Originalarbeit
Original paper

Mikroskopie, Jahrgang 8, Nr. ■/2021, S. 1–6

T. Stebler und A. Lüdi

Stachelmohn: Hybridisierung und Pollenanalyse

Schlüsselwörter
Argemone grandiflora – Stachelmohn – Pollenanalyse – Hybride – Pollen – Pollenform – Morphologie – Formvarianz

Key words
argemone grandiflora – pollen – analysis – hybrids – form – morphology – deviation

Stachelmohn: Hybridisierung und Pollenanalyse

Im Pflanzenreich sind Hybridisierungen häufig. Meist sind diese Hybriden steril, können sich aber oft vegetativ vermehren. Es wurde in der Literatur [6] darauf hingewiesen, dass sich eine Hybridisierung von *Argemone mexicana* mit *Argemone ochroleuca* in deutlichen Anomalien der Pollenformen und Pollengrössen zeigt. In der Sammlung des Pollen-Wikis befinden sich Pollenpräparate von *Argemone grandiflora* und *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae). Diese beiden Arten zeigten beide ebenfalls von der Norm abweichende Pollenkörner. Bei beiden *Argemone*-Arten war allen Pollenkörnern eine reticulate Pollenwand und eine ornamentierte Aperturmembrane gemeinsam. Bei *A. grandiflora* wurden verschiedene Pollenformen gefunden: tricolpat, tetracolpat, triporat und periporat. Die Grösse der Pollenkörner lag bei 35 – 36 µm. Daneben wurde eine Art „Kleinpollen" gefunden. Dieser war etwa 24% kleiner als der tricolpate Pollen. Auch bei diesem „Kleinpollen" wurden verschiedene Pollenformen beobachtet: periporat und triporat. Bei *A. subfusiformis* fand sich in einem Pollen-Präparat (19-070-1) meist schön ausdifferenzierter, tricolpater Pollen. Die Größe lag im Mittel bei etwa 34 µm. In einem weiteren Präparat (19-070) wurden, ähnlich wie bei *A. grandiflora,* Pollenkörner mit unterschiedlichen Pollenformen gefunden: tricolpat, pericolpat und syncolpat. Dieser Pollen war mit 38 µm grösser. Bei reinrassigen *Argemone*-Arten ist der tricolpate Pollen die Norm. Wie in der Literatur für *A. mexicana* und *A. ochroleuca* beschrieben, handelt es sich daher auch bei den hier untersuchten Pollenpräparaten mit unterschiedlichen Pollenformen um Hybriden (*A. grandiflora* und *A. subfusiformis* Nr. 19-070). Nur bei Präparat 19-070-1 mit dem schön ausgeprägten tricolpaten Pollen liegt eine reinrassige Form vor. Mittels der Pollenanalyse konnte also auf eine Hybridisierung rückgeschlossen werden. Bei Hybriden scheint die Bildung der Keimzellen oft Störungen zu unterliegen und resultiert dann in abweichenden, zum Teil abnormen Pollenformen.

Prickly poppy: hybridization and analysis of pollen

In the plant kingdom the formation of hybrids is common. Most of these hybrids are sterile but can often reproduce vegetatively. It was found in the literature [6] that a hybridization of *Argemone mexicana* with *Argemone ochroleuca* shows anomalies of the pollen shape and size. The Pollen-Wiki collection contains pollen samples from *Argemone grandiflora* and *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) which show deviations in pollen shape and size also. In both *Argemone* species all pollen grains showed a reticulate pollen wall and an ornamented aperture membrane. Different pollen forms were found in *A. grandiflora*: tricolpate, tetracolpate, triporate and periporate. The size of the pollen grains was 35 – 36 µm. In addition, a kind of "small pollen" was found. This was about 24% smaller than the tricolpate pollen. Various forms of pollen were also found in this "small pollen": periporate and triporate. In *A. subfusiformis*, a pollen preparation (19-070-1) showed nicely differentiated, tricolpate pollen. The average size was around 34 µm. In another sample (19-070), as in *A. grandiflora*, pollen grains with different pollen forms were found: tricolpate, pericolpate and syncolpate. The mean size of this pollen was bigger (38 µm). In purebred *Argemone* species, tricolpate pollen is the norm. As shown in the literature for *A. mexicana* and *A. ochroleuca*, the pollen samples from Pollen-Wiki with deviations in pollen form and size were hybrids (*A. grandiflora* and *A. subfusiformis* No. 19-070). Only sample 19-070-1 with its distinctly tricolpate pollen is a pure-bred. With the help of pollen, analysis we were able to conclude that these samples must be coming from hybrid plants. In hybrids, the formation of the germ cells is difficult and results in deviating and sometimes abnormal pollen forms.

