an pollensterilen Kernmutanten von *Lycopersicon esculentum* MILL. — Arch. Züchtungsforsch. **2** : 185—197, 1972.