

**Entwicklungskinetiken und Generationszeitverkürzung  
verschiedener Akzessionen von *Silphium perfoliatum* L. und  
*Silphium integrifolium* Michx.**

**Dissertation**

Zur Erlangung des Grades

Doktor der Agrarwissenschaften (Dr. agr.)

der Landwirtschaftlichen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

von

**Martin Greve**

aus

Cuxhaven

Bonn, 2024

Referent: Prof. Dr. Ralf Pude

Korreferent: Dr. habil. Heiner Goldbach

Tag der mündlichen Prüfung: 05. April 2024

Diese Abhandlung wurde mit Genehmigung der Landwirtschaftlichen Fakultät der Universität Bonn zur Erlangung der Doktorwürde angefertigt.

## Anmerkung

Teile dieser Arbeit sind im Abschlussbericht des Projektes Genius (FNR) sowie in der Veröffentlichung „Evaluation of the Intra- and Interspecific Development of Different Accessions of *Silphium perfoliatum* L. and *Silphium integrifolium* Michx.“ zu finden [1].

# Inhaltsverzeichnis

I. Zusammenfassung.....	1
II. Summary.....	2
1. Allgemeine Einleitung und Problemstellung.....	3
2. Beschreibung der Entwicklungskinetiken von <i>Silphium perfoliatum</i> und <i>Silphium integrifolium</i> .....	9
2.1 Forschungshypothesen.....	12
Hypothese 1.....	12
Hypothese 2.....	12
Hypothese 3.....	12
2.2 Material und Methoden.....	13
2.2.1 Versuchsaufbau.....	14
2.2.2 Hilfestellung für die Chronologie der Ereignisse.....	16
2.2.3 Beschreibung der Keimung.....	16
2.2.4 Datenerhebung.....	17
2.2.5 Datenverarbeitung.....	18
2.3 Ergebnisse.....	19
2.3.1 Etablierungsjahr.....	19
2.3.1.1 Keimung.....	19
2.3.1.2 Rosettenentwicklung.....	20
2.3.1.3 Triebentwicklung.....	22
2.3.1.4 Generative Phase.....	23
2.3.1.5 Seneszenz.....	25
2.3.2 Zweites Jahr der Entwicklung.....	26
2.3.2.1 Rosettenentwicklung.....	26
2.3.2.2 Triebentwicklung.....	28
2.3.2.3 Generative Phase.....	30
2.3.2.4 Seneszenz.....	33
2.3.3 BBCH-Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien von <i>Silphium perfoliatum</i> und <i>Silphium integrifolium</i> .....	34
2.3.3.1 Makrostadium 0 – Keimung.....	35
2.3.3.2 Makrostadium 1 – Rosettenentwicklung.....	36
2.3.3.3 Makrostadium 3 – Triebentwicklung.....	37

2.3.3.4 Makrostadium 5-8 – Generative Phase.....	39
2.3.3.5 Makrostadium 9 – Seneszenz.....	41
2.3.4 Ertragsdaten .....	42
2.3.4.1 Biomasseertrag.....	42
2.3.4.2 Samenertrag.....	44
2.4 Diskussion .....	48
2.4.1 Keimungskinetik der untersuchten <i>Silphium</i> -Arten .....	48
2.4.1.1 Anpassung an BBCH-Code - Makrostadium 0 [54].....	49
2.4.2 Entwicklung der Rosette .....	50
2.4.2.1 Jahr der Etablierung .....	50
2.4.2.2 Zweites Jahr der Entwicklung .....	51
2.4.2.3 Anpassung an BBCH-Code - Makrostufe 1 [54].....	51
2.4.3 Allgemeine Sprossentwicklung.....	52
2.4.3.1 Jahr der Etablierung .....	52
2.4.3.2 Zweites Jahr der Entwicklung .....	53
2.4.3.3 Anpassung an BBCH-Code - Makrostadium 3 [54].....	54
2.4.4 Generative Phase .....	55
2.4.4.1 Jahr der Etablierung .....	55
2.4.4.2 Zweites Jahr der Entwicklung .....	55
2.4.4.3 Anpassung an BBCH-Code - Makrostadium 5-8 [54] .....	56
2.4.5 Seneszenz.....	57
2.4.5.1 Jahr der Etablierung .....	57
2.4.5.2 Zweites Jahr der Entwicklung .....	57
2.4.5.3 Anpassung an BBCH-Code - Makrostufe 9 [54].....	58
2.4.6 Einordnung der phänotypischen Merkmale und Verwendung.....	59
2.5 Zusammenfassung und Schlussfolgerung.....	63
3. Möglichkeiten zur Verkürzung des Generationszyklus von <i>Silphium perfoliatum</i> L. ....	65
3.1 Forschungshypothesen.....	68
Hypothese 1.....	68
Hypothese 2.....	68
Hypothese 3.....	68
3.2 Generationszeitverkürzung durch die Weiterkultur unreifer Embryonen bzw. Samen <i>in vitro</i> .....	69
3.2.1 Kultur unreifer Embryonen und Samen <i>in vitro</i> .....	69

3.2.1.1 Material und Methoden.....	70
3.2.1.1.1 Akzessionsauswahl .....	70
3.2.1.1.2 Samenerzeugung .....	70
3.2.1.1.3 Aufbereitung der Samen bzw. Embryonen für die Zellkultur .....	71
3.2.1.1.4 Zellkultur .....	71
3.2.1.1.5 Datenerhebung.....	71
3.2.1.1.6 Datenverarbeitung.....	71
3.2.1.2 Ergebnisse.....	72
3.2.1.2.1 Weiterentwicklung unvollständig entwickelter Embryonen zu vollentwickelten Jungpflanzen <i>in vitro</i> .....	72
3.2.1.2.2 Weiterentwicklung unvollständig entwickelter Samen zu vollentwickelten Jungpflanzen <i>in vitro</i> .....	77
3.2.1.3 Diskussion .....	81
3.2.1.3.1 Unterschiede innerhalb der Embryokultur.....	81
3.2.1.3.2 Unterschiede innerhalb der Samenkultur .....	82
3.2.1.3.3 Unterschiede zwischen Embryo- und Samenkultur.....	83
3.2.2 Untersuchung des Samenschaleneinflusses auf die <i>in-vitro</i> -Kultur unreifer Embryonen .....	84
3.2.2.1 Material und Methoden.....	86
3.2.2.1.1 Akzessionsauswahl .....	86
3.2.2.1.2 Samenerzeugung .....	86
3.2.2.1.3 Aufbereitung der Embryonen für die Zellkultur.....	86
3.2.2.1.4 Zellkultur .....	86
3.2.2.1.5 Datenerhebung.....	87
3.2.2.1.6 Datenverarbeitung.....	87
3.2.2.2 Ergebnisse.....	88
3.2.2.3 Diskussion .....	90
3.2.3 Untersuchung der Einflüsse von Wachstumsregulatoren auf die Entwicklung von Jungpflanzen aus Embryonen von <i>Silphium perfoliatum</i> L. <i>in vitro</i> .....	93
3.2.3.1 Material und Methoden.....	95
3.2.3.1.1 Akzessionsauswahl .....	95
3.2.3.1.2 Samenerzeugung .....	95
3.2.3.1.3 Aufbereitung der Embryonen für die Zellkultur.....	95
3.2.3.1.4 Zellkultur .....	95

3.2.3.1.5 Datenerhebung.....	97
3.2.3.1.6 Datenverarbeitung.....	97
3.2.3.2 Ergebnisse.....	98
3.2.3.3 Diskussion .....	102
3.2.3.3.1 Phase 1 – 0-21 Tage <i>in vitro</i> .....	102
3.2.3.3.2 Phase 2 – 22-42 Tage <i>in vitro</i> .....	102
3.2.4 Zusammenfassung und Schlussfolgerung.....	105
4. Generationszeitverkürzung von <i>Silphium perfoliatum</i> durch die Reduktion der Vernalisationszeit auf ein Minimum .....	107
4.1 Forschungshypothesen.....	108
Hypothese 1.....	108
Hypothese 2.....	108
4.2 Evaluation der notwendigen Vernalisationszeit.....	109
4.2.1 Material und Methoden.....	110
4.2.1.1 Akzessionsauswahl .....	110
4.2.1.2 Samenerzeugung .....	110
4.2.1.3 Herstellung geeigneten Pflanzenmaterials .....	110
4.2.1.4 Applikation des Vernalisationsreizes .....	111
4.2.1.5 Wiederantrieb der Pflanzen im Gewächshaus .....	111
4.2.1.6 Datenerhebung .....	111
4.2.1.7 Datenverarbeitung.....	111
4.2.2 Ergebnisse.....	112
4.2.3 Diskussion .....	117
4.3 Blüteninduktion durch Applikation exogener Phytohormone.....	120
4.3.1 Material und Methoden.....	121
4.3.1.1 Akzessionsauswahl .....	121
4.3.1.2 Samenerzeugung .....	121
4.3.1.3 Herstellung geeigneten Pflanzenmaterials .....	121
4.3.1.4 Applikation der Wachstumsregulatoren .....	122
4.3.1.5 Untersuchte Varianten.....	122
4.3.1.6 Weiterkultur der Pflanzen im Gewächshaus.....	123
4.3.1.7 Datenerhebung .....	123
4.3.1.8 Datenverarbeitung.....	123
4.3.2 Ergebnisse.....	124

4.3.3 Diskussion .....	126
4.4 Zusammenfassung und Schlussfolgerung.....	128
5. Gesamtfazit.....	129
6. Finanzierung .....	130
7. Literaturverzeichnis .....	131
8. Abbildungsverzeichnis .....	145
9. Tabellenverzeichnis.....	150
10. Danksagung .....	151



# I. Zusammenfassung

Die Inkulturnahme wie auch die Züchtung neuer Nutzpflanzen stellt einen wichtigen Aspekt des Fortschritts im Pflanzenbau dar. So wird im Sinne der Nachhaltigkeitsförderung der Landwirtschaft nach immer neuen potenziellen Kulturpflanzen gesucht. Hierbei hat sich *Silphium spp.* als eine sehr vielversprechende neue Kulturpflanze gezeigt, die in Hinblick auf eine vielseitige Nutzung wie auch den ökologischen Aspekt des mehrjährigen Anbaus großes Potenzial mitbringt.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde in einem ersten Teil der gesamte Entwicklungszyklus von *Silphium perfoliatum* (Durchwachsende Silphie) wie auch *Silphium integrifolium* (kein deutscher Trivialname vorhanden) der ersten beiden Entwicklungsjahre dokumentiert. Ferner wurde ein zwischen- wie auch innerartlicher Vergleich der Entwicklungskinetiken anhand jeweils zweier Akzessionen jeder Art erarbeitet. Grundlegende Entwicklungsschritte haben sich hierbei geglichen, obgleich sich in beiden Aspekten Entwicklungsunterschiede in der Quantität der Merkmalsausprägung eingestellt haben. Um den praktischen Wert dieser Arbeit zu steigern, wurde eine BBCH-Skala für beide Arten erarbeitet. Von entscheidenden Entwicklungsschritten wurden Zeichnungen beider Arten als Referenz angefertigt.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden Methodiken zur Generationszeitverkürzung erarbeitet und evaluiert. Hierzu wurden an zwei unterschiedlichen Akzessionen von *Silphium perfoliatum* verschiedene Eingriffe in den natürlichen Entwicklungszyklus durchgeführt. So wurde einerseits die Entwicklung bzw. die Abreife der Samen unterbrochen und eine Kultur unreifer Embryonen *in vitro* bemüht, sodass hierdurch eine Verkürzung der notwendigen Zeit für den natürlichen Keimungsprozess erzielt werden konnte. Die *in-vitro*-Kultur vollständiger Samen erzielte keine positiven Resultate. Andererseits wurde die notwendige Vernalisationszeit von *Silphium perfoliatum* ermittelt. Durch eine gezielte Kälteapplikation ließ sich eine optimale Vernalisationsdauer von etwa 42 Tagen definieren, was in Kombination mit einem Wiederantrieb der Pflanzen als Gewächshauskultur einen erheblichen zeitlichen Vorteil verglichen mit dem natürlichen Entwicklungszyklus von *Silphium perfoliatum* zeigte. Flankierende Versuche zeigen ein komplexes Bild weiterer Möglichkeiten zur Generationszeitverkürzung.

## II. Summary

The cultivation and breeding of new crops is an important aspect of progress in plant production. New potential crops are constantly being sought in order to promote sustainability in agriculture. *Silphium spp.* has shown to be a very promising new crop with great potential in terms of versatile utilisation and the ecological aspect of perennial cultivation.

In the first part of this study, the entire development cycle of *Silphium perfoliatum* (Cup Plant) and *Silphium integrifolium* (Rosinweed or Silflower) in the first two years of development was documented. Furthermore, an inter- and intraspecific comparison of the developmental kinetics was made using two accessions of each species. The basic developmental steps were similar, although there were developmental differences in the quantity of trait expression in both aspects. To increase the practical value of this work, a BBCH scale was developed for both species. Drawings of crucial developmental steps of both species were made for reference.

In the second part of this work, methods for reducing the generation time were developed and evaluated. For this purpose, various interventions in the natural development cycle were carried out on two different accessions of *Silphium perfoliatum*. On the one hand, the development or ripening of the seeds was interrupted and a culture of immature embryos *in vitro* was carried out so that a reduction in the time required for the natural germination process could be achieved. The *in vitro* culture of complete seeds did not give any positive results. On the other hand, the necessary vernalisation time of *Silphium perfoliatum* was determined. An optimum vernalisation period of around 42 days was defined by a targeted cold application, which, in combination with a re-sprouting of the plants as a greenhouse culture, showed a considerable time advantage compared to the natural development cycle of *Silphium perfoliatum*. Accompanying experiments show a complex picture of further possibilities for shortening the generation time.

# 1. Allgemeine Einleitung und Problemstellung

Der Anbau von Pflanzen als erneuerbare Ressourcen zur Substitution von fossilem Kohlenstoff mit dem Ziel eines biobasierten nachhaltigen Wirtschaftens nimmt zu. Lange Zeit wurden einjährige Pflanzen für die Biomasseproduktion genutzt. Aufgrund vieler pflanzenbaulicher wie auch ökologischer Vorteile wurden im Laufe der vergangenen Dekaden mehrjährige Wildpflanzen für eine domestizierte Nutzung in Betracht gezogen [2]. Ferner wurde hier der Begriff „Mehrzweck-Biomasse-Pflanzen der dritten Generation“ geprägt. Dieser umschließt alle Nutzpflanzen, die für die Herstellung von biomassebasierten Produkten wie auch Lebensmitteln geeignet sind, zusätzlich einen ökologisch-nachhaltigen Aspekt im Anbauverfahren mit sich bringen. Hierdurch ist eine noch größere Nutzungsflexibilität geschaffen worden [3].

Zurzeit kommen innerhalb der Gattung *Silphium* zwei Schwesterarten für die Entwicklung eines solchen neuen Pflanzentyps in Frage: *Silphium perfoliatum* L. und *Silphium integrifolium* Michx. *Silphium perfoliatum* wird primär zur Energiegewinnung genutzt, während *Silphium integrifolium* zu einer Ölpflanze domestiziert wird [4,5]. Beide gehören zur Familie der Asteraceae, Tribus der Heliantheae und stammen aus dem östlichen Teil Nordamerikas [6–9]. Erstmals fand von *Silphium perfoliatum* 1759 im Rahmen der taxonomischen Benennung durch Peter Joseph Lenné Erwähnung. Erste Dokumentation einer Kultivierung auf europäischen Boden wurde 1762 in den Gärten von Montpellier in Frankreich durchgeführt. Landwirtschaftliche Nutzungen der Pflanze wurden erstmals in der 1950er Jahren in der ehemaligen Sowjetunion im Rahmen einer Suche nach neuen Futterpflanzen für landwirtschaftliche Nutztiere erprobt [10]. Die erste taxonomische Beschreibung von *Silphium integrifolium* wurde 1803 in „Flora Boreali Americana“, welche von Andre Michaux ausgearbeitet und ein Jahr nach seinem Tod von L. C. M. Richard editiert und veröffentlicht wurde [11,12].

Neben der Nutzung als Kulturpflanze zeigt *Silphium perfoliatum* große agrarökologische Vorteile. So wird durch den mehrjährigen, ausdauernden Wuchs und das dadurch sehr ausgeprägte Wurzelsystem ein dauerhafter Erosionsschutz aufgebaut [13]. Durch den dadurch implizierten Kohlenstoffeintrag in den Boden kommt es langfristig zu einem Humusaufbau [14,15], was einer Reduktion des Nährstoffauswaschungspotenzials und einem ausgeprägten Bodenleben zuträglich ist [7]. Zudem eignet sich *Silphium perfoliatum* zur

Regeneration cadmiumbelasteter Böden [16]. Ferner kommt es unter- wie auch überirdisch zur Biodiversitätssteigerung. So steigt die Menge wie auch die Anzahl der vorkommenden Arten von Bodenlebewesen durch die Kultivierung von *Silphium perfoliatum* im Vergleich zu *Zea mais* signifikant [17,18]. In Anbetracht rückläufiger Populationen von blütenbesuchenden Insekten [19] zeigt die Durchwachsene Silphie großes Potenzial als Lebensraum für überirdisch lebende Insekten, sodass sich eine hohe Biodiversität innerhalb dieser Bestände verzeichnen lässt. Von Burmeister et al. (2016) wurden Blütenbesuche von *Apis mellifera* wie auch einer Vielzahl unterschiedlicher Arten von *Bombus*, *Hymenoptera*, *Syrphidae*, *Diptera*, *Coleoptera* und *Lepidoptera* festgestellt [20]. Einerseits lässt sich dies mit der ausdauernden Blüte von *Silphium perfoliatum* von Juli bis September begründen [8]. So wurde von Mueller et al. (2020) festgestellt, dass durchschnittlich 188 Blüten pro Pflanze und Jahr gebildet werden [21] und die Durchwachsene Silphie aufgrund der großflächigen landwirtschaftlichen Nutzung eine entsprechend ergiebige Nahrungsquelle für Insekten darstellt [22]. Andererseits lässt sich die Trachtücke, die für eine Vielzahl an Insekten problematisch sein kann, durch die ausdauernde Blüte der Durchwachsenen Silphie überbrücken [23]. Zusätzlich bietet *Silphium perfoliatum* Insekten aufgrund der becherartigen Anordnung der Blätter um den Trieb [13] und das darin gesammelte Regenwasser eine Feuchtigkeitsquelle [24]. Aufgrund der mehrjährigen Kulturführung von *Silphium perfoliatum* und einer dauerhaften Bestandesetablierung beschränken sich die kulturbedingten Eingriffe seitens des Anbauers abgesehen von der jährlichen Düngung und Ernte auf das Etablierungsjahr, wodurch eine gesteigerte Bodenschonung gewährleistet wird. Zusätzlich ist der Einsatz von Herbiziden durch den schnellen Bestandesschluss ab dem zweiten Kultivierungsjahr auf das Etablierungsjahr beschränkt, wodurch ein nachhaltigeres Wirtschaften verglichen mit herkömmlichen Kulturen möglich wird. [19,25,26].

Neben den agrarökologischen Vorteilen hat *Silphium perfoliatum* viele interessante Eigenschaften einer potentiellen zukünftigen Non-Food-Kultur im Hinblick auf ihre Nutzbarkeit in der Landwirtschaft, als Faserpflanze sowie in der Nutzung von Inhaltsstoffen und Metaboliten [7]. Je nach Boden- und Wasserverfügbarkeit ist ein Ertrag von 15 bis 25 Mg Trockenmasse pro Hektar möglich [15,27]. Die Biomasse von *Silphium perfoliatum* kann für verschiedene Zwecke genutzt werden [3]. Sie wird vor allem als Biogassubstrat, aber auch für die Herstellung von Fasern, chemischen und pharmazeutischen Substanzen verwendet. Durch

den vielseitigen Nutzen der Durchwachsenen Silphie wird der landwirtschaftliche Wert dieser mehrjährigen Pflanze erhöht. So produziert die Pflanze eine Vielzahl von chemischen Verbindungen, die für pharmakologische und landwirtschaftliche Zwecke genutzt werden können [7,28–31]. Je nach Nutzungsart ändern sich der optimale Erntezeitpunkt und die zu erwartende Erntemenge. Zu einem frühen Erntezeitpunkt weist *Silphium perfoliatum* einen relativ hohen Anteil schnell umsetzbarer Kohlenhydrate, Fette und Proteine auf [32]. Gegen Ende der Vegetationsperiode steigen sowohl die Faser- als auch die Aschegehalte [7,28–31].

Für die Nutzung zur Energiegewinnung durch Vergärung in Biogasanlagen ist eine Pflanze mit einem hohen Anteil an schnell umsetzbaren Kohlenhydraten vorteilhaft [28]. Gleiches gilt in gewissem Maße für die Nutzung als Futtermittel, wobei der erforderliche Proteingehalt von der Tierart und der Haltungform abhängt. *Silphium perfoliatum* zeigt vergleichbare Trockenmasseerträge wie Luzerne (*Medicago sativa* L.) und Rotklee (*Trifolium pratense* L.), bei geringerem Nährwert. Dies lässt sich durch eine Ernte in zwei Schnitten optimieren. So ändert sich der Gehalt an Nährstoffen je nach Entwicklungsstadium oder Erntetermin [33,34].

Neben der Nutzung der Biomasse zur Energiegewinnung oder als Futtermittel [7,13,34–36] kann *Silphium perfoliatum* als Rohstoff für die Faserproduktion verwendet werden, die in der Papier- oder Kartonindustrie Einsatz finden können [7,27]. Darüber hinaus eignet sich das Parenchym aufgrund seiner isolierenden Eigenschaften als Ersatz für expandierendes Polystyrol als Dämmstoff [37]. Dazu werden die Pflanzen über den Winter auf dem Feld belassen, um bis zum Neuaustrieb im Frühjahr abzutrocknen und dauerhaft lagerfähig zu werden [27,28]. Falls erforderlich, wird durch eine Trocknung nach der Ernte die Lagerfähigkeit sichergestellt [27].

Zu den weiteren Verwendungsmöglichkeiten von *Silphium perfoliatum* gehört die Nutzung seiner Metaboliten. Aus den Blättern, Stängeln und Blüten kann eine Vielzahl von Stoffen extrahiert werden, die in verschiedenen Industriezweigen, z. B. für Lebensmittel oder Arzneimittel, verwendet werden können [31,38].

Hauptsächlich wird die Durchwachsene Silphie in Deutschland als Biogassubstrat verwendet. Dabei stieg die Anbaufläche von 800 Hektar in 2016 auf 3500 Hektar in 2020. 2021 betrug die Anbaufläche 10.009 Hektar [39]. Dies lässt sich auf die Attraktivitätssteigerung des Anbaus der Durchwachsenen Silphie aufgrund der 2018 erweiterten Greening-Verordnung

zurückführen. Hierin wird einer Kultur der Durchwachsenen Silphie ein Greening-Faktor von 0,7 als ökologische Vorrangfläche eingeräumt [40].

Im Falle von *Silphium integrifolium* sind zwei natürliche botanische Varianten bekannt und beschrieben: *Silphium integrifolium* var. *integrifolium* und *Silphium integrifolium* var. *laeve* [41]. Die Variante *Silphium integrifolium* var. *integrifolium* ist aus dem nordöstlichen Teil, *Silphium integrifolium* var. *laeve* aus dem südwestlichen Teil der natürlichen Verbreitung bekannt. Beide Varianten von *Silphium integrifolium* zeigen, wie auch das oben beschriebene *Silphium perfoliatum*, ähnliche große ökologische Vorteile für Boden, Wasser und Biodiversität [42–44]. Das Interesse an der in Europa noch weitgehend unbekanntem Pflanze wächst stetig [9].

*Silphium integrifolium* var. *laeve* kann in seiner prädomestizierten Form als mehrjährige Ölpflanze genutzt werden [9,45]. Dabei wurden zwei Zuchtziele verfolgt: Die Anzahl der Samen pro Blüte wurde erhöht und die Seitenverzweigung der Stängel wurde reduziert [44]. Die Ölzusammensetzung der Samen ist dem Öl der Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.) sehr ähnlich [5,9]. *Silphium integrifolium* weist einen maximalen Samenertrag von 279,36 g pro Pflanze und Jahr auf, wobei aus 1 kg Samen 118 bis 253 g Öl gewonnen werden können [9]. Der erwartete Biomasseertrag pro Hektar liegt bei etwa fünf Tonnen [46].

Aufgrund ihrer natürlichen Verbreitung in der Prärie Nordamerikas und des komplexen Wurzelsystems dieser mehrjährigen Pflanze eignen sich die Pflanzen als Ölsaaten in ariden und semiariden Regionen [47,48]. Neben einem Anbau in Kansas, USA, existiert ein Anbaugebiet im Norden von Patagonien, Argentinien. Aufgrund der klimatischen Bedingungen, die denen in Kansas, USA, ähneln, ist eine Bewässerung notwendig, wobei die benötigte Wassermenge im Vergleich zu anderen Ölsaaten stark reduziert ist [48].

Wegen des hohen Potenzials als Ölsaaten scheint *Silphium integrifolium* eine vielversprechende Wildpflanze für die Domestikation zu sein [9]. Zu diesem Zweck wurden in den frühen 2000er Jahren zwei unabhängige Züchtungsprojekte gestartet. Ein Projekt wurde in Polen durchgeführt, wobei der Schwerpunkt auf der Biomasse lag [49]. Parallel dazu wurde ein Züchtungsansatz in Kansas, USA, durchgeführt, bei dem der Schwerpunkt auf dem Ölertrag lag [5,44].

Die Domestikation von Wildpflanzen hat im Rahmen der De-Novo-Domestikation in den letzten Jahren eine Vielzahl von Vorteilen gezeigt. Die De-Novo-Domestikation beschreibt

eine alternative Methode für die Domestizierung einer derzeit nicht domestizierten Pflanze. Hierbei wird im Unterschied zu derzeitigen Domestizierungsmethoden oder Optimierung bestehender Kulturpflanzen, ein grundsätzlich unterschiedlicher Ansatz gewählt. Hierbei werden die nötigen phänotypischen Veränderungen nicht durch langfristige Selektionsverfahren, sondern durch gezielte Veränderungen in der Erbinformation der Pflanze durch Gen-Editierung erzeugt, wodurch eine erhebliche Zeiteinsparung entsteht [50]. Das züchterische Resultat wird durch anschließende Phänotypisierung verifiziert [51]. So kann hierdurch eine Möglichkeit geschaffen werden, die Durchwachsene Silphie an spezifische Nutzungsformen anzupassen. Im Rahmen einer Sammelreise im Jahr 2016 wurden von Dr. Christian Wever etwa 40 Wildtypen von *Silphium* im natürlichen Verbreitungsgebiet lokalisiert, gesammelt und ab 2017 am Campus Klein-Altendorf (pflanzenbauliches Versuchsgut der Universität Bonn) in einem Feldversuch kultiviert, sodass eine Grundlage für eventuelle Züchtungsprojekte geschaffen werden konnte. In einem ersten Schritt wurde die unterschiedlichen Akzessionen einer Phänotypisierung unterzogen.

Der allgemeine Entwicklungszyklus von *Silphium* lässt sich in zwei maßgebliche Phasen einteilen. Die erste Phase beschreibt die Entwicklung im natürlichen ersten Jahr, in dem die Etablierung der Pflanze stattfindet. Nach der Keimung bildet die Pflanze eine bodenständige Rosette, die im Herbst zunehmend seneszent wird. Die Pflanze überdauert in eingezogenen Zustand den Winter und vernalisiert. Die zweite Phase der Entwicklung beginnt im zweiten Jahr zu Beginn der Vegetationsphase. Nach erneuter Rosettenbildung setzt eine Triebbildung ein, die nachdem sie abgeschlossen wurde in eine generative Entwicklungsphase übergeht. Nachdem die Samenreife abgeschlossen wurde, setzt wiederum die Seneszenz ein. Die zweite Phase der Entwicklung wiederholt sich bis auf weiteres jährlich [7,13,49]. Im Kontext züchterischer Unternehmungen ist eine verhältnismäßig lange Generationszeit potenziell problematisch, da sich einerseits Zuchtziele im Laufe des Prozesses verändern können [52], sich andererseits die wirtschaftliche Profitabilität durch langfristige züchterische Aktivität schmälert [53]. Es liegt also nahe, die Möglichkeiten zur Generationszeitverkürzung zu evaluieren.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die generellen Entwicklungskinetiken von *Silphium* anhand von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* anhand von je zwei Akzessionen quantitativ beschrieben, sodass eine eindeutige Definition jedes

Entwicklungsstadiums geschaffen wurde. Bezugnehmend hierauf wurde eine BBCH-Skala nach Hack et al. (1992) und Meier (2018) etabliert [54,55]. Diese dient dazu, die Entwicklung der jeweiligen Pflanze eindeutig zu beschreiben, sodass Anwendern wie auch potenziellen Pflanzenzüchtern ein Leitfaden mit konkreten Entwicklungsstadien an die Hand gegeben werden kann.

Ein weiterer Abschnitt dieser Arbeit beschreibt Möglichkeiten zur Generationszeitverkürzung. Hierzu wurde eine Reduktion des Dormanzpotenzials und eine implementierte vorzeitige Keimung der Embryonen und Samen *in vitro*, wie auch eine Reduktion der notwendigen Vernalisationszeit der entwickelten Rosetten von *Silphium perfoliatum* anhand von zwei Akzessionen untersucht [56].



## 2. Beschreibung der Entwicklungskinetiken von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium*

Während der Entwicklung durchläuft eine Pflanze verschiedene Stadien. Dies lässt sich einerseits am entwicklungsinhärenten Phänotyp der Pflanze beobachten, andererseits kann dies auf Umwelteinflüsse zurückgeführt werden [57]. Um eine Vergleichbarkeit der phänotypischen Entwicklung der verschiedenen Akzessionen/Genotypen zu erhalten, ist es entscheidend, diese unter den gleichen Bedingungen anzubauen [58]. Aus diesem Grund kultivierten Wever et al. (2019) fünf verschiedene europäische *Silphium perfoliatum*-Akzessionen unter Feldbedingungen am selben Standort, um Unterschiede im phänotypischen Erscheinungsbild in Bezug auf Pflanzenhöhe, Stammdurchmesser, Anzahl der Triebe pro Pflanze, Internodien pro Trieb und Blütenstand zu untersuchen [58]. Anhand dieser Daten kann die Entwicklungskinetik der Pflanzen jedoch nur indirekt dargestellt werden, so dass eine quantitative Datenerfassung erforderlich ist [55].

Voraussetzung für den Austausch von neuen Erkenntnissen ist in der Wissenschaft ein Verständnis sowie die gleichen Vorstellungen gegenüber den verwendeten Begriffen. Dementsprechend ist es wichtig, eine vereinheitlichte Beschreibung der Entwicklungsstadien von Pflanzen zu nutzen, um nach phänologischen Merkmalen eine Codierung zu schreiben. Eine Möglichkeit hierzu bietet die BBCH-Skala nach Meier (2018). Die Bezeichnung BBCH leitet sich von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundessortenamt und Chemische Industrie ab [54].

Im Jahr 1974 wurde die Getreideskala nach Zadoks et al. entwickelt und bietet eine Grundlage als allgemein gebräuchliche und seit Langem bewährte Beschreibung von Entwicklungsstadien für verschiedenste Branchen. Aktuelle Skalen orientieren sich an dieser Darstellung [59]. Tottman et al. (1979) entwickelten die bestehende Getreideskala weiter. Hierbei wurden die frühen Entwicklungsstadien präzisiert. Ferner wurde eine Vielzahl von botanischen Zeichnungen gefertigt. [60] Die erweiterte allgemeine BBCH-Skala nach Hack et al. (1992) definiert eine Skala, die als Dezimalzahlen in Makro- und Mikro-stadien aufgeteilt ist. Die Makrostadien der Ziffern 0 bis 9 beschreiben Zeitspannen im Entwicklungsverlauf der Pflanze. Ergänzt werden diese durch die Verwendung von Mikro-stadien, präzisen Zeitpunkten in der Pflanzenentwicklung. Diese charakteristischen Entwicklungsschritte

werden ebenfalls durch die Ziffern 0 bis 9 definiert, wodurch ein so zweistelliger Code entsteht [55].

Die Nodien sind hier maßgebend für das Zählen der Blattpaare. Falls diese nicht eindeutig voneinander getrennt werden können, wie bei gegenständigen Blättern, werden bei Blattpaaren die Einzelblätter bonitiert. Tritt der Fall auf, dass zwei oder mehr Makrostadien parallel verlaufen, wird das fortgeschrittene Entwicklungsstadium aufgeführt [55].

Für alle Pflanzen werden gleiche phänologische Entwicklungsstadien mit dem gleichen Code belegt, um einen verbindlichen Rahmen für die Beschreibung verschiedener Pflanzenarten zu schaffen. In der Regel wird bei der Beschreibung der Stadien nur das Entwicklungsgeschehen am Hauptspross beleuchtet und eindeutig erkennbare morphologische Merkmale bilden die Basis dieser Darstellung [61].

Meier (2018) erweiterte diese Skala in den Jahren 2001 und 2018 um Zeichnungen einiger wichtiger Stadien sowie weitere Grundprinzipien. Da Pflanzenarten Verschiebungen im Entwicklungsverlauf aufweisen können, ist es möglich, dass bestimmte Stadien entfallen. Um die Skalen für die Definition von Entwicklungsstadien nutzen zu können, sollte dies auf mindestens 50% der Pflanzen zutreffen [61].

Im Rahmen eines europäischen Forschungsprojektes „SidaTim“ veröffentlichten Cumplido-Marin et al. (2020) eine BBCH-Skala für *Silphium perfoliatum* [7]. Diese wurde in Anlehnung an Hack et.al (1992) und Meier (2018) entworfen und beschreibt Entwicklungsstadien der ersten beiden Standjahre. Im ersten Jahr wird die Keimung (BBCH-Makrostadium 0), die Blattbildung (BBCH-Makrostadium 1) wie auch der Reihenschluss (BBCH-Makrostadium 2) der Kultur beschrieben. Im zweiten Standjahr wurde nach Cumplido-Marin et al. wiederum die Blattentwicklung (BBCH-Makrostadium 1), die Triebentwicklung (BBCH-Makrostadium 3), das Erscheinen der Blütenstände (BBCH-Makrostadium 5), die Blüte (BBCH-Makrostadium 6), die Fruchtentwicklung (BBCH-Makrostadium 7), die Abreife (BBCH-Makrostadium 8) und die Seneszenz (BBCH-Makrostadium 9) dargelegt. Dem Makrostadium 4 kommt in dieser Darstellung keine Beachtung zu. Die Mikrostadien definieren die Makrostadien präziser. Bei den Makrostadien 5 bis 8 ergänzen Cumplido-Marin et al. (2020) neben den Mikrostadien zusätzlich die Mesostadien. Diese Ziffern werden zwischen dem Makrostadium und dem Mikrostromadium eingefügt und beschreiben mit den Ziffern 0 und 1 das

Entwicklungsgeschehen am Hauptspross sowie das Wachstum der Seitensprosse mit den Ziffern 2 bis 9. Die Seitensprosse werden hier mit der 2. bis n. Ordnung abgebildet [7,55,61].

Hintergrund dieses Projektes war die Ernteempfehlung als festen Biobrennstoff für die Biogasproduktion. Als Erntezeitfenster werden hier ab dem zweiten Standjahr das BBCH-Stadium 69 „Ende der Blüte“ oder BBCH Stadium 81 „Beginn der Samenreife“ vorgesehen [7].

Das natürliche Verbreitungsgebiet von *Silphium spp.* liegt in der östlichen Hälfte Nordamerikas [5,41,62] und erstreckt sich über verschiedene geographische Zonen. Durch evolutionäre Prozesse während der Ausbreitung der Art, liegt vermutlich eine große genetische Varianz vor [63,64]. Entsprechend ist davon auszugehen, dass sich verschiedene *Silphium*-Akzessionen auch phänotypisch voneinander unterscheiden [65]. So zeigen diese unterschiedliche Ausprägungen in der Triebbildung, der Erscheinung der Blätter, der Blütenausbildung und der stofflichen Zusammensetzung und dem Seneszenzverhalten, sodass unterschiedliche optimale Nutzungsformen je nach Akzession und Erntetermin divergieren können [37,58]. Nach Wever et al. (2019) ist eine Akzession als eine Population von einem geografisch bestimmten Standort definiert [58].

Legt man diese Definition zugrunde, ist durch die Wahl unterschiedlicher Akzessionen, die geographisch möglichst weit auseinanderliegender Akzessionen sichergestellt, dass der Verwandtschaftsgrad der untersuchten Akzessionen möglichst gering ist und so ein großes genetisches Spektrum innerhalb der Art abgebildet werden kann. Für eine Beschreibung der Entwicklungskinetiken unterschiedlicher Wildtypen von wenig bzw. nicht domestizierten Pflanzen ist eine breit aufgestellte Auswahl an Akzessionen von großer Bedeutung. Hierzu wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine entwicklungs kinetische Beschreibung von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* vorgenommen.

Im Folgenden soll eine Überarbeitung der nach Cumplido-Marin et al. (2020) erstellten BBCH-Skala für *Silphium perfoliatum* ausgearbeitet und eine Adaption an *Silphium integrifolium* durchgeführt werden [7].

## 2.1 Forschungshypothesen

### Hypothese 1

Aufgrund festgestellter phänotypischer Unterschiede unterschiedlicher *Silphium perfoliatum*-Akzessionen in vorangegangenen Studien [37,58], ist es naheliegend, dass auch die eigentliche Pflanzenentwicklung Unterscheide aufweist. Ebenso lässt sich diese These auf *Silphium integrifolium* übertragen. Etwaige Unterschiede liegen im Etablierungsjahr wie auch im zweiten Jahr der Entwicklung vor und lassen sich an den untersuchten Akzessionen der entsprechenden Arten erkennen.

### Hypothese 2

Trotz der in Hypothese 1 beschriebenen Entwicklungsunterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* lassen sich die zentralen Entwicklungsschritte beider Arten vergleichen und in einer BBCH-Skala vereinen.

### Hypothese 3

Aufgrund unterschiedlicher Entwicklungskinetiken der untersuchten Arten lassen sich unterschiedliche optimale Erntezeitpunkte für die jeweilige Akzession und Nutzungsbestimmung definieren.

## 2.2 Material und Methoden

Der Feldversuch befindet sich in Nordrhein-Westfalen zwischen Meckenheim und Rheinbach nahe der Bundesstadt Bonn. Der Campus Klein-Altendorf ist eine Lehr- und Forschungsstation der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn und liegt auf einer Höhe von ca. 180 m über NN in der Niederrheinischen Bucht. Der vorherrschende Bodentyp auf der Hauptterrasse des Rheins ist eine Parabraunerde, die aus Löß schwach erodiert ist. Mit einer Bodenzahl von 85 bis 90 gilt der Standort als hervorragend für den Ackerbau [66]. Die durchschnittlichen Jahresniederschläge der Jahre 1956 bis 2014 am Standort Campus Klein-Altendorf betragen im langjährigen Mittel 603 mm. Die Jahresmitteltemperatur lag im gleichen Zeitraum bei 9,4 °C, wodurch sich eine durchschnittliche Vegetationsperiode von 165 bis 170 Tagen ergibt [67].

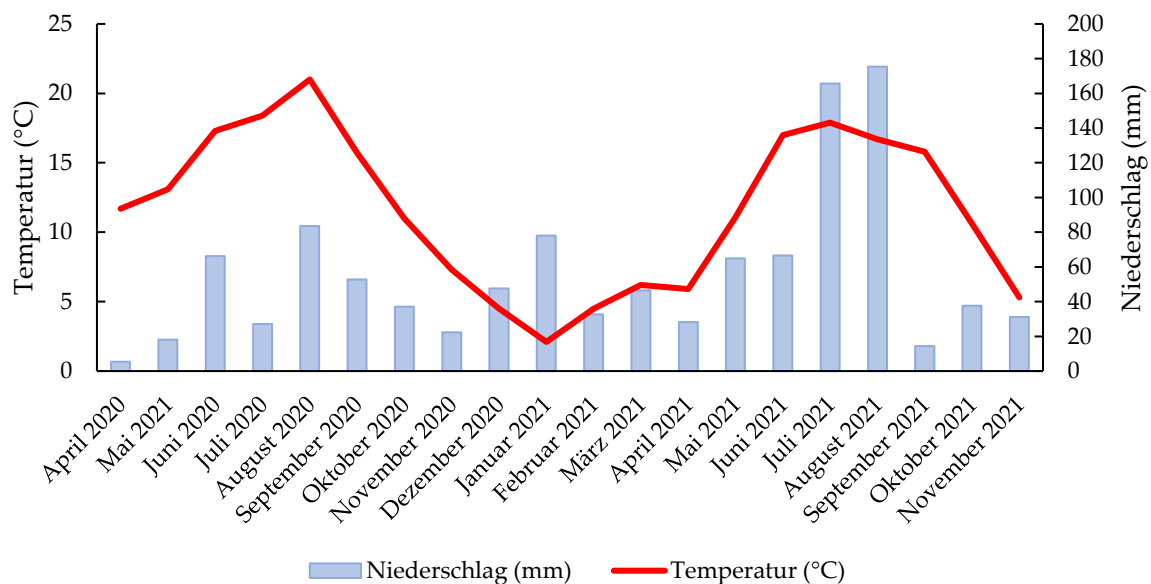


Abbildung 1 - Klimatische Bedingungen über den Versuchszeitraum von April 2020 bis November 2021

Die allgemeinen durchschnittlichen klimatischen Bedingungen sind durch eine Durchschnittstemperatur von 9,6 °C und einen Jahresniederschlag von 603 mm gekennzeichnet. Abbildung 1 zeigt die monatlichen Durchschnittstemperaturen und die entsprechenden Gesamtniederschläge über den Versuchszeitraum. Die Durchschnittstemperatur im Jahr der Versuchsetablierung (2020) betrug 11,5 °C. Die Niederschlagsmenge betrug 492 mm. Im zweiten Versuchsjahr (2021) betrug die Durchschnittstemperatur 9,8 °C und die Niederschlagsmenge war mit 788 mm überdurchschnittlich hoch [67]. Das überdurchschnittlich hohe Niederschlagsaufkommen

erklärt sich durch das Auftreten der Jahrhundertflut am 14. Juli 2022, welche größte Schäden in der nahegelegenen Eifel und dem Bergischen Land verursachte. Der Versuch wurde durch dieses Starkregenereignis nicht negativ beeinflusst.

### 2.2.1 Versuchsaufbau

Es wurden jeweils zwei Akzessionen von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* verwendet. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Akzessionen geografisch möglichst unterschiedlich sind und eine möglichst große genetische Varianz aufweisen. 36 Pflanzen pro Akzession wurden in einer 6x6 Pflanzen umfassenden Versuchsparzelle ausgesät. Die Pflanzen wurden in einer Pflanzdichte von vier Pflanzen pro Quadratmeter über den Versuch hinweg kultiviert. Dazu wurden die Samen im Vorfeld mit einer 0,05 prozentigen Gibberellinsäure (GA<sub>3</sub>)-Lösung für 12 Stunden bei 4 °C behandelt, um die Keimung zu katalysieren [28]. Um zu vermeiden, dass aufgrund nicht hinreichender Keimung Pflanzplätze innerhalb des Versuchs aufgrund unzureichender Keimrate leerstehen, wurden fünf Samen der entsprechenden Akzession in jeder Pflanzparzelle ausgesät. Sobald die Keimung abgeschlossen war und die Keimblätter vollständig ausgebildet waren, wurden überschüssige Pflanzen mechanisch entfernt.

*Tabelle 1 - Fundorte der natürlichen Habitats der Akzessionen von Silphium perfoliatum und Silphium integrifolium für diesen Versuch. (\* Ursprüngliche Herkunft der Akzession. Eine Prädometisierung wurde am Land Institut in Salina, KS, USA, durchgeführt).*

Akzessionsname	Accessionsbeschreibung	Breitengrad (N)	Längengrad (O)
SPS	<i>Silphium perfoliatum</i> südlich	32.203	-89.254
SPN	<i>Silphium perfoliatum</i> nördlich	41.857	-86.590
Sii	<i>Silphium integrifolium</i> var. <i>integrifolium</i>	41.776	-86.404
Sil	<i>Silphium integrifolium</i> var. <i>laeve</i>	39.106*	-96.576*

Für die Untersuchung von *Silphium perfoliatum* wurden eine Akzession aus dem südlichen (SPS) und eine aus dem nördlichen Teil (SPN) des natürlichen Verbreitungsgebiets herangezogen. Zur Bewertung der Entwicklung von *Silphium integrifolium* wurden eine Akzession aus dem westlichen Teil des natürlichen Verbreitungsgebiets (Sii) und eine aus dem südlichen Teil des natürlichen Verbreitungsgebiets stammende, prädometisierte Akzession

(Sil) verwendet. Das Saatgut für diesen Versuch wurde in Populationen am Campus Klein-Altendorf (SPN und SPS), dem botanischen Garten der Universität Düsseldorf (Sii) und dem Land Institute in Salina (KS), USA (Sil) hergestellt.

Zur Vermeidung von Randeffekten und Konkurrenz zwischen den Parzellen wurde ein zusätzlicher zweireihiger Rand der jeweiligen Akzession um die gesamte Versuchsparzelle sowie zwischen den Akzessionen angelegt, um mögliche Verdrängungseffekte aufgrund unterschiedlicher Konkurrenzkräfte zu reduzieren [68].

Während der Etablierungsphase war eine Bewässerung erforderlich. Manuelle Beikrautregulierungsmaßnahmen wurden im ersten Jahr sowie zu Beginn des zweiten Jahres durchgeführt. Zu Beginn jeder Vegetationsphase wurden 50 kg N/ha als Erhaltungsdüngung gegeben.

## 2.2.2 Hilfestellung für die Chronologie der Ereignisse

Bei der Auswertung dieses Versuchs wurden alle zeitlichen Angaben relativ zum Aussattermin gemacht. Um diese Informationen in einen zeitlichen Kontext stellen zu können, zeigt Tabelle 2 zeitliche Übersetzungen zum Tag des Jahres, des Julianischen Kalenders und zu den Ereignissen im Feldversuch.

Tabelle 2 - Zeitlicher Überblick über den Versuchszeitraum in Relation zum Julianischen Datum und Beginn der unterschiedlichen Entwicklungsphasen von *Silphium spp*

	Tage nach Aussaat (TnA)	Datum	Entwicklungsphasen
Etablierungsjahr	0	22. April 2020	Aussaat
	34	26. Mai 2020	Rosettenentwicklung
	111	11. August 2020	Triebentwicklung
	146	15. September 2020	Generative Phase
	195	3. November 2020	Seneszenz
Zweites Jahr	265	3. Januar 2021	Rosettenentwicklung
	376	3. Mai 2021	Triebentwicklung
	426	22. Juni 2021	Generative Phase
	502	6. September 2021	Seneszenz
	580	23. November 2021	Ende des Feldversuchs

## 2.2.3 Beschreibung der Keimung

Um die Keimung der Pflanzen zu beschreiben, wurden Samen der untersuchten Akzessionen aus dem Feldversuch in einer für diesen Versuch entwickelten Rhizotron-Anlage untersucht. Hierzu wurden Petrischalen eines Durchmessers von 12 cm zur Hälfte mit Boden aus dem Feldversuch gefüllt. Anschließend wurden Samen der jeweiligen Akzession so platziert, dass diese Deckelseitig zu beobachten waren. Anschließend wurden die Petrischalen umgedreht und in einem Winkel von 60° in einem Pflanzenschrank kultiviert. Dies ermöglichte eine genaue und nicht-invasive Methode zur Beschreibung der Samenkeimung und der Wurzelentwicklung von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium*.

Hierfür wurden die klimatischen Bedingungen (Tageslänge und Temperaturprofil) des Feldversuchs während der Keimung in einem Pflanzenschrank nachgebildet. Je nach Bedarf wurde Feuchtigkeit zugeführt. Von jeder Akzession wurden fünfzig Samen ausgesät, die im Vorfeld einer zwölfstündigen Behandlung in einer GA<sub>3</sub>-Lösung (0,05%) bei 4 °C nach



Gansberger et al. (2017) – äquivalent zum Vorgehen im Rahmen der Etablierung des Feldversuchs – unterzogen wurden [28].

#### 2.2.4 Datenerhebung

Die Daten aus dem Keimungsversuch in den Rhizotronen wurden über einen Zeitraum von 30 Tagen gesammelt. Innerhalb des Keimungsstadiums wurden verschiedene morphologische Entwicklungsschritte erfasst.

Der Datenerfassungszeitraum des Feldversuchs erstreckte sich vom 26. Mai 2020 (34 Tage nach Aussaat (TnA)) bis zum 23. November 2021 (580 TnA), wobei die Entwicklung der Pflanzen wöchentlich dokumentiert wurde. Das vegetative Wachstum bezog sich auf die Zählung der Nodien sowohl an der Rosette als auch am Spross. Dabei galt das Nodium als voll entwickelt, sobald die entsprechenden Blätter vollständig ausgebildet waren. Die entsprechenden Daten wurden an einem vorab ausgewählten Trieb jeder Pflanze erhoben. Diese Auswahl erfolgte zu Beginn der jeweiligen Vegetationsperiode und wurde während des Versuchszeitraums nicht verändert. Im Folgenden wird dieser Trieb als Haupttrieb bezeichnet. Es wurde immer das letzte voll entwickelte Nodium erfasst. Die Zählungen der Nodien wurde kontinuierlich durchgeführt, so dass für die Auswertung eine kumulative Nodienzählung von Rosettennodien und Sprossnodien verwendet wurde, um eine Vernachlässigung von Nodienverschiebungseffekten zu vermeiden, wie von Kadereit et al. (2014) beschrieben [69]. Das generative Wachstum wurde in Form einer rangweisen Bewertung von voll entwickelten Knospen (vollständig verlängerter Knospentiel aller Knospen des entsprechenden Ranges) und Blüten (erste vollständige Bestäubbarkeit aller Blüten des entsprechenden Ranges) sowie der Samenentwicklung (Samenfüllung in allen Blüten des entsprechenden Ranges abgeschlossen, Samenschale noch grün) und deren Reife (braune und trockene Samen in den Blüten des entsprechenden Ranges) erfasst. Zusätzlich wurde der Zeitpunkt des Ausfallens der Samen aus der Blüte dokumentiert. Das jeweilige Stadium galt als erreicht, sobald der jeweilige Rang es vollständig abgeschlossen hatte. Zum Ende beider Vegetationsperioden wurde die fortschreitende Seneszenz der Pflanzen in Prozenten erfasst. Der Versuch wurde nach Abschluss der zweiten Vegetationsphase (580 TnA) beendet.

Über die Dauer der generativen Phase hinweg wurden stetig repräsentative abgereifte Blüten der entsprechenden Ränge geerntet. Anschließend wurden die Samen den Blüten entnommen, gezählt und gewogen. Durch Annäherung der pro Blütenrang gebildeten Blütenanzahl

wurden die durchschnittlichen Samenerträge pro Hektar errechnet. Für die Anzahl  $N$  der gebildeten Blüten pro Rang gilt

$$N = 2^{x-1},$$

wobei der Exponent  $x$  die Nummerierung des jeweiligen Blütenranges definiert.

Nach 596 TnA wurde eine Ernte der oberirdischen Biomasse vorgenommen und die Anzahl der gebildeten Triebe festgestellt. Hierzu wurden die Frischmassen der Einzelpflanzen dokumentiert. Zusätzlich wurde eine Bestimmung der Trockensubstanz jeder Einzelpflanze durch einen Trocknungsvorgang zweier Triebe jeder Pflanze durchgeführt. Hierzu wurden entsprechende Proben hergestellt, eingewogen und bei 105 °C für 48 Stunden getrocknet. Durch eine anschließende Dokumentation der verbliebenen Gewichte der unterschiedlichen Proben, wurden die jeweiligen zu erwartenden Hektarerträge berechnet.

### 2.2.5 Datenverarbeitung

Die Daten für jedes Entwicklungsstadium wurden über die jeweilige Akzession kumuliert und in Form von Heatmaps dargestellt. Ein innerartlicher Vergleich wurde zwischen den beiden Arten *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* separat durchgeführt. Außerdem wurde die interspezifische Entwicklungskinetik ausgewertet. Sobald eine relative Häufigkeit innerhalb eines Entwicklungsmerkmals ein Maximum erreicht hatte, wurde auf eine fortlaufende Darstellung verzichtet.

Die statistischen Berechnungen basieren auf einem Konfidenzniveau von 95 %. Homogene Untergruppen wurden mittels des Tukey-Tests (Post-hoc-Test) ermittelt.

## 2.3 Ergebnisse

Die Ergebnisse des Versuchs beschreiben die Entwicklung der untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium*. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte chronologisch und lässt sich in das Etablierungsjahr und das zweite Jahr der Entwicklung unterteilen. Die jeweils auftretenden Entwicklungsschritte mit den zugehörigen relativen Häufigkeiten sind in Heatmaps dargestellt. Darüber hinaus wurden statistisch signifikante Entwicklungsunterschiede im intraspezifischen Vergleich herausgearbeitet.