© 2021
Hachinger Verlag
ISSN 2197-4543 (print)
ISSN 2197-4551 (online)
DOI 10.5414/MKX00296

Abb. 1. Stachelmohn (*Argemone grandiflora*) aus der Familie der Mohngewächse (Papaveraceae). Aus Pollen-Wiki.

Einleitung

In „Hybridisierung“ steckt das lateinische Wort Hybrida und bedeutet Mischling. Die Herkunft von Hybrida selbst ist unklar. Es wird vermutet, dass man darunter ursprünglich einen Mischling zwischen einem Wildschwein und einem Hausschwein verstanden hat. Erst später hat man den Begriff auch auf andere Mischwesen (Tiere und Pflanzen) übertragen. Neben „Hybride“ sind auch die Synonyme Bastard oder Mischling in Gebrauch.

Hybridisierung kommt schon lange in der Züchtung bei Kulturpflanzen und Zuchttierrassen vor. Dabei vermischen sich genetisch speziell gewünschte Merkmale zu einer neuen Art. Zur Abgrenzung der künstlich erzeugten Hybriden bezeichnet man die in der Natur ohne menschliches Zutun entstandenen Kreuzungen als Naturhybriden. Sie dienen als treibender Faktor bei natürlichen Evolutionsprozessen, denn die Hybridbildung kann die genetische Vielfalt innerhalb der Arten festigen. Teilweise sind die entstehenden Arthybriden steril. Zwei dafür bekannte Beispiele aus dem Tierreich sind der Maulesel (Pferdhengst x Eselstute) und das Maultier (Eselhengst x Pferdestute) [1, 2, 3].

Auch bei den Pflanzen gibt es zahlreiche Beispiele für Hybridisierungen: So ist die *Anemone lipsiensis* (Leipziger Busch-Windröschen) eine Naturhybride der bekannten *Anemone nemorosa* (Busch-Windröschen) und *Anemone ranunculoides* (Gelbes Windröschen) und die Gartenerdbeere (*Fragaria ananassa*) ist eine Kreuzung von *Fragaria chiloensis* (Chile-Erdbeere) und *Fragaria virginiana* (Scharlach-Erdbeere). Durch mehrfache Hybridisierung der Wildgräser *Aegilops speltoides* und *Aegilops squarrosa* ist auch unser Kulturweizen (*Triticum aestivum*) entstanden [4].

Bei der Pflanzenzüchtung wird der Pollen von der Blüte einer Pflanze auf die Narbe einer anderen Pflanze übertragen. Nach den Mendelschen Vererbungsgesetzen wird so das Erbmaterial zweier verschiedener Pflanzen durch Kreuzung neu kombiniert. Die Praxis zeigt allerdings, dass nur in wenigen Fällen eine neue Pflanze mit den gewünschten Eigenschaften entsteht. Naturhybridisierungen sind im Pflanzenreich häufig. Meist sind die pflanzlichen Hybriden steril, können sich aber je nach Art auch vegetativ vermehren. Es scheint, dass die Bildung der Keimzellen bei Hybriden Probleme bereiten kann und auch nicht immer erfolgreich ist. Oft findet man bei ihnen auch eine Vervielfältigung des Chromosomensatzes [5].

