



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

**Etablierung einer in-vitro Kultur
zur kommerziellen Produktion von *Corylus avellana* L.**

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasserin / Verfasser:

Eva-Maria Vogl

Matrikel-Nummer:

9908847

Studienrichtung / Studien-
zweig (lt. Studienblatt):

A 438 Botanik

Betreuerin / Betreuer:

Doz. Dr. Eva Wilhelm

Wien, im April 2009

DANKSAGUNG

Die vorliegende Diplomarbeit ist im Rahmen meiner Tätigkeit bei der Fa. VitroPlant entstanden. Mein Dank gilt Herrn DI Wolfgang Leonhardt für die Chance für ihn und mit ihm zu arbeiten. Er hat meine Augen für die Botanik geöffnet, mein Interesse für die pflanzliche Gewebekultur geweckt und mir diese Diplomarbeit im Umfeld eines kommerziellen Betriebes ermöglicht. Ein Dankeschön möchte ich allen Kollegen aussprechen, die mich hilfreich begleitet haben.

Vielen herzlichen Dank an Frau Doz. Eva Wilhelm für die freundliche Betreuung, die konstruktive Kritik und nicht zuletzt für die aufgebrachte Geduld.

Ganz besonders möchte ich mich jedoch bei meiner Familie bedanken. Bei meinen Eltern dafür, dass sie mir fortdauernd moralisch und finanziell beistanden und mich so liebevoll erzogen haben; sie haben mir beigebracht, begeistert Fragen zu stellen. Besonders möchte ich meinem Vater für die vielen Stunden und Nächte der letzten Zeit danken. Meinem Bruder für seine fachliche und moralische Unterstützung, meiner Schwester und meiner Schwägerin für die motivierende Anteilnahme sei ebenso gedankt.

Am allermeisten danke ich jedoch meinem Lebensgefährten Gregor, ohne den ich wohl oft nicht weitergemacht hätte. Seine Unterstützung, sein Verständnis und seine Bemühungen um mich haben viel zu dieser Arbeit beigetragen.

*Hoffnung ist nicht die Überzeugung, dass etwas gut ausgeht,
sondern die Gewissheit, dass etwas Sinn hat, egal wie es ausgeht.*

Václav Havel

INHALT

Abkürzungsverzeichnis und Glossar.....	V
1 EINLEITUNG	1
1.1 Die Haselnuss	1
1.1.1 Historisches.....	1
1.1.2 Systematik.....	1
1.1.3 Merkmale.....	2
1.1.4 Verbreitung in Europa.....	4
1.1.5 Krankheitsbilder der Haselnuss	5
1.1.6 Bearbeitung	11
1.1.7 Ernte und Ertrag	12
1.1.8 Wirtschaftliche Bedeutung.....	13
1.2 Herkömmliche Vermehrungsvarianten.....	16
1.3 Vermehrung mit Gewebekultur	16
1.3.1 Begriffsklärung und Anwendungsmöglichkeiten	16
1.3.2 Geschichte der Gewebekultur	17
1.3.3 Arbeitsweise der Gewebekultur	18
1.3.4 Arbeitsabschnitte der Gewebekultur	19
1.4 Stand des Wissens	21
2 ZIELSETZUNG.....	25
3 VERSUCHSMATERIAL UND METHODEN	27
3.1 Pflanzenmaterial.....	27
3.1.1 Genetischer Einfluss und der physiologische Zustand der Explantate (Endogene Einflüsse)	27
3.1.2 Sortenbeschreibung und Herkunft des Pflanzenmaterials.....	27
3.1.3 Komplementärpartner der ausgewählten Sorten	33
3.2 Pflanzenvorbereitung zur Etablierung.....	34
3.3 Oberflächen-Desinfektion	36
3.4 Nährmedien	40
3.5 Wachstumsregulatoren und Phytohormone.....	40
3.5.1 Polyamine.....	41

3.6 Lösungen und Chemikalien	42
3.6.1 Akazid®	42
3.6.2 MS-Lösung für die Aufbewahrung	42
3.6.3 Manosol®	42
3.6.4 Epigon®	43
3.6.5 Sequestren®138	43
3.7 Chemikalien der Nährmedien	43
3.8 Kulturgefäße	44
3.9 Kulturbedingungen im Labor (Kulturraum).....	45
3.10 Kulturbedingungen im Gewächshaus	46
3.11 Etablierungs- und Vermehrungsmethoden (Schnittführung)	47
3.12 Berechnungen	47
3.13 Versuchsplan.....	48
3.13.1 Versuchsplan der Etablierungsphase	48
3.13.2 Versuchsplan der Multiplikationsphase	49
3.13.3 Versuchsplan der Bewurzelungsphase	50
4 ERGEBNISSE	51
4.1 Etablierungsphase für Kulturen von <i>Corylus sp.</i>	52
4.1.1 Vorversuch zur Etablierung verschiedener Sorten von <i>Corylus sp.</i> - V0	53
4.1.2 Einfluss von Putrescin auf die Etablierung – V4	55
4.1.3 Einfluss des Genotypus auf den Etablierungserfolg und den Ausfallzeitpunkt zur Feststellung des Etablierungserfolges – V8 ...	55
4.1.4 Einfluss des Entwicklungszustandes der Explantate (Knospen- status) und der Desinfektionsdauer (Hg-Merthiolat-Lösung) auf den Etablierungserfolg von <i>C. avellana</i> und <i>C. colurna</i> – V15	58
4.1.5 Hauptversuch mit dem modifizierten Etablierungsprotokoll – V20	61
4.1.6 Auswertung der Ergebnisse der Etablierungsversuche	62
4.1.6.1 Einfluss des Etablierungszeitpunktes (Reiserernte) und Knospenzustandes (Vorbehandlung) auf den Etablierungserfolg	62
4.1.6.2 Einfluss der Hg-Merthiolat-Behandlungsdauer bei der Oberflächen-Desinfektion auf den Etablierungserfolg	65
4.1.6.3 Einfluss der Mediumzusammensetzung auf den Etablierungserfolg	66

4.2 Multiplikationsphase der etablierten Kulturen von <i>Corylus sp.</i>	68
4.2.1 Einfluss der Kulturführung auf die Pflanzenqualität und Vermehrungsrate	68
4.2.1.1 Einfluss von Lichtqualität und Lichtintensität auf die Vermehrung - V1	68
4.2.1.2 Einfluss unterschiedlicher Kulturgefäße auf die Vermehrung V2 und V11	74
4.2.2 Einfluss der Mediumzusammensetzung und von Mediumzusätzen auf die Multiplikation	80
4.2.2.1 Einfluss von Putrescin - V6	80
4.2.2.2 Einfluss der Mediumzusammensetzung bei der Sorte 'TR' – V7	82
4.2.2.3 Einfluss der Zuckerart auf die Sprossgröße und Entwicklung von Seitentrieben - V12	86
4.2.3 Einfluss der Art des Vermehrungsmaterials (VM) - V14	89
4.3 Sterile Bewurzelung der vermehrten Kulturen von <i>Corylus sp.</i>	93
4.3.1 Bewurzelungserfolg mit den Medien 513 und 474 bei der Sorte 'TR' - V10	93
4.3.2 Bewurzelungserfolg mit den Medien 705 und 706 bei drei Sorten - V17	95
4.4 Akklimatisierungsphase	98
5 DISKUSSION	101
5.1 Etablierungsphase	101
5.1.1 Reiserernte und Vorbehandlung der Explantate	102
5.1.2 Wirksamkeit der Oberflächen-Desinfektion und der Behandlungsdauer mit Desinfektionsmittel	106
5.1.3 Etablierungsmedien und ihre Modifikationen	108
5.2 Multiplikationsphase	111
5.2.1 Einfluss der Kulturführung auf die Vermehrungsrate und Pflanzenqualität	111
5.2.2 Einfluss der Mediumzusammensetzung und von Medienzusätzen auf die Multiplikation	114
5.2.3 Einfluss der Art des Vermehrungsmaterials auf die Vermehrungsrate	117
5.3 Sterile Bewurzelung	118
5.4 Akklimatisierungsphase	119
5.5 Einfluss der genetischen Variation "Sorteneinfluss"	119

Irrtumswahrscheinlichkeiten (α) der Mittelwertsvergleiche mittels t-Test	VII
Literaturverzeichnis	IX
Abbildungsverzeichnis	XVIII
Tabellenverzeichnis	XIX
Medienrezepturen	XXI
Zusammenfassung	XXVII
Abstract	XXX
Lebenslauf	XXXIII

Abkürzungsverzeichnis und Glossar

AB	Überlebensrate (Ausbeute) (lebend u. vital)
Abb.	Abbildung
AF	Ausfall der Versuche (Infektionen und Nekrosen)
AW	Auswertung
BR	Bewurzelte Pflanzen in %
BA	Benzylamine
BAP	Benzylaminopurin
'Barc'	Haselnusssorte 'Barcelona'
BD	Beobachtungsdauer
BH	Baumhasel
'But'	Haselnusssorte 'Butler'
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad in Celsius
Chlor.	Chlorose
d	Tage
'E-104'	Haselnusssorte 'E-104'
EFB	Eastern Filbert Blight
'En'	Haselnusssorte 'Ennis'
Epr.	Epruvette (Kulturgefäß)
FAO	United Nations Food and Agriculture Organisation
F	Farbe des Gewebes, Rückschluss auf Qualität
GA	Gibberellinsäure
GB	Gelbildner
GL	GroLux (Leuchtstoffröhre, Fa. Osram)
grün	grünes Gewebe
h	Stunde
Hg-D	Quecksilber Behandlungsdauer
'HR'	s. 'MdB', 'Halle'sche Riesen'
I	Infektionen
IAA	Indolessigsäure
IBA	Indol-Buttersäure
'Id'	'Istrska debeloplodna leska Slovenia'
inkl.	inklusiv
'lo'	'Istrska okrogloplodna leska Yugoslavia'
K	Versuchskode
KD-Dose	Kunststoff-Dose (Kulturgefäß)
KG	Kulturgefäß
KW	Kaltweiß / CoolWhite (Leuchtstoffröhre, Fa. Osram)
L.	Linné
lebend	Gesamtheit des nicht toten Materials
LW	Längste Wurzel in cm
männl.	männlich

Mat.	Ausgangsmaterial
'MdB'	Haselnusssorte 'Merveille de Bollwiller'
MED	Medium
MEDml	Mediummenge
ml	Milliliter
M-Sack	Mikrosack, Belgischer Kunststoffsack (Kulturgefäß)
n	Grundgesamtheit – Stückzahl
N	Nodium
N-	Nodium ohne Callus
N+	Nodium mit Callus
Nek.	Nekrose
PUT	Putrescin
Qu	Qualität, gesondert für Einzelversuche definiert
R	Ranking (Vermehrungsversuche)
'RL'	Haselnusssorte 'Rote Lambertsnuß'
'Seg'	Haselnusssorte 'Segorbe'
Seq138	Sequestren@138
SG	Sproßgröße
SO	Standort
Sp	(=Sp-) Spitzen ohne Callus
Sp+	Spitzen mit Callus
ST	Anzahl der Seitentriebe
Tab.	Tabelle
'TgdL'	Haselnusssorte 'Tonda gentile della Langhe'
'TgG'	Haselnusssorte 'Tonda di Giffoni'
'TR'	Haselnusssorte 'Tonda Romana'
unv.	Unverändert, grünes Gewebe ohne sichtbarer Entwicklung
V	Versuch
VB	Vorbehandlung der Explantate
VK	Versuchskode
VG	Versuchsgruppe
vital	lebendes und sichtbar in Entwicklung befindliches Material
VM	Vermehrungsmaterial
VR	Vermehrungsrate
WA	Wurzelnanzahl
weibl.	weiblich
WO	Woche
Z	Zucker; Kohlenstoffquelle
z.B.	zum Beispiel

1 EINLEITUNG

1.1 Die Haselnuss

1.1.1 Historisches

Die Geschichte der heutigen Haselnuss beginnt schon sehr früh. Erste Vorfahren von *Corylus avellana* Linné reichen zurück bis ins Oligozän; Schon im Miozän sind *Corylus insignis* HEER und *Corylus Mac-Quarry* HEER nachzuweisen. Wildformen besitzen von Europa bis Kleinasien und im Gebirge bis 1500 m an Bedeutung¹; Die Haselnuss ergänzt nicht nur die menschliche Ernährung als hochwertige Kalorienquelle, sondern ist wichtiger Teil natürlicher Ökosysteme.

1.1.2 Systematik

Weltweit zählt *Corylus sp.* L. zur Unterfamilie der Coryloideae als Teil der Familie der **Betulaceae**, den Birkengewächsen. Rothmaler (2002) stellt sie jedoch mit den Betulaceae auf eine Ebene und zählt *Corylus* zur Familie der **Corylaceae** MIRB.², den Haselgewächsen.

Corylus sp. L. – die Hasel

Abhängig von der taxonomischen Autorität variiert die Anzahl der Spezies von 10 bis 25. Studien³ zeigen einen phylogenetischen Konsens von **5 Strauch-Spezies** (*C. avellana* Linné (Europäische Haselnuss), *C. americana* Marshall (Amerikanische Haselnuss), *C. cornuta* Marshall (Schnabel-Haselnuss), *C. heterophylla* Fischer (Sibirische Haselnuss) und *C. sieboldiana* Blume (Mandschurische Haselnuss)) und **4 Baum-Spezies** (*C. colurna* Linné (Türkische Hasel), *C. jacquemontii* Decaisne (Indische Hasel), *C. chinensis* Franchet (Chinesische Hasel) und *C. ferox* Wallich (Tibetische Hasel)).

Die Europäischen Haselnuss (*Corylus avellana* L.) gilt als der Ursprung aller wichtigen Kulturarten in Europa und der Türkei, die viele Jahrhunderte lang aus Wildpopulationen selektiert wurden.⁴ Folgende Arbeit widmet sich einerseits verschiedenen Kultursorten, die auf *C. avellana* L. zurückzuführen sind und am Rande mit einer der Baumhasel-Spezies *C. colurna* L. die als Unterlage für die Veredelung an Bedeutung gewinnt.

¹ Stoll & Gremminger, 1986

² Jäger, Werner, Rothmaler, 2002

³ Thompson, Lagerstedt, Mehlenbacher, 1996

⁴ Boccacci, Akkac, Botta, 2006

1.1.3 Merkmale

Allgemeine Merkmale, Wuchsform, Knospen und Triebe

C. avellana L. ist ohne Erziehung strauchförmig; Sie ist einerseits schmal (Abb. 1) und bis zu 6 m hoch oder andererseits auch weit ausladend (Abb. 2) in die Breite mit bis zu 4 m Höhe. Im Allgemeinen zeigt *C. avellana*, im Gegensatz zu *C. colurna*, eine hohe Stockausschlagsrate und besitzt dadurch auch hohe Regenerationskraft nach einem Rückschnitt.⁵



Abb. 1 (links):
Habitus der Sorte 'Seg' mit steiler und aufrechter Struktur. Im April 2005 sind nur wenige männliche Infloreszenzen zu bemerken.

Abb. 2 (rechts):
Habitus der Sorte 'MdB' mit weit ausladender Krone mit vielen weiblichen und männlichen Blütenständen im April 2005.

Blätter

Die Blätter der Haselnuss sind distych, wechselständig, an aufrechten Trieben manchmal auch spiralig. Die Spreite ist am Blattrand insgesamt wellig und grob doppelt gesägt, die Form der Spreite rundlich bis verkehrt eiförmig, die Spreitenbasis von asymmetrisch bis herzförmig. Der Blattstiel ist drüsig behaart. Die Blattoberseite ist deutlich dunkler als die Blattunterseite und zerstreut behaart. Schatten- und Sonnenblätter unterscheiden sich deutlich in ihrer Anatomie.

⁵ Stoll & Gremminger, 1986

Blüten

Die Hasel ist monözisch in dichasialen Teilblütenständen. Abb. 3 zeigt weibliche und männliche Infloreszenzen der monözischen Haselnuss an der Sorte 'En' im März 2005. Die männliche Blüte ist ohne Blütenhülle, einzeln in den Achseln der Tragblätter walziger Kätzchen aus lateralen Knospen an einjährigem Holz (Abb. 4). Die weibliche Blüte hat ein unscheinbares Perigon, und befindet sich in knospenförmigen, terminalen Kätzchen (Abb. 5) die sich aus lateralen Knospen am einjährigen Holz entwickeln. Die Staubbeutel zeigen an der Spitze Haarbüschel. Der Fruchtknoten ist unterständig und am Grund meist zweifächrig. Es sind meist zwei Griffel vorhanden.⁶

Die Haselnuss blüht noch vor der Entfaltung der Blätter, in unseren Breiten meist sehr früh zwischen Januar und März⁷ und zeigt dabei große Sortenunterschiede.



Abb. 3 (links):
Weibliche und männliche Infloreszenzen der Sorte 'En' (März 2005).

Abb. 4 (Mitte):
Männliche Blüte im Detail der Sorte 'RL' (März 2005).

Abb. 5 (rechts):
Weibliche Blüte im Detail der Sorte 'TgdL' (März 2005)

Befruchtungsverhältnisse

Die Haselnuss ist eingeschlechtlich und monözisch und ist auf Fremdbefruchtung angewiesen. Die Pollenübertragung erfolgt durch den Wind.⁸ Durch die Selbst-Inkompatibilität benötigt die Haselnuss einen kompatiblen Pollenspender in ausreichender Nähe. Die Inkompatibilität selbst ist kontrolliert durch einen Single Locus. Bis heute wurden 28 Allele auf diesem Locus identifiziert. In der weiblichen Blüte erfolgt die Expression beider Allele und sind dafür co-dominant. Bei den Pollen erfolgt die Expression eines oder beider Allele. Trifft nun eines der Allele

⁶ Rieger, 2008

⁷ Stoll & Gremminger, 1986

⁸ Strauß & Nowak, 1998

des Pollens auf ein gleiches Allel in der weiblichen Blüte erfolgt keine Befruchtung. Gleichzeitig muss auch auf die Zeitspanne für eine mögliche Befruchtung geachtet werden.⁹ Manche Sorten haben nur eine sehr kurze Phase der Pollenabgabe, bei anderen findet sich keine Überlappung der männlichen und weiblichen Blüten. Erfahrungswerte zeigen bei gleicher Sorte unterschiedliche zeitliche Anpassungen an klimatische Bedingungen in ihrer Blühphase; Angaben von verschiedenen Kontinenten und Klimazonen können ohne Überprüfung nicht für die eigene Klimazone in ihrer zeitlichen Kompatibilität übernommen werden.

Fruchtanlage und Frucht

Nach der Befruchtung entwickelt sich nach der Reduktion der Scheidewände des Fruchtknotens eine einsamige Nussfrucht. Die Vorblätter entwickeln sich zur Cupula die je nach Varietät unterschiedlich ausgeformt sein kann.

Es entstehen Cluster zu 1-12 Nüssen die in ihrer Gestalt je nach Sorte rund bis oval erscheinen. Das Pericarp ist hart, locker umhüllend um den glatten bis geriffelten Kern. Die Nüsse selbst sind von grünen Involucralblättern umhüllt die sich im späten Reifungsprozess bei frei fallenden, im Gegensatz zu nicht frei fallenden Sorten, von der Basis lösen.¹⁰

Wurzeln

Der Haselstrauch bildet nur ein sehr flaches Wurzelwerk bis in eine Tiefe von 15 bis 20 cm¹¹ aus und zeigt daher große Abhängigkeit von der Regelmäßigkeit der Wasserzufuhr. Im Gegensatz zur *C. avellana* zeigt *C. colurna* ein sehr tiefes und weitläufiges Wurzelgeflecht. Dieses Merkmal begründet die Vorteile der Veredelung von Edelsorten der Strauchform auf der Baumform von *Corylus*.

1.1.4 Verbreitung in Europa

Die Haselnuss bevorzugt Klimata der kühlen Winter und milden Sommermonate.¹² Ihre Verbreitung findet sie in Europa von Portugal bis in den südlichen Ural und von Norwegen (68° nördliche Breite) bis Italien, Spanien und Griechenland. Sie ist des Weiteren in Ost- und Zentralasien heimisch, inklusive der Türkei, Syrien und dem Iran, bis hin zu Algerien in Nordafrika. Bisher erfolgt der größte Anteil der kommerziellen Produktion in der Türkei, Italien und Spanien.¹³ Gute Produktionsgebiete liegen häufig in der Nähe von großen Gewässern. Die Europäische Haselnuss ist somit in einem großen Bereich vom subtropischen Klima im mediterranen Raum

⁹ Azarenko, Mehlenbacher, Smith, McCluskey

¹⁰ Rieger, 2008

¹¹ Stoll & Gremminger, 1986

¹² Baldwin, 2004a

¹³ Scortichini, 2002

bis hin zu sehr kalten Arealen in Skandinavien und Russland beheimatet. Das induziert die Möglichkeit vieler weiterer Produktionsgebiete in noch nicht genutzten Arealen.¹⁴

1.1.5 Krankheitsbilder der Haselnuss

Die wichtigsten Krankheiten der Europäischen Haselnuss sind der Östliche Haselnussbrand durch den Pilz *Anisogramma anomala* in den USA, der Apfel-Mosaik-Virus in Spanien und eine Bakteriose durch *Pseudomonas avellanae* in Italien.¹⁵ Viele Sorten zeigen unterschiedliche Krankheitsanfälligkeit. Beispiel wäre das Bakterium *Xanthomonas corylina* (Bacterial Blight), das eher in Anlagen mit Sorten mit frühem Blattaustrieb wie z.B. 'TdG' zu tragen kommt, als in Anlagen mit Sorten mit spätem Blattaustrieb wie z.B. 'En'.¹⁶

Gerade bei bakteriellen Geschwüren (Bacterial Canker) ist eine effektive Kontrolle einer Anlage sehr schwierig. Die Produktion von gesundem Pflanzenmaterial ist daher sehr wichtig. Der beste Weg zur Vermeidung von Krankheiten ist die Vermeidung von latent infizierten Pflanzen.¹⁷

Im Hinblick auf den Export ins Ausland muss für die Gesundheit der Pflanzen Sorge getragen werden, um den Einfuhrbestimmungen zu entsprechen. Oftmals können Gewebekulturpflanzen auch in Länder exportiert werden, die ansonsten strikte Verbote gegen Pflanzen mit Bodensubstrat aussprechen.

Bei einigen Erkrankungen kann die Übertragung durch Pflanzen aus der in-vitro-Vermehrung ausgeschlossen werden. Gerade aber bei Bakteriosen und Virose kann eine Übertragung nicht generell ausgeschlossen werden; Endogene Organismen werden über viele Vermehrungszyklen oft weiter verbreitet. In den Laboratorien von B. Reed¹⁸ wurden spezielle Untersuchungen zu Kontaminationen von Gewebekulturen bei *Corylus sp.* durchgeführt. Es wurden verschiedene interne bakterielle Infektionen nicht nur während der Etablierungsphase nachgewiesen, sondern auch noch nach mehreren späteren Subkulturphasen. Die Explantate wuchsen trotz der internen Bakterienpräsenz und diese konnten nur durch Antibiotika-Behandlung unter Kontrolle gebracht werden.

Eine Auswahl von Erkrankungen^{19, 20}: bei *C. avellana* sind in den Tab. 1 bis 7 angeführt und in Stichworten ihre Verbreitung bzw. Regionen mit erbrachtem Nachweis des Schaderregers, angegeben. Die in Tab. 5

¹⁴ Mehlenbacher, 1994

¹⁵ Scortichini, 2002

¹⁶ Baldwin, 2004b

¹⁷ Scortichini, 2002

¹⁸ Reed, Mentzer, Tanprasert, Yu, 1998

¹⁹ Pscheidt & Ocamb

²⁰ Kreckl, Poschenrieder, Theil, Kraus, 10-2006

angeführten Bakteriosen und die in Tab. 6 beschriebenen Virose haben für die Produktion mittels Gewebekultur große Bedeutung.

Tab. 1:
Häufige und weniger häufige tierische Schädigungen an der Pflanze und den Früchten.

Schaderreger		Synonyme (Englisch, Deutsch)	Vorkommen Bekämpfung
Haselnussbohrer	<i>Curculio nucum</i> , <i>C. neocorylus</i> , <i>C. obtusus</i> , <i>C. occidentis</i> <i>Balanus nucum</i>	Nut weevil, Hazelnut weevil, Filbert weevil	weltweit
	<i>Melissopus latiferreanus</i> <i>Cydia latiferreana</i>	Filbertworm Moth	USA (Oregon)
Haselnussknospen- Gallmilbe, Haselnussknospen- Milbe	<i>Phytocoptella avellanae</i> , <i>Eriophyes asellanae</i> , <i>Phytopus avellanae</i> , <i>Cecidophyopsis vermiformis</i>	Filbert bud mite, Hazelnut gall mite, Hazel bud gall mite, Big bud mite	Bekämpfung: Endosulfan mit 1,2 g/l ²¹
Haselbock	<i>Oberea linearis</i> ,	Hazelnut longhorned beetle	
Haselnuss- Zierlaus	<i>Macrosiphum coryli</i> , <i>Myzocallis corylli</i>	Hazelnut aphid Large hazel aphid	
Weißer Fliege	<i>Trialeurodes coryli</i>	Hazel whitefly	
Heckenwickler	<i>Archips rosanus</i>	Filbert leafroller	USA (Oregon)
Wickler	<i>Choristoneura rosaceana</i>	Obliquibanded leafroller	USA (Oregon)
Breitfüßige Birkenblattwespe	<i>Croesus septentrionalis</i>	Sawfly	
Kleiner Frostspanner	<i>Operophtera brumata</i>	Winter Moth	Nord- und Mitteleuropa
Rote Austernschildlaus	<i>Epidiaspis leperii</i>		
Maulbeer- und Mandelschildlaus	<i>Pseudaulacaspis pentagona</i>		
San-José-Schildlaus	<i>Quadraspidiotus perniciosus</i>		
Freilebende Gallmilbe	<i>Aculus comalus</i>		
Haselnuss-Blattroller	<i>Apoderus coryli</i>		
Haselnuss-Laus	<i>Corylobium avellanae</i>		
Haselnuss-Wanze	<i>Phylus coryli</i>		

Zusätzlich können Wirbeltiere wie Eichhörnchen, Kleiber, Rabenkrähen, Haselmaus, Waldmaus und Siebenschläfer erhebliche Fraßschäden in Anlagen verursachen.

²¹ Skuhravý & Zumr, 1978

Tab. 2:
Pilzkrankungen der Haselnuss 1

Schaderreger		Synonyme	Vorkommen
Östlicher Haselnussbrand, Haselnuss-Braunfäule,	<i>Anisogramma anomala</i>	Eastern filbert blight	USA (Oregon)
Anthraknose	<i>Cryptosporiopsis corlii</i> , <i>Piggotia coryli</i> , <i>Monostichella coryli</i> , <i>Labrella coryli</i> , <i>Gloeosporium coryli</i> , <i>Sphaceloma coryli</i>	Anthraknose	Europa, Asien
Cytospora-Rindenkrankheit	<i>Cytospora corylicola</i> Sacc., <i>Cytospora spp.</i>	Canker disease, Cytospora canker	Spanien, Italien
Echter Mehltau der Haselnuss	<i>Phyllactinia guttata</i> f. sp. <i>coryli</i> = <i>P. suffulta</i> , <i>Microspaera coryli</i> , <i>M. ellisii</i> , <i>M. hommae</i> , <i>M. verruculosa</i>	Powdery mildew	
Holzfäule	versch. <i>Basidiomycota</i>	Wood decay	
Blattbräune	<i>Gnomonia leptostyla</i> , <i>Marssonina juglandis</i>	Blast disease	oft in Gemeinschaftsinfektion mit Bakterienbrand
Monilia	<i>Monilinia fructigena</i> (<i>Sclerotinia coryli</i>) <i>Monilia coryli</i>	Brown rot of hazel	
	<i>Armillaria spp.</i>	Armillaria Root disease	
	<i>Cryptosporiopsis tarraconensis</i>	Borro sec	
Kräuselkrankheit	<i>Taphrina coryli</i>	Leaf blister	
Blattfleckenkrankheit	<i>Anguillosporella vermiformis</i> , <i>Asteroma coryli</i> , <i>Cercospora corylina</i> , <i>C. coryli</i> , <i>Mamianiella coryli</i> , <i>Monochaetia coryli</i>	Leaf spots	

Tab. 3:
Pilzkrankungen der Haselnuss 2 (Fortsetzung zu Tab. 2).

Schaderreger	Synonyme	Vorkommen
Obstbaumkrebs Rotpustelkrankheit	<i>Nectria ditissima</i> , <i>Nectria galligena</i> , <i>Nectria cinnabrina</i>	Nectria canker
	<i>Phymatotrichopsis omnivorum</i>	Texas root rot
Rost	<i>Puccinastrum coryli</i>	Rust
Bleiglanz	<i>Chondrostereum purpureum</i>	
Verticillium-Welke	<i>Verticillium sp.</i>	

Tab. 4:
Schädigungen an der Nussfrucht durch Pilzinfektionen.

Schaderreger	Synonyme	Symptome
<i>Mycosphaerella punctiformis</i> (<i>Ramularia sp.</i>)	Kernel Molds	
<i>Phomopsis spp.</i>	Kernel Molds	interne Verfärbung
<i>Septoria ostryae</i>	Kernel Molds	interne Verfärbung
<i>Nematospora coryli</i>	Kernel spot	Hefe

Viele auftretende Pilzinfektionen an der Nuss werden mit dem physiologischen Zustand der Produktionspflanze in Verbindung gebracht.

Tab. 5:
Bakteriosen bei *C. avellana*.

Schaderreger	Synonyme	Verbreitung, Nachweis
<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>corylina</i> ²² , <i>X. campestris</i> pv. <i>corylina</i> , <i>X. corylina</i>	Filbert bacterial blight, Bacterial blight, Bacteriose du noisetier	USA (Oregon) Frankreich
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>avellanae</i>	Bacterial canker	Italien, Deutschland
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Crown gall, Wurzelkropf	

²² EPPO, 1998

Tab. 6:
Virosen bei *C. avellana*

Schaderreger	Virus	
Apfel-Mosaikvirus, Haselnuss- Mosaikvirus	ApMV	Apfel mosaik virus, Hazelmosaic
	PNRSV	Prunus necrotic ringspot virus
	TAMV	Tulare apple mosaic virus
	MLO	Hazel maculatura lineare

Tab. 7:
Physiologische Schädigungen und Erkrankungen unbekanntem Ursprungs

Symptom	Ursprung	Synonyme	
Verbräunung	Bodenpilze	Brown Stain	
Sonnenbrand	Vollbesonnung im Sommer	Sun scald	
Entwicklungsstörungen	Forschung geht zu Bodenpilzen, Nematoden, Ernährung; Symp.: Blätter kleiner, grün-gelblich, verkürzte Internodien, Wurzeln ohne Wurzelhaare	Stunt, Dilly, Stubborn ²³	möglicherweise durch Veredelung, bisher nur bei „Barcelona“ und „Du Chilly“
Phyto- od. Spiroplasmen	Haselnuss-Verkrümmung / Wachstums-Hemmung	Filbert stunt,	
Spiroplasmen		Hazelnut Yellow	
Leere Nussschalen		Blanks	
Deformierte Kätzchen		Catkin Blast	

Nachweis von Erkrankungen in Gewebekulturen

Unternehmungen, einen Nachweis über die Gesundheit der produzierten Haselnuss-Pflanzen bezüglich *Pseudomonas avellanae* und *Xanthomonas corylina* zu erhalten, verliefen bis Ende 2005 nicht erfolgreich. Untersuchungen über endogene Organismen wie Pseudomonaden in Gewebekulturen sind spärlich und Nachweise wurden nicht kommerziell angeboten. Anfragen bei Dr. Georg Poschenrieder von der Lfl-Bayern²⁴ zeigten die Dringlichkeit und Notwendigkeit eines

²³ OSUE

²⁴ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Landwirtschaft, Arbeitsgruppe Bakteriologie

Nachweises. Die von Poschenrieder durchgeführten Forschungsarbeiten zum Nachweis von Pseudomonaden an *Corylus* beinhalten jedoch nur Pflanzen mit bei ausgeprägter Symptomatik im Freiland. Im Jahr 2006 wurden Untersuchungen an Kultursorten der Sortensammlung im Freiland der Fa. Vitroplant zum Nachweis von pathogenen Bakterien der Gattungen *Pseudomonas* und *Xanthomonas* durch G. Poschenrieder durchgeführt. Laut W. Leonhardt, Fa. VitroPlant²⁵ erbrachten diese Untersuchungen ein negatives Resultat.