### 2.3.1 Etablierungsjahr

#### 2.3.1.1 Keimung

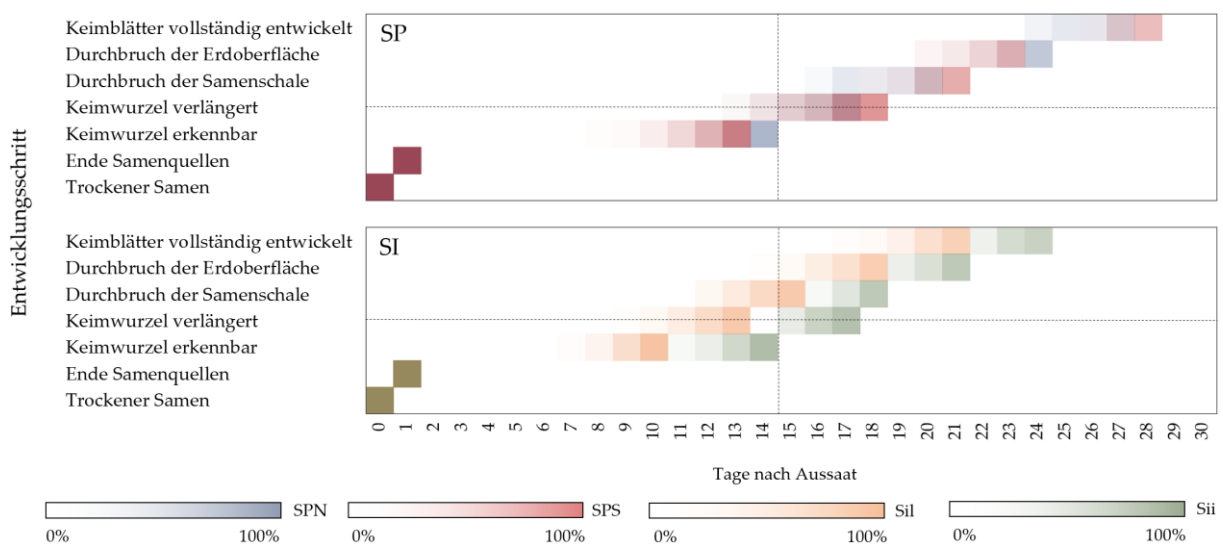


Abbildung 2 - Heatmap der Keimverhalten von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) in einem Rhizotronsystm über einen Zeitraum von 30 Tagen. Die Heatmap SP zeigt das Keimverhalten der beiden Akzessionen *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS); die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil); (n=50). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständigen Ausprägung des entsprechenden Merkmals. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsgrades wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die klimatischen Bedingungen wurden dem entsprechenden Klima im Feldversuch angepasst. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.

Das Auftreten der verschiedenen Entwicklungsschritte für die ersten 30 Tage der Keimung ist in Abbildung 2 dargestellt. Um die unterirdischen Entwicklungsschritte verfolgen zu können, wurde die Keimung in einem zusätzlichen Versuch unter simulierten Feldbedingungen in einem Pflanzenschrank separat durchgeführt. Zu Beginn zeigen beide Akzessionen beider Arten eine Samenquellung. Sieben Tage nach Aussaat (TnA) zeigen die ersten Samen von Sil den Keimbeginn, während die anderen Akzessionen zwei bis drei Tage später zu keimen

beginnen. Die anderen Entwicklungsmerkmale zeigen das gleiche Muster. Die Verlängerung der Keimwurzel, das Durchbrechen der Samenschale, das Durchbrechen der Bodenoberfläche sowie die Entwicklung der Keimblätter treten bei Sil im Durchschnitt drei Tage früher auf. Außerdem fällt auf, dass die Keimung von *Silphium perfoliatum* innerartlich in der späteren Phase des Versuchszeitraums eine höhere Varianz aufweist als die von *Silphium integrifolium*. Es ist festzustellen, dass bei einem bestimmten Anteil der jungen Keimlinge die Entwicklung während des Durchbruchs der Samenschale bzw. des Durchbruchs der Bodenoberfläche stagniert. Außerdem zeigt sich bei allen Akzessionen ein gewisser Prozentsatz von Samen, die nicht über das Stadium des Samenquellens hinauskommen (SPS: 16 %; SPN: 36 %; Sii: 22 %; Sil: 10 %).

Nach 28 TnA des Versuchs erreichen die untersuchten Akzessionen die maximale Keimungsrate (SPS: 52%; SPN: 42%; Sii: 54%; Sil: 70%).

### 2.3.1.2 Rosettenentwicklung

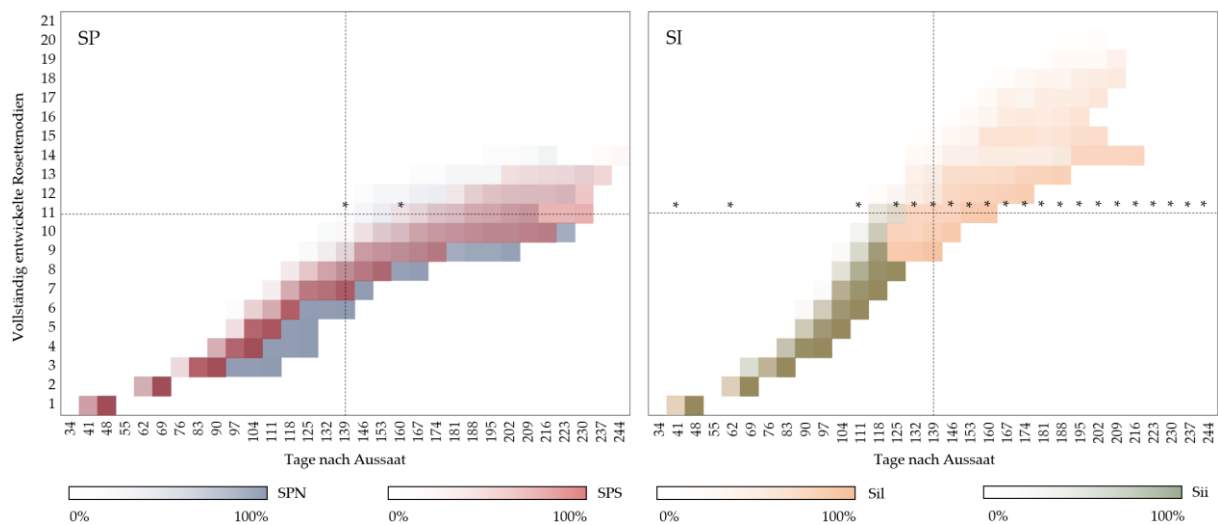


Abbildung 3 - Heatmap der Rosettenmodienentwicklung im Jahr der Etablierung von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) von 34 bis 244 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die Rosettenentwicklung im ersten Jahr beider Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS); die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil); (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständig entwickelten Rosettenmodien. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsgrades wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen weisen auf einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den dargestellten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt hin, mit einem Konfidenzniveau von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.

Die Entwicklung der Rosette von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) im ersten Jahr nach der Aussaat ist in Abbildung 3 dargestellt. Im Allgemeinen entwickelt sich

*Silphium integrifolium* etwas verfrüht im Vergleich zu *Silphium perfoliatum*. Sil bildet maximal 20, Sii, SPS und SPN 14 Nodien. Die Entwicklung der einzelnen Pflanzen jeder Akzession wird mit der Zeit heterogener.

Bei *Silphium perfoliatum* verläuft die Entwicklung beider Akzessionen ähnlich. SPN ist zeitlich inhomogener als SPS, sodass die maximale Häufigkeit der einzelnen vollentwickelten Rosettennodien später erreicht wird. An zwei Terminen (139 und 160 TnA) kann ein signifikanter Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den SPN- und SPS-Akzessionen festgestellt werden. Aufgrund der relativ hohen  $p$ -Werte ( $p = 0,041$ ) zu diesen Zeitpunkten und keiner weiteren signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen lässt sich kein Muster erkennen, sodass von einem zufälligen signifikanten Unterschied ausgegangen werden kann.

Die untersuchten Akzessionen von *Silphium integrifolium* zeigen, äquivalent zu *Silphium perfoliatum*, einen ähnlichen Verlauf in der ersten Hälfte der Wachstumsperiode, mit einigen signifikanten Unterschieden zu Beginn des Pflanzenwachstums. Die Entwicklung von Sii stagniert fast vollständig nach 125 TnA mit einem Maximum von 14 Nodien. In der zweiten Hälfte des Entwicklungsverlaufs zeigt Sil eine fortschreitende Nodienbildung, die sich von Sii immer weiter entfernte. Nach 125 TnA weist Sii durchschnittlich  $10,26 \pm 1,42$  und Sil  $10,91 \pm 1,81$  gebildete Nodien auf ( $p = 0,016$ ). Nach 216 TnA gibt es keine Veränderung bei Sii, während Sil sich weiterentwickelte und durchschnittlich  $15,06 \pm 4,53$  Nodien bildet, wodurch der Unterschied zwischen den untersuchten Akzessionen signifikanter wird ( $p = 2 \times 10^{-8}$ ). Im Vergleich dazu zeigt *Silphium perfoliatum* durchschnittlich  $7,52 \pm 0,93$  nach 126 TnA und  $11,31 \pm 2,66$  Nodien nach 216 TnA.

### 2.3.1.3 Triebentwicklung

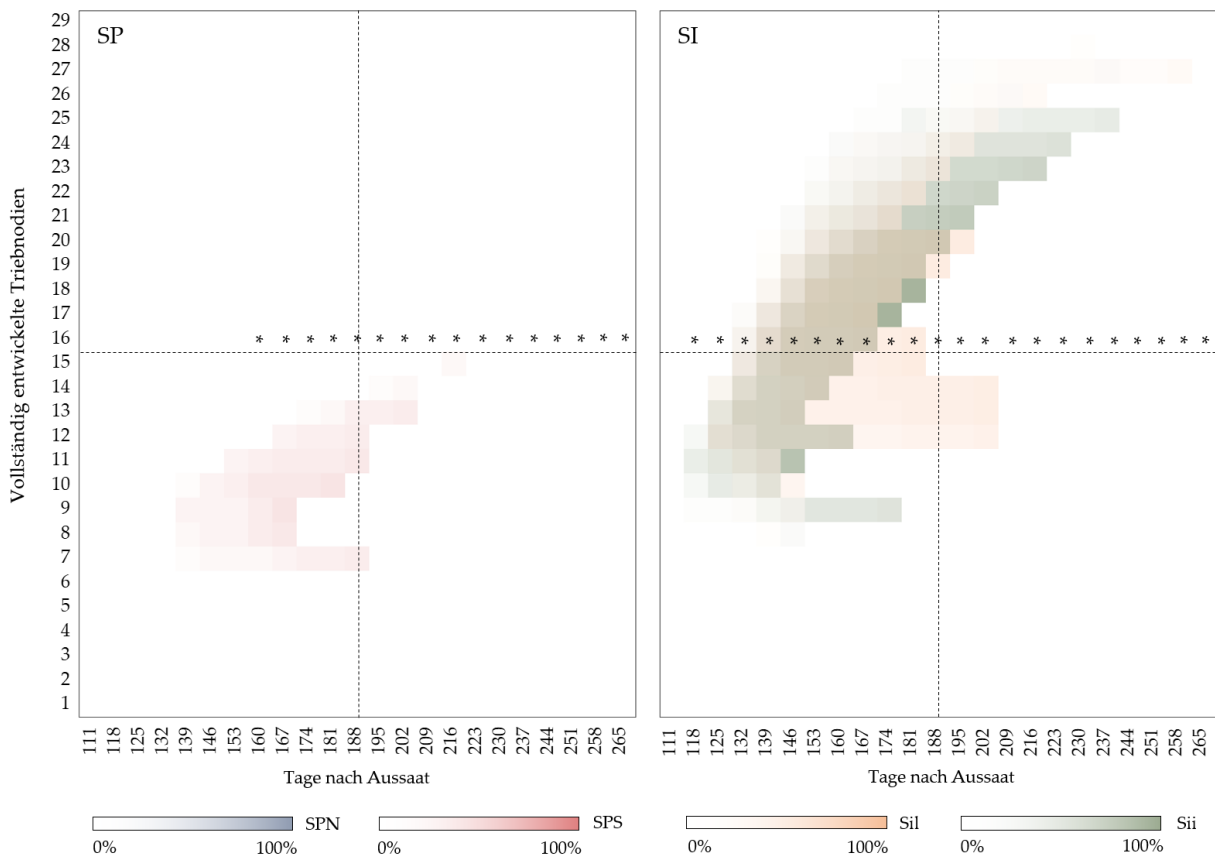


Abbildung 4 - Heatmap der Sprossnodienentwicklung von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) von 111 bis 265 Tagen nach Aussaat. Heatmap SP zeigt die Triebentwicklung des ersten Jahres beider Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS); Heatmap SI zeigt das Äquivalent beider Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil); ( $n = 36$ ). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständig entwickelten Triebnodien. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsgrades wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen weisen auf einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den dargestellten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt hin, mit einem Konfidenzintervall von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.

Das Triebwachstum im Jahr der Etablierung ist in Abbildung 4 dargestellt, die mit der fortlaufenden Nummerierung von Abbildung 3 aufgetragen ist. Im Allgemeinen zeigt *Silphium integrifolium* ein deutlich früheres Triebwachstum als *Silphium perfoliatum*. Bei *Silphium integrifolium* kann das erste Triebnodium nach 118 TnA und bei *Silphium perfoliatum* nach 139 TnA nachgewiesen werden. *Silphium perfoliatum* zeigt in der Akzession SPS eine geringe Tendenz zur Sprossbildung, da 22 % der Pflanzen im ersten Jahr rudimentäres Sprosswachstum entwickeln. Bei SPN zeigt sich keine Sprossbildung. *Silphium integrifolium* zeigt in beiden Akzessionen eine Sprossbildung. Bei Sii entwickeln 25 % der Pflanzen 25 kumulative Triebnodien; Sil erreicht 27 kumulative Triebnodien bei etwa 3 % der Pflanzen

nach einem Versuchszeitraum von 265 TnA. Die untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* zeigen zum ersten Mal nach 160 TnA einen signifikanten Unterschied. SPS hat zu diesem Zeitpunkt durchschnittlich 1,06 ( $p = 0,038$ ), während SPN keine Sprossnodien bildet. Die untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* weisen zum ersten Mal nach 160 TnA einen signifikanten Unterschied auf. SPS hat zu diesem Zeitpunkt durchschnittlich  $1,06 \pm 2,14$  ( $p = 0,038$ ), während SPN keine Sprossnodien bildet. Im Laufe der Zeit setzt sich die Entwicklung der Sprossnodien bei SPS fort, so dass nach 265 TnA durchschnittlich  $1,82 \pm 3,43$  Sprossnodien gebildet worden sind und ein signifikanter Anstieg ( $p = 0,015$ ) zu verzeichnen ist. Die untersuchten Akzessionen von *Silphium integrifolium* zeigen einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Sprossnodien zu Beginn der Sprossentwicklung. Nach 160 TnA hat Sii durchschnittlich  $10,66 \pm 4,57$  und Sil  $3,31 \pm 5,8$  Triebnodien entwickelt ( $p = 4,1 \times 10^{-7}$ ). Nach 265 TnA hat Sii im Durchschnitt  $12,81 \pm 5,33$  und Sil  $4,63 \pm 6,99$  Triebnodien gebildet. Der  $p$ -Wert steigt zu diesem Zeitpunkt geringfügig auf  $p = 1,7 \times 10^{-6}$ .

#### 2.3.1.4 Generative Phase

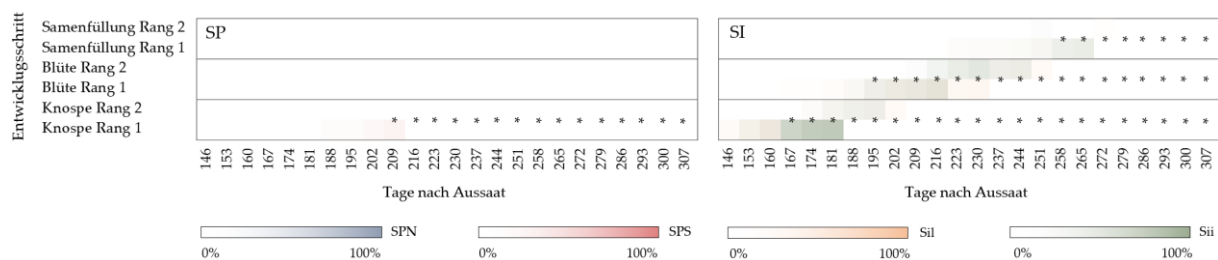


Abbildung 5 - Heatmap des Zeitraums der generativen Entwicklung von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) von 146 bis 307 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die generative Entwicklung des ersten Jahres der beiden Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS); die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil), unterteilt in Knospenbildung, Blüte und Samenfüllung. ( $n = 36$ ). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) des abgeschlossenen Entwicklungsstadiums. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsstandes wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen weisen auf einen signifikanten Unterschied zwischen den erreichten Merkmalen der generativen Entwicklung zwischen den gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt mit einem Konfidenzintervall von 95 % hin.

Die generative Entwicklung im Jahr der Etablierung ist in Abbildung 5 dargestellt. *Silphium perfoliatum* zeigt im ersten Jahr der Entwicklung ein stark reduziertes generatives Wachstum. SPS zeigt die erste rudimentäre Knospenentwicklung nach 174 TnA. Nach 209 TnA sind bei 11 % der Pflanzen Knospen ersten Ranges gebildet. Ab diesem Zeitpunkt gibt es einen

signifikanten Unterschied zwischen SPS und SPN ( $p = 0,04$ ). Weiteres generatives Wachstum wurde bei *Silphium perfoliatum* nicht festgestellt.

*Silphium integrifolium* erreicht bei beiden untersuchten Akzessionen generatives Wachstum. Beide Varianten zeigen 146 TnA erste Knospen des ersten Ranges. Bei Sil zeigen 14 % der Pflanzen Knospenbildung im ersten und 9 % im zweiten Rang. Ein ähnliches Muster ergibt sich bei der Blütenbildung. Die Samenfüllung im ersten und zweiten Blütenrang ist bei 6 % bzw. 3 % der Pflanzen abgeschlossen. Eine Knospenentwicklung ersten Ranges wird in Sii bei 62 % der Pflanzen und bei 34 % des zweiten Ranges erreicht. Die Blüte wird im ersten Rang bei 50 % der Pflanzen erreicht. Im zweiten Rang erreichen 34 % der Pflanzen dieses Stadium. Die vollständige Samenfüllung erfolgt bei 21 % der untersuchten Pflanzen im ersten Rang und bei 3 % im zweiten Rang in Sii. Die ersten signifikanten Unterschiede in der Knospenbildung werden nach 167 TnA festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt haben die Sii im Durchschnitt  $0,47 \pm 0,55$  und die Sil  $0,14 \pm 0,35$  Knospenränge ausgebildet ( $p = 0,003$ ). Nach Abschluss der Knospenentwicklung 202 TnA werden durchschnittlich  $0,86 \pm 0,85$  und  $0,22 \pm 0,58$  Knospenränge von Sii bzw. Sil gebildet. Der Unterschied zu diesem Zeitpunkt hat ebenfalls einen hochsignifikanten  $p$ -Wert von  $p = 5 \times 10^{-4}$ . Erste signifikante Unterschiede in Bezug auf die Blütenbildung sind 195 TnA zu erkennen. Zu diesem Zeitpunkt sind durchschnittlich  $0,28 \pm 0,45$  bei Sii und  $0,06 \pm 0,23$  bei Sil Blütenstände gebildet ( $p = 0,011$ ). Nach Abschluss der Blütenbildung nach 251 TnA sind immer noch signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen mit einem  $p$ -Wert von 0,0016 vorhanden. Zu diesem Zeitpunkt sind im Durchschnitt  $0,75 \pm 0,89$  und  $0,17 \pm 0,55$  blühende Ränge in Sii bzw. Sil ausgebildet. Erste signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen sind 258 TnA vorhanden. Zu diesem Zeitpunkt weist Sii durchschnittlich  $0,19 \pm 0,46$  gefüllte Samenränge pro Pflanze bzw.  $0,06 \pm 0,23$  in Sil auf. Zu diesem Zeitpunkt zeigt sich ein  $p$ -Wert von 0,0016, der sich im weiteren Zeitverlauf nicht mehr ändert.

Die Samenreife trat bei keiner Akzession ein.



### 2.3.1.5 Seneszenz

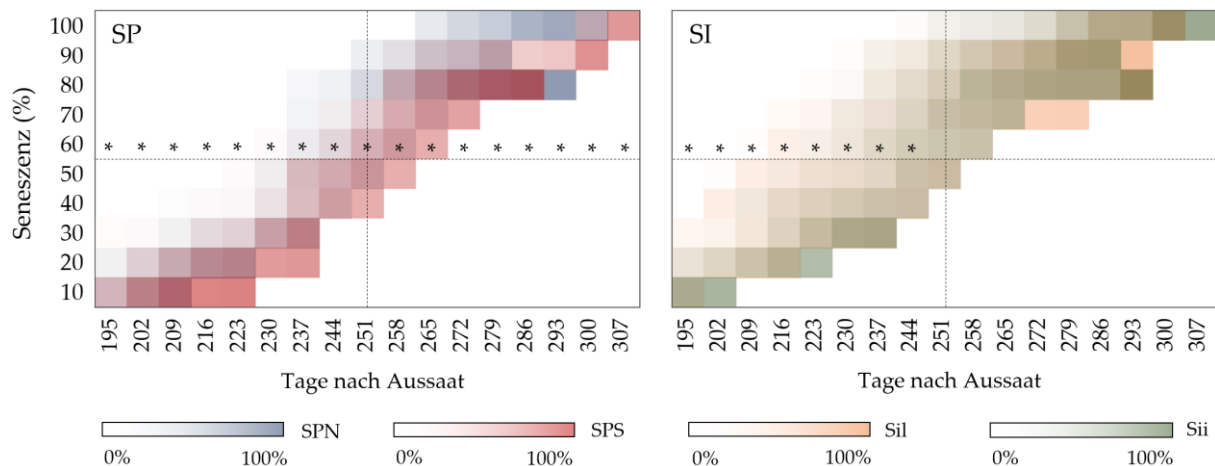


Abbildung 6 - Heatmap des Verlaufs der Seneszenz von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) von 195 bis 307 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt den Seneszenzverlauf der beiden Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) des ersten Jahres; die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil); ( $n = 36$ ). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der verschiedenen Seneszenzstufen. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsniveaus wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen zeigen einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Grad der Seneszenz zwischen den gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt an, mit einem Konfidenzintervall von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.

Der Verlauf der Seneszenz am Ende der Vegetationsphase des ersten Jahres wurde in Abbildung 6 dargestellt. Die Seneszenz der untersuchten Pflanzen wurde erstmals 195 TnA festgestellt. Die untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* zeigen einen zeitlichen Versatz, so dass der Seneszenzprozess bei SPN nach 300 TnA endet. SPS erreicht die vollständige Seneszenz bei 81 % der untersuchten Pflanzen nach 307 TnA. Über den gesamten Beobachtungszeitraum zeigen die *Silphium perfoliatum* Akzessionen einen signifikanten Unterschied mit einem durchschnittlichen  $p$ -Wert von 0,003.

Der Verlauf der Seneszenz von *Silphium integrifolium* ist in Bezug auf die beiden untersuchten Akzessionen homolog. Die vollständige Entwicklung der Seneszenz tritt bei Sii nach 307 TnA und bei Sil nach 300 TnA ein. In der ersten Hälfte des Beobachtungszeitraums gibt es signifikante Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Akzessionen. So zeigt Sii 195 TnA eine durchschnittliche Seneszenz von  $11,94\% \pm 3,95\%$  und Sil  $16,7\% \pm 0,7\%$  mit einem  $p$ -Wert von  $9,6 \times 10^{-4}$ . Im weiteren Verlauf werden die Unterschiede zwischen den Akzessionen geringer. So liegt nach 244 TnA die durchschnittliche Seneszenz für Sii bei  $65,83\% \pm 15,7\%$  und für Sil bei  $75,28\% \pm 17,56\%$ , mit einem resultierenden  $p$ -Wert von 0,0204.

## 2.3.2 Zweites Jahr der Entwicklung

### 2.3.2.1 Rosettenentwicklung

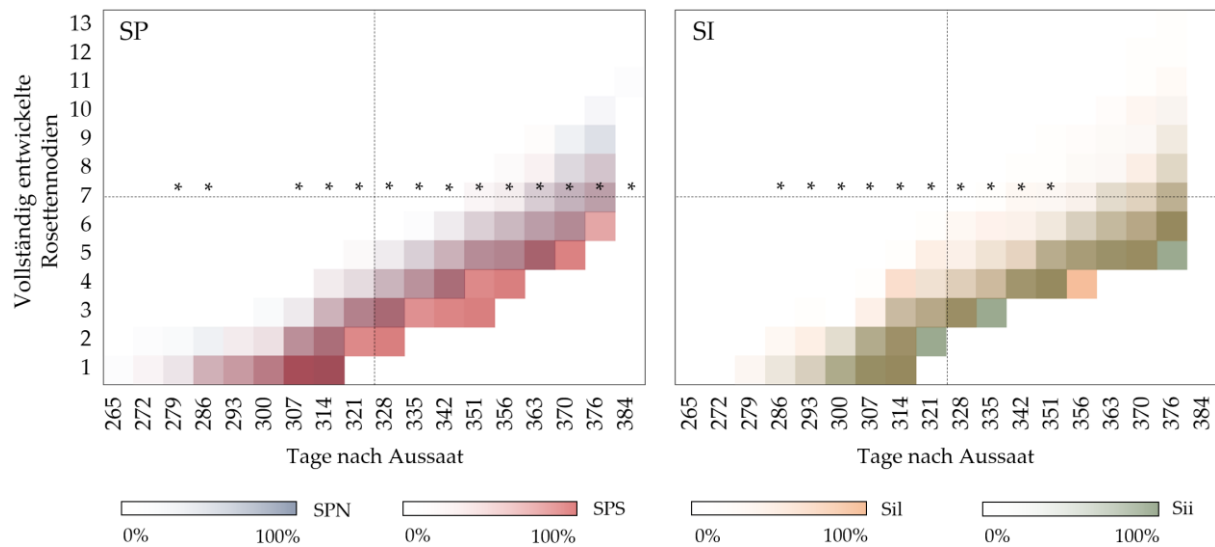


Abbildung 7 - Heatmap des Verlaufs der Rosettennodienentwicklung von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) von 265 bis 384 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die Rosettenentwicklung beider Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) des zweiten Jahres; die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil); ( $n = 36$ ). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständig entwickelten Rosettennodien. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsniveaus wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen zeigen einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt an, mit einem Konfidenzintervall von 95%. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.

Die Entwicklung der Rosettennodien im zweiten Jahr wurde in Abbildung 7 dargestellt. Der Wiederaustrieb der untersuchten Pflanzen beginnt 265 TnA. Im Allgemeinen ist die Entwicklung der Rosettennodien im zweiten Jahr bei *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* analog, da die Rosettenbildung ähnlich verläuft und bei allen Akzessionen nach 376 TnA gleichzeitig beendet wurde. Am Ende des Beobachtungszeitraums (384 TnA) haben SPS und SPN ein Maximum von 9 bzw. 11 Rosettennodien gebildet. Zum gleichen Zeitpunkt bilden Sii und Sil maximal 10 bzw. 13 Rosettennodien.

Im zeitlichen Verlauf zeigt *Silphium perfoliatum* signifikante Unterschiede in der durchschnittlichen Anzahl der Rosettennodien von 307 TnA bis zum Ende des Beobachtungszeitraums (384 TnA). So werden nach 307 TnA durchschnittlich  $1,64 \pm 0,67$  Rosettennodien in SPS und durchschnittlich  $2,27 \pm 0,61$  Rosettennodien in SPN gebildet. Nach 384 TnA hat SPS im Durchschnitt  $6,25 \pm 1,23$  und SPN  $7,97 \pm 1,07$  Rosettennodien gebildet.

Infolgedessen steigt der  $p$ -Wert im Laufe der Zeit von ursprünglich  $8,5 \times 10^{-5}$  auf 0,0037. Die signifikanten Unterschiede 279 und 386 TnA zeigen kein Muster und sind daher vernachlässigbar.

Bei *Silphium integrifolium* verläuft die Entwicklung zwischen den untersuchten Akzessionen recht homogen. Signifikante Unterschiede zwischen Sii und Sil liegen zwischen 286 TnA und 351 TnA vor. Im Durchschnitt weist Sii nach 286 TnA  $0,22 \pm 0,48$  und Sil  $0,61 \pm 0,68$  Nodien auf ( $p = 0,0071$ ). Nach 351 TnA haben sich bei Sii durchschnittlich  $4,84 \pm 0,7$  und bei Sil  $5,42 \pm 1,16$  Nodien gebildet. Zu diesem Zeitpunkt ergibt sich ein  $p$ -Wert von 0,0096. Am Ende des Beobachtungszeitraums weisen Sii durchschnittlich  $7,06 \pm 1,13$  und Sil  $8,03 \pm 1,64$  Rosettennodien auf. Zu diesem Zeitpunkt liegt kein signifikanter Unterschied vor.

### 2.3.2.2 Triebentwicklung

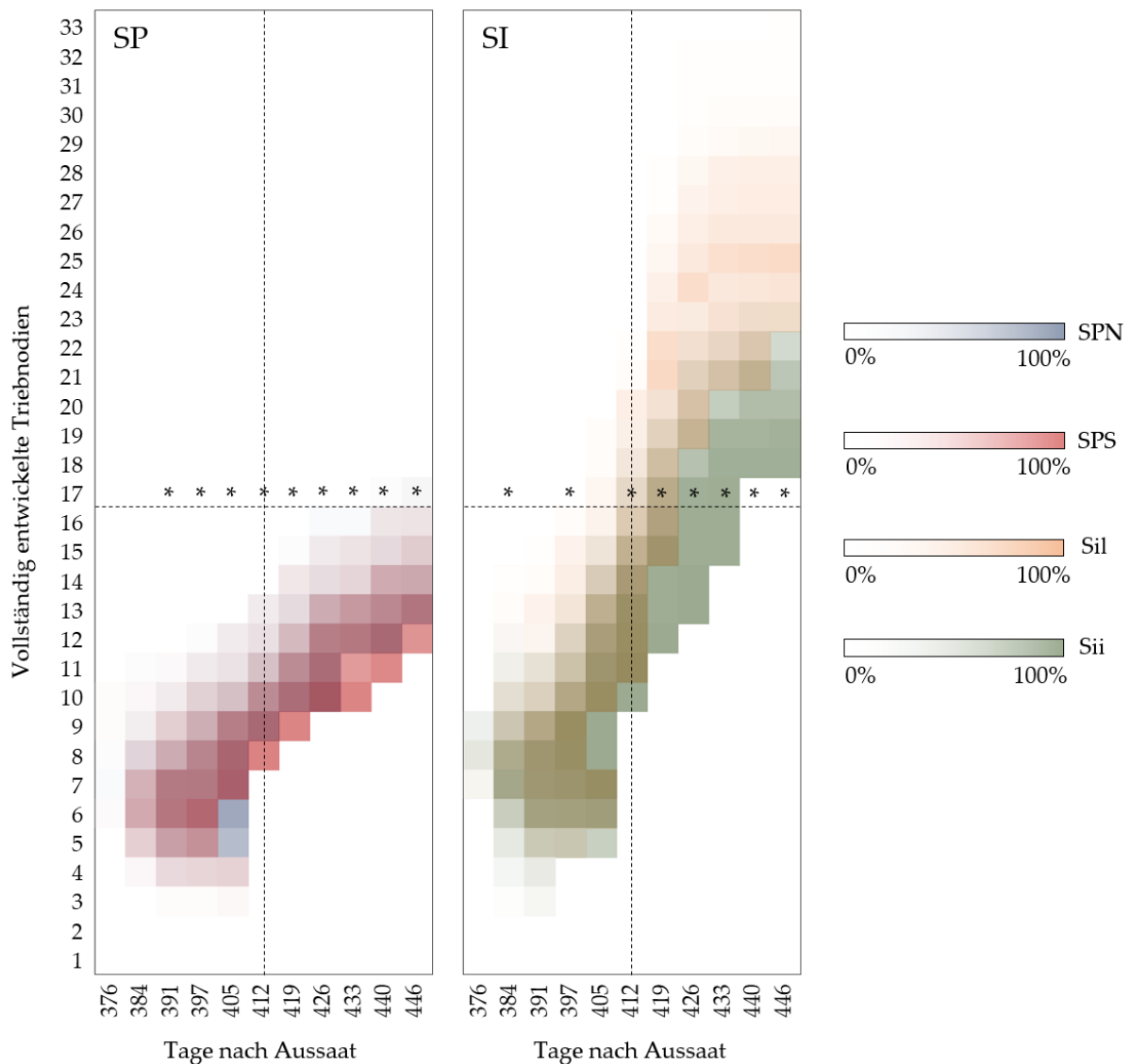


Abbildung 8 - Heatmap des Verlaufs der Sprossnodienentwicklung (Haupttrieb) von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) von 376 bis 446 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die Triebentwicklung beider Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) im zweiten Jahr; die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil); ( $n = 36$ ). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständig entwickelten Sprossnodien. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsgrades wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen weisen auf einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den dargestellten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt hin, mit einem Konfidenzintervall von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.

Das Triebwachstum im zweiten Entwicklungsjahr ist in Abbildung 8 dargestellt, welches mit der fortlaufenden Nummerierung von Abbildung 7 aufgetragen wurde. Die betrachteten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* zeigen einen homologen Entwicklungsverlauf. Die ersten Triebnodien werden nach 376 TnA sichtbar. Nach 446 TnA werden keine weiteren

Sprossnodien gebildet. Zu diesem Zeitpunkt erreicht SPN ein Maximum von 17 Sprossnodien, SPS bildet in der Spitze 16 Sprossnodien. *Silphium integrifolium* zeigt eine homologe Anfangsphase der Sprossentwicklung zwischen den beiden Akzessionen, die etwas früher ist als die Entwicklung von *Silphium perfoliatum*. Beide Akzessionen entwickeln das erste Triebwachstum nach 376 TnA. Ein Maximum von 33 Nodien kann bei Sil nach 446 TnA gezählt werden. Zum gleichen Zeitpunkt erreicht Sii bis zu 24 Triebnodien.

Die Sprossentwicklung von *Silphium perfoliatum* unterliegt bei den untersuchten Akzessionen sehr großen Unterschieden. Diese lassen sich erstmals nach 391 TnA feststellen. Zu diesem Zeitpunkt weist SPS durchschnittlich  $2,94 \pm 0,62$  und SPN durchschnittlich  $3,72 \pm 1,1$  Triebnodien auf. Dies ergibt einen  $p$ -Wert von  $5 \times 10^{-4}$ . Am Ende des Beobachtungszeitraums bildet SPS durchschnittlich  $9,0 \pm 1,13$  und SPN  $9,94 \pm 1,1$  Triebnodien, was zu einem  $p$ -Wert von  $7,3 \times 10^{-4}$  führt. *Silphium integrifolium* zeigt in der Hälfte des Beobachtungszeitraums sporadische signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen, die keinem Muster zu unterliegen scheinen und vernachlässigbar sind. In der zweiten Hälfte des Triebentwicklungszeitraums gibt es kohärente signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen. So weist Sii nach 412 TnA durchschnittlich  $10,64 \pm 1,75$  und Sil  $12,2 \pm 2,71$  Triebnodien auf, was einem  $p$ -Wert von 0,0057 entspricht. Nach 446 TnA bildet Sii  $16,55 \pm 2,33$  und Sil  $19,64 \pm 4,39$ . Dies ergibt einen  $p$ -Wert von 0,00046, was einer signifikanten Zunahme entspricht.

### 2.3.2.3 Generative Phase

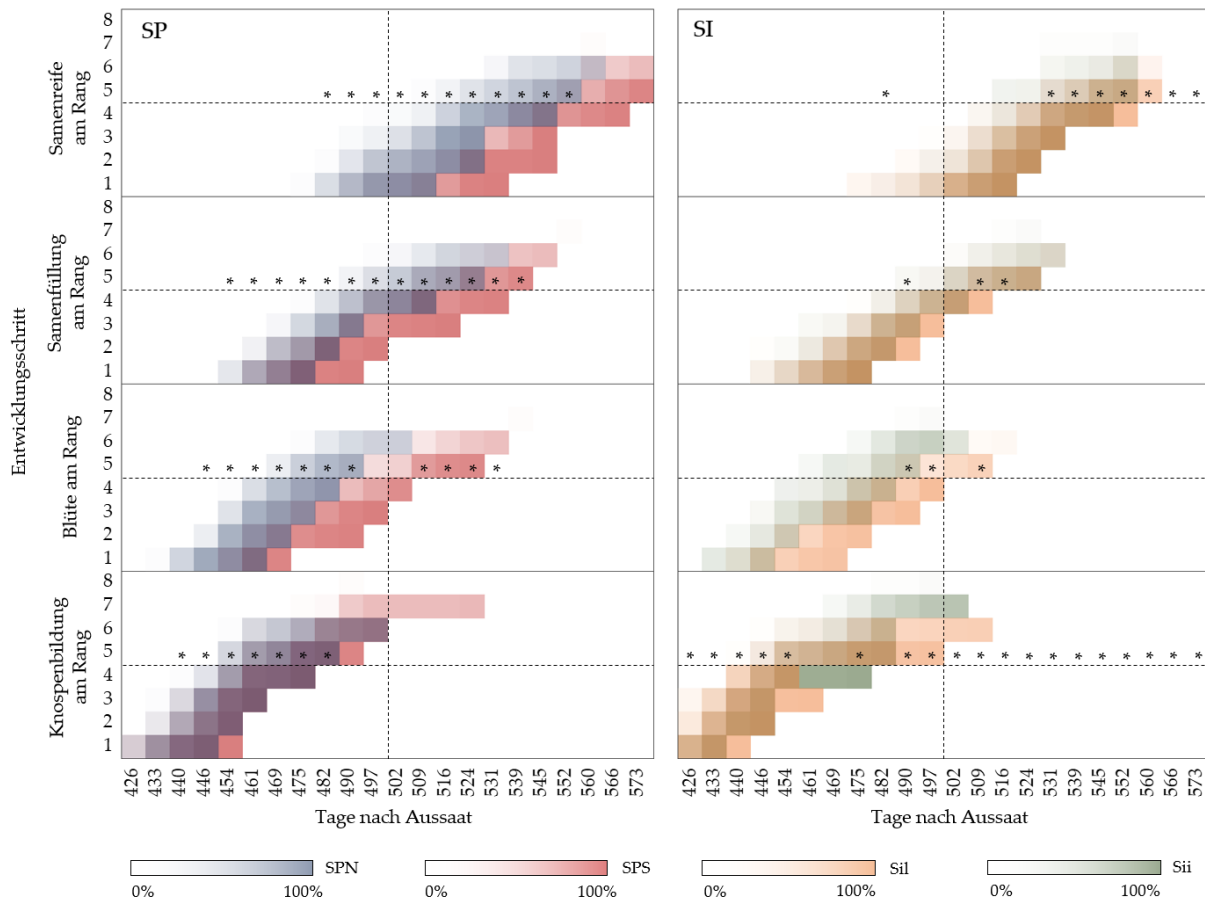


Abbildung 9 - Heatmap des Zeitraums der generativen Entwicklung von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) von 426 bis 573 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die generative Entwicklung des ersten Jahres der beiden Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS); die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil), unterteilt in Knospenbildung, Blüte und Samenfüllung; (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) des abgeschlossenen Entwicklungsstadiums. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsstandes wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den erreichten Merkmalen der generativen Entwicklung der gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt, in einem Konfidenzintervall von 95 % an.

Der Verlauf der generativen Entwicklungsphase von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium*, unterteilt in Knospenbildung, Blütenbildung, Samenfüllung und Samenreife in rangweiser Darstellung, ist in Abbildung 9 dargestellt. Grundsätzlich zeigen *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* eine generative Phase, in der die einzelnen Entwicklungsschritte in gegenseitiger Abhängigkeit aufeinander aufbauen. Im Allgemeinen war der zeitliche Abstand zwischen der Knospenbildung, der Blüte und der Phase der Samenfüllung geringer als bei der Samenreife.

Die Knospenbildung bei *Silphium perfoliatum* erreicht bis zu 8 Knospenränge bei SPS bzw. bis zu 6 Knospenreihen bei SPN. Am Ende des Beobachtungszeitraums weisen SPS im Durchschnitt  $6,5 \pm 0,73$  und SPN  $5,75 \pm 0,76$  Knospenränge auf. Zwischen 440 und 482 TnA gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Akzessionen mit einem durchschnittlichen  $p$ -Wert von  $9 \times 10^{-4}$ . Bei *Silphium integrifolium* weist Sii am Ende des Bewertungszeitraums ein Maximum von 8 und Sil ein Maximum von 6 Knospenrängen auf. Im Durchschnitt werden zu diesem Zeitpunkt  $6,72 \pm 0,61$  Knospenränge in Sii und  $5,82 \pm 1,19$  in Sil gebildet. Mit Ausnahme von 461, 469 und 482 TnA liegen es während des gesamten Beobachtungszeitraums signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen vor. Da die nicht signifikanten Zeitpunkte kein Muster erkennen lassen, können diese vernachlässigt werden. Es ergibt sich ein durchschnittlicher  $p$ -Wert von 0,0032.

*Silphium perfoliatum* zeigt während der Blüte in SPS bis zu 7 Blühhängen. SPN blüht in maximal 6 Rängen. Am Ende des Beobachtungszeitraums hat SPS im Durchschnitt  $5,43 \pm 0,72$  und SPN  $5,22 \pm 0,77$  Blühhänge gebildet. Während der Blütezeit liegt meist ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Akzessionen vor. Bei 497 und 502 TnA ist kein signifikanter Unterschied vorhanden, was aufgrund der nicht nachweisbaren Muster vernachlässigbar ist. Der durchschnittliche  $p$ -Wert liegt über den gesamten Zeitraum bei 0,0035. Die Blüte von *Silphium integrifolium* zeigt sich in Sii in bis zu 7 gebildeten Blühreihen. Sil blüht in bis zu 6 Rängen. Im Durchschnitt blüht Sii in  $5,65 \pm 0,64$  Blühreihen und Sil in  $4,8 \pm 0,62$  Blühreihen. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Akzessionen treten am Ende der Blüte auf, was darauf zurückzuführen ist, dass sich die Blütenentwicklung bei Sil stärker reduziert als bei Sii. Weitere signifikante Unterschiede lassen sich nicht feststellen.

Die Samenfüllungsphase bei *Silphium perfoliatum* zeigt ein Maximum von 7 gefüllten Samenrängen in SPS. Bei SPN sind am Ende des Beobachtungszeitraums bis zu 6 Samenränge gefüllt. Im Durchschnitt beträgt die Anzahl der gefüllten Samenränge in SPS  $5,19 \pm 0,63$  und in SPN  $5,22 \pm 0,76$ . Signifikante Unterschiede mit einem durchschnittlichen  $p$ -Wert von 0,0028 sind zwischen den untersuchten Akzessionen während des Beobachtungszeitraums durchweg vorhanden. Bei *Silphium integrifolium* werden bis zu 7 und bei Sil bis zu 6 Samenränge gefüllt. Im Durchschnitt liegen  $5,5 \pm 0,66$  gefüllte Samenränge bei Sii und  $4,72 \pm 0,64$  bei Sil vor. Signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen gibt es bei 490, 509 und 516 TnA. Da kein Muster erkennbar ist, kann zu diesem Zeitpunkt davon

ausgegangen werden, dass die angezeigten signifikanten Unterschiede vernachlässigbar waren.

Im letzten Teil der generativen Phase zeigt *Silphium perfoliatum* in SPS bis zu 7 abgereifte Samenränge. In SPN sind bis zu 6 Samenränge voll ausgereift. Im Durchschnitt sind in SPS  $5,47 \pm 0,73$  und in SPN  $5,28 \pm 0,77$  Samenränge voll ausgereift. Zwischen 482 und 552 TnA gibt es signifikante Unterschiede mit einem durchschnittlichen  $p$ -Wert von  $9 \times 10^{-6}$ . Die Abreife der Samen von *Silphium integrifolium* zeigt ein Maximum von 7 voll ausgereiften Samenrängen in Sii und 6 voll ausgereiften Samenrängen in Sil. Im Durchschnitt sind  $5,75 \pm 0,6$  und  $4,63 \pm 0,59$  Samenränge in Sii bzw. Sil reif. Von 539 bis 573 TnA werden signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen beobachtet. Der durchschnittliche  $p$ -Wert liegt bei 0,0025. Ein einzelner signifikanter Unterschied 482 TnA lässt sich aufgrund eines fehlenden Musters vernachlässigen.



### 2.3.2.4 Seneszenz

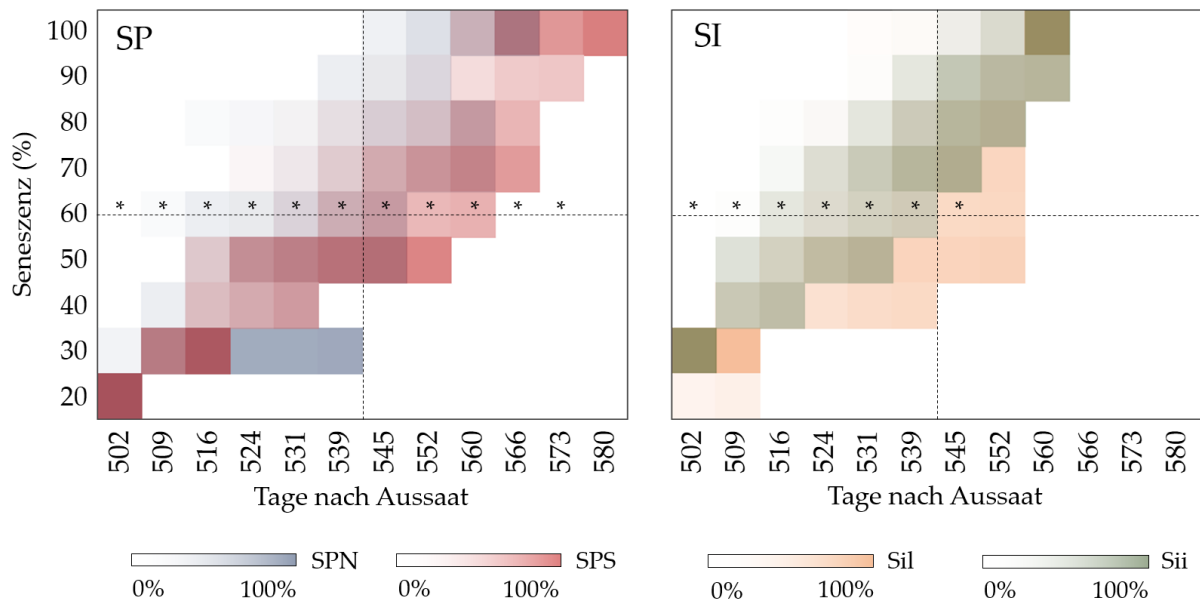


Abbildung 10 - Heatmap des Verlaufs der Seneszenz von *Silphium perfoliatum* (SP) und *Silphium integrifolium* (SI) von 502 bis 580 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt den Seneszenzverlauf beider Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) im zweiten Jahr; die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil); ( $n = 36$ ). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der verschiedenen Seneszenzstufen. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsniveaus wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen zeigen einen signifikanten Unterschied den Grades der Seneszenz zwischen den gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt in einem Konfidenzintervall von 95 % an. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.

Der Verlauf der Seneszenz am Ende der Vegetationsphase des ersten Jahres wurde in Abbildung 10 dargestellt. Die Erfassung der Seneszenz begann 502 TnA. Im Allgemeinen ist der Verlauf der Seneszenz bei den beiden Akzessionen von *Silphium integrifolium* (Sii und Sil) und SPN vergleichbar. Der Seneszenzprozess von SPS verzögert sich im Laufe des Beobachtungszeitraums nach dem gleichen Beginn sukzessiv. So wird die vollständige Seneszenz bei SPN nach 566 TnA erreicht. Sii und Sil erreichen diesen Zustand bereits nach 560 TnA. SPS ist nach 580 TnA vollständig seneszent.

Beim intraspezifischen Vergleich zeigen *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* über den größten Teil des Beobachtungszeitraums einen signifikanten Unterschied zwischen den untersuchten Akzessionen. So weist *Silphium perfoliatum* einen durchschnittlichen  $p$ -Wert von 0,0077 und *Silphium integrifolium* einen  $p$ -Wert von 0,013 über diesen Zeitraum auf. Am Ende des Versuchs sind die Unterschiede nicht mehr signifikant, da bei allen Akzessionen eine vollständige Seneszenz eingetreten ist.

### 2.3.3 BBCH-Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium*

Im Folgenden wurde für *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* eine Anpassung der erhobenen Daten an eine BBCH-Skala nach Hack (1992) und Meier (2018) vorgenommen [54,55]. Dabei wurden nur die Stadien berücksichtigt, die auf mehr als 50 % der untersuchten Pflanzen vorkamen [54]. Dementsprechend werden im Folgenden mögliche BBCH-Stadien, die bei beiden Arten vorkommen, mit einer kurzen Beschreibung und den jeweils ermittelten kumulativen relativen Häufigkeiten dargestellt, um die relevanten Stadien für die Erstellung einer BBCH-Skala der beiden untersuchten Akzessionen jeweils zu definieren. Zusätzlich sind Abbildungen ausgewählter BBCH-Stadien von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* angefügt.

### 2.3.3.1 Makrostadium 0 – Keimung

Tabelle 3 - BBCH-Makrostadium 0 - Saatgutkeimung. Aktuelle Stadien der verschiedenen Phasen der Samenkeimung mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten jedes Keimungsmerkmals von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* auf der Grundlage der gesammelten Daten aus dem Keimungsversuch; (n = 72).

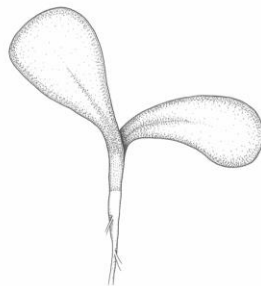
Code	Beschreibung	SP 1. Jahr	SI 1. Jahr	SP 2. Jahr	SI 2. Jahr
0 0	Trockener Samen	1.00	1.00	-	-
0 3	Ende des Samenschwellens	1.00	1.00	-	-
0 5	Keimwurzel sichtbar	0.84	0.90	-	-
0 6	Keimwurzel verlängert	0.82	0.82	-	-
0 7	Samenschalendurchbruch der Keimblätter	0.64	0.82	-	-
0 8	Durchbruch der Bodenoberfläche	0.52	0.76	-	-
0 9	Keimblätter voll entwickelt	0.52	0.70	-	-



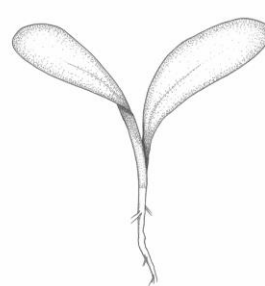
*Silphium perfoliatum*  
BBCH 00



*Silphium integrifolium*  
BBCH 00



*Silphium perfoliatum*  
BBCH 09



*Silphium integrifolium*  
BBCH 09

Abbildung 11 - BBCH-Makrostadium 0 - Illustration von trockenen Samen und jungen Sämlingen von *Silphium* spp.

### 2.3.3.2 Makrostadium 1 – Rosettenentwicklung

Tabelle 4 - BBCH-Makrostadium 1 - Blatt- und Rosettenentwicklung. Vorliegende Stadien der Rosettenentwicklung auf der Basis von Rosettennodien oder Blattpaaren mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten für das erste sowie das zweite Entwicklungsjahr von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* auf der Grundlage der gesammelten Daten aus dem Feldversuch; (n = 72).

Code	Beschreibung	SP 1. Jahr	SI 1. Jahr	SP 2. Jahr	SI 2. Jahr
1 1	1. Rosettennodium/1. Blattpaar voll entwickelt	1.00	1.00	1.00	1.00
1 2	2. Rosettennodium/2. Blattpaar voll entwickelt	1.00	1.00	1.00	1.00
1 3	3. Rosettennodium/3. Blattpaar voll entwickelt	0.97	1.00	1.00	1.00
1 4	4. Rosettennodium/4. Blattpaar voll entwickelt	0.97	1.00	1.00	1.00
1 5	5. Rosettennodium/5. Blattpaar voll entwickelt	0.94	1.00	1.00	1.00
1 6	6. Rosettennodium/6. Blattpaar voll entwickelt	0.83	1.00	1.00	1.00
1 7	7. Rosettennodium/7. Blattpaar voll entwickelt	0.63	1.00	0.92	0.83
1 8	8. Rosettennodium/8. Blattpaar voll entwickelt	-	1.00	0.67	0.53
1 9	9. Rosettennodium/9. Blattpaar voll entwickelt	-	0.91	-	-
1 9	10. Rosettennodium/10. Blattpaar voll entwickelt	-	0.83	-	-
1 9	11. Rosettennodium/11. Blattpaar voll entwickelt	-	0.83	-	-
1 9	12. Rosettennodium/12. Blattpaar voll entwickelt	-	0.77	-	-
1 9	13. Rosettennodium/13. Blattpaar voll entwickelt	-	0.71	-	-
1 9	14. Rosettennodium/14. Blattpaar voll entwickelt	-	0.66	-	-
1 9	15. Rosettennodium/15. Blattpaar voll entwickelt	-	0.54	-	-

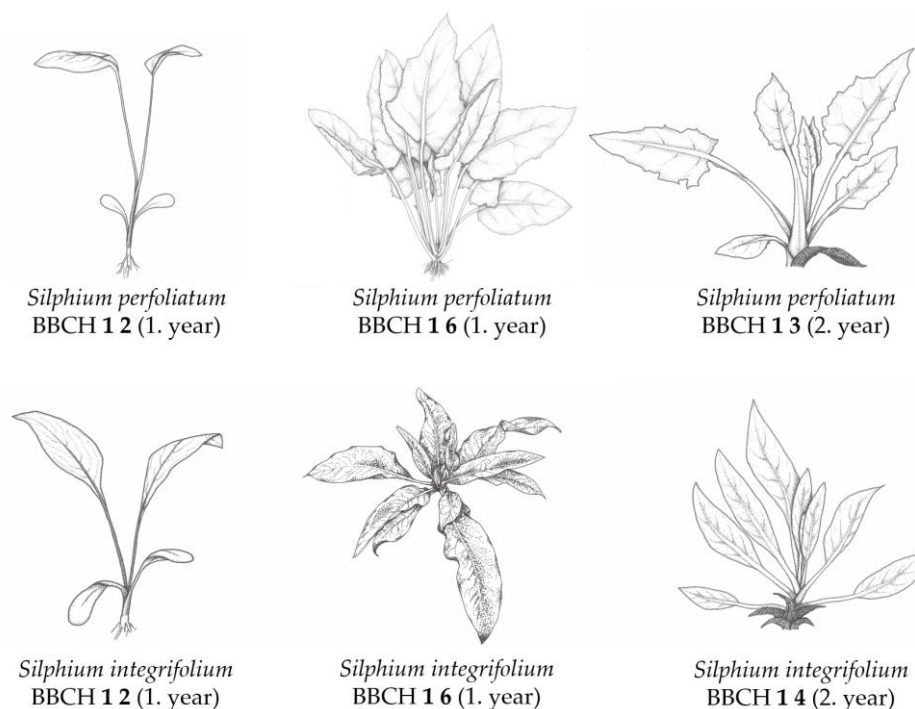


Abbildung 12 - BBCH-Makrostadium 1 - Illustration der Rosettenentwicklung von *Silphium* spp.