Doch nicht jede Hybridisierung führt zu einer neuen Art oder zeigt neue, äusserliche Merkmale. Das Mischen des Genpools kann sich auch in subtileren Änderungen in der „neuen“ Pflanze äussern. Chaturvedi und Mitautoren [6] haben darauf hingewiesen, dass sich eine Hybridisierung von *Argemone mexicana* mit *Argemone ochroleuca* in Anomalien der Pollenformen zeigen kann. Die dort beschriebene Hybride hatte zudem einen triploiden Chromosomensatz.

Da wir im Pollen-Wiki bei *Argemone grandiflora* (Abb. 1) und *Argemone subfusiformis* (Fam. Papaveraceae) ebenfalls auf sehr unterschiedliche Pollenformen gestossen sind, haben wir uns mit dieser Gattung etwas näher befasst. Dabei ist dieser Artikel entstanden.

Methode

Bei mehreren Blüten wurden die Antheren ausgezupft, in einem Briefumschlag einige Tage im Kühlschrank gelagert und anschliessend mit einer stecknadelkopfgrossen Menge fuchsingefärbter Glycerin-Gelatine (0,007%) nach Kaiser betupft. Diese Glyceringelatine wird dann auf einen Objektträger überführt, auf einem USB-Tassenwärmer geschmolzen und mit einem Deckglas versehen. Zuletzt lässt man das Präparat mit der Deckglasseite nach unten erkalten. Der so gefärbte Pollen wurde mit einem Lichtmikroskop „Weso BM Pro 1100“, Vergrösserung 400× (Okular WF 10×; Objektiv SP 40/0.65) untersucht, mit einer „Moticam 1000“ fotografiert und mit der Software „Motic Images V 2.0“ [9] vermessen. Allen berechneten Daten liegen mindestens 30 Einzelmessungen verschiedener Pollenkörner zu Grunde.

Der Box-Whisker-Plot (Abb. 6) ist eine ideale Darstellung, um Messwerte und deren statistische Verteilung zu zeigen. Der blaue Querstrich zeigt den Median an. Innerhalb des Rechtecks liegen 50% aller Messwerte und innerhalb der Streubalken 90%. Die Sterne zeigen die Extremwerte an.

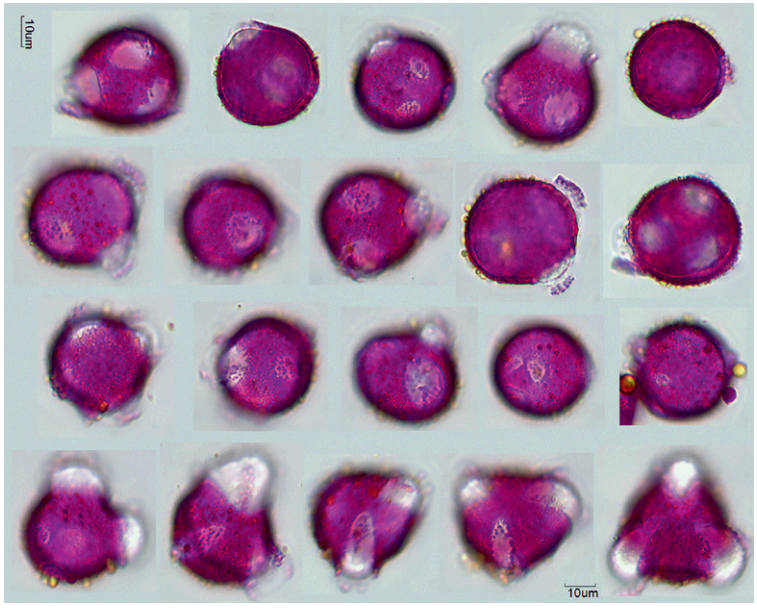

Abb. 2. Abweichende Pollenformen von *A. grandiflora*.

