

Binnen het Urgentieprogramma zijn kruisingsbarrières bij tulp onderzocht. Bij veel kruisingscombinaties bleken de pollenbuizen de zaadknoppen in te groeien zonder dat dit zaad opleverde. Embryo's werden wel gevormd maar stierven vroegtijdig af. Met bepaalde technieken zijn embryo's te redden en lukt het wel om soorhybriden te verkrijgen.



Gekiemde zaadknop van de combinatie 'Christmas Marvel' x T. agenensis tien maanden na bestuiving

foto CPRO-DLO

Het huidige sortiment tulpen bestaat voornamelijk uit cultivars van *T. gesneriana*. De overige circa zestig tulpesoorten hebben eigenschappen die het bestaande sortiment kunnen verrijken. Kruisingen tussen deze soorten en *T. gesneriana* slagen vaak niet vanwege kruisingsbarrières. Op CPRO-DLO zijn binnen het Urgentieprogramma Bollenziekte- en Veredelingsonderzoek kruisingsbarrières onderzocht voor, rond en na de bevruchting. Bij kruisingen tussen *T. gesneriana* en elf tulpesoorten groeien de pollenbuizen in de meeste van deze combinaties de zaadknoppen in. Bij de combinatie *T. gesneriana* x *T. agenensis* worden wel embryo's gevormd, maar de meeste daarvan ontwikkelen zich niet volledig. Bij veel gewassen (onder meer lelie) leverden embryo-reddingstechnieken hybriden op van combinaties die op de

plant niet slagen. Voor tulp heeft CPRO-DLO gewerkt aan de ontwikkeling van twee embryo-reddingstechnieken, namelijk ovariumplakcultuur en zaadknopcultuur. Ovariumplakcultuur houdt in dat het vruchtbeginsel in acht plakjes wordt gesneden die vervolgens in vitro op een voedingsmedium komen. Bij zaadknopcultuur worden de zaadknoppen afzonderlijk op een medium gelegd. Dit kan gebeuren door zaadknoppen rechtstreeks uit de vruchtbeginsels te halen of uit de ovariumplakjes, nadat deze eerst een aantal weken op medium hebben gestaan.

Twee technieken

Onderzocht is of er verschil bestaat tussen de combinatie van ovariumplakcultuur gevolgd door zaadknopcultuur en het uitvoeren van alleen zaadknopcultuur. Hiervoor zijn vruchtbeginsels gebruikt

van normale compatibele combinaties tussen 'Christmas Marvel' en 'Leen van der Mark' en van de soortkruising 'Christmas Marvel' x *T. agenensis* (voorheen *T. oculus-solis*). Ovariumplakcultuur werd gestart twee tot vijf weken na bestuiving en gevolgd door zaadknopcultuur zeven tot elf weken na bestuiving. Als alleen zaadknopcultuur werd toegepast, zijn de zaadknoppen drie tot negen weken na bestuiving op medium geplaatst. Naarmate oudere vruchtbeginsels gebruikt werden bij begin van ovariumplak- en zaadknopcultuur kiemden betrouwbaar meer zaadknoppen, met enkele uitzonderingen in 1991 en 1992. In deze jaren verschilde het kiemingspercentage van behandelingsopvolgende inzettingstippen soms niet. Bij de combinatie van ovariumplakcultuur met zaadknop-

cultuur werden vaak vergelijkbare aantallen of soms betrouwbaar meer gekiemde zaadknoppen verkregen ten opzichte van het uitvoeren van alleen zaadknopcultuur, gestart op hetzelfde tijdstip. In enkele gevallen werd meer kieming verkregen wanneer de zaadknoppen langer in de ovariumplakjes bleven (zeven tot elf weken na bestuiving) alvorens ze individueel op medium werden geplaatst. Kruisingen met 'Leen van der Mark' als moeder leverden betrouwbaar minder gekiemde zaadknoppen op dan combinaties met 'Christmas Marvel' als moeder. Ook de zaadzetting op de plant lag bij 'Leen van der Mark' als moeder lager dan bij 'Christmas Marvel' als moeder.

Hybriden zonder zaad

Door toepassing van embryo-reddingstechnieken kunnen soms hybriden worden ver-

kregen van kruisingen waarvan op de plant geen zaad wordt verkregen. Van de combinatie 'Christmas Marvel' x *T. agenensis* zijn bij één behandeling gemiddeld vijftien gekiemde zaadknoppen per vruchtbeginsel verkregen (3,1% van de zaadknoppen). In 24 procent van de zaadknoppen was een pollenbuis naar binnen gegroeid. Bij bestudering van de embryo- en endospermontwikkeling bleek dat meer dan de helft van de zaadknoppen met pollenbuisgroeï geen embryo bevatte en dat de embryo's in de loop van de ontwikkeling tot afgerijpt zaad afsterven. De in totaal 353 gekiemde zaadknoppen leverden bolletjes op. Van negen gekiemde zaadknoppen is blad- en/of bolmateriaal gebruikt om met identificatietechnieken het hybride karakter aan te tonen. Deze bleken alle soorhybriden te zijn. In de combinatie 'Christmas