### 2.3.3.3 Makrostadium 3 – Triebentwicklung

Tabelle 5 - BBCH-Makrostadium 3 - Triebentwicklung (Haupttrieb). Vorliegende Stadien der Triebentwicklung auf der Basis von Triebnodien bzw. Blattpaaren mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten für das erste sowie das zweite Entwicklungsjahr von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* basierend auf den gesammelten Daten aus dem Feldversuch; (n = 72). Die fortlaufende Nummerierung ist abzüglich der jeweiligen Rosettennodien zu verstehen:

Code	Beschreibung	SP 1. Jahr	SI 1. Jahr	SP 2. Jahr	SI 2. Jahr
3 1-x	1. Triebnodium/1. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	-	-
3 2-x	2. Triebnodium/2. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	-	-
3 3-x	3. Triebnodium/3. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	-	-
3 4-x	4. Triebnodium/4. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	-	-
3 5-x	5. Triebnodium/5. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	0.67	0.56
3 6-x	6. Triebnodium/6. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	0.86	0.92
3 7-x	7. Triebnodium/7. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	0.94	1.00
3 8-x	8. Triebnodium/8. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	0.97	1.00
3 9-x	9. Triebnodium/9. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	1.00	1.00
3 9-x	10. Triebnodium/10. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.57	1.00	1.00
3 9-x	11. Triebnodium/11. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.71	1.00	1.00
3 9-x	12. Triebnodium/12. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.89	1.00	1.00
3 9-x	13. Triebnodium/13. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.89	0.89	1.00
3 9-x	14. Triebnodium/14. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.89	0.61	1.00
3 9-x	15. Triebnodium/15. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.89	-	0.97
3 9-x	16. Triebnodium/16. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.89	-	0.97
3 9-x	17. Triebnodium/17. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.89	-	0.97
3 9-x	18. Triebnodium/18. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.89	-	0.94
3 9-x	19. Triebnodium/19. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.89	-	0.94
3 9-x	20. Triebnodium/20. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.89	-	0.94
3 9-x	21. Triebnodium/21. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.63	-	0.94
3 9-x	22. Triebnodium/22. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.54	-	0.86
3 9-x	23. Triebnodium/23. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	0.51	-	0.81
3 9-x	24. Triebnodium/24. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	-	0.75
3 9-x	25. Triebnodium/25. Blattpaar am Trieb voll entwickelt	-	-	-	0.56



*Silphium perfoliatum*  
BBCH 3 3-x



*Silphium integrifolium*  
BBCH 3 5-x

Abbildung 13 - BBCH-Makrostadium 3 - Illustration der Spross- und Blattentwicklung beider *Silphium* spp.

### 2.3.3.4 Makrostadium 5-8 – Generative Phase

Tabelle 6 - BBCH-Makrostadium 5-8 - Generative Entwicklung. Gegenwärtige Stadien der generativen Phase auf der Grundlage der Knospen- und Blütenentwicklung sowie der Samenfüllung und -reife mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten für das erste sowie das zweite Entwicklungsjahr von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium*. n=72.

#### Makrostadium 5 - Knospenbildung

Code	Beschreibung	SP 1. Jahr	SI 1. Jahr	SP 2. Jahr	SI 2. Jahr
5 1	1. Rang: Knospe vollständig entwickelt	-	0.63	1.00	1.00
5 2	2. Rang: Knospen vollständig entwickelt	-	-	1.00	1.00
5 3	3. Rang: Knospen vollständig entwickelt	-	-	1.00	1.00
5 4	4. Rang: Knospen vollständig entwickelt	-	-	1.00	1.00
5 5	5. Rang: Knospen vollständig entwickelt	-	-	1.00	1.00
5 6	6. Rang: Knospen vollständig entwickelt	-	-	0.94	0.97
5 7	7. Rang: Knospen vollständig entwickelt	-	-	0.56	0.69

#### Makrostadium 6 - Blüte

6 1	1. Rang: Blüte vollständig entwickelt	-	0.50	1.00	0.97
6 2	2. Rang: Blüten vollständig entwickelt	-	-	0.97	0.94
6 3	2. Rang: Blüten vollständig entwickelt	-	-	1.00	1.00
6 4	2. Rang: Blüten vollständig entwickelt	-	-	0.97	1.00
6 5	2. Rang: Blüten vollständig entwickelt	-	-	0.92	0.97
6 6	2. Rang: Blüten vollständig entwickelt	-	-	0.50	0.61

#### Makrostadium 7 - Samenfüllung

7 1	1. Rang Samenfüllung vollständig abgeschlossen	-	-	1.00	1.00
7 2	2. Rang Samenfüllung vollständig abgeschlossen	-	-	1.00	1.00
7 3	3. Rang Samenfüllung vollständig abgeschlossen	-	-	1.00	1.00
7 4	4. Rang Samenfüllung vollständig abgeschlossen	-	-	1.00	1.00
7 5	5. Rang Samenfüllung vollständig abgeschlossen	-	-	0.92	0.97
7 6	6. Rang Samenfüllung vollständig abgeschlossen	-	-	0.53	0.69

#### Makrostadium 8 - Samenreife

8 1	1. Rang: Samenreife vollständig abgeschlossen	-	-	1.00	1.00
8 2	2. Rang: Samenreife vollständig abgeschlossen	-	-	1.00	1.00
8 3	3. Rang: Samenreife vollständig abgeschlossen	-	-	1.00	1.00
8 4	4. Rang: Samenreife vollständig abgeschlossen	-	-	1.00	1.00
8 5	5. Rang: Samenreife vollständig abgeschlossen	-	-	0.94	0.97
8 6	6. Rang: Samenreife vollständig abgeschlossen	-	-	0.53	0.72

Da die generative Phase von *Silphium perfoliatum* oder *Silphium integrifolium* rangweise und unabhängig voneinander verschachtelt verläuft, treten mehrere BBCH-Stadien parallel auf. Es wird daher empfohlen, alle auftretenden BBCH-Stadien zu definieren.

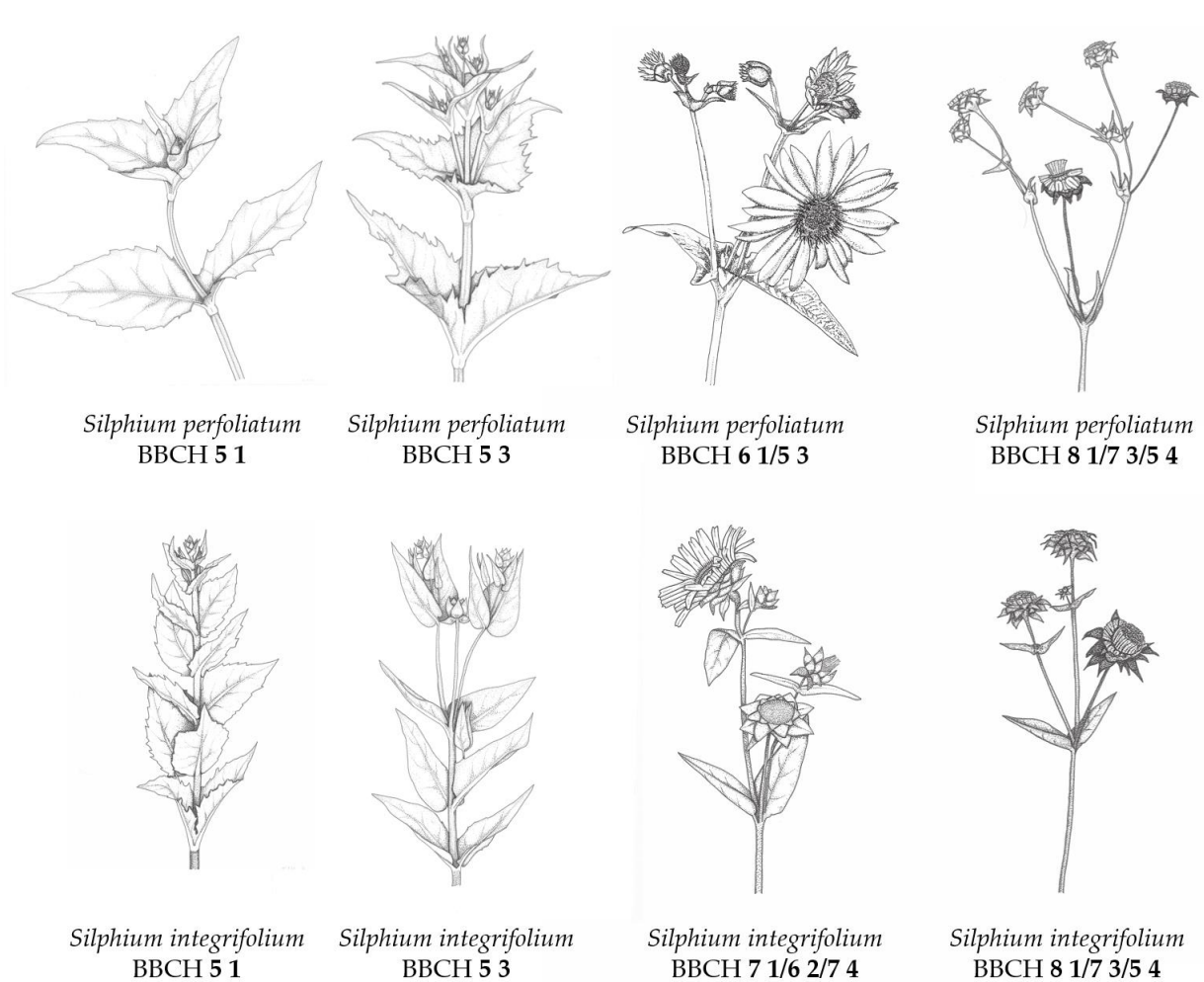


Abbildung 14 - BBCH-Makrostadium 5-8 - Illustration der generativen Entwicklung von *Silphium* spp.



### 2.3.3.5 Makrostadium 9 – Seneszenz

Tabelle 7 - BBCH-Makrostadium 9 - Seneszenz. Vorhandene Stadien der Seneszenz mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten für das erste sowie das zweite Jahr der Entwicklung von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium*; (n = 72).

Code	Beschreibung	SP 1. Jahr	SI 1. Jahr	SP 2. Jahr	SI 2. Jahr
9 1	10 % der überirdischen Pflanzenteile sind seneszent	0.97	0.86	-	-
9 2	20 % der überirdischen Pflanzenteile sind seneszent	0.89	0.78	1.00	-
9 3	30 % der überirdischen Pflanzenteile sind seneszent	0.75	0.81	0.97	1.00
9 4	40 % der überirdischen Pflanzenteile sind seneszent	0.64	0.72	0.61	0.61
9 5	50 % der überirdischen Pflanzenteile sind seneszent	0.64	0.75	0.94	0.69
9 6	60 % der überirdischen Pflanzenteile sind seneszent	0.64	0.58	0.61	0.60
9 7	Blätter vollständig seneszent	0.72	0.72	0.78	0.75
9 9	Vollständige Seneszenz der überirdischen Pflanzenteile	1.00	1.00	1.00	1.00

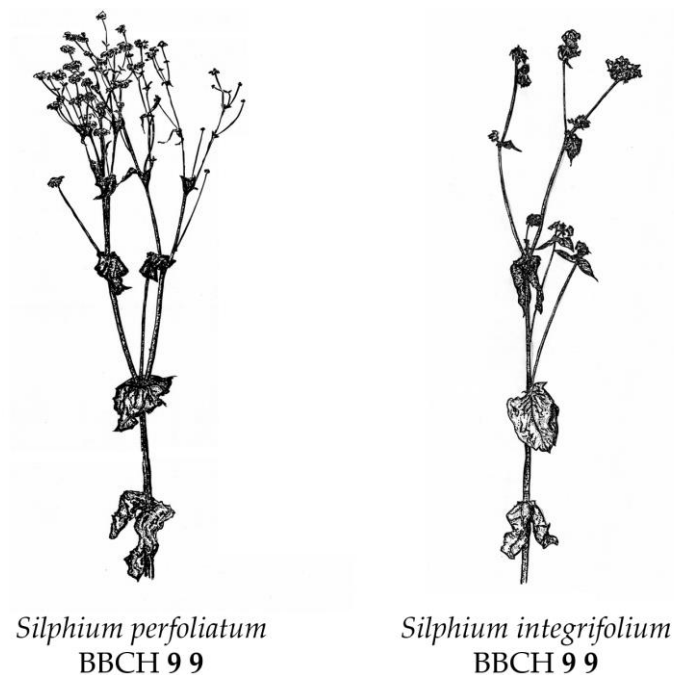


Abbildung 15 - BBCH-Makrostadium 9 - Illustration der Seneszenz von *Silphium* spp.

### 2.3.4 Ertragsdaten

Neben der Entwicklungsbeschreibung von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* wurde eine Erfassung der gebildeten Biomasse wie auch des Samenertrags jeder Pflanze durchgeführt, da diese Ertragsstrukturparameter von großer Bedeutung für die Inkulturnahme dieser Arten sind und den landwirtschaftlichen Wert der untersuchten Akzessionen widerspiegelt. Die Darstellung erfolgt Boxplots, da hierbei ein grundlegender Überblick über die Gesamtheit der Daten gegeben werden kann.

#### 2.3.4.1 Biomasseertrag

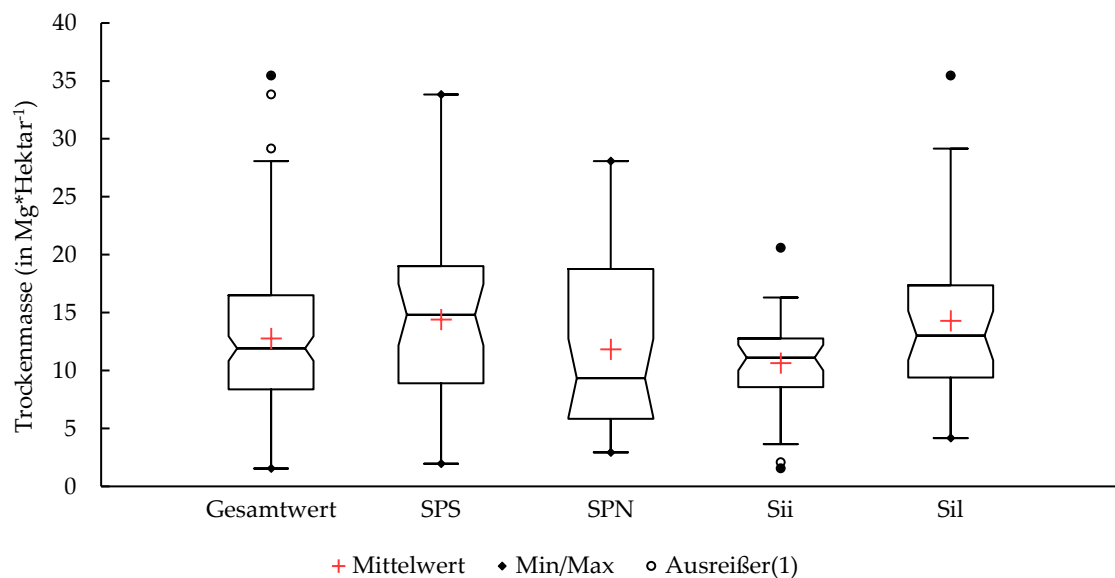


Abbildung 16 - Darstellung der trockenen Biomasseertragsdaten der untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) und *Silphium integrifolium* (Sii und Sil). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %; (n = 36).

Die Biomasseerträge der untersuchten Akzessionen werden in Abbildung 16 dargestellt. *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* verhalten sich hierbei vergleichbar. Über alle untersuchten Akzessionen hinweg ergibt sich ein durchschnittlicher Trockensubstanzertrag von 12,78 Mg ± 6,57 Mg pro Hektar. SPS zeigt mit einem Trockenmasseertrag von durchschnittlich 14,39 Mg ± 7,21 Mg pro Hektar. SPN bildet im Mittel 11,83 Mg ± 7,39 Mg Trockensubstanz pro Hektar. Der Trockenmasseertrag von Sii beläuft sich auf durchschnittlich 10,65 Mg ± 3,72 Mg pro Hektar, wobei Sil einen durchschnittlichen Biomasseertrag von 14,28

Mg  $\pm$  6,77 Mg pro Hektar bildet. Eine einfaktorielle Varianzanalyse zeigt keine signifikanten Unterschiede.

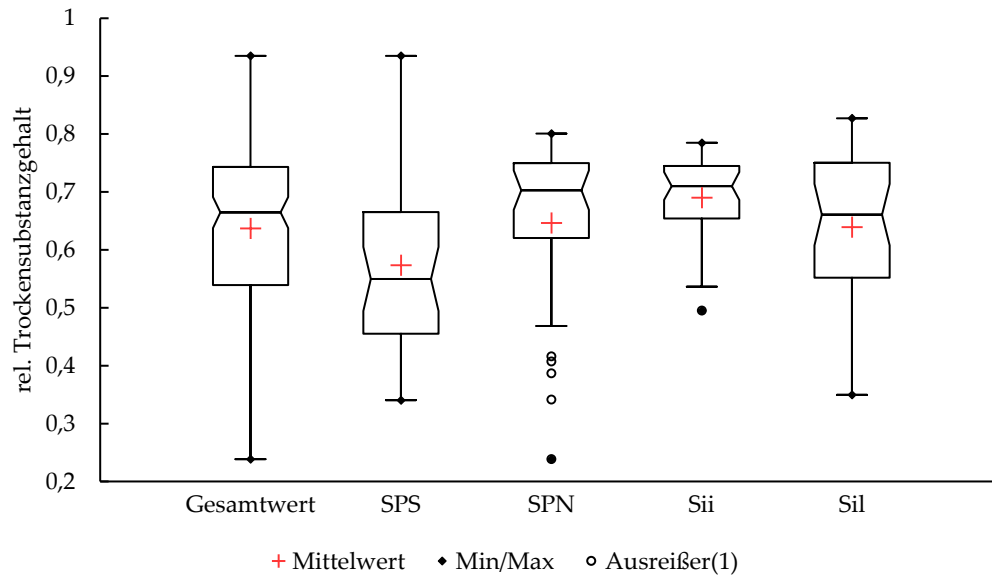


Abbildung 17 - Darstellung der relativen Trockensubstanzgehalte von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) und *Silphium integrifolium* Sii und Sil). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %; ( $n = 36$ ).

Der relative Trockensubstanzgehalt gibt Aufschluss über die vorliegenden Grade der Abreife der untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* und ist in Abbildung 17 dargestellt. SPN zeigt einen durchschnittlichen relativen Trockensubstanzgehalt von  $0,647 \% \pm 0,144 \%$ . SPS zeigt mit  $0,573 \% \pm 0,136 \%$  einen niedrigeren relativen Trockensubstanzgehalt. Der durchschnittliche relative Trockensubstanzgehalt von Sii beträgt  $0,69 \% \pm 0,071 \%$ . Sil zeigt einen durchschnittlichen Trockensubstanzgehalt von  $0,639 \% \pm 0,136 \%$ . Eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) zeigt signifikante Unterschiede ( $p = 0,02$ ). Eine Berechnung nach Tukey HSD mit einem Konfidenzintervall von 95 % zeigt unterschiedliche homogene Untergruppen, die aus der Graphik (Abbildung 17) zu entnehmen sind.

### 2.3.4.2 Samenertrag

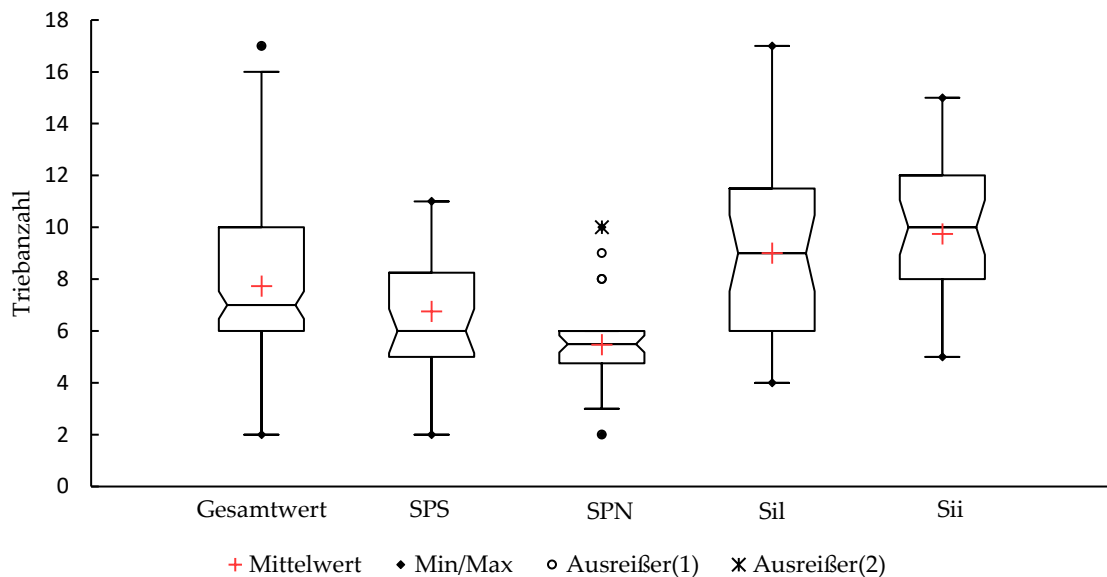


Abbildung 18 - Darstellung der Triebanzahlen der untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) und *Silphium integrifolium* (Sii und Sil). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %; (n = 36).

Die Triebanzahl gibt Aufschluss über die das Blütenbildungspotenzial jeder Pflanze und ist in Abbildung 18 dargestellt. Im Regelfall bildet *Silphium spp.* die gleiche Anzahl von Blütenrängen über die Gesamtheit der gebildeten Triebe.

Die Gesamtheit der erfassten Daten über alle untersuchten Akzessionen zeigt eine mittlere Triebanzahl von  $7,73 \pm 3,07$  Triebe je Pflanze, wobei *Silphium integrifolium* durchschnittlich signifikant mehr Triebe ausbildete als *Silphium perfoliatum* ( $p = 2,151 \times 10^{-11}$ ). So zeigt Sii mit durchschnittlich  $9,75 \pm 2,44$  Trieben die größte Triebanzahl der untersuchten Akzessionen. Sil bildet im Versuchszeitraum im Mittel  $9 \pm 3,65$  Triebe aus. Die Anzahl der durchschnittlich gebildeten Triebe von SPS und SPN beträgt  $6,75 \pm 2,21$  bzw.  $5,47 \pm 1,56$ . Signifikante Unterschiede liegen lediglich interspezifisch vor. Intraspezifisch unterscheiden sich die untersuchten Akzessionen nicht signifikant.

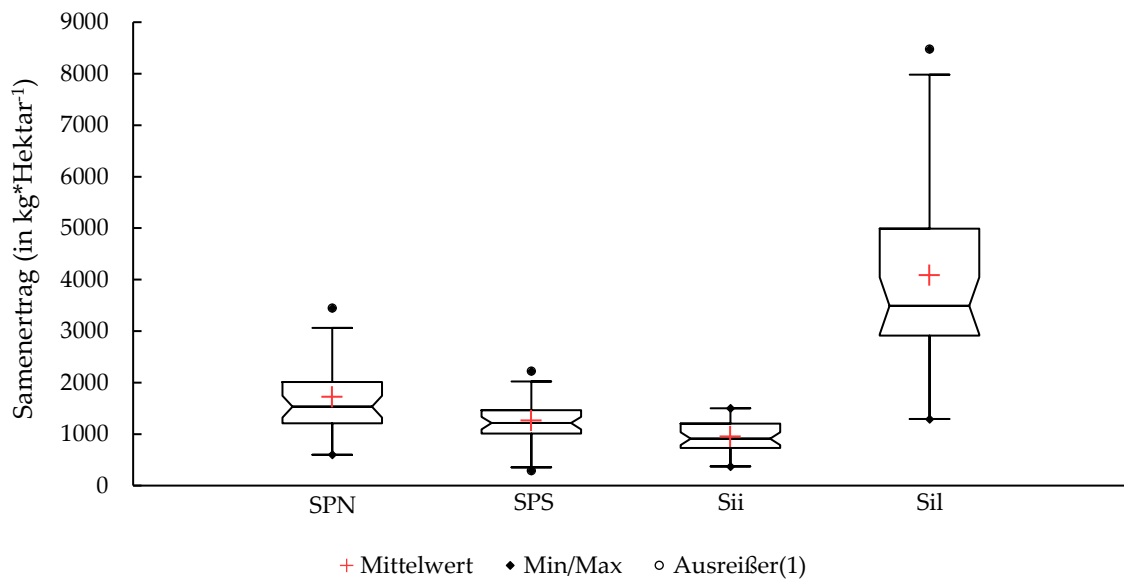


Abbildung 19 - Darstellung der Samenerträge der untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) und *Silphium integrifolium* (Sii und Sil). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %; (n = 36).

In Abbildung 19 werden die Samenerträge der untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* dargestellt. SPN zeigt einen durchschnittlichen Samenertrag von  $1722,2 \text{ kg} \pm 631,5 \text{ kg}$  pro Hektar. Die Akzession SPS weist einen Samenertrag von durchschnittlich  $1246,8 \text{ kg} \pm 419,1 \text{ kg}$  auf. *Silphium integrifolium* betreffend liegt bei Sii der durchschnittliche Samenertrag bei  $950,6 \text{ kg} \pm 284,9 \text{ kg}$ . Sil zeigt einen weit höheren Samenertrag von durchschnittlich  $4083,3 \text{ kg} \pm 1861,4 \text{ kg}$ . Eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) zeigt signifikante Unterschiede ( $p = 9,64 \cdot 10^{-28}$ ). Eine Berechnung nach Tukey HSD mit einem Konfidenzintervall von 95 % zeigt unterschiedliche homogene Untergruppen, die aus der Graphik (Abbildung 19) zu entnehmen sind.

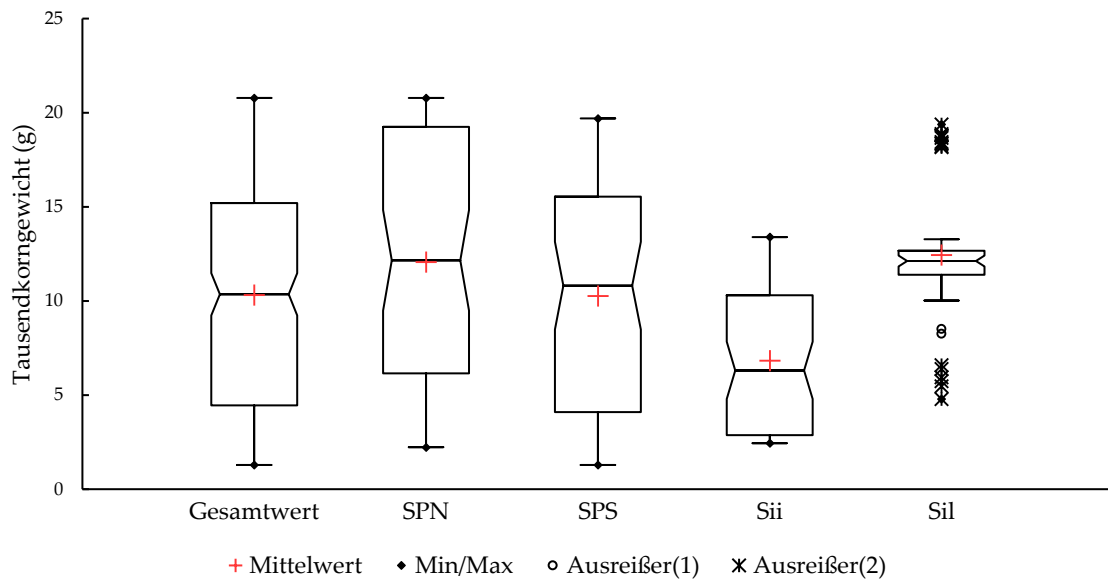


Abbildung 20 - gemittelte Tausendkorngewichte über die unterschiedlichen Blütenränge der untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) und *Silphium integrifolium* (Sii und Sil); ( $n = 10$ ). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %.

Die Samengewichte der untersuchten Akzessionen wurden rangspezifisch erfasst und gemittelt in Abbildung 20 dargestellt. Zusätzlich wurde eine Darstellung über alle erfassten Daten vorgenommen. Im Mittel beträgt das Tausendkorngewicht bei SPN  $12,07 \text{ g} \pm 6,51 \text{ g}$ . SPS zeigt ein mittleres Tausendkorngewicht von  $10,26 \text{ g} \pm 6,37 \text{ g}$ . Das Tausendkorngewicht bei Sii beträgt  $6,83 \text{ g} \pm 3,84 \text{ g}$ . Sil zeigt ein durchschnittliches Tausendkorngewicht von  $12,44 \text{ g} \pm 3,78 \text{ g}$ . Das Tausendkorngewicht von Sii ist signifikant geringer als das der übrigen Varianten. Eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) zeigt signifikante Unterschiede ( $p = 5,1 \cdot 10^{-8}$ ). Eine Berechnung nach Tukey HSD mit einem Konfidenzintervall von 95 % zeigt unterschiedliche homogene Untergruppen, die aus der Graphik (Abbildung 19) zu entnehmen sind.

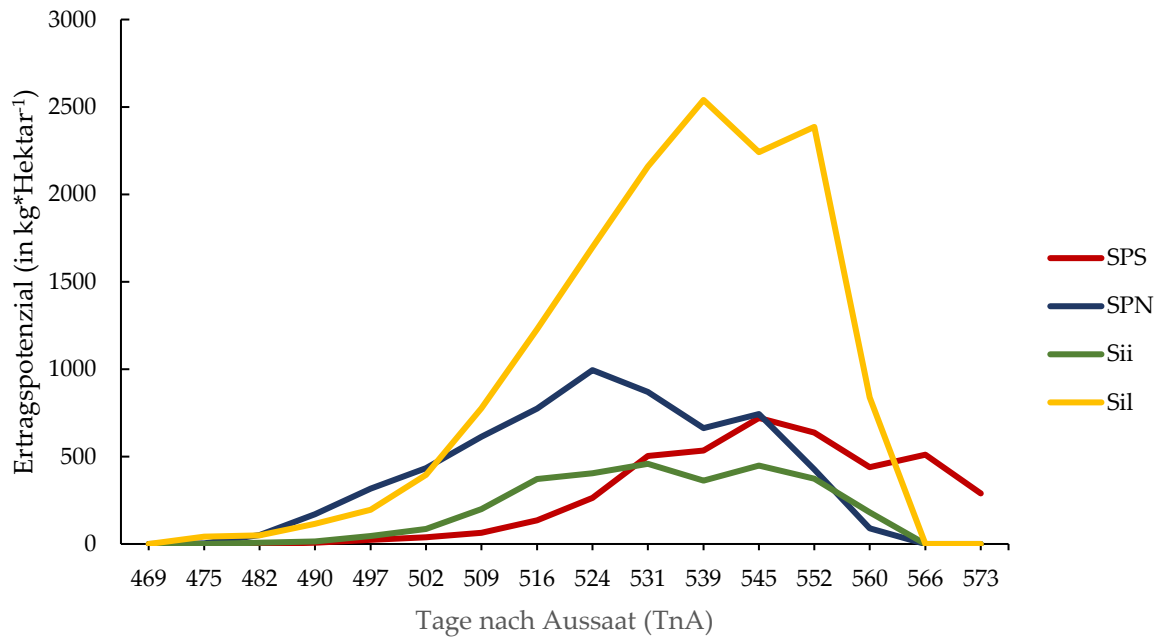


Abbildung 21 - Darstellung des Ertragspotenzials der untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* (SPN und SPS) und *Silphium integrifolium* (Sii und Sil); ( $n = 36$ ).

Durch die Vielzahl der erhobenen Ertragsstrukturparameter ließ sich durch eine einfache Modellierungsmethode das mögliche Samenertragspotenzial von *Silphium spp.* anhand der untersuchten Akzessionen zu jedem möglichen Erntezeitpunkt berechnen und in Abbildung 21 darstellen. Hierzu wurden Informationen über die Triebanzahl, die Anzahl der gebildeten Blüten pro Trieb, die durchschnittliche Samenanzahl pro Blüte, das durchschnittliche Samengewicht der unterschiedlichen Ränge wie auch der Zeitpunkt des Samenausfalls aus der Blüte einbezogen. Es zeigt sich, dass SPN mit 994,5 kg nach 524 TnA das größte Ertragspotenzial aufweist. SPS zeigt dies mit 720,8 kg nach 545 TnA. Das größte Ertragspotenzial von Sii wird mit 458,6 kg 531 TnA erreicht. Sil entwickelt mit 2539,9 kg das höchste Ertragspotenzial bei 539 TnA.

## 2.4 Diskussion

Im vorliegenden Versuch wurden *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium*, jeweils eine Art mit zwei verschiedenen geografischen Akzessionen, im Hinblick auf ihre Entwicklungskinetik untersucht. Ziel war es, die phänotypische Plastizität der beiden Arten in Bezug auf landwirtschaftliche Merkmale zu ermitteln. Es wurde festgestellt, dass sowohl zwischen als auch innerhalb der untersuchten Arten und Akzessionen Entwicklungsunterschiede vorliegen. In einem weiteren Schritt sollen Möglichkeiten der Weiterentwicklung der BBCH-Skala für *Silphium perfoliatum* von Cumplido-Marin et al. (2020) diskutiert werden [7]. Darüber hinaus wird eine Anpassung an *Silphium integrifolium* vorgenommen.

### 2.4.1 Keimungskinetik der untersuchten *Silphium*-Arten

Die experimentellen Ergebnisse der Keimungskinetik zeigen, dass beide *Silphium integrifolium*-Akzessionen im Vergleich zu den *Silphium perfoliatum*-Akzessionen durch höhere Keimungsraten gekennzeichnet waren. Insbesondere war die Auflauftrate von Sil deutlich höher als die Auflaufraten der anderen *Silphium*-Akzessionen, was auf eine unbeabsichtigte Selektion während des Domestikationsprozesses zurückzuführen [70] und von Wildpflanzen mit geringerem Domestikationsgrad bekannt ist [71]. Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass sich die südlichen Akzessionen beider Arten in Bezug auf die höhere Auflauftrate im Vergleich zu den westlichen/nördlichen Varianten vergleichbar verhielten. Dies kann entsprechend auf die Ergebnisse der Gesamtkeimungskinetik im interspezifischen Vergleich übertragen werden. Die untersuchten Akzessionen von *Silphium integrifolium* zeigten in allen beschriebenen Entwicklungsstadien eine höhere relative Häufigkeit des jeweiligen Merkmals. Insbesondere bei Sil war ein Domestikationssyndrom nachweisbar, was sich in Form einer höheren Keimrate zeigte [72]. Intraspezifische Unterschiede in den Keimungs- und Auflaufverhalten waren zwischen den südlichen und nördlichen Varianten von *Silphium perfoliatum* in allen Entwicklungsstadien sichtbar. Sie wurden mit zunehmenden Wachstumsstadien ausgeprägter. Im Gegensatz dazu war bei *Silphium integrifolium* eine Abnahme der Unterschiede in den Keimungseigenschaften zwischen der südlichen und der westlichen Akzession im Laufe der Zeit zu beobachten.

Auf der Grundlage etablierter Methoden und zum Ausschluss möglicher Einflussfaktoren wurde das Saatgut händisch selektiert und einer 0,05%igen Gibberellinsäurebehandlung



unterzogen. Im Vergleich zu unbehandeltem oder pelletiertem Saatgut führte diese Methode in früheren Studien zu einem signifikant höheren und schnelleren Feldaufgang bei *Silphium perfoliatum* [73]. Das Auslassen einer Saatgutbehandlung durch Licht- und Dunkelphase sowie eines Temperaturwechsels während der Quellphase in Kombination mit einer Nassstratifikation von sieben Tagen bei 0 °C kann als Schwachpunkt dieser Studie gesehen werden, schränkt die Aussagekraft der Beobachtungen jedoch nicht ein. Gansberger et al. (2017) zeigten jedoch, dass mit dieser Kombination der verwendeten Methoden eine signifikante Steigerung der Auflaufraten erreicht werden konnte [28]. Allerdings zeigt dieselbe Studie relativ hohe Standardabweichungen bei den genannten Faktoren von 20 % bis 30 %, wodurch die relativ geringe Keimrate von SPN gestützt werden kann. Übertragen auf die Etablierung von *Silphium perfoliatum* unter Freilandbedingungen besteht weiterer Forschungsbedarf in Bezug auf die Keimraten [28]. Bezüglich des Keimverhaltens von *Silphium integrifolium* wurden in einer Studie von Reinert et al. (2018) verschiedene Vorbehandlungen auf chemischer und thermischer Basis durchgeführt. Unter anderem zeigte hier eine Behandlung mit Ethephonsäure und Kaliumnitrat in Kombination mit einem Trocknungsprozess signifikante Steigerungen der Keimrate verschiedener *Silphium integrifolium*-Akzessionen [74]. Da diese Behandlungsoptionen auch bei Sonnenblumen (*Helianthus annuus* L.) angewandt werden können [75], kann davon ausgegangen werden, dass die gleichen Behandlungen auch für *Silphium spp.* ein nützliches Instrument sein könnten.

#### 2.4.1.1 Anpassung an BBCH-Code - Makrostadium 0 [54]

In Übereinstimmung mit den Phänotypisierungsergebnissen zeigte der interspezifische Vergleich deutlich, dass die *Silphium integrifolium*-Akzessionen tendenziell in allen Mikrostadien (BBCH 0 0 bis 0 9) einen höheren Ausbildungsgrad (%) erreichen. Ergänzend kann festgestellt werden, dass bei beiden untersuchten Arten das Erreichen aufeinanderfolgender Mikrostadien mit zunehmendem Bildungsgrad abnahm. Zwischen den südlichen und westlichen/nördlichen Akzessionen von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* waren in allen Mikrostadien intraspezifische Unterschiede im Keimungs- und Auflaufprozess erkennbar, die mit fortschreitendem Wachstumsstadium zunahmen. Hinsichtlich der Keimungseigenschaften zeigten beide Akzessionen von *Silphium perfoliatum* eine hohe Übereinstimmung mit der von Cumplido-Marin et al. (2020) aufgestellten BBCH-Skala [7]. Des Weiteren wurde an dieser Stelle auf eine Anpassung an die BBCH-Skala für *Miscanthus x giganteus* nach Pude (1998) verzichtet, da der Wiederaustrieb im zweiten

Entwicklungsjahr anhand der Blattbildung (BBCH-Makrostadium 1 (Blattbildung)) eindeutig beschrieben werden konnte [76]. Auf eine Differenzierung innerhalb dieses Makrostadiums zwischen tatsächlicher Samenkeimung und Wiederaustrieb, wie sie für die BBCH-Skala von *Sida hermaphrodita* L. vorgenommen wurde, wurde daher verzichtet [77].

## 2.4.2 Entwicklung der Rosette

### 2.4.2.1 Jahr der Etablierung

Die Rosettenentwicklung wurde anhand der vollständig entwickelten Nodien definiert konträr zu der in der Literatur verwendeten Methode, bei der das einzelne Blatt betrachtet wird, da jedes Nodium in der Regel zwei gegenüberliegende Blätter aufweist (Kowalski, 2004; Stanfort, 1992). Die Ergebnisse der Phänotypisierung in Bezug auf die gebildeten Rosettennodien für einen Zeitraum bis zu 244 TnA zeigten, dass Sil im Vergleich zu den *Silphium perfoliatum*-Akzessionen und Sii deutlich mehr Rosettennodien bildete. Darüber hinaus war bei der südlichen Akzession von *Silphium perfoliatum* (SPS) eine höhere Anzahl von Nodien zu beobachten als bei der nördlichen Akzession (SPN), wobei der Unterschied bei *Silphium integrifolium* weit ausgeprägter vorlag. Die Beschreibungen in der Literatur unterscheiden sich von den Daten, die bei der in diesem Versuch durchgeführten Phänotypisierung erhoben wurden, beschreiben jedoch im Allgemeinen den Unterschied zwischen *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* auf vergleichbare Weise. So wurde in diesem Feldversuch bei *Silphium perfoliatum* eine Bildung von durchschnittlich 26 Blättern (13 Rosettennodien) anstelle von 12-17 Laubblättern [78] beobachtet. Bei *Silphium integrifolium* wurden durchschnittlich 34 Blätter (17 Rosettennodien) anstelle von 32 Laubblättern gezählt [49]. Eine Anpassung an die Umweltbedingungen in Bezug auf Blatt- und Wurzelarchitektur, biochemische Signalwege und Abwehrmechanismen der jeweiligen Herkunft scheint hier offensichtlich zu sein [5].

Franzaring et al. (2014) zeigten Ergebnisse aus einem Gewächshausversuch, in dem *Silphium perfoliatum*-Akzessionen unterschiedlicher geografischer Herkunft bis zu drei Monate nach der Aussaat auf ihre Blattzahl hin untersucht wurden. Nach einer Versuchsdauer von 106 Tagen wurden durchschnittlich 7,1 Blätter pro Pflanze beobachtet [79]. Die dieser Studie zugrundeliegenden Daten zeigen für *Silphium perfoliatum* eine mittlere Rosettennodienanzahl von  $5,67 \pm 0,67$  zu einem vergleichbaren Zeitpunkt (104 TnA). Somit kann von einer mittleren Blattanzahl von 10 bis 12 Blättern pro Pflanze ausgegangen werden. Übertragen auf *Silphium*

*integrifolium* zeigten Sii und Sil durchschnittlich  $8,1 \pm 1,08$  Rosettennodien, was 16-18 vollentwickelten Rosettenblättern entsprach. Die durchschnittliche Blattfläche war jedoch entsprechend kleiner als die von *Silphium perfoliatum* (Daten nicht gezeigt).

#### 2.4.2.2 Zweites Jahr der Entwicklung

Die Phänotypisierung im Rahmen der Rosettennodienentwicklung zeigte, dass alle Akzessionen weniger Rosettennodien bildeten, so dass die Sprossbildung deutlich früher erfolgte als im Vorjahr. Bei *Silphium perfoliatum* zeigte SPS eine nicht signifikant verzögerte Entwicklung im Vergleich zu SPN, was einer Umkehrung der Verhältnisse aus dem Vorjahr entspricht. Ebenso zeigte SPN im Durchschnitt 1,73 voll entwickelte Rosettennodien mehr als SPS. Bei *Silphium integrifolium* entwickelte Sil im Vergleich zum Vorjahr durchschnittlich 8,03 Nodien, wobei diese Akzession im Vergleich zu allen anderen Akzessionen die meisten Rosettennodien ausbildete. Dies könnte mit einem Domestizierungssyndrom zusammenhängen, das zufällig aufgrund von Züchtungsaktivitäten an dieser Akzession auftritt [72]. Ob dies ein Zuchtziel war oder zufällig auftrat, bleibt unbekannt. Die zeitliche Divergenz zwischen Sil und Sii war weniger ausgeprägt als bei den untersuchten *Silphium perfoliatum*-Akzessionen. 376 TnA zeigten alle Akzessionen ein Ende der Rosettenbildung. Von diesem Zeitpunkt an begann die Sprossbildung.

#### 2.4.2.3 Anpassung an BBCH-Code - Makrostufe 1 [54]

Bei Verwendung des BBCH-Codes von *Silphium perfoliatum* nach Cumplido-Marin et al. (2020) erfolgte die Auswertung ebenfalls bis zum 9. Nodium bzw. 18. Laubblatt [7]. Mit der höheren Anzahl voll entwickelter Nodien bei den *Silphium integrifolium*-Akzessionen konnte auch eine höhere Anzahl von Mikrostadien sowie ein höherer Anteil voll entwickelter Mikrostadien anhand des modifizierten BBCH-Makrostadiums "Blattentwicklung" festgestellt werden. Da die Entwicklung von *Silphium* in diesem Punkt kontinuierlich ist, ist eine fortschreitende Beschreibung von mehr als neun Nodien (18 echte Blätter) nicht unbedingt erforderlich, sofern eine nodienabhängige Zählmethode angewendet wird. In Bezug auf die Rosettenentwicklung ergibt sich für beide untersuchten Arten ein maximales BBCH-Stadium von 19, wobei das Mikrostadium 9 oder mehr Rosettennodien beschreibt.

### 2.4.3 Allgemeine Sprossentwicklung

Der Spross macht den größten Teil des Gesamtertrags in der biomasseorientierten Kultur von *Silphium perfoliatum* aus. Am Ende der Wachstumsperiode beläuft sich die Biomasse in den Blättern auf 30,94 % der Gesamtbiomasse. Nach Abschluss der Seneszenz reduziert sich dieser Anteil auf 8,14 % [80]. Entsprechend verhält sich auch der relative Anteil der im Spross gebildeten Biomasse. Je nach Verwendungszweck und erwartetem Biomassertrag kann das Verhältnis von Spross- zu Blattbiomasse durch Anpassung des Erntetermins erheblich variiert werden. Die Biomassenutzung von *Silphium integrifolium* ist als sekundär zu bewerten, da hier der Schwerpunkt auf der Nutzung als mehrjährige Ölsaart liegt [5,48]. Entsprechend wird der Sprossbildung weniger Bedeutung beigemessen. Dennoch wird die Sprossentwicklung beider Arten im Folgenden diskutiert, da sie für die allgemeine Pflanzenentwicklung von großer Bedeutung ist.

Die Sprossentwicklung von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* ist im Allgemeinen dadurch gekennzeichnet, dass die Sprossspitze durch die Bildung von verlängerten Internodien und Internodienverlängerungen innerhalb der bereits gebildeten Rosette einen Spross bildet. Das gleichzeitige Längenwachstum ermöglicht eine schnelle Sprossbildung [69]. So werden vermeintlich Rosettennodien nachträglich zu Sprossnodien. Ursprünglich Rosettennodien lassen sich im Nachhinein am Spross durch das den fehlenden, den Spross umgreifenden Becher identifizieren. Aus diesem Grund ist es notwendig, eine durchlaufende Zählweise für Rosetten- und Sprossnodien anzuwenden.

#### 2.4.3.1 Jahr der Etablierung

Entgegen der Aussage von Gansberger et al. (2015) zeigte *Silphium perfoliatum* in dem im ersten Anbaujahr durchgeführten Feldversuch eine sporadisch entwickelte Sprossbildung [13]. So zeigte SPS eine erste rudimentäre Sprossbildung 139 TnA. SPN zeigte keine Tendenz zur Sprossbildung. *Silphium integrifolium* zeigte eine deutlich erhöhte Tendenz zur Sprossbildung. Etwa 88 % von Sii und 32 % von Sil entwickelten verlängerte Internodien. Dies stimmt mit den Aussagen von Kowalski (2004) überein, der feststellte, dass *Silphium integrifolium* im ersten Jahr eine Wuchshöhe von 20 bis 69 cm erreichen kann [49]. Nach 118 TnA zeigen beide Akzessionen die erste Sprossbildung. Dies geschieht etwa 21 Tage früher als bei SPS. In einem früheren Feldversuch von Conrad et al. (2010) wurde der Einfluss der Sprossbildung an Einzelpflanzen in der ersten Wachstumsperiode mit einem ungünstigen Wachstumsverhalten

von *Silphium perfoliatum* im Folgejahr beobachtet, sodass lediglich 0,853 Mg Trockenertrag pro Hektar geerntet werden konnten [81]. Dementsprechend musste in erster Instanz davon ausgegangen werden, dass auch in diesem Feldversuch in der zweiten Vegetationsperiode Unterschiede zwischen sprossbildenden und nicht sprossbildenden Pflanzen des Vorjahres hinsichtlich Bestandsschluss, Sprossbildung sowie Bestandsstabilität auftreten könnten. Wie im vorangegangenen Kapitel "2.4.2 Entwicklung der Rosette; 2.4.2.1 Jahr der Etablierung" gezeigt, unterschieden sich die Akzessionen von *Silphium perfoliatum* hinsichtlich der Rosettenbildung tendenziell weniger als die untersuchten Akzessionen von *Silphium integrifolium*. Allerdings war SPN die einzige Akzession, die im Vergleich zu den anderen *Silphium*-Akkzessionen eine niedrigere Keimrate und eine langsamere Keimungskinetik aufwies. SPN neigte also zu einer langsameren Keimkinetik und verzögerte die Rosettenentwicklung um etwa 21 Tage, was zu einem Ausbleiben des Schossens führen konnte. Andere Faktoren können ebenfalls einen Einfluss auf dieses Ergebnis gehabt haben [81]. Außerdem zeigten *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* große morphologische Unterschiede [49]. So schwankte beispielsweise der durchschnittliche Frischmasseeertrag von *Silphium integrifolium* im ersten Jahr bei 345 g pro Pflanze [49]. *Silphium perfoliatum* bildete im ersten Jahr mit durchschnittlich 519 g pro Pflanze etwa 50 % mehr Biomasse [49,82].

#### 2.4.3.2 Zweites Jahr der Entwicklung

Infolge der Vernalisation im Winter wurde bei allen untersuchten Pflanzen eine Sprossbildung beobachtet. Nach dem gleichzeitigen Beginn der Sprossbildung wurden phänotypische Unterschiede zwischen und innerhalb der beiden Arten festgestellt. So war der Unterschied in der Sprossnodienentwicklung im intraspezifischen Vergleich zwischen den untersuchten *Silphium perfoliatum*-Akkzessionen nur durch eine geringe zeitliche Divergenz gekennzeichnet. *Silphium integrifolium* wies neben einer größeren zeitlichen Diskrepanz auch eine wesentlich größere Anzahl gebildeter Nodien am Spross auf. Sil bildete deutlich mehr Nodien als Sii. Sii zeigte vergleichbare Ergebnisse wie andere Studien [49]. Aufgrund des Zuchtfortschritts und des abweichenden Elternmaterials wies Sil eine höhere Anzahl von Sprossnodien auf und unterlag an dieser Stelle offenbar einem Domestizierungssyndrom [72]. *Silphium perfoliatum* zeigte in einer früheren Studie unter gleichen Feldbedingungen eine vergleichbare Anzahl von Nodien innerhalb der Sprossbildung europäischer Akzessionen [58]. Im Gegensatz zum ersten Entwicklungsjahr zeigte sich bei den untersuchten *Silphium integrifolium*-Akkzessionen tendenziell ein ähnliches Bild, wobei alle Pflanzen nach der Vernalisation über den Winter nun

ein Sprosswachstum zeigten. Ausgehend von der Tatsache, dass das Sprosswachstum bei *Silphium spp.* ein notwendiger Schritt für das generative Wachstum ist, konnte gezeigt werden, dass dies auch in anderen Studien beobachtet werden konnte [83]. Bei *Silphium perfoliatum* ist dieses Bild klarer, da im ersten Jahr des Anbaus der Anteil der schossenden Pflanzen geringer war oder ganz ausblieb im Gegensatz zu den untersuchten *Silphium integrifolium*-Akzessionen. Dies lässt die Hypothese zu, dass *Silphium perfoliatum* stärker auf die Vernalisation angewiesen ist als *Silphium integrifolium* oder beide Arten unterschiedliche Strategien zur generativen Vermehrung aufweisen [34,83].

#### 2.4.3.3 Anpassung an BBCH-Code - Makrostadium 3 [54]

Im Rahmen dieser Studie wurde nur die Entwicklung eines vordefinierten Haupttriebes der jeweiligen Pflanze beschrieben, da die Entwicklung der Seitentriebe parallel erfolgt und diese gleichwertig waren. Dementsprechend wurde das von Hack et al. (1992) und Meier (2018) postulierte BBCH-Makrostadium 2 (Seitentriebbildung) ausgelassen [54,55]. Eine Beschreibung des Reihenschlusses im BBCH-Makrostadium 2, wie sie für *Silphium perfoliatum* im ersten Jahr der Entwicklung [7] und für *Sida hermaphrodita* L. [77] vorgenommen wurde, ist in der erweiterten BBCH-Skala nach Hack et al. (1992) und Meier (2018) [54,55] nicht vorgesehen.