Hinweise zur morphologischen Terminologie

Ausgezeichnete Literatur zur Terminologie der Pollenbeschreibung findet sich bei Halbritter H. und Punt W. [7, 8]. Der Pollen von *Argemone* wird anhand der Anzahl und Art der Keimöffnungen (Aperturen) klassifiziert. Die Keimöffnungen können in Form von Poren (porat) oder Spalten (colpat) auftreten. Sind Poren und Keimspalten (Colpi) vorhanden, spricht man von colporat, sind keine Keimöffnungen vorhanden von inaperturat. Liegen die Poren unregelmässig über das ganze Pollenkorn verteilt, nennt man dies je nach Autor periporat [8] bzw. pantoporat [7]. Von triporat bzw. tetraporat spricht man, wenn drei bzw. vier Poren symmetrisch über den Pollenäquator verteilt sind. In analoger Weise spricht man von tri- bzw. tetracolpat, wenn 3 oder 4 Keimspalten über den Pollenäquator verteilt sind. Bei syncolpaten Pollen vereinigen sich 2 oder mehr Colpi am Pol oder ziehen sich schrauben- oder ringförmig über das Pollenkorn hin.

Auf den Keimöffnungen lassen sich mitunter eine Ornamentierung/Skulpturierung erkennen. Die Pollenoberfläche kann netzartig (reticulat), punktiert (gemmat oder scabat), mit Rillen bzw. Streifen (striat) oder Stacheln (echinat) versehen sein. Weiteres zur allgemeinen Morphologie der Pollen findet sich in der oben erwähnten Literatur und in der Einführung und im Glossar zum Pollen-Wiki.

Alle Bilder in diesem Artikel stammen aus diesem Online-Pollen-Atlas (https://pollen.tstebler.ch).

Resultate

Bei den untersuchten Pollen von *Argemone grandiflora* liegen mehrere Pollenformen gleichzeitig vor (Abb. 2). Sie stammen alle von derselben Blüte. Allen gemeinsam ist die reticulate Pollenwand und eine ornamentierte Aperturmembrane der Colpi und Poren. Man findet tricolpate (Abb. 3) und triporate bis periporate (Abb. 4) Pollenkörner. Diese beiden Pollenformen unterscheiden sich in ihrer Grösse kaum. Die tricolpaten Pollenkörner haben einen Äquatorialdurchmesser von etwa 36 µm und die tri- bzw. peripora-

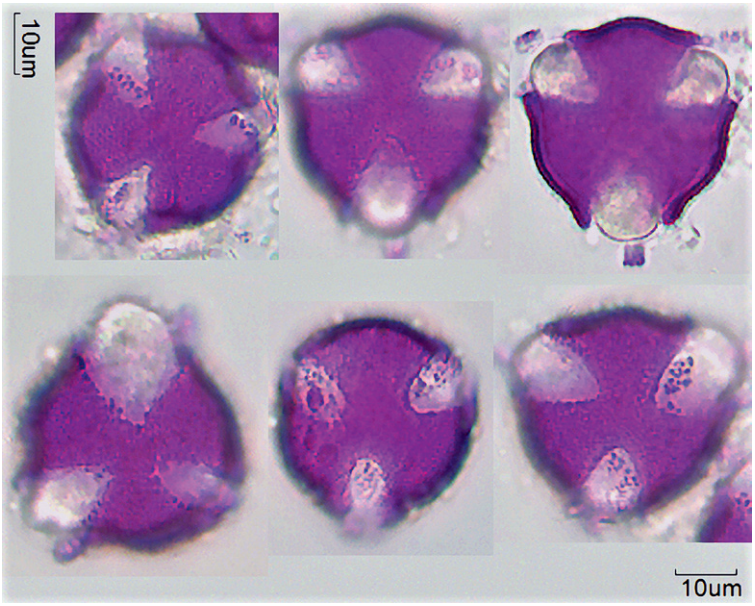

Abb. 3. Charakteristischer, tricolpater Pollen von *A. grandiflora*.