1.1.6 Bearbeitung

Bodenanspruch der Haselnuss für die Produktion

Die Empfehlungen für geeignet Böden zur kommerzielle Produktion liegen in erster Linie bei gut entwässerten, fruchtbaren Lehmböden mit einem pH-Wert zwischen 6²⁶ und 7,5.²⁷ Tiefe Böden um 1,8 m Tiefe²⁸ und Regionen mit mehr als 900 mm Niederschlag gelten als ideal. Bei geringerem Niederschlag oder weniger tiefem Boden wird eine Bewässerung empfohlen.²⁹ Haselnüsse können zwar auf mageren Böden wachsen (siehe Wildformen) erzielen jedoch nur geringen Ertrag³⁰. Für kompaktere, kalkreiche Böden werden Sorten wie 'TR' oder 'TdG' empfohlen.³¹

Klimaanspruch für die kommerzielle Produktion

Temperate Regionen mit ausreichendem Niederschlag, also zumindest über 750 mm sind Bedingung. Nach Aussagen der Firma Vitroplant ist jedoch nicht die Jahresniederschlagsmenge, sondern die Wassermenge im Frühjahr von April bis Mai entscheidend. Werden Niederschläge verschiedener Produktionsgebiete verglichen, so finden sich auch Gebiete mit hohem Nussertrag bei unter 450 mm Niederschlag während der Vegetationsperiode wie etwa Oregon in den USA. Lange Ruheperioden im Winter verbessern den Ertrag. Solche Ruheperioden müssen jedoch für männliche und weibliche Blüten gesondert betrachtet werden. Bei männlichen Kätzchen müssen zusätzlich große Sortenunterschiede in Betracht gezogen werden. Für weibliche Kätzchen und Blattknospen gelten im Allgemeinen etwa 1200 h zwischen 5 und 7 °C als ausreichend. Wenn jedoch die weiblichen Blüten geöffnet sind, sollte die Temperatur nicht mehr unter -5 °C fallen. Je wärmer und trockener der Sommer ist, desto sensibler reagiert die Haselnuss auch auf Wind.³² *Corylus* hat geringe Toleranz gegenüber starker Hitze, scharfen Winden und

²⁵ Mündl. Leonhardt, W.; Fa. Vitroplant 2008

²⁶ Snare, 1998

²⁷ Baldwin, 2004a

²⁸ Snare, 1998

²⁹ Mehlenbacher, 1994

³⁰ Snare, 1998

³¹ Mehlenbacher, 1994

³² Snare, 1998

Wasserstress. In der dormanten Phase sind tiefere Temperaturen bis -15°C ohne Auswirkung. In der Zeit der Pollination ist die Sensibilität von *Corylus* jedoch erhöht und schon Temperaturen unter -8°C oder über 20°C zeigen sich negativ in der Blüte und somit auch im Ertrag.³³

Pflanzabstand

Der Pflanzabstand der Haselnuss ist abhängig von der Sorte, vom Boden und der Bearbeitungsform. Empfehlungen liegen zwischen 4,5 m mal 4,5 m bis zu Abständen von 7,5 m mal 7,5 m.³⁴

Pollinateure

Insgesamt sollte der Abstand zwischen Bestäuberstrauch und Produktionsstrauch nicht weiter als 15 m bis 21 m betragen.³⁵ Je näher der Pollinateur steht, desto besser sind die Ergebnisse bei Pollination und Nuss-Anlage.³⁶ Bei Start einer Anlage gilt ein Pollinateur auf acht Produktionspflanzen, bei älteren Anlagen kann später reduziert werden.³⁷

Erziehung

Da steil wachsende Äste weniger tragfähiges Fruchtholz bilden, wird auf eine Erziehung in die Breite geachtet und geschnitten. Je besser die Besonnung der Zweige ist, desto höher ist der Ertrag.³⁸

1.1.7 Ernte und Ertrag

Sämlinge beginnen nach 6 bis 8 Jahren zu tragen, vegetativ vermehrte Pflanzen tragen schon nach 4 bis 6 Jahren. Bei guter Pflege kann die Tragfähigkeit des Haselstrauchs 40 bis 60 Jahre lang erhalten werden.³⁹

³³ Baldwin, 2004a

³⁴ Snare, 1998

³⁵ Azarenko, Mehlenbacher, Olsen

³⁶ Snare, 1998

³⁷ Snare, 1998

³⁸ Stoll & Gremminger, 1986

³⁹ Stoll & Gremminger, 1986

1.1.8 Wirtschaftliche Bedeutung der Haselnuss

Der Bedarf an Haselnüssen (laut Daten aus 1993) ist in den Produktionsländern pro Person und Jahr in Italien mit 0,520 kg Nüsse pro Person am höchsten, gefolgt von Griechenland mit 0,369 kg und der Türkei mit 0,250 kg. Weltweit betrachtet liegt der Verbrauch (Schokolade etc.) mit 2.096 kg pro Person und Jahr in der Schweiz am Höchsten, dicht gefolgt von Österreich, Belgien, Deutschland und Luxemburg.⁴⁰

Die wichtigsten Produktionsländer weltweit (Abb. 6) liegen im Norden der Türkei an der Küste des Schwarzen Meeres, Italien, Spanien und in Oregon, USA.⁴¹

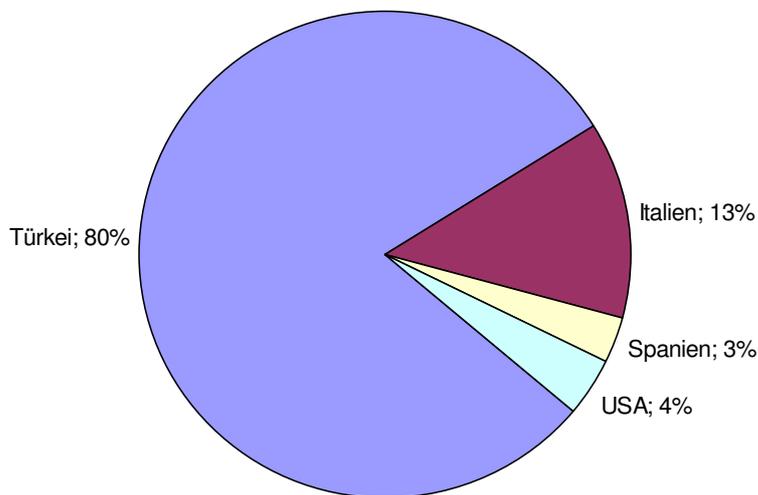


Abb. 6: Wichtige Produktionsländer und ihre Verteilung vor 2000.⁴²

Laut FAO (United Nations Food and Agriculture Organisation) (Abb. 7) sind 2002 die wichtigsten Produktionsländer wiederum die Türkei mit 625.000 t (74%), gefolgt von Italien mit 123.000 t (15%), Spanien mit 22.000 t (3%) und dann auch Azerbaijan und die USA mit jeweils 16.000 t also mit 2% der Weltproduktion.⁴³

⁴⁰ Köksal, 2000

⁴¹ Baldwin, 2004b

⁴² Coutts

⁴³ Foreign Agricultural Service/USDA, 2004

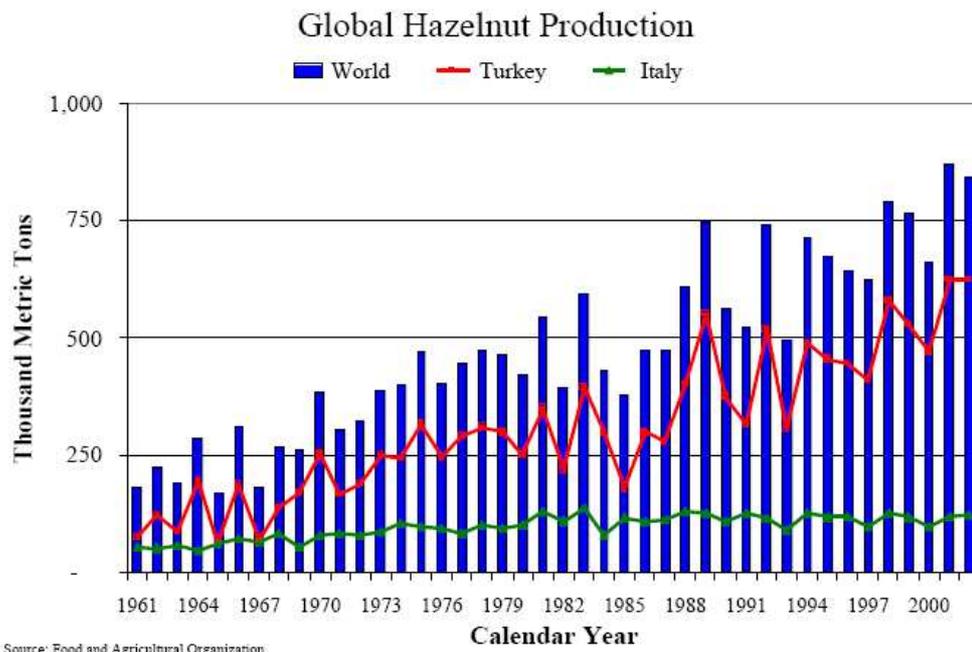


Abb. 7:
Produktionsanstieg bis 2002 ausgewählter Länder (Türkei, Italien) (Coutts)

Von 1961 bis 2002 stieg die Weltproduktion von 182.275 t auf 842.981 t. Allein der Produktionsanstieg in Italien von rund 55.000 t auf etwa 122.500 t ist für Europa relevant.⁴⁴ Trotzdem liegen die dominanten Anbauggebiete noch in der Türkei. Allein Fiskobirlik, die größte Produktionsvereinigung, bestehend aus 70 Kooperativen mit 200.000 regulären Mitgliedern und 200.000 zusätzlichen Mitgliedern in der Türkei⁴⁵ hat ihren größten Exportmarkt 2002 innerhalb der Europäischen Union, wobei eine Erweiterung nach Asien und auch in die USA versucht wurde und wird. In den USA ist die Türkei in ein Promotion Programm von US-Produzenten involviert, das den Konsum von Haselnüssen innerhalb der USA erhöhen soll.⁴⁶ Der größte Anteil der US-Produktion erfolgt in Oregon. Die amerikanischen Exporte werden jedoch durch den steigenden internationalen Wettbewerb und die dadurch bedingten niedrigen Preise, vor allem der türkischen Produkte, stark betroffen sein.⁴⁷ Obwohl die USA einen guten Anteil an der Gesamt-Weltproduktion hat, sind diese Erträge dennoch nicht für den Eigenbedarf ausreichend. Die Produktion oder der Import werden steigen müssen.⁴⁸ Andererseits sind die USA Hauptexporteure in die EU bei Jumbonüssen bzw. Ganznüssen vor allem der Sorte „Ennis“. Auch Italiens Hauptexport führt in die EU. Die EU-Förderungen für die innereuropäische Haselnuss-Produktion sind ausgelaufen und nicht durch neue Unterstützungsmaßnahmen ersetzt worden. Auch die spanischen Exporte werden fallen und die Importe durch

⁴⁴ Foreign Agricultural Service/USDA, 2004

⁴⁵ Hazelnut Industry News, 2002

⁴⁶ Coutts

⁴⁷ Coutts

⁴⁸ Köksal, 2000

geringeren Anbau steigen. Auch wenn es keine Unterstützungsprogramme der EU gibt, so gibt es dennoch Verbesserungspläne die auch im spanischen Haselnuss-Sektor ihre Anwendung finden. Gerade in Europa finden vor allem verarbeitete Nüsse in der Konfekt- und Backindustrie ihre Anwendung. Als einer der größten Verarbeiter in Australien gilt die Firma Ferrero für Nutella und Haselnuss-Blöcke.⁴⁹ Obwohl neben den oben genannten Hauptanbaugebieten auch in der ehemaligen Soviet-Union, Iran, Rumänien oder auch Frankreich Produktion stattfindet, haben diese Regionen nur einen geringen Anteil am Weltmarkt.⁵⁰

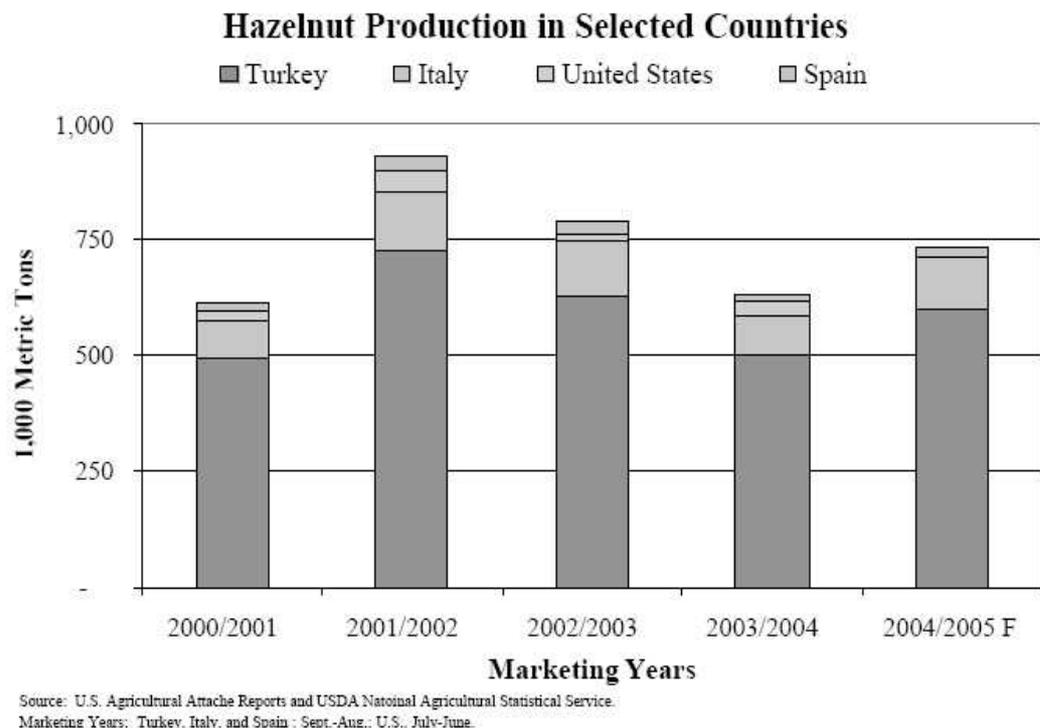


Abb. 8:
Haselnuss-Produktion und jährliche Schwankungen in ausgewählten Ländern bis 2005.
(Foreign Agricultural Service/USDA 2004)

Die Weltproduktion (Abb. 8) zeigt Fluktuationen die durch die klimatischen Schwankungen von Jahr zu Jahr bedingt sind. Solche Schwankungen reichen in der Türkei von 350.000 bis 400.000 t bis zu extrem guten Erträgen mit 600.000 t pro Jahr.⁵¹ Der auf die Menge bezogene wichtigste Importeur ist Deutschland mit etwa 35% des weltweiten Imports. Trotz der hohen Produktion in Italien werden zusätzliche Importe benötigt. Die Schweiz zeigt stabile Importraten, aber Frankreich, Österreich, Belgien und Luxemburg haben in den letzten Jahren stark steigenden Bedarf.⁵²

⁴⁹ Coutts

⁵⁰ Köksal, 2000

⁵¹ Köksal, 2000

⁵² Köksal, 2000

1.2 Herkömmliche Vermehrungsvarianten

Die Hasel ist durch Ausläufer, waagrechtes Absenken, Anhäufeln und durch Stecklinge (mit und ohne Nebelvermehrung) vermehrungsfähig. Bei Aussaat können Keimungsraten von 25 bis 30% erzielt werden. Bei Produktion von Sämlingen der Baumhasel benötigt diese eine ausreichende Kältestratifizierung.⁵³

Solch aufwendige Vermehrungsprozesse mit niedriger Erfolgsrate machen eine rentable Vermehrung und Produktion schwierig und die Vermehrung mittels Gewebekultur im Bezug auf die Rentabilität interessanter.

1.3 Vermehrung mit Gewebekultur

1.3.1 Begriffsklärung und Anwendungsmöglichkeiten

Die vegetative Vermehrung ist die häufigste Nutzung der Gewebekultur-Technologie bei Pflanzen. Die verschiedenen Möglichkeiten von der Vermehrung, über die Inhaltsstoffproduktion bis hin zur Pflanzenzüchtung finden sich Anwendungsmöglichkeiten (Abb. 9).

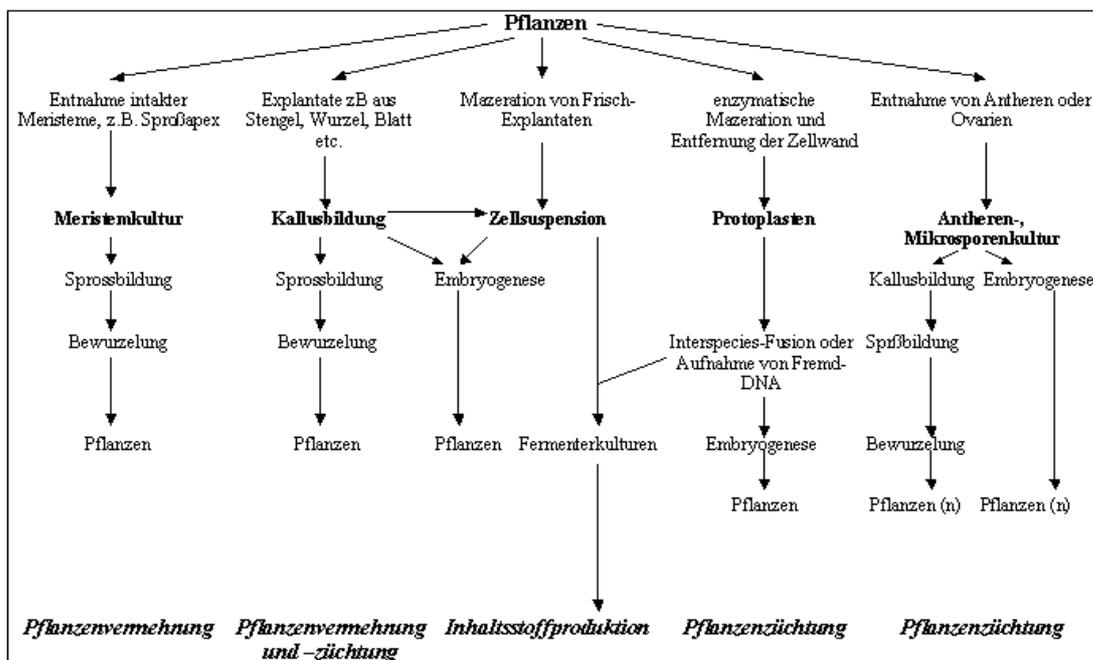


Abb. 9:

Schematische Zusammenfassung der verschiedenen Verfahren der Zell- und Gewebekulturechnik und einige Anwendungsmöglichkeiten. (Neumann, 1995)

⁵³ Stoll & Gremminger, 1986

Beginnend bei axillärem Knospenaustrieb, über Adventivsprossentwicklung, direkt oder indirekt aus Kallusgewebe oder auch somatische Embryogenese, sind Beispiele der Kulturmöglichkeiten. Im Allgemeinen haben Kulturen die mit Hilfe der axillären Sprossentwicklung vermehrt werden, zwar die geringste Multiplikationsrate aber dafür entsprechen die produzierten Pflanzen weitgehend dem genetischen Ursprung.⁵⁴

1.3.2 Geschichte der Gewebekultur⁵⁵

Erste Veröffentlichungen zu Themen der Gewebekultur fallen in das Jahr 1902 durch HABERLANDT. Seine Experimente beschäftigten sich mit dem Nachweis zur Eigenständigkeit von Pflanzenzellen unabhängig vom Gesamtorganismus Pflanze. Leider hat HABERLANDT anschließend seine Aufmerksamkeit wohl mehr der Wundheilung als der Zellkultur gewidmet und so kam es erst in den 30iger Jahren durch CARRELL mit tierischen Geweben zu erfolgreichen Arbeiten. Gleichzeitig publizierte REHWALD 1927 Arbeiten zur Kallusbildung bei Karotten ohne pathologische Einwirkungen und GAUTHERET berichtet 1934 über in-vitro kultivierte Kambiumexplantate. Inzwischen war jedoch schon die Wirkung von Indolelessigsäure im Bezug auf Zellteilung und –wachstum bekannt geworden. NOBECOURT untersuchte 1937 die Wirkung dieses Auxins auf Karottenexplantate. Gleichzeitig gelingen WHITE 1939 in den USA erfolgreiche Kulturen von Tabak. Karotte und Tabak sollen auch in der weiteren Entwicklung die häufigst verwendeten Pflanzenarten bleiben.

Vor allem durch die STEWARD-Gruppe an der Cornell Universität und Arbeiten von SKOOG und seinen Mitarbeitern erreicht die Gewebekultur Ende der vierziger und Anfang der fünfziger Jahre neuen Aufschwung. Sie veröffentlichen Ergebnisse zum Einfluss des flüssigen Endosperms von *Cocos nucifera* auf ihre Kulturen. Gleichzeitig wurde die Entdeckung der somatischen Embryogenese in Zellsuspensionen und Kalluskulturen durch STEWARD 1958 und REINERT 1959 publiziert.

Diese in den fünfziger Jahren begonnene und 1985 abgeschlossene Untersuchung der Kokosnusssmilch durch STEWARD brachte wichtige neue Erkenntnisse. Die einflussnehmenden Komponenten des Endosperms waren ein *Aminosäuregemisch*, weiters die sogenannte *Neutralfraktion* – Kohlenhydrate wie Hexitole, und zuletzt die *aktive Fraktion*, vor allem 2-Isopentyladenin und Cytokine wie Zeatin und einige Derivate. Bis heute ist die chemische Zusammensetzung der Kokosnusssmilch und ihre Wirkung nicht vollständig aufgeklärt.

1957 berichten SKOOG und MILLER über Versuche zur Bedeutung der

⁵⁴ Smith, 2000

⁵⁵ Neumann, 1995

Auxin-Cytokin-Relation. Anfang der sechziger Jahre beginnt die Erstellung synthetischer Nährmedien. Bis heute verlor das 1962 durch MURASHIGE und SKOOG entwickelte Medium und verschiedene Abwandlungen davon nicht an Bedeutung. Mit synthetischen Medien war es ab nun möglich, Fragen zur Bedeutung einzelner Komponenten für Wachstum, Teilung und Differenzierung oder auch für die biochemische Leistung der Zellen, einschließlich der Sekundärstoffproduktion, zu untersuchen. Auch erschienen in den Sechzigern erste Berichte über Antherenkulturen, Gewinnung und Kultur von Protoplasten und es erfolgten erste systematische Untersuchungen zur Inhaltsstoffproduktion. 1984 wurden durch POTRYKUS erste gentechnologische Verfahren zur gezielten Informationsänderung vorgestellt und bis heute ist dies eines der wichtigsten Themen auf Gewebekulturkongressen. Parallel dazu gibt es seit 1963 durch MOREL und seine Orchideenvermehrung begründetes vermehrtes Interesse an Zierpflanzen, Forstpflanzen und auch landwirtschaftlich genutzten Kulturpflanzen und deren in-vitro Vermehrung.

1.3.3 Arbeitsweise der Gewebekultur

Nicht nur die Nutzung steriler Kulturgefäße und Nährmedien, auch das sterile Arbeiten an und mit Gewebe ist Grundvoraussetzung einer erfolgreichen Gewebekultur. Arbeiten mit sterilen Handschuhen oder die Desinfektion der Hände mit 70%⁵⁶ Ethanol, sowie das Tragen von Arbeitskleidung und Mundschutz sind in Gewebekulturlabors üblich. Die Nutzung steriler Arbeitsumgebung mit Hilfe von Luftfiltern, Schleusen und einer Laminair⁵⁷ dient des Weiteren der erfolgreichen Kulturführung. Die größte Schwierigkeit ist dennoch das richtige Milieu und das geeignete Nährmedium für eine Pflanze zu entwickeln. Dahingehend wurden, unter anderem auch wegen Interaktionen zwischen verschiedenen Medium-Komponenten, verschiedene zeitaufwendige Gewebekultur-Medium-Entwicklungsmethoden erarbeitet.⁵⁸ Dennoch arbeiten viele Betriebe und Forschungseinrichtungen nach einer Kombination aus persönlicher Erfahrung und dem Prinzip von „Try&Error“, wie es auch in dieser Arbeit immer wieder deutlich wird.

Grundlage jeder Zellkultur ist der Ablauf bestimmter Differenzierungsprozesse und die Etablierung der kultivierten Zellen. Auf Wachstum, Entwicklung und biochemischer Leistungsfähigkeit üben eine große Anzahl von Parametern Einfluss aus. Zum einen sind dies genetische Einflüsse und der Entwicklungszustand des Ausgangsmaterials, genannt endogene Faktoren und andererseits sind exogene Faktoren, wie z.B. Nährstoffversorgung und physikalische Umweltbedingungen ausschlaggebend für das Gelingen einer Kultur.⁵⁹

⁵⁶ Smith, 2000

⁵⁷ Smith, 2000

⁵⁸ Nas & Read, 2004

⁵⁹ Neumann, 1995

1.3.4 Arbeitsabschnitte der Gewebekultur

Start, Etablierung und Vermehrung, Bewurzelung, Akklimatisierung und anschließende Selbstständigkeit einer Pflanze sind die aneinander gereihten Vorgänge einer erfolgreichen Gewebekultur. Jeder einzelne dieser Abschnitte hat unterschiedliche Teilziele, die erst in der Gesamtheit ein Protokoll als erfolgreich bezeichnen lassen.

Etablierung

Die Etablierung, oder auch die Inkulturnahme einer Pflanze, ist die Grundlage der Produktion. Voraussetzung sind die richtige Wahl der Jahreszeit der Explantatenahme, die Vorbereitung des Explantats, die Wahl der geeigneten Methode einer Oberflächendesinfektion und das passende Startmedium. Der physiologische Zustand des Ausgangsmaterials, und damit zusammenhängende saisonale Unterschiede bezüglich des Optimums eines Kulturstarts werden für die verschiedensten Species publiziert.⁶⁰ Einige Publikationen sprechen sich besonders für die Wichtigkeit der Wahl der Jahreszeit für die Explantatentnahme bei *Corylus* aus.⁶¹

Für die Auswahl der zu kultivierenden Sorte sind Eigenschaften ausschlaggebend, die oft erst im ausgereiften Zustand erfasst werden können. Bei Haselnüssen hat es sich bewährt, erprobte, und daher ausgereifte Individuen für die Vermehrung heranzuziehen.⁶² Problematischerweise zeigen jedoch diese ausgereiften Gewebe eine reduzierte morphogenetische Kapazität und vielfach Recalcitranz in In-vitro-Kulturen⁶³ Geringe Initiations- und Multiplikationsraten, mangelhafte Sprosselongation und hohe Kontaminationsraten.^{64,65} sind jene Faktoren, die den Erfolg der Microstecklingsvermehrung von gewählten Selektionen limitieren. Mit dem Versuch, dem Problem der Recalcitranz zu begegnen, werden die jüngsten, also juvenilsten Anteile, wie z.B. Basalsprosse, herangezogen oder der ausgereifte Baum wird Rejuvenilisierungsmaßnahmen unterzogen⁶⁶ Das wichtigste Ziel dieser Maßnahmen ist die Erhöhung des Hormon- (bzw. Wachstumsregulatorengelalts des Explantats, um ein ähnliches Niveau wie in juvenilen Geweben zu erreichen.⁶⁷ In der Produktion von *Corylus* durch Microsprosse in der Gewebekultur hat sich die Entnahme von lateralen und terminalen Knospen und Trieben bewährt.⁶⁸ Es erfolgt eine Isolation

⁶⁰ Benson, 2000

⁶¹ Benson, 2000

⁶² Nas & Read, 2004

⁶³ Smith, 2000

⁶⁴ Smith, 2000

⁶⁵ Nas & Read, 2004

⁶⁶ Nas & Read, 2004

⁶⁷ Nas & Read, 2004

⁶⁸ Smith, 2000

der apikalen Meristeme der Knospen bzw. Triebspitzen.

Zunächst werden die Knospen von der äußeren Knospenhülle befreit und die Oberflächen-Desinfektion durchgeführt. Gängige Methoden zur Oberflächen-Desinfektion verwenden NaOCl und Ethanol⁶⁹. Beides in unterschiedlichen Konzentrationen und Anwendungszeiten. Die im folgenden Kapitel beschriebene Methode mit einer Kombination aus NaOCl und Na-Mertiolate ist die speziell für *Corylus* von Damiano⁷⁰ entwickelte Methode. Er konnte damit eine Überlebensrate von 60% erzielen. Die anschließende Präparation der Apikalspitze und die Beseitigung aller sichtbarer Primordien folgt. Die Kultivierung startet mit der Überführung der Apikalspitze in das Startmedium.⁷¹

Hohe Phenolgehalte, die in Gehölzen oft vorhanden sind, führen durch Oxidation nach der Oberflächen-Desinfektion häufig zu Bräunung und Schwärzung des Gewebes, also zu Nekrosen die im schlimmsten Fall zum Absterben des Gewebes führen können. Durch Lichtentzug in den ersten Tagen nach dem Kulturstart kann die Verbräunung reduziert, in manchen Fällen verhindert werden⁷².

Die Etablierungsphase einer Kultur führt weiters von den geringen Zellzahlen der Startmeristeme bis zum vermehrungsfähigen, vitalen Microsteckling.

Multiplikation

Ziel sind Vermehrungspflanzen mit stabiler Vermehrungsrate, die etwa eine Vermehrung von 3 aus 1 aufweisen, um eine gleichmäßige Entwicklung ohne Büschelwuchs und Gewebe ohne Vitrifikation zu gewährleisten.