Nachdem die Sprossentwicklungsphase abgeschlossen war, wurde die generative Phase von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* eingeleitet. Eine Überlappung von Sprosswachstum und generativem Wachstum fand an der Einzelpflanze nicht statt.

Die verzögerte Internodienstreckung [69] in der Rosette führte zu einer Verschiebung der Sprossnodiennummerierung. Wie bereits erwähnt, führte dies zu einer Subtraktion der verbleibenden Rosettennodien und damit zu einer optionalen Erweiterung der BBCH-Skala. So ergab sich für das BBCH-Makrostadium 3 eine Angabe von  $3\ 1-x$  bis  $3\ 9-x$ , wobei die fortlaufende Nummer die vorhandenen Mikrostadien und die Variable „x“ die in der Rosette verbleibenden Nodien beschreibt. Hier definiert BBCH  $3\ 9-x$  9 oder mehr voll ausgebildete Triebnodien abzüglich der in der Rosette verbleibenden Nodien. Die Klassifizierung der Mikrostadien, wie sie nach Cumplido-Marin et al. (2020) vorgenommen wurde, wobei die relativen Anteile der endgültigen Triebhöhe als bestimmendes Maß verwendet werden [7], kann Schwierigkeiten bereiten, da dies nur im Nachhinein erfolgen kann. Des Weiteren wurde das von Hack et al. (1992) und Meier (2018) postulierte Makrostadium 4 (Entwicklung der

vegetativen Pflanzenteile) nicht weiter berücksichtigt, da auch dieses Stadium im eigentlichen Sinne vorkam [54,55].

## 2.4.4 Generative Phase

### 2.4.4.1 Jahr der Etablierung

Das generative Wachstum wurde im ersten Jahr des Anbaus von *Silphium perfoliatum* in einer anderen Studie nicht dokumentiert. Auch in der zusammenfassenden Literatur wird keine generative Entwicklung von *Silphium perfoliatum* beschrieben [13,84]. Im Gegensatz zu diesen Aussagen zeigten einige der in diesem Feldversuch angepflanzten *Silphium perfoliatum* im ersten Jahr eine generative Wachstumsphase. So zeigte sich bei 11 % der untersuchten Pflanzen eine rudimentäre Knospenbildung des ersten Ranges in Bezug auf SPS, was sich kongruent zum Sprosswachstum verhielt. Eine weitere Entwicklung wie die Entwicklung einer Blüte oder die Bildung von Samen fand nicht statt. Ein weiterer möglicher Grund könnte sein, dass die Pflanzen zu Beginn ihrer Entwicklung eine bedarfsgerechte Bewässerung erhielten und es in Verbindung mit den ausgezeichneten Boden- und Klimabedingungen zu einer teilweisen Blüteninduktion in SPS kam. Diese Hypothese ist naheliegend, wird aber in der Literatur nicht beschrieben. SPN, entsprechend der fehlenden Sprossbildung im ersten Jahr, zeigte keine Tendenz zum generativen Wachstum. *Silphium integrifolium* zeigte bei beiden untersuchten Akzessionen eine Tendenz zum Eintritt in eine generative Entwicklungsphase, die der Sprossbildung entspricht. Kowalski et al. (2004) dokumentierten in ihrer Entwicklungsbeschreibung von *Silphium integrifolium* keine generative Entwicklung im ersten Jahr [49]. Im Gegensatz dazu beschreiben Schiffner et al. 2021, dass auch *Silphium integrifolium* in Abhängigkeit vom Aussaattermin und der zur Verfügung stehenden Entwicklungszeit bis zum Ende der vegetativen Phase des ersten Jahres eine generative Entwicklung zeigt [83]. Sil zeigt eine höhere Tendenz zum generativen Wachstum als Sii, wobei bei beiden Akzessionen die Samenfüllungsphase nicht mehr vollständig stattfand. Da diese Entwicklungsschritte deutlich später als üblich stattfanden [13], kann davon ausgegangen werden, dass die Leistung der bestäubenden Insekten durch die Blüte im Winter reduziert war.

### 2.4.4.2 Zweites Jahr der Entwicklung

Im zweiten Jahr des Feldversuchs zeigten alle Pflanzen ein volles generatives Wachstum. Dies wurde auch in anderen Studien berichtet [38,49,85]. Die ersten Knospen waren bei allen Akzessionen 426 TnA sichtbar. Im Laufe des generativen Wachstums entwickelte sich eine

intraspezifische Variation der jeweiligen Akzessionen. Diese war bei *Silphium perfoliatum* deutlicher ausgeprägt und nahm über die gesamte generative Entwicklung zu, so dass die Samenreife von SPN jeder blühenden Reihe 21 Tage früher eintrat als SPS. *Silphium integrifolium* zeigte dieses Verhalten nicht, sodass eine eher homologe Entwicklung der generativen Phase in beiden Akzessionen vorlag. Auffallend waren die deutlich größeren Blüten bei Sil, die auf die Vermehrungsaktivität und Feminisierung zurückzuführen sind. Dadurch erhöht sich die Anzahl der in jeder Blüte gebildeten Samen [44].

Bei beiden untersuchten *Silphium*-Arten zeigten alle untersuchten Akzessionen im letzten Blütenrang lediglich das Knospenstadium. Eine weitere Entwicklung des letzten Ranges findet jeweils nicht statt.

#### 2.4.4.3 Anpassung an BBCH-Code - Makrostadium 5-8 [54]

Eine Einordnung in die BBCH-Skala nach Meyer et al. (2018) ist im Makrostadium 5 bis 8 möglich, welches die generative Entwicklungsphase der Pflanze beschreibt [54]. Innerhalb der bestehenden BBCH-Skala wird eine Methodik verwendet, die eine genaue Beschreibung ermöglicht [7]. Eine zu beachtende Schwierigkeit ist, dass es vor allem in den höheren Rängen zu gewissen Verschiebungen der einzelnen Blütenstände in jedem Stadium kommt, was eine genaue Beschreibung der Pflanze als Ganzes unmöglich macht. Eine Möglichkeit, den Blütenstand zu beschreiben, wäre ein prozentualer Anteil des fortgeschrittenen Blütenstandes, wie er in der BBCH-Skala von Raps (*Brassica napus* L.) festgelegt wurde [54]. Da sich die Anzahl der Blütenstände mit zunehmendem Rang vervielfacht, kann diese Methode irreführend sein, da es schwierig ist, das exakte Entwicklungsstadium der Pflanze abzuschätzen. Eine rangweise Bewertung der fortschreitenden Blüte scheint die an der besten geeigneten Methode zu sein. Die Anzahl der Blüten pro Rang ist festgelegt, und jeder Rang hat eine eigene Bezeichnung.



## 2.4.5 Seneszenz

### 2.4.5.1 Jahr der Etablierung

Die Seneszenz trat im ersten Jahr des Anbaus verzögert ein. Eine vollständige Seneszenz wurde bei allen Akzessionen nach 307 TnA beobachtet. Dies ist wahrscheinlich auf den bis dahin milden klimatischen Bedingungen zurückzuführen. Eine Kälteperiode Ende Januar sorgte für das Einsetzen der vollständigen Seneszenz. *Silphium integrifolium* zeigte eine etwas frühere Seneszenz im Vergleich zu *Silphium perfoliatum*. Der Verlauf der Seneszenz ist bei beiden *Silphium integrifolium*-Akzessionen nahezu identisch. Die vollständige Seneszenz trat bei Sii eine Woche später ein als bei Sil. *Silphium perfoliatum* zeigt eine generelle Verschiebung des Seneszenzfortschritts, sodass SPN im Allgemeinen einen Vorsprung von einer Woche hatte, was auf die klimatischen Bedingungen des Herkunftsortes im nördlichen Teil des Verbreitungsgebietes zurückzuführen ist. Diese Anpassung an die klimatischen Bedingungen wurde auch bei europäischen Wildtypen von *Arabidopsis thaliana* festgestellt [86]. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die südliche Akzession (SPS) in ihrem natürlichen Verbreitungsgebiet eine längere vegetative Phase durchläuft als eine nördliche Akzession (SPN) und somit die volle Seneszenz später erreicht. Da die untersuchten Akzessionen von *Silphium integrifolium* aus ähnlichen Breitengraden stammen, ist eine Divergenz in Bezug auf den Seneszenzverlauf zwischen ihnen nicht wahrscheinlich. Außerdem ist die Seneszenz einzelner Pflanzen von *Silphium integrifolium* inhomogener als innerhalb der Akzessionen von *Silphium perfoliatum*, da beide Akzessionen eine größere Streuung der Seneszenzgrade aufweisen.

### 2.4.5.2 Zweites Jahr der Entwicklung

Die Entwicklung der Seneszenz im zweiten Jahr war bei *Silphium perfoliatum* differenzierter als im ersten Jahr. SPN war bei 566 TnA vollständig seneszent. SPS zeigte erst bei 580 TnA einen vollständigen Seneszenzgrad. Dieses Verhalten, das dem des ersten Jahres entsprach, lässt sich durch die unterschiedlichen klimatischen Bedingungen des natürlichen Ursprungs erklären [86].

Die untersuchten *Silphium integrifolium* Akzessionen zeigten ein sehr ähnliches Seneszenzverhalten. Eine Tendenz zum früheren Einsetzen der Seneszenz bei Sii hatte keinen Einfluss auf das Erreichen der vollständigen Seneszenz. Beide untersuchten Akzessionen

zeigten eine vollständige Seneszenz bei 560 TnA, was sich durch den vergleichbaren Breitengrad des Ursprungsortes der beiden Akzessionen begründen lässt.

#### *2.4.5.3 Anpassung an BBCH-Code - Makrostufe 9 [54]*

Eine Einordnung in die BBCH-Skala nach Meyer et al. (2018) ist im Makrostadium 9 [54] möglich. Eine erste prozentuale Einordnung ist bis zu einem Seneszenzgrad von 60 % gegeben. Die Verwendung der BBCH-Skala nach Cumplido-Marin et al. (2020) ist an dieser Stelle nur bedingt sinnvoll, da die Seneszenz möglicherweise nicht in der angegebenen Reihenfolge verläuft. Das Laub der Pflanzen im unteren Teil des Sprosses wurde bereits in der generativen Phase nekrotisch, weil die Lichtintensität hier nicht mehr ausreichte. Dies geschah bereits nach etwa 461 TnA (keine Daten gezeigt). Die eigentliche Seneszenz wurde jedoch erst nach 502 TnA festgestellt. Da der Verlauf der Seneszenz an fast allen Pflanzenteilen nahezu gleichzeitig erfolgt, ist eine prozentuale Darstellung der Ausprägung der Seneszenz bis einschließlich BBCH 9 6 sinnvoll. BBCH 9 7 beschreibt die vollständige Seneszenz des Laubes. BBCH 9 9 beschreibt die vollständige Seneszenz des oberirdischen Austriebs der Pflanzen [7].

#### 2.4.6 Einordnung der phänotypischen Merkmale und Verwendung

Eine Ernte sowie eine Nutzung jeglicher Art im ersten Jahr des Anbaus sollte aufgrund geringer Erträge und möglicher Schäden an den Pflanzen generell vermieden werden. Eine vielfältige Nutzung der Biomasse im zweiten Jahr ist möglich [13,37,58]. Häufig ist der Erntezeitpunkt und das damit verbundene Entwicklungsstadium bzw. die Reife entscheidend für die Nutzung [13,37].

Dabei ist die agronomische Verwertbarkeit der unterschiedlich abreifenden *Silphium*-Akzessionen ein wichtiger Aspekt bei der Kultivierung dieser Pflanze. Je nach Standortbedingungen und Klima ist es sinnvoll, eine geeignete Akzession auszuwählen. Die Ergebnisse der Entwicklungsbeschreibung zeigen, dass SPN für den Einsatz bei großem Beikrautdruck interessant sein kann, da es sich durch eine hohe Wachstumsrate in der Rosettenbildung im zweiten Jahr des Auftretens in den ersten Stadien auszeichnet. Sie entwickelt eine relativ hohe Anzahl an Rosettenblättern und kann daher konkurrierenden Beikräutern durch frühen Bestandsschluss schneller das Licht entziehen als andere *Silphium*-Akzessionen. Auch der Bodentyp kann ein Kriterium für die Auswahl einer bestimmten *Silphium*-Akzession sein. Ein hoher Ton- und Feinschluffgehalt sowie ein hoher Wassergehalt bieten schwierige Bedingungen für die Befahrbarkeit und die Bodenverdichtung [87]. Daher kann es für den Erntezeitpunkt von entscheidender Bedeutung sein, welche Akzession gewählt wird und wann sie abreift, um eine bestimmte Nutzung zu ermöglichen. Da SPS im Versuch etwa zwei Wochen später abgereift war als SPN, sollte dies bei der Wahl einer Sorte berücksichtigt werden.

Im Hinblick auf die wirtschaftliche Nutzung sollten die Erntezeiten und das Abreifverhalten klar definiert werden. Bei den Erntezeiten sollte generell zwischen grüner Biomasse und trockener Biomasse unterschieden werden. Für die praktische Nutzung ist es sinnvoll, den Erntezeitpunkt in BBCH-Skalen anzugeben und den zugehörigen Trockenmassegehalt abzubilden. Eine gängige Klassifizierung der Reifedaten für Mais sind die FAO-Nummern. Diese stellen eine nutzungsspezifische Reifezahl dar, die den Trockensubstanzgehalt berücksichtigt. Der Verwendungszweck definiert das Reifestadium bzw. den Erntetermin [88]. Grüne *Silphium*-Biomasse wird hauptsächlich für die energetische Nutzung in Biogasanlagen geerntet [13,89]. Pflanzen, die zur Faserproduktion für die Verpackungsindustrie verwendet werden, haben die gleiche Reifezeit wie für die energetische Nutzung, da hier eine Kaskadennutzung angestrebt wird [90]. Hierzu sollten die Pflanzen geerntet werden, wenn

die Stängel noch nicht vollständig verholzt sind. Eine fortgeschrittene oder gar abgeschlossene Verholzung der Fasern ist auch im Hinblick auf die Verwertbarkeit in der Biogaserzeugung nachteilig [91]. Um den Methanertrag zu maximieren, wird eine Ernte im Sommer am Ende der Blüte im BBCH-Stadium 66 angestrebt. Die Trockensubstanz sollte dann zwischen 20 % und 25 % liegen [13,89]. Soll die Durchwachsene Silphie zusammen mit Mais (*Zea mais* L.) geerntet werden, wäre hier eine spätreifende Akzession wie SPS geeignet um eine möglichst große Überdeckung des Erntefensters zu erzeugen. Gegebenenfalls sollte hier ein früh reifender Mais verwendet werden, um eine weitere Annäherung des Erntetermins zu erreichen [91].

Wird die Pflanze als Baumaterial vorgesehen, wird ein möglichst hoher Trockensubstanzgehalt und eine möglichst hohe Verholzung angestrebt, so dass die Pflanze erst zum Ende des BBCH-Makrostadium 9 geerntet wird. Dieses Entwicklungsstadium tritt am Ende der Vegetationsperiode auf. Hierbei verlagern sich wichtige Nährstoffe zurück in die unterirdischen Pflanzenteile. Ferner wird durch eine verzögerte Ernte im Winter der verbleibende Feuchtigkeitsgehalt im Erntegut weiter reduziert [27]. Es wurde in Anbetracht der Vergleichbarkeit ein Erntetermin angelehnt an Höller et al. 2021 ausgewählt, sodass die der oberirdischen Biomasse 596 TnA erfolgte [27]. Hierbei wurde ein mittlerer Trockenmassegehalt von  $63,7\% \pm 13,1\%$  ermittelt. Äquivalent zum Seneszenzverhalten zeigte Sii, Sil und SPN keine signifikanten Unterschiede im durchschnittlichen relativen Trockensubstanzgehalt. Ein signifikanter Unterschied lag einzig zu SPS vor, welche mit etwa 6,4% größerer Restfeuchte im Vergleich zum Mittel aller untersuchten Akzessionen deutlich feuchter war, was sich mit dem spezifischen Seneszenzverhalten aufgrund des geographischen Herkunftsortes dieser Akzession begründen lässt. Eine längere Reifezeit auf dem Feld würde höhere Trockenmassegehalte nahelegen. Möglicherweise müssen die Mengen verschiedener Strukturen oder die Gehalte verschiedener Kohlenhydrate im jeweiligen Erntegut berücksichtigt werden. Moll et al. (2022) stellten fest, dass bestimmte *Silphium*-Akzessionen ein unterschiedliches Verhältnis von Cortex zu Parenchym aufwiesen, was einen unterschiedlichen Nutzen der Biomasse implizieren könnte [37].

Nach einem Trocknungsvorgang ließ sich eine durchschnittliche Trockenmasse von  $12,78\text{ Mg} \pm 6,57\text{ Mg}$  pro Hektar ernten. Hierbei lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Akzessionen vor (Tukey-HSD, 95% Konfidenzintervall). Wever et al. (2019) ermittelten im Rahmen der durchgeführten Versuche am selben Standort eine mittlere

durchschnittliche Trockenmasse aller untersuchten Akzessionen von 15,46 Mg pro Hektar und liegen somit deutlich über dem im Rahmen dieser Studie erreichten Ertragsniveau [58]. SPS und Sil erreichten mit  $14,39 \text{ Mg} \pm 7,21 \text{ Mg}$  pro Hektar bzw.  $14,29 \text{ Mg} \pm 6,77 \text{ Mg}$  pro Hektar annähernd vergleichbare Werte; SPN und Sii erreichten diese Ertragsmengen nicht. In anderen Studien werden vergleichbare Erträge beschrieben. Peni et al. (2020) beschreiben für *Silphium perfoliatum* einen vergleichbaren mittleren Ertrag von 13,3 Mg pro Hektar Trockensubstanz, wobei dieser Wert zwischen 2 und 32 Mg Trockensubstanzertrag pro Hektar schwanken kann [15]. Gansberger et al. (2014) beschreiben einen mit durchschnittlichen Trockensubstanzertrag von 15 Mg pro Hektar einen etwas höheren Ertrag als Peni et al (2020) und die vorliegende Studie [13].

Ferner zeigte sich ein umgekehrtes Bild bezüglich der relativen Trockensubstanzgehalte der unterschiedlichen Akzessionen. Zum gleichen Erntetermin bildeten SPN und Sii einen tendenziell höheren relativen Trockensubstanzgehalt aus als SPS und Sil, wobei ein signifikanter Unterschied lediglich zwischen SPS und den übrigen Akzessionen vorlag. Die im Rahmen dieses Versuchs erhobenen Biomasserträge von *Silphium integrifolium* zeigen eine deutliche Abweichung zu anderen Studien. So beschreiben Vilela et al. (2020) einen Trockensubstanzertrag von  $0,51 \text{ kg} \pm 0,03 \text{ kg}$  pro Pflanze, was einem Ertrag von etwa 20,4 Mg (bei einer üblichen Pflanzdichte von 40000 Pflanzen pro Hektar) entspricht. Dies lässt sich primär durch die Untersuchung teilweise ertragsschwächerer Akzessionen und die in der Vegetationsperiode vorherrschenden klimatischen Bedingungen begründen. Eine weitere naheliegende Begründung für einen geringeren Ertrag der untersuchten Akzessionen lässt sich durch den lediglich zwei Jahren alten Pflanzenbestand anführen, da hier davon auszugehen ist, dass sich das Ertragspotenzial mit den Folgejahren noch steigern wird.

Gansberger et al. (2014) beschreiben mit 30 % Trockensubstanz einen weit geringeren Trockensubstanzgehalt der Pflanzen, wobei zu erwähnen ist, dass zu Zeiten dieser Studie eine energetische Nutzung von *Silphium perfoliatum* als am sinnvollsten erschien [13]. Im Falle dieser Studie war eine Ernte der Biomasse nach Vollendung der Seneszenz angestrebt, um das Abreifeverhalten unterschiedlicher Akzessionen von *Silphium spp.* für eine stoffliche Nutzung der Biomasse zu evaluieren. Dies scheint heutzutage unter Nachhaltigkeitsaspekten eine sinnvolle Option der Nutzung zu sein [3].

*Silphium integrifolium* kann auch als Biomassepflanze von Mitte Juni bis Mitte August geerntet werden. Schiffner et al. beschreiben eine Doppelnutzung von *Silphium integrifolium* [83].

Aufgrund der unterschiedlichen Reifezeitpunkte von Biomasse und Samen und der daraus resultierenden Schwierigkeit bei der Feststellung des optimalen Erntetermins, wird eine Differenzierung der Zuchtziele vorgeschlagen. Dabei sollte zwischen der Nutzung für Futtermittel und der Nutzung für Ölsaaten unterschieden werden.

Die Verwertung der Biomasse im späten Frühjahr fördert eine hohe Futterqualität. Der Samenertrag aus der nachwachsenden Biomasse ist jedoch um bis zu 45 % reduziert, was einer Verwertungslücke gleichkommt [46]. Zudem wäre eine Anpassung des Reifeverhaltens an das von Futtermais sinnvoll, da eine gleichzeitige Ernte große wirtschaftliche Vorteile bieten würde. Die Erntetechnik und der Silierprozess sind bei beiden Kulturen nahezu identisch [92]. Für die Verwendung von *Silphium* als Ölsaat sind Akzessionen mit einer sicheren Reife entscheidend für den Ertrag. Spätreifende *Silphium*-Akkzessionen können ihr hohes Ertragspotenzial unter mitteleuropäischen Klimabedingungen nicht ausschöpfen. Ein höherer Ertrag kann daher zu frühen Erntezeitpunkten erzielt werden [46]. Für die Nutzung als Ölpflanze ist die untersuchte prädomestizierte Akzession Sil am vielversprechendsten. So konnte die durchschnittliche Anzahl der Samen pro Blüte deutlich gesteigert werden [5]. Dies schlägt sich ebenfalls im Samenertrag der untersuchten Akzessionen nieder. Sil zeigte mit  $4083,3 \text{ kg} \pm 1861,4 \text{ kg}$  ein deutlich höheres Samenertragsniveau als die übrigen Akzessionen, die durchschnittlich einen Samenertrag von  $1306,5 \text{ kg}$  bildeten. Je nach Ertragsstandort lässt sich der Samenertrag von Sil mit Ertragsangaben aus früheren Studien vergleichen. So wurde von Vilela et al. (2020) ein Samenertrag von  $3052 \text{ kg}$  pro Hektar in Patagonien bzw.  $11174,4 \text{ kg}$  pro Hektar in Kansas ermittelt [46].

Da *Silphium* als Wildpflanze noch eine natürliche Eigenschaft besitzt, abgereifte Samen ausfallen zu lassen, sobald eine vollständige Abreife der jeweiligen Samenanlage eintritt und die Reifung über die verschiedenen Blütenränge hinweg kontinuierlich fortschreitet, muss ein optimaler Erntetermin gefunden werden, um einen möglichst hohen Ertrag bei bestmöglicher Qualität zu gewährleisten. Unter Einbindung von Ertragsstrukturparametern wie die Triebanzahl, die Blütenanzahl und die durchschnittlichen Samenanzahlen und -gewichte je Blütenrang und dem jeweiligen Ausfallzeitpunkt der Samen aus der Blüte wurde eine Modellierung erarbeitet, die das Samenertragspotenzial der untersuchten *Silphium*-Akkzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt beschreibt.

## 2.5 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Verschiedene Akzessionen von *Silphium integrifolium* und *Silphium perfoliatum* wurden mit jeweils zwei Kultivaren in der Etablierungsphase und im zweiten Anbaujahr sowohl inter- als auch intraspezifisch auf die Variation quantitativer phänotypischer Merkmale und der Wachstumskinetik untersucht. *Silphium integrifolium* zeigt im ersten Jahr deutlich mehr entwickelte Nodien und eine stärkere Tendenz zur Blütenbildung als *Silphium perfoliatum*. Im zweiten Anbaujahr macht sich der geografische Unterschied der Herkunftsorte der beiden untersuchten *Silphium perfoliatum*-Akzessionen durch eine Diskrepanz bemerkbar, die im Laufe der Entwicklung zunimmt. Bei *Silphium integrifolium* ist dies in geringerem Maße der Fall. Hypothese 1 lässt sich demnach bestätigen.

Weiterhin wurde im Rahmen dieser Studie eine BBCH-Skala als Alternative zu einer von Cumplido-Marin et al. (2020) vorgestellten Skala [7] entwickelt und an *Silphium integrifolium* angepasst. Darüber hinaus wurden botanische Zeichnungen der jeweiligen aktiven Zentren der Pflanze angefertigt, um eindeutige Referenzen für beispielhafte Entwicklungsstadien zu liefern. Da sich die Entwicklungsschritte stark ähneln und weite Teile der Entwicklungskinetiken von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* homolog ablaufen und sich in wenigen Fällen in der quantitativen Ausprägung des jeweiligen Merkmals unterscheiden, lässt sich eine gemeinsame BBCH-Skala anwenden. Demnach lässt sich Hypothese 2 bestätigen.

Abschließend wurde die Eignung von sich unterschiedlich entwickelnden Akzessionen von *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* diskutiert. Dabei wurde auf unterschiedliche Nutzungsformen und entsprechende Erntezeitpunkte eingegangen. Hierbei spielen die Wahl der Akzession, der Erntezeitpunkt, wie auch der angestrebte Nutzen eine Rolle. So lässt sich Hypothese 3 ebenfalls bestätigen.

Die Gattung *Silphium* stellt mit zwei Arten eine gute Alternative zu konventionellen Rohstoffen für viele Industriezweige dar. Die Nutzung der Pflanzenfamilie zur Öl- und Biomassegewinnung ist in den letzten Jahren intensiv erforscht worden, sodass es auf diesem Gebiet mit einem raschen Fortschritt zu rechnen ist. Allerdings ist die phänotypische Variation innerhalb der genutzten Akzessionen groß, was die Einheitlichkeit der Kultur auf dem Feld beeinträchtigt. Die Züchtung von Sorten mit spezifischen Verwendungszwecken wäre für die

weitere Entwicklung der Pflanzen von entscheidender Bedeutung und würde den Domestizierungsprozess bei beiden Arten beschleunigen.



### 3. Möglichkeiten zur Verkürzung des Generationszyklus von *Silphium perfoliatum* L.

Wie im ersten Teil der vorliegenden Arbeit beschrieben wurde, erstreckt sich der natürliche Generationszyklus der Durchwachsenen Silphie (*Silphium perfoliatum* L.) über zwei Vegetationsperioden: Aus einem stratifizierten Samen keimt eine Jungpflanze, aus der im Laufe der ersten Vegetationsperiode eine bodenständige Rosette heranwächst. Durch die über Winter auftretende Kälteperiode zwischen den Vegetationsperioden wird die Pflanze vernalisiert. Hierdurch wird gewährleistet, dass die Durchwachsene Silphie nach Wiederaustrieb zu Beginn der zweiten Vegetationsperiode in die generative Phase des Entwicklungszyklus gelangt, Triebe ausbildet, blüht und schließlich eine neue Generation an Samen hervorbringt. In folgenden Vegetationsperioden wird der zweite Teil des Generationszyklus repliziert [1].

Die Züchtung neuer, an die sich schnell verändernden Umweltbedingungen angepasste Sorten bedarf in der Regel bei klassischen Züchtungsmethoden mehr als zehn Jahre [93]. Durch Anwendung inzuchtbasierter Züchtungsmethoden kann dies in etwa vier bis sechs Generationen bewerkstelligt werden. Die Zucht von Feldkulturen, die den Großteil des weltweiten Lebensmittelmarkts ausmachen, weist eine größere Generationsdauer auf, sodass sich hier meist lediglich ein bis zwei Generationen pro Jahr bewerkstelligen lassen [94,95].

Im generellen Kontext züchterischer Unternehmungen an Kulturpflanzen wird auf unterschiedlichen Ebenen ein möglichst kurzer Generationszyklus angestrebt. So ist hierdurch beispielsweise eine schnelle Anpassung der Kulturpflanze an klimatische Änderungen möglich [95]. Einen anderen Aspekt stellen ökonomische Zielsetzungen dar, die durch die Entwicklung und Anwendung von Schnellzuchtverfahren erreicht werden können. Hierzu lässt durch gezielte Eingriffe in den Entwicklungszyklus der im Züchtungsprozess befindlichen Pflanze eine zeitliche Verkürzung erzeugen [94,96,97]. Diese Verfahren beruhen auf einer Beeinflussung der pflanzlichen Entwicklung durch Anpassung Lichtintensität, Temperatur, Bodenfeuchte, Nährstoffverfügbarkeit und Pflanzdichte, sowie Eingriffe in den Hormonhaushalt der Pflanze wodurch sich eine verfrühte Blüte bzw. ein verfrühter Samenansatz induzieren lassen [93]. Diese Möglichkeiten werden im Folgenden beschrieben.

Durch Anpassung der Lichtintensität, und -qualität sowie dem Licht- und Dunkelregime lässt sich die Fotoperiode für die Förderung von einer optimalen Entwicklung der Kulturpflanze einstellen [98]. Hierbei zeigen unterschiedliche Kulturpflanzenarten wie auch einzelne Sorten unterschiedliche Anforderungen an das Lichtregime, was einer präzisen Einstellung bedarf [93,99,100]. So wirkt sich die Lichtqualität auf das Pflanzenwachstum, die Fotosyntheserate, die stomatäre Durchlässigkeit sowie den Gehalt von interzellulärem CO<sub>2</sub> und die Transpirationsrate aus [101]. Lichtquellen, die fotosynthetisch aktive Strahlung (PAR) im Bereich von 400-700 nm mit einer Intensität von 360-650 μmol/m<sup>2</sup>/s abgeben, wurden bei vielen Kulturpflanzen, darunter Weizen (*Triticum aestivum* L.), Gerste (*Hordeum vulgare* L.), Kichererbsen (*Cicer arietinum* L.), Erbsen (*Pisum sativum* L.) und Raps (*Brassica napus* L.) generationszeitverkürzend angewendet [93,94,102], was sich durch die gleichbleibende Fotosyntheserate über den gesamten Kulturzeitraum begründen lässt [103].

So kann durch ein kontrolliertes Licht- und Temperaturmanagement und einer optimalen Wasser- und Nährstoffversorgung eine Verkürzung der Generationszeit erzielt werden. Hierdurch kann die Generationszeit von Raps (*Brassica napus* L.) auf 73 Tage reduziert werden. [94].

Die Luft- wie auch die Bodentemperatur beeinflussen maßgeblich das Keimverhalten und das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen. Temperaturextrema wirken sich schnell negativ auf die Geschwindigkeit der pflanzlichen Entwicklung – speziell auf den Übergang von vegetativer zu generativer Phase aus [104,105]. Optimale Keimungstemperaturen liegen bei den meisten Kulturpflanzen zwischen zwölf und 30 °C, während das Temperaturoptimum für vegetatives Wachstum wie auch die generative Phase zwischen 25 und 30 °C liegt [93]. Eine Vernalisation durch geringe Temperaturen ist bei vielen Kulturpflanzen erforderlich, um den Übergang zum generativen Stadium zu beschleunigen bzw. zu gewährleisten [1,106,107].

Durch Anpassung der Substratfeuchtigkeit lassen sich erhebliche Veränderungen in der Pflanzenentwicklung erzeugen, die sich auf die erreichte Wuchshöhe, die Dauer bis zum Eintritt der Blüte wie auch den Samenansatz und die Samenreife beziehen [108,109]. Trocken- wie auch Nässestress kann zu einer verfrühten Blüteninduktion bzw. Samenreife führen, was im Rahmen der Generationszeitverkürzung genutzt werden kann [93]. Induzierter Trockenstress ist hierbei eine häufig angewendete Methode um an Weizen (*Triticum aestivum*),

Gerste (*Hordeum vulgare*) und Perlhirse (*Pennisetum glaucum* L.) eine verfrühte Blüte durch die Induktion einer „Notblüte“ einzuleiten [110,111].

Durch eine hohe Pflanzdichte und die so induzierte Lichtkonkurrenz lässt sich ein schneller Übergang von vegetativer zu generativer Pflanzenentwicklung einleiten, wobei hier davon auszugehen ist, dass die Pflanzen ein verstärktes Längenwachstum ausweisen [112]. Dies kann in der Kulturführung allerdings zu Schwierigkeiten führen.

Eine weitere Möglichkeit zur Beschleunigung von pflanzlicher Entwicklung ist der gezielte Einsatz von Phytohormonen. Prädestinierte Phasen für den Einsatz von Phytohormonen für eine Entwicklungsbeschleunigung sind die Keimung wie auch die Blüte bzw. der Samenansatz [113]. Hierbei lassen sich unterschiedliche Reaktionen durch die Applikation von Hormonen induzieren, die in Verbindung mit einer Regulation von Photoperiode und Temperatur weiter gesteuert werden können. So lässt sich beispielsweise durch die Kombination von Auxin und Cytokinin in Form von Flurprimidol (0,3 µM), Indol-3-Essigsäure (5,7 µM) und Zeatin (2,3 µM) die Blüte *in-vitro* zu 100 % und den Samenansatz (90 %) bei der Ackerbohne (*Vicia faba* L.) induzieren [93,114].

Eine Explantation unreifer Samen *in vitro* in Kombination mit exogenen Phytohormonen im Medium und ein optimales Lichtmanagement führt bei Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) zur Reduktion der Generationszeit auf 20 bis 26 Tage [115].

Gerste (*Hordeum vulgare* L.) lässt eine Verkürzung der Generationszeit auf 24 bis 36 Tage zu. Hierbei werden durch ein optimiertes Licht-, Temperatur- und Nährstoffmanagement optimale Entwicklungsbedingungen geschaffen. Zusätzlich wird mittels eines Embryorescue-Verfahrens und anschließender *in-vitro*-Kultur eine verfrühte Weiterentwicklung von Embryonen zur Jungpflanze induziert [116]. Ein äquivalentes Vorgehen wird in der Weizenzüchtung (*Triticum aestivum* L.) angewandt, wobei hier die Entwicklungszeit mit 29 bis 41 Tagen etwas länger ist [117]. Zusätzlich lässt sich eine Generationszeitverkürzung durch eine Reduktion der Vernalisationszeit auf sechs bis zehn Wochen durchführen [118].

Eine Adaption dieser Methoden an die Durchwachsene Silphie ist möglich. So lässt sich durch ein gezieltes Eingreifen in die Samen- bzw. Embryoentwicklung und eine anschließende Inkulturnahme selbiger *in vitro* eine verfrühte Entwicklung zur Jungpflanze induzieren.

Im Vorwege der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche der Verkürzung der Generationszeit von *Silphium perfoliatum* durch die Anwendung einer *in-vitro*-Embryokultur wurden folgende Hypothesen aufgestellt. Die durchgeführten Untersuchungen werden im Folgenden vorgestellt.

### 3.1 Forschungshypothesen

#### Hypothese 1

Verschiedene Akzessionen von *Silphium perfoliatum* und Embryonen unterschiedlichen Alters eignen sich unterschiedlich gut für eine Weiterkultur der Embryonen *in vitro*.

#### Hypothese 2

Der Verbleib der Samenschale hat einen Einfluss auf das Weiterentwicklungsverhalten von *Silphium perfoliatum in vitro*.

#### Hypothese 3

Durch die Applikation von Phytohormonen in das Zellkulturmedium ist ein Effekt auf das Weiterentwicklungsverhalten des Embryos von *Silphium perfoliatum in vitro* zu beobachten.

## 3.2 Generationszeitverkürzung durch die Weiterkultur unreifer Embryonen bzw. Samen *in vitro*

### 3.2.1 Kultur unreifer Embryonen und Samen *in vitro*

Die Weiterentwicklung von pflanzlichen Embryonen findet in der Pflanzenzüchtung wie auch in grundlegenden Studien bezüglich pflanzenphysiologischer wie auch biochemischer Prozesse Anwendung. Die Kultur unreifer Embryonen *in vitro* wird als eine probate Methode angesehen, verminderte Fertilitäten von Kreuzungen zu überwinden [119]. Unreife oder reife zygotische Embryonen können aus ihrer natürlichen Wachstums Umgebung extrahiert und auf einem künstlichen Medium *in vitro* kultiviert werden, wodurch ein Ersatz für das Endosperm ist und die weitere Entwicklung und die anschließende Keimung zu einer Pflanze ermöglicht werden kann [119–121]. Die Haupteinflussfaktoren für eine erfolgreiche Embryokultur werden hierbei durch den verwendeten Genotypen, den Grad der Entwicklung des entsprechenden Embryos zum Zeitpunkt der Explantation sowie der Zusammensetzung des Mediums, welches für die *in-vitro*-Kultur verwendet wird aufgespannt [122].

Die Entwicklung des zygotischen Embryos im Endosperm wird in eine Reihe von Stadien unterteilt. Charakteristische Stadien sind bei dikotylen Pflanzen das Kugel-, Herz-, Torpedo- und Keimblattstadium bei dikotylen Pflanzen. Diese Einteilung zeigt nicht nur die Veränderung der Embryonalform, sondern auch eine allmähliche Entwicklung hin zur Unabhängigkeit in Bezug auf die Nährstoffversorgung zur Mutterpflanze [69,119,123]. Für die praktische Anwendung dieser Methoden, die eine Extraktion des Embryos aus dem Endosperm einschließen, liegt es nahe, dass spätere Stadien der Embryonalentwicklung einfacher zu handhaben sind [119].

Für die Kultur von unreifen Embryonen *in vitro* ist wurden in unterschiedlichen Studien eine Vielzahl an Medien entwickelt, welche durch unterschiedliche Zusammensetzungen und Konzentrationen von anorganischen Salzen, Zuckern, Vitaminen, Aminosäuren, organischen Hilfsstoffen (Hefe, Hefeextrakt, Malzextrakt und Kokosnusswasser) und Pflanzenwachstumsregulatoren an die Bedürfnisse der jeweiligen Kultur angepasst wurden. [119–121,123–125]

Neben den elterlichen Genotypen und der hiermit einhergehenden Präposition des Embryos, benötigt dieser entsprechend seines Alters und Entwicklungsstadiums differenzierte

Wachstumsmedien für eine Kultur *in vitro* um ein optimales Wachstum zu erreichen. In der Regel ist die Zusammensetzung des Mediums für unreife Embryonen kritischer als für Embryonen fortgeschrittener Entwicklungsstadiums für eine Weiterkultur *in vitro*. Für weit entwickelte Embryonen ist ein einfaches Medium mit geringer Nährstoffkonzentration und Zuckergehalt ausreichend um ein normales Wachstum zu gewährleisten. Embryonen junger Entwicklungsstadien benötigen jedoch ein komplexes Nährmedium mit verschiedenen organischen Zusätzen [119,125,126].

#### 3.2.1.1 Material und Methoden

In einem ersten Versuch soll eine Methode zur Weiterkultur von Embryonen *in vitro* evaluiert werden. Hierzu wurden Embryonen in 180-facher Wiederholung *in vitro* explantiert und weiterkultiviert. Da eine erfolgreiche Kultivierung unreifer Samen *in vitro* nicht ausgeschlossen werden kann und so eine Extraktion der Embryonen aus den Samen obsolet werden würde, wurde diese Variante ebenfalls für den Ausgangsversuch in 180-facher Wiederholung vorgenommen. Zudem sollte hierdurch untersucht werden, ob und inwiefern eine Einflussnahme der Samenschale auf die Keimung bzw. auf die Weiterentwicklung *in vitro* hat.

##### 3.2.1.1.1 Akzessionsauswahl

Für diesen Versuch wurden zwei Akzessionen von *Silphium perfoliatum* untersucht. Ein Kultivar, der heutzutage im kommerziellen Maßstab angebaut wird und ursprünglich aus dem nördlichen Verbreitungsgebiet von *Silphium perfoliatum* stammt (TLL4). Zudem wurde ein becherloser Wildtyp aus dem südlichen Verbreitungsgebiet untersucht (SP26).

##### 3.2.1.1.2 Samenerzeugung

Zu Beginn des Versuchs wurde durch händisches Bestäuben Populationssaatgut erzeugt. Hierzu wurde einige Tage vor Öffnung der Blüte ein feinmaschiger Netzbeutel über die Knospe gestülpt, um eine unbeabsichtigte Bestäubung durch Insekten zu vermeiden. Sobald die Naben der Zungenblüten einer Blüte freilagen, wurde unmittelbar vorher gesammelter Pollen derselben Akzession appliziert und so eine Bestäubung vorgenommen. Um eine Sekundärbestäubung durch Insekten zu vermeiden, wurde der Netzbeutel nach der Bestäubung erneut angebracht. Die Samenerzeugung fand im Gewächshaus bei einer Temperatur von 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx über 12 Stunden als konstante Zielgröße statt.

#### 3.2.1.1.3 Aufbereitung der Samen bzw. Embryonen für die Zellkultur

Nach Ablauf definierter Entwicklungszeiträume wurden die bestäubten Blüten geerntet. Anschließend wurden die Samen aus den Blüten ausgelöst und in 70 prozentiger Ethanollösung für 60 Sekunden gespült. Anschließend wurden die Samen in einer Natriumhypochlorid-Lösung (1,4 %) für zwanzig Minuten sterilisiert. In einem letzten Schritt wurde eine Neutralisierung der Sterilisationslösung mit entmineralisiertem Wasser vorgenommen.

#### 3.2.1.1.4 Zellkultur

Im Rahmen der Embryokultur wurden die Embryonen in einem Zwischenschritt der Samenschale entnommen und anschließend *in vitro* kultiviert. Für die Kultur vollständiger Samen konnte dieser Schritt außer Acht gelassen werden, sodass diese direkt *in vitro* überführt werden konnten.

Um den Einfluss des Alters des Embryos bzw. des Samens auf die Weiterentwicklungsrate *in vitro* zu evaluieren, wurden die für den Versuch in Betracht kommenden Varianten an die Dauer der Entwicklungs- bzw. Reifezeit der Pflanze angepasst. So wurden Samen und Embryonen eines Alters von 7, 10, 14, 21, 28, 35 und 42 Tagen untersucht.

Für beide Varianten wurde ein 0,5 x MS-Medium + Gamborg B5 (pH 5,5) verwendet [127,128]. Hierzu wurden je Liter Medium 2,2 g MS-Medium + Gamborg B5, 30 g Saccharose und 7 g Agar-Agar verwendet. Die Samen- bzw. Embryo-*in-vitro*-Kultur wurde bei einer Temperatur von 25 °C und einer Lichtintensität von  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  für 24 Stunden am Tag in einem Pflanzenschrank kultiviert. Die Kultur erfolgte in Petrischalen.

#### 3.2.1.1.5 Datenerhebung

Die Gewebekultur wurde in regelmäßigen Abständen über einen Zeitraum von 65 Tagen bonitiert. Hierbei wurde das Sichtbarwerden von grünen Bereichen, die Bildung einer Primärwurzel wie auch die Entwicklung des ersten Laubblattes als bedeutende Entwicklungsschritte definiert und erfasst. Wurden alle Entwicklungsmerkmale durchlaufen bzw. ausgebildet, galt die Jungpflanze als vollständig entwickelt.

#### 3.2.1.1.6 Datenverarbeitung

Die erfassten Daten wurden akzessionsspezifisch aufgearbeitet. Hierzu wurden in erster Instanz die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen über den zeitlichen Verlauf

des Versuchs in einem Diagramm dargestellt. In zweiter Instanz wurden die nach 65 Tagen erreichten relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen auf statistisch signifikante Unterschiede untersucht. Die statistischen Berechnungen unterliegen einem Konfidenzintervall von 95 %. Homogene Untergruppen wurden mittels des Tukey-Tests (Post-hoc-Test) ermittelt.

### 3.2.1.2 Ergebnisse

Die Ergebnisse dieses Versuchs werden separat für jede Akzession dargestellt. Die Darstellungen beziehen sich auf einen Versuchsumfang von 180 Embryonen bzw. Samen je Variante.

#### 3.2.1.2.1 Weiterentwicklung unvollständig entwickelter Embryonen zu vollentwickelten Jungpflanzen *in vitro*

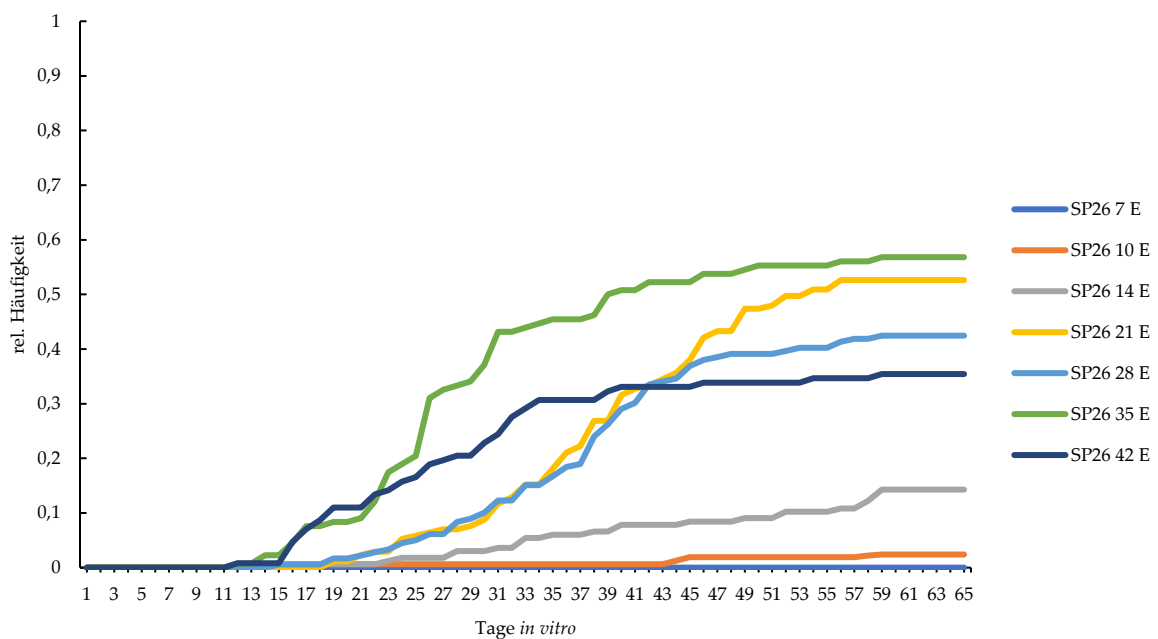


Abbildung 22 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Embryonen (E) von SP26 im Zeitverlauf von 65 Tagen in Kultur mit unterschiedlichem Alter (Tage nach Bestäubung), kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25^\circ\text{C}$ ; ( $n = 180$ ). Kultur der Mutterpflanzen im Gewächshaus, März 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Abbildung 22 zeigt auf der Abszisse den Zeitverlauf in Tagen. Auf der Ordinate sind die relativen Häufigkeiten der aus den Embryonen des Wildtyp SP26 entstandenen vollentwickelten Jungpflanzen aufgetragen. Dieses Stadium wurde durch das vollständige Aufklappen der Keimblätter, das Vorhandensein von grüner Färbung der Keim- wie auch



Laubblätter, einer Primärwurzel wie auch eines Laubblattes definiert. Mittels unterschiedlich gefärbter Graphen wurden die einzelnen Varianten dargestellt.

Es zeigt sich, dass Embryonen der Akzession SP26 mit einem Alter von 7 bzw. 10 Tagen eine stark verminderte Entwicklungsrate aufweisen. Zudem ist die Entwicklung stark verzögert. So ist zu erkennen, dass lediglich bei Embryonen von zehn Tagen nach ca. 44 Tagen *in vitro* etwa 3% eine vollständige Entwicklung durchlaufen.

Mit steigendem Alter nimmt auch die relative Häufigkeit der vollentwickelten Jungpflanzen zu. So zeigt die 14 Tage alte Variante einen relativ linearen Zuwachs der relativen Häufigkeit vollentwickelter Embryonen. Erste Embryonen sind hier bereits nach 20 Tagen vollständig entwickelt. Nach 65 Tagen *in vitro* sind etwa 15% der Embryonen vollständig zur Jungpflanze entwickelt. 21 und 28 Tage alte Embryonen zeigen eine höhere relative Entwicklungsrate von etwa 50 bzw. 40%. Erste vollentwickelte Jungpflanzen sind nach 18 Tagen vorhanden. Der Verlauf der Zunahme lässt sich als Sättigungskurve beschreiben. 35 Tage alte Embryonen zeigen die höchste relative Entwicklungsrate mit etwa 57%. Es fällt auf, dass der Anstieg der relativen Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen deutlich verfrüht auftritt. Ähnliches zeigt sich bei 42 Tage alten Embryonen, wobei die relative Häufigkeit schlussendlich mit etwa 30% vollentwickelter Jungpflanzen deutlich unterhalb der relativen Häufigkeit der 35 Tage alten Embryonen liegt. Bei 35 wie auch 42 Tage alten Embryonen reduziert sich die Entwicklungszeit erster vollentwickelter Jungpflanzen auf 13 bzw. 15 Tage.

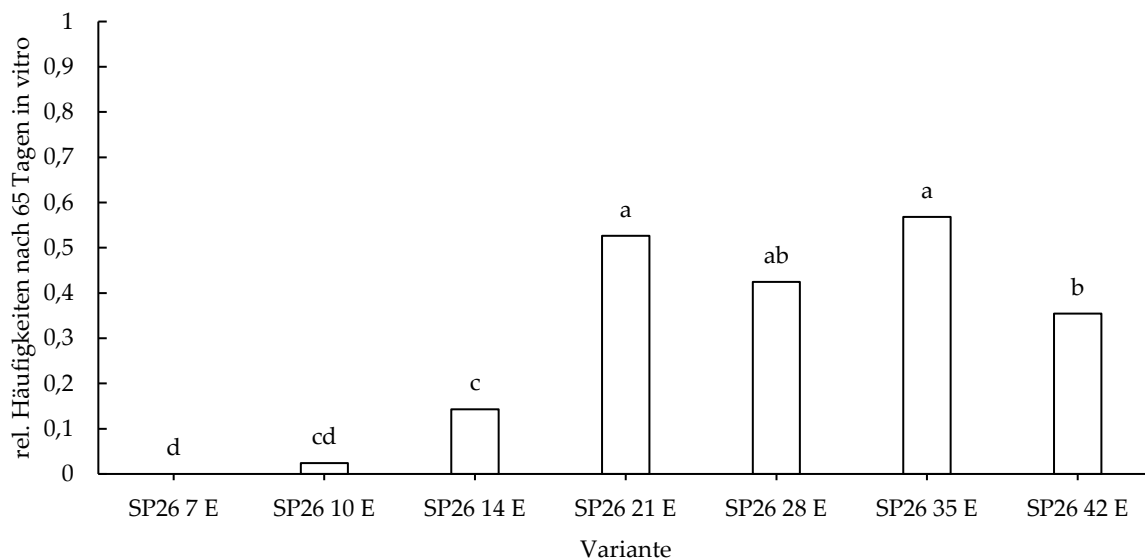


Abbildung 23 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Embryonen (E) von SP26 nach 65 Tagen *in vitro*, kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25^\circ\text{C}$ ; ( $n = 180$ ). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.

In Abbildung 23 ist auf der Abszisse die in diesem Versuch untersuchten Embryovarianten der SP26 dargestellt. Die Ordinate zeigt die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen nach 65 Tagen *in vitro*. Zwischen den untersuchten Varianten liegen statistisch signifikante Unterschiede vor ( $p = 5,41 \times 10^{-8}$ ). Homogene Untergruppen, bzw. signifikante Unterschiede sind am Diagramm ersichtlich. Auffällig ist, dass die größte relative Entwicklungsrate bei Embryonen eines Alters von 21 bis 35 Tagen am größten war, 42 Tage alte Embryonen jedoch signifikant geringere relative Häufigkeiten aufweisen. Embryonen geringeren Alters zeigen eine verminderte relative Häufigkeit vollentwickelter Pflanzen.

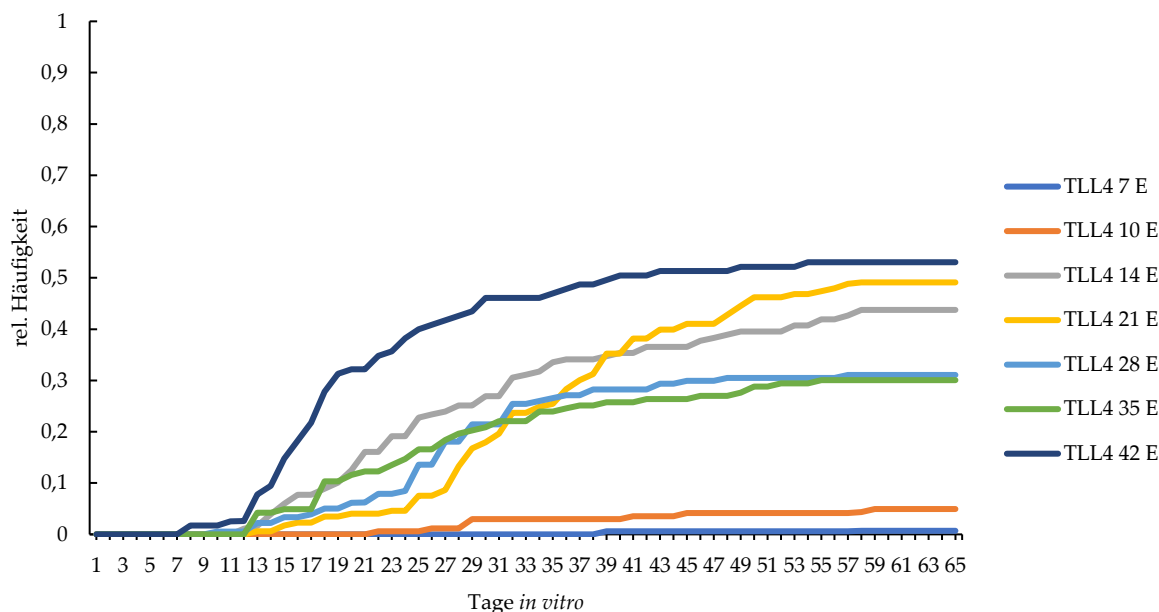


Abbildung 24 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Embryonen (E) von TLL4 im Zeitverlauf von 65 Tagen in Kultur mit unterschiedlichem Alter (Tage nach Bestäubung), kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ; ( $n = 180$ ). Kultur der Mutterpflanzen im Gewächshaus, März 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Abbildung 24 zeigt auf der Abszisse den Zeitverlauf in Tagen. Auf der Ordinate sind die relativen Häufigkeiten der aus den Embryonen der kommerziell angebauten Akzession TLL4 entstandenen vollentwickelten Jungpflanzen aufgetragen. Dieses Stadium wurde durch das vollständige Aufklappen der Keimblätter, das Vorhandensein von grüner Färbung der Keim- wie auch Laubblätter, einer Primärwurzel wie auch eines Laubblattes definiert. Mittels unterschiedlich gefärbter Graphen wurden die einzelnen Varianten dargestellt.