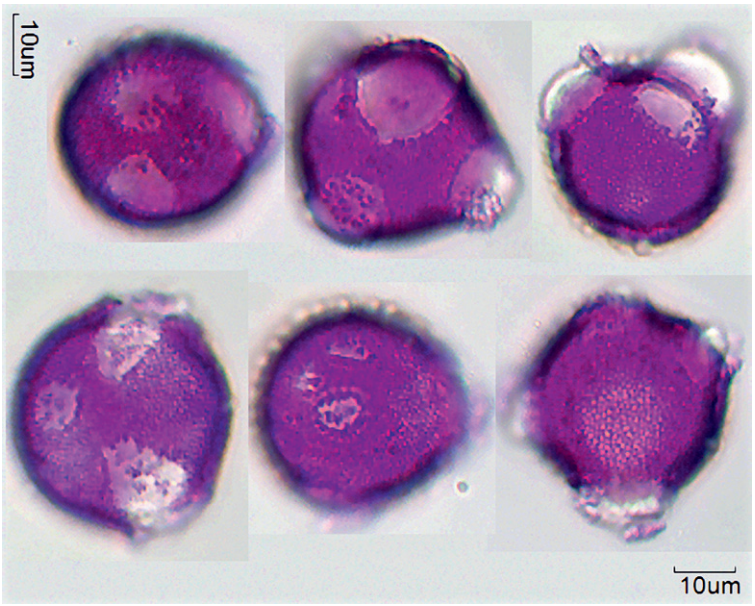

Abb. 4. Aberrante Pollenformen von *A. grandiflora* mit triporaten und periporaten Pollenkörnern.

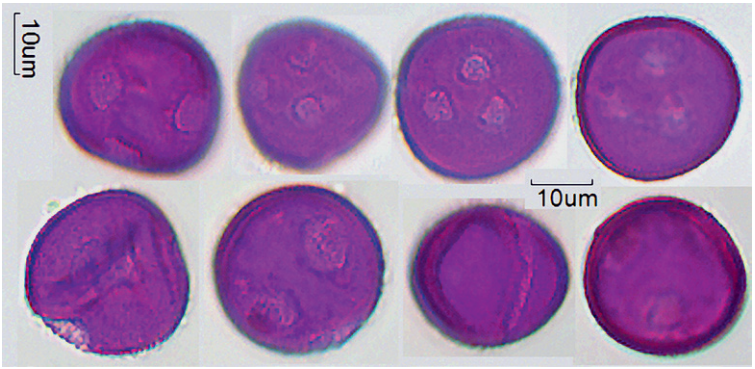

Abb. 5. Kleinerer, porater bis colpater Pollen von *A. grandiflora*.

Tab. 1. Pollengrössen von *A. grandiflora* und *A. subfusiformis*. Angegeben sind die Mittelwerte und in Klammern die Minimal- und Maximalwerte.

Pollenform	Größe	Bemerkungen
Argemone grandiflora		
Tricolpat	35,8 µm (31,4 – 44,6 um) n = 76	Meist tricolpat, selten tetracolpat
Triporat bis periporat	35,0 µm (30,3 – 43,5 um) n = 76	Nicht immer klar von den kleineren Pollenkörnern abzugrenzen
Kleinpollen, meist periporat	27,3 µm (23,3 – 31,7 um) n = 76	Periporat 65% Triporat 23% Unklar 12%
Argemone subfusiformis		
Tricolpat (Nr. 19-070-1)	33,6 µm (30.5 – 40.7 um) n = 76	Meist tricolpat
Meist tricolpat (Nr. 19-070)	38,1 µm (32,7 – 44.2 um) n = 76	seltener pericolpat oder syncolpat

ten Pollenkörner von 35 µm (Tab. 1). Neben diesen Pollenformen fallen im Präparat viele kleine, etwas unausdifferenziert wirkende, meist periporate Pollenkörner mit ornamentierten Poren auf (Abb. 5). Diese Pollenkörner sind etwa 24% kleiner als die tricolpaten Pollenkörner. Die Größen und Häufigkeiten der verschiedenen Pollenklassen sind in Tabelle 1 und in Abbildung 6 zusammengefasst.