Oftmals wird dieses Ziel durch eine Reduktion der Wachstumsregulatoren auf 50% des Startmediums erreicht. Nas empfiehlt Vermehrungsmedien mit der Zugabe von Benzyladenin (BA) und Putrescin.⁷³ Die Grundlage des folgenden Protokolls ist jedoch das Protokoll nach Damiano der sich für DKW- und MOLT-Medium als am Besten geeignete ausspricht. Ergänzungen finden diese Medien mit 1,5 mg/l-1 BA, 0,1 mg/l-1 GA3 und 0,01 mg/l-1 IBA.⁷⁴

Bewurzelung

Die Schwierigkeit eine Pflanze vom Labor ins Freiland transferieren zu können, beginnt mit dem Signal für die Pflanze sich „selbstständig“

⁶⁹ Smith, 2000

⁷⁰ Damiano, Catenaro, Giovinazzi, Caboni, 2005

⁷¹ Smith, 2000

⁷² Nas & Read, 2004

⁷³ Nas & Read, 2004

⁷⁴ Damiano et al., 2005

ernähren zu müssen – die Produktion von Wurzelanlagen und Wurzeln. Der Schritt der Bewurzelung ist ausschlaggebend für den Gesamterfolg und die Grundlage des Akklimatisierungsprotokolls. Indirekte Bewurzelung, also die Produktion von Wurzeln bevor die Pflanze aus dem Labor in Substrat überführt wird kann durch geeignete Phytohormone bewerkstelligt werden. Damiano erzielt sein bestes Ergebnis mit festem DKW-Medium bei halber Konzentration und Zugabe von 2 mg l⁻¹ IBA mit einer Bewurzelungsrate von über 70%.⁷⁵

Akklimatisierung

Eine hohe in-vitro Vermehrungsrate alleine garantiert noch keinen Erfolg des Microsteckling-Protokolls. Die Optimierung der Bewurzelungs- und Akklimatisierungsschritte sind weitere ausschlaggebende Schritte.⁷⁶

1.4 Stand des Wissens

Traditionelle Vermehrungsverfahren der Haselnuss sind nicht nur zeitaufwendig und arbeitsintensiv,⁷⁷ sondern auch nicht wirtschaftlich.⁷⁸ Die Möglichkeit mittels Gewebekultur vermehrter Haselnuss-Pflanzen gilt als attraktive Alternative⁷⁹, ist jedoch einerseits durch die Recalcitranz der ausgereiften Explantate und andererseits auch durch das Fehlen eines geeigneten Mediums limitiert.⁸⁰ Microstecklingsvermehrung sollte eine kommerzielle Produktion erlauben.⁸¹ Als problematisch erweisen sich die Proliferation, ungenügende Triebblängen, eine hohe Kontaminationsrate, vitrifizierte Pflanzenteile, Chlorosen und genotyp-spezifische Unterschiede⁸². Vor allem die Vitrifizierung und Chlorosen haben starken Einfluss auf die Qualität der in vitro Pflanzen und dadurch auch deren Überleben während der Akklimatisierung.⁸³ Gerade die Haselnuss zeigt sich durch Salzkomponenten sehr stark beeinflusst, und da vor allem durch die Eisenquelle, und auch durch den physikalischen Zustand des Mediums. Auswirkung finden sich auf die Qualität der Pflanzen und auch auf deren Multiplikationsrate⁸⁴.

Untersuchungen zu einem geeigneten Nährmedium für *Corylus avellana* L. führen zu sich widersprechenden Ergebnissen. Rodriguez et al. (1989) verglich die damalige Literatur und entschied sich zur Empfehlung eines

⁷⁵ Damiano et al., 2005

⁷⁶ Nas & Read, 2003

⁷⁷ Nas & Read, 2004

⁷⁸ Nas & Read, 2003

⁷⁹ Nas & Read, 2003

⁸⁰ Nas & Read, 2004

⁸¹ Nas & Read, 2001

⁸² Nas & Read, 2001

⁸³ Nas & Read, 2001

⁸⁴ Nas & Read, 2001

üblichen MS-Mediums (Murashige, Skoog, 1962) oder K(h) (Cheng, 1975) als effektivstes Basalmedium für die Gewebekultur. Diaz-Sala et al. (1990) und Al-Kai et al. (1984) stellten jedoch Vitrifikation und Chlorosen auf MS-Medium fest. 1987 publizierte Perez et al., dass K(h) bei halber Konzentration das beste Medium mit der höchsten Multiplikation bei der Kultivierung von Embryos und einzelnen lateralen Knospen von ausgereiften Bäumen sei. Schon 1985 wurde von Perez et al. K(h) halbe Konzentration für die beste Etablierung und Elongation empfohlen, während die volle Konzentration Nekrosen verursachen soll.⁸⁵ Erst 1993 wurde von Yu und Reed ein modifiziertes DKW-Medium für die beste Multiplikationsrate publiziert⁸⁶.

Nas⁸⁷ zeigte die Korrelationen zwischen Salzkonzentration und Eisen-Chelats mit der Chlorosen-Bildung. Die Quelle des Eisens betraf laut Nas signifikant die Sprosslänge, Blattausfärbung und –morphologie, aber nicht die Triebanzahl. Bei der Verwendung von FRS als Eisenquelle war der Spross länger aber die Blätter wiesen Nekrosen auf. Bei der Verwendung von Sequestren®138 wurden gesund wirkende Sprosse mit dunkelgrüner Blattausfärbung erzielt. Bei Sequestren®330 entstanden im Gegensatz zu Sequestren®138 kürzere und zum Teil vitrifizierte und braune Sprosse.⁸⁸ Ihre Ergebnisse sprechen von WPM- oder NN-Medium als bestes Medium für die in vitro Produktion von *Corylus sp.*. Unter anderem führen sie ihre unterschiedlichen Ergebnisse im Vergleich zu anderen auf unterschiedliche Kulturbedingungen, Genotypen, Explantat-Typen und die Ausführung durch unterschiedliche Wissenschaftler zurück.⁸⁹

2004 wurde von Nas der Zusatz von exogenen Polyaminen untersucht und die Ergebnisse zeigten eine Verbesserung der Etablierung, ein Anstieg der morphogenetischen Kapazitäten und der Sprosselongation.⁹⁰ Polyamine scheinen eine neue Kategorie von pflanzlichen Wachstumsregulatoren zu sein und sind in ein weites Spektrum von physiologischen Prozessen wie Stresstoleranz, Embryogenese, Zellteilung, Morphogenese und Entwicklung involviert. Polyamine sind polykationische niedermolekulare Substanzen und in jedem Organismus zu finden.⁹¹

Der Polyamingehalt liegt in juvenilen Geweben meist höher als in adulten Geweben. Hohe Konzentrationen an freiem Putrescin werden jedoch mit der „Leichtigkeit“ der Etablierung einer neuen Kultur in Verbindung gebracht.⁹²

Nicht nur die Verbesserung der Etablierung, auch die Erhöhung der

⁸⁵ Nas & Read, 2001

⁸⁶ Nas & Read, 2001

⁸⁷ Nas & Read, 2001

⁸⁸ Nas & Read, 2001

⁸⁹ Nas & Read, 2001

⁹⁰ Nas & Read, 2004

⁹¹ Liu, Honda, Moriguchi, 2006

⁹² Nas & Read, 2004

morphogenetischen Möglichkeiten von ausgereiften Explantaten sind Verdienste von zugesetztem Putrescin. Es erhöht die Multiplikationsrate und verbessert die Triebblängen.⁹³

Zusätzlich soll die Zufuhr von Polyaminen die Produktion von ungewolltem Ethylen reduzieren. Die Ergebnisse von Nas zeigten die besten Ergebnisse bei 0,4 mM l⁻¹ in Etablierungsmedien und 0,2 mM l⁻¹ in Multiplikationsmedien.⁹⁴

Damiano⁹⁵ zeigte, dass die wichtigste Problematik schon in der Etablierung einer Kultur liegt und empfiehlt in der Oberflächen-Desinfektion die Behandlung mit Quecksilber. Die besten Sterilisationsergebnisse wurden mit der Behandlung von einer Aufeinanderfolge von einerseits NaOCl mit 20 Minuten und andererseits von ThimerosolUSP mit einer Behandlungsdauer von 20 Minuten erzielt. Damiano erreichte eine Überlebensrate von 60 %.⁹⁶ Damiano empfahl für den Start das Perez-Tornero (M2)-Medium und für die Multiplikation ein modifiziertes DKW-Medium, genannt Molt.⁹⁷ Damiano vermutete, dass *Corylus* gerade in der Etablierungsphase eine hohe Sensibilität gegenüber Kalium aufweist⁹⁸.

Für die Vorbehandlung der zu sterilisierenden Explantate wurde ein neues Produkt der Fa. AKA Technology (ehem. POC) in einer Konzentration von 1%w/v empfohlen⁹⁹. Akacid®plus ist eine geruchlose wasserlösliche Mischung aus 2 verschiedenen Guanidin-Hydrochlorid-Polymeren. Akacid®plus hat in erster Linie bakterizide, aber auch fungizide und acarizide Wirkung.¹⁰⁰

Die Bewurzelung und Akklimatisierung bei *Corylus* zeigte unterschiedlichste Ergebnisse. Nas (2003) berichtet von Auxin-Behandlungen und anschließender Direktbewurzelung in Jiffy peat als die beste Variante mit hohen Bewurzelungsraten und Überlebensanteil. Diese Bewurzelungsmethode gewährt jedoch insgesamt keinen guten Wachstumsverlauf von *Corylus sp. ex vitro*. Nas setzte eine hohe Qualität der in vitro Pflanzen für die Bewurzelung und ein Akklimatisierungsprotokoll mit hohen Überlebensraten einem kommerziellen Erfolg der Gewebekultur bei *Corylus* voraus. Er verspricht eine Optimierung der Kulturbedingungen und ein verbessertes Akklimatisierungsprotokoll.¹⁰¹ Damiano versprach gute Bewurzelungserfolge von 79% mit einer IBA-Behandlung in einer Konzentration von 2 mg l⁻¹ in einem DKW-Medium bei halber

⁹³ Nas & Read, 2004

⁹⁴ Nas & Read, 2004

⁹⁵ Damiano et al., 2005

⁹⁶ Damiano et al., 2005

⁹⁷ Damiano et al., 2005

⁹⁸ Damiano et al., 2005

⁹⁹ Snare, 1998

¹⁰⁰ Lloyd & McCown, 1980

¹⁰¹ Nas & Read, 2003

Konzentration.¹⁰²

Die Gewebekultur bei *Corylus* dient nicht allein der Produktion von Klonen für einen berechenbaren Ertrag und eine bekannte Qualität der gewählten Sorte, die Gewebekultur erfüllt weitere Anforderungen der heutigen Zeit. Der Transport über Grenzen von Lebendmaterial unterliegt oft strengen Gesetzen, denen die Gewebekultur gerecht werden kann¹⁰³. Weiters ist eine Kontrolle von Schaderregern unerlässlich. Die Anforderungen durch eine Nachhaltigkeit in Umwelt- und Agrarwirtschaft erfordern genaues Wissen über die Anwesenheit und die Vermeidung der Verbreitung von Schaderregern. Gerade bei *Corylus* zeigt sich die Kontrolle von Bakteriellen Canker (*Pseudomonas avellane*) als äußerst schwierig.

Schon 2002 sprach sich Scortichini für die Wichtigkeit der Produktion von gesundem Pflanzenmaterial aus. Er sieht den besten Weg Krankheiten zu vermeiden in der Vermeidung von der Verbreitung latent infizierter Pflanzen.¹⁰⁴

Auch die Züchtung von resistenten Pflanzen gegenüber Krankheitserregern, wie zum Beispiel *Anisogramma anormala* – EFB (Eastern Filbert Blight) kann durch die Gewebekultur und gute Protokolle zur Vermehrung vorangetrieben werden.

Auch das schnellere Erreichen hoher Erträge kann durch die Ausbringung von Gewebekulturpflanzen bewerkstelligt werden und verkürzt die Zeit bis zum Ertrag um 1 bis 2 Jahre.¹⁰⁵

¹⁰² Damiano et al., 2005

¹⁰³ Smith, 2000

¹⁰⁴ Scortichini, 2002

¹⁰⁵ Kreckl et al., 10-2006

2 ZIELSETZUNG

Die Haselnuss (*Corylus sp.*) findet breite Verwendung in der Nahrungsmittelproduktion, Kosmetikbranche, in der Holzindustrie oder auch als Bienenweide durch die frühe Blüte¹⁰⁶. Da gerade die heimische Süßwarenindustrie großes Interesse an einem eigenen Haselnussanbau zeigt, wird es in den nächsten Jahren notwendig werden, ausreichendes und vor allem gesundes Pflanzenmaterial, auch für den Transport ins Ausland, zur Verfügung zu haben. Gerade die Krankheitsproblematik der Haselnuss in der Türkei, den USA oder auch Italien führen zu einer Verlegung der Produktion in Länder wie Chile und China. Gerade dort ist aber die Einfuhr herkömmlich vermehrter Pflanzen durch sehr strenge Pflanzenschutzregelungen untersagt. Eine Methode um rasch ausreichendes, und vor allem gesundes Material produzieren zu können, ist die Vermehrung mit Hilfe der Gewebekultur. Diese erlaubt auch den Transport ohne mittransportiertes Substrat und eine anschließende Akklimatisierung vor Ort.

Die vorliegende Arbeit hat die Etablierung eines rentablen und effizienten Gewebekultur-Protokolls für *Corylus sp.* und eine Prüfung auf Relevanz für ausgewählte Sorten zum Ziel. Schwerpunkte der Arbeit liegen in der Bearbeitung der Etablierungsphase, der Vermehrungs- und der Bewurzelungsphase. Die Untersuchungsergebnisse sollen laufend in die Entwicklung integriert werden.

Etablierung des Ausgangsmaterials

Die Schwierigkeiten bei *Corylus sp.* liegen einerseits in der Wahl des richtigen Desinfektionsmittels und der adäquaten Einwirkdauer dieser Substanz. Es gilt, das Pflanzenmaterial optimal zu desinfizieren, um ein sauberes (infektionsarmes) aber trotzdem gesundes Anwachsen in der Gewebekultur zu erreichen.

Vermehrung

Bisher verwendete und in der neueren Literatur veröffentlichte Nährmedien sollen getestet und verglichen werden, sowie notwendige Modifikationen vorgenommen werden. Der Einfluss auf den Kulturerfolg verschiedener Wachstumsfaktoren wie Wachstumsregulatoren, die Eisenquelle und Kulturbedingungen wie die Art des Kulturgefäßes und die Belichtungsmodalitäten sollen überprüft werden. Vorrang hat jedoch die Vermehrung der ausgewählten Sorte. Wirtschaftliches Ziel ist eine verkaufsfähige Menge an Einzelpflanzen und die Breite eines geeigneten Sortiments an verschiedenen Sorten.

¹⁰⁶ Stoll & Gremminger, 1986

Bewurzelung

Die Entwicklung eines geeigneten Nährmediums für möglichst viele Sorten soll erreicht werden und die Bewurzelungsmodalitäten der unterschiedlichen Sorten soll überprüft werden.

Akklimatisierung

Die größten Verluste in der Gewebekultur erfolgen während der Akklimatisierung. Erste Vorversuche zum geeigneten Substrat und den optimalen Akklimatisierungsbedingungen um kräftige, gesunde Pflanzen für den Feldanbau produzieren zu können sollen durchgeführt werden.

3 VERSUCHSMATERIAL UND METHODEN

3.1 Pflanzenmaterial

3.1.1 Genetischer Einfluss und der physiologische Zustand der Explantate (Endogene Faktoren)

Feststellbar ist diese Art von Einfluss am einfachsten durch Vergleich verschiedener Sorten der gleichen Art, bei denen die Explantate dem gleichen Organ und dadurch vergleichbarem Entwicklungszustand zuzuordnen sind. Unterschiede zeigen sich dabei in der Embryogeneseinduktion, Wurzelbildung, Wachstumsleistung bis hin zur Konsistenz und Qualität des Materials.¹⁰⁷

Deutlich ist eine Beziehung zwischen dem physiologischen Alter eines Gewebes und der Reaktionsweise der davon gewonnenen Explantate in Kultur festzustellen. Bestes Wachstum in-vitro zeigen Explantate aus den physiologisch jüngsten Bereichen einer Ausgangspflanze. Weiters dürfte das Differenzierungspotential von Explantaten von deren ursprünglicher Position abhängig sein; mit zunehmender Entfernung vom Blütenstand geht auch die Befähigung zur Blütenbildung zurück. Unterschiede sind auch bei Explantaten unterschiedlicher Gewebebereiche desselben Organs festzustellen. Auch bei der Etablierung von Subkulturen spielt der physiologische Zustand des zu transferierenden Materials eine wesentliche Rolle für dessen spätere Reaktionsfähigkeit¹⁰⁸. Um das Problem der Recalcitranz zu minimieren, werden die am stärksten juvenilen Gewebe der ausgereiften Bäume (z.B. Basaltriebe) verwendet oder die Pflanze wird Rejuvenilisierungsmaßnahmen unterzogen. Ziel ist es, Gewebe zu bilden deren Hormongehalt (bzw. Konzentration von Wachstumsregulatoren) juvenilem Gewebe entspricht.¹⁰⁹

3.1.2 Sortenbeschreibung und Herkunft des Pflanzenmaterials

Der Sortenvergleich muss auf verschiedenen Ebenen durchgeführt werden. Zum einen zeigen Sorten unterschiedliche Präferenzen für den Standort und ihre Anpassung in ihren Blüh- und Befruchtungszeiten sind nicht allein vom Klima abhängig. Auch ihre Sensibilität bezüglich kalter Temperaturen ist bei verschiedenen Kultivaren in verschiedenen Entwicklungsstadien unterschiedlich ausgeprägt.¹¹⁰

An dem Verhalten von Sorten kann auf das Potential für etwaige Neuzüchtungen geschlossen werden. Viele Kultivare ohne Dormanz oder nur kurzen Ruheperioden wie z.B. 'Tonda di Giffoni' können eher als Basis für Züchtungen für wärmere Regionen dienen. Russische oder

¹⁰⁷ Neumann, 1995

¹⁰⁸ Neumann, 1995

¹⁰⁹ Nas & Read, 2004

¹¹⁰ Baldwin, 2004b

skandinavische Züchtungen besser für kältere Anbauggebiete.¹¹¹ Zum anderen zeigen verschiedene Spezies und Kultivare unterschiedliches Verhalten in der Gewebekultur.

Oftmals ist auch die Betrachtung von Krankheiten wichtig zur Beurteilung einer Sorte. Bacterial Blight, ausgelöst durch *Xanthomonas corylina*, erzeugt jedes Jahr große Schäden beim Austrieb im frühen Frühling. Beim Blattaustrieb zeigen frühe Sorten wie 'Tonda di Giffoni' insgesamt jedoch größere Schäden als eher späte Sorten wie z.B. 'Ennis'.¹¹²

Europäische Sorten sind zumeist freifallende Sorten, türkische Kultivare müssen arbeitsintensiv per Hand geerntet werden.¹¹³

Alle, ausgenommen 'Tonda Romana', in der folgenden Arbeit verwendeten Haselnuss-Sorten entstammen der Sortensammlung der Fa. Vitroplant in Korneuburg, Österreich. Diese Pflanzen entstammen ursprünglich der Sortensammlung der Universität Marburg. Die Sorte 'Tonda Romana' wurde in-vitro, aus dem Labor von Damiano, Rom, Italien, in das Labor der Fa. Vitroplant eingebracht und in die Untersuchung integriert.

Barcelona ('Barc')

Synonyme	Castanyera ¹¹⁴ , Aveline Barcelona, Grada, Fertile de Coutard ¹¹⁵ , Grosse romaine ¹¹⁶ , Grada di Viseu ¹¹⁷ , Grande, Grosse Blanche de Angleterre ¹¹⁸
Herkunft	Frankreich, Züchtung um 1880 ¹¹⁹
Merkmale	Große, runde Früchte, im Ansatz weiß bis elfenbeinfarben, geschlossen, früh blühend, stark duftend, schnelle Produktion, Sorte sehr kräftig wachsend, ausladend und sehr produktiv, passend für mittlere Böden ¹²⁰
Inkompatible Allele	\underline{S}_1S_2 ¹²¹
Besonderheiten	sensibel auf Kälte und Bakteriosen, ¹²² resistent gegen die Haselnussknospen-Milbe ¹²³

¹¹¹ Mehlenbacher, 1994

¹¹² Baldwin, 2004b

¹¹³ Baldwin, 2004a

¹¹⁴ Boccacci, Akkak, Botta, 2006

¹¹⁵ Köksal, 2000

¹¹⁶ Noisetier (*Corylus avellana*)

¹¹⁷ Köksal, 2000

¹¹⁸ Skuhřavý & Zumr, 1978

¹¹⁹ Noisetier (*Corylus avellana*)

¹²⁰ Noisetier (*Corylus avellana*)

¹²¹ Köksal, 2000

¹²² Noisetier (*Corylus avellana*)

¹²³ Skuhřavý & Zumr, 1978

Butler ('But')

Synonyme	Buttler ¹²⁴
Herkunft	USA (Oregon) ^{125, 126, 127}
Merkmale	Zuchtherkunft Barcelona x Daviana ¹²⁸ ; Große, längliche Früchte - locker angeordnet, Schale klar, Nuss weiß bis elfenbeinfarben, geschlossen, stark duftend, starker Strauchwuchs, ausladend, später Blattaustrieb, schneller Fruchtansatz, hoher Ertrag ¹²⁹
Inkompatible Allele	S ₂ S ₃ ¹³⁰
Besonderheiten	Sensibilität für Phytophthora, geringe Sensibilität bei Bakteriosen. Gute Pollination für viele verschiedenen Variäteten.

'E-104'

Herkunft	Neuzüchtung aus Frankreich, Aufgenommen in den Schaugarten über Anita Solar, Universität Marburg
Merkmale	Späte Blüte und langsamer Blattaustrieb
Inkompatible Allele	
Besonderheiten	Mehr männliche Blüten – gute Pollination

Ennis ('En')

Herkunft	USA (Washington) ^{131, 132, 133}
Merkmale	Sehr große, längliche Früchte ¹³⁴ duftend, Bäume wenig ausladend ¹³⁵ hoher Ertrag ¹³⁶ späte Blüte, späte Fruchtreife ¹³⁷ kleine männliche Kätzchen ¹³⁸
Inkompatible Allele	S ₁ S ₁₁ ¹³⁹
Besonderheiten	Geringe Sensibilität bei Bakteriosen und dem Haselnussbohrer, Wichtigstes Kultivar in Oregon (USA) und Frankreich. ¹⁴⁰ Schlechte Pollination ¹⁴¹

¹²⁴ Noisetier (Corylus avellana)

¹²⁵ Skuhrový & Zumr, 1978

¹²⁶ Noisetier (Corylus avellana)

¹²⁷ Baldwin, 2004a

¹²⁸ Skuhrový & Zumr, 1978

¹²⁹ Noisetier (Corylus avellana)

¹³⁰ Köksal, 2000

¹³¹ Skuhrový & Zumr, 1978

¹³² Noisetier (Corylus avellana)

¹³³ Baldwin, 2004a

¹³⁴ Köksal, 2000

¹³⁵ Köksal, 2000

¹³⁶ Noisetier (Corylus avellana)

¹³⁷ Noisetier (Corylus avellana)

¹³⁸ Skuhrový & Zumr, 1978

¹³⁹ Köksal, 2000

¹⁴⁰ Köksal, 2000

¹⁴¹ Skuhrový & Zumr, 1978

Istrska debeloplodna leska Slovenia ('Id')

Synonyme	Istarski debeloplodna ¹⁴²
Herkunft	Kroatien ¹⁴³
Merkmale	kräftige Wurzelaustriebe, mittelgroßer Baum, große, längliche Früchte ¹⁴⁴
Besonderheiten	geringe Resistenz gegen Knospen-Milben ¹⁴⁵

Istrska okrogloplodna leska Yugoslavia ('Io')

Synonyme	Istarski okruglasti ¹⁴⁶
Herkunft	Kroatien ¹⁴⁷
Merkmale	weit ausladend, große, runde Früchte, wenige Wurzelschösslinge ¹⁴⁸
Besonderheiten	geringere Sensibilität bei Knospen-Milben ¹⁴⁹

Merveille de Bollwiller, Halle'sche Riesen ('MdB', ! 'HR' !)

Synonyme	Hall's Giant, Halle'sche Riesen ¹⁵⁰ , Meraviglia de Bollwiller, Hallesche Riesennuss ¹⁵¹ , Géant de Halle ¹⁵² , Bollwiller ou Bolwitzer ¹⁵³ , Wunder von Bottweiler ¹⁵⁴ ,
Herkunft	Frankreich ¹⁵⁵ , Elsass oder Deutschland ¹⁵⁶ , Deutschland ¹⁵⁷
Merkmale	späte Blüte, Früchte rund in einer Spitze auslaufend, Schale ziemlich hart, sehr große, weiße Frucht, geschlossen, duftend, süß, Strauch ausladend ¹⁵⁸ , breit aufrecht ¹⁵⁹ , späte Blüte, mittlere Erntezeit ¹⁶⁰ ,
Inkompatible Allele	$\underline{S}_5\underline{S}_{15}$ ¹⁶¹
Besonderheiten	Wenig anfällig auf Haselnussbohrer und Bakteriosen, Phytophthora-resistent ¹⁶² , größte Produktivität in kontinentalen Arealen, sehr späte Pollenabgabe ¹⁶³

¹⁴² Köksal, 2000

¹⁴³ Köksal, 2000

¹⁴⁴ Köksal, 2000

¹⁴⁵ Köksal, 2000

¹⁴⁶ Köksal, 2000

¹⁴⁷ Köksal, 2000

¹⁴⁸ Köksal, 2000

¹⁴⁹ Köksal, 2000

¹⁵⁰ Boccacci et al., 2006

¹⁵¹ Köksal, 2000

¹⁵² Noisetier (Corylus avellana)

¹⁵³ Noisetier (Corylus avellana)

¹⁵⁴ Pscheidt & Ocamb

¹⁵⁵ Köksal, 2000

¹⁵⁶ Noisetier (Corylus avellana)

¹⁵⁷ Baldwin, 2004a

¹⁵⁸ Köksal, 2000

¹⁵⁹ Strauß & Nowak, 1998

¹⁶⁰ Noisetier (Corylus avellana)

¹⁶¹ Köksal, 2000

¹⁶² Noisetier (Corylus avellana)

¹⁶³ Köksal, 2000

Rote Lambertsnuss ('RL')

Synonyme	Rote Lambert, Rotblättrige Lambertsnuss ¹⁶⁴ Red Filbert ¹⁶⁵
Herkunft	Deutschland ¹⁶⁶ Krakau, Polen ¹⁶⁷
Merkmale	schwach wachsend, breit- bis flachkronig, mittelfrüh reifend, Ertrag hoch, Nuss länglich, unten heller ¹⁶⁸ rund und klein ¹⁶⁹
Besonderheiten	Varietät mit roten Blättern, späte Blüte, gute Qualität der Nüsse ¹⁷⁰ , gut geeignet für kältere Anbauregionen ¹⁷¹ Selbstkompatibel ?

Segorbe ('Seg')

Herkunft	Spanien ¹⁷²
Merkmale	Frucht rund und eher klein, im Aroma exzellent, frühe Blüte, Baum kräftig und ausladend, sehr produktiv, kleiner Wurzelstock, ¹⁷³ Baum groß eher aufrecht, Früchte mittelgroß und oval ¹⁷⁴
Inkompatible Allele	<u>S</u> ₉ S ₂₃ ¹⁷⁵
Besonderheiten	Mittlere Menge an Wurzelschösslingen, geeignet für kalte Klimata, viele männliche Blüten ¹⁷⁶

Tonda di Giffoni ('TdG')

Synonyme	Tonda Giffoni ¹⁷⁷
Herkunft	Mittelitalien ¹⁷⁸
Merkmale	frühe Blüte, schnelle Fruchtentwicklung, sehr produktiv ¹⁷⁹ , mittelgroßer Baum mit mittelgroßen, runden Früchten ¹⁸⁰
Inkompatible Allele	<u>S</u> ₂ S ₂₃ ¹⁸¹

¹⁶⁴ Köksal, 2000
¹⁶⁵ Skuhřavý & Zumr, 1978
¹⁶⁶ Köksal, 2000
¹⁶⁷ Fa. VitroPlant Leonhardt, 2005
¹⁶⁸ Strauß & Nowak, 1998
¹⁶⁹ Köksal, 2000
¹⁷⁰ Köksal, 2000
¹⁷¹ Fa. VitroPlant Leonhardt, 2005
¹⁷² Köksal, 2000
¹⁷³ Noisetier (Corylus avellana)
¹⁷⁴ Köksal, 2000
¹⁷⁵ Köksal, 2000
¹⁷⁶ Köksal, 2000
¹⁷⁷ Noisetier (Corylus avellana)
¹⁷⁸ Baldwin, 2004a
¹⁷⁹ Noisetier (Corylus avellana)
¹⁸⁰ Köksal, 2000
¹⁸¹ Köksal, 2000

Tonda gentile della langhe ('TgdL')

Synonyme	Ronde du Piemonte, Tonda Gentile del Piemonte ¹⁸²
Herkunft	Italien ¹⁸³
Merkmale	mittelgroßer Baum, mittlere bis kleine ovale Früchte ¹⁸⁴
Inkompatible Allele	<u>S</u> ₇ <u>S</u> ₂ ¹⁸⁵

Tonda Romana ('TR')

Synonyme	Tonda gentile Romana ¹⁸⁶ Tonda Gentile di Viterbo ¹⁸⁷
Herkunft	Italien ¹⁸⁸ ,
Merkmale	mittelgroßer Baum, Früchte mittelgroß und rund ¹⁸⁹
Inkompatible Allele	<u>S</u> ₂₀ <u>S</u> ₁₀ ¹⁹⁰
Besonderheiten	mittlere Resistenz gegen die Knospenmilben ¹⁹¹

Corylus colurna ('BH')

Synonyme	Baumhasel, Türkische Hasel
Merkmale	wird bis 20 m hoch, keine Stockausschläge, durch Ursprungsregion auch für steinige und trockene Böden geeignet ¹⁹² , starke und tiefe Wurzelbildung
Besonderheiten	Gut geeignet als Stammbildner, Unterlage bei Veredelung

Für *Anisogramma anomala* (EFB) resistente Sorten

Große Probleme bereitet EFB (Eastern Filbert Blight), der Östliche Haselnuss-Brand, zurzeit nur in den USA. Trotzdem sollte auch die bei der Wahl in Europa die Anfälligkeit verschiedener Sorten bedacht werden. Die Sorten "Merveille de Bollwiller" und "Tonda di Giffoni" scheinen weniger anfällig auf EFB zu sein als z.B. „Barcelona“. EFB resistente Sorten sind Neuzüchtungen aus Oregon wie z.B. „Lewis“, „Clark“, „Gamma“, „Delta“, „Epsilon“ und „Zeta“. Hohe Anfälligkeit zeigen Sorten wie „Daviana“ oder „Ennis“¹⁹³, Tab. 8 zeigt die Anfälligkeit für EFB der ausgewählten Sorten der vorliegenden Arbeit.

¹⁸² Skuhrový & Zumr, 1978

¹⁸³ Baldwin, 2004a

¹⁸⁴ Köksal, 2000

¹⁸⁵ Köksal, 2000

¹⁸⁶ Köksal, 2000

¹⁸⁷ Skuhrový & Zumr, 1978

¹⁸⁸ Baldwin, 2004a

¹⁸⁹ Köksal, 2000

¹⁹⁰ Köksal, 2000

¹⁹¹ Köksal, 2000

¹⁹² Stoll & Gremminger, 1986

¹⁹³ Azarenko, Mehlenbacher, Smith, McCluskey

Tab. 8:
Auswahl der untersuchten Sorten mit einem relativen Ranking ihrer Anfälligkeit für Eastern Filbert Blight. Erstellt durch Beobachtungsdaten aus Vancouver.¹⁹⁴

Empfindlich	Mittel	Resistent	Immun
Ennis	Barcelona	Tonda di Giffoni	
TgdL	Butler		
Tonda Romana	Merv. de Bollw.		

3.1.3 Komplementärpartner der ausgewählten Sorten

Corylus avellana ist fremdbestäubt und gilt als selbstinkompatibel. Die Bestäubung erfolgt durch den Wind. Männliche und weibliche Blüten werden zumeist zeitlich nacheinander am selben Strauch reif. Die Wahl der geeigneten Pollenspender darf sich somit nicht ausschließlich auf genetische Gesichtspunkte beziehen, sondern auch die Ausreifung der Pollen und die zeitliche Überlappung zu der zu bestäubenden Sorten müssen gewährleistet sein.