Es lässt sich erkennen, dass Embryonen dieser Akzession mit einem Alter von 7 bzw. 10 Tagen lediglich geringe relative Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen *in vitro* zeigen. Diese liegen bei etwa 2 % bzw. 6%. Der Zeitpunkt, an dem erste Embryonen zu vollentwickelten Jungpflanzen herangewachsen sind, liegt bei 39 bzw. bei 21 Tagen nach Inkulturnahme *in vitro*. 28 wie auch 35 Tage alte Embryonen zeigen ein sehr ähnliches Entwicklungsverhalten. So ist zu erkennen, dass sich in beiden Varianten nach 65 Tagen *in vitro* etwa 30% der Jungpflanzen weiterentwickelt haben. Erste vollentwickelte Jungpflanzen treten nach etwa elf Tagen auf. Der Verlauf beider Graphen beschreibt eine Sättigungskurve. Die Variante mit 14 Tage alten Embryonen zeigen nach 65 Tagen eine relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen von etwa 40%. Nach elf Tagen *in vitro* sind erste vollentwickelte Jungpflanzen

zu erkennen. Die Graphen der Varianten mit 21 bzw. 42 Tage alten Embryonen zeigen eine 48- bzw. 53 prozentige relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen. Es fällt auf, dass die Entwicklungsrate bei 42 Tage alten Embryonen deutlich beschleunigt abläuft, sodass ein Großteil der gesamten relativen Häufigkeit nach einem Drittel der Kulturzeit *in vitro* erreicht ist. Entsprechend haben sich nach einem Zeitraum von sieben Tagen *in vitro* erste Jungpflanzen entwickelt. Die Graphen beider Varianten zeigen den Verlauf einer Sättigungskurve.

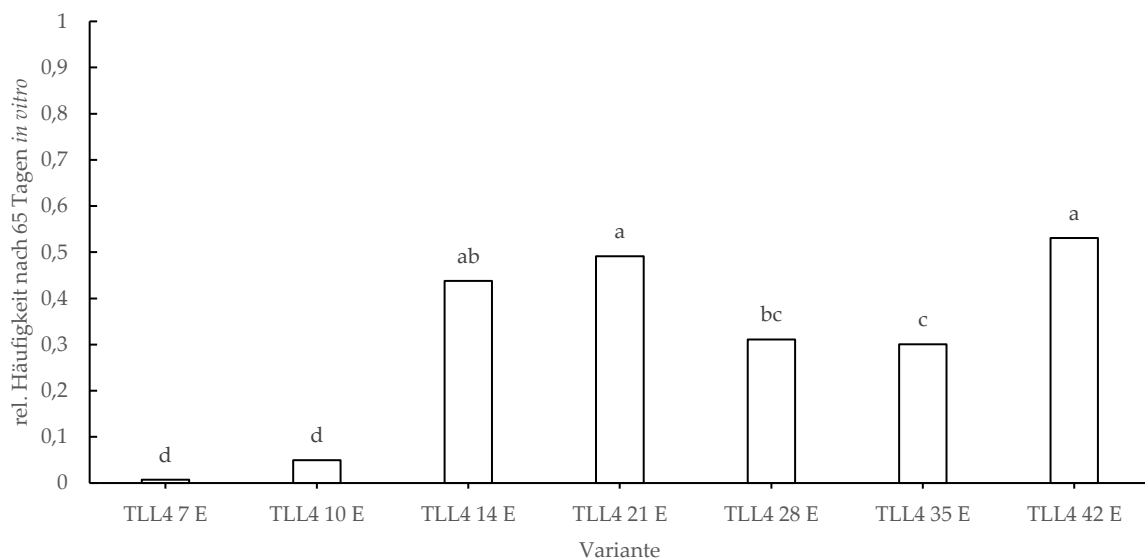


Abbildung 25 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Embryonen (E) von TLL4 nach 65 Tagen *in vitro*, kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25^\circ\text{C}$ ; ( $n = 180$ ). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.

In Abbildung 25 ist auf der Abszisse die in diesem Versuch untersuchten Embryovarianten der kommerziell angebauten TLL4 dargestellt. Die Ordinate zeigt die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen nach 65 Tagen *in vitro*. Es liegen statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Varianten vor ( $p = 2,17 \times 10^{-6}$ ). Homogene Untergruppen, bzw. signifikante Unterschiede sind am Diagramm ersichtlich. Auffällig ist, dass die größte relative Entwicklungsrate bei Embryonen eines Alters von 14, 21 und 42 Tagen am größten ist. Hier liegt kein signifikanter Unterschied vor. 28 und 35 Tage alte Embryonen zeigen eine signifikant geringere Entwicklungsrate.

### 3.2.1.2.2 Weiterentwicklung unvollständig entwickelter Samen zu vollentwickelten

#### Jungpflanzen *in vitro*

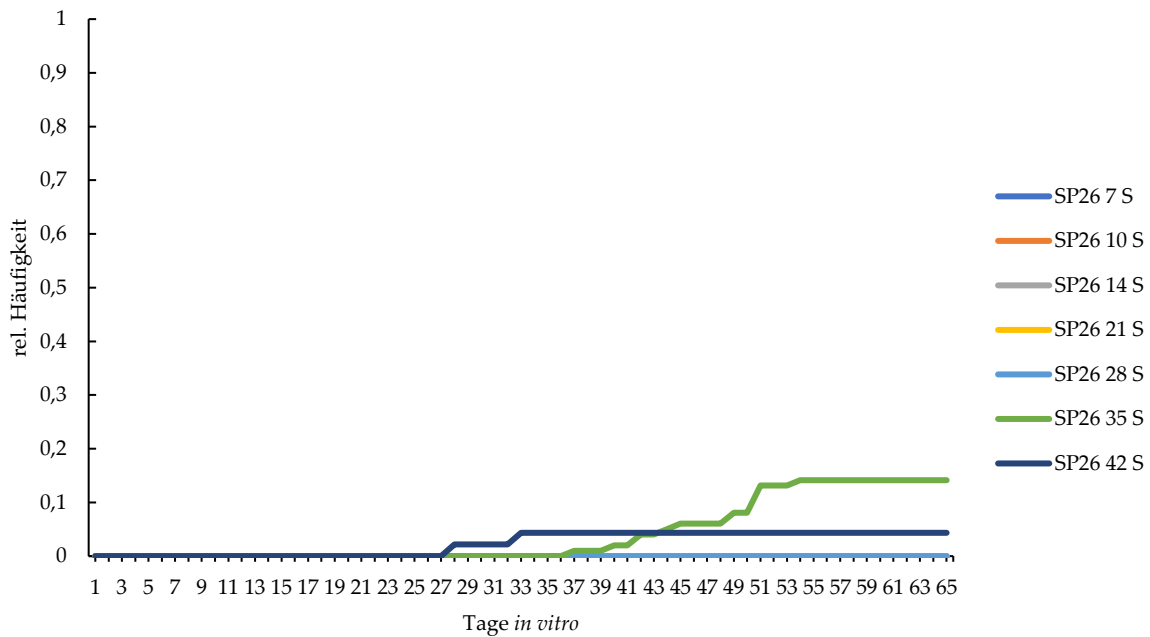


Abbildung 26 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Samen (S) von SP26 im Zeitverlauf unterschiedlichen Alters (Tage nach Bestäubung), kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ; ( $n = 180$ ). Kultur der Mutterpflanzen im Gewächshaus, März 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Abbildung 26 zeigt auf der Abszisse den Zeitverlauf in Tagen. Auf der Ordinate sind die relativen Häufigkeiten der aus den Embryonen des Wildtyps SP26 entstandenen vollentwickelten Jungpflanzen aufgetragen. Dieses Stadium wurde durch das vollständige Aufklappen der Keimblätter, das Vorhandensein von grüner Färbung der Keim- wie auch Laubblätter, einer Primärwurzel wie auch eines Laubblattes definiert. Mittels unterschiedlich gefärbter Graphen sind die einzelnen Varianten dargestellt.

Die Samen eines Alters von 35 Tagen weisen die höchste relative Häufigkeit der vollständigen Entwicklung von Jungpflanzen auf. Nach 65 Tagen *in vitro* sind 14% der Jungpflanzen gekeimt. Bei 42 Tage alten Samen keimen etwa 4%. Alle anderen Varianten zeigen keine Reaktion.

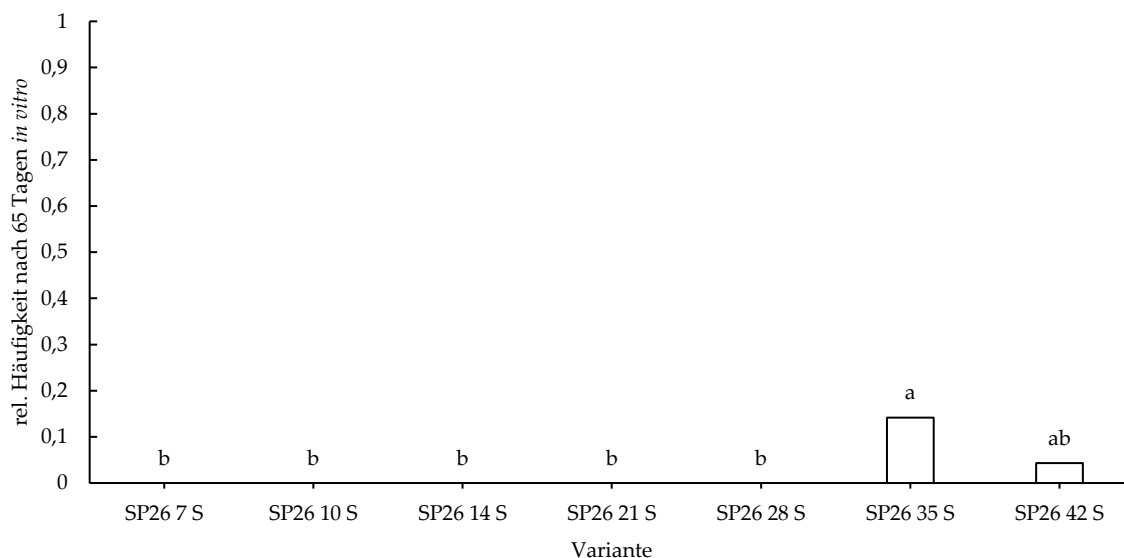


Abbildung 27 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Samen von SP26 nach 65 Tagen *in vitro*; kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25^\circ\text{C}$ ; ( $n = 180$ ). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.

In Abbildung 27 wird auf der Abszisse die in diesem Versuch untersuchten Embryovarianten der SP26 dargestellt. Die Ordinate zeigt die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen nach 65 Tagen *in vitro*. 35 bzw. 42 Tage alte Samen zeigen eine relative Entwicklungsrate von 14 % bzw. 4 %. Es liegen signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Varianten vor. ( $p = 0,00268$ ) Homogene Untergruppen, bzw. signifikante Unterschiede sind am Diagramm ersichtlich. Auffällig ist, dass lediglich 35 bzw. 42 Tage alte Samen eine Reaktion auf die Inkulturnahme *in vitro* zeigen. 35 Tage alte Samen weisen eine signifikant höhere rel. Entwicklungsrate *in vitro* auf als alle anderen Varianten.

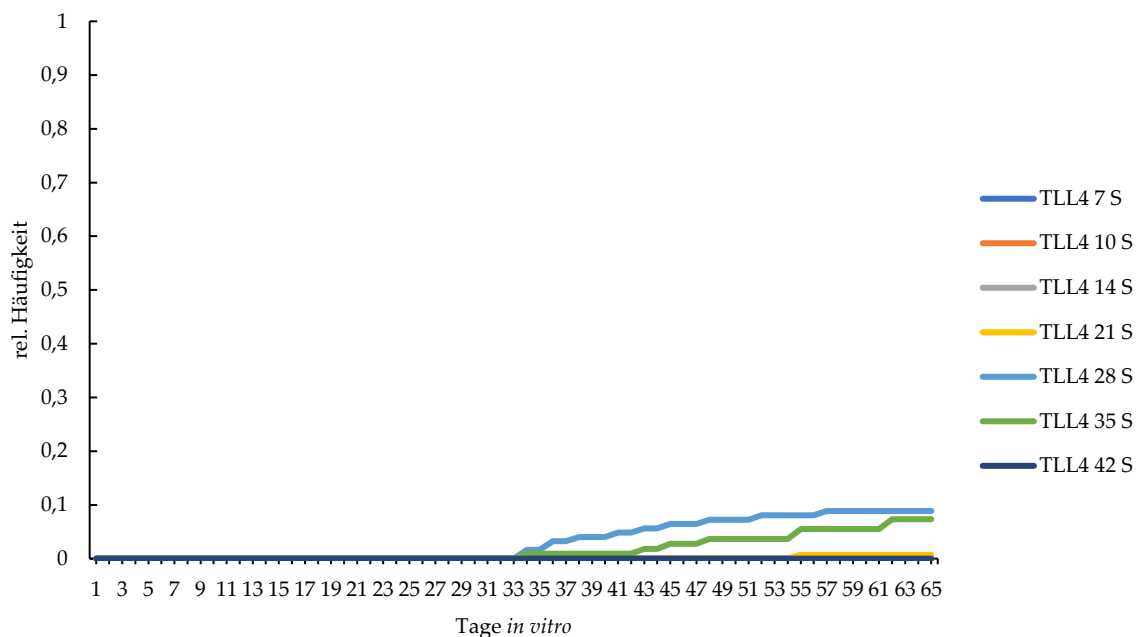


Abbildung 28 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Samen (S) von TLL4 im Zeitverlauf unterschiedlichen Alters (Tage nach Bestäubung), kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ; ( $n = 180$ ). Kultur der Mutterpflanzen im Gewächshaus, März 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Abbildung 28 zeigt auf der Abszisse den Zeitverlauf in Tagen. Auf der Ordinate sind die relativen Häufigkeiten der aus den Samen der kommerziell angebauten TLL4 entstandenen vollentwickelten Jungpflanzen aufgetragen. Dieses Stadium wurde durch das vollständige Aufklappen der Keimblätter, das Vorhandensein von grüner Färbung der Keim- wie auch Laubblätter, einer Primärwurzel wie auch eines Laubblattes definiert. Mittels unterschiedlich gefärbter Graphen sind die einzelnen Varianten dargestellt.

Die Variante mit 21 Tage alten Samen zeigt eine relative Keimrate von unter 1%. 28 bzw. 35 Tage alte Samen zeigen eine Keimrate unter 10%. Alle weiteren Varianten nach 65 Tagen zeigen keine Reaktion auf die Kultivierung *in vitro*.

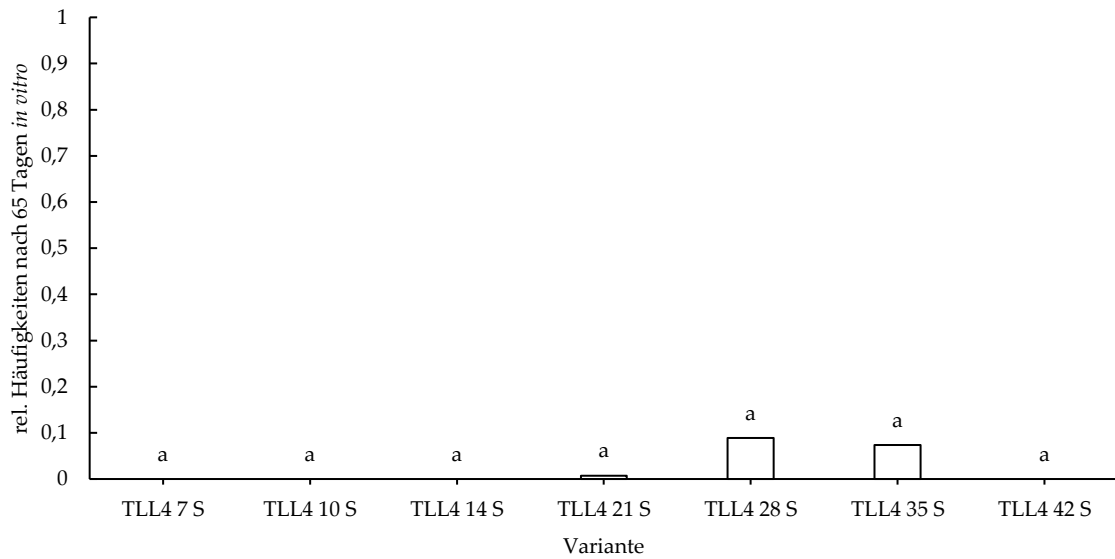


Abbildung 29 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Samen von TLL4 nach 65 Tagen *in vitro*, kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25^\circ\text{C}$ ; ( $n = 180$ ). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.

In Abbildung 29 wird auf der Abszisse die in diesem Versuch untersuchten Embryovarianten der TLL4 dargestellt. Die Ordinate zeigt die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen nach 65 Tagen *in vitro*. Es liegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Varianten vor.



### 3.2.1.3 Diskussion

#### 3.2.1.3.1 Unterschiede innerhalb der Embryokultur

Bei Betrachtung des Wildtyps SP26 fiel auf, dass die relativen Häufigkeiten der vollständigen Entwicklung der Jungpflanzen aus Embryonen bei den „jungen“ Varianten selten auftreten. Mit zunehmendem Alter zeichnete sich jedoch ab, dass die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen zunehmen. Dies lässt sich darin begründen, dass die Embryonen eine gewisse Größe bzw. eine gewisse Entwicklungsstufe erreicht haben müssen, um sich *in vitro* zur Jungpflanze weiterentwickeln zu können. Die Kultur von sehr jungen Embryonen (7 und 10 Tage) zeigte ebenfalls lediglich geringe relative Entwicklungsraten, was mit dem jeweils frühen Entwicklungsstadium erklärt werden kann. Eine Adaption der Methode könnte hier für bessere Ergebnisse sorgen. Solche Beobachtungen ließen vorangegangene Versuche ebenfalls zu [56]. Im Gegensatz zu den dort veröffentlichten Ergebnissen zeigte der vorliegende Versuch, dass im weiteren Verlauf der Entwicklung bzw. Abreife der Samen an der Pflanze die relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen wieder abnahm (vgl. Greve et al. (2020) [56]). So sind –verglichen mit 21, 28 bzw. 35 Tage alten Embryonen – signifikant geringere relative Entwicklungsraten bei 42 Tage alten Embryonen zu verzeichnen. Dies lässt sich anhand des vom Embryo ausgeprägten Dormanzverhalten erklären, das im Laufe der Entwicklung bzw. Abreife ausgeprägt wird, um eine Keimruhe aufrechtzuerhalten [56]. Ökologisch wird hierdurch sichergestellt, dass eine Keimung erst zu Beginn der folgenden Vegetationsphase eintritt [129]. Nach Penfield (2017) wird dieses als Dormanz beschrieben, bei der sich der Embryo in eine morphologische Ruhephase begibt [130]. Dies betraf im beschriebenen Versuch lediglich die älteste Variante von SP26 (42 Tage alte Embryonen).

Ferner fiel auf, dass sich Embryonen höherer Entwicklungsstadien in kürzerer Zeit *in vitro* zur vollständigen Jungpflanze entwickelt haben. Dies lässt sich durch das Voranschreiten der embryonalen Entwicklung begründen. So erreichten Embryonen höheren Entwicklungsstadiums zeitlich eher die endgültige relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen von weniger weit entwickelten Embryonen. Diese Anpassung lässt sich auf eine bessere Verfügbarkeit von Nährstoffen und Energieträgern zurückführen, die zu den entsprechenden embryonalen Entwicklungsstadien noch nicht in langfristigen Strukturen

eingelagert sind [130]. Im Kontext mit der Entwicklung einer Dormanz ist ein solches Bild erklärbar.

Die am Wildtyp SP26 erkennbaren Regelmäßigkeiten waren bei Betrachtung der Ergebnisse der Embryokultur der Akzession TLL4 lediglich eingeschränkt wiederzufinden. Es zeigte sich im Gegensatz zur SP26 ein signifikanter Einbruch der relativen Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus 28 und 35 Tage alten Embryonen. Gleichzeitig zeigten 21 wie auch 42 Tage alte Embryonen keinen signifikanten Unterschied in der relativen Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen. Einerseits ließe sich an dieser Stelle die These postulieren, dass die Dormanz bei dieser Akzession eher eintrat als beim Wildtyp SP26, andererseits steht dem entgegen, dass 42 Tage alte Embryonen die höchste relative Entwicklungsrate zeigten. Da es unwahrscheinlich ist, dass die Dormanz durch Stratifikation innerhalb des zeitlichen Abstandes von 7 Tagen (35 bzw. 42 Tage alte Embryonen) gebrochen wurde, bedarf es hier weiterer Forschung.

Die relativen Entwicklungsraten 14 Tage alter Embryonen von TLL4 weisen deutlich höhere Werte als beim Wildtyp SP26 auf. Durch unbeabsichtigte züchterische Selektion der schnellkeimenden Individuen kann hier ein Domestikationssyndrom aufgetreten sein, der ein solches Verhalten einiger Jungpflanzen verstärkt [72].

#### 3.2.1.3.2 Unterschiede innerhalb der Samenkultur

Die Kultur unreifer Samen *in vitro* zeigte bei beiden Akzessionen in allen Varianten relativ geringe Keimraten. Einzig 35 Tage alte Samen des Wildtyps SP26 zeigten nach 65 Tagen *in vitro* signifikant höhere relative Entwicklungsraten. Dies kann einerseits daran gelegen haben, dass Embryonen im Inneren nicht ausreichend entwickelt waren, um die Samenschale zu öffnen. Andererseits könnte ein Teil der Gesamtdormanz durch bestimmte Inhaltsstoffe in der Samenschale begründet sein [129]. Dies deutet weiterhin auf ein Dormanzverhalten hin, welches sich auf eine Embryo-Samenschalen-Interaktion zurückführen lässt [131]. Ferner verfügt die überwiegende Mehrheit aller dormanzausprägenden Pflanzen über die Fähigkeit die Samen in eine physiologische Dormanz zu versetzen. Dies beschreibt ein Überdauerungsstadium, das entweder vom Embryo oder dem umgebenden Endospermgewebe initiiert werden kann. Diese physiologische Dormanz verwendet keimhemmende Hormone zur Verhinderung der Keimung in Abwesenheit der spezifischen Initiierung durch Umwelteinflüsse, die die Keimung fördern [130]. Ferner wird diese These

damit untermauert, dass die Keimung der Samen trotz optimaler Bedingungen nur sehr bedingt eintritt [132].

#### 3.2.1.3.3 Unterschiede zwischen Embryo- und Samenkultur

Schnell fiel auf, dass die Embryokultur beider im Versuch untersuchten Akzessionen von *Silphium perfoliatum* deutlich höhere relative Entwicklungsraten aufwiesen als die Samenkultur selbiger Akzessionen. Wie bereits beschrieben, könnte dies einerseits am physischen Vorhandensein der Samenschale andererseits an in der Samenschale eingelagerten Inhaltsstoffen liegen. Ebenfalls kann ein Zusammenspiel von samenschalen- und embryobedingter Dormanz nicht ausgeschlossen werden [131].

In einem Folgeversuch soll evaluiert werden, ob die Dormanz durch das physische Umschließen der Samenschale oder durch eine inhaltstoffliche Komponente ausgelöst wird.

### 3.2.2 Untersuchung des Samenschaleneinflusses auf die *in-vitro*-Kultur unreifer Embryonen

Im Rahmen dieses Versuchs soll untersucht werden, welchen Einfluss mögliche Inhaltsstoffe der Samenschale auf das Dormanz- bzw. Entwicklungsverhalten der Embryonen haben. Wie im vorangegangenen Versuch gezeigt werden konnte, liegen große Unterschiede in der relativen Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen zwischen den Embryonen und Samen vor. Vergleichbare Ergebnisse wurden in vorangegangenen Studien beschrieben. So zeigt sich eine deutlich erhöhte Entwicklungsrate von Jungpflanzen aus unreifen Embryonen verglichen mit ganzem Samen bei der Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.). Hierbei wird ferner postuliert, dass dieser Unterschied auf eine samenschaleninduzierte Dormanz zurückzuführen ist [133]. Die Samenschale hat einen starken Einfluss auf das Keimungsverhalten von Embryonen. So verhindert diese durch ihre physiologische Struktur das Eindringen von Wasser und Gasen, wodurch die Keimung über einen langen Zeitraum verzögert werden kann [134,135], wodurch die Keimungsinduktion in einem bestimmten Rahmen unterdrückt werden kann, um prekäre Wachstumsbedingungen für die entstandene Jungpflanze zu überbrücken [134].

Die Dormanz wird nicht ausschließlich über die Samenschale, sondern ebenfalls maßgeblich vom Embryo beeinflusst [135,136]. Eine maßgeblich wichtige Rolle spielen bei der Aufrechterhaltung der Samenruhe bzw. der Keimungsinduktion die Phytohormone Gibberellinsäure (GA) [137] und Abscisinsäure (ABA) [138]. Im Folgenden wird auf eine Differenzierung von unterschiedlichen Gibberellinsäuren bzw. Abscisinsäuren verzichtet.

Durch vorangegangene Versuche an Embryonen von *Helianthus annuus* L. konnte festgestellt werden, dass eine *in-situ*-ABA-Synthese die Embryonenruhe aufrechterhalten kann. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass eine Unterdrückung der ABA-Synthese die Keimung induziert. Daraus wurde geschlossen, dass ABA die Keimung hemmt. Da exogene Abscisinsäure allerdings keine Dormanz induzieren kann, wird vermutet, dass ein Prozess, der mit der Synthese eines Inhibitors zusammen hängt, erforderlich ist, um die Keimruhe zu induzieren [139]. Ferner wurde gezeigt, dass ABA die GA-Biosynthese während der Samenentwicklung und -keimung negativ regulieren kann [140]. GA hingegen ist zum Brechen der Keimruhe bzw. zur Induktion der Keimung an sich notwendig. GA überwindet die Keimungsbeschränkungen, die sowohl durch die Samenschale als auch durch die ABA-bezogene Embryonenruhe auferlegt werden können [135,141].

Debeaujon et al. (2020) haben beschrieben, dass die Samenschale das Keimungsverhalten von Embryonen beeinflusst. Anhand vollständiger Samen und präparierter Embryonen von *Arabidopsis thaliana* L. wurde herausgefunden, dass Wildtypen ohne Samenschale deutlich besser keimten als jene mit vollständiger Samenschale [142]. Die Samenschale hat somit einen starken Einfluss auf dormante Samen. Einer der Einflüsse ist gekennzeichnet durch ABA-Abgabe an den Embryo, wodurch die Keimung unterdrückt werden kann. Im Rahmen der Untersuchung dieser Effekte wurde festgestellt, dass diese rein von der maternalen Samenschale ausgehen und somit unabhängig vom Endosperm sind [143]. Allerdings liegen zwischen Endosperm und Embryo Wechselwirkungen vor, die durch aktive Sekretion von Botenstoffen das Keimungsverhalten beeinflussen können [144].

Nicht nur das Verhältnis zwischen ABA und GA spielt eine wichtige Rolle bei der Keimung, sondern auch das Verhältnis zwischen ABA und reaktiver Sauerstoffspezies (ROS). ROS und ABA wirken im Embryo nach der Aufnahme antagonistisch, um die Samenruhe und -keimung zu regulieren [145]. Auch in *Helianthus annuus* L. haben ROS eine zentrale Rolle bzgl. der Samenkeimung und -ruhe. ROS interagieren auf Transkriptionsebene mit dem ABA-Signalweg. Dies geschieht hauptsächlich durch eine verringerte Transkription. Somit kann angenommen werden, dass ROS einen Einfluss auf die Transkription von Keimungshemmern haben und nicht die hormonbezogenen Gene beeinflussen können, die die Keimung fördern [146].

### 3.2.2.1 Material und Methoden

In einem auf den Versuch „3.2.1 Kultur unreifer Embryonen und Samen *in vitro*“ aufbauenden Versuch soll untersucht werden, wie die im vorangegangenen Versuch beschriebenen Unterschiede zwischen der Kultur von extrahierten Embryonen und der Kultur von ganzen Samen zustande kommen. Hierbei soll das Dormanzverhalten als samenschaleninduzierte Keimhemmung bzw. die Verminderung der Keimrate durch das Vorhandensein der den Embryo umschließenden Samenschale *in vitro* untersucht werden. Hierzu wurden Samen in 120-facher Wiederholung *in vitro* explantiert und weiterkultiviert.

#### 3.2.2.1.1 Akzessionsauswahl

Für diesen Versuch wurde eine Akzession von *Silphium perfoliatum* untersucht. Hierfür wurde auf einen Wildtyp auf dem südlichen Verbreitungsgebiet (SP26) zurückgegriffen.

#### 3.2.2.1.2 Samenerzeugung

Zu Beginn des Versuchs wurde durch händisches Bestäuben Populationssaatgut erzeugt. Hierzu wurde einige Tage vor Öffnung der Blüte ein feinmaschiger Netzbeutel über die Knospe gestülpt, um eine unbeabsichtigte Bestäubung durch Insekten zu vermeiden. Sobald die Naben der Zungenblüten einer Blüte freilagen, wurde unmittelbar vorher gesammelter Pollen derselben Akzession appliziert und so eine Bestäubung vorgenommen. Um eine Sekundärbestäubung durch Insekten zu vermeiden, wurde der Netzbeutel nach der Bestäubung erneut angebracht. Die Samenerzeugung fand im Gewächshaus bei einer Temperatur von 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx über 12 Stunden als konstante Zielgröße statt. Die Ernte für diesen Versuch fand nach 21 Tagen Entwicklungszeit statt.

#### 3.2.2.1.3 Aufbereitung der Embryonen für die Zellkultur

Nach Ablauf der Entwicklungszeit wurden die bestäubten Blüten geerntet. Anschließend wurden die Samen aus den Blüten ausgelöst und in 70 prozentiger Ethanollösung für 60 Sekunden gespült. Anschließend wurden die Samen in einer Natriumhypochlorid-Lösung (1,4 %) für zwanzig Minuten sterilisiert. In einem letzten Schritt wurde eine Neutralisierung der Sterilisationslösung mit entmineralisiertem Wasser vorgenommen.

#### 3.2.2.1.4 Zellkultur

Im Rahmen der Embryokultur wurden die Embryonen in einem Zwischenschritt der Samenschale entnommen und anschließend *in vitro* kultiviert.

Für alle Varianten wurde ein 0,5 x MS-Medium + Gamborg B5 (pH 5,5) verwendet [127,128]. Hierzu wurden je Liter Medium 2,2 g MS-Medium + Gamborg B5, 30 g Saccharose und 7 g Agar-Agar verwendet. Die Embryo-*in-vitro*-Kultur wurde bei einer Temperatur von 25 °C und einer Lichtintensität von 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  für 24 Stunden am Tag in einem Pflanzenschrank kultiviert. Die Kultur erfolgte in Petrischalen.

Um eine physisch bedingte Keimhemmung ausschließen zu können, wurden in einem ersten Schritt Samenschalen separiert. Diese wurden anschließend fein vermahlen und dem Zellkulturmedium in unterschiedlichen Konzentrationen vor der Autoklavierung bei 121 °C zugesetzt. Die angegebenen Konzentrationen wurden gravimetrisch eingestellt.

In Tabelle 8 sind die untersuchten Varianten dargestellt.

*Tabelle 8 - Untersuchte Varianten unterschiedlicher Samenschalenkonzentrationen*

<b>Variante (V)</b>	<b>Samenschalenkonzentration in Gew.-%</b>	<b>Bemerkung</b>
1	0,1 %	
2	1 %	
3	10 %	
4	0 %	pH-Wert an V3 angepasst
5	0 % (Kontrolle)	

### 3.2.2.1.5 Datenerhebung

Die Gewebekultur wurde in regelmäßigen Abständen über einen Zeitraum von 65 Tagen bonitiert. Hierbei wurde das Sichtbarwerden von grünen Bereichen, die Bildung einer Primärwurzel wie auch die Entwicklung des ersten Laubblattes als bedeutende Entwicklungsschritte definiert und erfasst. Wurden alle Entwicklungsmerkmale durchlaufen bzw. ausgebildet, galt die Jungpflanze als vollständig entwickelt.

### 3.2.2.1.6 Datenverarbeitung

Die erfassten Daten wurden variantenspezifisch aufgearbeitet. Hierzu wurden in erster Instanz die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen über den zeitlichen Verlauf des Versuchs in einem Diagramm dargestellt. In zweiter Instanz wurden die nach 65 Tagen erreichten relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen auf statistisch signifikante Unterschiede untersucht. Die statistischen Berechnungen unterliegen einem

Konfidenzintervall von 95 %. Homogene Untergruppen wurden mittels des Tukey-Tests (Post-hoc-Test) ermittelt.

### 3.2.2.2 Ergebnisse

Die Darstellungen beziehen sich auf einen Versuchsumfang von 120 Embryonen je Variante.

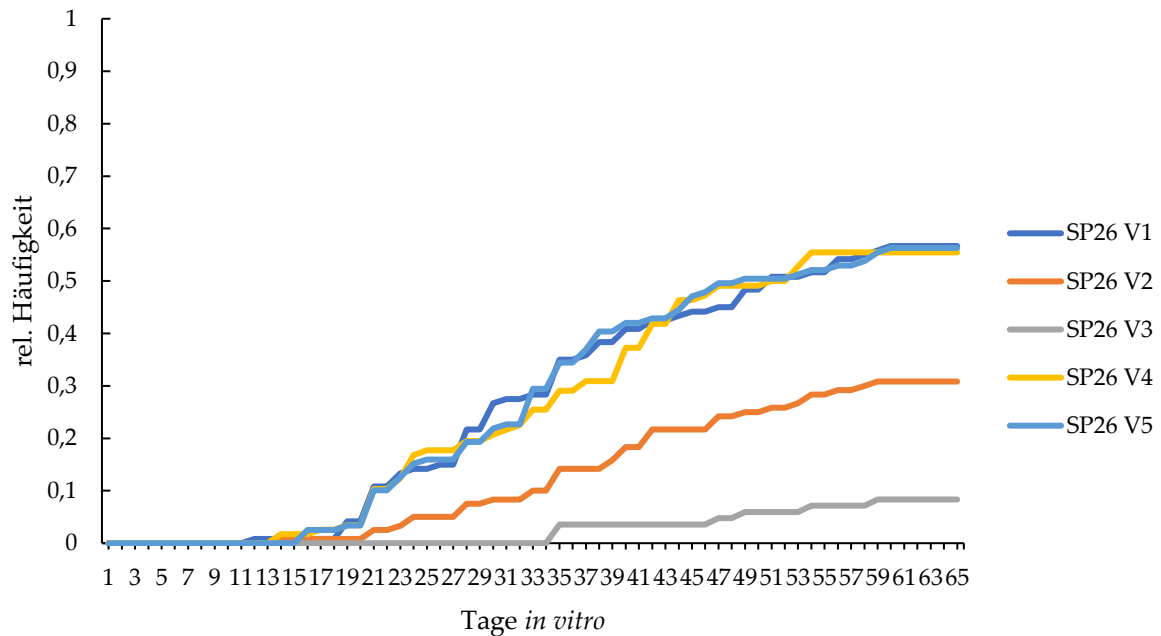


Abbildung 30- Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 im Zeitverlauf von 65 Tagen mit unterschiedlich hohem Samenschalenanteil im Medium, kultiviert auf 0,5 MS-Medium und Zusatz variantenabhängigen Samenschalenmenge, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25^\circ\text{C}$ ; ( $n = 120$ ). Kultur der Mutterpflanzen im Gewächshaus, August 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Abbildung 30 zeigt auf der Abszisse den Zeitverlauf in Tagen. Auf der Ordinate sind die relativen Häufigkeiten der aus den Embryonen des Wildtyp SP26 entstandenen vollentwickelten Jungpflanzen. Dieses Stadium wurde durch das vollständige Aufklappen der Keimblätter, das Vorhandensein von grüner Färbung der Keim- wie auch Laubblätter, einer Primärwurzel wie auch eines Laubblattes definiert. Mittels unterschiedlich gefärbter Graphen sind die einzelnen Varianten dargestellt.

Variante 1, 4 und 5 verläuft nahezu identisch. So sind erste vollentwickelte Jungpflanzen nach 12 bis 15 Tagen *in vitro* zu erkennen. Nach 65 Tagen *in vitro* war eine relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen von etwa 55 % erreicht. Die Zunahme der relativen Häufigkeit lässt sich durch eine Sättigungskurve beschreiben.



In Variante 2 sind erste vollentwickelte Jungpflanzen nach 21 Tagen *in vitro* zu verzeichnen. Nach 65 Tagen in Kultur zeigen etwa 30 % der explantierten Embryonen eine vollendete Entwicklung zur Jungpflanze.

Variante 3 zeigt nach 65 Tagen eine relative Häufigkeit von vollentwickelten Jungpflanzen von etwa 8 %. Erste vollentwickelte Jungpflanzen sind nach 35 Tagen zu erkennen.

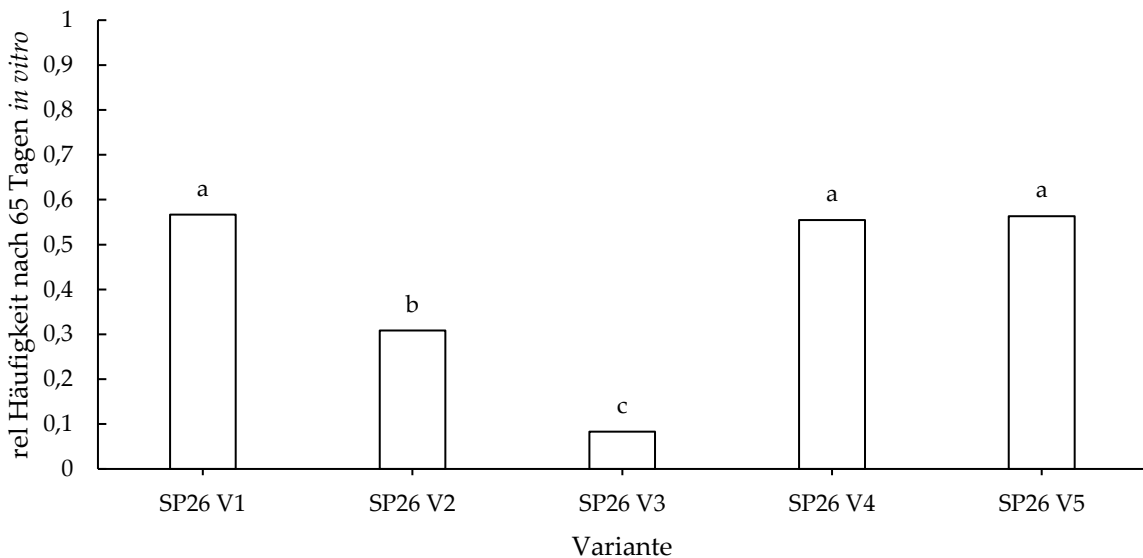


Abbildung 31 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 nach 65 Tagen *in vitro*, kultiviert auf 0,5 MS-Medium und Zusatz variantenabhängigen Samenschalenmenge, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25^\circ\text{C}$ ; ( $n = 120$ ). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.

In Abbildung 31 wird auf der Abszisse die in diesem Versuch untersuchten Embryovarianten der SP26 dargestellt. Die Ordinate zeigt die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen nach 65 Tagen *in vitro*. Es liegen signifikante Unterschiede vor ( $p = 0,00052$ ). Homogene Untergruppen, bzw. signifikante Unterschiede sind im Diagramm ersichtlich. Varianten 1, 4 und 5 sind nicht signifikant unterschiedlich. Diese weisen relative Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen von etwa 55 % auf. Variante 2 mit etwa 31% wie auch Variante 3 mit etwa 8 %vollentwickelter Jungpflanzen unterscheiden sich signifikant.

### 3.2.2.3 Diskussion

Bei Betrachtung der Ergebnisse fällt schnell auf, dass die Variante 1 einen ähnlichen Verlauf zeigte wie die Kontrolle. Dies deutet darauf hin, dass eine Samenschalenkonzentration von 0,1 M.-% keinen Einfluss auf die relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen hat. Ebenfalls zeigte Variante 4 keinen signifikant unterschiedlichen Verlauf in der relativen Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen. Da in dieser Variante keine Samenschalen zugeschlagen wurden, jedoch der pH-Wert der Variante 3 (10 M.-% Samenschalen) eingestellt wurde, deutet dies darauf hin, dass der pH-Wert zumindest in diesem Rahmen keinen Einfluss auf die relative Häufigkeit vollentwickelter Pflanzen hatte. Es wird an dieser Stelle davon ausgegangen, dass eine kleinere Änderung des pH-Wertes, wie sie durch die Zugabe von geringeren Mengen von Samenschalen (Varianten 1 und 2) induziert werden würde, ebenfalls keinen Einfluss habe.

Variante 2 und 3 zeigten hingegen signifikante Unterschiede zu Variante 1 und 4 sowie zur Kontrolle. Entsprechend ist hier von einer Hemmung der Weiterentwicklung der Embryonen zu vollentwickelten Jungpflanzen auszugehen. Die Hemmung war in Variante 3 stärker ausgeprägt als in Variante 2.

Es ist dadurch davon auszugehen, dass eine Hemmung der Weiterentwicklung der Embryonen *in vitro* durch Inhaltsstoffe der Samenschale bedingt wird. Im Rahmen der Evaluation möglicher Inhaltsstoffe (bzw. Inhaltsstoffgruppen), die entsprechende Reaktionen verursachen können, fiel der Fokus auf die im Rahmen der Dormanz und Keimung ablaufenden Regelungsmechanismen, die zumeist hormonell gesteuert wurden [129].

Hierbei wird die Dormanz bzw. die Keimung primär der Embryonen durch das Konzentrationsverhältnis der Phytohormone Abscisinsäure (ABA) und Gibberellinsäure (GA) in der Samenschale, wie auch im Embryo geregelt. So wird durch einen hohen Gehalt von ABA die Dormanz aufrechterhalten, durch einen hohen Gehalt von GA die Keimung der Samen bzw. die Weiterentwicklung der Embryonen katalysiert [137,138].

Vorausgegangene Studien zeigen, dass ein Einfluss der Samenschale auf die Samenruhe vorliegt und damit einhergehend diese ebenfalls einen Einfluss auf die Entwicklung der Embryonen hat [142].

Die Samenschale hat eine schützende Funktion, die das Eindringen von Wasser und Gasen reduziert bzw. verhindert [135]. Die Verfügbarkeit von Wasser und bestimmten Gasen spielen bei der Keimung eine wichtige Rolle, da diese hierdurch induziert werden kann [134]. Entsprechend gelangen diese für die Keimung entscheidenden Stoffe durch das Entfernen der Samenschale schneller an den Embryo, weshalb sich die Samen ohne Samenschale schneller entwickeln [142]. Äquivalente Beobachtungen konnten an Samen der Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.) [147] sowie *Arabidopsis thaliana* L. [141] gemacht werden.

Entsprechend wurde im Rahmen dieses Versuchs ausschließlich mit Embryonen gearbeitet, da Vorversuche gezeigt haben, dass ein Entfernen der Samenschale zu einer schnelleren Keimung und höheren Keimungsrate bei *Silphium perfoliatum* führt [56]. Zudem sollte eine physische Barriere eine hemmende Wirkung auf die Weiterentwicklung von unreifen Embryonen zu Jungpflanzen durch die Samenschale ausgeschlossen werden können, was ebenfalls durch diesen Versuch bestätigt werden konnte. Dabei spielte die Samenschalenkonzentration im Medium eine entscheidende Rolle. Eine hohe Samenschalenkonzentration im Medium führte zu einer starken Hemmung der Entwicklung der Embryonen zu Jungpflanzen. Der durch die Samenschalenzugabe angestiegene pH-Wert konnte als hemmender Faktor ausgeschlossen werden. Daher kann angenommen werden, dass in der Samenschale Stoffe enthalten sind, die die Entwicklung der Embryonen zu Jungpflanzen gehemmt haben.

Wissenschaftshistorisch wurden 1982 Stoffe aus Haferspelze extrahiert, die auch eine hemmende Wirkung auf monokotyle und dikotyle Pflanzen hatten. Bei diesem Versuch konnte ABA als hemmender Stoff nicht nachgewiesen werden [148]. Stattdessen wurden in einer späteren Forschungsarbeit die Stoffe Dihydrohämatinsäure und Dimethoxybuzyllbenzol nachgewiesen, die wesentlich zur Keimruhe beigetragen haben sollen [149]. Da diese Stoffe in aktuelleren Publikationen nicht mehr im Zusammenhang mit einer Hemmung der Keimruhe erwähnt werden, lässt vermuten, dass sie keine wichtige Rolle bei den heute betrachteten Pflanzen und Versuchen spielen. Stattdessen wird ABA als ein wichtiger Hemmstoff, der die Keimung unterdrückt und die Dormanz aufrechterhält [139], vermehrt untersucht und beschrieben.

Karssen et al. (1983) beschreibt, dass ABA maternalen Ursprungs in der Samenschale eingelagert ist, sodass hierdurch eine Keimhemmung induziert wird. Zudem wird eine gewisse Hitzestabilität beschrieben, die für ein Autoklavierungsverfahren unerlässlich ist.

Hierbei gelangen entsprechende Inhaltsstoffe in das Zellkulturmedium, sodass die Entwicklung der Embryonen auf den Medien mit Samenschalenzugabe verlangsamt bzw. gestoppt wird [150].

Eine weitere Beobachtung im Rahmen dieses Versuchs war, dass sich die Embryonen auf einem Medium mit erhöhter Samenschalenkonzentration nach der Grünfärbung nicht weiterentwickelt haben (Daten nicht gezeigt). Dies könnte damit erklärt werden, dass ein GA-Mangel im Embryo vorliegt [137]. Durch Gibberellinsäuren können die Keimhemmung überwunden werden, die sowohl durch die Samenschale als auch durch die ABA-induzierte Embryonenruhe generiert wurden [129,135]. Da ABA einen negativen Einfluss auf die GA-Biosynthese während der Samenentwicklung und -keimung haben kann [140], könnte eine hypothetisch angenommene erhöhte ABA-Konzentration im Medium durch die Samenschalenzugabe die Entwicklung der Embryonen verringert bzw. gestoppt haben.

Da die Konzentration der Samenschale im Medium einen Einfluss auf die Stärke der Hemmung hat, kann davon ausgegangen werden, dass der hemmende Stoff proportional zu der Konzentration im Medium enthalten ist. Welche Stoffe den hemmenden Effekt auf die Embryonenentwicklung haben, kann im Rahmen des vorliegenden Versuchs nicht vollständig geklärt werden. Um Einflüsse unterschiedlicher Phytohormone auf die Weiterentwicklung von Embryonen zu untersuchen, wurde ein weiterer Versuch durchgeführt, der im Folgenden beschrieben wird.

### 3.2.3 Untersuchung der Einflüsse von Wachstumsregulatoren auf die Entwicklung von Jungpflanzen aus Embryonen von *Silphium perfoliatum* L. *in vitro*

Im Rahmen dieses Versuchs soll die Wirkung unterschiedlicher Wachstumsregulatoren auf die Weiterentwicklung von Embryonen von *Silphium perfoliatum* L. *in vitro* untersucht werden. Hierzu wurden einerseits Regelmechanismen durch Wechselwirkungen zweier Wachstumsregulatoren untersucht, andererseits wurden im Embryo vorliegende Wachstumsregulatoren durch Applikation spezifischer Hemmstoffe beeinflusst. So wurden in diesem Versuch die Einflüsse Gibberellinsäure (GA<sub>3</sub>), Abscisinsäure (ABA), Cytokinin (6BAP) und Ethen (E) als in Frage kommende Wachstumsregulatoren untersucht. Als spezifische Hemmstoffe wurden Paclobutrazol (PAC) und Fluridon (F) in Betracht gezogen. Im Folgenden werden die typischen Wirkungen auf das Entwicklungsverhalten von Embryonen der im Versuch evaluierten Additive beschrieben. Hierbei wird lediglich auf basale Funktionen der Wachstumsregulatoren bei der Keimung eingegangen. Synergien und multivariat begründete Effekte können nicht beleuchtet werden.

Gibberellinsäuren können die Keimung katalysieren, Abscisinsäure kann die Dormanz aufrechterhalten [151,152]. In Samen, in denen unterschiedliche Dormanzmechanismen arbeiten, scheinen Gibberellinsäuren wesentliche Aufgaben zur Überwindung der Keimruhe zu haben und schließlich die Keimung zu induzieren [153]. Durch das Verhältnis von Gibberellinsäure und Abscisinsäure wird die Dormanz bzw. das Keimverhalten von Samen (hier: die Weiterentwicklung unreifer Embryonen zu Jungpflanzen) reguliert. Ändert sich das Verhältnis zugunsten der Gibberellinsäurekonzentration, kann die Keimung induziert werden, verändert sich das Verhältnis hin zur Abscisinsäurekonzentration, so wird die Dormanz aufrechterhalten bzw. die Keimung verhindert [154]. Gibberellinsäuren stimulieren hierbei die Keimung der Samen durch den Abbau dieser Repressoren, während Abscisinsäure diese induziert [155]. Die Manipulation dieser Repressoren kann durch die Anwendung von Inhibitoren der GA- und ABA-Synthese [154], wie Paclobutrazol (PAC) und Fluridon (FLU), erreicht werden [156]. Paclobutrazol ( $\alpha$ -tert-Butyl- $\beta$ -(4-chlorbenzyl)-1H-1,2,4-triazol-1-ethanol) hemmt die Aktivität der Ent-Kauren-Oxidase, eines Enzyms im GA-Biosyntheseweg, das die Oxidation von Ent-Kauren zu Ent-Kaurensäure katalysiert [157]. Fluridon (1-Methyl-3-phenyl-5-[3-trifluoromethyl]phenyl]-4-(IH)-pyridinon) hemmt die Aktivität der Phytoen-Desaturase I, die die Umwandlung von Phytoen in Phytofen katalysiert - ein wichtiger Schritt

im ABA-Biosyntheseweg [158–160]. Lando et al. (2020) haben im Rahmen ihrer Ausarbeitung anhand *Trichocline catharinensis* gezeigt, dass die Nutzung von Gibberellinsäure (GA<sub>3</sub>) und Fluridon eine Verringerung der Keimungsdauer im Vergleich zur Kontrollvariante in, der lediglich Wasser appliziert wurde, zur Folge hatte. Hierbei wurden GA<sub>3</sub> und ABA in Konzentrationen von 200 µM appliziert [160]. In einer weiteren Studie wurde an der Färberdistel (*Carthamus tinctorius* L.) gezeigt, dass die Applikation von Gibberellinsäure (GA<sub>3</sub>) ein embryonales Längenwachstum verursachte, was sich durch Zellstreckung einstellte [161]. Für die Versuche wurden Gibberellinsäure in Form von GA<sub>3</sub> und Abscisinsäure in der natürlichen Form verwendet.

Cytokinine können unter Umständen äquivalent zu Gibberellinsäure einen katalysierenden Effekt auf das Keimverhalten aufweisen [162]. Hierbei wird die Keimung durch eine Vielzahl von Einflüssen von Cytokininen gelenkt [163,164]. Diese reichen von der Samenquellung bis hin zur Ausbildung der Keimwurzel [165]. In einer weiteren Studie wurde während der Durchführung festgestellt, dass durch eine Applikation unterschiedlicher Cytokinine eine signifikante Steigerung der Keimraten von *Lotus corniculatus* L. erzielt werden konnte. Hierbei wurden Zeatin, Isopentenyladenin, Kinetin, Benzyladenin und Thidiazuron in Konzentrationen von jeweils 0,08, 0,22, 0,35, 0,8, 2,2 bzw. 3,5 µM verwendet [165]. Für die Versuche im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das synthetisch hergestellte Cytokinin Benzylaminopurin (6BAP) verwendet.

Ethen wirkt als Reiferegulator. So wird durch die Freisetzung von Ethen das Abreifen der Samen an der Pflanze induziert. Bei unfertig entwickelten Embryonen kann eine verfrühte Weiterentwicklung durch eine vorgezogene Dormanzbildung eingeleitet werden [166]. Im Rahmen der Keimung zeigt Ethen gemeinsam mit Gibberellin- und Abscisinsäuren großen Einfluss auf die frühen Stadien der Samenkeimung unterschiedlicher Pflanzen [152]. Für die Versuche wurde Ethephonsäure verwendet, da Ethen in der natürlichen Form gasförmig vorliegt.

### 3.2.3.1 Material und Methoden

Im Rahmen dieses Versuchs sollten die Einflüsse und Wirkungen unterschiedlicher Wachstumsregulatoren und Hemmstoffe auf die embryonale Weiterentwicklung von *Silphium perfoliatum* evaluiert werden. Hierzu wurden 35 Tage alte Embryonen verwendet.

