Virusfreie Aufzucht und Vermehrung von Reben durch Gewebekultur

G. Reuther
Institut für Botanik
Forschungsanstalt Geisenheim

Bakteriosen und Virosen in Kulturpflanzen lassen sich durch herkömmliche Pflanzenbehandlungsmittel entweder überhaupt nicht oder nicht im wirtschaftlichen Maßstab bekämpfen. Eine visuelle Selektion von Mutterpflanzenmaterial für die vegetative Vermehrung reicht für die Erzeugung von befallsfreiem Pflanzgut nach aller Erfahrung nicht aus, da die Erreger unterhalb der Symptomschwelle auf das Vermehrungsgut übertragen werden können. Für den Aufbau von Elitepflanzenbeständen gelten daher folgende Grundsätze:

1. Auswahl gesunden Pflanzenmaterials nach Einhaltung bestimmter Aufzuchtmethoden bzw. Anwendung von Therapieverfahren wie Hitzebehandlung zur Inaktivierung von Virosen.
2. Anwendung empfindlicher und spezifischer Diagnosemethoden zur Identifizierung der pathogenen Erreger; hierzu sind vor allem serologische Verfahren zu zählen.
3. Bewahrung der Befallsfreiheit durch besondere Kulturverfahren und Vermehrung befallsfreien Materials.

Die im letzten Punkt aufgeführten Forderungen lassen sich besonders durch Methoden der Gewebekultur erfüllen. Die längsten Erfahrungen bei der wirtschaftlichen Umsetzung biotechnologischer Methoden in der Pflanzenvermehrung liegen im Zierpflanzenbau vor, gefolgt von der Produktion virusfreien Beerenobstes und anderer Obstarten und neuerdings bemüht man sich in fast allen weinbautreibenden Ländern um die Aufzucht und Vermehrung von Ertragsrebsorten und Unterlagen durch Gewebekultur.

Ausgehend von den Untersuchungen verschiedener Autoren wie Bini, Jako und Nitsch sowie Chee und Pool wurden Sproßspitzenexplantate zur Induktion von Adventivorganen in vitro benutzt. Andere Organe der Spenderpflanze besitzen eine sehr große Tendenz zur Bildung von Kallus, dessen organogene Potenz äußerst gering ist. Diese Erfahrungen wurden in eigenen Untersuchungen gemacht und werden von den Ergebnissen von Staudt, Hawker, Jona und Webb bestätigt. Für die Entwicklung neuer Sproßknospen aus dem Primärexplantat hat sich nach Barlass und Skene eine Fragmentierung der Sproßspitzen zu Beginn der Gewebekultur bewährt.

Die Überlebensrate und die weitere Entwicklung wird nachhaltig von der Zusammensetzung des Kulturmediums beeinflußt. Am besten hat sich in unseren Untersuchungen von 10 verschiedenen Varianten ein Medium der Zusammensetzung nach Linsmaier/Skoog mit 1 mg/l Indolessigsäure und 2 mg/l Benzylaminopurin erwiesen. Dieses Medium fördert die Anlage von Sproßknospen aus Sproßspitzen und aus explantierten Achselknospen gleichermaßen. Eine Reduzierung des Basalmediums und der Hormone begünstigt ausschließlich das Wachstum der verpflanzten Sproßanlage zum Sproß, allerdings ohne weitere Neubildung von Organanlagen. Das System verhält sich also wie ein Ministeckling.

Im Verlauf von 10 Subkulturpassagen ergab sich für den Riesling Klon 239-20 Gm ein Vermehrungsfaktor von 3 und für die Unterlage SO_4 Klon 33-2 Gm ein Faktor 2; d. h. pro Kulturstufe von 4 - 6 Wochen betrug die Ausbeute an Sproßanlagen das 2 - 3-fache der Ausgangsmasse. Allerdings konnten davon nur anteilig Sprosse gewonnen werden. Auch hier zeigte die Sorte Riesling eine höhere Ausbeute von durchschnittlich 30 % und SO_4 nur 12 %.