Die Inkompatibilität wird durch einen Single-Lokus kontrolliert. Heute sind 28 Allele auf diesem Locus identifiziert. Haselnüsse sind diploid und haben somit 2 Allele. In der weiblichen Blüte erfolgt die Expression beider Allele, diese sind co-dominant. Der männliche Pollen exprimiert nur ein oder auch beide Allele, je nach dem ob dominant oder co-dominant. Treffen nun ein exprimiertes Allel des Pollens mit demselben Allel in der weiblichen Blüte zusammen erfolgt keine Befruchtung.¹⁹⁵

Pollen mancher Sorten sind zwar genetisch betrachtet befruchtungsfähig, erzeugen jedoch einen hohen Anteil an defekten Pollen und sind daher insgesamt betrachtet keine guten Bestäuber. Trotzdem können diese Sorten Haselnuss-Sträucher mit hoher Produktivität darstellen. Ein Beispiel dafür ist die Sorte 'Tonda Gentile delle Langhe' ('TgdL'). Diese ist kompatibel mit weiblichen Blüten von 'Barcelona' und 'Ennis', durch den hohen Anteil defekter Pollen ist sie aber kein empfohlener Pollenspender.¹⁹⁶

Tab. 9 gibt einen Überblick über die Pollen-Kompatibilität der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Sorten von *Corylus avellana*.

¹⁹⁴ Kreckl, Poschenrieder, Theil, Kraus, 10-2006

¹⁹⁵ Azarenko, Mehlenbacher, Olsen

¹⁹⁶ Azarenko et al.

Tab. 9:

Übersicht zur Pollen-Kompatibilität (grün: Pollination möglich, rot: Pollination nicht möglich.^{197, 198, 199}; grau: keine Daten vorhanden, gelb: möglicherweise Selbstbefruchtung) mit Angabe der zitierten Publikation.

	Fem.	Barc	But	E-104	Ennis	Id	Io	MdB	RL	Seg	TdG	TgdL	TR
Male		S1S2	S2S3		S1S11			S5S15		S9S23	S2S23	S7S2	S20S10
Barc	S1S2		197		199			197			199	199	199
But	S2S3	197			197			197			199	199	199
E-104													
Ennis	S1S11	199	197					197			198	199	199
Id													
Io													
MdB	S5S15	199	199		197						199	199	199
RL	SB ?								?				
Seg	S9S23												
TdG	S2S23	197	199		198			197				199	199
TgdL	S7S2	(199)	(199)		(199)			(199)			199		(199)
TR	S20S10	199	199		199			199			199	199	

3.2 Pflanzenvorbereitung zur Etablierung

Einjährige Triebe werden mit einer Länge von ca. 80 cm geschnitten (Abb. 10 bis 12) und direkt für die Oberflächendesinfektion vorbereitet (**ruhende** Knospen, Abb. 13, Abb. 16) oder für 8 bis 18 Tage bei Raumtemperatur und Dunkelheit mit ihrem basalen Ende in Leitungswasser gestellt (Abb. 10, Abb. 11, Abb. 14) bis ein Anschwellen der Knospen (Volumensverdoppelung) bzw. Austrieb zu beobachten ist (**forcierte** oder **angetriebene** Knospen). Die Behandlung mit einer 1%igen Akacid-Lösung im Abstand von zwei Tagen ist statistisch nicht als hilfreich bewiesen, wird aber durchgeführt. Eventuell werden die Triebe auch mehrfach an der Schnittfläche angeschnitten.

Ruhende, sowie forcierte Triebe werden auf Stücke mit zwei bis fünf cm Länge mit jeweils einer axillären Knospe geschnitten, um die weitere Verarbeitung zu erleichtern.

¹⁹⁷ Azarenko et al.

¹⁹⁸ Köksal, 2000

¹⁹⁹ Snare, 1998



Abb. 10 (links):
10 Tage forcierte Triebe der Sorte 'lo' (Dez. 2005).

Abb. 11 (Mitte):
10 Tage forcierte Triebe der Baumhasel (Dez. 2005).

Abb. 12 (rechts):
Frisch geschnittene Triebe verschiedener Sorten (Feb. 2006).



Abb. 13 (links):
Ruhende Knospen der Sorte 'En' (Feb. 2006).

Abb. 14 (rechts):
Forcierte Knospen der Sorte 'lo' nach 10 Tagen (Dez. 2005).



Abb. 15 (links):
Vorbereitungen zur Oberflächensterilisation.

Abb. 16 (rechts):
Ruhende, axilläre Knospen der Sorte 'MdB' (Dez. 2005).

3.3 Oberflächen-Desinfektion

Standard-Protokoll

Leitungswasser	5 min (fließend)
EtOH 70 %	1 min
NaOCl-Lösung	5min
Merthiolat-Lösung	20 min
H ₂ O dest., autoklaviert	2x spülen
MS-Lösung + Ascorbinsäure	1x (zur Aufbewahrung)

Leitungswasser

Ein Spülen der Knospen soll die Entfernung lockerer Teile und oberflächlicher Keime bewirken. Die Dynamik des Wasserstrahls bewegt die Einzelteile und führt zur Reibung (Abb. 17) aneinander. Eine Dauer von **5 Minuten** wird im Protokoll vorgesehen.



Abb. 17:
Spülen der geschnittenen Knospen vor der eigentlichen Oberflächendesinfektion.

Alkohol

Bei Alkoholen nimmt die mikrobiozide Wirkung durch Proteindenaturierung mit der Kettenlänge zu. Ohne Wasser sind Alkohole schlechter wirksam, da die Oberflächenbenetzung reduziert wird. Andererseits erreichen Mischungen einen kritischen Punkt der Verdünnung des Alkohols, an dem die Wirkung endet. Die Wirkung erstreckt sich auf Bakterien, Pilze und teilweise auf Viren. Alkohole sind jedoch ohne Effekt gegen Bakteriensporen. Generell zählt Alkohol zu den am schnellsten wirkenden Desinfektionsmitteln. Zur Oberflächendesinfektion der Pflanzenteile und zur Sterilisation von Händen und Material wird eine Konzentration von 70%vol. in H₂Odest., autokl. angewendet. 10 bis 20 Knospen werden je Becherglas in 70 ml EtOH für **1 Minute** mittels Magnetrührer gespült. Das Becherglas ist während dieser Zeit mittels Alufolie bedeckt. Im Anschluss wird die Alkohol-Lösung abgegossen und die Knospen mit NaOCl-Lösung wieder bedeckt.

Natriumhypochlorit

NaOCl (0,8%ig)	100 ml
Manosol	1 Tropfen
Epigon (0,01%)	1 Tropfen
H ₂ O (dest, autokl.)	250 ml

Natriumhypochlorit besitzt mikrobiozide Wirkung, die sich im besten Fall auf Mikroorganismen und Viren erstreckt. Verantwortlich dafür sind verschiedenen Mechanismen: Einerseits die Freisetzung von Sauerstoff, das Eingehen von Verbindungen zwischen Chlor und Imino- und Aminogruppen im Cytoplasma zu toxischen Chloraminen und die Bildung von unterchloriger Säure die nun oxidierende und chlorierende Wirkung besitzt. In wässriger Lösung ist hauptsächlich die unterchlorige Säure für den Desinfektionseffekt verantwortlich. Wiederum werden 10 bis 20 Knospen für **5 Minuten** mittels Magnetrührer im bedeckten Becherglas mit etwa 70 ml bewegt. Anschließend wird nun dieses Becherglas in eine Steril-Werkbank überführt und erst hier die Lösung abgegossen und mit neuer Thimerosal-Lösung befüllt.

Hg-Merthiolat (Thimerosal USP)

Synonyme: Thiomersal, Merthiolat

Summenformel nach Hill: C₉H₉HgNaO₂S

Anwendung: 0,05% ig in H₂O (dest, autokl.)

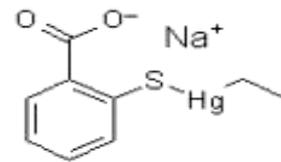


Abb. 18:
Strukturformel
Thimerosal

Thimerosal ist eine Quecksilber(50%*m*)hältige organische Verbindung, die wie andere Metalle im wässrigen Milieu mikrobiozide Wirkung entfaltet. Dieser Effekt der Metallionen ist jedoch in der Praxis oft von vielen schwer kontrollierbaren Faktoren beeinflusst. Quecksilbersalze wirken vorwiegend mikrobiostatisch und eine sichere Abtötung ist damit nicht gewährleistet. Quecksilber und all seine anorganischen Verbindungen sind stark toxisch, die organischen weniger giftig. Trotzdem bleibt die Umweltverträglichkeit, bzw. die Entsorgung problematisch.

Die Behandlung erfolgt je nach Protokoll und Versuch für 10 bis 20 Minuten (Abb. 19). Anschließend an die Desinfektion werden die Knospen zweimal in destilliertem, autoklavierten Wasser gespült und in einem Hipp-Glas in MS-Startlösung (Abb. 20) bis zur Weiterverarbeitung aufbewahrt.



Abb. 19 (links):
Oberflächensterilisation der Explantate mit Hg-Merthiolat in der Steril-Werkbank.

Abb. 20 (rechts):
Aufbewahrung der Explantate bis zur Weiterverarbeitung in MS-Startlösung.

Knospenbehandlung nach der Oberflächen-Sterilisation

Die in MS-Startlösung aufbewahrten Knospen werden unter dem Binokular mit Hilfe von sterilen Arbeitsgeräten präpariert (Abb. 21 und 22). Die Entfernung aller sichtbarer Primordien und verholzter Teile führt zum freigelegten Apikalmeristem der axillären Knospen (Abb. 23 und 24).

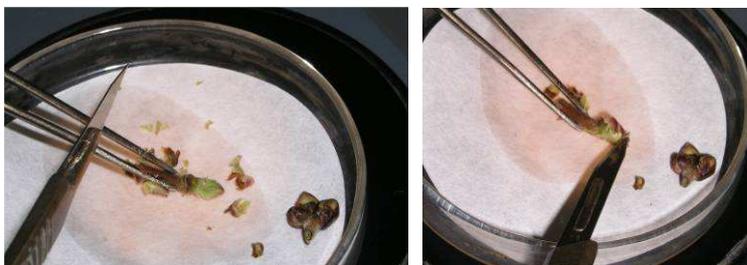


Abb. 21 (links):
Entfernung der verholzten Bereiche.

Abb. 22 (rechts):
Befreiung des Apikalmeristems von Blattprimordien.

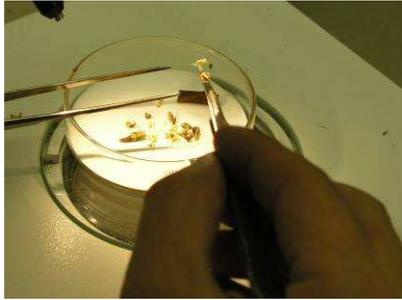


Abb. 23 (links):
Entfernung aller losen Teile.



Abb. 24 (rechts):
Apikalmeristem nach der Präparation.

Die eigentliche Kultivierung startet nun mit der Überführung dieser Apikalspitze in adäquates Startmedium in Röhrchen mit etwa 5 ml Medium (Abb. 25). Die Lagerung erfolgt bei Standard-Kulturbedingungen im Kulturraum, wobei die Eprovettenständer zusätzlich mit Folie verschlossen und abgedunkelt die folgenden 14 Tage stehen.



Abb. 25:
Startröhrchen: Apikalmeristeme im Etablierungsmedium für V15

3.4 Nährmedien

Das in einer Zellkultur befindliche pflanzliche Material benötigt gleiche Makro- und Mikronährstoffe wie die intakte Pflanze für optimales Wachstum. Im Hinblick auf die Wachstumsleistung haben die Dosis-Wirkungskurven der mineralischen Nährstoffe tendenziell den gleichen Verlauf, wie er schon seit langem für intakte Pflanzen bekannt ist. Mikronährstoffe üben starken Einfluss auf das Gleichgewicht zwischen Zellteilung und Zellwachstum aus. Vor allem Eisen hat starke Wirkung auf die Zellteilungsaktivität, wobei durch Mangan und Molybdän das Wachstum stärker gefördert werden kann. Stickstoffversorgung erfolgt meist über Nitrat und Ammonium und eine zusätzliche organische Stickstoffquelle wie Glycin. Die Wirkung der mineralischen Nährstoffe wird jedoch stark durch das Hormonsupplement zur Lösung beeinflusst.²⁰⁰

Die Zubereitung erfolgt nach entsprechender Rezeptur. Mikro- und Makronährstoffe, Calcium und Vitamine werden in einer festgelegten Menge von destilliertem Wasser gelöst und bis zur Verwendung als hoch konzentrierte Stammlösung tiefgekühlt. Hormonstammlösungen werden mit Hilfe von destilliertem Wasser, 1 M KOH- bzw. 1 M HCl-Lösung, je nach Löslichkeit des Hormons, hergestellt, im Kühlschrank bei +8 °C gelagert und maximal vier Wochen lange verwendet. Die Medien werden entsprechend den Rezepturen, inkl. Hormonstammlösungen, erstellt und der pH-Wert eingestellt. Im Anschluss wird das Medium in entsprechende Kulturgefäße gefüllt und bei 121 °C und 1 bar für 20 Minuten autoklaviert oder zuvor im Agarmat autoklaviert und in sterile (γ -bestrahlte) Kunststoffbehältnisse abgefüllt. Die Verwendung von Medium erfolgt frühestens nach drei Tagen Lagerung bei Raumtemperatur.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Nährmedien können den **Medienrezepturen** im Anhang entnommen werden.

3.5 Wachstumsregulatoren und Phytohormone

Phytohormone sind wesentlich für die Steuerung und Koordination des pflanzlichen Wachstums sowie für die Adaption an wechselnde Umweltbedingungen: als pflanzeneigene organische Verbindungen, welche in niedrigen Konzentrationen wirken, integrieren sie extrazelluläre Signale in die endogenen Entwicklungsprozesse der Pflanze. Pflanzenhormone werden oft unterteilt in die vorwiegend wachstumsfördernden Regulatoren Auxine, Cytokinine, Gibberelline und Brassinosteroide sowie in die wachstumshemmenden Substanzen Ethylen, Abscisinsäure, Jasmonsäure und Salicylsäure.²⁰¹

²⁰⁰ Neumann, 1995

²⁰¹ Moes, 2006 S.5-6

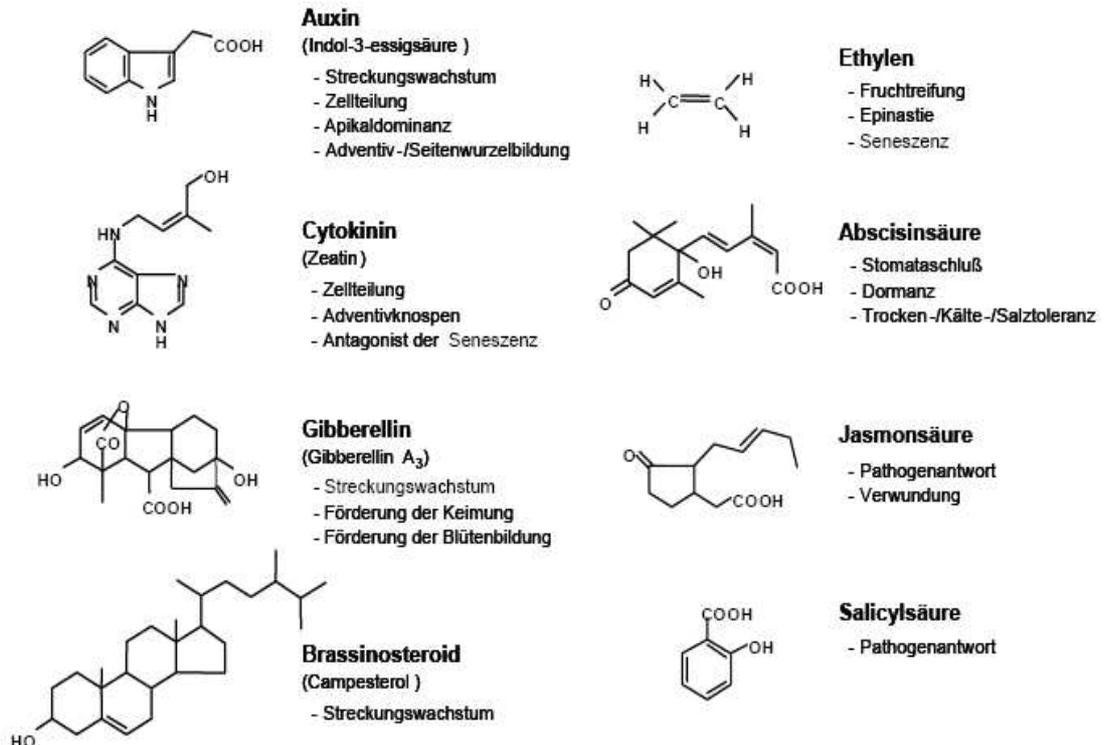


Abb. 26:
Struktur und Funktion von Pflanzenhormonen (Moes, 2006)

Für die physiologische Wirksamkeit der Hormone ist meist nicht die absolute Konzentration entscheidend, sondern das Mengenverhältnis der einzelnen Phytohormone zueinander, da sie meistens nicht alleine wirken, sondern im engen wechselseitigen Zusammenspiel die pflanzlichen Wachstums- und Entwicklungsprozesse auslösen, hemmen oder fördern²⁰².

3.1.1 Polyamine

Polyamine sind organische Verbindungen, gekennzeichnet als gesättigte, offenkettig oder cyclische, mit endständigen Aminogruppen und einer unterschiedlichen Anzahl an sekundären Aminogruppen. Sie wirken direkt in metabolischen Prozessen und werden daher nicht zu Hormonen im eigentlichen Sinn gezählt und umfassen die Vorläufersubstanz Putrescin und die daraus folgenden Substanzen Spermidin, Spermin und Cadavarin.

Polyamine sind in den meisten lebenden Zellen nachzuweisen. Die genaue Funktion dieser Substanzen ist unbekannt, aber viele Studien zeigen ihre Beteiligung an physiologischen Abläufen und Entwicklungsprozessen, wie Zellteilung, DNA und Protein-Synthese und Schutz gegen verschiedenste Arten von Stress. Weiters wird die Beteiligung in der Regulation der Organogenese, Embryogenese und bei lichtinduzierten Wachstumsprozessen nachgewiesen. Polyamine schützen

²⁰² Moes, 2006 S.6

DNA vor Enzym-Degradation, ROS (Reaktiven Sauerstoff-Spezies) und thermischer Denaturierung. Auch im Cytoplasma selbst dienen sie als Puffer bei Säurestress und dienen als Vorläufer-Substanzen vieler Sekundärmetabolite wie Tropanalkaloide oder Zimtsäure-Konjugate, die eine Schutzwirkung in der Pflanze erfüllen.²⁰³

In Tab. 10 angeführte, natürliche und synthetische Regulatoren werden zur Modifikation eines Mediums für *Corylus avellana* L. in unterschiedlichen Kombinationen und Konzentrationen verwendet:

Tab. 10:
Verwendete Regulatoren, Abkürzungen und Hersteller.

Gruppe	Abkürzung	Name	Hersteller
Auxine	IAA	Indole-3-acetic acid	Fa. Serva
	IBA	Indole-3-butyric acid	Fa. Serva
	α -NAA	α -Naphtalene acetic acid	Fa. Sigma
Gibberelline	GA ₃	Gibberellic acid	Fa. Serva
Cytokinine	BA	Benzylamine	Fa. Sigma
	BAP	6-Benzylaminopurin = Benzyl adenine	Fa. Sigma
	K	Kinetin	Fa. Serva
	Z	Zeatin	Fa. Sigma
Polyamine	PUT	Putrescin	

3.6 Lösungen und Chemikalien

3.6.1 Akacid®

Anwendung findet eine 1%ige Lösung die mit Hilfe eines Zerstäubers auf die Triebe dünn aufgebracht wird. Bei kurzfristiger Anwendung ist die volle Pflanzenverträglichkeit gewährleistet.^{204, 205}

3.6.2 MS-Lösung für die Aufbewahrung

Zur Aufbewahrung nach der Oberflächensterilisation wird eine Nährlösung ohne Zucker, dafür mit 100mg l⁻¹ Ascorbinsäure und mit einem pH-Wert von 5,7 verwendet. Die Zusammensetzung der Makro-, Mikro-, Calcium- und Vitaminbestandteile entspricht jener des MS-Mediums. 250 ml werden je Klon zubereitet und in Hipp-Gläsern verschlossen autoklaviert.

3.6.3 Manosol®

Manosol® dient in geringer Konzentration während der Oberflächensterilisation als Benetzungsmittel. Es wird mit etwa 3-5 Tropfen der NaOH- bzw. Thimerosal-Lösung beigefügt.

²⁰³ Santanen, 2000

²⁰⁴ Snare, 1998

²⁰⁵ Lloyd & McCown, 1980

3.6.4 Epigon®

Epigon® dient als Pyrethroid gegen Milben und Thripse und wird auch in einer Konzentration von 0,1% den verschiedenen Oberflächensterilisations-Lösungen hinzugefügt.

3.6.5 Sequestren®138

Sequestrene®Rapid ist ein wasserdispergierbares Granulat für unterschiedliche Applikationsformen. Es ist ein Eisen-Chelat mit 5,5% Eisen das im Obst-, Wein- und Zierpflanzenbau gegen Eisenchlorosen als Boden- oder Blattdünger Anwendung findet. In der Gewebekultur hat Eisen starke Wirkung auf die Zellteilungsaktivität²⁰⁶ und die Qualität der Pflanzen. Nas stellt den hohen Einfluss der Eisenquelle²⁰⁷ auf *Corylus* im Bezug auf Trieblänge, Blattfarbe und Blattmorphologie aber nicht auf die Anzahl der Triebe fest. Der Austausch einer üblichen Eisenquelle durch Sequestren erzielte bei Nas einen geringeren Anteil an Chlorosen. Der Vergleich von Sequestren®138 und Sequestren®330 zeigte zudem den negativen Einfluss von Sequestren®330 mit generell kürzeren Trieben, vitrifiziertem Gewebe und teilweise bräunliche Verfärbungen an den Blättern bei Kontakt mit dem Medium.²⁰⁸ Anwendung findet Sequestren®138 im modifizierten Protokoll für *Corylus sp.* in einer Konzentration von 200 mg l⁻¹.

²⁰⁶ Neumann, 1995

²⁰⁷ Nas & Read, 2001

²⁰⁸ Nas & Read, 2001

3.7 Chemikalien der Nährmedien

Tab. 11:
Chemikalienliste und Beispiele entsprechender Produkte.

Stammlösung		Hersteller, Bestell-Nr.
Macros	KNO ₃	z.B. Merck Chemicals, 1050650500
	NH ₄ NO ₃	z.B. Merck Chemicals, 1011871000
	MgSO ₄ x 7H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1058860500
	K ₂ SO ₄	z.B. Merck Chemicals, 1051520100
	KH ₂ PO ₄	z.B. Merck Chemicals, 1051080500
CaCl₂	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1023821000
	Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1021230500
Micros	ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1088831000
	Zn(NO ₃) ₂ x 6 H ₂ O	z.B. Sigma-Aldrich, 96482-500G
	H ₃ BO ₃	z.B. Merck Chemicals, 1007650050
	MnSO ₄ x H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1059410250
	CuSO ₄ x 5 H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1027901000
	Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1065241000
	CoCl ₂ x 6 H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1025331000
	KI	z.B. Merck Chemicals, 1050440050
	NiSO ₄ x 7 H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1067261000
	Vitamine	Glycin
Nicotinsäure		z.B. Merck Chemicals, 8187140100
Pyridoxid x HCl		z.B. Serva, 33990.01
Thiamine x HCl		z.B. Merck Chemicals, 5871-100GM
Myo-Inositol		z.B. Merck Chemicals, 1047280100
Eisen	FeSO ₄ x 7 H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 1039635000
	Na ₂ EDTA x 2 H ₂ O	z.B. Merck Chemicals, 324503-100GM

3.8 Kulturgefäße

Die Untersuchungen zur Kultivierung wurden in Glas- und Kunststoffbehältnissen durchgeführt. Glasgefäße (Behältnisse mit 40 ml Medium) und enthielten zwischen drei und fünf Pflanzen pro Glas, im folgenden als „Hipp-Glas,“ bezeichnet, oder Epruvetten mit ~12 ml Medium und ausschließlich einzeln bestückt. Beide Behältnisse wurden mit Kunststoff-Steckdeckeln (opak) verschlossen und am Übergang von Kunststoff zu Glas mit Folie umhüllt.

Die Kunststoffbehältnisse gliederten sich in Kunststoff-Dosen (~180 ml Med.) mit eingesetzten Filtern im Deckel, die den Gasaustausch fördern und Belgische Microsäcke („M-Sack“, ~120ml Med.) die in der Folienwand Filtermembranen integriert haben und im Anschluss an die Bestückung mit Hilfe von Hitze verschweißt wurden, was die mikrobielle Kontaminationsgefahr reduziert. Die in Tab. 12 angeführten und mit der Typ-Bezeichnung und dem Hersteller ergänzten Kulturgefäße wurden verwendet.

Tab. 12:
Kulturgefäße, Typbezeichnung und Hersteller.

Material	Typ-Bezeichnung	Hersteller
Hipps (Abb. 28) Deckel	Hipp Sigma	Magenta
Röhrchen (Abb. 29) Deckel	Cap-O-Test	Sigma
Epruvetten Deckel	Sigma	Magenta
Micro-Sack (Abb. 27)	Microboxes	Combiness (Belgien)
Parafilm	Sigma	
Filter-Deckel	Debergh (CH-Gent)	



Abb. 27 (links):
Micro-Sack; 'RL'

Abb 28 (Mitte):
Hipp-Kulturglas; 'TR'

Abb. 29 (rechts):
Röhrchen; 'TdG', 'TdgL'

3.9 Kulturbedingungen im Labor (Kulturraum)

Physikalische Parameter umfassen die während der Kultur eingestellten Temperatur- und Lichtverhältnisse. In der Regel liegt die Kulturtemperatur von Pflanzen zwischen 20 und 30 °C. Oft kann durch die Erhöhung der Temperatur ein erhöhtes Wachstum festgestellt werden, das wirkliche Temperaturoptimum muss aber für jede Pflanze einzeln ermittelt werden. Der Faktor Licht muss nach mehreren Gesichtspunkten beurteilt werden. Neben Lichtintensität, kann von Dauerdunkel bis Dauerbelichtung von 300 bis 10000 LUX reichen, ist auch Lichtqualität und der Belichtungsrythmus zu berücksichtigen. Auch die Wirkung von Hormonsupplementen kann an die Belichtung gebunden sein.²⁰⁹

²⁰⁹ Neumann, 1995

Die Standard-Kulturbedingungen (Abb. 30) sind wie folgend definiert: Beleuchtet wurde mit Osram CoolWhite- und Silvana GrowLux-Leuchtstoffröhren im 16 / 8 h Tag-Nacht-Rhythmus. Die Lufttemperatur der Kulturräume betrug 25 °C ohne Nachtabsenkung. Die Pflanzen selbst stehen jedoch auf wassergekühlten Matten mit 21 °C.



Abb. 30:
Kulturräum und Kulturführung von *Corylus sp.* der Fa. Vitroplant, Korneuburg.

3.10 Kulturbedingungen im Gewächshaus

Pflanzen der Akklimatisierungsphase wurden in einem Glas-Gewächshaus in einem Nebeltunnel an Substrat gewöhnt. Die Temperatur war trotz Schattierung stark an die Außentemperaturen gebunden und kann in den Sommermonaten extreme Werte erreichen. Das Bewässern erfolgte mit der Hand und es erfolgte in dieser Phase keine Düngung.

3.11 Etablierungs- und Vermehrungsmethoden

Im Folgenden sollen die Methoden der Schnitfführung und die Erfahrungen bei der Vermehrung der Haselnuss in-vitro beschrieben werden. Zur Vermehrung selbst sollte der Mikrosteckling möglichst vital und kräftig mit schön unterscheidbaren Internodien gewachsen sein und die Stecklingslänge nicht unter 3,5 cm liegen.

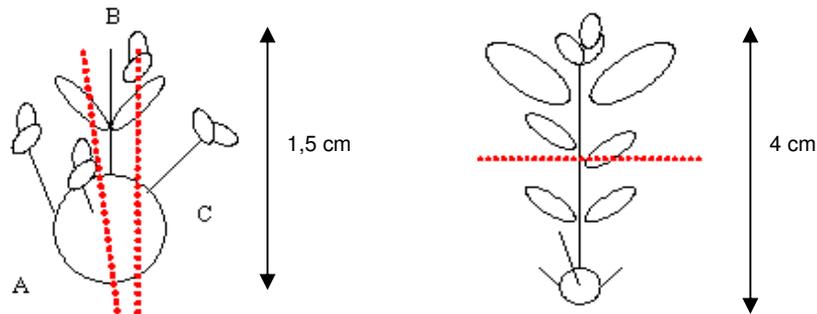


Abb. 31 (links):
Schema der Vermehrungsschnitfführung von Sprossunterteilen mit Kallusgewebe.

Abb. 32 (rechts):
Schema der Schnitfführung bei großen Mikrospossen.

Geschnitten wird in eine Spitze ohne Kallus und ein Nodienstück mit Kallus. Spitzen können gleichermaßen für die Vermehrung als auch für die Bewurzelung herangezogen werden. Sie bilden selten, und wenn nur wenige Seitentriebe aus, besitzen jedoch ein starkes Wachstum mit ausgeprägter Elongation und Dickenwachstum.

Unterteile bildet nicht nur einen neuen Triebe sondern auch mehre kleine Seitentriebe aus. Dazu wird der Unterteil mit seinen Seitentrieben nicht geteilt, sondern ausschließlich im Kallusgewebe angeschnitten und wenige Tage später, nach Erstarkung der Seitentriebe in neue Spitzen geteilt und als Spitze weitergeführt. Große Spitzen können auch zur Förderung der kleineren Seitentriebe abgenommen werden. Kallusgewebeteile mit aufsitzenden Spitzen und Sprosssteilen werden ab einem Durchmesser von mehr als 1 cm längs geteilt um offene Gewebeflächen im Verhältnis zum Volumen zu vermehren.

3.12 Berechnungen

Sämtliche Berechnungen (Tab. 29) erfolgten im Vergleich von jeweils 2 Versuchsgruppen mittels t-Test (Microsoft® Office Excel 2003). Die Prüfung der Mittelwerte der jeweiligen Versuchsgruppen erfolgt nach Gleichheit oder Ungleichheit (Signifikanz), wobei von der Normalverteilung der gefragten Variable ausgegangen wird.

3.13 Versuchsplan

Jede Untersuchung ist mit einem Kode bezeichnet der sich in allen Tabellen wiederfindet. Die Angaben im Versuchsplan enthalten die grundlegenden Informationen zu den Versuchsgruppen (VG), den Einflussfaktoren (Fixe Einflussgrößen [grün] und Variable Einflussgrößen [orange]) und Auswertungsparametern (AW). Von diesen grundsätzlichen Angaben abweichende Einflussfaktoren oder Auswertungsparameter werden gesondert in den Ergebnissen angegeben. Die verwendeten Abkürzungen im Versuchsplan und Ergebnistabellen sind dem Abkürzungsverzeichnis zu entnehmen.

3.13.1 Versuchsplan der Etablierungsphase

Tab. 13:
Versuchsplan der Etablierungsphase (V0, V4, V8, V15, V20) mit der Angabe der fixen (grün) und variablen (orange) Einflussfaktoren.

Etablierung			Einflussfaktoren				Medium			AW
K	Beschreibung	VG	Sorte	Explantat-entnahme	Vor-behandlung	Hg-D [min]	MED	Sequ138 [mg l ⁻¹]	Put [mM]	[Wochen]
V0	Protokoll Damiano -2005	1	TdG En Barc But lo Id E-104 RL HR Seg TgdL	Dez 04	forciert	20	687			3 AF, AB
V4	Putrescin	1	lo	Mai 05	ausgetrieben	20	687S	200		7 AF, AB, Qu
		2	lo	Mai 05	ausgetrieben	20	687SP	200	0,4	7
V8	Protokoll Damiano -2005	1	En lo But Barc	Aug 05	ausgetrieben	20	687			5 AF, AB, Qu
V15	Vorbehandlung Hg-Beh.-Dauer	A1	MdB HR lo BH En Barc	Dez 05	ruhend	20	687S	200		7
		A2	MdB HR lo BH En Barc	Dez 05	ruhend	10	687S	200		7 AF, AB
		B1	MdB HR lo BH	Dez 05	forciert	20	687S	200		7
		B2	MdB HR lo BH	Dez 05	forciert	10	687S	200		7
V20	Mod. Protokoll	1	En But Barc lo MdB TgdL	Feb 06	forciert	10	687S	200		3 AF, AB

3.13.2 Versuchsplan der Multiplikationsphase

Tab. 14:
Versuchsplan der Multiplikationsphase (V1, V2, V6, V11, V7, V12, V14) mit der Angabe der fixen (grün) und variablen (orange) Einflussfaktoren.