#### 3.2.3.1.1 Akzessionsauswahl

Für diesen Versuch wurde eine Akzession von *Silphium perfoliatum* untersucht. Hierfür wurde auf einen Wildtyp auf dem südlichen Verbreitungsgebiet (SP26) zurückgegriffen.

#### 3.2.3.1.2 Samenerzeugung

Zu Beginn des Versuchs wurde durch händisches Bestäuben Populationssaatgut erzeugt. Hierzu wurde einige Tage vor Öffnung der Blüte ein feinmaschiger Netzbeutel über die Knospe gestülpt, um eine unbeabsichtigte Bestäubung durch Insekten zu vermeiden. Sobald die Naben der Zungenblüten einer Blüte freilagen, wurde unmittelbar vorher gesammelter Pollen derselben Akzession appliziert und so eine Bestäubung vorgenommen. Um eine Sekundärbestäubung durch Insekten zu vermeiden, wurde der Netzbeutel nach der Bestäubung erneut angebracht. Die Samenerzeugung fand im Gewächshaus bei einer Temperatur von 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx über 12 Stunden als konstante Zielgröße statt. Die Ernte für diesen Versuch fand nach 35 Tagen Entwicklungszeit statt.

#### 3.2.3.1.3 Aufbereitung der Embryonen für die Zellkultur

Nach Ablauf der Entwicklungszeit wurden die bestäubten Blüten geerntet. Anschließend wurden die Samen aus den Blüten ausgelöst und in 70 prozentiger Ethanollösung für 60 Sekunden gespült. Anschließend wurden die Samen in einer Natriumhypochlorid-Lösung (1,4 %) für zwanzig Minuten sterilisiert. In einem letzten Schritt wurde eine Neutralisierung der Sterilisationslösung mit entmineralisiertem Wasser vorgenommen.

#### 3.2.3.1.4 Zellkultur

Im Rahmen der Embryokultur wurden die Embryonen in einem Zwischenschritt der Samenschale entnommen und anschließend *in vitro* kultiviert.

Für alle Varianten wurde ein 0,5 x MS-Medium + Gamborg B5 (pH 5,5) verwendet [127,128]. Hierzu wurden je Liter Medium 2,2 g MS-Medium + Gamborg B5, 30 g Saccharose und 7 g Agar-Agar verwendet. Dieses Basismedium wurde um die variantenspezifische Zugabe von Wachstumsregulatoren bzw. Hemmstoffen erweitert (Tabelle 9). Um Wechselwirkungen,

Synergien und inhibitorische Effekte zu evaluieren, wurden die Embryonen nach 21 Tagen *in vitro* auf dem Medium der ersten Phase weitere 21 Tage auf das entsprechende Medium zweiter Phase transplantiert und *in vitro* weiterkultiviert. Die Embryo-*in-vitro*-Kultur wurde bei einer Temperatur von 25 °C und einer Lichtintensität von 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  für 24 Stunden am Tag in einem Pflanzenschrank durchgeführt. Es wurden Embryonen in einem Alter von 35 Tagen verwendet. Die Kultur erfolgte in Petrischalen.

Tabelle 9 - Varianten des Versuchs mit zugehörigen Konzentrationen von Wachstumsregulatoren bzw. Hemmstoffen in den Medien

Variante	Phase 1		Phase 2	
	Additiv 1	Konzentration	Additiv 2	Konzentration
1	Kontrolle		Kontrolle	
2	ABA	100 $\mu\text{M}$	Fluridon	100 $\mu\text{M}$
3	ABA	100 $\mu\text{M}$	GA <sub>3</sub>	10 $\mu\text{M}$
4	GA <sub>3</sub>	10 $\mu\text{M}$	6BAP	10 $\mu\text{M}$
5	6BAP	10 $\mu\text{M}$	GA <sub>3</sub>	10 $\mu\text{M}$
6	GA <sub>3</sub> + 6BAP	10 $\mu\text{M}$ + 10 $\mu\text{M}$	GA <sub>3</sub> + 6BAP	10 $\mu\text{M}$ + 10 $\mu\text{M}$
7	Paclobutrazol	100 $\mu\text{M}$	Kontrolle	
8	Paclobutrazol	100 $\mu\text{M}$	Fluridon	100 $\mu\text{M}$
9	Paclobutrazol	100 $\mu\text{M}$	GA <sub>3</sub>	10 $\mu\text{M}$
10	6BAP	10 $\mu\text{M}$	6BAP	10 $\mu\text{M}$
11	ABA	100 $\mu\text{M}$	ABA	100 $\mu\text{M}$
12	GA <sub>3</sub>	10 $\mu\text{M}$	GA <sub>3</sub>	10 $\mu\text{M}$
13	Paclobutrazol	100 $\mu\text{M}$	Paclobutrazol	100 $\mu\text{M}$
14	Fluridon + GA <sub>3</sub>	100 $\mu\text{M}$ + 10 $\mu\text{M}$	Fluridon + GA <sub>3</sub>	100 $\mu\text{M}$ + 100 $\mu\text{M}$
15	Paclobutrazol + ABA	100 $\mu\text{M}$ + 100 $\mu\text{M}$	Paclobutrazol + ABA	100 $\mu\text{M}$ + 100 $\mu\text{M}$
16	Ethephonsäure	300 $\mu\text{M}$	Ethephonsäure	300 $\mu\text{M}$
17	Ethephonsäure	300 $\mu\text{M}$	GA <sub>3</sub>	10 $\mu\text{M}$
18	Ethephonsäure + Fluridon	300 $\mu\text{M}$ + 100 $\mu\text{M}$	Ethephonsäure + Fluridon	300 $\mu\text{M}$ + 100 $\mu\text{M}$
19	Fluridon	100 $\mu\text{M}$	Fluridon	100 $\mu\text{M}$



#### 3.2.3.1.5 Datenerhebung

Die Gewebekultur wurde in regelmäßigen Abständen über einen Zeitraum von 65 Tagen bonitiert. Hierbei wurde das Sichtbarwerden von grünen Bereichen, die Bildung einer Primärwurzel wie auch die Entwicklung des ersten Laubblattes als bedeutende Entwicklungsschritte definiert und erfasst. Wurden alle Entwicklungsmerkmale durchlaufen bzw. ausgebildet, galt die Jungpflanze als vollständig entwickelt.

#### 3.2.3.1.6 Datenverarbeitung

Die erfassten Daten wurden variantenspezifisch aufgearbeitet. Hierzu wurden in erster Instanz die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen über den zeitlichen Verlauf des Versuchs in einem Diagramm dargestellt. In zweiter Instanz wurden die nach 65 Tagen erreichten relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen auf statistisch signifikante Unterschiede untersucht. Die statistischen Berechnungen unterliegen einem Konfidenzintervall von 95 %. Homogene Untergruppen wurden mittels des Tukey-Tests (Post-hoc-Test) ermittelt und durch entsprechende Buchstabenkombinationen in den Abbildungen gekennzeichnet.

### 3.2.3.2 Ergebnisse

Die Darstellungen beziehen sich auf einen Versuchsumfang von 54 Embryonen bzw. Samen je Variante. Ferner wird im Rahmen der Darstellung zeitlicher Verläufe darauf verzichtet die Varianten darzustellen, die keine Reaktion auf das entsprechende Medium zeigen.

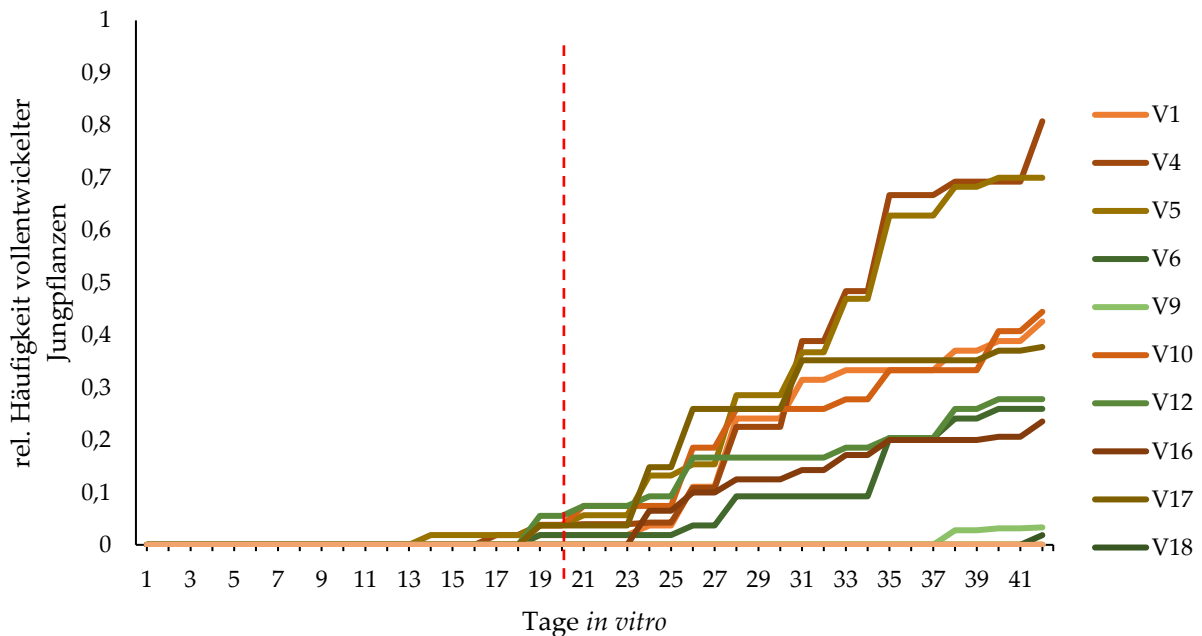


Abbildung 32 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 im Zeitverlauf von 42 Tagen mit 35 Tage alten Embryonen und Wachstumsregulatoren wie auch Hemmstoffen im Medium, kultiviert auf 0,5 MS-Medium und Zusatz der variantenabhängigen Additive, Lichtintensität:  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur  $25^\circ\text{C}$ ; ( $n = 54$ ). Kultur der Mutterpflanzen im Freiland, August 2021, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. Die gestrichelte Linie markiert den Übergang von Phase 1 zu Phase 2 nach 21 Tagen.

Abbildung 32 zeigt die Entwicklungsraten von Jungpflanzen aus Embryonen *in vitro* über einen Zeitverlauf von 42 Tagen. Auf der Abszisse wurde der Zeitverlauf in Tagen; auf der Ordinate die relativen Häufigkeiten der aus den Embryonen des Wildtyp SP26 entstandenen vollentwickelten Jungpflanzen auf unterschiedlichen Medien aufgetragen. Dieses Stadium wurde durch das vollständige Aufklappen der Keimblätter, das Vorhandensein von grüner Färbung der Keim- wie auch Laubblätter, einer Primärwurzel wie auch eines Laubblattes definiert. Mittels unterschiedlich gefärbter Graphen wurden die einzelnen Varianten dargestellt. Durch die rote Senkrechte ist Tag 21 nach Inkulturnahme markiert. Hier wurden die Embryonen vom Medium mit Additiv 1 auf das neue Medium mit Additiv 2 transplantiert.

Variante 1, 6, 10, 12 und 17 zeigen 19 Tage nach Inkulturnahme *in vitro* erste vollentwickelte Jungpflanzen. So liegt die relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen nach 21 Tagen bei Variante 1 und 6 bei etwa 2%, bei Variante 10 und 12 bei etwa 7% und bei Variante 17 bei etwa 4%. Variante 4 zeigt zwei Tage eher erste vollentwickelte Jungpflanzen. Nach 21 Tagen haben sich 3% der Embryonen weiterentwickelt. Nach 13 Tagen *in vitro* zeigt Variante 5 erste vollentwickelte Jungpflanzen. Nach 21 Tagen auf dem ersten Medium (Additiv 1) liegt eine relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen von etwa 6% vor.

Nach der Transplantation auf das zweite Medium (Additiv 2), steigen bei allen Varianten, die im ersten Abschnitt des Versuchs bereits eine Reaktion auf das Medium (Additiv 1) zeigten, die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Embryonen weiter. So zeigen Varianten 1, 10 und 17 nach weiteren 21 Tagen (Tag 42) *in vitro* eine relative Häufigkeit vollentwickelter Pflanzen von 43, 44 bzw. 38%. Variante 4 zeigt nach Beendigung des Versuchs eine relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen von etwa 81%. Variante 5 zeigt nach 42 Tagen in Kultur 70% vollentwickelte Jungpflanzen. Diese Varianten zeigen einen starken Zuwachs der relativen Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen nach Transplantation auf das zweite Medium (Additiv 2).

Variante 6 und 12 zeigen einen linearen Zuwachs der relativen Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen. So haben nach 42 *in vitro* 26 % bzw. 28% der Embryonen die Weiterentwicklung zur Jungpflanze vollzogen.

Variante 16 zeigt nach Transplantation auf das zweite Medium (Additiv 2) erste Reaktionen. So sind an Tag 24 nach Explantation erste vollentwickelte Jungpflanzen zu erkennen. Nach 42 Tagen *in vitro* sind etwa 24% der Embryonen dieser Variante vollentwickelt.

Variante 9 und 18 zeigen an Tag 38 bzw. 42 erste vollentwickelte Jungpflanzen. Nach Beendigung des Versuchs liegen in diesen Varianten relative Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen von 3 % bzw. 2% vor.

Alle übrigen Varianten zeigen keine sichtbare Reaktion auf die unterschiedlichen Medien.

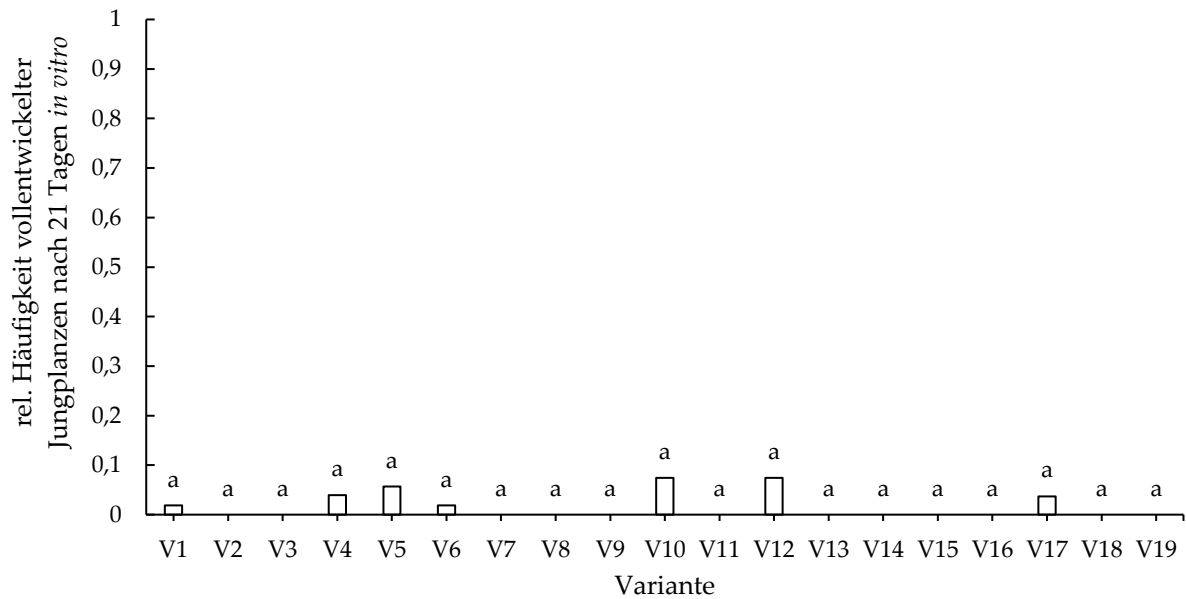


Abbildung 33 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 mit einem Alter von 35 Tagen nach 21 Tagen *in vitro*; ( $n = 54$ ). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95%.

In Abbildung 33 wurden auf der Abszisse die in diesem Versuch untersuchten Embryovarianten der SP26 dargestellt. Die Ordinate zeigt die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen nach 21 Tagen *in vitro*. Es liegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Varianten vor ( $p = 0,101$ ). Varianten 1, 4, 5, 6, 10, 12 und 17 zeigen relative Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen von vier bis sieben Prozent.

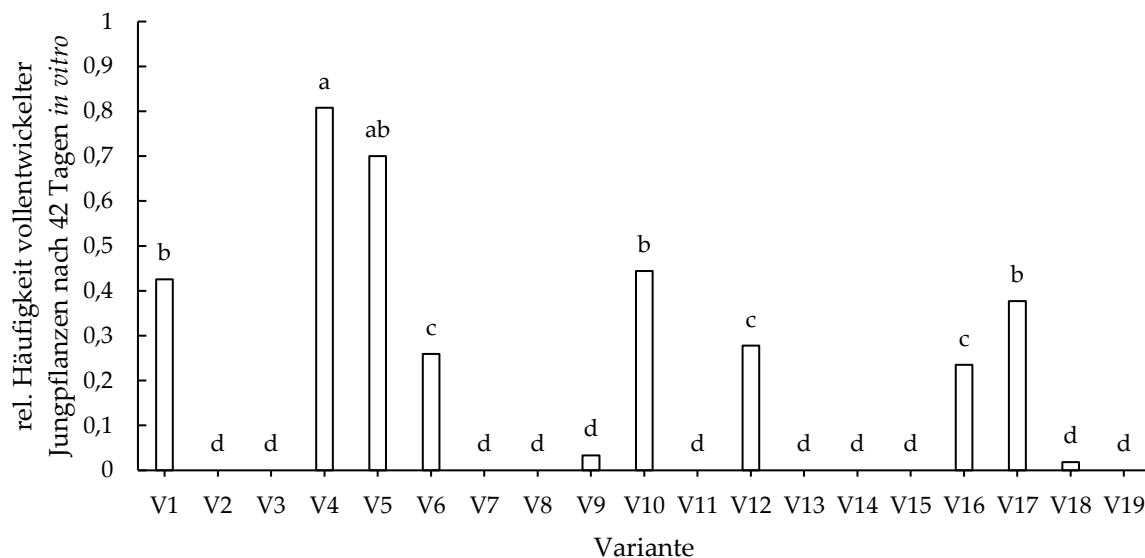


Abbildung 34 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 mit einem Alter von 35 Tagen nach 42 Tagen *in vitro*; ( $n = 54$ ). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall 95%.

In Abbildung 34 wurden auf der Abszisse die in diesem Versuch untersuchten Embryovarianten der Akzession SP26 dargestellt. Die Ordinate zeigt die relativen Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen nach 42 Tagen *in vitro*. Es liegen signifikante Unterschiede vor ( $p = 4,15 \times 10^{-6}$ ) Homogene Untergruppen, bzw. signifikante Unterschiede sind im Diagramm ersichtlich. Variante 4 zeigt nach 42 Tagen *in vitro* die höchste relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen von etwa 80 %. Ausgenommen von Variante 5 zeigen alle weiteren Variante signifikante Unterschiede zur Variante 4. Die Varianten 10 und 17 weisen keinen signifikanten Unterschied zueinander auf und rangierten mit relativen Häufigkeiten zwischen 40 % und 50% im Bereich der Kontrolle (Variante 1). Zwischen den Varianten 6, 12 und 17 liegt kein signifikanter Unterschied vor. Diese weisen eine relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen von 20-30 % auf. Die Varianten 2, 3, 7, 8, 9, 11, 13, 14, 15, 18 und 19 zeigen keine Reaktion auf die unterschiedlichen Medien.

### 3.2.3.3 Diskussion

Durch diesen Versuch sollte evaluiert werden, in welchem Rahmen sich Wachstumsregulatoren und entsprechende Hemmstoffe auf eine verfrühte Weiterentwicklung von Embryonen von *Silphium perfoliatum* auswirken. Leider haben sich durch methodische Fehler teilweise Effekte eingestellt, die nicht zu erwarten waren, bzw. auf eine Überdosierung der Additive zurückzuführen sind.

#### 3.2.3.3.1 Phase 1 – 0-21 Tage *in vitro*

Bei Betrachtung der ersten Phase des Versuchs zeigte sich, dass in Variante 1, 4, 5, 6, 10, 12 und 17 eine Weiterentwicklung von Embryonen zu vollentwickelten Jungpflanzen stattfand.

Die Varianten 2, 3, 7, 8, 9, 11, 13 und 15 zeigten erwartungsgemäß keine Reaktion auf die unterschiedlichen Medien in der ersten Phase des Versuchs. Variante 2, 3 und 11 zeigten aufgrund des abscisinsäurehaltigen Mediums eine andauernde Dormanz, wodurch eine Keimung verhindert wurde [151]. Durch die Explantation auf ein mit Paclobutrazol versetztes Medium wird die Gibberellinsäuresynthese gehemmt, wodurch das Verhältnis aus der keimfördernden Gibberellinsäure und der keimhemmenden Abscisinsäure zur letzteren verschoben und so eine Weiterentwicklung verhindert wird [154,167].

Generell lagen in diesem Teil des Versuchs keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten vor. Dies liegt vermutlich an der zeitlichen Dauer, die zur vollständigen Weiterentwicklung der Embryonen zur Jungpflanze notwendig gewesen wäre. Dies zeigt der in Kapitel 3.2.1 beschriebene Versuch und wird von Greve et al. (2020) ebenfalls dargelegt [56].

#### 3.2.3.3.2 Phase 2 – 22-42 Tage *in vitro*

Variante 4 wie auch Variante 5 zeigten hohe, nicht signifikant unterschiedliche relative Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen. Hierdurch zeigte sich, dass die zeitliche Abfolge von Gibberellinsäure und Cytokinin in diesem Kontext keinerlei Effekt auf die Weiterentwicklung von Embryonen zu Jungpflanzen von *Silphium perfoliatum* zeigt. Hingegen hemmt der gleichzeitige Einsatz von Gibberellinsäure und Cytokinin die Entwicklungsrate der Embryonen, was die These zulässt, dass eine gegenseitige Hemmung dieser Wachstumsregulatoren vorliegt. Diese wird davon gestützt, dass die Varianten 10 und 12 als nicht kombinierte Varianten ebenfalls vollentwickelte Jungpflanzen hervorbrachten, wobei

Variante 12 eine signifikant geringere relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen ausgeprägt hat und mit der Kontrolle (Variante 1) vergleichbar ist.

Variante 16 und 17 beinhalteten in der ersten Phase des Versuchs ein mit Ethephonsäure versetztes Medium und zeigten nach 21 Tagen keinen signifikanten Unterschied der relativen Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen. In der zweiten Phase des Versuchs zeigten diese Varianten einen deutlichen Zuwachs der relativen Entwicklungsrate. Variante 17 zeigte durch ein mit GA<sub>3</sub> versetztes Medium signifikant höhere relative Häufigkeiten vollentwickelter Jungpflanzen als Variante 16. Folglich wurde die Weiterentwicklung der Embryonen durch die Zugabe von Ethephonsäure verzögert. Eine Applikation von GA<sub>3</sub> sorgte in Phase 2 für eine Verschiebung des Verhältnisses von Gibberellin- und Abscisinsäure hin zur Gibberellinsäure und induzierte so die Keimung [154].

Variante 9 zeigte an Tag 38 nach Explantation erste vollentwickelte Jungpflanzen. Entsprechend waren 17 Tage auf dem zweiten Medium vergangen, bis eine Reaktion zu erkennen war. Dies stützt die zu Beginn gestellte These, dass Paclobutrazol zu hoch konzentriert eingesetzt wurde. Diese Variante zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied zu den Varianten, die keine Reaktion zeigten.

Variante 18 zeigte ein ähnliches Verhalten. Nach 42 Tagen *in vitro* zeigten sich erste Jungpflanzen. Ein signifikanter Unterschied zu den Varianten, die keine Reaktion auf das entsprechende Medium zeigten, lag ebenfalls nicht vor.

Variante 2 und 3 zeigten keinerlei Reaktion auf die unterschiedlichen Medien, obwohl mit einer Reaktion zu rechnen gewesen wäre, da Fluridon die Abscisinsäurebiosynthese hemmt und so die Dormanz gebrochen werden kann [156,168]. Bei Einsatz von GA<sub>3</sub> hätte eine Weiterentwicklung des Embryos zur Jungpflanze vonstattengehen sollen, da Gibberellinsäuren die keimhemmende Wirkung von Abscisinsäure aufheben können [151]. Die Fluridonkonzentration wurde jedoch vermutlich zu hoch gewählt, sodass eine Weiterentwicklung des Samens nicht möglich war. Selbiges würde auch für Variante 14, 18 und 19 gelten. An dieser Stelle würde es weiterer Forschung bedürfen.

Variante 7, 8 und Variante 13 (eingeschränkt auch Variante 9) zeigten keine Reaktion auf die unterschiedlichen Medien. Hier lässt sich die vorangegangene These einer zu hohen Paclobutrazolkonzentration weiter bestärken.

Variante 11 zeigte erwartungsgemäß keine Entwicklung von Jungpflanzen. Die Embryonen verblieben unverändert. Selbiges galt für Variante 15, wobei hier keine eindeutige Begründung festgestellt werden kann.



### 3.2.4 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Anhand der durchgeführten Experimente zur Reduktion der Generationszeit von *Silphium perfoliatum* konnte durch gezielte Eingriffe in die generative Phase des Entwicklungszyklus eine starke Verkürzung der nötigen Generationsdauer erreicht werden.

Hierzu wurde in einem ersten Versuch anhand zweier unterschiedlicher Kultivare von *Silphium perfoliatum* gezeigt, dass eine Weiterkultur unreifer Embryonen eine gute Möglichkeit darstellt, eine Verkürzung der Generationszeit herbeizuführen. Die Akzession SP26, ein Wildtyp aus dem Süden des Verbreitungsgebietes zeigte hierbei mit einer relativen Entwicklungsrate von 50-60 % einen vergleichsweise hohen Anteil vollentwickelter Jungpflanzen. Zwischen Kulturen von Embryonen eines Alters von 21, 28 bzw. 35 Tagen zeigten keinen signifikanten Unterschied. Die Akzession TLL4 erreichte bei Embryonen eines Alters von 21 bzw. 42 Tagen vergleichbare Entwicklungsraten, wobei Embryonen eines Alters von 28 bzw. 35 Tagen eine signifikant geringere relative Entwicklungsrate erreichten. Hypothese 1 lässt sich somit bestätigen.

Die Kultur von ganzen Samen selbiger Akzessionen von *Silphium perfoliatum* zeigte jeweils eine weit geringere Keimrate. Einzig die Akzession SP26 erreichte bei Samen eines Alters von 35 Tagen eine signifikant erhöhte Keimrate. Da eine Begründung dieses Ergebnisses hieraus nicht eindeutig zu definieren war, wurde ein Folgeversuch durchgeführt. Hierzu wurde eine Embryokultur *in vitro* mit unterschiedlichen Konzentrationen von Samenschalen als Additiv im Zellkulturmedium anhand der Akzession SP26 durchgeführt. Dieser Versuch zeigte, dass eine Erhöhung der Samenschalenkonzentration im Medium einen Rückgang der relativen Entwicklungsrate der Embryonen zu Jungpflanzen zur Folge hatte. Demnach ist davon auszugehen, dass eine Hemmung der Weiterentwicklung von Embryonen durch in der Samenschale befindliche Stoffe herbeigeführt und so eine Dormanz der Samen bzw. Embryonen aufrechterhalten wird. Hypothese 2 lässt sich demnach ebenfalls bestätigen.

Um weitere Erkenntnisse bezüglich des Dormanzverhaltens von *Silphium perfoliatum* zu erhalten, wurde ein Folgeversuch durchgeführt, bei dem eine Embryokultur der Akzession SP26 durch die Zugabe unterschiedlicher Wachstumsregulatoren und Hemmstoffe *in vitro* erweitert wurde. Hierbei zeigten die Behandlungen mit Gibberellinsäure ( $GA_3$ ) und Cytokinin (6BAP) einen positiven Effekt auf die relativen Entwicklungsraten der Embryonen. Weitere

konsistente Ergebnisse zeigte der Versuch leider nicht, wodurch Hypothese 3 lediglich bedingt zu bestätigen ist.

Die Verkürzung der Generationszeit durch das Überspringen der Samenreife kann ein probates Mittel sein und birgt große Potenziale für die Züchtung von *Silphium perfoliatum*. Eine praktische Anwendung der erarbeiteten Methode bedarf noch weiterer Optimierung, wobei diese Arbeit gezeigt hat, dass die Kultur von unreifen Embryonen von *Silphium perfoliatum* *in vitro* möglich ist.

## 4. Generationszeitverkürzung von *Silphium perfoliatum* durch die Reduktion der Vernalisationszeit auf ein Minimum

Neben der Reduktion der Generationszeit durch das Verkürzen bzw. das Abbrechen der Samenabreife und anschließender Embryokultur *in vitro* ist eine Reduktion der Generationszeit durch eine Anpassung der Vernalisationszeit auf ein Minimum ein probates Mittel dieses Ziel zu erreichen [56,169].

Nach Chouard (1960) ist die Vernalisation als "die Erlangung oder Beschleunigung der Blühfähigkeit durch eine Kältebehandlung von Pflanzen" definiert [170]. Es handelt sich um einen Prozess, bei dem die Blüte durch einen Kältereiz einer für die entsprechende Pflanze ausreichenden Länge und Intensität induziert wird [170,171]. Vernalisation tritt bei Mono- wie auch Dikotyledonen auf. Viele Kulturpflanzen in gemäßigten Regionen benötigen eine Vernalisation, um die Blüte zu induzieren. Beispiele hierfür sind Weizen (*Triticum aestivum* L.), Raps (*Brassica napus* L.), Erbsen (*Pisum sativum* L.) und Zuckerrüben (*Beta vulgaris* L.) [169,170].

Bei den meisten Arten erfordert die Vernalisation eine langfristige Exposition gegenüber niedrigen Temperaturen. Dies geschieht üblicherweise während des Winters. Innerhalb einer bestimmten Art kann es jedoch Unterschiede in Bezug auf die Intensität, in dem die Vernalisation für die Blüte erforderlich ist, z. B. bei Winterweizen und Sommerweizen geben [169,172]. Unter den natürlichen Bedingungen der gemäßigten Zonen werden sehr gut vorhersehbare Faktoren wie die jährliche Veränderung der Tageslänge und die Winterkälteperiode als primäre Faktoren zur Steuerung der Blütezeit bezeichnet. Weniger vorhersehbare Klimafaktoren wie lokale Umgebungstemperatur, Licht und Wasserverfügbarkeit werden in der Regel als sekundäre Faktoren betrachtet, die die Auswirkungen der primären Faktoren lediglich modulieren können. Zwei primäre Faktoren (Tageslänge und Vernalisation) können sich gegenseitig ersetzen und können auch durch sekundäre Faktoren ersetzt werden [169,173].

Die Vernalisation setzt eine Toleranz für niedrige Temperaturen voraus, da dieser Prozess bei geringen Temperaturen über dem Gefrierpunkt stattfinden muss, da hierzu eine Stoffwechselaktivität der Pflanze erforderlich ist [169,174]. Die optimale Vernalisationstemperatur für die meisten Pflanzen liegt zwischen 6 °C und 10 °C [170] bzw. zwischen 1 °C und 7 °C [169,175], die je nach Pflanzenart und natürlich Verbreitungsgebiet

divergieren können. Einige Getreidearten können bei Temperaturen von bis zu -6 °C vernalisiert werden, während Pflanzen, die in warmen Regionen beheimatet sind, wie beispielsweise die Olive (*Olea europaea* L.), bei der eine Kältebehandlung bei Temperaturen von bis zu 13 °C ausreichend für die Blüteninduktion ist [175,176]. Darüber hinaus ist die Beständigkeit der Kältebehandlung ein weiterer Faktor, der die Wirksamkeit der Vernalisation beeinflusst und ebenfalls von der Art abhängig ist. Eine Umkehr der Vernalisation ist bei nicht hinreichender Kältebehandlung möglich [169,175].

Ein weiterer Faktor, der für einen erfolgreichen Vernalisationsprozess von entscheidender Bedeutung ist, ist ein hinreichend langer Vernalisationsprozess. Die typische Vernalisationsdauer unterschiedlicher Pflanzen beläuft sich Normalfall auf ein bis drei Monate [175]. Die Dauer der Vernalisation, die eine Pflanze benötigt, hängt davon ab, ob die Art obligat oder fakultativ vernalisiert werden muss. Pflanzen mit kurzer Vernalisationszeit (20 bis 30 Tage) unterliegen meist einem fakultativen Vernalisationsbedürfnis. Bei fakultativ vernalisationsbedürftigen Arten ist in der Regel die Photoperiode der primäre Stimulus für die Blüteninduktion; die Vernalisation ist entweder ein Ersatz für den Blühprozess oder beschleunigt diesen. Pflanzen, die längere Vernalisationsperioden für eine vollständige Blüteninduktion benötigen, ist die Vernalisation obligatorisch [169,177].

#### 4.1 Forschungshypothesen

##### Hypothese 1

Die nötige Vernalisationszeit von *Silphium perfoliatum* zum Erreichen der generativen Entwicklungsphase lässt sich durch gezieltes Eingreifen in den natürlichen Entwicklungsverlauf verkürzen.

##### Hypothese 2

Durch eine Applikation von Entwicklungsregulatoren lässt sich das eigentliche Vernalisationsbedürfnis von *Silphium perfoliatum* überspringen und ein generatives Wachstum einleiten.

## 4.2 Evaluation der notwendigen Vernalisationszeit

Die Vernalisation der Durchwachsenen Silphie findet *in situ* im Winter statt [1,7]. Hierbei ist davon auszugehen, dass die Winterperiode um ein Vielfaches zu lang ist, sodass die vollständige Vernalisation bereits vor Beginn der kommenden Vegetationsperiode erreicht wird [56,169].

Derzeit liegen keine Studien über die Tageslängenaffinität von *Silphium perfoliatum* bezüglich der generativen Entwicklungsphase vor. In ihrem natürlichen Habitat beginnt *Silphium sp.* mit zunehmender Tageslänge im späten Frühjahr und Sommer zu blühen [1,13,169]. Eine der Herausforderungen für die Züchtung von *Silphium perfoliatum* bzw. *Silphium integrifolium* ist das zeitlich ausgeprägte Juvenilstadium, welches sich im Regelfall über die gesamte erste Vegetationsperiode hinzieht [1]. Da dies für die Pflanzenzüchtung aufgrund der Langfristigkeit unter Umständen zu Schwierigkeiten führen kann, ist an dieser Stelle eine Möglichkeit der züchterischen Belange nachzukommen.

Bezugnehmend auf die vorangegangene These scheint es notwendig, dass eine Untersuchung der Entwicklungsreaktion von *Silphium perfoliatum* auf niedrige Temperaturen angestrebt werden sollte, da die vegetative Phase vieler Arten durch niedrige Temperaturen verkürzt wird [178]. Es wurde selten beobachtet, dass *Silphium integrifolium* in der ersten Saison ohne Vernalisation blüht [1]. Chen (2021) nimmt an, dass einige Individuen eine genetische Grundlage für eine niedrige Schwelle für die Vernalisation haben; hierbei ist es möglich, dass diese Individuen einer genetischen Anpassung unterliegen, die die Blüte erleichtern bzw. induzieren [169]. Dieses Verhalten kann durch die Exposition der Pflanzen in optimale Bedingungen wie eine hohe Lichtintensität, eine hinreichende Wasserverfügbarkeit, eine optimale Nährstoffbereitstellung, wie auch weitere optimale Wachstumsbedingungen wie eine geringe inter- wie auch intraspezifischer Konkurrenz erreicht werden [1,169]. Eine mögliche Infloreszenz von *Silphium integrifolium* wird hierbei allerdings nicht im vollen Umfang ausgeprägt [1]. Versuche an unterschiedlichen Genotypen offenpollinierter *Silphium integrifolium*-Akzessionen wurde im Rahmen einer Forschungsarbeit von Chen (2021) herausgefunden, dass eine Vernalisationszeit von vier Wochen ein Optimum darstellt [169].

#### 4.2.1 Material und Methoden

In einem ersten Versuch zur Evaluation der notwendigen Vernalisationszeit von *Silphium perfoliatum* wurden zwei unterschiedliche Akzessionen hinsichtlich ihres Vernalisationsbedürfnisses untersucht.

##### 4.2.1.1 Akzessionsauswahl

Für diesen Versuch wurden zwei Akzessionen von *Silphium perfoliatum* untersucht. Ein Kultivar, der heutzutage im kommerziellen Maßstab angebaut wird und ursprünglich aus dem nördlichen Verbreitungsgebiet von *Silphium perfoliatum* stammt (TLL4) [62]. Zudem wurde ein becherloser Wildtyp aus dem südlichen Verbreitungsgebiet untersucht (SP26) [62].

##### 4.2.1.2 Samenerzeugung

Zu Beginn des Versuchs wurde durch händisches Bestäuben Populationssaatgut erzeugt. Die Herstellung des nötigen Saatgutes fand im geschützten Anbau im Gewächshaus statt. Hierzu wurde einige Tage vor Öffnung der Blüte ein feinmaschiger Netzbeutel über die Knospe gestülpt, um eine unbeabsichtigte Bestäubung durch Insekten zu vermeiden. Sobald die Naben der Zungenblüten einer Blüte freilagen, wurde unmittelbar vorher gesammelter Pollen derselben Akzession appliziert und so eine Bestäubung vorgenommen. Um eine Sekundärbestäubung durch Insekten zu vermeiden, wurde der Netzbeutel nach der Bestäubung erneut angebracht. Die Samenernte fand nach vollständiger Abreife der Samen statt.

##### 4.2.1.3 Herstellung geeigneten Pflanzenmaterials

Die für den Versuch benötigten Pflanzen wurden in Anzuchtplatten mit 40 mm Töpfen angezogen. Hierzu wurden die Samen im Vorfeld mit einer 0,05 prozentigen Gibberellinsäurelösung ( $GA_3$ ) für 12 Stunden bei 4 °C behandelt, um die Keimung zu katalysieren [28]. Die Keimung fand in einer Klimakammer bei 22 °C und einer Lichtintensität von  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  für 12 Stunden am Tag statt. Nach der Entwicklung von zwei vollentwickelten Laubblättern (BBCH 1 1) wurden die Pflanzen vereinzelt und in Töpfen mit einem Volumen von zwei Litern im Gewächshaus bei einer Temperatur von 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx als konstante Zielgröße bis zum Achtblattstadium herangezogen (BBCH 1 4) [1].

Da hier von einer gewissen Entwicklungsstreuung auszugehen war und eine gewisse Homogenität im Ausgangsmaterial für den geplanten Versuch von Vorteil ist, wurden an dieser Stelle entsprechende Pflanzen selektiert.

#### *4.2.1.4 Applikation des Vernalisationsreizes*

Nach Erreichen des Achtblattstadiums (BBCH 1 4) [1], wurden die Pflanzen in ein Kühlhaus überführt. Die Vernalisationstemperatur betrug 4 °C. Es wurden jeweils für beide Akzessionen Vernalisationszeiträume von 14, 42 und 72 Tagen veranschlagt. Zusätzlich wurde eine unvernalisirte Kontrolle beider betrachteter Akzessionen betrachtet.

#### *4.2.1.5 Wiederantrieb der Pflanzen im Gewächshaus*

Nach Beendigung der jeweiligen Vernalisationsphase wurden die Pflanzen erneut im Gewächshaus bei 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx für 12 Stunden am Tag als konstante Zielgröße für 16 Wochen weiterkultiviert. Nach Ablauf dieses Zeitraums wurde der Versuch beendet.

#### *4.2.1.6 Datenerhebung*

Für die Erfassung der Wachstumsparameter nach Wiederaustrieb wurden an Pflanzen nach der Vernalisation im Kühlhaus in einem wöchentlichen Boniturintervall für 16 Wochen die Vitalität, das Schossen wie auch die beginnende Infloreszenz der Pflanzen erfasst. Zusätzlich wurde die Samenentwicklung erfasst.

#### *4.2.1.7 Datenverarbeitung*

Die erfassten Daten wurden akzessionsspezifisch aufgearbeitet. Hierbei wurde in erster Instanz neben der Vitalität nach der Vernalisationsphase die generelle Fähigkeit der Pflanzen beleuchtet ein Sprosswachstum zu initiieren (BBCH Makrostadium 3 [1]). Im späteren Verlauf des Versuchs wurde die Infloreszenz wie auch die anschließende Samenentwicklung dargestellt. Die statistischen Berechnungen basieren auf einem Konfidenzintervall von 95 %. Homogene Untergruppen wurden mittels des Tukey-Tests (Post-hoc-Test) ermittelt und durch entsprechende Buchstabenkombinationen in den Abbildungen gekennzeichnet.

## 4.2.2 Ergebnisse

Die Darstellungen beziehen sich auf einen Versuchsumfang von 30 Pflanzen je Variante.

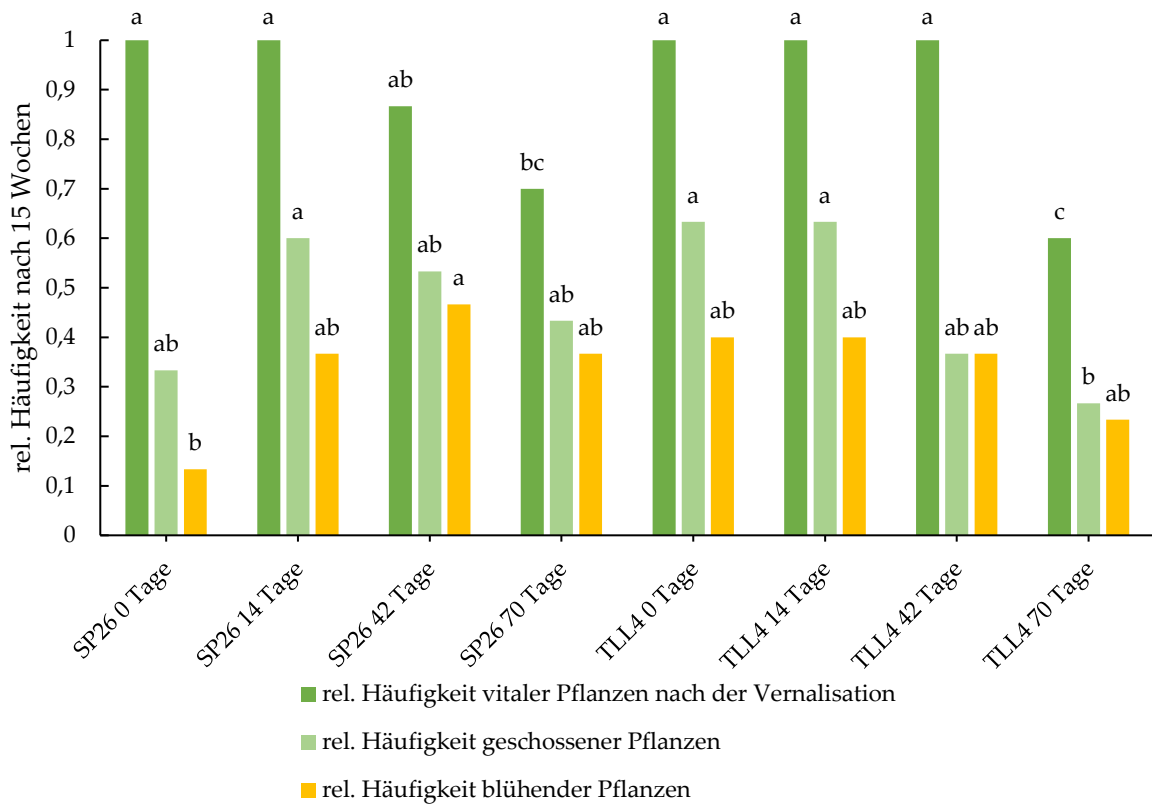


Abbildung 35 - Darstellung relevanter Versuchsergebnisse nach 16-wöchiger Kultivierung im Gewächshaus bei 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx für 12 Stunden nach unterschiedlicher Vernalisationszeit von SP26 und TLL4; (n = 30). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95%. Die homogenen Untergruppen beziehen sich auf die jeweilige Darstellungskategorie.

In Abbildung 35 sind die unterschiedlichen Varianten des Vernalisationsversuchs dargestellt. Diese teilen sich jeweils in die relative Häufigkeit vitaler Pflanzen nach der Vernalisation, die relative Häufigkeit geschossener Pflanzen wie auch relative Häufigkeit blühender Pflanzen auf, nach jeweils 16 Wochen nach Wiederantrieb. Auf der Ordinate sind die entsprechenden relativen Häufigkeiten nach Versuchsablauf aufgetragen. Die homogenen Untergruppen beziehen sich auf die jeweilige Kategorie über alle Varianten.

Es liegen signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Varianten vor. So liegt innerhalb der unterschiedlichen Vitalitäten ein p-Wert von  $p = 3,54 \times 10^{-4}$  vor. Die Häufigkeiten geschossener Pflanzen unterscheiden sich ebenfalls signifikant ( $p = 4,39 \times 10^{-4}$ ). Ferner liegt zwischen den relativen Häufigkeiten blühender Pflanzen ein signifikanter Unterschied



zwischen den untersuchten Varianten vor. Dieser beläuft sich auf einen p-Wert von  $p = 1,69 \times 10^{-4}$ .

Bei Betrachtung der relativen Häufigkeiten vitaler Pflanzen nach der Vernalisation fällt auf, dass bei beiden Akzessionen nach 0 wie auch nach 14 Tagen der Vernalisation alle Pflanzen vital bleiben. Die Akzession TLL4 zeigt dieses auch nach 42 Tagen der Vernalisation, wobei bei dem Wildtyp SP26 etwa 85 % der Pflanzen nach der Vernalisation vital sind.

Nach einer Vernalisationszeit von 70 Tagen verbleiben etwa 70 % der SP26 bzw. 60% bei der Akzession TLL4 vital.

Die relativen Häufigkeiten geschossener Pflanzen liegt beim Wildtyp SP26 ohne Vernalisation bei etwa 33 %, erreicht ein Maximum nach 14-tägiger Vernalisation mit etwa 60 % und nimmt mit länger andauernder Vernalisation wieder ab. So zeigen nach 42-tägiger Vernalisation etwa 55 %, nach 70-tägiger Vernalisation 45% der Pflanzen einen elongierten Trieb.

Die Akzession TLL4 zeigt ohne wie auch nach 14-tägiger Vernalisation eine relative Häufigkeit geschossener Pflanzen von etwa 65 %. Nach 42-tägiger Vernalisation wird eine relative Häufigkeit geschossener Pflanzen von etwa 40 %, bzw. nach 70 Tagen von etwa 30 % erreicht.

Etwa 12 % der unvernalisierten Pflanzen des Wildtyps SP26 zeigen eine Blüte. Die relative Häufigkeit blühender Pflanzen wird nach 42-tägiger Vernalisation erreicht und zeigt eine relative Häufigkeit von etwa 45 %. Nach 70-tägiger Vernalisation nimmt die relative Häufigkeit blühender Pflanzen wieder ab und erreicht einen Wert von etwa 35 %.

Die Akzession TLL4 zeigt im unvernalisierten Zustand wie auch nach 14-tägiger Vernalisation eine relative Häufigkeit blühender Pflanzen von etwa 40 %. Nach 42-tägiger Vernalisation erreichen etwa 35 % der Pflanzen das Blütenstadium. Nach 70-tägiger Vernalisation zeigen etwa 25 % der Pflanzen eine Blüte.

Im Folgenden wird auf die lediglich durchschnittliche Anzahl von Blüten eingegangen, da die Blüten- bzw. Samenbildung für züchterische Unternehmungen von großem Belang und somit vernalisationsqualitätsbestimmend ist.

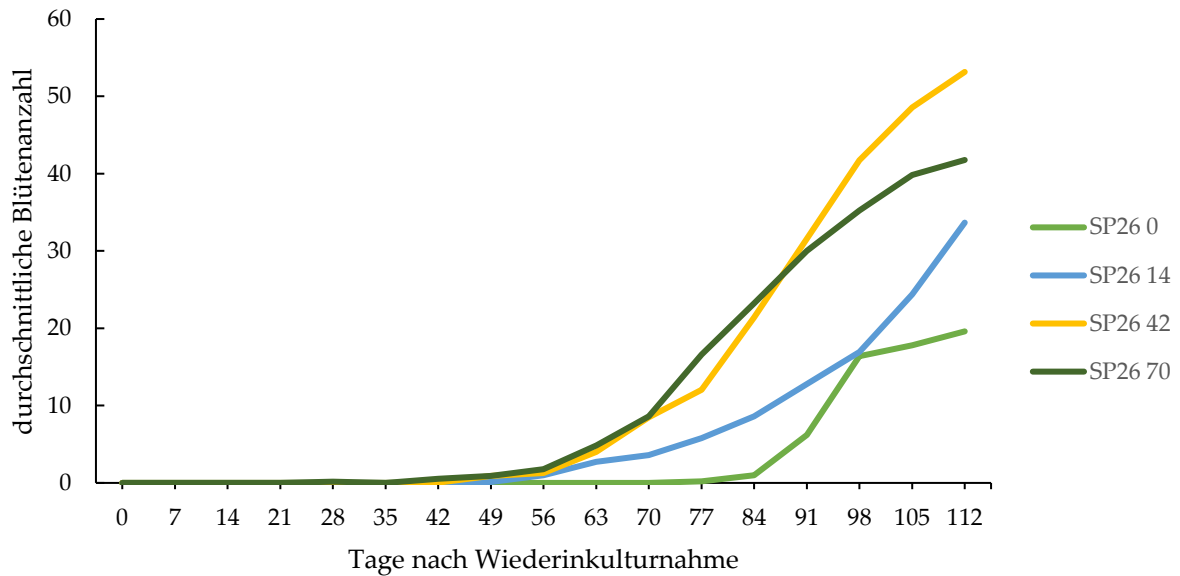


Abbildung 36 - Durchschnittliche Blütenanzahl von SP26 nach Vernalisationszeiten von 0, 14, 42 bzw. 70 Tagen bei konstanten 4 °C und anschließender 16-wöchiger Kultivierung im Gewächshaus bei 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx für 12 Stunden; (n = 30).

Abbildung 36 zeigt auf der Abszisse den Zeitverlauf über 16 Wochen nach Wiederinkulturnahme. Auf der Ordinate ist die jeweilige durchschnittliche Blütenanzahl des Wildtyps SP26 aufgetragen. Die unterschiedlichen Farben stellen die im Versuch betrachteten Varianten dar. Es sind lediglich die Pflanzen einbezogen worden, die das Blütenstadium erreicht haben, da andernfalls eine starke Verfälschung der durchschnittlichen Blütenanzahlen aufgetreten wäre.

Es zeigte sich, dass die unvernalisierete Variante nach 84 Tagen nach Wiederinkulturnahme begann erste Blüten zu zeigen. Nach 112 Tagen (16 Wochen) entwickelt diese Variante durchschnittlich etwa 20 Blüten.

Alle anderen Varianten zeigen nach 56 Tagen (acht Wochen) erste Blüten, wobei bei 14-tägiger Vernalisation nach 112 Tagen (16 Wochen) durchschnittlich 34 Blüten je Pflanze gebildet worden sind. Pflanzen, die 42 Tage einer Vernalisation unterzogen wurden, zeigen nach 112 Tagen bzw. 16 Wochen durchschnittlich 53 Blüten. Nach 70-tägiger Vernalisation sinkt die durchschnittliche Blütenanzahl auf etwa 42.

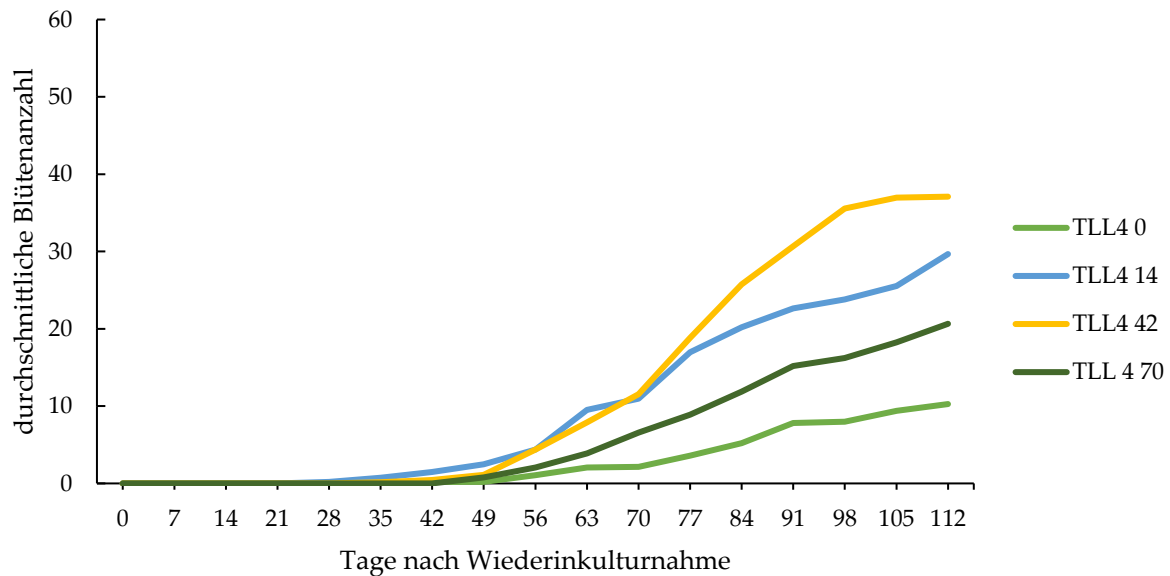


Abbildung 37 - Durchschnittliche Blütenanzahl von TLL4 nach Vernalisationszeiten von 0, 14, 42 bzw. 70 Tagen bei konstanten 4 °C und anschließender 16-wöchiger Kultivierung im Gewächshaus bei 20 °C und einer Lichtintensität von 7 klx für 12 Stunden; (n = 30).