Die Bewurzelung der Sprosse gelang am besten bei einer Mindestlänge von ca. 15 mm. Von allen geprüften Nährmedien erwies sich beim Rieslingklon ein auf die halbe Nährsalzkonzentration reduziertes Basalmedium nach Linsmaier/Skoog mit einem Zusatz von 50 mg/l Phloroglucin; durchschnittlich 50 % aller transplantierten Sprosse bildeten 2 - 3 Wurzeln pro Sproß.

Die Zahl bewurzelter Sprosse von SO_4 Klon 33-2 Gm erreichte bisher auf allen geprüften Medien nur etwa 5 %. An dieser Stelle sei auf die großen sortenspezifischen Unterschiede der Reben bei der Aufzucht unter Bedingungen der Gewebekultur verwiesen. Ist es nun endlich gelungen, ein bewurzeltes Pflänzchen im Reagenzglas zu erzeugen, so stellt die Übertragung in Erde ein weiteres Problem dar. Die in geschlossenen System gewachsenen Pflanzen müssen allmählich an die geringeren Luftfeuchten angepaßt, d. h. schrittweise abgehärtet werden. Die Funktion der Wurzeln als Absorptionsorgane für Wasser und Nährsalze ist bei Gewebekulturpflänzchen anfangs noch eingeschränkt. Ihre volle Funktion erreichen sie auch erst nach einigen Wochen, nachdem genügend Wurzelhaare ausgebildet worden sind.

Die hier vorgestellten Ergebnisse sind nur ein Teil eines Gemeinschaftsprojektes der Institute für Botanik und für Rebenzüchtung und Rebenveredlung (Prof. Becker) zur Prüfung der genetischen Identität der Nachkommenschaften aus Gewebekulturvermehrung im Vergleich zur herkömmlichen Stecklingsvermehrung und der Bewertung der weinbaulichen Eigenschaften von Edelreisern und Unterlagen aus Gewebekultur. Die bisherigen Resultate zeigen, daß zukünftig virusfreies Pflanzgut für die Rebenveredlung aus Gewebekultur gewonnen werden kann.

THERMOTHERAPIE UND VERGLEICH ZWEIER METHODEN DER "IN-VITRO" KULTUR ZUR ELIMINIERUNG VON VIRUSKRANKHEITEN BEI REBEN

von

R. LEGIN, P. BASS und B. WALTER - INRA - Station de Pathologie Végétale
28, rue de Herrlisheim - 68021 COLMAR FRANCE

I. Einleitung.

Versuche von Thermotherapie auf Topfreben, die während längeren Perioden in zirka 38-39°C stehen und von denen die Spitzen frischgewachsener Triebe als Stecklinge in aseptischer Kultur in Glasrörchen vermehrt werden, sind schon über 20 Jahre in Gebrauch und dies zur Herstellung virusfreier Pflanzen (7,14,17). Die Wirkung dieser Methode war zuerst für die Ausschaltung der Reisigkranheit bemerkenswert. Später führte die Wärmebehandlung, immerhin mit grösserer Schwierigkeit, zur Eliminierung virusähnlicher Krankheiten wie die Marmorierung und die Rollkrankheit. Neue Virosen, die zum grössten Teil latent auf den meisten Rebsorten sind, wurden dann durch Pfropfungen auf Indikatorreben entdeckt. Thermotherapieforschungen und Experimente über Wirtschaftliche Bedeutung dieser Anomalien wurden seit 1974 bei uns durchgeführt und erweisen interessante Ergebnisse die hier zusammengefasst sind.

II. Material und Methodik.

Verschiedenen Amerikaner-Unterlagen (Rupestris du Lot, Riparia-Gloire, 110 Richter, Kober 5BB) und V. vinifera-Sorten (Servant, Klevener von Heiligenstein, Spätburgunder, Cabernet Franc, Gewürztraminer, Muskat von Alexandrien) werden als bewurzelte Topfreben, um sie an die Wärme zu gewöhnen, in einen 32°C geheizten Raum mit 60 prozentiger Luftfeuchtigkeit gestellt. Die Temperatur wird während 3 Wochen stufenweise bis zu 37-38°C erhöht.