VERMEHRUNG		Einflussfaktoren										BD [Wochen]	AW	
K	Beschreibung	VG	Sorte	Beleuchtung	KG	MED [ml]	MED	Sequ138 [mg l ⁻¹]	Put [mM]	Zucker-Quelle	GB	VM		
V1	Lichteinfluss	SO1	TR	100% KW	Hipp	40	686			3% Sacch.	B&V	Spitzen	7	F, SG, VR
		SO2	TR	40% KW	Hipp	40	686			3% Sacch.	B&V	Spitzen	7	
		SO3	TR	GL	Hipp	40	686			3% Sacch.	B&V	Spitzen	7	
V2	Kulturgefäß	1	TR	100% KW	Hipp	40	686			3% Sacch.	B&V	Spitzen	7	ST, SG, N, R
		2	TR	100% KW	Dose	180	686			3% Sacch.	B&V	Spitzen	7	
		3	TR	100% KW	M-Sack	120	686			3% Sacch.	B&V	Spitzen	7	
V6	Putrescin	1	TR	100% KW	Hipp	40	698	200		3% Sacch.	B&V	Spitzen	22	VR
		2	TR	100% KW	Hipp	40	697	200	0,2	3% Sacch.	B&V	Spitzen	22	
V11	Kulturgefäß	1	TR	100% KW	Hipp	40	698	200		3% Sacch.	B&V	Spitzen	6	ST, N, SG
		2	TR	100% KW	M-Sack	120	698	200		3% Sacch.	B&V	Spitzen	6	
		3	TR	100% KW	Epr.	15	698	200		3% Sacch.	B&V	Spitzen	6	
V7	Medienvergleich	1	TR	100% KW	Epr.	15	699	200		Sorb/Malt/Sacch	B&V	Spitzen	19	Qu., F, VR, N,
		2	TR	100% KW	Epr.	15	698	200		3% Sacch.	B&V	Spitzen	19	
		3	TR	100% KW	Epr.	15	82			2% Sacch.	Gel.	Spitzen	19	
		4	TR	100% KW	Epr.	15	93			2% Sacch.	Gel.	Spitzen	19	
		5	TR	100% KW	Epr.	15	690			3% Sacch.	Gel.	Spitzen	19	
		6	TR	100% KW	Epr.	16	690 B&V			3% Sacch.	B&V	Spitzen	19	
		7	TR	100% KW	Epr.	15	684			3% Sacch.	Gel.	Spitzen	19	
		8	TR	100% KW	Epr.	15	82 MZ			2% Sacch.	Merck	Spitzen	19	
		9	TR	100% KW	Epr.	15	695			2% Sacch.	Merck	Spitzen	19	
V12	Medium	1	TR	100% KW	Hipp	40	698	200		3% Sacch.	B&V	Spitzen	11	ST, SG, N
		2	TR	100% KW	Hipp	40	699	200		Sorb/Malt/Sacch	B&V	Spitzen	11	
V14	Ausgangsmaterial	1	RL	100% KW	Hipp	40	698	200		3% Sacch.	B&V	Spitzen+	10	ST, SG, N, VR
		2	RL	100% KW	Hipp	40	698	200		3% Sacch.	B&V	Spitzen-	10	
		3	RL	100% KW	Hipp	40	698	200		3% Sacch.	B&V	Nodien+	10	
		4	RL	100% KW	Hipp	40	698	200		3% Sacch.	B&V	Nodien-	10	

3.13.3 Versuchsplan der Bewurzelungsphase

Tab. 15:
Versuchsplan der Bewurzelungsphase (V10, V17) mit der Angabe der fixen (grün) und variablen (orange) Einflussfaktoren.

BEWURZELUNG			Einflussfaktoren				BD [Wochen]	AW
Kode	Beschreibung	Versuchs- gruppen	Sorte	Medium			VM	
				Medium	AK [g l ⁻¹]	Sequ138 [mg l ⁻¹]		
V10	Medienvergleich	1	TR	513			Spitzen	6
		2	TR	474	8		Spitzen	6
V17	Medienvergleich	1	Id	705		200	Spitzen	4
		2	Id	706	8	200	Spitzen	4
		3	RL	705		200	Spitzen	4
		4	RL	706	8	200	Spitzen	4
		5	TR	705		200	Spitzen	4
		6	TR	706	8	200	Spitzen	4

4 ERGEBNISSE

Die Ergebnisse gliedern sich wie auch bereits im Kapitel 3 Material und Methoden in die Etablierungsphase (Kap. 4.1), die Vermehrungsphase (Kap. 4.2) und die Bewurzelung (Kap. 4.3) der produzierten Gewebekulturpflanzen. Die Akklimatisierung (Kap. 4.4) wurde nur mit einer kleinen Anzahl von Pflanzen durchgeführt.

Alle Unterkapitel beginnen mit Übersichtstabellen, die mit dem Versuchsplan (Kap. 3.13) korrespondieren.

4.1 Etablierungsphase für Kulturen von *Corylus* sp.

Die Etablierung der unterschiedlichen Sorten wurde in fünf Durchgängen in einem Zeitraum von Dez. 2004 bis Feb. 2006 bearbeitet. Bei den Etablierungsversuchen wurden verschiedene Fragestellungen bearbeitet: Die Versuchskodes V0 und V8 orientieren sich am Protokoll zur Etablierung nach M. Damiano²¹⁰, V4 testet den Einfluss des Polyamins Putrescin auf die Vitalität des gestarteten Materials und V15 den Einfluss der Knospen-Vorbehandlung und der Hg-Merthiolat-Behandlungsdauer. V20 zeigt den Start einiger wichtiger Sorten der Haselnuss mit dem modifizierten Protokoll zur Etablierung. Parallel wurde ab Mai 2005 Sequestren®138 zugegeben und das Etablierungsmedium damit ergänzt.

Die Ergebnisse der Etablierung werden in Tab.16 in Prozent angegeben und in Überlebende und Ausfälle gegliedert. Die Überlebensrate beinhaltet all jene Explantate, welche nicht durch Infektionen, Nekrosen oder phenolische Reaktionen verloren gingen. In machen Versuchen wird die Überlebensrate auch noch in Pflanzen ohne sichtbare Reaktion (lebende) und vitale Pflanzen, also jene mit deutlich sichtbaren Anzeichen von Wachstum und Entwicklung unterschieden.

²¹⁰ Damiano, Catenaro, Giovinnazzi, Caboni, 2005

Tab. 16:
Ergebnisse der Etablierungsphase für die Versuche V0, V4, V8, V15, V20.

Versuchskode	Sorte	n	Überlebende				Ausfälle			
			Summe (%)		davon ohne Reaktion (%)	davon vital (%)	Summe (%)	davon Infektionen (%)	davon Nekrosen (%)	
			\bar{x}	s	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	
V0	TdG	25	40,0				60,0			
	En	66	66,7				33,3			
	Barc	28	3,6				96,4			
	But	16	0,0				100,0			
	lo	14	0,0				100,0			
	ld	55	12,7				87,3			
	E-104	21	14,3				85,7			
	RL	25	28,0				72,0			
	HR	42	47,6				52,4			
	Seg	42	50,0				50,0			
	TgdL	30	3,3				96,7			
	$\Sigma = 364$		24,2	23,55			75,8			
V4	lo	24	79,0		50,0	29,0 (s=0,4956)	21,0			
	lo	24	71,0		25,0	46,0 (s=0,4926)	29,0			
		$\Sigma = 48$	75,0		37,5	37,5	25,0			
V8	En	25	44,0		20,0	24,0	56,0	48,0	8,0	
	lo	22	18,1		4,5	13,6	81,9	68,2	13,6	
	But	26	46,1		19,2	26,9	53,9	53,8	0,0	
	Barc	26	7,6		3,8	3,8	92,4	7,7	84,6	
		$\Sigma = 99$	29,0	19,6	11,9 (s=8,9)	17,1 (s=10,5)	71,0	44,4 (s=25,9)	26,6 (s=39,1)	
V15	A1	MdB	20	15,0				85,0		
		HR	20	45,0				55,0		
		lo	20	25,0				75,0		
		En	24	100,0				0,0		
		Barc	28	18,0				82,0		
		$\Sigma = 112$	34	35,2			66			
	A2	MdB	20	35,0				65,0		
		HR	20	45,0				55,0		
		lo	20	30,0				70,0		
		En	25	64,0				36,0		
		Barc	24	38,0				62,0		
		$\Sigma = 109$	35,0	13,24			65,0			
	B1	MdB	20	20,0				80,0		
		HR	20	35,0				65,0		
		lo	20	25,0				75,0		
		$\Sigma = 60$	27,0	7,64			73,0			
	BH		18	33,0				77,0		
B2	MdB	21	14,3				85,7			
	HR	20	40,0				60,0			
	lo	20	20,0				80,0			
		$\Sigma = 61$	25	13,50			75			
	BH	20	40,0				60,0			
	MdB	$\Sigma = 81$	21,08	9,62			78,92			
	HR	$\Sigma = 80$	41,25	4,79			58,75			
	lo	$\Sigma = 80$	25,00	4,08			75,0			
	En	$\Sigma = 49$	82,00	25,46			18,0			
	Barc	$\Sigma = 52$	28,00	14,14			72,0			
	C. avellana	$\Sigma = 342$	39,47	22,32			60,54			
	BH	$\Sigma = 78$	37,08	5,82			62,92			

Versuchskode	Sorte	n	Überlebende			Ausfälle		
			Summe (%)	davon ohne Reaktion (%)	davon vital (%)	Summe (%)	davon Infektionen (%)	davon Nekrosen (%)
			\bar{x}	s	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}
V20	En	68	80,9			19,1		
	But	41	100,0			0,0		
	Barc	74	21,6			78,4		
	lo	62	22,6			77,4		
	MdB	64	67,2			32,8		
	TgdL	62	43,5			56,5		
		$\Sigma=371$	56,0	32,04		44,0		

4.1.1 Vorversuch zur Etablierung verschiedener Sorten von *Corylus sp.* - V0

Das von Damiano²¹¹ bestehende Protokoll zur Etablierung von Haselnuss wurde ursprünglich von Leonhardt und Ertl²¹² getestet, um es zu reproduzieren und die Reaktionen an unterschiedlichen Klonen zu studieren. Dieses Protokoll bildet die Grundlage für alle Versuchsanstellungen. Insbesondere die Oberflächensterilisation und das Etablierungsmedium wurden der Publikation Damiano²¹³ entnommen. Gestartet wurde mit Explantaten von 11 Sorten (Bezeichnungen lt. Abkürzungsverzeichnis) mit dem Startmedium 687.

Die Anzahl der Explantate (axilläre Knospen) je Sorte lag je nach Verfügbarkeit zwischen 14 und 66 Stück (Tab. 16). Die ausgewählten einjährigen Triebe wurden bei Raumtemperatur und Dunkelheit für 10 Tage mit ihrem basalen Ende in Leitungswasser gestellt (forciert) und im Abstand von drei Tagen mit Akazid®-Lösung besprüht.

Nach 34 Tagen zeigten sich große Unterschiede im Erfolg der In-Kultur-Nahme je nach Sorte; die Ergebnisse werden in der Abb. 33 zusammengefasst. Die Überlebensraten (also keine Infektionen oder Nekrosen) lagen zwischen 0 und 66%. Daher wurde weiter an einer Verbesserung des Etablierungsprotokolls gearbeitet.

²¹¹ Damiano et al., 2005

²¹² Leonhardt, W.; Ertl, C.; Firmenprotokoll 2005, nicht publiziert.

²¹³ Damiano et al., 2005

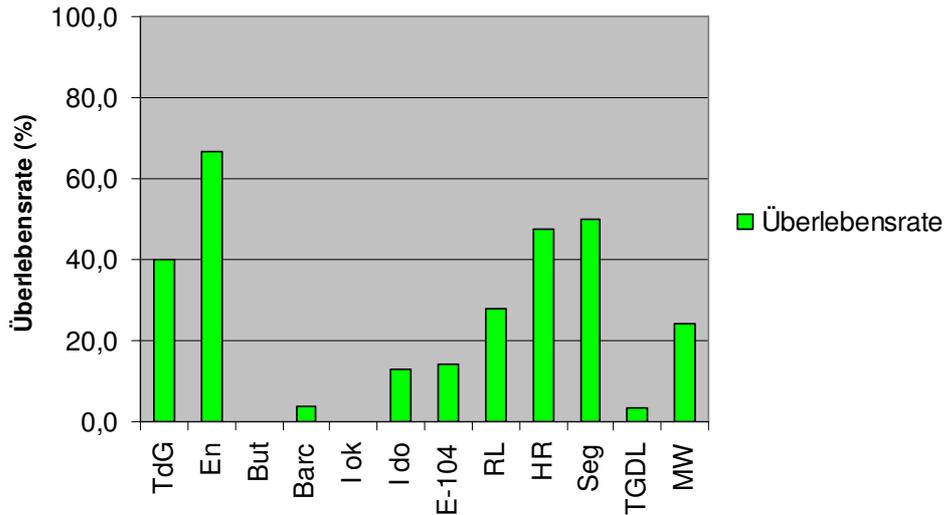


Abb. 33:
V0 Überlebensrate (%) der getesteten Sorten

Im Vorversuch wurde nicht in Infektionen und Nekrosen gesondert ausgezählt, sondern wurden gemeinsam als Ausfallrate bezeichnet. Es war zu diesem Zeitpunkt schon eine Tendenz mancher Sorten zu stärkeren Infektionsraten oder dem Ausfall durch phenolische Reaktionen festzustellen. Exemplarisch wurden bei der Sorte 'lo' starke Verbräunungen festgestellt (Abb. 35). Bemerkenswert ist, dass das Nährmedium im Umfeld des pflanzlichen Gewebes keine Verbräunungen aufweist (Abb. 34). In diesem Etablierungsdurchgang konnte keine Pflanze der Sorte 'lo' generiert werden.



Abb: 34:
V0 Sorte 'lo' (Med. 687) 2 Wochen nach der Oberflächen-Desinfektion.



Abb. 35:
V0 Sorte 'lo' (Med. 687) Verbräunung der Explantate.

4.1.2 Einfluss von Putrescin auf die Etablierung – V4

Ziel dieser Untersuchung war die Erhöhung der Überlebensrate durch den Einfluss des Polyamins Putrescin. Das bei V0 verwendete Startmedium 687 wurde durch Sequestren®138 als Eisenquelle ergänzt und im folgenden Versuch ohne (Med. 687S) und mit (Medium 687SP) der Zugabe von 0,4 mM Putrescin getestet. Ziel war einerseits eine höhere Überlebensrate zu erzielen und andererseits die Verbesserung der Vitalität der gestarteten Pflanzen durch Putrescin.

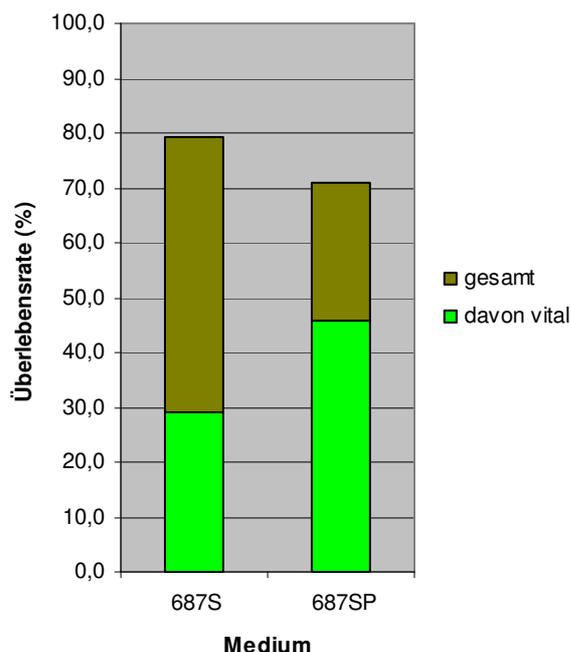


Abb. 36:
V4 Überlebensrate (%) mit und ohne Putrescin im Medium 687 + Sequestren®138.

Die Ergebnisse des Mediumvergleichs (Abb. 36) zeigen die Auswirkung von Putrescin. Das Interesse lag hierbei aber nicht nur in der Überlebensrate im Verhältnis zu einer Ausfallsrate durch Infektionen oder nekrotisches Gewebe alleine, sondern auch in der Qualität und dem Potential zur raschen Vermehrungsfähigkeit der etablierten Pflanzen.

Trotz des geringeren Gesamterfolgs mit dem Mediums 687SP besaß dieses Pflanzenmaterial die größere Vitalität, die Pflanzen zeigten nach optischen Kriterien gesünderes Aussehen, beginnendes Wachstum und eindeutig Entwicklung. Die Konstitution der Pflanzen legt die Vermutung auf ein höheres Potential zur Vermehrung und schnellerer Entwicklung nahe.

4.1.3 Einfluss des Genotypus auf den Etablierungserfolg und der Ausfallzeitpunkt zur Feststellung des Etablierungserfolges – V8

V8 folgt dem Protokoll von Damiano²¹⁴ und legte den Schwerpunkt auf Ursache und den Zeitpunkt des Ausfalls. Die Auswertung erfolgt nach der Überlebensrate, unterteilt in lebende und besonders vitale und die Ausfallrate, unterteilt in Infektionen Nekrosen nach 10, 20 und 34 Tagen ohne Öffnen der Kulturgefäße.

Die Ergebnisse (Abb. 37) der unterschiedlichen Sorten sind sehr different. Der Etablierungserfolg von durchschnittlich 30% aller Explantate wurde als nicht ausreichend beurteilt. Darum ergab sich der Bedarf einer Modifikation. Die Sorten 'En' und 'But' zeigten einen kleineren Anteil an nekrotischem Gewebe, aber dafür einen größeren Anteil an Infektionen. Die Sorte 'lo' hatte bei einer Überlebensrate unter 20% eine sehr große Ausfallrate die sich zum größeren Teil auf Infektionen zurückführen ließ. Die Sorte 'Barc' zeigt eine geringere Infektionsrate von knapp 10%, die Überlebensrate beträgt jedoch auch nur 10%. 80% gingen durch nekrotisches, verbräuntes Gewebe verloren.

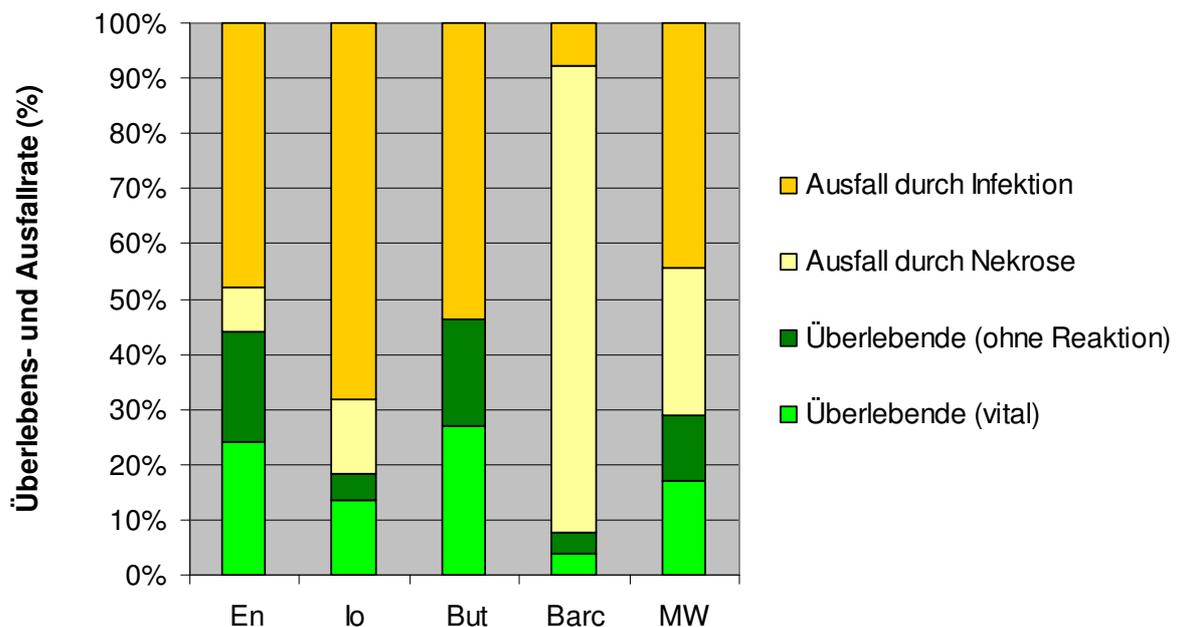


Abb. 37:
V8 Überlebensrate und Ausfälle (%) nach 34 Tagen der getesteten Sorten sowie der Durchschnittswert aller Sorten (MW).

Es zeigte sich, dass der Etablierungserfolg stark von der Sorte abhängig ist. Innerhalb der überlebenden Explantate zeigte sich ein relativ einheitliches Bild insofern, dass jeweils die Hälfte als vital bonitiert werden konnte, wobei die Absolut-Prozente für vitale Explantate zwischen 4 und 27% lagen. Dennoch wurden die restlichen überlebenden Explantate nicht aus dem Zyklus genommen, da für diese bei mehrmaligem Transfer auf

²¹⁴ Damiano et al., 2005

frisches Nährmedium eine einsetzende Entwicklung zu einem späteren Zeitpunkt angenommen wurde.

Aufgrund der Verhältnisse während der Etablierungsphase (Abb. 38) kann eine Prognose für den Etablierungserfolg insgesamt abgeleitet werden. Der Zeitpunkt für die Festlegung, ob aufgrund der Anzahl überlebender Individuen (Summe aus Überlebenden ohne Reaktion und vitalen Pflanzenexplantaten) eine ausreichende Anzahl am Ende der Etablierungsphase zur Verfügung stehen würde, ist frühestens nach 20, besser nach 30 Tagen zu fixieren.

Eine ausreichende Anzahl liegt bei mindestens 5 besonders vitalen Explantaten vor. Im anderen Fall ist der Neustart einer Kultur notwendig.²¹⁵

Die Ergebnisse der Untersuchungen mit den Sorten 'But' und 'Barc' zeigten keine Veränderung in den Verhältniszahlen zwischen 20. und 34. Tag, bei den Sorten 'En' und 'lo' zeigte sich, dass die Werte für Ausfälle durch Infektionen oder Nekrosen während der gesamten Beobachtungszeit zunahmen.

Für die Geamtheit aller Explantate ergibt sich folgender summarischer Trend (Abb. 38, MW):

- Infektionen nehmen bei allen Beobachtungsintervallen zu, wobei
- Nekrosen erst nach dem 10. Tag zu beobachten sind und zunehmen.
- Vitale Explantate sind erst nach dem 10. Tag festzustellen und nehmen danach zu.
- Die Anzahl der lebenden Individuen ohne Reaktion nehmen in allen Beobachtungsintervallen ab.

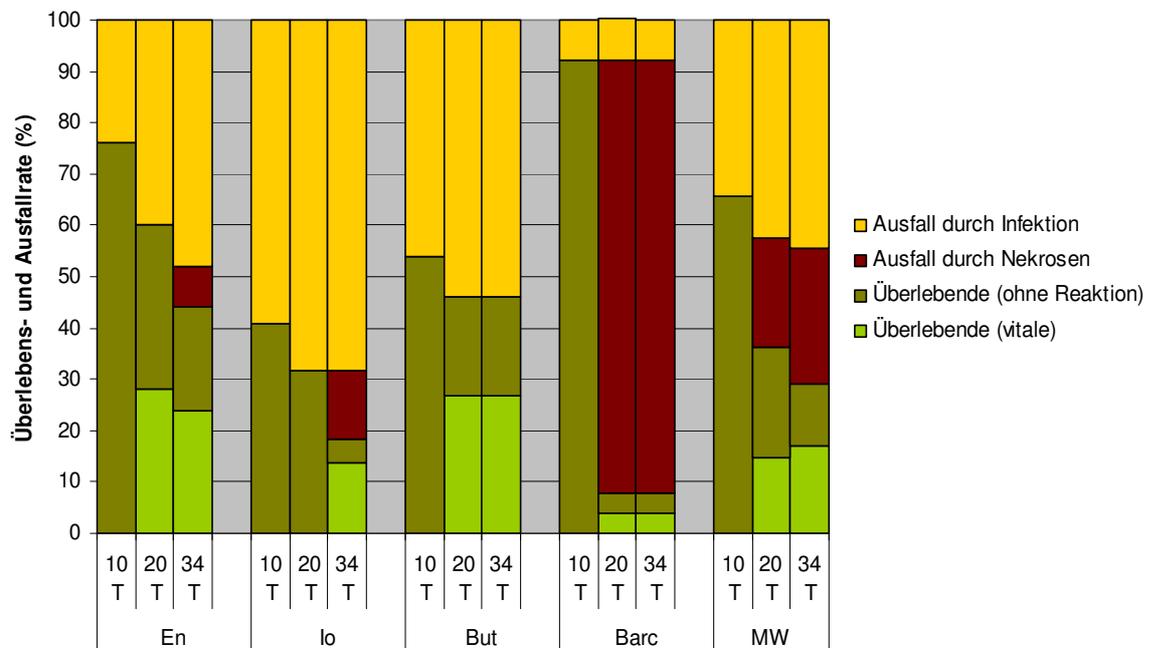


Abb. 38:
V8 Überlebensrate und Ausfallrate (%) nach 10, 20 und 34 Tagen unterschiedlicher Sorten sowie der Durchschnittswert aller Sorten (MW).

²¹⁵ Mündl. Leonhardt, W., Fa. Vitroplant, 2005

4.1.4 Einfluss des Entwicklungszustandes der Explantate (Knospenstatus) und der Desinfektionsdauer (Hg-Merthiolat-Lösung) auf den Etablierungserfolg von *C. avellana* und *C. colurna* – V15

Die Ergebnisse der Untersuchungen zum Einfluss des Knospenstatus (forciert oder ruhend) und der Behandlungsdauer (10 bzw. 20 min) mit Hg-Merthiolat nach einer Etablierungszeit von 50 Tagen sind in Abb. 39 bis 43 dargestellt. Eingesetzt wurden *C. avellana* ('lo', 'MdB', 'HR', 'En', 'Barc') und *C. colurna* (BH) bei unterschiedlichem Knospenstatus und einer Desinfektionsdauer von 10 bzw. 20 Minuten mit Hg-Merthiolat. Die Sorten zeigten große Unterschiede, wobei die Variation zwischen 100 und 15% lag. Hinsichtlich der Überlebensrate im Vergleich zur Ausfallrate ist die Variation aufgrund des Sorteneinflusses tendenziell größer als die Variation aufgrund der Behandlungsarten (Knospenstatus und Desinfektionsdauer).

Die Sorten 'lo', 'MdB' und 'HR' (*C. avellana*) zeigten durchwegs bessere Ergebnisse mit ruhenden Knospen im Dezember, wobei die Behandlungsdauer mit Hg-Merthiolat einen geringeren Einfluss auf die Überlebensrate als der Knospenstatus zu haben schien. *C. colurna* (BH) zeigte jedoch ein besseres Ergebnis bei forcierten Knospen. Die Sorten 'En' und 'Barc' (*C. avellana*) konnten nur in der Desinfektionsdauer verglichen werden, auch sie zeigten die bzgl. der Auswirkung der Desinfektionsdauer bei *C. avellana* beschriebene Tendenz.

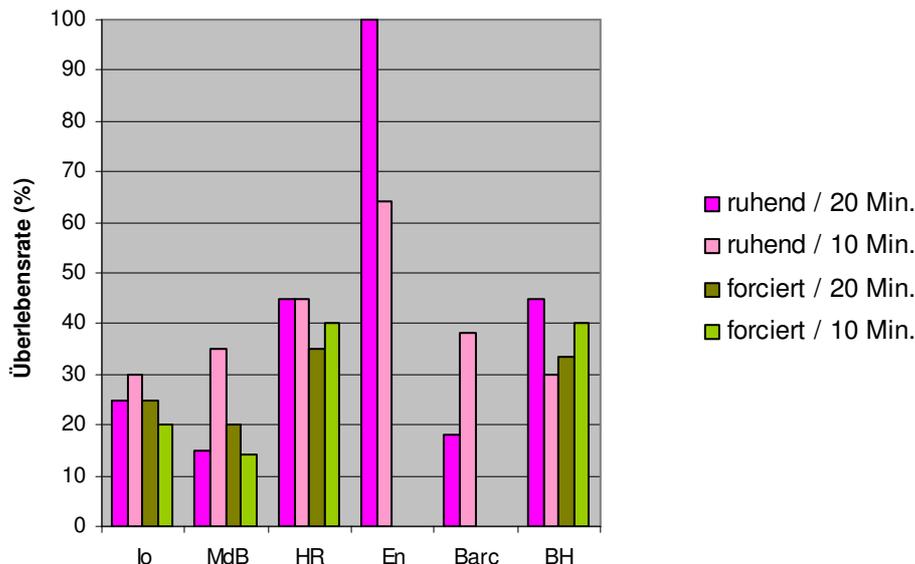


Abb. 39:
V15 Überlebensrate (%) verschiedener Sorten nach den Protokollen der Versuchsgruppen A1, A2, B1, B2.

Bei *C. avellana* wird eine Tendenz auch in beim Vergleich der Mittelwerte (MW, Abb. 40) der einzelnen Versuchsgruppen deutlich. Der Einfluss des Quecksilbers ist bei ruhenden und angetriebenen Knospen etwa gleich und scheint schwächer als der Einfluss durch die Vorbehandlung der Triebe.

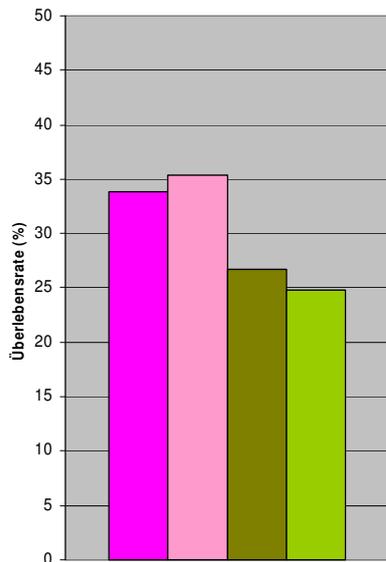


Abb. 40:
V15 Mittlere Überlebensrate (%) aller
Sorten (*C. avellana*).

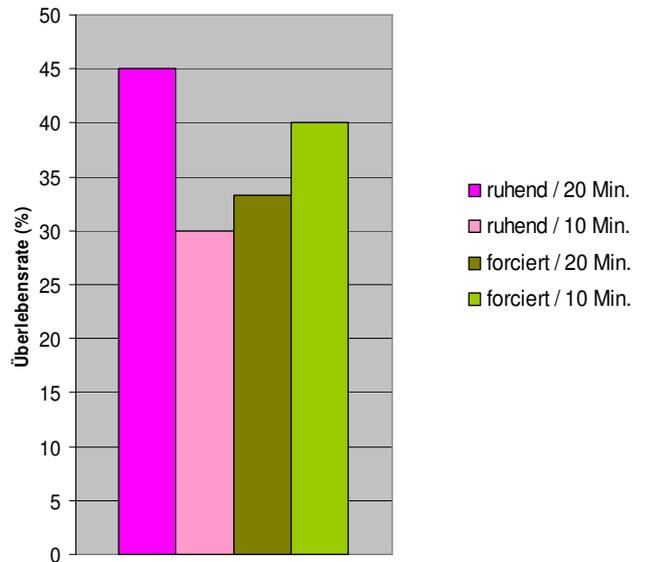


Abb. 41:
V15 Überlebensrate (%)
bei *C. colurna*.