ZAADKNOPPEN EN GEOOGSTE ZADEN

Het gemiddeld aantal zaadknoppen met kieming per vruchtbeginsel na toepassing van ovariumplak- en zaadknopcultuur gestart op verschillende tijdstippen en het aantal geoogste zaden na afrijping op de plant bij de combinaties 'Christmas Marvel' x 'Leen van der Mark' en 'Christmas Marvel' x *T. agenensis*¹

Methode	CM x LvdM ²	CM x <i>T. agenensis</i> ³
3z ⁴	8	1,0
5z ⁴	50	6,5
7z ⁴	141	14,7
3p+9z ⁴	22	0,8
4p+9z ⁴	74	nd ⁵
5p+9z ⁴	109	5,2
Plant	203	0,0

¹ *T. agenensis* heette voorheen *T. oculus-solis*

² verschillen tussen de methodes zijn significant als het verschil in zaadzetting tussen de behandelingen bij de combinatie 'Christmas Marvel' x 'Leen van der Mark' minimaal 32 en bij de combinatie 'Christmas Marvel' x *T. agenensis* minimaal 4,2 is

³ zaadknopcultuur gestart 3, 5 of 7 weken na bestuiving

⁴ ovariumplakcultuur gestart 3, 4 of 5 weken na bestuiving, gevolgd door zaadknopcultuur 9 weken na bestuiving

⁵ niet uitgevoerd

'Marvel' x *T. praestans* 'Zwanenburg' is in 21 procent van de zaadknoppen pollenbuisgroeï waargenomen. Tien zaadknoppen (gemiddeld 0,2 per vruchtbeginsel) kiemden na toepassing van ovariumplakcultuur (drie en vijf weken na bestuiving) gevolgd door zaadknopcultuur (negen weken na bestuiving). Blijkbaar worden in deze combinaties in vergelijking met de combinatie met *T. agenensis*, minder embryo's gevormd of sterven de embryo's in een vroeger ontwikkelingsstadium af, zodat er minder kunnen worden gered.

Het eindverslag van het bloembologisch onderzoek bij tulp en lelie binnen het Urgentieprogramma is verkrijgbaar door f20 over te maken op rekening 93 54 77 van CPRO-DLO in Wageningen. □

Eén bolletje is gebruikt voor het bepalen van het hybride karakter en van de vertoonde kenmerken van beide ouders. De combinatie 'Leen van der Mark' x *T. praestans* 'Zwanenburg' gaf uit twintig gebruikte bloemen geen gekiemde zaadknoppen. Van de combinaties *T. gesneriana* 'Prominence' x *T. altaica* (voorheen *T. kolpakowskiana*) zijn geen embryo's verkregen. Vijftien bloemen zijn gebruikt voor ovariumplakcultuur (drie en vijf weken na bestuiving) gecombineerd met zaadknopcultuur (negen weken na bestuiving). Bij deze combinatie groeide slechts in twee procent van de zaadknoppen een pollenbuis naar binnen.

Perspectieven

Door toepassing van ovariumplakcultuur en zaadknopcultuur kunnen (hybride) embryo's worden verkregen. Eer-

der onderzaker twent aan dat de embryo's afsterven als ze uit de zaadknoppen worden geprepareerd en op een voedingsbodem worden geplaatst.

De ovariumplakcultuur in combinatie met zaadknopcultuur levert evenveel of meer kieming op dan alleen zaadknopcultuur. Het uitvoeren van ovariumplakcultuur is aanzienlijk minder arbeidsintensief dan van zaadknopcultuur. Bij arbeidspieken kan er voor worden gekozen ovariumplakcultuur uit te voeren gevolgd door zaadknopcultuur. Het uit de ovariumplakjes halen van de zaadknoppen kan over een grotere periode worden uitgespreid, aangezien het tijdstip van het starten van zaadknopcultuur (van zeven tot elf weken na bestuiving) meestal geen groot effect op het kiemingspercentage heeft.

Meestal kiemen meer embryo's naarmate de cultures later worden gestart. Bij soortkruisingen zullen embryo-reddingstechnieken echter moeten worden toegepast voordat de embryo's zijn afgestorven. Dit is afhankelijk van de specifieke combinatie. Naarmate embryo's eerder afsterven zal het succes van de beschreven methodes geringer zijn. Door optimalisatie van de embryo-reddingsmethoden is na inzet van jongere stadia mogelijk meer kieming te verkrijgen. Binnen dit onderzoek is de kieming van de zaadknoppen bepaald. In het algemeen levert de opkweek van in vitro verkregen bolletjes nog vele problemen op. Optimalisatie van de verdere opkweek, zodat de eerstejaars bolletjes in de volle grond kunnen worden uitgeplant, is dan ook noodzakelijk. □

Marian van Creijl, Daniëlle Kerckhoffs, Wim Eikelboom en Jaap van Tuyl, CPRO-DLO Wageningen