Bei der Art *Argemone subfusiformis* finden sich in einem Pollenpräparat (19-070-1) des Pollen-Wiki schön ausdifferenzierte, tricolpate Pollen mit reticulater Pollenwand und einer skulpturierten (ornamentierten) Aperturmembrane (Abb. 7). Die Grösse der Pollen liegt bei etwa 34 µm. In einem weiteren Präparat (19-070) derselben Art (aber nicht derselben Pflanze) sind, ähnlich wie bei *A. grandiflora,* verschiedene Pollenformen vorhanden. Es sind meist tricolpate, aber auch pericolpate und syncolpate Pollenkörner zu finden (Abb. 8). Diese Pollenkörner sind deutlich größer als die der ersten Probe: 38 µm (Tab. 1). Bei der hier vorliegenden Pollenprobe sind die Pollenkörner deutlich grösser, als die in der Probe mit den überwiegend tricolpaten Pollen und zeigen im Lichtmikroskop auf der Pollenoberfläche kaum Details.

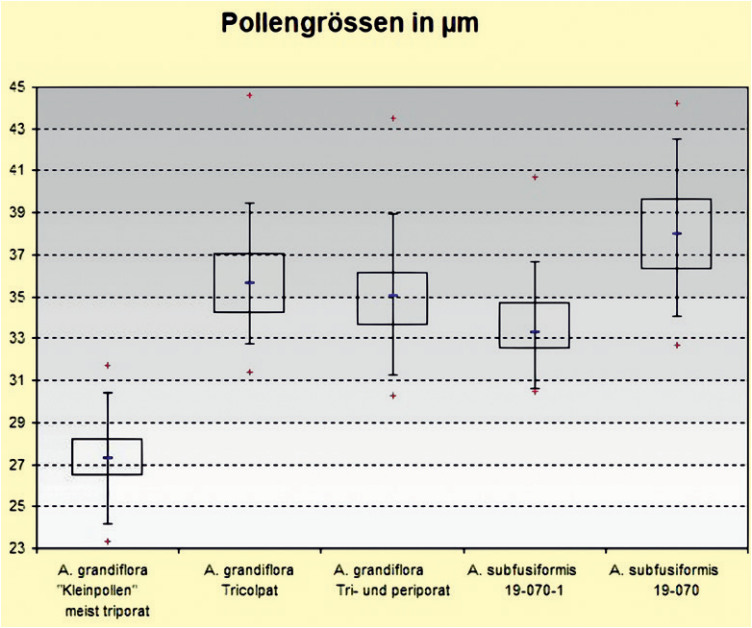

Abb. 6. Box-Whisker-Plot der Pollengrössen der verschiedenen Pollenarten von Argemone.

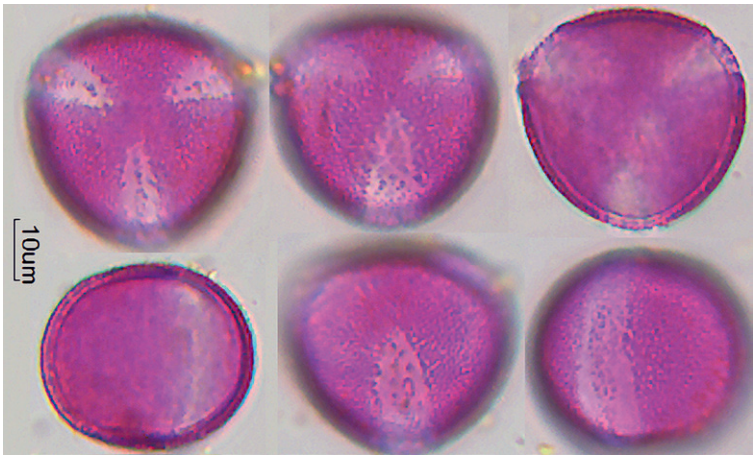

Abb. 7. Charakteristischer, tricolpater Pollen von *A. subfusiformis*, Nr. 19-070-1.