C. colurna (Abb. 41) zeigt im Vergleich mit *C. avellana* ein differentes Bild. Das Ergebnis bei ruhenden Knospen und 20 Minuten Desinfektionsdauer mit Hg-Merthiolat übersteigt den Mittelwert von *C. avellana* deutlich.

Unabhängig vom Einfluss des Protokolls zeigen sich manche Sorten im Mittelwert aller Protokolle erfolgreicher in der Etablierung als andere (z.B. 'En' = 82% gegenüber 'MdB' = 20%). Dargestellt sind die Ergebnisse in Abb. 42 und 43.

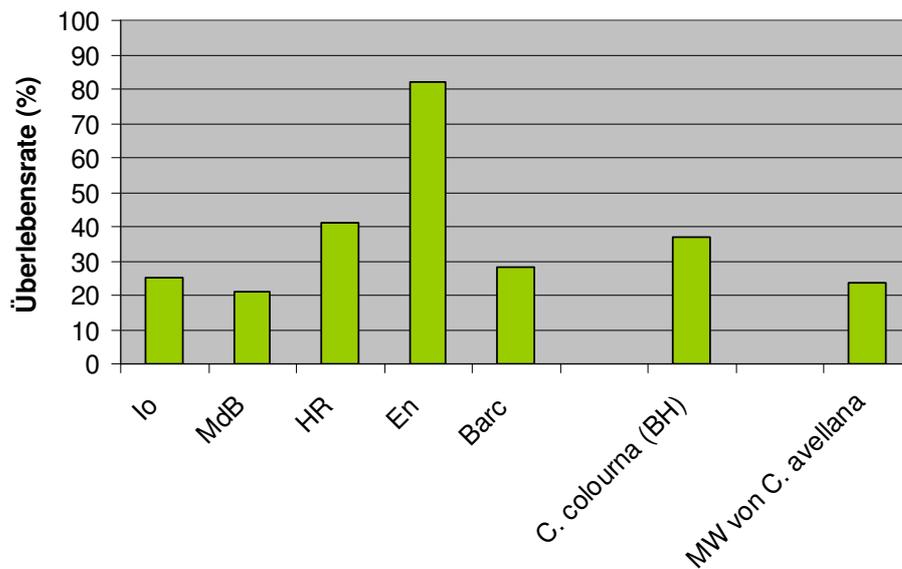


Abb. 42:
V15 Überlebensrate (%) der Sorten von *C. avellana* und *C. colurna* sowie der Durchschnitt aller Sorten von *C. avellana*.

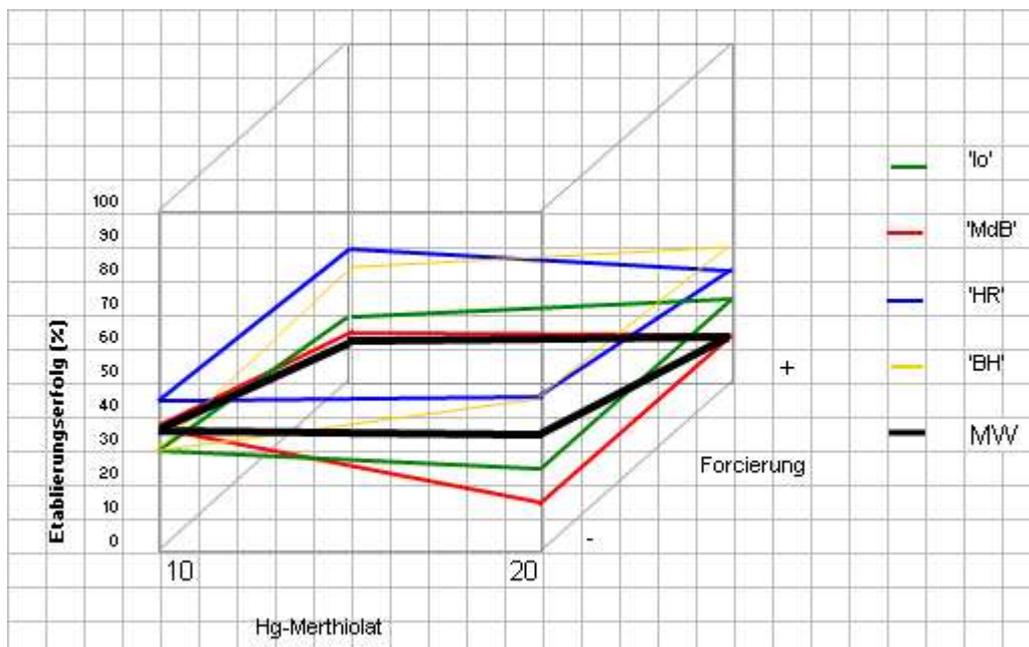


Abb. 43:
Flächen der Antwortgrößen (%) auf die Überlebensrate.

Abb. 43 zeigt sehr deutlich die Tendenz der Haselnuss-Explantate bei ruhenden Knospen und kürzerer Behandlungsdauer eine höhere Überlebensrate zu erreichen. Daher kann der Einfluss der Behandlungsdauer mit Hg-Merthiolat als geringer eingestuft werden und in den folgenden Etablierungsversuchen wird die Behandlungsdauer bei 10 Minuten festgelegt.

4.1.5 Hauptversuch mit dem modifizierten Etablierungsprotokoll – V20

Folgende Modifikationen gegenüber dem Protokoll von Damiano (V0) wurden vorgenommen:

- Der Reisererntetermin (Etablierungsstart) lag im Februar.
- Einjährige Triebe mit ruhenden axillären Knospen wurden 15 Tage vor der Oberflächen-Desinfektion im Freiland mit ruhenden Knospen geschnitten, forciert und einer Behandlung mit Akazid®-Lösung unterzogen.
- Bei der Oberflächen-Desinfektion wurde eine Behandlungsdauer mit Hg-Merthiolat bei 10 Minuten festgesetzt.
- Die Kultivierung der Explantate erfolgte auf Nährmedium 687 + Sequestren®138.
- Die Bewertung des Etablierungserfolges erfolgte nach 20 Tagen.

Die Überprüfung des modifizierten Protokolls erfolgt an unterschiedlichen Sorten von *C. avellana* ('En', 'But', 'Barc', 'lo', 'MdB', 'TgdL').

In Abb. 44 sind die Ergebnisse dargestellt; die Sorte 'But', mit 100% Überlebensrate, 'En' mit 80% und 'MdB' mit 68% zeigen den gewünschten Erfolg. 'TgdL' mit 43% ist im akzeptablen Mittelfeld. Bei 'Barc' und 'lo' mit 22 bzw. 23% ist die Überlebensrate zu gering.

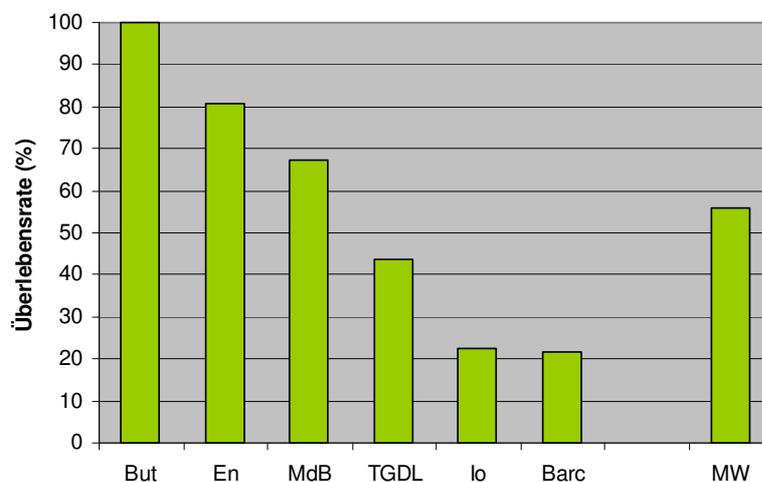


Abb. 44:
V20 Überlebensrate (%) verschiedener Sorten im modifizierten Etablierungsprotokoll sowie der Durchschnitt aller Sorten (MW).

4.1.6 Auswertung der Ergebnisse der Etablierungsversuche

Zur Festlegung für ein geeignetes Etablierungsprotokoll für *C. avellana* und *C. colurna* werden die Einflüsse Etablierungszeitpunkt, die Vorbehandlung, der Hg-Merthiolat-Einfluss und Medien verglichen.

4.1.6.1 Einfluss des Etablierungszeitpunktes (Reiserernte) und Knospenzustandes (Vorbehandlung) auf den Etablierungserfolg

Da Pflanzen in Klimazonen mit jahreszeitlichen Schwankungen auch parallel dazu hormonelle und entwicklungsbedingte Schwankungen aufweisen, erweist sich der Zeitpunkt des Kulturstarts als wichtiges Kriterium für das Gelingen einer Kultur. Die Etablierungsversuche erfolgten zu folgenden Zeitpunkten:

1. Quartal Jän-März	2. Quartal April-Juni	3. Quartal Juli – Sep.	4. Quartal Okt. - Dez.
V 20	V 4	V 8	V 0 V 15

Die Mittelwerte der Versuche zu den jeweiligen Startterminen (Quartale 1-4) sind in Abb. 45 zusammengefasst. Die Ergebnisse zeigen große Unterschiede im Etablierungserfolg mit positiven Effekten im 1. und 2. Quartal gegenüber dem 3. und 4. Quartal. Die Ergebnisse im 2. Quartal (V4) beziehen sich jedoch nur auf die Sorte 'lo' und müssen demnach mit Vorbehalt betrachtet werden.

Bei einer mehrdimensionalen Betrachtung zeigen sich allerdings Sortenunterschiede innerhalb des Einflusses des Reisererntetermins (Abb. 46).

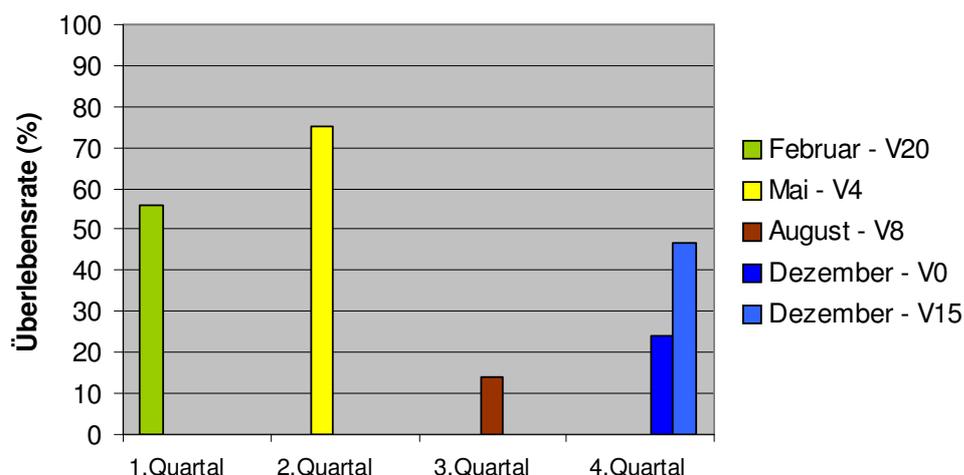


Abb. 45:
Überlebensrate (%) aller Startversuche bezogen auf den Reisererntetermin.

Werden für einen Ergebnisvergleich die Überlebensraten einzelner Sorten herangezogen, zeigte sich für die Sorte 'lo' im Vergleich zu Standardsorten wie 'En' oder 'MdB' unterschiedliches Sortenverhalten (Abb. 46). 'En' und 'MdB' zeigten einen potenziellen Anstieg der Ausbeuterate bis inkl. 1. Quartal, 'lo' erreichte erst im 2. Quartal den Höhepunkt der Überlebensrate.

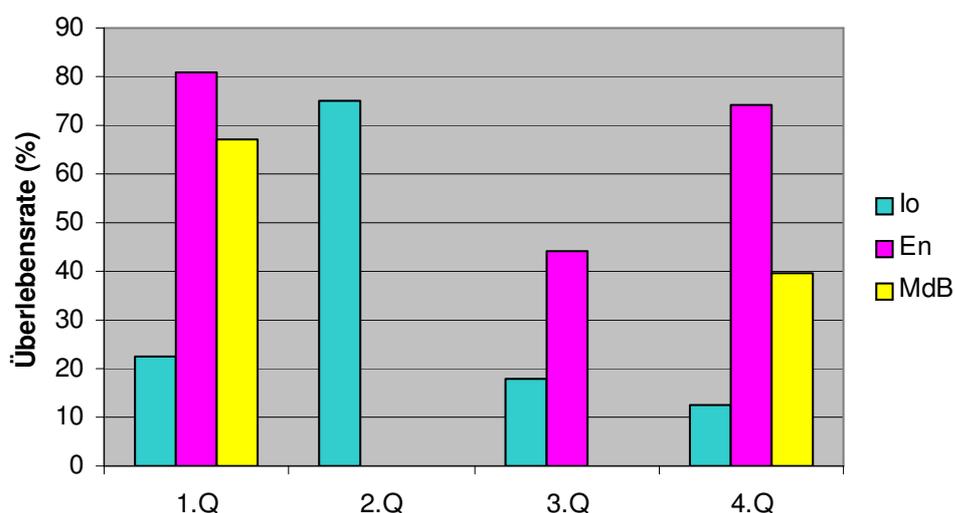


Abb. 46:
Überlebensrate (%) beeinflusst vom Reisererntetermin bei den Sorten 'lo', 'En' und 'MdB'.

Der Einfluss des Entwicklungszustandes der Explantate (im Freiland ruhend, im Freiland ausgetrieben, und forcierte Knospen) ist groß (Abb. 47).

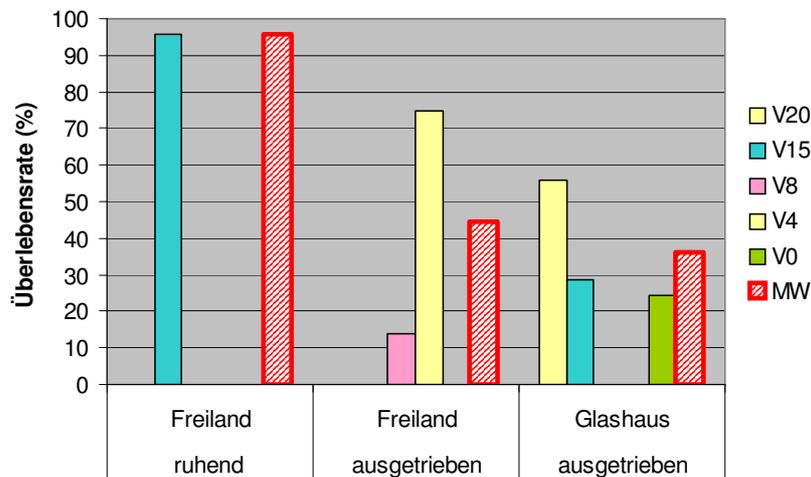


Abb. 47
Überlebensrate (%) bei unterschiedlichem Knospenzustand.

Die Entnahme der Knospen direkt aus dem Freiland, vor dem Frühjahrsaustrieb, führte zu einer deutlich höheren Überlebensrate der Explantate. Die Ergebnisse von V15 (Mittelwert) im Dezember zeigten eine höhere Überlebensrate bei ruhenden Knospen mit über 90% im Vergleich zur forcierten Variante mit nur knapp 30%. Die im Freiland ausgetriebenen Knospen, das entspricht einer Entnahme je nach Sorte etwa dem 2. Jahresquartal, zeigten bei V4 noch sehr gute Ergebnisse mit etwa 75%, aber schon bei V8 im August sind die Ergebnisse mit nur 15% weit unterhalb der gewünschten Überlebensrate. Werden die Ergebnisse der forcierten Varianten der Versuche V0 und V20 betrachtet, muss einer ruhenden Knospe zur Entnahme als Explantat für die Gewebekultur von *Corylus sp.* der Vorzug gegeben werden.

4.1.6.2 Einfluss der Hg-Merthiolat-Behandlungsdauer bei der Oberflächen-Desinfektion auf den Etablierungserfolg

Bei einem Vergleich der Behandlungsdauer mit Hg-Merthiolat (Abb. 48) zeigten sich Unterschiede in der Überlebensrate der verschiedenen Sorten. Der potentielle Trend für die Überlebensrate ist bei der Behandlung mit 20 Minuten bei 29%, bei der Behandlung mit nur 10 Minuten bei 49%. Eine differenzierte Auswertung der Ausfälle durch Infektionen oder Nekrosen (phenolische Reaktionen) wurde nicht vorgenommen.

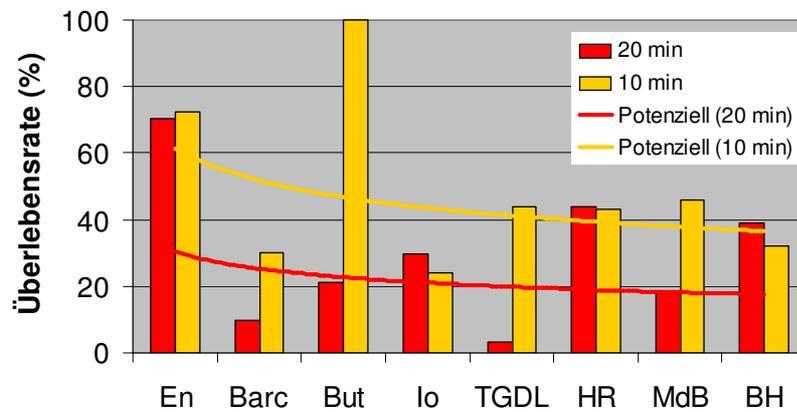


Abb. 48
Überlebensrate (%) verschiedener Sorten im Hinblick auf die Hg-Merthiolat-Behandlungsdauer.

4.1.6.3 Einfluss der Mediumzusammensetzung auf den Etablierungserfolg

Die Wahl des geeigneten Startmediums ist ausschlaggebend für den Etablierungserfolg im Sinne einer kommerziellen Nutzung. Die Kosten für die Herstellung und Verarbeitung des Mediums machen oft ein Vielfaches der Kosten für Pflanzenmaterial oder Oberflächen-Sterilisationschemikalien aus.

Die Verbesserung der Überlebensrate und der Qualität der Explantate aufgrund des Einflusses von Sequestren®138 ist in Abb. 49 dargestellt. Die Überlebensrate verschiedener Sorten (V0, V4, V8, V15, V20) unter Sequestreneinfluss wurde verglichen. Die Sorten 'En', 'Barc', 'But', 'lo' und 'zeigten eine deutliche Verbesserung der Überlebensrate mit Sequestren, nur die Sorte 'HR' machte eine Ausnahme.

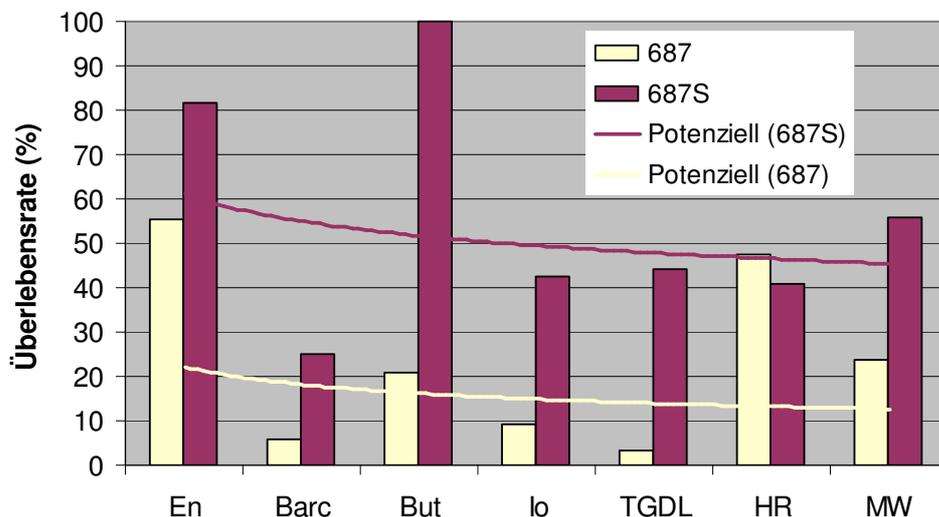


Abb. 49
Überlebensrate (%) der Explantate im Medium mit und ohne Sequestren®138.

Beim Vergleich einer Sorte auf drei verschiedenen Etablierungsmedien (687, 687S, 687SP) (Abb. 50) zeigte sich einerseits eine deutliche Verbesserung der Überlebensrate durch die Zugabe von Sequestren und andererseits auch die positive Überlagerung des Sequestreneinflusses durch den Einfluss von Putrescine.

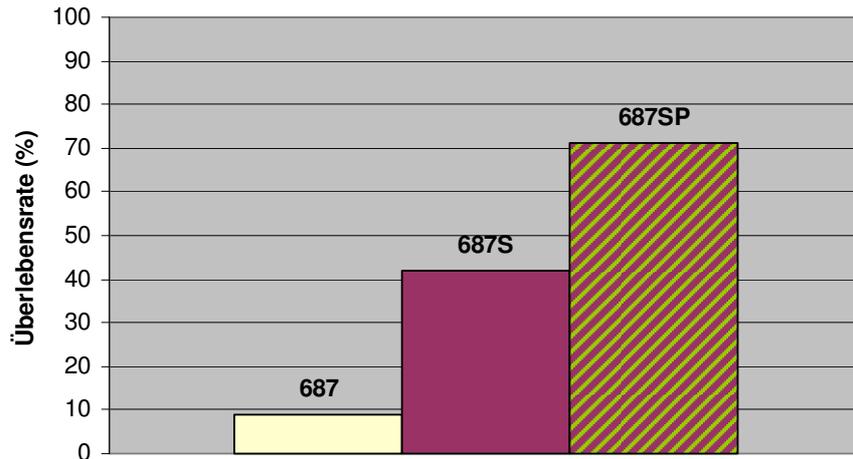


Abb. 50:
Überlebensrate (%) der Sorte 'lo' auf drei Etablierungsmedien.

Zur Verdeutlichung der Verbesserung des Gewebestatus (ohne Nekrosen) dienen die Abb. 51 und 52 von Pflanzen auf Medium 686 und 698 mit derselben Mediumrezeptur aber mit dem Unterschied der Zugabe von 200 mg l^{-1} Sequestren®138 in Medium 698. Die Aufnahmen zeigen bereits etablierte Pflanzen der Vermehrungsphase, die Pflanzen wiesen jedoch gleiche Verbesserungen der Gewebefarbe und Konstitution auf wie die Explantate der Etablierungsphase unter Einfluss von Sequestren®138.

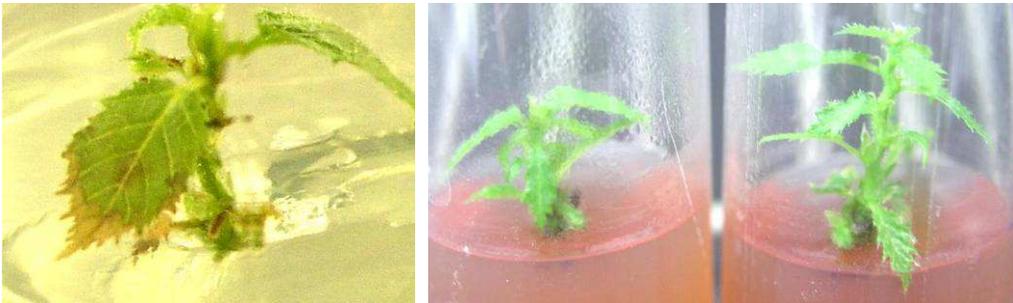


Abb. 51 (links):
V2 Pflanze der Sorte 'TR' in Med. 686 ohne Sequestren®138. An den Blatträndern, am Apex und bei Berührung des Mediums erscheinen Nekrosen.

Abb. 52 (rechts):
V11 Pflanze der Sorte 'TR' in Med. 698 mit Sequestren®138 ohne Nekrosen und mit großer Vitalität.

4.2 Multiplikationsphase der etablierten Kulturen von *Corylus sp.*

Die Einflüsse von Lichtintensität und Lichtqualität, die Art des Kulturgefäßes, der Zusatz von Putrescin im Nährmedium und die Nährmedienzusammensetzung und die Art des Ausgangsmaterials für die Vermehrung wurden hinsichtlich ihrer Auswirkung auf die Vermehrungsrate und Qualität (Farbe, Sprossgröße, gebildete Seitentriebe und gebildete Nodien) der vermehrten Pflanzen untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. 17 zusammengefasst.

Tab. 17:
Ergebnisse der Multiplikationsphase für die Versuchskodes V1, V2, V6, V7, V11, V12, V14

VK	VG	n	VR***		Qualität der Explantate**		Farbe der Explantate****		Sprossgröße * [cm]		Anzahl der Sprossspitzen pro Pflanze*		Anzahl der Nodien pro Pflanze*	
			\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
V1	100% KW	63	2,3			2,65	1,08	1,20	0,83					
	40% KW	60	2,4			3,28	0,83	1,40	0,80					
	GL	60	1,7			2,83	0,92	1,10	0,71					
V2	Hipp	60						2,30		2,20		7,5		
	Dose	60						2,80		2,40		6,6		
	M-Sack	40						2,60		2,30		7,1		
V11	Hipp	96		3,19	0,10			1,31	0,82	1,73	0,42	4,87	1,96	
	M-Sack	30		3,39	0,92			1,33	0,76	1,13	0,51	5,45	2,32	
	Epr.	32		3,41	0,67			1,40	0,70	2,19	0,90	5,91	1,89	
V6	698	15	2,07	3,33	1,23			2,10	1,4	1,40	0,74	7,27	2,28	
	697	21	1,81	3,10	1,26			2,14	0,9	1,19	0,40	7,24	2,14	
V7	699	6	2,3	5,00		4,70						10,1		
	698	6	1,8	4,70		5,00						10,1		
	82	6	1,0	1,00		1,33						3,0		
	93	6	1,0	2,00		1,67						2,5		
	690	6	1,3	3,30		2,67						3,0		
	690 B&V	6	0	4,00		4,00						4,7		
	684	6	1,0	1,00		1,00						2,0		
	82 MZ	6	0,8	2,00		1,80						2,2		
	695	6	1,5	3,30		3,17						4,6		
V12	698													
	TR	32						1,35	0,70	2,19	0,90	5,89	2,06	
	En	7						0,50	0	1,00	0	3,00	0	
	But	8						0,50	0	1,00	0	3,00	0	
	E104	1						0,50	0	1,00	0	3,00	0	
	lo	2						0,50	0	1,00	0	3,33	1,43	
	TGDL	3						0,67	0,29	1,33	0,58	3,33	0,58	
	699													
	TR	32						1,53	0,95	1,97	0,78	5,34	2,04	
	En	13						0,54	0,14	1,08	0,28	3,00	0	
V14	Sp +	22	2,9	3,61	0,58			2,45	1,82	2,67	1,11	5,68	2,36	
	Sp -	18	3,0	3,52	0,59			2,32	1,66	3,42	1,21	5,80	2,43	
	N +	25	3,2	3,72	0,46			2,25	1,06	3,06	1,11	5,83	1,50	
	N -	11	2,3	2,82	1,08			1,12	1,20	2,09	0,83	3,36	1,38	

* Gewogenes arithmetisches Mittel über alle Auswertungen der jeweiligen Versuchsgruppe.

** Mit Qualität wird der Gesamteindruck der Pflanzen, basierend auf einer visuellen Bonitur auf einer fünfteiligen (V7) bzw. vierteiligen (V11, V6, V14) Skala (Eins entspricht einem nekrotischen und fünf bzw. vier einem vitalen, kräftigen Gesamteindruck). Die Einzelwerte wurden in einem arithmetisches Mittel zusammengefasst.

*** Die Vermehrungsrate wurde aus der Anzahl der produzierten Pflanzen geteilt durch die Anzahl der für die Produktion herangezogener Pflanzen errechnet.

**** Parallel dazu wurde bei einzelnen Versuchsanordnungen die Farbe anhand einer fünfteiligen Skala (V7) (5 entspricht einer intensiv grünen Pflanze und eins einer chlorotischen bis nekrotischen Pflanze entspricht) bonitiert. Einige Versuchsanordnungen (V1) wurden anhand einer vierteiligen Skala bonitiert (Vier entspricht einer grünen, unveränderten Pflanze, eins einer Pflanze mit nekrotischem Gewebe.) Bei den Versuchsanordnungen bei denen die Farbe nicht gesondert ausgewiesen wurde, ging diese in der Bonitur der Qualität ein. Die Einzelwerte wurden in einem arithmetisches Mittel zusammengefasst.

4.2.1 Einfluss der Kulturführung auf die Pflanzenqualität und Vermehrungsrate

4.2.1.1 Einfluss von Lichtqualität und Lichtintensität auf die Vermehrung – V1

Der Einfluss der Lichtqualität und Lichtintensität hat starken Einfluss auf die Qualität und die Vermehrungsrate in der Gewebekultur. Die Untersuchungen wurden mit Pflanzen der Sorte 'TR', die sich seit mehreren Monaten in Kultur befand, durchgeführt. Die Kultivierung erfolgte auf Medium 686 mit drei Pflanzen je „Hipp-Glas“. Die Standorte der Versuchsgruppen wiesen unterschiedliche Lichtqualität und Lichtintensität der eingesetzten Beleuchtungskörper auf.

Tab. 18:
V1 Einfluss von Lichtqualität und Lichtintensität auf die Vermehrungsrate und Qualität der Pflanzen.

	n	VR	Farb- werte	unv., grün [%]	tw hell, ausgeblichen [%]	ges. hell [%]	nekrotisch, braun [%]	Spross- größe [cm]
SO 1 100% KW	63	2,3	2,65	28,6	14,3	45,7	11,4	1,20
SO 2 40 % KW	60	2,4	3,28	51,7	25,0	23,3	0,0	1,40
SO 3 100% GL	60	1,7	2,83	28,3	33,3	31,7	6,7	1,10

Die Auswertung erfolgte in der siebenten Woche vor dem Transfer in frisches Nährmedium (Umlagerung). Betrachtet wurden einerseits die Vermehrungsrate als Merkmal der Produktivität, und andererseits die Qualität der Pflanzen. Die Farbbewertung erfolgte nach folgenden Kriterien: Unverändert, grüne Pflanzen; Explantate die teilweise oder gesamt ausgebleichen, hellgrün bzw. etioliert erschienen; Pflanzen die durch Nekrosen ausgeschieden wurden. Als Zeichen der Entwicklung wird

der Parameter Sprossgröße herangezogen und in cm pro Pflanze berechnet und im arithmetischen Mittel angegeben. Die Qualität der Pflanzen in der Untersuchung wird als Farbwert bonitiert. Der Farbwert dient als Merkmal für den physiologischen und metabolischen Zustand der Pflanze und damit das Potential eines Explantats zur Vermehrung. Nach dem Farbwert der Pflanzen an verschiedenen Standorten konnte eine bessere Entwicklung (Abb. 53) bei reduziertem Licht festgestellt werden.

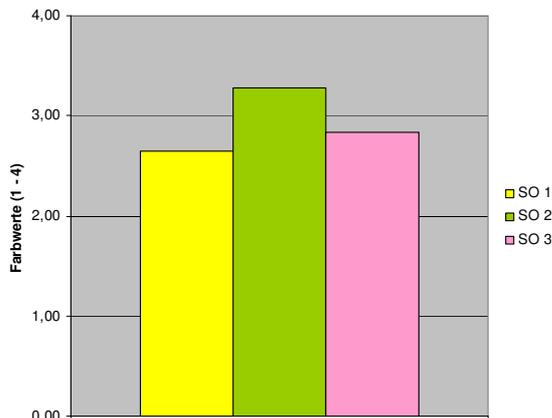


Abb. 53:
V1 Farbwerte (\bar{x}) (1-4) als Qualitätsmerkmal bei Explantaten mit unterschiedlichem Lichtangebot (SO1, SO2, SO3).