Abbildung 37 zeigt auf der Abszisse den Zeitverlauf über 16 Wochen nach Wiederinkulturnahme. Auf der Ordinate ist die jeweilige durchschnittliche Blütenanzahl der Akzession TLL4 aufgetragen. Die unterschiedlichen Farben stellen die im Versuch betrachteten Varianten dar. Es sind lediglich die Pflanzen einbezogen worden, die das Blütenstadium erreicht haben, da andernfalls eine starke Verfälschung der durchschnittlichen Blütenanzahlen aufgetreten wäre.

Die unvernalisierter Variante zeigt nach 35 Tagen (5 Wochen) erste Blüten. Nach 112 Tagen (16 Wochen) zeigt diese Variante durchschnittlich etwa 10 Blüten. Nach 14-tägiger Vernalisation beginnt die Blüte nach 28 Tagen (4 Wochen) nach Wiederinkulturnahme. Nach 112 Tagen (16 Wochen) zeigt diese Variante durchschnittlich 30 Blüten. Pflanzen, die über einen Zeitraum von 42 Tagen vernalisiert wurden, zeigen nach 35 Tagen (5 Wochen) erste Blüten. Nach Versuchsende sind in dieser Variante durchschnittlich 37 Blüten gebildet worden. Die Variante, die einer 70-tägigen Vernalisation unterzogen wurde, zeige nach 49 Tagen (7 Wochen) erste Blüten. Nach 112 Tagen (16 Wochen) sind durchschnittlich etwa 21 Blüten gebildet worden.

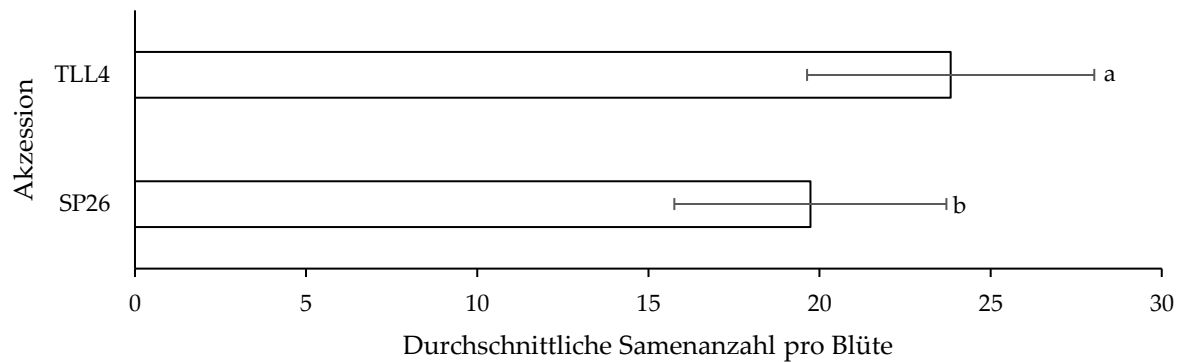


Abbildung 38 - Durchschnittliche Samenanzahl pro Blüte von SP26 und TLL4; ( $n = 30$ ). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95%.

In Abbildung 38 sind auf der Abszisse die im Rahmen dieses Versuchs untersuchten Akzessionen dargestellt. Auf der Ordinate sind die durchschnittlichen Samenanzahlen pro Blüte dargestellt. Auf eine variantenweise Darstellung wird in diesem Rahmen verzichtet, da die Unterschiede innerhalb einer Akzession nicht signifikant sind.

Die Akzession TLL4 bildete pro Blüte durchschnittlich etwa 24, der Wildtyp SP26 knapp 20 Samen aus. Es liegt ein signifikanter Unterschied vor ( $p = 4,12 \times 10^{-3}$ ).

### 4.2.3 Diskussion

Bei Betrachtung von Abbildung 20 fällt auf, dass die relative Häufigkeit vitaler Pflanzen bei beiden Akzessionen mit zunehmender Vernalisationsdauer abnahm. Da die natürliche Form der Vernalisation durch den Winter bedingt wird, ist die Vernalisationsperiode deutlich länger als im vorliegenden Versuch. Trotzdem zeigen Pflanzen im Freiland nicht derartige Ausfälle. Dies lässt sich mit der sehr abrupten Zuführung des Vernalisationsreizes im Kühlhaus begründen. Im Gegensatz zu Pflanzen im Freiland, die eine durch niedrige Temperaturen und sich reduzierende Tageslängen im Herbst zunehmend seneszent werden, fehlte diese Phase bei den Versuchspflanzen, was zur Folge hatte, dass vor allem bei länger andauernder Vernalisation relativ große Ausfälle zu verzeichnen waren. Ferner beschreiben Michaels und Amasino (2000), dass für eine erfolgreiche Vernalisation die Kältebehandlung bei freilandtypischen Lichtverhältnissen vonstattengehen muss [175].

Der Anteil geschossener Pflanzen zeigte beim Wildtyp SP26 nach 14-tägiger Vernalisation seinen Höhepunkt bei etwa 60 %. Eine ähnliche relative Häufigkeit geschossener Pflanzen zeigte TLL4 ohne bzw. nach 14-tägiger Vernalisation. Längere Vernalisationszeiten zeigten einen negativen Einfluss auf die relativen Häufigkeiten geschossener Pflanzen. Dies untermauert die vorangegangene These der Schädigung durch einen fehlenden Einzug der Pflanzen über den Herbst [169,175]. Eine Möglichkeit diese Problematiken zu umgehen, wäre eine Seneszenz der Pflanze durch geringe Tageslängen zu induzieren [179] und in einem zweiten Schritt die Vernalisation vorzunehmen. Ebenfalls ließe sich eine Seneszenz der Pflanzen durch die Applikation von Ethen induzieren [180]. Als dritte Möglichkeit wäre es denkbar, die zu vernalisierenden Pflanzen bei abnehmenden Tageslängen im Freiland zu kultivieren, diese einer Vernalisation im Kühlhaus zu unterziehen und nach Erreichen der nötigen Vernalisationszeit im Gewächshaus anzutreiben. Eine Vernalisation im Freiland würde Risiken dergestalt bergen, dass einerseits die notwendige Vernalisationstemperatur unbekannt ist, andererseits eine Devernalisation durch relativ warme Temperaturperioden eintreten kann und die Möglichkeit der generativen Pflanzenentwicklung wieder umkehrt [181]. Hierdurch bedingt sich eine multipel begründete Problemstellung.

Die relativen Häufigkeiten blühender Pflanzen zeigen bei den untersuchten Akzessionen unterschiedliche Entwicklungscharakteristika. SP26 zeigt als unvernalisierte Variante signifikante geringere relative Häufigkeiten blühender Pflanzen. Entgegen der Aussage von

Chen (2021) scheint *Silphium sp.* nicht vollständig obligat vernalisationsbedürftig [169]. Es lässt sich allerdings einerseits an den Ergebnissen des vorliegenden Versuchs an *Silphium perfoliatum*, wie auch an den Versuchen von Greve et al. (2023) zeigen, bei denen *Silphium integrifolium* im Feldversuch ohne einen Kälteeinfluss die Infloreszenz erreichte zeigen [1], dass hier vermutlich ein fakultatives Vernalisationsbedürfnis vorliegen wird.

Nach 42-tägiger Vernalisation wurde ein Maximum erreicht, was darauf schließen lässt, dass eine länger andauernde Vernalisation einen negativen Einfluss auf die Blütenbildung hat. Dies lässt sich ebenfalls mit der voranschreitenden Schwächung der Pflanzen durch die Vernalisation im Kühlhaus begründen.

TLL4 zeigte ohne bzw. nach 14-tägiger Vernalisation die höchsten relativen Häufigkeiten blühender Pflanzen. Mit zunehmender Vernalisationszeit nahm der Anteil blühender Pflanzen ab. Einerseits lässt sich dies durch die Schädigung der Pflanzen durch die abrupte Vernalisation im Kühlhaus erklären. Andererseits zeigte die anfänglich relativ hohe relative Häufigkeit blühender Pflanzen, dass eine Vernalisation unter Umständen bei dieser Akzession ebenfalls nicht notwendig ist. Hierzu gäbe es zwei unterschiedliche Erklärungsansätze. Einerseits könnte das Vernalisationsbedürfnis der Pflanze relativ gering sein, was anhand der klimatischen Situation im natürlichen Habitat insofern möglich sein könnte, da die vorliegenden Temperaturen für einen langen Zeitraum zu niedrig für eine erfolgreiche Vernalisation sind. Optimale Temperaturen für einen Vernalisationsprozess liegen im Regelfall zwischen 1-10 °C [170,175] Andererseits wird diese Akzession seit einigen Jahren mittels Selektionszucht bearbeitet, sodass hierdurch ein Domestikationseffekt geschaffen wurde, durch den das Vernalisationsbedürfnis gegebenenfalls geschwächt worden sein könnte [72]. Ein anderer Ansatz, der die Blüteninduktion bei unvernaliserten Pflanzen erklären könnte ist die Wirkung des Florigens, welches in den Blättern gebildet und im Apex akkumuliert wird. Hierdurch kann die Blüte induziert werden. Die Tageslänge spielt hierbei eine maßgebliche Rolle, da die Biosynthese stark von der zur Verfügung stehenden Lichteinfallsdauer abhängt [182]. Da noch nicht bekannt ist, ob *Silphium perfoliatum* tageslängenabhängige Blüteninduktionsmechanismen besitzt, würde es an dieser Stelle weiterer Forschung bedürfen.

Bei Betrachtung der Blütenbildung beider Akzessionen über den Zeitverlauf von 16 Wochen (Abbildung 36 und 37) lässt sich schnell feststellen, dass der Wildtyp SP26 über alle Varianten

hinweg mehr Blüten ausprägte als der kommerziell angebaute Kultivar TLL4. Gleichzeitig bildet SP26 signifikant weniger Samen pro Blüte als TLL4, wodurch sich die These aufstellen lässt, wonach die Pflanzen unterschiedliche ökologische Strategien verfolgten. Um dies zuverlässig zu untersuchen, würde es weiterer Untersuchungen am natürlichen Standort der Pflanzen bedürfen, um die dortigen Bedingungen zu evaluieren. Es ließe sich über dies mutmaßen, dass es hier durch züchterisch bedingte Eingriffe eine Verschiebung zu zahlenmäßig weniger, dafür größeren Samen stattgefunden haben könnte.

Ferner fällt auf, dass bei beiden Akzessionen eine 42-tägige Vernalisation am meisten Blüten hervorgebracht hat. Eine länger andauernde Vernalisation zeigte einen negativen Einfluss auf die Anzahl gebildeter Blüten. Dies lässt sich vermutlich ebenfalls auf die Schwächung der Pflanzen durch die fehlende Seneszenz erklären. Vergleichbare Ergebnisse zeigen die Versuche von Chen (2021). So wurden an Pflanzen von *Silphium integrifolium* in BBCH 1 4 bis BBCH 1 5 nach einer Vernalisationszeit von vier Wochen die größten Anteile vernalisierter Pflanzen festgestellt [1,169].

Eine weitere Möglichkeit die Blüteninduktion zu induzieren ist die Applikation von exogenen Phytohormonen [183], welche im Folgeversuch erläutert wird.

### 4.3 Blüteninduktion durch Applikation exogener Phytohormone

Im vorangegangenen Versuch wurde gezeigt, dass *Silphium perfoliatum* in der Lage ist durch einen initiierten Vernalisationsprozess durch gezielte Kälteapplikation das Stadium des generativen Wachstums zu erreichen. Eine Substitution dieses Verfahrens könnte durch eine Applikation exogener Pflanzenwachstumsregulatoren erfolgen, wodurch ein entsprechender Versuch legitimiert wird. Diese Wachstumsregulatoren sind in der Lage, die Entwicklung von Pflanzen unterschiedlichen Alters in verschiedene Richtungen durch Erhöhung der Gehalte in der Pflanze bzw. eine Veränderung der Verhältnisse antagonistisch wirkender Wachstumsregulatoren zu verändern [184]. So kann dies dazu führen, dass die Pflanzen ohne Vernalisationsreiz in das generative Wachstum gelangen, wodurch die Nutzung eines Kühlhauses und die damit einhergehenden Schwierigkeiten umgangen werden können. Als in Frage kommende Wachstumsregulatoren wurden einerseits Gibberellinsäure (GA<sub>3</sub>) in Betracht gezogen [183]. Andererseits wurde das Phytohormon Cytokinin (6BAP) in diesem Kontext untersucht, das ebenfalls die Blüte wie auch die Blütenarchitektur beeinflussen kann [185].

Gibberellinsäuren spielen in allen Stadien der pflanzlichen Entwicklung eine große Rolle [69,183,184]. Bezugnehmend auf die Einleitung der generativen Phase, regulieren Gibberelline einerseits das vegetative Längenwachstum der Sprossachse vieler Blüh- und Medizinalpflanzen [184]. Hierbei wird die Zellstreckung durch die aus der Gibberellinsäure-Biosynthese resultierende Stärkehydrolyse die Mobilisierung von Stärke in den Blättern durch eine erhöhte Amylaseaktivität verstärkt [186,187]. Andererseits wird durch den Gehalt von Gibberellinsäuren der Beginn und die Entwicklung der Blüte induziert und ist ausschlaggebend für die männliche und weibliche Fertilität, nicht aber für die Differenzierung der Blütenorgane von wesentlicher Bedeutung [188,189].

Cytokinine sind an nahezu allen Aspekten des Pflanzenwachstums und der Pflanzenentwicklung beteiligt und zu Teilen nicht vollständig erarbeitet [190]. Trotz der Aufklärung mehrerer Wege, die den Übergang vom vegetativen Wachstum zur Blüte in *Arabidopsis* regulieren [191,192], bleibt die Rolle der Cytokinine weiter unklar. Wiederholte exogene Gaben von Cytokinin aktivierten die Blüte an relativ alten vegetativen Pflanzen. Dies traf allerdings nicht auf Jungpflanzen zu [190,193–195].



### 4.3.1 Material und Methoden

In einem zweiten Versuch wurden Möglichkeiten der Infloreszenzinduktion durch Applikation exogener Wachstumsregulatoren an *Silphium perfoliatum* evaluiert.

#### 4.3.1.1 Akzessionsauswahl

Für diesen Versuch wurde eine Akzession von *Silphium perfoliatum* untersucht. Hierfür wurde auf einen Wildtyp aus dem südlichen Verbreitungsgebiet (SP26) zurückgegriffen [62].

#### 4.3.1.2 Samenerzeugung

Zu Beginn des Versuchs wurde durch händisches Bestäuben Populationssaatgut erzeugt. Die Herstellung des nötigen Saatgutes fand im geschützten Anbau im Gewächshaus statt. Hierzu wurde einige Tage vor Öffnung der Blüte ein feinmaschiger Netzbeutel über die Knospe gestülpt, um eine unbeabsichtigte Bestäubung durch Insekten zu vermeiden. Sobald die Naben der Zungenblüten einer Blüte freilagen, wurde unmittelbar vorher gesammelter Pollen derselben Akzession appliziert und so eine Bestäubung vorgenommen. Um eine Sekundärbestäubung durch Insekten zu vermeiden, wurde der Netzbeutel nach der Bestäubung erneut angebracht. Die Samenernte fand nach vollständiger Abreife der Samen statt.

#### 4.3.1.3 Herstellung geeigneten Pflanzenmaterials

Die für den Versuch benötigten Pflanzen wurden in Anzuchtplatten mit 40 mm Töpfen angezogen. Hierzu wurden die Samen im Vorfeld mit einer 0,05 prozentigen Gibberellinsäurelösung ( $GA_3$ ) für 12 Stunden bei 4 °C behandelt, um die Keimung zu katalysieren [28] und in einer Klimakammer bei 22 °C und einer Lichtintensität von  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  für 12 Stunden am Tag kultiviert. Nach der Entwicklung von zwei vollentwickelten Laubblättern wurden die Pflanzen vereinzelt und in Töpfen mit einem Volumen von zwei Litern im Gewächshaus bei einer Temperatur von 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx als konstante Zielgröße bis zum Achtblattstadium herangezogen (BBCH 14) [1].

Da hier von einer gewissen Entwicklungsstreuung auszugehen war und eine gewisse Homogenität im Ausgangsmaterial für den geplanten Versuch von Vorteil ist, wurden an dieser Stelle entsprechende Pflanzen selektiert.

#### 4.3.1.4 Applikation der Wachstumsregulatoren

Nach Erreichen des Achtblattstadiums (BBCH 1 4) [1], wurden die Pflanzen entsprechend ihrer zugeordneten Variante mittels eines homogenen Sprühnebels umfassend mit entsprechenden Wachstumsregulatoren und entsprechender Konzentration behandelt. Die Behandlung erfolgte in einem zu den anderen Versuchspflanzen isolierten Raum um unbeabsichtigte Aerosolkontakte zu vermeiden. Im Falle einer dreimaligen Applikation folgten diese mit 72-stündigem Abstand aufeinander.

#### 4.3.1.5 Untersuchte Varianten

Für die Applikation von Gibberellinsäure wurde GA<sub>3</sub> als Musterpräparat verwendet [186,187]. Als Cytokininderivat wurde 6-Bentylaminopurin (6BAP) angewendet [190].

Tabelle 10 - Varianten des Versuchs zur Substitution der Vernalisationsphase durch Applikation exogener Wachstumsregulatoren

Variante	Varianteninhalt	Konzentration	Applikationshäufigkeit
1	Kontrolle		
2	GA <sub>3</sub>	10 <sup>-5</sup> Mol/l	einfach
3	6BAP	10 <sup>-5</sup> Mol/l	einfach
4	GA <sub>3</sub>	10 <sup>-3</sup> Mol/l	einfach
5	6BAP	10 <sup>-3</sup> Mol/l	einfach
6	GA <sub>3</sub>	10 <sup>-5</sup> Mol/l	dreifach
7	6BAP	10 <sup>-5</sup> Mol/l	dreifach
8	GA <sub>3</sub>	10 <sup>-3</sup> Mol/l	dreifach
9	6BAP	10 <sup>-3</sup> Mol/l	dreifach
10	GA <sub>3</sub> + 6BAP	10 <sup>-5</sup> Mol/l + 10 <sup>-5</sup> Mol/l	einfach
11	GA <sub>3</sub> + 6BAP	10 <sup>-3</sup> Mol/l + 10 <sup>-3</sup> Mol/l	einfach
12	GA <sub>3</sub> + 6BAP	10 <sup>-5</sup> Mol/l + 10 <sup>-5</sup> Mol/l	dreifach
13	GA <sub>3</sub> + 6BAP	10 <sup>-3</sup> Mol/l + 10 <sup>-3</sup> Mol/l	dreifach

#### *4.3.1.6 Weiterkultur der Pflanzen im Gewächshaus*

Nach Behandlung der Versuchspflanzen wurden diese weiterhin unter Gewächshausbedingungen bei 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx für 12 Stunden am Tag als konstante Zielgröße für 10 Wochen weiterkultiviert. Nach Ablauf dieses Zeitraums wurde der Versuch beendet.

#### *4.3.1.7 Datenerhebung*

Für die Erfassung der Wachstumsparameter wurden in einem wöchentlichen Boniturintervall für 10 Wochen die Vitalität, das Schossen wie auch die beginnende Infloreszenz der Pflanze festgestellt.

#### *4.3.1.8 Datenverarbeitung*

Die erfassten Daten wurden variantenspezifisch aufgearbeitet. Hierbei wurde in erster Instanz neben der Vitalität nach der Applikation die generelle Fähigkeit der Pflanzen beleuchtet ein Sprosswachstum zu initiieren (BBCH Makrostadium 3 [1]). Im späteren Verlauf des Versuchs wurde die Infloreszenz evaluiert. Die statistischen Berechnungen basieren auf einem Konfidenzintervall von 95 %. Homogene Untergruppen wurden mittels des Tukey-Tests (Post-hoc-Test) ermittelt und durch entsprechende Buchstabenkombinationen in den Abbildungen gekennzeichnet.

### 4.3.2 Ergebnisse

Die Darstellungen beziehen sich auf einen Versuchsumfang von 24 Pflanzen je Variante.

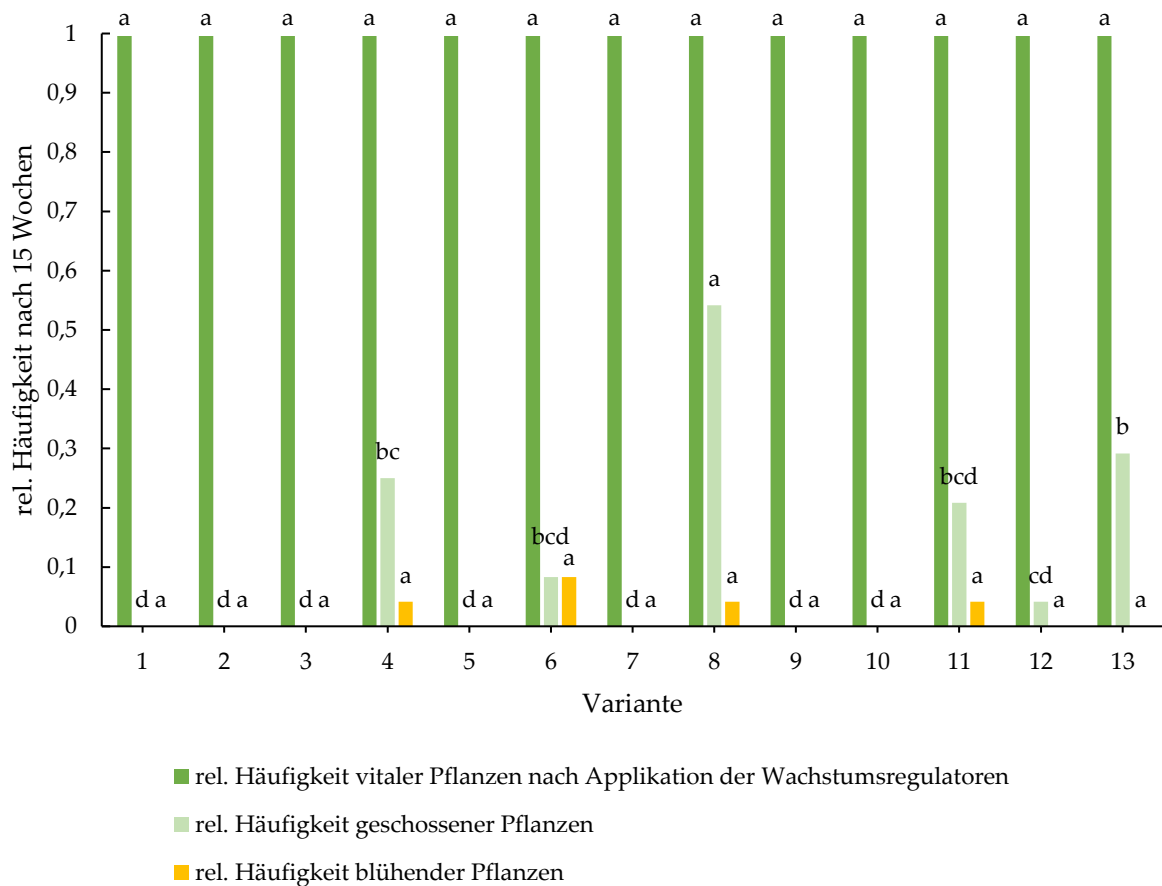


Abbildung 39 - Darstellung relevanter Versuchsergebnisse nach 10-wöchiger Kultur nach unterschiedlicher Vernalisationszeit von SP26; (n = 24). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Signifikanzniveau von 0,05. Die homogenen Untergruppen beziehen sich auf die jeweilige Darstellungskategorie.

Abbildung 39 zeigt die unterschiedlichen Varianten des Vernalisationssubstitutionsversuchs. Diese teilen sich jeweils in die relative Häufigkeit vitaler Pflanzen nach der Vernalisation, die relative Häufigkeit geschossener Pflanzen wie auch relative Häufigkeit blühender Pflanzen auf nach 10 Wochen in Kultur. Auf der Ordinate sind die entsprechenden relativen Häufigkeiten nach Versuchsablauf aufgetragen. Es wurde der Wildtyp SP26 verwendet. Die homogenen Untergruppen beziehen sich auf die jeweilige Kategorie. Die angegebenen homogenen Untergruppen beziehen sich auf die jeweilige Darstellungskategorie.

Die Ergebnisse zeigen in allen Varianten eine hundertprozentige Vitalität der Pflanzen. Es lagen an dieser Stelle keine signifikanten Unterschiede vor. Hiervon abweichend ist die relative Häufigkeit geschossener Pflanzen stark variierend. So zeigt Variante 8 eine relative

Häufigkeit von etwa 55% geschossener Pflanzen, die mindestens einen Trieb gebildet haben. Varianten 4, 11 und 13 beschreiben eine geringere relative Häufigkeit geschossener Pflanzen, die sich nicht signifikant voneinander unterscheiden und zwischen 20 % und 30% liegen. Varianten 6 und 12 zeigen relative Häufigkeiten von unter 10% geschossener Pflanzen. Alle übrigen Varianten wie auch die Kontrolle zeigen keine Reaktion auf die Applikation exogener Phytohormone. Es liegen trotz allem signifikante Unterschiede vor ( $p = 5,3 \times 10^{-18}$ ).

Varianten 4, 6, 8 und 11 zeigen relative Häufigkeiten blühender Pflanzen von unter 10%. Es liegt kein signifikanter Unterschied zu den Varianten, die keine Reaktion auf die Behandlung mit exogenen Phytohormonen erfahren haben, vor ( $p = 0,32$ ).

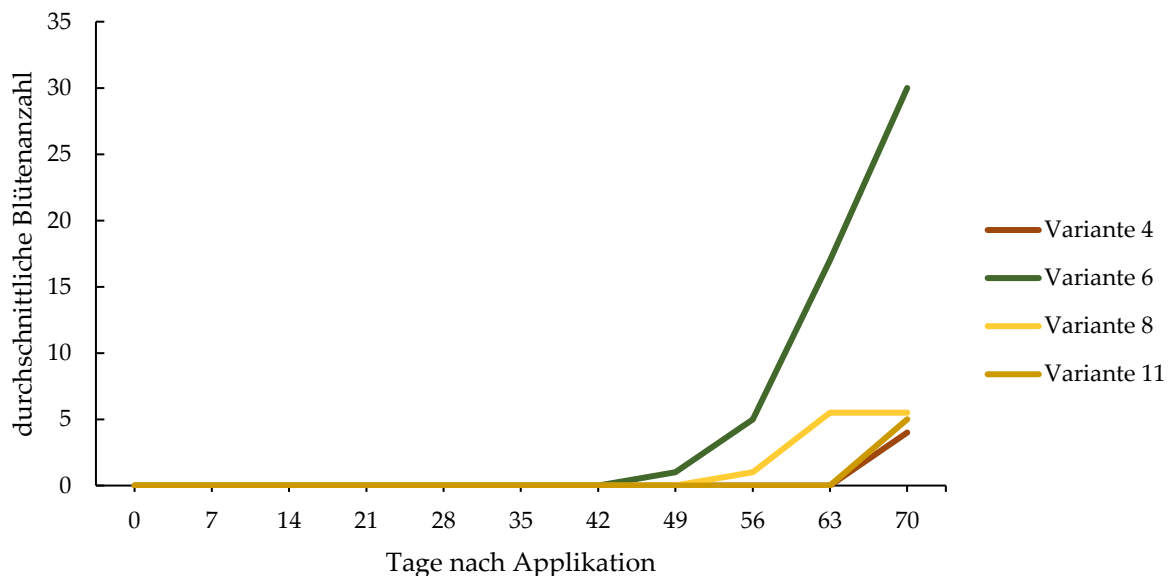


Abbildung 40 - Durchschnittliche Blütenanzahl von SP26 nach Applikation unterschiedlicher exogener Wachstumsregulatoren. (Die Abbildung zeigt lediglich die tatsächlich blütenbildenden Varianten.)

Abbildung 40 zeigt auf der Abszisse den Zeitverlauf über 10 Wochen nach Versuchsbeginn. Auf der Ordinate ist die jeweilige durchschnittliche aufsummierte Blütenanzahl des Wildtyps SP26 aufgetragen. Die unterschiedlichen Farben stellen die im Versuch betrachteten Varianten dar. Es sind lediglich die Pflanzen einbezogen worden, die das Blütenstadium erreicht haben, da andernfalls eine starke Verfälschung der durchschnittlichen Blütenanzahlen aufgetreten wäre.

Variante 6 zeigt 49 Tage nach Versuchsbeginn erste Blüten. Nach 70 Tagen sind durchschnittlich 32 Blüten gebildet worden. Variante 8 zeigt nach 56 Tagen erste Blüten. Nach

63 Tagen stagniert die Blütenbildung und verbleibt bei einer durchschnittlichen Blütenanzahl von 7. Variante 4 und 11 zeigen erste Blüten nach 70 Tagen. Variante 4 zeigt durchschnittlich vier Blüten; Variante 11 fünf.

#### 4.3.3 Diskussion

Bei Betrachtung von Abbildung 21 fällt auf, dass in allen Varianten sämtliche Versuchspflanzen nach der Applikation der Wachstumsregulatoren vital waren. Entsprechend lag die Vitalität unverändert bei 100 %. Dies zeigt, dass keine negative Wirkung durch die Applikation exogener Phytohormone auf die Vitalität der Pflanzen vorlag.

Varianten 4, 6, 8, 11, 12 und 13 zeigten eine Reaktion in Form einer Triebelongation auf die jeweilige Behandlung. Hierbei fällt auf, dass es ausschließlich Varianten, die Gibberellinsäure beinhaltende Varianten waren. Dies deutet darauf hin, dass die Applikation exogener Gibberellinsäure einen vergleichbaren Einfluss auf die Triebelongation aufweist, wie sie durch erfolgreiche Vernalisation erreicht werden kann. Vergleichbare Resultate wurden in vorangegangenen Studien erarbeitet [184,186,187]. Ferner führte eine erhöhte Gabe von GA<sub>3</sub> zu verstärktem Längenwachstum. Dies wurde ebenfalls von Jones und Kaufman (1983) beobachtet [196].

Varianten 2 und 10 zeigten vermutlich aufgrund ihrer geringen Aufwandmenge keine Reaktion auf die applizierten Phytohormone.

Eine Applikation von Cytokinin (6BAP) zeigte keine Reaktion in Form einer Zellstreckung im Trieb, was an den Varianten 3, 5, 7 und 9 zu erkennen ist. Allerdings führte eine gleichzeitige Applikation von Gibberellinsäure und Cytokinin zu einer Reduktion der relativen Häufigkeit elongierter Triebe, wodurch davon auszugehen ist, dass eine Hemmung der Zellelongation durch Cytokinin vorlag.

Eine Blütenbildung trat lediglich bei Varianten 4, 6, 8 und 11 auf. Die relativen Häufigkeiten der Blütenbildung waren allerdings deutlich niedriger als die relative Häufigkeit geschossener Pflanzen. Dies zeigte, dass die Blütenbildung nicht direkt mit der Triebelongation verknüpft ist. Eine Applikation von exogener Gibberellinsäure zeigte zwar eine zellstreckende Wirkung, jedoch ist die Blütenbildung bei allen Varianten lediglich schwach ausgeprägt. Dies widerspricht der These von Nover et al. (2008) [183], lässt sich allerdings mit der These von

Griffiths et al. (2006) erklären, die besagt, dass Gibberelline infloreszenzvorbereitende Prozesse einleiten, die eigentliche Blüte hingegen anderweitig induziert wird [188].

Abbildung 40 zeigt, dass Variante 6 70 Tagen nach Applikationsbeginn mit durchschnittlich 32 Blüten pro Pflanze die meisten Blüten ausbildete. Die Varianten 4, 8 und 11 zeigten eine deutlich geringere durchschnittliche Blütenanzahl. Da dies lediglich ein geringer Anteil der Versuchspflanzen gezeigt hat und kein signifikanter Unterschied zu allen weiteren Varianten vorliegt, wird hier auf eine weitere Mutmaßung verzichtet. Es würde an dieser Stelle weiterer Forschung bedürfen.

#### 4.4 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Durch gezielte Eingriffe in die Vernalisationsphase des Entwicklungszyklus von *Silphium perfoliatum* konnte eine maßgebliche Verkürzung der Generationszeit erarbeitet werden. Es wurden hierzu zwei Versuche durchgeführt.

Für die Evaluation der notwendigen Vernalisationsdauer von *Silphium perfoliatum* wurden zwei unterschiedliche Kultivare untersucht. SP26 als Wildtyp aus dem südlichen Bereich des Verbreitungsgebietes und TLL4 als kommerziell angebaute Akzession. Es wurden juvenile Pflanzen im Acht- bis Zehnblattstadium Kältebehandlungen unterschiedlicher Zeitspannen unterzogen um so die notwendige Vernalisationszeit zu evaluieren. Hierbei wurden signifikante Unterschiede bezüglich des Triebwachstums und dem Blühverhalten gezeigt. So zeigt eine 42-tägige Vernalisation bei 4 °C im Kühlhaus mit einer anschließenden Antriebsphase bei 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx für 12 Stunden die höchste relative Häufigkeit blühender Pflanzen. Kürzere wie auch längere Vernalisationsdauern zeigten hierbei jeweils geringere Neigungen in die Phase der generativen Entwicklung überzugehen. Hypothese 1 lässt sich somit bestätigen.

In einem Folgeversuch wurden Möglichkeiten evaluiert, durch die das Vernalisationsbedürfnis der Pflanzen übersprungen werden kann. Hierzu wurden juvenile Pflanzen der Akzession SP26 mit den Wachstumsregulatoren Gibberellinsäure (GA<sub>3</sub>) und Cytokinin (6BAP) behandelt. Hierdurch ließ sich bei einzelnen Varianten ein Triebwachstum induzieren. Allerdings wurde die generative Entwicklungsphase, die sich durch Blüten- und Samenbildung definiert lediglich unregelmäßig erreicht, sodass Hypothese 2 zu verwerfen ist. Es würde an dieser Stelle weiterer Forschung bedürfen.

Durch die Verkürzung der Vernalisationszeit auf ein Minimum lässt sich die Generationszeit maßgeblich verkürzen. Eine praktische Anwendung der erarbeiteten Methode bedarf noch weiterer Optimierung, wobei diese Arbeit gezeigt hat, dass eine künstlich herbeigeführte Vernalisation eine probate Möglichkeit zur Generationszeitverkürzung darstellt.



## 5. Gesamtfazit

Die Art *Silphium* spielt in der modernen Landwirtschaft eine immer größer werdende Rolle. Hierbei hat sich in der Vergangenheit *Silphium perfoliatum* als mehrjährige Biomassepflanze für die stoffliche Nutzung wie auch für die energetische Verwertung in Vergärungsanlagen im europäischen Raum etabliert. *Silphium integrifolium* wird im nord- wie auch südamerikanischen Raum primär für die Nutzung als mehrjährige Ölpflanze erforscht und bezüchtet. Beide Arten weisen hierbei neben vielversprechenden ökonomischen Leistungen ebenfalls große ökologische Vorteile auf. So wirkt die Kultur von *Silphium* durch den mehrjährigen Wuchs und das ausgeprägte Wurzelwerk sehr positiv auf das Bodengefüge. Durch die ausdauernde Blüte stellt die Art über dies eine üppige Nahrungsquelle für eine Vielzahl von Insekten und anderen Lebewesen dar.

Durch die Etablierung einer BBCH-Skala für *Silphium perfoliatum* und *Silphium integrifolium* wurde eine Möglichkeit geschaffen die Entwicklung beider Arten in einem hinreichenden Umfang zu beschreiben, zu vergleichen und eine eindeutige Definition des Entwicklungsstadiums zu definieren. Dies kann für den Anbau, die Nutzung wie auch die Züchtung von *Silphium* hilfreich sein.

Die Entwicklung des Pflanzenbestandes zeigte sich im Feldversuch relativ heterogen. Ferner birgt *Silphium* ein großes züchterisches Potenzial, was einen Züchtungsansatz für diese Wildpflanze legitimiert. Da sich der erste Generationszyklus von *Silphium* über zwei Jahre erstreckt, stellt dies eine große Hürde für etwaige Züchtungsansätze dar. Somit ist eine Verkürzung des Generationszyklus für die Züchtung der von *Silphium* von großer Bedeutung. So lässt sich die Generationszeit durch bestimmte Eingriffe in den natürlichen Entwicklungsablauf stark verkürzen. So lassen sich durch die Anwendung einer Embryokultur unreife Embryonen *in vitro* zu Jungpflanzen weiterentwickeln. Eine weitere Möglichkeit ist die Reduktion der notwendigen Vernalisationszeit auf ein Minimum.

Mit den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Methoden ließen sich der Anbau sowie die Züchtung von *Silphium* in einem gewissen Maße optimieren. Trotzdem ist diese Arbeit lediglich ein Stein im Mosaik aller Möglichkeiten die Inkulturnahme dieser vielversprechenden Kulturpflanze voranzutreiben.

## 6. Finanzierung

Diese Arbeit wurde durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe) durch das Projekt „Genius“ mit dem Förderkennzeichen 22025718 von Mai 2019 bis April 2022 finanziert.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Greve, M.; Korte, C.A.C.; Entrup, J.; Altrogge, H.; Bischoff, P.; Elfers, J.; Wever, C.; Pude, R. Evaluation of the Intra- and Interspecific Development of Different Accessions of *Silphium perfoliatum* L. and *Silphium integrifolium* Michx. *Agronomy* **2023**, *13*, 1601, doi:10.3390/agronomy13061601.
2. Sanderson, M.A.; Adler, P.R. Perennial forages as second generation bioenergy crops. *Int. J. Mol. Sci.* **2008**, *9*, 768–788, doi:10.3390/ijms9050768.
3. Wever, C.; van Tassel, D.L.; Pude, R. Third-Generation Biomass Crops in the New Era of De Novo Domestication. *Agronomy* **2020**, *10*, 1322, doi:10.3390/agronomy10091322.
4. Mayr, J.; Gansberger, M.; Leonhardt, C.; Moosbeckhofer, R.; Liebhard, P. Durchwachsene Silphie (*Silphium perfoliatum* L.) eine neue Energiepflanze in Österreich, **2013**.
5. van Tassel, D.L.; Albrecht, K.A.; Bever, J.D.; Boe, A.A.; Brandvain, Y.; Crews, T.E.; Gansberger, M.; Gerstberger, P.; González-Paleo, L.; Hulke, B.S.; et al. Accelerating Domestication: An Opportunity to Develop New Crop Ideotypes and Breeding Strategies Informed by Multiple Disciplines. *Crop Science* **2017**, *57*, 1274, doi:10.2135/cropsci2016.10.0834.
6. Clevinger, J.A. New combinations in *Silphium* (Asteraceae: Heliantheae) **2004**, 275–277.
7. Cumplido-Marin, L.; Graves, A.R.; Burgess, P.J.; Morhart, C.; Paris, P.; Jablonowski, N.D.; Facciotto, G.; Bury, M.; Martens, R.; Nahm, M. Two Novel Energy Crops: *Sida hermaphrodita* (L.) Rusby and *Silphium perfoliatum* L. — State of Knowledge. *Agronomy* **2020**, *10*, 928, doi:10.3390/agronomy10070928.
8. Mueller, A.L.; Dauber, J. Hoverflies (Diptera: Syrphidae) benefit from a cultivation of the bioenergy crop *Silphium perfoliatum* L. (Asteraceae) depending on larval feeding type, landscape composition and crop management. *Agr Forest Entomol* **2016**, *18*, 419–431, doi:10.1111/afe.12175.
9. Reinert, S.; van Tassel, D.L.; Schlautman, B.; Kane, N.C.; Hulke, B.S. Assessment of the biogeographical variation of seed size and seed oil traits in wild *Silphium integrifolium* Michx. genotypes. *Plant Genet. Resour.* **2019**, *17*, 427–436, doi:10.1017/S1479262119000248.
10. Stanfort, G. *Silphium perfoliatum* (Cup-plant), 1992.
11. Lengel, P.A. A Biosystematic Study of *Silphium integrifolium* Michx., *S. speciosum* Nutt. and *S. asperrimum* Hook., **1963**.
12. Settle, W.J. Biosystematic Studies in the Genus *Silphium* L. (Compositae): *Silphium integrifolium* Michaux., **1969**.
13. Gansberger, M.; Montgomery, L.F.; Liebhard, P. Botanical characteristics, crop management and potential of *Silphium perfoliatum* L. as a renewable resource for biogas production: A review. *Industrial Crops and Products* **2015**, *63*, 362–372, doi:10.1016/j.indcrop.2014.09.047.
14. Bauböck, R.; Karpenstein-Machan, M.; Kappas, M. Computing the biomass potentials for maize and two alternative energy crops, triticale and cup plant (*Silphium perfoliatum*

- L.), with the crop model BioSTAR in the region of Hannover (Germany). *Environ. Sci. Eur.* **2014**, *26*, 19, doi:10.1186/s12302-014-0019-0.
15. Peni, D.; Stolarski, M.J.; Bordiean, A.; Krzyżaniak, M.; Dębowski, M. *Silphium perfoliatum* – A Herbaceous Crop with Increased Interest in Recent Years for Multi-Purpose Use. *Agriculture* **2020**, *10*, 640, doi:10.3390/agriculture10120640.
  16. Zhang, X.; Xia, H.; Li, Z.; Zhuang, P.; Gao, B. Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101*, 2063–2066, doi:10.1016/j.biortech.2009.11.065.
  17. Emmerling, C. Impact of land-use change towards perennial energy crops on earthworm population. *Applied Soil Ecology* **2014**, *84*, 12–15, doi:10.1016/j.apsoil.2014.06.006.
  18. Schorpp, Q.; Schrader, S. Earthworm functional groups respond to the perennial energy cropping system of the cup plant (*Silphium perfoliatum* L.). *Biomass and Bioenergy* **2016**, *87*, 61–68, doi:10.1016/j.biombioe.2016.02.009.
  19. Schorpp, Q.; Müller, A.L.; Schrader, S.; Dauber, J. Agrarökologisches Potential der Durchwachsenen Silphie (*Silphium perfoliatum* L.) aus Sicht biologischer Vielfalt. 412-422 Seiten / *Journal für Kulturpflanzen*, Bd. 68 Nr. 12 (2016): Themenheft Durchwachsene Silphie **2016**, doi:10.5073/JFK.2016.12.12.
  20. Burmeister, J.; Walter, R. Untersuchungen zur ökologischen Wirkung der Durchwachsenen Silphie aus Bayern; *Verlag Eugen Ulmer*, 2016.
  21. Mueller, A.L.; Biertümpfel, A.; Friedritz, L.; Power, E.F.; Wright, G.A.; Dauber, J. Floral resources provided by the new energy crop, *Silphium perfoliatum* L. (Asteraceae). *Journal of Apicultural Research* **2020**, *59*, 232–245, doi:10.1080/00218839.2019.1668140.
  22. Westphal, C.; Steffan-Dewenter, I.; Tschardtke, T. Mass flowering crops enhance pollinator densities at a landscape scale. *Ecology Letters* **2003**, *6*, 961–965, doi:10.1046/j.1461-0248.2003.00523.x.
  23. Westphal, C.; Steffan-Dewenter, I.; Tschardtke, T. Foraging trip duration of bumblebees in relation to landscape-wide resource availability. *Ecological Entomology* **2006**, *31*, 389–394, doi:10.1111/j.1365-2311.2006.00801.x.
  24. Pan, G.; Ouyang, Z.; Luo, Q.; Yu, Q.; Wang, J. Water use patterns of forage cultivars in the North China Plain. *International Journal of Plant Production* **2011**, *5*, doi:10.22069/ijpp.2012.731.
  25. Haag, N.L.; Nägele, H.-J.; Reiss, K.; Biertümpfel, A.; Oechsner, H. Methane formation potential of cup plant (*Silphium perfoliatum*). *Biomass and Bioenergy* **2015**, *75*, 126–133, doi:10.1016/j.biombioe.2015.02.012.
  26. Frölich, W.; Brodmann, R.; Metzler, T. Die Durchwachsene Silphie (*Silphium perfoliatum* L.) – ein Erfolgsbericht aus der Praxis. 351-355 Seiten / *Journal für Kulturpflanzen*, Bd. 68 Nr. 12 (2016): Themenheft Durchwachsene Silphie **2016**, doi:10.5073/JFK.2016.12.01.
  27. Höller, M.; Lunze, A.; Wever, C.; Deutschle, A.L.; Stücker, A.; Frase, N.; Pestsova, E.; Spiess, A.C.; Westhoff, P.; Pude, R. Meadow hay, *Sida hermaphrodita* (L.) Rusby and *Silphium perfoliatum* L. as potential non-wood raw materials for the pulp and paper industry. *Industrial Crops and Products* **2021**, *167*, 113548, doi:10.1016/j.indcrop.2021.113548.

28. Gansberger, M. Germination characteristic of *Silphium perfoliatum* L. seeds; Austrian Agency for Health and Food Safety, Institute for Seed and Propagating Material, *Phytopsanitary Service and Apiculture*, **2017**, doi:10.1515/boku-2017-0007
29. Kowalski, R.; Kędzia, B. Antibacterial Activity of *Silphium perfoliatum*. Extracts. *Pharmaceutical Biology* **2007**, *45*, 494–500, doi:10.1080/13880200701389409.
30. Kowalski, R.; Wolski, T. The chemical composition of essential oils of *Silphium perfoliatum* L. *Flavour Fragr. J.* **2005**, *20*, 306–310, doi:10.1002/ffj.1418.
31. Lunze, A.; Heyman, B.; Chammakhi, Y.; Eichhorn, M.; Büchs, J.; Anders, N.; Spiess, A.C. Investigation of *Silphium perfoliatum* as Feedstock for a Liquid Hot Water–Based Biorefinery Process Towards 2,3-Butanediol. *Bioenerg. Res.* **2021**, *14*, 799–814, doi:10.1007/s12155-020-10194-9.
32. Mast, B.; Lemmer, A.; Oechsner, H.; Reinhardt-Hanisch, A.; Claupein, W.; Graeff-Hönninger, S. Methane yield potential of novel perennial biogas crops influenced by harvest date. *Industrial Crops and Products* **2014**, *58*, 194–203, doi:10.1016/j.indcrop.2014.04.017.
33. Chiriac, E.R.; Chițescu, C.L.; Sandru, C.; Geană, E.-I.; Lupoae, M.; Dobre, M.; Borda, D.; Gird, C.E.; Boscencu, R. Comparative Study of the Bioactive Properties and Elemental Composition of Red Clover (*Trifolium pratense*) and Alfalfa (*Medicago sativa*) Sprouts during Germination. *Applied Sciences* **2020**, *10*, 7249, doi:10.3390/app10207249.
34. Pichard, G. Management, production, and nutritional characteristics of cup-plant (*Silphium perfoliatum*) in temperate climates of southern Chile. *Cienc. Inv. Agr.* **2012**, *39*, 61–77, doi:10.4067/S0718-16202012000100005.
35. Biertümpfel, A. Verbundvorhaben: Erhöhung des Leistungspotenzials und der Konkurrenzfähigkeit der Durchwachsenen Silphie als Energiepflanze durch Züchtung und Optimierung des Anbauverfahrens: Teilvorhaben 2: "Optimierung des Anbauverfahrens und Bereitstellung von Selektionsmaterial" (*Abschlussbericht*)., **2013**.
36. Han, K.-J.; Albrecht, K.A. Substitution Value of Cup Plant (*Silphium perfoliatum* L.) Silage in Dairy Cow Diet. *JAS* **2021**, *13*, 1, doi:10.5539/jas.v13n11p1.
37. Moll, L.; Höller, M.; Hubert, C.; Korte, C.A.C.; Völkerling, G.; Wever, C.; Pude, R. Cup Plant (*Silphium perfoliatum* L.) Biomass as Substitute for Expanded Polystyrene in Bonded Leveling Compounds. *Agronomy* **2022**, *12*, 178, doi:10.3390/agronomy12010178.
38. Kowalska, G.; Pankiewicz, U.; Kowalski, R. Evaluation of Chemical Composition of Some *Silphium* L. Species as Alternative Raw Materials. *Agriculture* **2020**, *10*, 132, doi:10.3390/agriculture10040132.
39. Becker, A.; Peters, D.; Kemnitz, D. Anbau und Verwendung nachwachsender Rohstoffe in Deutschland **2023**.
40. Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen. Merkblatt zum Greening für das Jahr 2018. Verfügbar online: <https://www.landwirtschaftskammer.de/foerderung/formulare/merkblaetter/mb-sammelantrag-2018-greening.pdf>.
41. Clevinger, J.A. *Silphium integrifolium*. Verfügbar online: [http://floranorthamerica.org/Silphium\\_integrifolium](http://floranorthamerica.org/Silphium_integrifolium) (accessed on 1 February 2023).

42. Gibson, D.R.; Rowe, L.; Isaacs, R.; Landis, D.A. Screening Drought-Tolerant Native Plants for Attractiveness to Arthropod Natural Enemies in the U.S. Great Lakes Region. *Environ. Entomol.* **2019**, *48*, 1469–1480, doi:10.1093/ee/nvz134.
43. Grunwald, D.; Panten, K.; Schwarz, A.; Bischoff, W.-A.; Schittenhelm, S. Comparison of maize, permanent cup plant and a perennial grass mixture with regard to soil and water protection. *GCB Bioenergy* **2020**, *12*, 694–705, doi:10.1111/gcbb.12719.
44. Prasifka, J.R.; Peterson, K.; Mallinger, R.E.; van Tassel, D.L. Changes to architecture of *Silphium integrifolium* Michx. during domestication reveal new trade-offs for yield. *Crop Science* **2022**, *62*, 1060–1068, doi:10.1002/csc2.20737.
45. Kowalski, R. *Silphium* L. extracts – composition and protective effect on fatty acids content in sunflower oil subjected to heating and storage. *Food Chemistry* **2009**, *112*, 820–830, doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.038.
46. Vilela, A.E.; González-Paleo, L.; Ravetta, D.A.; Murrell, E.G.; van Tassel, D.L. Balancing Forage Production, Seed Yield, and Pest Management in the Perennial Sunflower *Silphium integrifolium* (Asteraceae). *Agronomy* **2020**, *10*, 1471, doi:10.3390/agronomy10101471.
47. Reinert, S.; Hulke, B.S.; Prasifka, J.R. Pest potential of *Neotephritis finalis* (Loew) on *Silphium integrifolium* Michx., *Silphium perfoliatum* L., and interspecific hybrids. *Agronomy Journal* **2020**, *112*, 1462–1465, doi:10.1002/agj2.20078.
48. Vilela, A.; González-Paleo, L.; Turner, K.; Peterson, K.; Ravetta, D.; Crews, T.; van Tassel, D. Progress and Bottlenecks in the Early Domestication of the Perennial Oilseed *Silphium integrifolium*, a Sunflower Substitute. *Sustainability* **2018**, *10*, 638, doi:10.3390/su10030638.
49. Kowalski, R. Growth and development of *Silphium integrifolium* in the first 3 years of cultivation. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **2004**, *32*, 389–395, doi:10.1080/01140671.2004.9514320.
50. DeHaan, L.; Larson, S.; López-Marqués, R.L.; Wenkel, S.; Gao, C.; Palmgren, M. Roadmap for Accelerated Domestication of an Emerging Perennial Grain Crop. *Trends Plant Sci.* **2020**, *25*, 525–537, doi:10.1016/j.tplants.2020.02.004.
51. Crain, J.; Bajgain, P.; Anderson, J.; Zhang, X.; DeHaan, L.; Poland, J. Enhancing Crop Domestication Through Genomic Selection, a Case Study of Intermediate Wheatgrass. *Front. Plant Sci.* **2020**, *11*, 319, doi:10.3389/fpls.2020.00319.
52. van Lammerts Bueren, E.T.; Struik, P.C.; van Eekeren, N.; Nuijten, E. Towards resilience through systems-based plant breeding. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **2018**, *38*, 42, doi:10.1007/s13593-018-0522-6.
53. Forster, B.P.; Till, B.J.; Ghanim, A.M.A.; Huynh, H.O.A.; Burstmayr, H.; Caligari, P.D.S. Accelerated plant breeding. *CABI Reviews* **2014**, *2014*, 1–16, doi:10.1079/PAVSNNR20149043.
54. Meier, U. Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen: BBCH *Monografie*, 2018.
55. Hack, H.; Bleiholder, H.; Buhr, L.; Meier, U.; Schnock-Fricke, E.; Weber, E.; Witzemberger, A. Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen. -Erweiterte BBCH-Skala, Allgemein-. *deutscher Pflanzenschutzdienst* **1992**, 265–270.