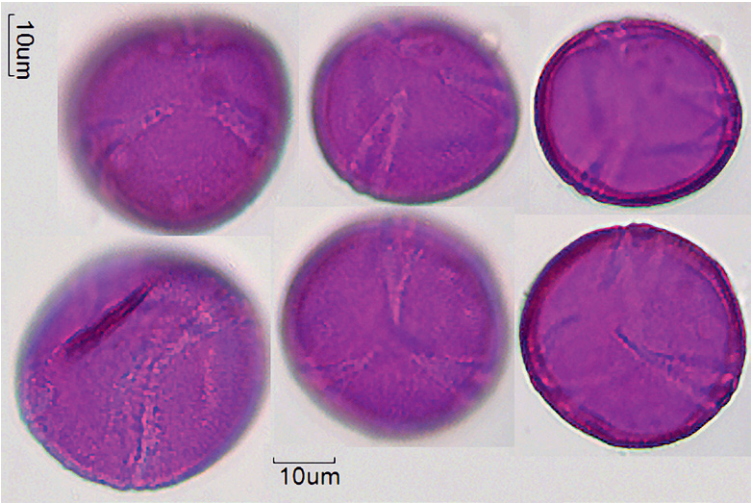

Abb. 8. Grosser, meist tricolpater Pollen von *A. subfusiformis* Nr. 19-070.

Diskussion

Bei den reinrassigen *Argemone*-Arten ist die vorherrschende Pollenform tricolpat, reticulat mit ornamentierten Colpi (Abb. 7). Diese Pollenform wurde in schöner Ausprägung nur bei *A. subfusiformis* (Pollenpräparat 19-070-1) gefunden. In den beiden anderen Präparaten (*A. grandiflora* und *A. subfusiformis* 19-070) wurden daneben auch triporate, periporate, pericolpate und syncolpate und bei *A. grandiflora* zudem noch eine kleinere Pollenform (Abb. 5) gefunden.

Schon 1926 hat Demerec M. darauf hingewiesen, dass bei heterozygoten Maispflanzen zwei unterschiedlich anfärbbare Pollenformen vorhanden sind. Es zeigte sich dort wachshaltiger und stärkehaltiger Pollen (mit Kaliumjodid-Lösung unterschiedlich anfärbbar). Bei den homozygoten Pflanzen lag jeweils nur eine der Formen vor [10].

Unterschiedliche Pollenformen wurden auch bei der Hybride *Sycoparrotia semidecidua* gefunden. Diese Art ist eine Kreuzung aus *Sycopsis sinensis* und *Parrotia persica*. Neben den unterschiedlichen Pollenformen wurden ebenfalls kleinere Pollen gefunden. Die kleineren Pollenkörner waren etwa 22% kleiner als die ausdifferenzierten Pollenkörner [11].

Gemäss Chaturvedi und Mitautoren [6] können bei Hybriden mehrere Pollenformen auftreten. Sie fanden in den Blüten der Hybride *A. ochroleuca x mexicana* neben den üblichen tricolpaten, auch monocolpate, dicolpate, syncolpate und inaperturate Pollenkörner. Wie in unserer Probe von *A. grandiflora* fanden sich auch dort kleinere, meist monocolpate bis dicolpate Pollenkörner. Die Aperturmembranen waren ebenfalls ornamentiert. Diese im Artikel „Minigrains" genannte Pollenkörner hatten einen um etwa 50% geringeren Durchmesser als der tricolpate Pollen. Bei unserer Probe von *A. grandiflora* lag diese Differenz bei 24%. Die bei *A. grandiflora* und bei *A. subfusiformis* beobachteten unterschiedlichen Pollenformen und der Fund von „Kleinpollen" bei *A. grandiflora* decken sich mit den Resultaten von Chaturvedi und Mitautoren [6] und können als klarer Hinweis gelten, dass es sich bei diesen Pflanzen mit den unterschiedlichen Pollenformen um Hybriden handelt (*A. grandiflora* und *A. subfusiformis* Nr. 19-070).

Abb. 9. Keimendes, triporates Pollenkorn von *A. grandiflora* (Pollenschlauch transparent).