Die Beschaffenheit der Pflanzen hinsichtlich positiv verlaufender Entwicklung und Vermehrungsfähigkeit muss differenziert betrachtet werden. Leicht etiolierte Pflanzen, daher auch mit länger gestreckten Internodien, werden toleriert. Sie sind einfacher in der Handhabung und erzielen damit eine höhere Vermehrungsrate. Dieser für eine Pflanze ungünstige Zustand soll nur in begrenztem Maße gefördert werden.

Die Verteilung in Prozent der erreichten Farbbewertungen (Abb. 54) zeigt einerseits die Empfindlichkeit der jungen Explantate gegenüber starker Lichtintensität, aber andererseits auch die Ausbildung von Nekrosen bei zu geringem Lichtangebot. 40% KW, das entspricht etwa 3 Stück CoolWhite-Leuchtstoffröhren mit 120 cm Länge pro Quadratmeter Kulturfläche, führte zu den besten Ergebnissen.

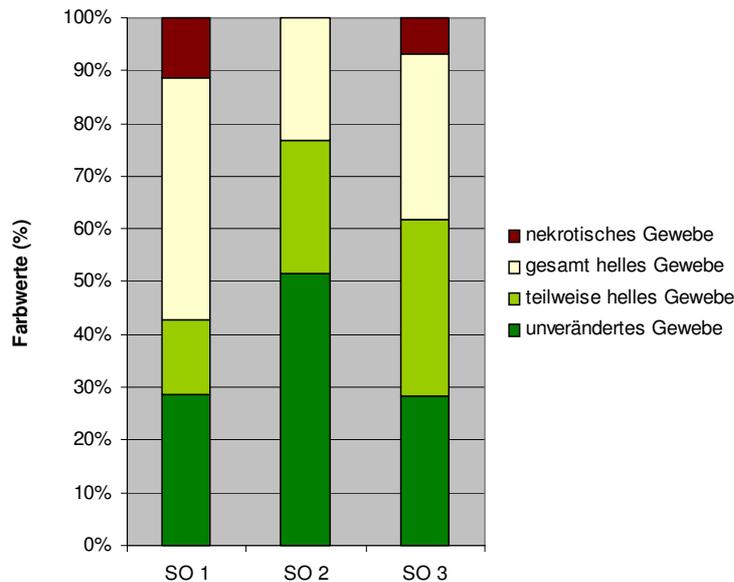


Abb. 54:
V1 Anteile der Farbwerte (%) in Abhängigkeit von Lichtintensität und Qualität der Standorte 1,2 und 3.

Die Sprossgröße unter unterschiedlichem Lichteinfluss wird in Abb. 55 zusammengefasst. Die Sprossgröße setzt sich aus 2 Parametern zusammen. Einerseits ist die Entwicklung von weiteren Nodien möglich, andererseits erfolgt ein Streckungswachstum, also eine Verlängerung der Internodien. Die Streckung einer Pflanze ist somit nicht nur Zeichen für eine positive Entwicklung und Wachstum, sondern kann auch für etioliertes Wachstum, also reines Streckungswachstum der Internodien.

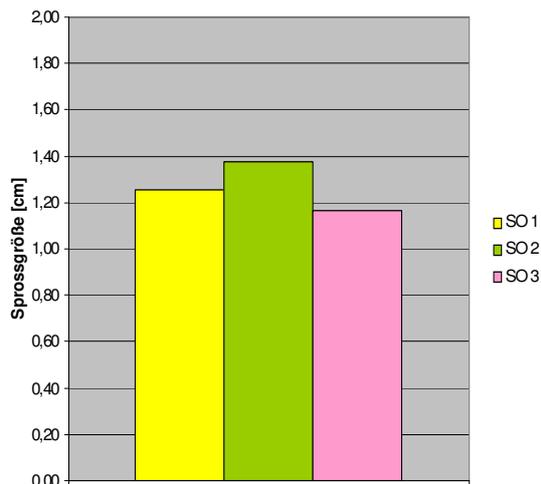


Abb. 55:
V1 Sprossgröße (cm, \bar{x}) in Abhängigkeit vom Standort (MW der Versuchsgruppen).

Im arithmetischen Mittel über alle Pflanzen an einem Standort zeigt sich für SO 1 eine Sprossgröße von 1,2 cm, für Standort 2 1,4 cm und für

Standort 3 nur 1,1 cm. Diese Werte lassen jedoch keinen Rückschluss auf die Qualität und Vermehrungsfähigkeit der Pflanzen zu. Betrachtet werden muss die Verteilung der einzelnen Sprossgrößen-Zunahmen, dargestellt in Abb. 56.

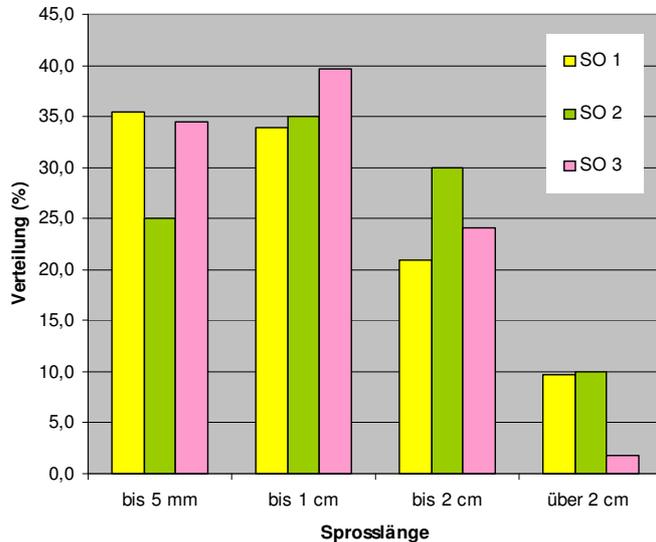


Abb. 56:
V1 Verteilung der Sprossgrößenanteile (%) bei unterschiedlicher Lichtintensität und Lichtqualität.

In der Kategorie der Pflanzen mit einer Sprosslänge bis zu 5 mm, ohne Wachstum seit dem Versuchsstart, sind bei Standort 2 ein Viertel aller Kulturpflanzen. Bei Standort 1 und Standort 3 sind jedoch 35% aller Pflanzen ohne Wachstum vorhanden. Explantate mit einer Sprossgröße bis zu 1 cm zeigen zwar Wachstum, sind aber zu klein für einen Vermehrungsschritt. Alle Pflanzen ab 2 cm Sprossgröße können für eine Vermehrung herangezogen werden. Das bedeutet für Standort 1 30,7%, für Standort 2 40% aller Pflanzen und für Standort 3 25,6% vermehrungsfähige Pflanzen. Wird die Verteilung der Pflanzen „bis 2 cm“ und „über 2cm“ betrachtet, wird der positive Einfluss von CoolWhite-Röhren sichtbar.

Die Vermehrungsrate bezieht sich auf alle gewonnen Explantate aus einer Umlage. Da nicht nur die Größe, sondern auch die Nodienanzahl und Konstitution einer Pflanze für ihre Vermehrungsfähigkeit ausschlaggebend sind, findet sich auch hier ein Hinweis auf die positive Auswirkung durch ein reduziertes Lichtangebot.

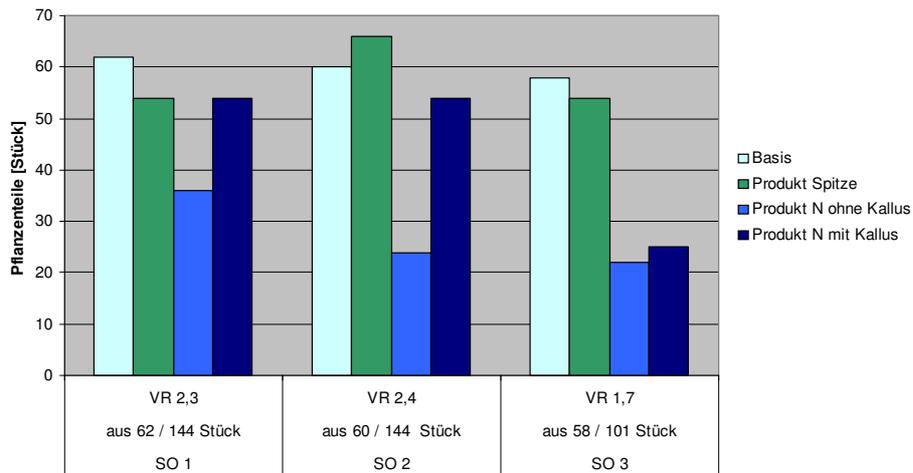


Abb. 57:
V1 Vermehrungsrate (VR) und die Verteilung der Absolutwerte der Ausgangsmenge (Basis) und der Produkte der Vermehrung bei unterschiedlichen Lichtverhältnissen.

In Abb. 57 ist die verstärkte Ausbildung von Spitzen, bzw. Seitentrieben auf Standort 2, die im Anschluss für eine Spitzenkultur herangezogen werden können, dargestellt. Standort 1 zeigt zwar eine ähnliche Gesamtvermehrungszahl, kann aber in der Spitzenkultur nur geringere Zahlen aufweisen, ausschlaggebend für die ähnliche Vermehrungsrate sind „Zwischenstücke“, also Nodienstücke ohne Kallus. Standort 3 ist für die Vermehrung mit einer Rate von 1,7 am wenigsten geeignet.

4.2.1.2 Einfluss unterschiedlicher Kulturgefäße auf die Vermehrung

– V2 und V11

Die Art des Kulturgefäßes beeinflusst die Vermehrungsrate und die Qualität maßgeblich. Anhand der Untersuchungen in V2 und V11 soll auf die Eignung für die kommerzielle Produktion geschlossen werden können.

Ergebnisse der Untersuchung zur Eignung der Kulturgefäße (KG) von „Hipp-Glas“, „Micro-Sack“ und „KS-Dose“ – V2

Die Untersuchungen wurden mit Pflanzen der Sorte 'TR', welche sich schon seit mehreren Monaten in Kultur befanden, durchgeführt und beziehen sich auf die Parameter Vermehrungsrate und Qualität (Seitentriebbildung, Nodienbildung und Sprossgröße). Die Kultivierung erfolgte bei normalen Kulturbedingungen, die Auswertungen erfolgten nach fünf und nach sieben Wochen ohne Öffnen der Kulturen oder Umlagerung. Eingesetzt wurden folgende Versuchsgruppen (Tab. 19):

Tab. 19:

V2 Verwendete Kulturgefäße (KG) und Angaben zur Mediummenge und Pflanzenanzahl pro KG, Gesamtanzahl der einzelnen KG und Pflanzenanzahl je Versuchsgruppe.

Kulturgefäß (KG)	Mediummenge [ml] / KG	Pflanzenanzahl / KG	Stück KG	Pflanzen (n)
Hipp-Glas (Hipp)	40	3	20	60
KS-Dosen (Dose)	180	10	6	60
M-Sack (Sack)	140	10	4	40

In Abb. 58 ist die Anzahl der Sprossspitzen (inkl. der ursprünglichen Sprossspitzen-Anzahl) nach Kultivierungsdauern von fünf und sieben Wochen dargestellt. Nach fünf Wochen zeigte sich, dass im KG „Dose“ die höchste Anzahl von Seitentrieben gebildet wurde. Nach sieben Wochen zeigte sich, dass die Anzahl der Seitentriebe im KG „Dose“ gleich blieb, die Anzahl der Seitentriebe im KG „Sack“ jedoch verdoppelt war und damit den höchsten Wert aller Varianten aufwies. Bei beiden Untersuchungen wies das KG „Hipp“ die niedrigsten Werte aus.

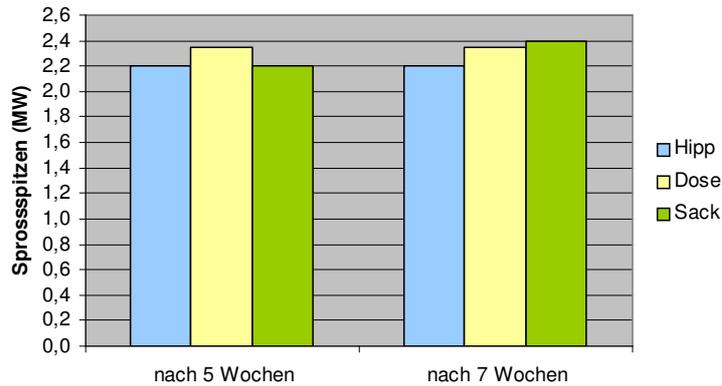


Abb. 58:
V2 Anzahl der Sprossspitzen (\bar{x} , inkl. der ursprünglich umgelagerten Sprossspitzen) nach fünf und sieben Wochen.

Weiters wurde in dieser Untersuchung die Nodienbildung erhoben. In Abb 59 ist die Nodienbildung (auch die ursprünglichen drei Nodien wurden mitgezählt) nach einer Kulturdauer von fünf und sieben Wochen dargestellt.

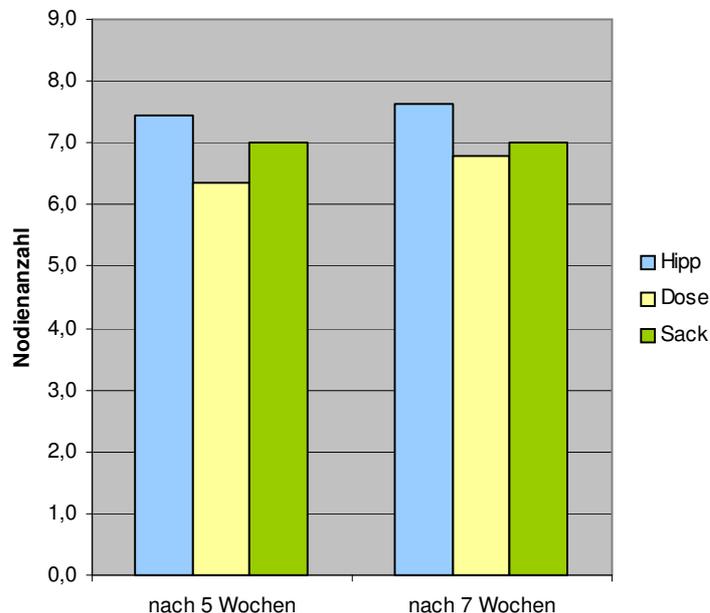


Abb. 59:
V2 Anzahl der gebildeten Nodien (\bar{x} , inkl. der ursprünglichen drei Nodien) nach fünf und sieben Wochen.

Nach 5 Wochen zeigten sich minimale Unterschiede zwischen den eingesetzten Kulturgefäßen, wobei die Werte im Bereich von ca. 6,4 Nodien je Pflanze und ca. 7,4 Nodien je Pflanze lagen. Auch nach einer

Kulturdauer von sieben Wochen waren die Ergebnisse sowohl in Relation als auch in Absolutwerten ähnlich.

Für den Vermehrungserfolg sind sowohl die Entwicklung von Seitentrieben (zusätzliche Sprossspitzen) als auch die Ausbildung ausreichender Internodien (ausreichende Sprossgröße) wichtig. Der Längenzuwachs von 0,75 cm auf 6,0 cm bis 7,5 cm je Pflanze wird als ausreichend angesehen. In Abb. 60 wird die Sprossgröße in cm (inkl. der ursprünglichen Sprossgröße) dargestellt.

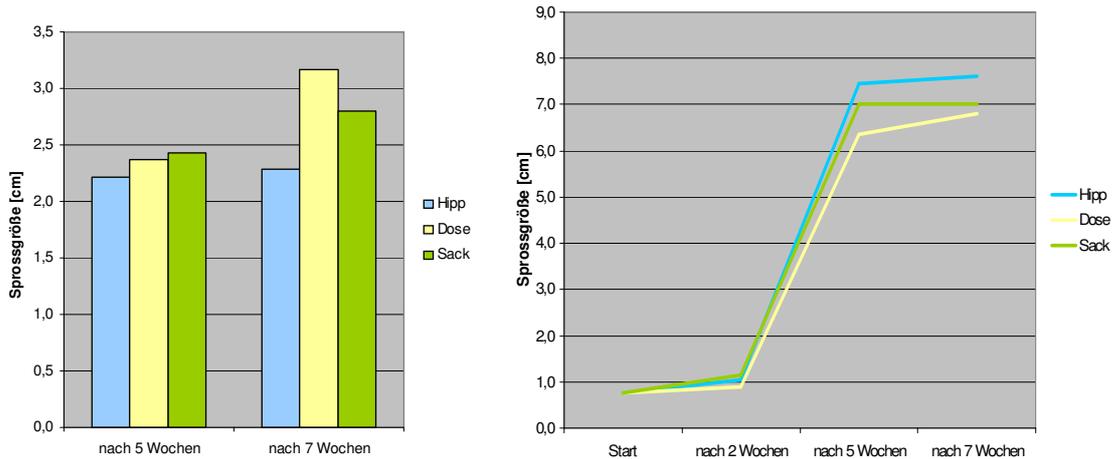


Abb. 60 (links):
V2 Sprossgröße (inkl. der urspr. Sprossgröße) (\bar{x} , cm) nach fünf und sieben Wochen.

Abb. 61 (rechts):
V2 Sprossgröße (\bar{x} , cm) im Zeitverlauf von sieben Wochen in den KG „Hipp“, „Dose“ und „Sack“.

Nach 5 Wochen zeigten sich nur minimale Unterschiede zwischen den verschiedenen Kulturgefäßen, wobei die Werte im Bereich von ca. 6,4 cm bis 7,5 cm Sprossgröße lagen. Auch nach einer Kulturdauer von 7 Wochen waren die Ergebnisse sowohl in Relation als auch in Absolutwerten ähnlich und befanden sich in einem Bereich von ca. 6,8 cm bis 7,6 cm Sprossgröße. In Abb. 61 ist die Sprossgrößen-Zunahme im Zeitverlauf von sieben Wochen in den KG „Hipp“, „Dose“ und „Sack“ dargestellt. Die starke Zunahme von der zweiten zur fünften Woche steht im Gegensatz zur geringen Änderungen der Sprossgröße der Pflanzen von der fünften zur siebenten Woche.

Anschließend wurden die drei Qualitätsparameter in einer Rangreihenfolge gegenübergestellt. Die Ergebnisse sind in Tab. 20 zusammengefasst. Als Basis für die Reihung wurden die Ergebnisse der fünften und siebenten Woche herangezogen und mit einem Gewichtungsfaktor versehen. Die Ränge wurden mit den Faktoren fünf (Rang 1), drei (Rang 2) und eins (Rang 3) gewichtet.

Tab. 20:
V2 Gewichtete Rangsummen zu den Qualitätsparametern nach fünf und sieben Wochen der Kulturgefäße „Hipp-Glas“, „KS-Dose“ und „M-Sack“.

		"Hipp-Glas"	"KS-Dose"	"M-Sack"
	Seitentriebe	1	5	3
	Nodienbildung	5	1	3
	Sprossgröße	1	3	5
Woche 5	Σ	7 (3. Rang)	9 (2. Rang)	11 (1. Rang)
	Seitentriebe	1	3	5
	Nodienbildung	5	1	3
	Sprossgröße	1	5	3
Woche 7	Σ	7 (3. Rang)	9 (2. Rang)	11 (1. Rang)

Es ergibt sich nach sieben Wochen eine Rangreihenfolge der drei Kulturgefäße zu den drei Qualitätsparametern vom KG „M-Sack“ (1. Rang) über das KG „Dose“ (2. Rang) zum dritten Rang des KG „Hipp-Glas“. Die Rangordnung der fünften Woche unterscheidet sich nicht von der Rangordnung der siebenten Woche. Ein Unterschied ist allerdings für den Qualitätsparameter „Seitentriebentwicklung“ festzustellen; der „M-Sack“ erhielt nach 7 Wochen den ersten Rang und das KG „Dose“ wurde auf den zweiten Rang zurückgedrängt. Bei Verwendung des KG „Sack“ muss bei dem Ziel einer Erhöhung der gesamten Sprossspitzenanzahl bis zur siebenten Woche zugewartet werden.

Zu den Qualitätsparametern wurde zusätzlich der Faktor „Wirtschaftlichkeit“ der Kulturgefäße für die Bewertung herangezogen. Dieser Faktor basiert auf firmeninternen Erfahrungen der Fa. Vitroplant²¹⁶.

Tab. 21:
V2 Bewertung der KG nach Qualitätsparametern und dem Faktor „Wirtschaftlichkeit“.

	"Hipp-Glas"	"KS-Dose"	"M-Sack"
Rangwerte (Qualität)	7	9	11
Wirtschaftlichkeit	1	3	5
Σ	8 (3. Rang)	12 (2. Rang)	16 (1. Rang)

Die Ergebnisse der zusammenfassenden Bewertung (Tab. 21) unter der Berücksichtigung der Wirtschaftlichkeit der Kulturgefäße differenzieren die durch die Qualitätsparameter erzeugte Rangreihenfolge: Sie verläuft vom ersten Rang des Kulturgefäßes „Micro-Sack“ (M-Sack) über den zweiten Rang des KG „Hipp-Glas“ (Hipp) zum dritten Rang des KG „KS-Dose“ (Dose).

²¹⁶ Mündl. Leonhardt, W.; Fa. Vitroplant 2005

Ergebnisse der Untersuchungen zur Eignung der Kulturgefäße (KG) „Hipp-Glas“, „Micro-Sack“ und „Epruvette“ – V11

Es werden Spitzen der Sorte 'TR' in unterschiedlichen Kulturgefäßen bezüglich ihrer Qualität bewertet. Zum Unterschied zur Versuchsanordnung in V2 wurde statt des KG „KS-Dose“ das KG „Epruvette“ (Epr.) verwendet und die verwendeten Kulturgefäße in Tab. 22 zusammengefasst. Die Sprossgröße der Explantate lag bei ca. 0,4 cm zu je vier Nodien. Die Auswertung erfolgte nach 6 Wochen ohne Öffnen der Kulturen. In den Abb. 62 bis 65 werden die Ergebnisse zusammengefasst.

Tab. 22:
V11 Verwendete Kulturgefäße (KG) und Angaben zur Mediummenge und Pflanzenanzahl pro KG, Gesamtanzahl der einzelnen KG und Pflanzenanzahl je Versuchsgruppe.

Kulturgefäß	Mediummenge [ml] / KG	Pflanzenanzahl / KG	Stück KG	Pflanzen (n)
Hipp-Glas (Hipp)	40	3	20	96
Epruvette (Epr.)	12	1	32	32
M-Sack (Sack)	140	10	3	30

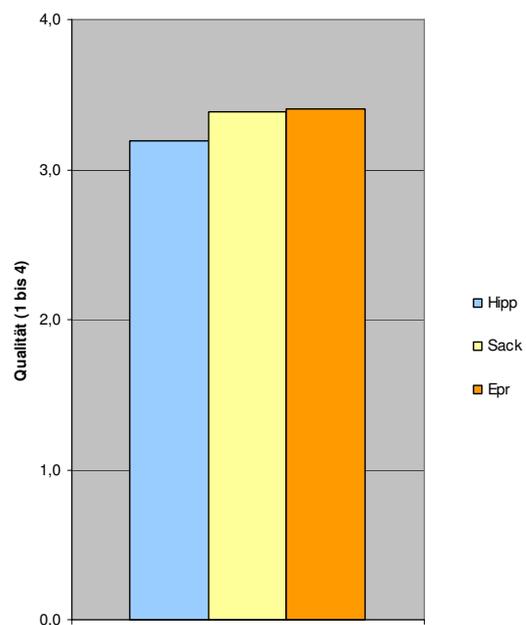
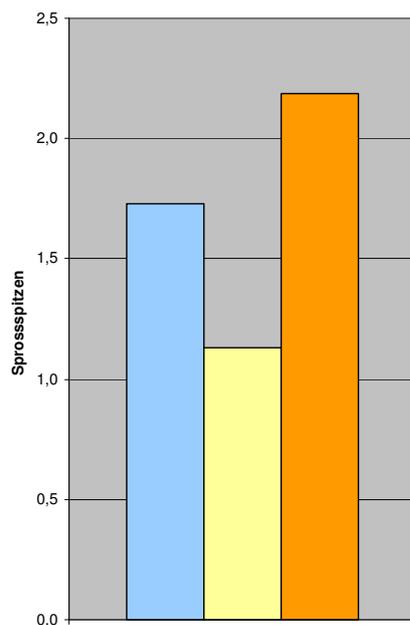
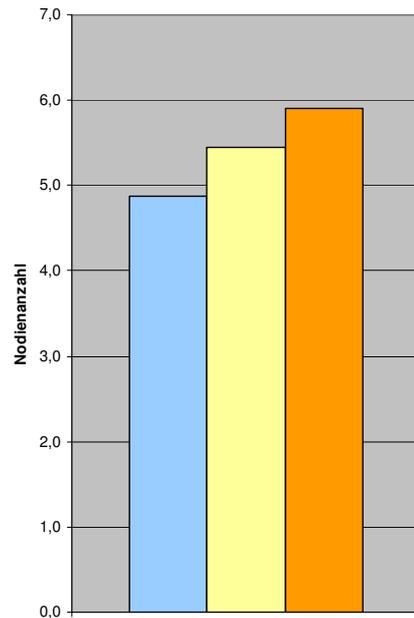
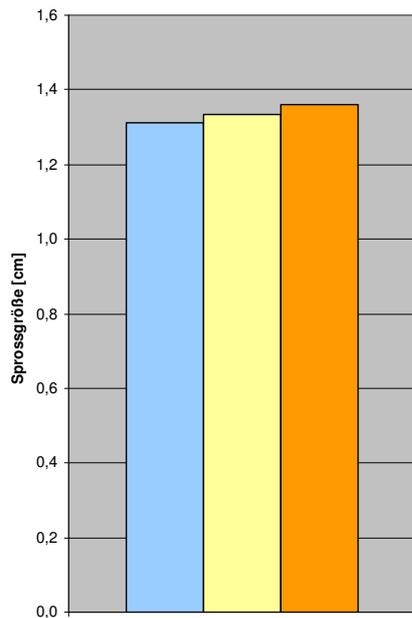


Abb. 62 (oben, links):
V11 Sprossgröße (\bar{x} , cm) (inkl. der urspr. Sprossgröße) nach sechs Wochen.

Abb. 63 (oben, rechts):
V11 Nodienanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Nodienanzahl) nach sechs Wochen.

Abb. 64 (unten, links):
V11 Sprosspitzenanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Sprosspitzen) nach sechs Wochen.

Abb. 65 (unten, rechts):
V11 Qualität (Gesamteindruck bei der visuellen Bonitur) (1-4) der Pflanzen nach sechs Wochen in den unterschiedlichen KG „Hipp“, „Sack“ und „Eprouvette“.

Die Triebspitzenentwicklung verlief in den drei Kulturgefäßen unterschiedlich. Das KG „Epruvette“ führten im Mittel zu einem Ergebnis von einer zusätzlichen Triebspitze pro Pflanze. Die Verwendung vom KG „Hipp-Glas“ führte zu 0,73 zusätzlichen Spitzen und die Verwendung vom KG „M-Sack“ nur zu 0,13 neu gebildeten Spitzen.

Bei der Auswertung der Ergebnisse zeigte sich im arithmetischen Mittel ein Zuwachs pro Pflanze von ca. 1 bis maximal 2 Nodien. Deutlich ist auch hier der Unterschied zwischen den drei Kulturgefäßen mit einer Reihenfolge vom KG „Hipp“, über das KG „M-Sack“ zu den besten Ergebnissen im KG „Epruvette“ zu verzeichnen.

Die Sprossgröße der Explantate konnte eine Entwicklung von 0,4 cm bei der Umlagerung auf mindestens 1,3 cm bei allen Versuchsgruppen nach 6 Wochen aufweisen. Geringe Unterschiede in den Ergebnissen zeigen sich vom KG „Hipp-Glas“, über das KG „M-Sack“ zu den besten Ergebnissen im KG „Epruvette“.

Im Vergleich liegt das KG „M-Sack“, bezogen auf Sprossgröße und Nodienzuwachs im Mittelfeld, unterliegt jedoch weit im Bezug auf die Seitentriebentwicklung. Die Ergebnisse des Kulturgefäßes Hipp liegen unter denen der anderen und nur die Epruvette scheint, was die Größe und die Entwicklung anbelangt, entsprechend.

Erhoben wurde die Qualität der Explantate als Gesamteindruck der Pflanzen bzgl. der Vitalität und der Farbe des Gewebes. Bonitiert wurde in grüne, vitale Pflanzen (vier), leicht veränderte, durch ausgebleichte oder nekrotische Gewebeteile (drei), zum Großteil veränderte Pflanzen (zwei) und abgestorbene Pflanzen (eins). Bezogen auf die Qualität der Pflanzen schneidet das KG „Epruvette“ mit im Mittel einem Boniturwert von 3,41 am Besten ab, anschließend konnte das KG „M-Sack“ mit einem Boniturwert von 3,39 bewertet werden.

4.2.2 Einfluss der Medienzusammensetzung und Medienzusätzen auf die Multiplikation

4.2.2.1 Einfluss von Putrescin – V6

Spitzen mit maximal 3 Nodien der Sorte ‘TR’ wurden in zwei verschiedenen Medien (Tab. 23) im KG „Hipp-Glas“ getestet. Die Kultivierung erfolgte unter Normalbedingungen und die Auswertungen erfolgten nach 12 Wochen nach der Umlagerung.

Tab. 23:
V6 Medienzusammensetzung

Med. 697	Med. 686 + 200 mg l ⁻¹ Sequestren + 0,2 mM l ⁻¹ Putrescin
Med. 698	Med. 686 + 200 mg l ⁻¹ Sequestren

Die Bonitur erfolgte anhand der Parameter Sprossgröße in cm, Nodienanzahl und Seitentriebzunahme als Stückzahl und ist in den Abb. 66 bis 69 als arithmetisches Mittel dargestellt.

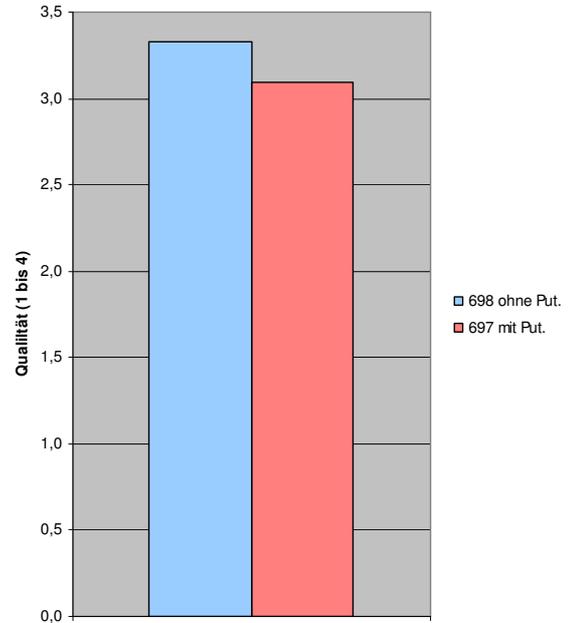
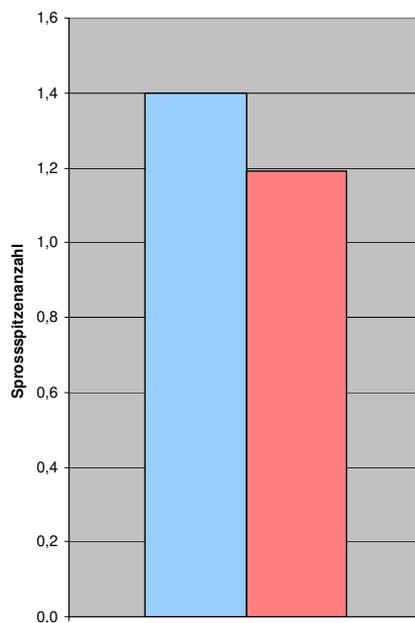
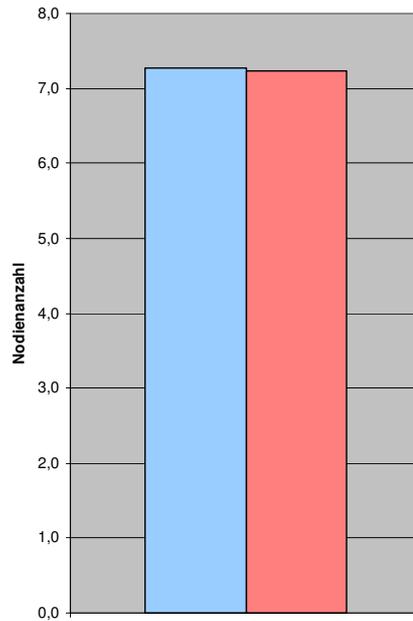
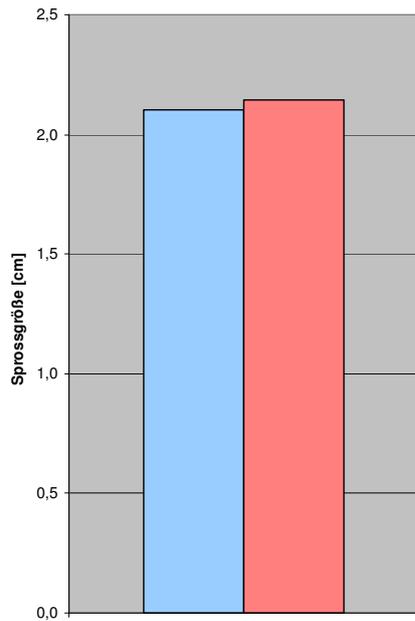


Abb. 66 (oben, links):
V11 Sprossgröße (\bar{x} , cm) (inkl. der urspr. Sprossgröße) nach zwölf Wochen.