56. Greve, M.; Wever, C.; Korte, C.A.C.; Elfers, J.; Pude, R. Towards speeding up the breeding process of the perennial cup plant (*Silphium perfoliatum* L.). *Book of Abstracts, GPZ-Conference, Tulln, Austria* **2020**, 110.
57. Pieruschka, R.; Schurr, U. Plant Phenotyping: Past, Present, and Future. *Plant Phenomics* **2019**, 2019, 7507131, doi:10.34133/2019/7507131.
58. Wever, C.; Höller, M.; Becker, L.; Biertümpfel, A.; Köhler, J.; van Inghelandt, D.; Westhoff, P.; Pude, R.; Pestsova, E. Towards high-biomass yielding bioenergy crop *Silphium perfoliatum* L.: phenotypic and genotypic evaluation of five cultivated populations. *Biomass and Bioenergy* **2019**, 124, 102–113, doi:10.1016/j.biombioe.2019.03.016.
59. Zadoks, J.C.; Chang, T.T.; Konzak, C.F. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* **1974**, 14, 415–421.
60. Tottman, D.R.; Makepeace, R.J.; Broad, H. An explanation of the decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Ann Applied Biology* **1979**, 93, 221–234, doi:10.1111/j.1744-7348.1979.tb06534.x.
61. Meier, U. BBCH-Monographie: Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen, 2. Auflage; *Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, 2001.
62. Clevinger, J.A. *Silphium perfoliatum*. Available online: [http://floranorthamerica.org/Silphium\\_perfoliatum](http://floranorthamerica.org/Silphium_perfoliatum) (accessed on 1 February 2023).
63. Albrecht, Kenneth A., Goldstein, W. *Silphium perfoliatum*: A North American prairie plant with potential as a forage crop **1997**, 167–168.
64. Raduski, A.R.; Herman, A.; Pogoda, C.; Dorn, K.M.; van Tassel, D.L.; Kane, N.; Brandvain, Y. Patterns of genetic variation in a prairie wildflower, *Silphium integrifolium*, suggest a non-prairie origin and locally adaptive variation. *Am. J. Bot.* **2021**, 108, 145–158, doi:10.1002/ajb2.1603.
65. Assefa, T.; Wu, J.; Albrecht, K.A.; Johnson, P.J.; Boe, A. Genetic Variation for Biomass and Related Morphological Traits in Cup Plant (*Silphium perfoliatum* L.). *AJPS* **2015**, 06, 1098–1108, doi:10.4236/ajps.2015.68114.
66. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Agrarwissenschaftliche Fakultät. Standortbeschreibung: Boden. Verfügbar online: [https://www.aussenlabore.uni-bonn.de/cka/de/standort/copy\\_of\\_standortbeschreibung](https://www.aussenlabore.uni-bonn.de/cka/de/standort/copy_of_standortbeschreibung).
67. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Agrarwissenschaftliche Fakultät. Standort: Meteorologische Beschreibung. Verfügbar online: <https://www.aussenlabore.uni-bonn.de/cka/de/standort/wetterdaten>.
68. Talbot, M.; Milner, A.D.; Nutkins, M.A.E.; Law, J.R. Effect of interference between plots on yield performance in crop variety trials. *J. Agric. Sci.* **1995**, 124, 335–342, doi:10.1017/S0021859600073299.
69. Kadereit, J.W.; Körner, C.; Kost, B.; Sonnewald, U. *Strasburger – Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2014**, ISBN 978-3-642-54434-7.
70. Wang, M.; Li, W.; Fang, C.; Xu, F.; Liu, Y.; Wang, Z.; Yang, R.; Zhang, M.; Liu, S.; Lu, S.; et al. Parallel selection on a dormancy gene during domestication of crops from multiple families. *Nat. Genet.* **2018**, 50, 1435–1441, doi:10.1038/s41588-018-0229-2.

71. Pickersgill, B. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany* **2007**, *100*, 925–940, doi:10.1093/aob/mcm193.
72. Allaby, R.G. Domestication Syndrome in Plants. In *Encyclopedia of Global Archaeology*; Smith, C., Ed.; Springer New York: New York, NY, **2014**; pp 2182–2184, ISBN 978-1-4419-0426-3.
73. Gansberger, M.; Stüger, H.; Weinhappel, M.; Moder, K.; Liebhard, P.; Gehren, P. von; Mayr, J.; Ratzenböck, A. Seed germination in *Silphium perfoliatum* L. and *Sida hermaphrodita* L. and technological measures for its improvement. **2014**.
74. Reinert, S.; Money, K.L.; Rockstad, G.B.G.; Kane, N.C.; van Tassel, D.L.; Hulke, B.S. Two contrasting laboratory methods improve *Silphium integrifolium* Michx. germination rate to agronomically acceptable levels. *Euphytica* **2018**, *214*, doi:10.1007/s10681-018-2236-x.
75. Nasreen, S.; Khan, M.A.; Zia, Muhammad, Ishaque, Mehwish; Uddin, S.; Arshad, M.; Rizvi, Z.F. Response of sunflower to various pre-germination techniques for breaking seed dormancy. *Pakistan Journal of Botany* **2015**, 413–416.
76. Pude, R. Die Winterfestigkeit von Miscanthus in der Etablierungsphase. Zugl.: Bonn, Univ., Diss., 1997; *Wehle: Witterschlick/Bonn*, 1998, ISBN 3895730378.
77. Jablonowski, N.D.; Kollmann, T.; Nabel, M.; Damm, T.; Klose, H.; Müller, M.; Bläsing, M.; Seebold, S.; Krafft, S.; Kuperjans, I.; et al. Valorization of *Sida* (*Sida hermaphrodita*) biomass for multiple energy purposes. *GCB Bioenergy* **2017**, *9*, 202–214, doi:10.1111/gcbb.12346.
78. Schäfer, A. Verfahrenstechnische Optimierung der BestandeseTABlierung von Durchwachsener Silphie (*Silphium perfoliatum* L.) mittels Einzelkornsähtechnik unter Berücksichtigung der Korngeometrie: Dissertation; *Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Institut für Landtechnik*, **2019**.
79. Franzaring, J.; Schmid, I.; Bäuerle, L.; Gensheimer, G.; Fangmeier, A. Investigations on plant functional traits, epidermal structures and the ecophysiology of the novel bioenergy species *Sida hermaphrodita* Rusby and *Silphium perfoliatum* L. *Journal of Applied Botany and Food Quality* **2014**, 36–45, doi:10.5073/JABFQ.2014.087.006.
80. Titei, V. The Evaluation of Biomass of the *Sida hermaphrodita* and *Silphium perfoliatum* for Renewable Energy in Moldova **2017**.
81. Conrad, M., Biertümpfel, A. Abschlussbericht - Optimierung des Anbauverfahrens für Durchwachsene Silphie (*Silphium perfoliatum*) als Kofermentpflanze in Biogasanlagen sowie Überführung in die landwirtschaftliche Praxis. *Themenblatt-Nr. 42.32.430. Jena*. **2010**.
82. Kowalski, R.; Wolski, T. Characteristics of growth and development of *Silphium perfoliatum* L. in the first years cultivation. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska sectio III 9 Supplementum* **2001**, 311–317.
83. Schiffner, S.; Jungers, J.M.; van Tassel, D.; Smith, K.P.; Sheaffer, C.C. Seeding date affects seed and biomass yield of *Silphium integrifolium* Michx. (silflower). *NPJ* **2021**, *22*, 30–44, doi:10.3368/npj.22.1.30.
84. Titei, V.; Cîrlig, N.; Guțu, A. Some biological peculiarities and economic value of the cultivation of cup plant, *Silphium perfoliatum* L **2021**, doi:10.5281/zenodo.4431626.
85. Kowalska, G.; Baj, T.; Kowalski, R.; Hanif, M.A. Characteristics of Selected *Silphium* Species as Alternative Plants for Cultivation and Industry with Particular Emphasis on



- Research Conducted in Poland: A Review. *Sustainability* **2022**, *14*, 5092, doi:10.3390/su14095092.
86. Debieu, M.; Tang, C.; Stich, B.; Sikosek, T.; Effgen, S.; Josephs, E.; Schmitt, J.; Nordborg, M.; Koornneef, M.; Meaux, J. de. Co-variation between seed dormancy, growth rate and flowering time changes with latitude in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* **2013**, *8*, e61075, doi:10.1371/journal.pone.0061075.
  87. Lorenz, M.; Brunotte, J.; Vorderbrügge, T. Anpassung der Lasteinträge landwirtschaftlicher Maschinen an die Verdichtungsempfindlichkeit des Bodens - Grundlagen für ein bodenschonendes Befahren von Ackerland. *Landbauforschung - applied agricultural and forestry research* **2016**, 101–144, doi:10.3220/LBF1473334823000.
  88. Deutsches Maiskomitee e.V. Bestimmung Reifezahl. Available online: <https://www.maiskomitee.de/Produktion/Sorten/Bestimmung-Reifezahl>.
  89. Peni, D.; Dębowski, M.; Stolarski, M.J. Influence of the Fertilization Method on the *Silphium perfoliatum* Biomass Composition and Methane Fermentation Efficiency. *Energies* **2022**, *15*, 927, doi:10.3390/en15030927.
  90. Metzler & Brodmann saaten GmbH. Das Silphiefaserprojekt. Available online: <https://www.donau-silphie.de/faserprojekt/faserprojekt-1> (accessed on 6.11.22).
  91. Čater, M.; Zorec, M.; Marinšek Logar, R. Methods for Improving Anaerobic Lignocellulosic Substrates Degradation for Enhanced Biogas Production. *Springer Science Reviews* **2014**, *2*, 51–61, doi:10.1007/s40362-014-0019-x.
  92. Cossel, M. von; Amarysti, C.; Wilhelm, H.; Priya, N.; Winkler, B.; Hoerner, L. The replacement of maize (*Zea mays* L.) by cup plant (*Silphium perfoliatum* L.) as biogas substrate and its implications for the energy and material flows of a large biogas plant. *Biofuels, Bioprod. Bioref.* **2020**, *14*, 152–179, doi:10.1002/bbb.2084.
  93. Wanga, M.A.; Shimelis, H.; Mashilo, J.; Laing, M.D. Opportunities and challenges of speed breeding: A review. *Plant Breeding* **2021**, *140*, 185–194, doi:10.1111/pbr.12909.
  94. Watson, A.; Ghosh, S.; Williams, M.J.; Cuddy, W.S.; Simmonds, J.; Rey, M.-D.; Asyraf Md Hatta, M.; Hinchliffe, A.; Steed, A.; Reynolds, D.; et al. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. *Nat. Plants* **2018**, *4*, 23–29, doi:10.1038/s41477-017-0083-8.
  95. Chiurugwi, T.; Kemp, S.; Powell, W.; Hickey, L.T. Speed breeding orphan crops. *Theor. Appl. Genet.* **2019**, *132*, 607–616, doi:10.1007/s00122-018-3202-7.
  96. Reynolds, M.P.; Braun, H.-J. *Wheat Improvement*; Springer International Publishing: Cham, **2022**, ISBN 978-3-030-90672-6.
  97. Rutkoski, J.E.; Krause, M.R.; Sorrells, M.E. Breeding Methods: Line Development. In *Wheat Improvement*; Reynolds, M.P., Braun, H.-J., Eds.; Springer International Publishing: Cham, **2022**; pp 69–82, ISBN 978-3-030-90672-6.
  98. Vince-Prue, D. The duration of light and photoperiodic responses. In *Photomorphogenesis in plants*, 2nd ed.; Kendrick, R.E., Kronenberg, G.H.M., Eds.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht [et al.], 1998; pp 447–490, ISBN 978-0-7923-2551-2.
  99. Kouressy, M.; Dingkuhn, M.; Vaksman, M.; Heinemann, A.B. Adaptation to diverse semi-arid environments of sorghum genotypes having different plant type and sensitivity to photoperiod. *Agricultural and Forest Meteorology* **2008**, *148*, 357–371, doi:10.1016/j.agrformet.2007.09.009.

100. Saito, H.; Yuan, Q.; Okumoto, Y.; Doi, K.; Yoshimura, A.; Inoue, H.; Teraishi, M.; Tsukiyama, T.; Tanisaka, T. Multiple alleles at Early flowering 1 locus making variation in the basic vegetative growth period in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* **2009**, *119*, 315–323, doi:10.1007/s00122-009-1040-3.
101. Le Yang; Wang, D.; Xu, Y.; Zhao, H.; Wang, L.; Cao, X.; Chen, Y.; Chen, Q. A New Resistance Gene against Potato Late Blight Originating from *Solanum pinnatisectum* Located on Potato Chromosome 7. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 1729, doi:10.3389/fpls.2017.01729.
102. Ghosh, S.; Watson, A.; Gonzalez-Navarro, O.E.; Ramirez-Gonzalez, R.H.; Yanes, L.; Mendoza-Suárez, M.; Simmonds, J.; Wells, R.; Rayner, T.; Green, P.; et al. Speed breeding in growth chambers and glasshouses for crop breeding and model plant research. *Nat. Protoc.* **2018**, *13*, 2944–2963, doi:10.1038/s41596-018-0072-z.
103. Bhatta, M.; Sandro, P.; Smith, M.R.; Delaney, O.; Voss-Fels, K.P.; Gutierrez, L.; Hickey, L.T. Need for speed: manipulating plant growth to accelerate breeding cycles. *Current Opinion in Plant Biology* **2021**, *60*, 101986, doi:10.1016/j.pbi.2020.101986.
104. Hatfield, J.L.; Prueger, J.H. Temperature extremes: Effect on plant growth and development. *Weather and Climate Extremes* **2015**, *10*, 4–10, doi:10.1016/j.wace.2015.08.001.
105. McClung, C.R.; Lou, P.; Hermand, V.; Kim, J.A. The Importance of Ambient Temperature to Growth and the Induction of Flowering. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 1266, doi:10.3389/fpls.2016.01266.
106. Dubcovsky, J.; Loukoianov, A.; Fu, D.; Valarik, M.; Sanchez, A.; Yan, L. Effect of photoperiod on the regulation of wheat vernalization genes VRN1 and VRN2. *Plant Mol. Biol.* **2006**, *60*, 469–480, doi:10.1007/s11103-005-4814-2.
107. Yan, L.; Loukoianov, A.; Blechl, A.; Tranquilli, G.; Ramakrishna, W.; SanMiguel, P.; Bennetzen, J.L.; Echenique, V.; Dubcovsky, J. The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science* **2004**, *303*, 1640–1644, doi:10.1126/science.1094305.
108. Anjum, S.A.; Ashraf, U.; Zohaib, A.; Tanveer, M.; Naeem, M.; Ali, I.; Tabassum, T.; Nazir, U. Growth and developmental responses of crop plants under drought stress: a review. *Zemdirbyste-Agriculture* **2017**, *104*, 267–276, doi:10.13080/z-a.2017.104.034.
109. Hussain, H.A.; Hussain, S.; Khaliq, A.; Ashraf, U.; Anjum, S.A.; Men, S.; Wang, L. Chilling and Drought Stresses in Crop Plants: Implications, Cross Talk, and Potential Management Opportunities. *Front. Plant Sci.* **2018**, *9*, 393, doi:10.3389/fpls.2018.00393.
110. Shavrukov, Y.; Kurishbayev, A.; Jatayev, S.; Shvidchenko, V.; Zotova, L.; Koekemoer, F.; Groot, S. de; Soole, K.; Langridge, P. Early Flowering as a Drought Escape Mechanism in Plants: How Can It Aid Wheat Production? *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 1950, doi:10.3389/fpls.2017.01950.
111. Vadez, V.; Hash, T.; Bidinger, F.R.; Kholova, J. II.1.5 Phenotyping pearl millet for adaptation to drought. *Front. Physiol.* **2012**, *3*, 386, doi:10.3389/fphys.2012.00386.
112. Warnasooriya, S.N.; Brutnell, T.P. Enhancing the productivity of grasses under high-density planting by engineering light responses: from model systems to feedstocks. *J. Exp. Bot.* **2014**, *65*, 2825–2834, doi:10.1093/jxb/eru221.

113. Bermejo, C.; Gatti, I.; Cointry, E. In vitro embryo culture to shorten the breeding cycle in lentil (*Lens culinaris* Medik). *Plant Cell Tiss Organ Cult* **2016**, *127*, 585–590, doi:10.1007/s11240-016-1065-7.
114. Mobini, S.; Khazaei, H.; Warkentin, T.D.; Vandenberg, A. Shortening the generation cycle in faba bean (*Vicia faba*) by application of cytokinin and cold stress to assist speed breeding. *Plant Breeding* **2020**, *139*, 1181–1189, doi:10.1111/pbr.12868.
115. Ochatt, S.J.; Sangwan, R.S.; Marget, P.; Assoumou Ndong, Y.; Rancillac, M.; Perney, P. New approaches towards the shortening of generation cycles for faster breeding of protein legumes. *Plant Breeding* **2002**, *121*, 436–440, doi:10.1046/j.1439-0523.2002.746803.x.
116. Mohammed, A.H.; Morrison, J.I.; Baldwin, B.S. Interspecific crosses between domestic and wild barley and embryo rescue to overcome sexual incompatibilities. *Agrosystems Geosci & Env* **2020**, *3*, doi:10.1002/agg2.20130.
117. Zheng, Z.; Wang, H.B.; Chen, G.D.; Yan, G.J.; Liu, C.J. A procedure allowing up to eight generations of wheat and nine generations of barley per annum. *Euphytica* **2013**, *191*, 311–316, doi:10.1007/s10681-013-0909-z.
118. Cha, J.; O'Connor, K.; Alahmad, S.; Lee, J.; Dinglasan, E.; Park, H.; Lee, S.; Hirsz, D.; Kwon, S.; Kwon, Y.; et al. A new protocol for speed vernalisation of winter cereals; *Biorxiv* (Preprint), **2021**.
119. Shen, X.; Gmitter, F.G.; Grosser, J.W. Immature embryo rescue and culture. *Methods Mol. Biol.* **2011**, *710*, 75–92, doi:10.1007/978-1-61737-988-8\_7.
120. Bridgen, M.P. A review of plant embryo culture **1994**, *29*, 1243–1246.
121. Sharma, D.R.; Kaur, R.; Kumar, K. Embryo rescue in plants—a review. *Euphytica* **1996**, *89*, 325–337, doi:10.1007/BF00022289.
122. Pierik, R.L.M. *In Vitro Culture of Higher Plants*; Springer Netherlands: Dordrecht, 1997, ISBN 978-0-7923-4527-5.
123. Williams, E.G.; Maheswaran, G.; Hutchinson, J.F. Embryo and Ovule Culture in Crop Improvement. In *Plant Breeding Reviews*; Janick, J., Ed.; Wiley, **1987**; pp 181–236, ISBN 9781118064436.
124. Vilorio, Z.; Grosser, J.W.; Bracho, B. Immature embryo rescue, culture and seedling development of acid citrus fruit derived from interplod hybridization. *Plant Cell Tiss Organ Cult* **2005**, *82*, 159–167, doi:10.1007/s11240-005-0153-x.
125. Raghavan, V. One hundred years of zygotic embryo culture investigations. *In Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant* **2003**, *39*, 437–442, doi:10.1079/IVP2003436.
126. Collins, G.B.; Grosser, J.W. Culture of embryo. I. *K. Vasil led.*, *Cell culture and Somatic Cell Genetics of Plant*, vol. 1 **1984**, 241–257.
127. Murashige, T.; Skoog, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* **1962**, *15*, 473–497, doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
128. Gamborg, O.L.; Miller, R.A.; Ojima, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* **1968**, *50*, 151–158, doi:10.1016/0014-4827(68)90403-5.
129. Koornneef, M.; Bentsink, L.; Hilhorst, H. Seed dormancy and germination. *Current Opinion in Plant Biology* **2002**, *5*, 33–36, doi:10.1016/S1369-5266(01)00219-9.
130. Penfield, S. Seed dormancy and germination. *Curr. Biol.* **2017**, *27*, R874–R878, doi:10.1016/j.cub.2017.05.050.

131. Cohn, M.A. Seed development, dormancy and germination. *Annual Plant Reviews*, Volume 27. *Annals of Botany* **2008**, *102*, 877–878, doi:10.1093/aob/mcn167.
132. Bewley, J.D.; Black, M. Seeds. In *Seeds: Physiology of development and germination*, 2nd ed.; Bewley, J.D., Black, M., Eds.; Plenum Press: New York, **1994**; pp 1–33, ISBN 978-0-306-44748-8.
133. Brunick, R.L. Seed dormancy in domesticated and wild sunflowers (*Helianthus annuus* L.): types, longevity and QTL discovery. Doctoral Dissertation. *Oregon State University* **2007**.
134. Werker, E. Seed dormancy as explained by the anatomy of embryo envelopes. *Israel Journal of Plant Sciences* **1980**, *22–44*, doi:10.1080/0021213X.1980.10676874.
135. Kelly, K.M.; van Staden, J.; Bell, W.E. Seed coat structure and dormancy. *Plant Growth Regul* **1992**, *11*, 201–209, doi:10.1007/BF00024559.
136. Bewley, J.D.; Black, M. *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **1982**, ISBN 978-3-642-68645-0.
137. Karssen, C.M.; Zagroski, S.; Kepczynski, J.; GROOT, S.P.C. Key Role for Endogenous Gibberellins in the Control of Seed Germination. *Annals of Botany* **1989**, *63*, 71–80, doi:10.1093/oxfordjournals.aob.a087730.
138. Finkelstein, R.R.; Gampala, S.S.L.; Rock, C.D. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell* **2002**, *14 Suppl*, S15–45, doi:10.1105/tpc.010441.
139. Le Page-Degivry, M.T.; Garello, G. In Situ Abscisic Acid Synthesis : A Requirement for Induction of Embryo Dormancy in *Helianthus annuus*. *Plant Physiol.* **1992**, *98*, 1386–1390, doi:10.1104/pp.98.4.1386.
140. Seo, M.; Hanada, A.; Kuwahara, A.; Endo, A.; Okamoto, M.; Yamauchi, Y.; North, H.; Marion-Poll, A.; Sun, T.-P.; Koshiba, T.; et al. Regulation of hormone metabolism in Arabidopsis seeds: phytochrome regulation of abscisic acid metabolism and abscisic acid regulation of gibberellin metabolism. *Plant J.* **2006**, *48*, 354–366, doi:10.1111/j.1365-313X.2006.02881.x.
141. Debeaujon, I.; Koornneef, M. Gibberellin requirement for Arabidopsis seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid. *Plant Physiol.* **2000**, *122*, 415–424, doi:10.1104/pp.122.2.415.
142. Debeaujon, I.; Léon-Kloosterziel, K.M.; Koornneef, M. Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in Arabidopsis. *Plant Physiol.* **2000**, *122*, 403–414, doi:10.1104/pp.122.2.403.
143. Lee, K.P.; Piskurewicz, U.; Turecková, V.; Strnad, M.; Lopez-Molina, L. A seed coat bedding assay shows that RGL2-dependent release of abscisic acid by the endosperm controls embryo growth in Arabidopsis dormant seeds. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 19108–19113, doi:10.1073/pnas.1012896107.
144. Yan, D.; Duermeyer, L.; Leoveanu, C.; Nambara, E. The functions of the endosperm during seed germination. *Plant Cell Physiol.* **2014**, *55*, 1521–1533, doi:10.1093/pcp/pcu089.
145. Ishibashi, Y.; Aoki, N.; Kasa, S.; Sakamoto, M.; Kai, K.; Tomokiyo, R.; Watabe, G.; Yuasa, T.; Iwaya-Inoue, M. The Interrelationship between Abscisic Acid and Reactive Oxygen Species Plays a Key Role in Barley Seed Dormancy and Germination. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 275, doi:10.3389/fpls.2017.00275.

146. El-Maarouf-Bouteau, H.; Sajjad, Y.; Bazin, J.; Langlade, N.; Cristescu, S.M.; Balzergue, S.; Baudouin, E.; Bailly, C. Reactive oxygen species, abscisic acid and ethylene interact to regulate sunflower seed germination. *Plant Cell Environ.* **2015**, *38*, 364–374, doi:10.1111/pce.12371.
147. Vigliocco, A.E.; Andrade, A.M.; Lindström, L.I.; Alemano, S.G. Dormancy in sunflower line A-3: the role of the pericarp. *Botany* **2017**, *95*, 853–858, doi:10.1139/cjb-2016-0272.
148. Karl, R.; Rüdiger, W. Natürliche Hemmstoffe von Keimung und Wachstum, Ausarbeitung eines quantitativen Biotests und Anwendung auf Extrakte aus Spelzen von *Avena sativa* L. *Naturforsch* **1982**, 793–801.
149. Lohaus, E.; Bloss, I.; Schäfer, W.; Rüdiger, W. Natürliche Hemmstoffe von Keimung und Wachstum II Isolierung und Struktur von Hemmstoffen aus *Avena sativa* L. *Naturforsch* **1982**, 802–811.
150. Karssen, C.M.; Brinkhorst-van der Swan, D.L.; Breekland, A.E.; Koornneef, M. Induction of dormancy during seed development by endogenous abscisic acid: studies on abscisic acid deficient genotypes of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Planta* **1983**, *157*, 158–165, doi:10.1007/BF00393650.
151. Kucera, B.; Cohn, M.A.; Leubner-Metzger, G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci. Res.* **2005**, *15*, 281–307, doi:10.1079/SSR2005218.
152. Linkies, A.; Leubner-Metzger, G. Beyond gibberellins and abscisic acid: how ethylene and jasmonates control seed germination. *Plant Cell Rep.* **2012**, *31*, 253–270, doi:10.1007/s00299-011-1180-1.
153. Hilhorst, H.W.M.; Karssen, C.M. Seed dormancy and germination: the role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. *Plant Growth Regul* **1992**, *11*, 225–238, doi:10.1007/BF00024561.
154. Piskurewicz, U.; Jikumaru, Y.; Kinoshita, N.; Nambara, E.; Kamiya, Y.; Lopez-Molina, L. The gibberellic acid signaling repressor RGL2 inhibits Arabidopsis seed germination by stimulating abscisic acid synthesis and ABI5 activity. *Plant Cell* **2008**, *20*, 2729–2745, doi:10.1105/tpc.108.061515.
155. Piskurewicz, U.; Lopez-Molina, L. The GA-signaling repressor RGL3 represses testa rupture in response to changes in GA and ABA levels. *Plant Signal. Behav.* **2009**, *4*, 63–65, doi:10.4161/psb.4.1.7331.
156. Kusumoto, D.; Chae, S.H.; Mukaida, K.; Yoneyama, K.; Yoneyama, K.; Joel, D.M.; Takeuchi, Y. Effects of Fluridone and Norflurazon on Conditioning and Germination of *Striga asiatica* Seeds. *Plant Growth Regul* **2006**, *48*, 73–78, doi:10.1007/s10725-005-4746-5.
157. Hedden, P.; Graebe, J.E. Inhibition of gibberellin biosynthesis by paclobutrazol in cell-free homogenates of *Cucurbita maxima* endosperm and *Malus pumila* embryos. *J Plant Growth Regul* **1985**, *4*, 111–122, doi:10.1007/BF02266949.
158. Huarte, H.R.; Benech-Arnold, R.L. Hormonal nature of seed responses to fluctuating temperatures in *Cynara cardunculus* (L.). *Seed Sci. Res.* **2010**, *20*, 39–45, doi:10.1017/S0960258509990249.
159. Chen, Q.L.; Gou, Y.; Jiang, Y.; Tu, P. Mechanism of fluridone-induced seed germination of *Cistanche tubulosa* **2016**, 971–976.

160. Lando, A.P.; Viana, W.G.; Da Silva, R.A.; Costa, C.D.D.; Fraga, H.P.F.; Santos, M.; Mioto, P.T.; Guerra, M.P.; Steiner, N. The Physiological Relationship Between Abscisic Acid and Gibberellin During Seed Germination of *Trichocline catharinensis* (Asteraceae) Is Associated with Polyamine and Antioxidant Enzymes. *J Plant Growth Regul* **2020**, *39*, 395–410, doi:10.1007/s00344-019-09990-1.
161. Walia, N.; Kaur, A.; Babbar, S.B. Proliferation and differentiation from endosperms of *Carthamus tinctorius*. *Biologia plant.* **2007**, *51*, 749–753, doi:10.1007/s10535-007-0153-2.
162. Wang, Y.; Li, L.; Ye, T.; Zhao, S.; Liu, Z.; Feng, Y.-Q.; Wu, Y. Cytokinin antagonizes ABA suppression to seed germination of Arabidopsis by downregulating ABI5 expression. *Plant J.* **2011**, *68*, 249–261, doi:10.1111/j.1365-313X.2011.04683.x.
163. Stirk, W.A.; Gold, J.D.; Novák, O.; Strnad, M.; van Staden, J. Changes in Endogenous Cytokinins During Germination and Seedling Establishment of *Tagetes minuta* L. *Plant Growth Regul* **2005**, *47*, 1–7, doi:10.1007/s10725-005-1767-z.
164. Chiwocha, S.D.S.; Cutler, A.J.; Abrams, S.R.; Ambrose, S.J.; Yang, J.; Ross, A.R.S.; Kermode, A.R. The *etr1-2* mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist-chilling and germination. *Plant J.* **2005**, *42*, 35–48, doi:10.1111/j.1365-313X.2005.02359.x.
165. Nikolić, R.; Mitić, N.; Miletić, R.; Nešković, M. Effects of Cytokinins on *In Vitro* Seed Germination and Early Seedling Morphogenesis in *Lotus corniculatus* L. *J Plant Growth Regul* **2006**, *25*, 187–194, doi:10.1007/s00344-005-0129-4.
166. Corbineau, F.; Xia, Q.; Bailly, C.; El-Maarouf-Bouteau, H. Ethylene, a key factor in the regulation of seed dormancy. *Front. Plant Sci.* **2014**, *5*, 539, doi:10.3389/fpls.2014.00539.
167. Kepczyński, J.; Kepczyńska, E. Reversing the inhibitory effect of paclobutrazol on seed germination of *Amaranthus paniculatus* by GA<sub>3</sub>, ethephon or ACC. *Plant Growth Regul* **1988**, *7*, 47–52, doi:10.1007/BF00121689.
168. Goggin, D.E.; Steadman, K.J.; Emery, R.J.N.; Farrow, S.C.; Benech-Arnold, R.L.; Powles, S.B. ABA inhibits germination but not dormancy release in mature imbibed seeds of *Lolium rigidum* Gaud. *J. Exp. Bot.* **2009**, *60*, 3387–3396, doi:10.1093/jxb/erp175.
169. Chen, Y. Shortening *Silphium integrifolium* Juvenility and Establishing a Sterilization Protocol for Micropropagation; *University of Minnesota Digital Conservancy*, **2021**.
170. Chouard, P. Vernalization and its Relations to Dormancy. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* **1960**, *11*, 191–238, doi:10.1146/annurev.pp.11.060160.001203.
171. Glover, B. (O.P.S.A.E.) Understanding flowers and flowering second edition; *Oxford University Press*, **2014**, ISBN 9780199661602.
172. Amasino, R. Vernalization, competence, and the epigenetic memory of winter. *Plant Cell* **2004**, *16*, 2553–2559, doi:10.1105/tpc.104.161070.
173. Bernier, G.; Périlleux, C. A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnol. J.* **2005**, *3*, 3–16, doi:10.1111/j.1467-7652.2004.00114.x.
174. Sung, S.; Amasino, R.M. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Current Opinion in Plant Biology* **2004**, *7*, 4–10, doi:10.1016/j.pbi.2003.11.010.
175. Michaels, S.D.; Amasino, R.M. Memories of winter: vernalization and the competence to flower. *Plant Cell Environ.* **2000**, *23*, 1145–1153, doi:10.1046/j.1365-3040.2000.00643.x.

176. Leijten, W.; Koes, R.; Roobeek, I.; Frugis, G. Translating Flowering Time From *Arabidopsis thaliana* to Brassicaceae and Asteraceae Crop Species. *Plants (Basel)* **2018**, *7*, doi:10.3390/plants7040111.
177. Engelen-Eigles, G.; Erwin, J.E. A model plant for vernalization studies. *Scientia Horticulturae* **1997**, *70*, 197–202, doi:10.1016/S0304-4238(97)00037-X.
178. Lang, A. The Effect of Gibberellin upon Flower Formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1957**, *43*, 709–717, doi:10.1073/pnas.43.8.709.
179. Lee, J.; Kang, Myeong, H.; Kim, J.Y.; Lim, P.O. The Role of Light and Circadian Clock in Regulation of Leaf Senescence. *Front. Plant Sci.* **2021**, *12*, 669170, doi:10.3389/fpls.2021.669170.
180. Iqbal, N.; Khan, N.A.; Ferrante, A.; Trivellini, A.; Francini, A.; Khan, M.I.R. Ethylene Role in Plant Growth, Development and Senescence: Interaction with Other Phytohormones. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 475, doi:10.3389/fpls.2017.00475.
181. Gregory, F.G.; Purvis, O.N. Devernalization of Winter Rye by High Temperature. *Nature* **1936**, *138*, 1013–1014, doi:10.1038/1381013b0.
182. Nakamura, Y.; Andrés, F.; Kanehara, K.; Liu, Y.; Dörmann, P.; Coupland, G. Arabidopsis florigen FT binds to diurnally oscillating phospholipids that accelerate flowering. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 3553, doi:10.1038/ncomms4553.
183. Nover, L.; Weiler, E.W.; Kuhn, W. Allgemeine und molekulare Botanik, 1. Auflage; Thieme: Stuttgart, **2008**, ISBN 9783131527912.
184. Paramita Mishra, P.; Pandey, G.; Kumura, A.; Naik, R.; Pujahari, L.P. Effect of Foliar Application of Gibberellic Acid (GA<sub>3</sub>) Concentrations and Spraying Frequencies on Vegetative and Floral Attributes of China aster [*Callistephus chinensis* (L.) Nees.]. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* **2018**, *7*, 1889–1894, doi:10.20546/ijcmas.2018.701.227.
185. Schwarz, I.; Scheirlinck, M.-T.; Otto, E.; Bartrina, I.; Schmidt, R.-C.; Schmülling, T. Cytokinin regulates the activity of the inflorescence meristem and components of seed yield in oilseed rape. *J. Exp. Bot.* **2020**, *71*, 7146–7159, doi:10.1093/jxb/eraa419.
186. Kaur, S.; Gupta, A.K.; Kaur, N. Effect of GA<sub>3</sub>, kinetin and indole acetic acid on carbohydrate metabolism in chickpea seedlings germinating under water stress. *Plant Growth Regul* **2000**, *30*, 61–70, doi:10.1023/A:1006371219048.
187. Ardalani, H.; Hadipanah, A.; Pourrezvani, S.M. Foliar Application Gibberellic acid and ethanol on flower yield and phenolic compositions in marigold (*Callendula officinalis* L.). *Electronic Journal of Biology* **2014**, 73–78.
188. Griffiths, J.; Murase, K.; Rieu, I.; Zentella, R.; Zhang, Z.-L.; Powers, S.J.; Gong, F.; Phillips, A.L.; Hedden, P.; Sun, T.-P.; et al. Genetic characterization and functional analysis of the GID1 gibberellin receptors in Arabidopsis. *Plant Cell* **2006**, *18*, 3399–3414, doi:10.1105/tpc.106.047415.
189. Gupta, R.; Chakrabarty, S.K. Gibberellic acid in plant: still a mystery unresolved. *Plant Signal. Behav.* **2013**, *8*, doi:10.4161/psb.25504.
190. D'Aloia, M.; Bonhomme, D.; Bouché, F.; Tamseddak, K.; Ormenese, S.; Torti, S.; Coupland, G.; Périlleux, C. Cytokinin promotes flowering of Arabidopsis via transcriptional activation of the FT paralogue TSF. *Plant J.* **2011**, *65*, 972–979, doi:10.1111/j.1365-313X.2011.04482.x.

191. Amasino, R. Seasonal and developmental timing of flowering. *Plant J.* **2010**, *61*, 1001–1013, doi:10.1111/j.1365-313X.2010.04148.x.
192. Fornara, F.; Montaigu, A. de; Coupland, G. SnapShot: Control of flowering in *Arabidopsis*. *Cell* **2010**, *141*, 550, 550.e1-2, doi:10.1016/j.cell.2010.04.024.
193. Michniewicz, M.; Kamińska, A. Flower formation induced by kinetin and vitamin E treatment in long-day plant (*Arabidopsis thaliana*) grown in short day. *Naturwissenschaften* **1965**, *52*, 623, doi:10.1007/BF00622145.
194. Besnard-Wibaut, C. Effectiveness of gibberellins and 6-benzyladenine on flowering of *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum* **1981**, *53*, 205–212, doi:10.1111/j.1399-3054.1981.tb04488.x.
195. Dennis, E.S.; Finnegan, E.J.; Bilodeau, P.; Chaudhury, A.; Genger, R.; Helliwell, C.A.; Sheldon, C.C.; Bagnall, D.J.; Peacock, W.J. Vernalization and the initiation of flowering. *Seminars in Cell & Developmental Biology* **1996**, *7*, 441–448, doi:10.1006/scdb.1996.0055.
196. Jones, R.L.; Kaufman, P.B. The role of gibberellins in plant cell elongation. *Critical Reviews in Plant Sciences* **1983**, *1*, 23–47, doi:10.1080/07352688309382170.



## 8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 - Klimatische Bedingungen über den Versuchszeitraum von April 2020 bis November 2021 .....	13
Abbildung 2 - Heatmap der Keimverhalten von <i>Silphium perfoliatum</i> (SP) und <i>Silphium integrifolium</i> (SI) in einem Rhizotrons-system über einen Zeitraum von 30 Tagen. Die Heatmap SP zeigt das Keimverhalten der beiden Akzessionen <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS); die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil); (n=50). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständigen Ausprägung des entsprechenden Merkmals. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsgrades wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die klimatischen Bedingungen wurden dem entsprechenden Klima im Feldversuch angepasst. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe. ....	19
Abbildung 3 - Heatmap der Rosettennodienentwicklung im Jahr der Etablierung von <i>Silphium perfoliatum</i> (SP) und <i>Silphium integrifolium</i> (SI) von 34 bis 244 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die Rosettenentwicklung im ersten Jahr beider Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS); die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil); (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständig entwickelten Rosettennodien. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsgrades wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen weisen auf einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den dargestellten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt hin, mit einem Konfidenzniveau von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe. ....	20
Abbildung 4 - Heatmap der Sprossnodienentwicklung von <i>Silphium perfoliatum</i> (SP) und <i>Silphium integrifolium</i> (SI) von 111 bis 265 Tagen nach Aussaat. Heatmap SP zeigt die Triebentwicklung des ersten Jahres beider Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS); Heatmap SI zeigt das Äquivalent beider Akzessionen von <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil); (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständig entwickelten Triebnodien. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsgrades wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen weisen auf einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den dargestellten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt hin, mit einem Konfidenzintervall von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe. ....	22
Abbildung 5 - Heatmap des Zeitraums der generativen Entwicklung von <i>Silphium perfoliatum</i> (SP) und <i>Silphium integrifolium</i> (SI) von 146 bis 307 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die generative Entwicklung des ersten Jahres der beiden Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS); die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil), unterteilt in Knospenbildung, Blüte und Samenfüllung. (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) des abgeschlossenen Entwicklungsstadiums. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsstandes wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen weisen auf einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl	

der Nodien zwischen den gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt hin, mit einem Konfidenzintervall von 95 %.	23
Abbildung 6 - Heatmap des Verlaufs der Seneszenz von <i>Silphium perfoliatum</i> (SP) und <i>Silphium integrifolium</i> (SI) von 195 bis 307 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt den Seneszenzverlauf der beiden Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) des ersten Jahres; die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil); (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der verschiedenen Seneszenzstufen. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsniveaus wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen zeigen einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt an, mit einem Konfidenzintervall von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.	25
Abbildung 7 - Heatmap des Verlaufs der Rosettennodienentwicklung von <i>Silphium perfoliatum</i> (SP) und <i>Silphium integrifolium</i> (SI) von 265 bis 384 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die Rosettenentwicklung beider Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) des zweiten Jahres; die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil); (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständig entwickelten Rosettennodien. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsniveaus wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen zeigen einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt an, mit einem Konfidenzintervall von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.	26
Abbildung 8 - Heatmap des Verlaufs der Sprossnodienentwicklung (Haupttrieb) von <i>Silphium perfoliatum</i> (SP) und <i>Silphium integrifolium</i> (SI) von 376 bis 446 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die Triebentwicklung beider Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) im zweiten Jahr; die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil); (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der vollständig entwickelten Sprossnodien. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsgrades wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen weisen auf einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den dargestellten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt hin, mit einem Konfidenzintervall von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.	28
Abbildung 9 - Heatmap des Zeitraums der generativen Entwicklung von <i>Silphium perfoliatum</i> (SP) und <i>Silphium integrifolium</i> (SI) von 426 bis 573 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt die generative Entwicklung des ersten Jahres der beiden Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS); die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil), unterteilt in Knospenbildung, Blüte und Samenfüllung; (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) des abgeschlossenen Entwicklungsstadiums. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsstandes wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen zeigen einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der	

Nodien zwischen den gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt an, mit einem Konfidenzintervall von 95 %.	30
Abbildung 10 - Heatmap des Verlaufs der Seneszenz von <i>Silphium perfoliatum</i> (SP) und <i>Silphium integrifolium</i> (SI) von 502 bis 580 Tagen nach Aussaat. Die Heatmap SP zeigt den Seneszenzverlauf beider Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) im zweiten Jahr; die Heatmap SI zeigt das Äquivalent der beiden Akzessionen von <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil); (n = 36). Die Intensität der Färbung zeigt die jeweilige relative Häufigkeit (0-100%) der verschiedenen Seneszenzstufen. Nach Erreichen des maximalen Entwicklungsniveaus wird der Merkmalswert nicht mehr dargestellt. Die sternförmigen Markierungen zeigen einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl der Nodien zwischen den gezeigten Akzessionen zum jeweiligen Zeitpunkt an, mit einem Konfidenzintervall von 95 %. Die gestrichelten Linien dienen als Orientierungshilfe.	33
Abbildung 11 - BBCH-Makrostadium 0 - Illustration von trockenen Samen und jungen Sämlingen von <i>Silphium</i> spp.	35
Abbildung 12 - BBCH-Makrostadium 1 - Illustration der Rosettenentwicklung von <i>Silphium</i> spp.	36
Abbildung 13 - BBCH-Makrostadium 3 - Illustration der Spross- und Blattentwicklung beider <i>Silphium</i> spp.	38
Abbildung 14 - BBCH-Makrostadium 5-8 - Illustration der generativen Entwicklung von <i>Silphium</i> spp.	40
Abbildung 15 - BBCH-Makrostadium 9 - Illustration der Seneszenz von <i>Silphium</i> spp.	41
Abbildung 16 - Darstellung der trockenen Biomasseertragsdaten der untersuchten Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) und <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %; (n = 36).	42
Abbildung 17 - Darstellung der relativen Trockensubstanzgehalte von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) und <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %; (n = 36).	43
Abbildung 18 - Darstellung der Triebanzahlen der untersuchten Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) und <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %; (n = 36).	44
Abbildung 19 - Darstellung der Samenerträge der untersuchten Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) und <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %; (n = 36).	45
Abbildung 20 - gemittelte Tausendkorngewichte über die unterschiedlichen Blütenränge der untersuchten Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) und <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil); (n = 10). Die Einschnürung der Boxplots entspricht einem Konfidenzintervall von 95 %.	46
Abbildung 21 - Darstellung des Ertragspotenzials der untersuchten Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> (SPN und SPS) und <i>Silphium integrifolium</i> (Sii und Sil); (n = 36).	47
Abbildung 22 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Embryonen (E) von SP26 im Zeitverlauf von 65 Tagen in Kultur mit unterschiedlichem Alter (Tage nach Bestäubung), kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur 25 °C; (n = 180). Kultur der Mutterpflanzen	

im Gewächshaus, März 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn	72
Abbildung 23 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Embryonen (E) von SP26 nach 65 Tagen in vitro, kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur $25^\circ\text{C}$ ; (n = 180). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.	74
Abbildung 24 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Embryonen (E) von TLL4 im Zeitverlauf von 65 Tagen in Kultur mit unterschiedlichem Alter (Tage nach Bestäubung), kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur $25^\circ\text{C}$ ; (n = 180). Kultur der Mutterpflanzen im Gewächshaus, März 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn	75
Abbildung 25 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Embryonen (E) von TLL4 nach 65 Tagen in vitro, kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur $25^\circ\text{C}$ ; (n = 180). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.	76
Abbildung 26 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Samen (S) von SP26 im Zeitverlauf unterschiedlichen Alters (Tage nach Bestäubung), kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur $25^\circ\text{C}$ ; (n = 180). Kultur der Mutterpflanzen im Gewächshaus, März 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn	77
Abbildung 27 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Samen von SP26 nach 65 Tagen in vitro; kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur $25^\circ\text{C}$ ; (n = 180). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.	78
Abbildung 28 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus unvollständig entwickelten Samen (S) von TLL4 im Zeitverlauf unterschiedlichen Alters (Tage nach Bestäubung), kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur $25^\circ\text{C}$ ; (n = 180). Kultur der Mutterpflanzen im Gewächshaus, März 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn	79
Abbildung 29 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Samen von TLL4 nach 65 Tagen in vitro, kultiviert auf 0,5 MS-Medium, Lichtintensität: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur $25^\circ\text{C}$ ; (n = 180). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.	80
Abbildung 30- Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 im Zeitverlauf von 65 Tagen mit unterschiedlich hohem Samenschalenanteil im Medium, kultiviert auf 0,5 MS-Medium und Zusatz variantenabhängigen Samenschalenmenge, Lichtintensität: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur $25^\circ\text{C}$ ; (n = 120). Kultur der Mutterpflanzen im Gewächshaus, August 2020, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn	88
Abbildung 31 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 nach 65 Tagen in vitro, kultiviert auf 0,5 MS-Medium und Zusatz variantenabhängigen	

Samenschalenmenge, Lichtintensität: 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur 25°C; (n = 120). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95 %.....	89
Abbildung 32 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 im Zeitverlauf von 42 Tagen mit 35 Tage alten Embryonen und Wachstumsregulatoren wie auch Hemmstoffen im Medium, kultiviert auf 0,5 MS-Medium und Zusatz der variantenabhängigen Additive, Lichtintensität: 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Temperatur 25°C; (n = 54). Kultur der Mutterpflanzen im Freiland, August 2021, Campus Klein-Altendorf, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. Die gestrichelte Linie markiert den Übergang von Phase 1 zu Phase 2 nach 21 Tagen.....	98
Abbildung 33 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 mit einem Alter von 35 Tagen nach 21 Tagen in vitro; (n = 54). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95%. ....	100
Abbildung 34 - Relative Häufigkeit vollentwickelter Jungpflanzen aus Embryonen von SP26 mit einem Alter von 35 Tagen nach 42 Tagen in vitro; (n = 54). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall 95%. ....	101
Abbildung 35 - Darstellung relevanter Versuchsergebnisse nach 16-wöchiger Kultivierung im Gewächshaus bei 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx für 12 Stunden nach unterschiedlicher Vernalisationszeit von SP26 und TLL4; (n = 30). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95%. Die homogenen Untergruppen beziehen sich auf die jeweilige Darstellungskategorie. ....	112
Abbildung 36 - Durchschnittliche Blütenanzahl von SP26 nach Vernalisationszeiten von 0, 14, 42 bzw. 70 Tagen bei konstanten 4 °C und anschließender 16-wöchiger Kultivierung im Gewächshaus bei 22 °C und einer Lichtintensität von 7 klx für 12 Stunden; (n = 30). ....	114
Abbildung 37 - Durchschnittliche Blütenanzahl von TLL4 nach Vernalisationszeiten von 0, 14, 42 bzw. 70 Tagen bei konstanten 4 °C und anschließender 16-wöchiger Kultivierung im Gewächshaus bei 20 °C und einer Lichtintensität von 7 klx für 12 Stunden; (n = 30). ....	115
Abbildung 38 - Durchschnittliche Samenanzahl pro Blüte von SP26 und TLL4; (n = 30). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Konfidenzintervall von 95%.....	116
Abbildung 39 - Darstellung relevanter Versuchsergebnisse nach 10-wöchiger Kultur nach unterschiedlicher Vernalisationszeit von SP26; (n = 24). Ermittlung der homogenen Untergruppen mittels ANOVA und Post-hoc-Test (Tukey-Test) mit einem Signifikanzniveau von 0,05. Die homogenen Untergruppen beziehen sich auf die jeweilige Darstellungskategorie. ....	124
Abbildung 40 - Durchschnittliche Blütenanzahl von SP26 nach Applikation unterschiedlicher exogener Wachstumsregulatoren. (Die Abbildung zeigt lediglich die tatsächlich blütenbildenden Varianten.) .....	125

## 9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 - Fundorte der natürlichen Habitats der Akzessionen von <i>Silphium perfoliatum</i> und <i>Silphium integrifolium</i> für diesen Versuch. (* Ursprüngliche Herkunft der Akzession. Eine Prädometisierung wurde am Land Institut in Salina, KS, USA, durchgeführt).....	14
Tabelle 2 - Zeitlicher Überblick über den Versuchszeitraum in Relation zum Julianischen Datum und Beginn der unterschiedlichen Entwicklungsphasen von <i>Silphium</i> spp .....	16
Tabelle 3 - BBCH-Makrostadium 0 - Saatgutkeimung. Aktuelle Stadien der verschiedenen Phasen der Samenkeimung mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten jedes Keimungsmerkmals von <i>Silphium perfoliatum</i> und <i>Silphium integrifolium</i> auf der Grundlage der gesammelten Daten aus dem Keimungsversuch; (n = 72).....	35
Tabelle 4 - BBCH-Makrostadium 1 - Blatt- und Rosettenentwicklung. Vorliegende Stadien der Rosettenentwicklung auf der Basis von Rosettennodien oder Blattpaaren mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten für das erste sowie das zweite Entwicklungsjahr von <i>Silphium perfoliatum</i> und <i>Silphium integrifolium</i> auf der Grundlage der gesammelten Daten aus dem Feldversuch; (n = 72).....	36
Tabelle 5 - BBCH-Makrostadium 3 - Triebentwicklung (Haupttrieb). Vorliegende Stadien der Triebentwicklung auf der Basis von Triebnodien bzw. Blattpaaren mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten für das erste sowie das zweite Entwicklungsjahr von <i>Silphium perfoliatum</i> und <i>Silphium integrifolium</i> basierend auf den gesammelten Daten aus dem Feldversuch; (n = 72). Die fortlaufende Nummerierung ist abzüglich der jeweiligen Rosettennodien zu verstehen:.....	37
Tabelle 6 - BBCH-Makrostadium 5-8 - Generative Entwicklung. Gegenwärtige Stadien der generativen Phase auf der Grundlage der Knospen- und Blütenentwicklung sowie der Samenfüllung und -reife mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten für das erste sowie das zweite Entwicklungsjahr von <i>Silphium perfoliatum</i> und <i>Silphium integrifolium</i> . n=72.	39
Tabelle 7 - BBCH-Makrostadium 9 - Seneszenz. Vorhandene Stadien der Seneszenz mit den entsprechenden relativen Häufigkeiten für das erste sowie das zweite Jahr der Entwicklung von <i>Silphium perfoliatum</i> und <i>Silphium integrifolium</i> ; (n = 72). .....	41
Tabelle 8 - Untersuchte Varianten unterschiedlicher Samenschalenkonzentrationen .....	87
Tabelle 9 - Varianten des Versuchs mit zugehörigen Konzentrationen von Wachstumsregulatoren bzw. Hemmstoffen in den Medien .....	96
Tabelle 10 - Varianten des Versuchs zur Substitution der Vernalisationsphase durch Applikation exogener Wachstumsregulatoren .....	122

## 10. Danksagung

Eine Dissertation anzufertigen birgt eine komplexe Gemengelage unterschiedlicher Schwierigkeiten, großer und kleiner Hürden und Unwegsamkeiten, allerdings auch viele schöne Momente voller Erkenntnis, Erfolg und Spaß. Hieran zu wachsen war für mich persönlich eine große Erfahrung. All dies wäre ohne das ganz unterschiedliche Zutun der nachstehenden Personen nicht möglich gewesen. Ich möchte mich herzlich bedanken.

- Prof. Dr. Ralf Pude für die wissenschaftliche Unterstützung, den zielführenden Rat in schwierigen Situationen, die vielschichtigen Ratschläge bei der Anfertigung der Veröffentlichung, jeder Menge spannender, wissenschaftlicher Ansätze und Ideen und das Einwerben des Projektes.
- Dr. habil. Heiner Goldbach ebenfalls für die wissenschaftliche Unterstützung, die nicht hätte präziser und kurzfristiger sein können und die vielen guten Ratschläge.
- Den Kollegen vom INRES - Nachwachsende Rohstoffe, speziell Christoph Korte, Dr. Katharina Luhmer und Dr. Marcel Moll, für die viele praktische Unterstützung, das Auffangen meiner Versuche infolge meines Arbeitsunfalls, die vielen tollen Gespräche und guten Ratschläge.
- Den Versuchstechnikern vom INRES - nachwachsende Rohstoffe, insbesondere Julian Elfers, der immer mit Rat und Tat zur Stelle war.
- Dem Team vom Campus Klein-Altendorf, besonders Bernd Bünten für die ständige Unterstützung, das Vertrauen und das Möglichmachen des scheinbar Unmöglichen.
- Dr. Christian Wever für wissenschaftliche Ansätze, die gemeinsamen Veröffentlichungen und das Einwerben des Projektes.
- Jerome Nohr, Anna Theis, Nina Prinz, Devin Aktüs, Hanna Altrogge und Johanna Entrup für die im Rahmen der Anfertigung der Abschlussarbeiten erhobenen Daten und Erkenntnisse.
- Christian Heck, Marion Deichmann und Matthias Mäueler für die guten Ratschläge beim Anfertigen dieser Arbeit.
- Michael Tegetmeier für die mir eingeräumten Freiräume und das Vertrauen.
- Meinen Eltern und meinem Bruder Daniel für die vielseitige Unterstützung und guten Ratschläge.
- Zuletzt und ganz besonders Joke und Lynn Jolie für die Geduld, die immense Unterstützung, das Rücken freihalten und das Erden in schwierigen Zeiten. Ihr wart immer da und habt mir die wirklich wichtigen Dinge des Lebens gezeigt.