Mittels der Pollenanalyse kann also auf eine Hybridisierung rückgeschlossen werden. Wie schon in der Einleitung erwähnt, scheint die Bildung der Keimzellen bei Hybriden schwierig zu sein [5] und zeigt sich dann in einer Störung der Pollenentwicklung bzw. in abweichenden, zum Teil abnormen Pollenformen [7, pp 61-63].

Doch nicht bei jedem Auftreten von unterschiedlichen Pollenformen muss es sich um eine Hybride handeln. Bei vielen Pflanzen findet man natürlicherweise Unterschiede in der Pollenform bzw. im Pollenbau: Bei der Familie der Brassicaceae kommt in äquatorialer Ansicht rundlicher (isodiametrischer) und stäbchenförmiger (prolater) Pollen oft gemeinsam vor [12]. Bei *Ephedra* wurden unterschiedliche Feinstrukturen in den Rillen der Pollenornamentierung beobachtet [13] und bei *Acacia asak* wurde Pollen mit psilaten (glatten) und scabraten (rauen) Oberflächen gefunden. Dieser sogenannte Dimorphismus erlaubt sogar, diese Art von anderen Arten dieser Gattung zu unterscheiden [14].

Da Hybriden oft steril sind, ist die Frage noch offen, ob die hier vorliegende Art fortpflanzungsfähig ist. Dies lässt sich im Nachhinein leider nicht mehr feststellen. Die Pollen von *A. grandiflora* sind allerdings keimfähig, da etliche Pollenkörner mit längerem Pollenschlauch im Präparat zu finden sind (Abb. 9).

Danksagung

Vielen Dank an Vreni Lüdi für das Sammeln der Pollen und an Frau Mag. Dr. Silvia Ulrich, Universität Wien, für die sorgfältige Durchsicht des Manuskriptes.

Literatur

[1] *Duden H.* https://www.duden.de/rechtschreibung/Hybride (20.02.2021).
[2] *Wikipedia.* Hybride, https://de.wikipedia.org/wiki/Hybride (21.02.2021).
[3] *Harari YN.* Sapiens – Der Aufstieg. München: C.B. Beck Verlag, München; 2021, S. 18-19.
[4] Vom wilden Süssgras zum modernen Weizen, https://www.pflanzenforschung.de/de/pflanzenwissen/journal/vom-wilden-suessgras-zum-modernen-weizen-eine-lange-zue-10960 (20.02.2021).
[5] *Zrzavy J, Storch D, Mihulka S.* Evolution – Ein Lese-Lehrbuch. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 2009, S. 373-377.
[6] *Chaturvedi M, Datta K, Pal M.* Pollen anomaly – a clue to natural hybridity in *Argemone* (Papaverace). Grana. 1999; *38:* 339-342.
[7] *Halbritter H, et al.* Illustrated Pollen Terminology. Cham, Schweiz: Springer Nature; 2018, https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-319-71365-6.pdf.
[8] *Punt W, Hoen PP, Blackmore S, Nilsson S, Le Thomas A.* Glossary of pollen and spore terminology. Rev Palaeobot Palynol. 2007; *143:* 1-81.
[9] Moticam, Software Motic Images V2.0, https://www.motic.com (2021).
[10] *Demerec M.* A case of pollen dimorphism in maize. J Bot. 1924; *11:* 461-464.
[11] Pollen-Wiki, "*Sycoparrotia semidecidua*" (16. Mär. 2021).
[12] Pollen-Wiki, "*Dimorphismus*" (14.03.2021).
[13] *Ickert-Bond SM, Skvarla JJ, Chissoe WF.* Pollen dimorphism in Ephedra L. (Ephedraceae). Rev Palaeobot Palynol. 2003; *124:* 325-334.
[14] *Elazab H, Elazab M.* Pollen Dimorphism in *Acacia asak* (Forssk.) Willd. (Fabaceae: Mimosoideae). Palynology. 2016; *40:* 193-201.

Dr. Thomas Stebler
Bergalingerstrasse 12
4058 Basel, Schweiz
t.stebler@gmail.com

André Lüdi
Stöberstrasse 32
4055 Basel, Schweiz