Abb. 67 (oben, rechts):
V11 Nodienanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Nodienanzahl) nach zwölf Wochen.

Abb. 68 (unten, links):
V11 Sprossspitzenanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Sprossspitzen) nach zwölf Wochen.

Abb. 69 (unten, rechts):
V11 Qualität (Gesamteindruck bei der visuellen Bonitur) (1-4) der Pflanzen nach zwölf Wochen in Medium mit und ohne Putrescin.

Die Auswertung nach zwölf Wochen der Versuchsgruppe (VG) „Medium 697 mit Putrescin“ ergaben nur bei der Sprossgröße bessere Ergebnisse als bei der Versuchsgruppe „Medium 698 ohne Putrescin“. Die Entwicklung von weiteren Nodien oder von Seitentrieben der VG „Medium 697 mit Putrescin“ lag unterhalb der Ergebnisse von der Versuchsgruppe „Medium 698 ohne Putrescin“. Die Pflanzen vollzogen nur Streckungswachstum und keinen vermehrungstechnisch günstigen Zugewinn von Nodien oder Seitentrieben.

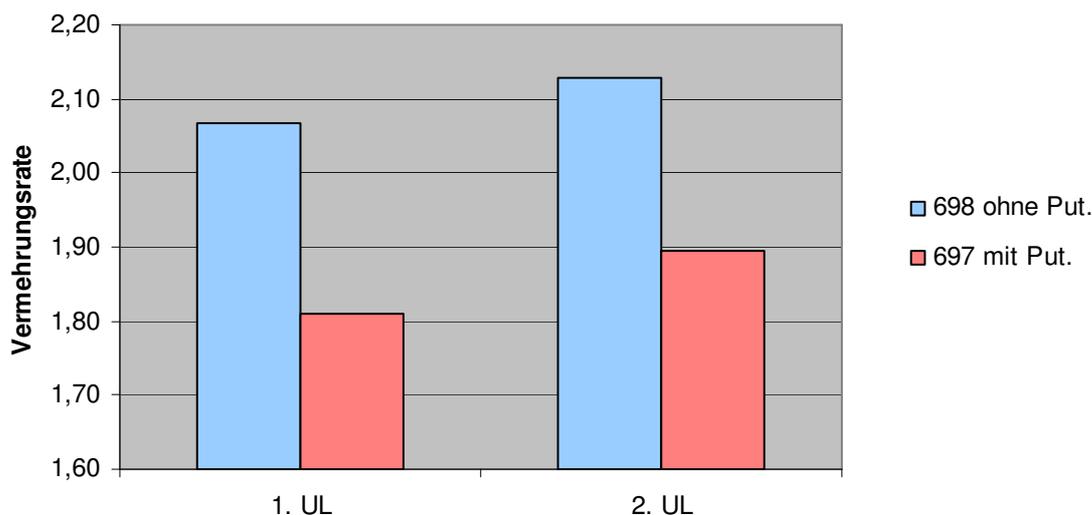


Abb. 70:
Vermehrungsrate unter Einfluss von Putrescin als Mediumzusatz bei der Sorte 'TR'.

Die in Abb. 70 zusammengefassten Ergebnisse der Vermehrungsrate zeigen zwei Umlagerungen (zwölf und zehn Wochen Kultivierungsdauer). An den niedrigeren Vermehrungsraten der VG „Medium 697 mit Putrescin“ ist die deutlich schlechtere Konstitution der Pflanzen zu erkennen. Ab der zweiten Umlagerung konnte eine Verbesserung der Konstitution und Entwicklung festgestellt werden. Durch die Beobachtung bei der Umlagerung ließ sich ein „Gewöhnungs-Effekt“ der Pflanzen an Putrescin erkennen und könnte zu einer Erhöhung der Vermehrungsrate nach mehrmaliger Kultivierung auf Putrescin führen.

4.2.2.2 Einfluss der Mediumzusammensetzung bei der Sorte 'TR' – V7

Verwendet wurden Spitzen mit 2 Nodien der Sorte 'TR' die sich längere Zeit in Kultur auf Medium 698 befand. Als Kulturgefäß wurden Eprouvetten mit etwa 12 ml Medium verwendet. Das Material war nicht homogen und vorher entwickelte Blätter wurden stark gekürzt. Die Zusammensetzung der Medien ist in Tab. 24 zusammengefasst.

Tab. 24:
V7 – Zusammensetzung der Medien, Wachstumsregulatoren in mg l⁻¹.

Med.	Basis	Zuckerart	Gelbildner	BAP	IAA	IBA	Zea- tin	GA3
699	molt	3% Sorb/Malt/ Sacch	B&V	1,5		0,01		0,1
698	molt	3% Sacch.	B&V	1,5		0,01		0,1
82	ms	2% Sacch.	gelrite			0,2		
93	ms	2% Sacch.	gelrite					
690	molt	3% Sacch.	gelrite				0,1	0,5
690 B&V	molt	3% Sacch.	B&V				0,1	0,5
684	ms	3% Sacch.	gelrite					0,5
82 MZ	ms	2% Sacch.	merck			0,2	0,2	
695	ms	2% Sacch.	merck	1	0,1			

Die Kultur wurde unter Normalbedingungen geführt und es erfolgten zwei Auswertungen nach 10 bzw. nach einer Umlagerung auf das gleiche Medium nach weiteren neun Wochen.

In Abb. 71 wurden die Ergebnisse des Nodienzuwachses in Abhängigkeit vom verwendeten Medium nach 10 Wochen dargestellt. Beste Ergebnisse mit einem Zuwachs von im Mittel acht Nodien je Pflanze zeigen die Medien der Moltbasis 698 und 699. Niedriger liegen die Ergebnisse von den Medien 690 B&V und 695. Pflanzen auf dem Medium 690, 82, 93 und 82 MZ zeigen geringe Zuwächse bis maximal einem Nodium. Pflanzen auf Medium 684 zeigten keinerlei zusätzliche Nodienbildung.

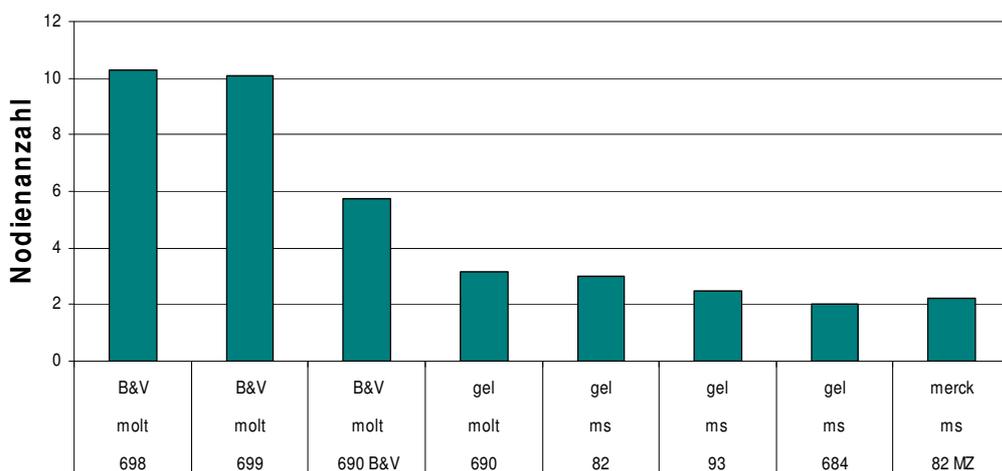


Abb. 71:
V7 Nodienzuwachs (\bar{x} , inkl. ursprünglich zwei Nodien) auf unterschiedlichen Medien.

Abb. 72 und 73 zeigen die Pflanzen nach 8 Wochen auf dem Medium 82 und Medium 82 MZ. Das Gewebe ist nekrotisch mit Kalluswucherungen oder ohne sichtbare Entwicklung. Pflanzen auf Medium 695 (Abb. 72) zeigten zwar die Ausbildung neuer Nodien, entsprachen jedoch nicht

hinsichtlich der Qualität. Die Pflanzen waren hell, ausgebleichen und wirkten insgesamt schwach in ihrer Vitalität.



Abb. 72 (links):
V7 Pflanze mit Kalluswucherung der Sorte 'TR' in Medium 82.

Abb. 73 (Mitte):
V7 Pflanze ohne Entwicklung der Sorte 'TR' in Medium 82 MZ.

Abb. 74 (rechts):
V7 Pflanze schlechter Konstitution der Sorte 'TR' in Medium 695.

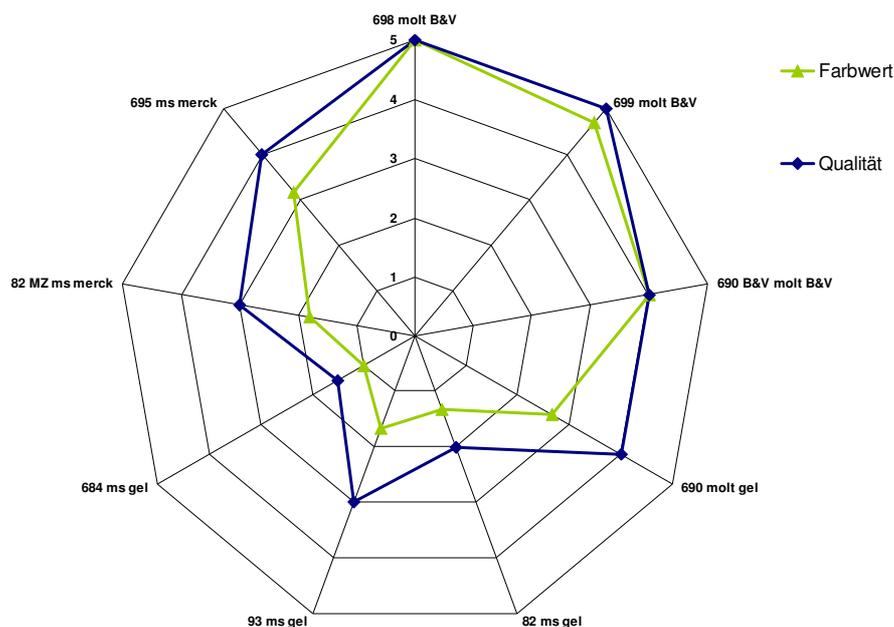


Abb. 75:
V7 Qualität und Farbwerte (\bar{x}) der Sorte 'TR' auf unterschiedlichen Medien.

Die Bonitur der Qualität berücksichtigt die Gesamtkonstitution der Pflanzen. 5 entspricht einer vitalen Pflanze und 1 steht für eine Pflanze mit nekrotischem, totem Gewebe, dem zufolge einem geringen Vermehrungspotentials. Die Bonitur des Farbwertes wurde anhand einer fünfteiligen Skala durchgeführt, 5 entspricht grünem Pflanzengewebe, 0 steht für braunes, nekrotisches Gewebe. Die Ergebnisse nach 10 Wochen wurden in einem Netzdiagramm (Abb. 75) zusammengefasst.

Die Ergebnisse können in drei Gruppen zusammengefasst werden. Die erste Gruppe beinhaltet Pflanzen hoher Qualität und guter Farbwerte (Pflanzen auf Medium 690 B&V, 698, 699), die zweite Gruppe beinhaltet Pflanzen mit Boniturwerten der Qualität zwischen drei und vier und mit Farbwerten zwischen zwei und drei (Pflanzen auf Medium 690 und 695, die VG 82 MZ befindet sich zwar innerhalb der Qualitätswerte, jedoch außerhalb der erforderlichen Farbwerte). Pflanzen der dritten Gruppe erreichten eine maximale Qualität von drei und Farbwerte unter zwei (VG Medium 82, 93 und 684).

Die in Abb 76 und 77 dargestellten Pflanzen (Gruppe 3) zeigen einerseits den geringen Nodienzuwachs, andererseits die niedrige Qualität. Die Pflanzen der Gruppe 3 waren für die geplante Vermehrung ungeeignet. Medium 684 führte zu Pflanzen mit langen Internodien, schwacher Konstitution und Apikalnekrosen. Medium 93 führte zu Pflanze ohne sichtbarer Veränderung und Entwicklung, zum Teil konnten auf bei diesem Medium Nekrosen festgestellt werden. In Medium 690 gezogenen Pflanzen (Gruppe 2, Abb. 78) zeigten eine abnehmende Qualität in den beiden Boniturterminen. Auch die Nodienbildung war auf Medium 690 gering.



Abb. 76 (links):
V7 Nekrotische Pflanze der Sorte 'TR' in Medium 684.

Abb. 77 (Mitte):
V7 Pflanze ohne sichtbarer Veränderung seit der Umlagerung der Sorte 'TR' in Medium 93.

Abb. 78 (rechts):
V7 Pflanze der Sorte 'TR' in Medium 690 mit schwacher Konstitution.

Zu bemerken ist, dass die der ersten Gruppen zugehörigen Pflanzen alle auf Medien der Basis „Molt“ kultiviert wurden. Die in Abb. 79 und 80 dargestellten Pflanzen zeigen im Mittel 8 zusätzliche Nodien, starke Konstitution, keine Nekrosen und eine vitale Ausfärbung. Zusätzlich konnte auch die Ausbildung von Seitentrieben festgestellt werden.

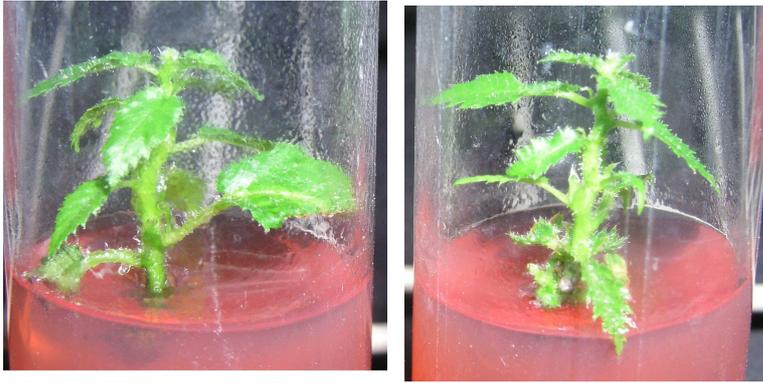


Abb. 79 (links):
V7 Vitale, kräftige Pflanze der Sorte 'TR' in Medium 698.

Abb. 80 (rechts):
V7 Vitale, kräftige Pflanze der Sorte 'TR' in Medium 699.

Hinsichtlich der Vermehrungsrate (Abb. 81) konnte eine ähnliche Gruppierung der Versuchsgruppen der verschiedenen Medien festgestellt werden.

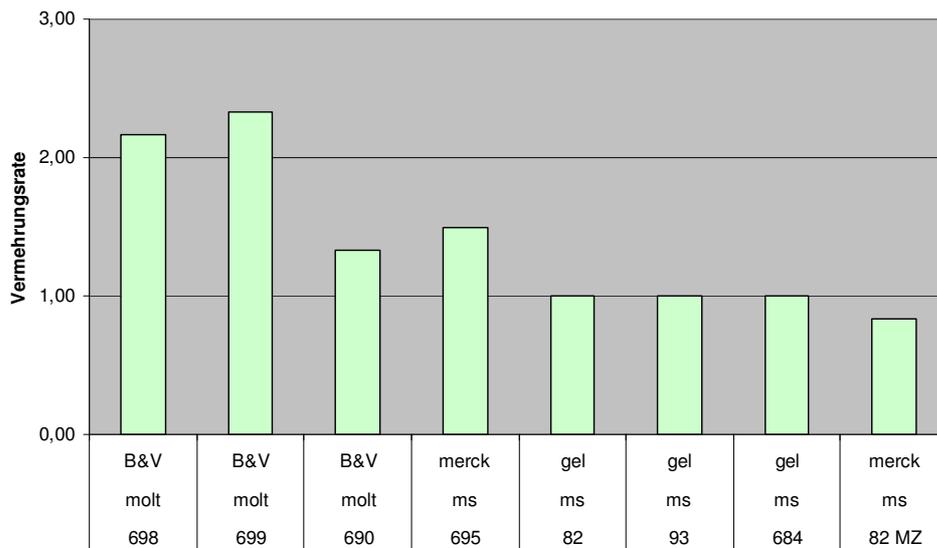


Abb. 81:
Vermehrungsrate auf unterschiedlichen Medien.

4.2.2.3 Einfluss der Zuckerart auf die Sprossgröße und Entwicklung von Seitentrieben – V12

Die Untersuchungen der verschiedenen Medien in V7 zeigten gering bessere Ergebnisse bei einer Kombination des Disaccharids Saccarose, des Monosaccharids Maltose und des Zuckeralkohols Sorbit im Medium im Gegensatz zur Verwendung von Saccharose allein als Zuckerart. Dieser Einfluss wird an Pflanzen verschiedener Sorten ('TR', 'En', 'But', 'E-104', 'lo', 'Tgdl') überprüft. Die Kultivierung erfolgte unter

Normalbedingungen im KG „Eprovette“ mit etwa 12 ml Medium. Die Auswertungen erfolgte nach 40 Tagen und beinhaltet die Sprossgröße, die Ausbildung von Seitentrieben und die Entwicklung zusätzlicher Nodien. Aufgrund der Inhomogenität des Pflanzenmaterials (unterschiedliche vorhergehende Kultivierungszeiträume der verschiedenen Sorten) waren die Unterschiede zwischen den Sorten größer als innerhalb der Zuckerkombinationen. Die Stichprobengröße der verschiedenen Sorten war sehr gering (Tab. 17).

Die Ergebnisse der Sprossgröße werden in Abb. 82 zusammengefasst. Die Sorte 'TR', die sich schon länger in Kultur befand, zeigte gutes Wachstum und schöne Entwicklung auf beiden Medien. Das geringfügig bessere Ergebnis bei Pflanzen auf Medium 699 bestätigen auch die Ergebnisse aus V7 und konnten auch in geringem Maße bei der Sorte En festgestellt werden. Die Sorten 'But', 'E-104' und 'lo' zeigten keinerlei Unterschiede in der Sprossgröße durch unterschiedliche Zuckerkombinationen im Medium, wobei die Absolutbetrag sehr klein war. Die Sorte 'TgdL' wiederum zeigte nur auf Medium 698 Wachstum, auf Medium 699 bleibt die Sorte 'TgdL' in der Entwicklung sehr zurück.

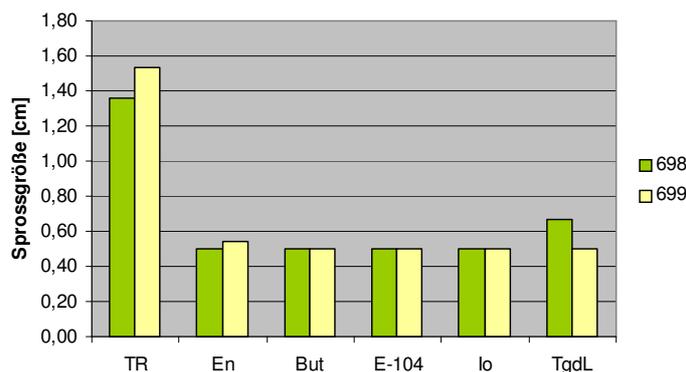


Abb. 82:
V12 Sprossgröße (\bar{x} , cm) in Abhängigkeit von Medien mit unterschiedlicher Zuckerkombination bei unterschiedlichen Sorten.

Die Ergebnisse zur Untersuchung der Entwicklung von Seitentrieben in Abhängigkeit von der Zuckerkombination im Medium sind in Abb 83. zusammengefasst. Die schon lange in Kultur befindliche Sorte 'TR' entwickelte im arithmetischen Mittel 1,97 bzw. 2,19 Sprossspitzen (inkl. der ursprünglichen Sprossspitze) je Pflanze, wobei das Medium 698 tendenziell besser scheint. Die weiteren Sorten bildeten eher auf Medium 699 als auf Medium 698 Seitentriebe aus, wobei die Absolutwerte zwischen einer und 2,33 Sprossspitzen je Pflanze schwanken. Die Sorte 'TgdL' entwickelte auf doppelt so viele Seitentrieben auf 699 als auf 698 aus. Bei den Sorten 'But' und 'E-104' konnte keine Seitentriebbildung festgestellt werden.

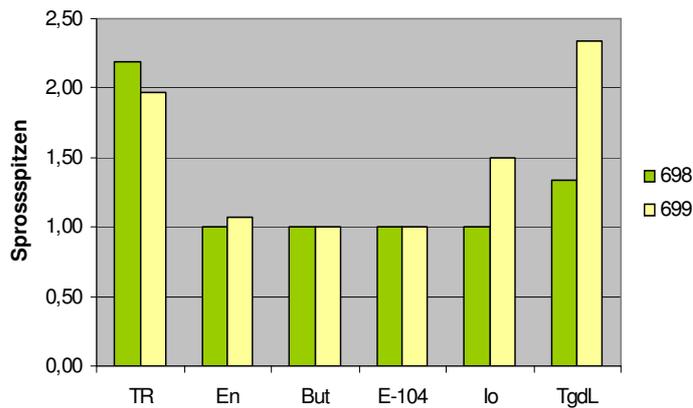


Abb. 83:
V12 Anzahl der Sprossspitzen (\bar{x}) in Abhängigkeit von Medien mit unterschiedlicher Zuckerkombination bei unterschiedlichen Sorten.

Die Ergebnisse zur Untersuchung der Nodienbildung in Abhängigkeit von der Zuckerkombination in Medien sind in Abb. 84 zusammengefasst. Der deutliche Zugewinn an Nodien bei der Sorte 'TR' von ursprünglich drei auf im Mittel sechs Nodien pro Pflanze konnte auf beiden Medien festgestellt werden. Die Sorten 'En', 'But' und 'E-104' zeigten keinen Zuwachs. Nur sehr wenige zusätzliche Nodien konnten bei den Sorten 'lo' und 'TgdL' festgestellt werden.

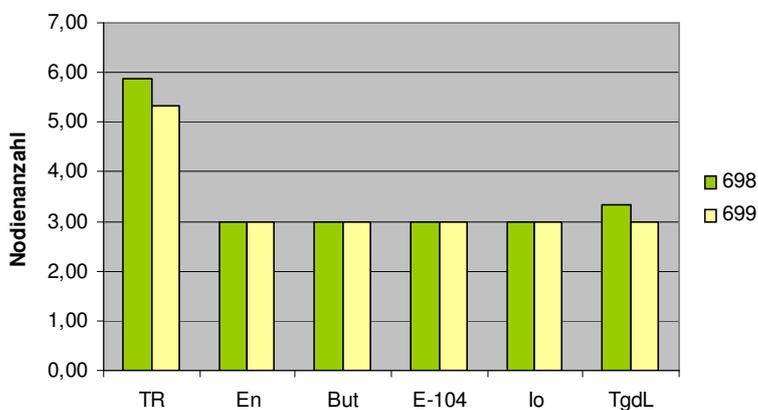


Abb. 84:
V12 Anzahl der Nodien (\bar{x}) in Abhängigkeit von Medien mit unterschiedlicher Zuckerkombination bei unterschiedlichen Sorten.

Die Ergebnisse müssen unter der Einschränkung einer geringen Stichprobenmenge bei einigen Sorten relativierend betrachtet werden.

4.2.3 Einfluss der Art des Vermehrungsmaterials (VM) – V14

In der Gewebekultur sind die Vermehrung aus Spitzen und auch die Verwertung von Nodien und einfachen Gewebestücken sinnvoll. Die Kultivierung der Sorte 'RL' erfolgte im KG „Hipp-Glas“ mit etwa 40 ml Medium unter Normalbedingungen. Eingesetzt wurden Spitzen und Nodien mit und ohne Kallusanteil. Bonitiert wurden die Sprossgröße in cm je Pflanze, Nodien- und Seitentriebbildung als durchschnittliche, gezählte Anzahl je Pflanze und die Qualität auf einer Skala von 1, als wenig vital und nekrotisch bis 4 als grüne, vitale Pflanze. Die Auswertung erfolgte nach 6 Wochen, die Ergebnisse wurden in den Abb. 85 bis 88 zusammengefasst.

Die Mittelwerte der Pflanzen der vier Versuchsgruppe zeigen im Vergleich differierende Ergebnisse. Die Ergebnisse des VM „Spitzen mit (Sp+) und ohne (Sp-) Kallusanteil“, sowie das VM „Nodien mit Kallusanteil (N+)“ können oberflächlich in eine Gruppe zusammengefasst werden, das VM „Nodien ohne Kallusanteil (N-)“ stellt eine weitere Gruppe dar.

Die Ergebnisse hinsichtlich der Sprossgröße reihten das VM von jenen mit Kallusanteil (Sp+ und N+), über das VM „Spitzen ohne Kallusanteil (Sp-)“ zu den schlechtesten Ergebnissen mit im Mittel nur halb so großer Sprossgröße im Vergleich zu den anderen Vermehrungsmaterialien beim VM „Nodien ohne Kallusanteil (N-)“. Die Ergebnisse hinsichtlich der Nodienanzahl pro Pflanze zeigten eine ähnliche Abstufung. Die Ergebnisse hinsichtlich der Sprossspitzen, also der Zugewinn an Seitentrieben zur ursprünglichen Sprossspitze, zeigen ein verändertes Bild und reihten das VM „Nodie mit Kallusanteil“ mit fast 3,5 Sprossspitzen pro Pflanze deutlich an die erste Stelle, über das VM „Spitze ohne Kallusanteil“ mit über drei Sprossspitzen und das VM „Spitze mit Kallusanteil“ mit über 2,5 Sprossspitzen zum VM „Nodie ohne Kallusanteil“ mit etwa einer zusätzlichen Sprossspitze.

Die Qualität der Pflanzen (Abb. 88) zeigte für die erste Gruppe von Vermehrungsmaterialien (Sp+, N+, Sp-) ähnlich hohe Boniturwerte zwischen 3,5 und 3,7; das VM „Nodien ohne Kallusanteil“ lag mit einem Wert von etwa 2,8 darunter.

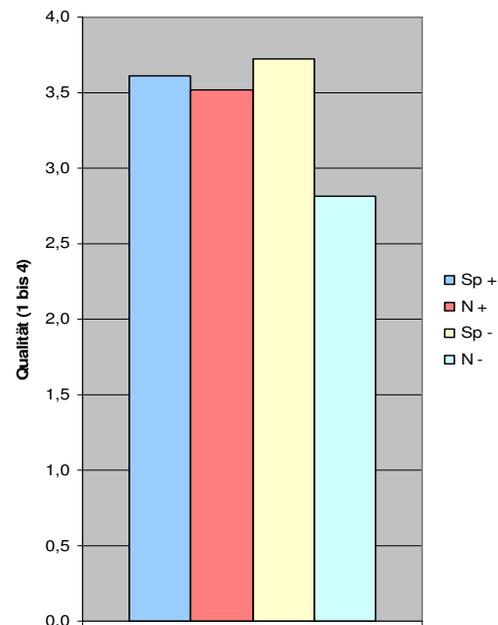
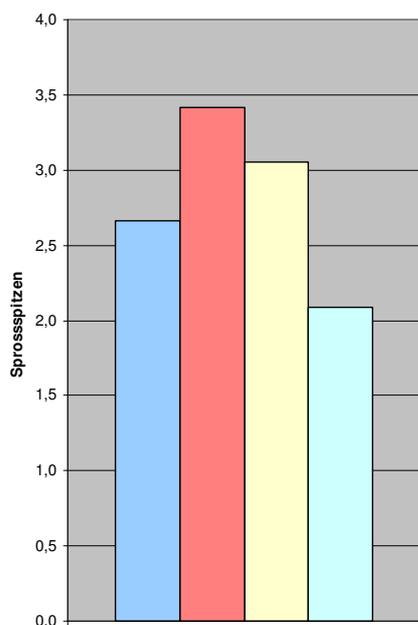
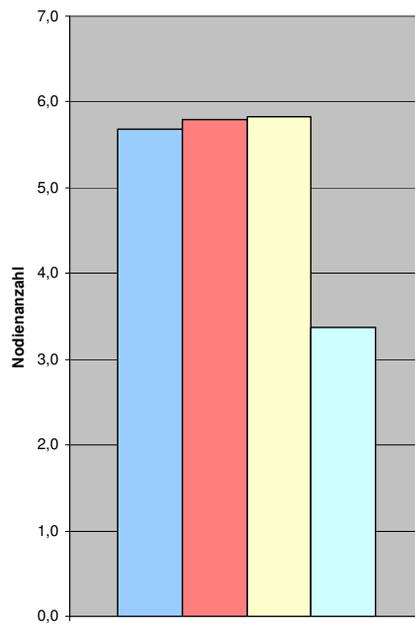
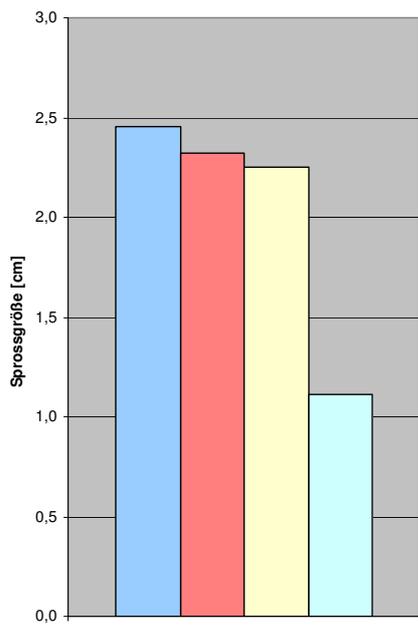


Abb. 85 (oben, links):
V14 Sprossgröße (\bar{x} , cm) (inkl. der urspr. Sprossgröße) nach sechs Wochen.

Abb. 86 (oben, rechts):
V14 Nodienanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Nodienanzahl) nach sechs Wochen.

Abb. 87 (unten, links):
V14 Sprosspitzenanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Sprosspitzen) nach sechs Wochen.

Abb. 88 (unten, rechts):
V14 Qualität (Gesamteindruck bei der visuellen Bonitur 1-4) der Pflanzen nach sechs Wochen von unterschiedlichem Vermerkungsmaterial (Spitzen mit und ohne Kallus, N mit und ohne Kallus).

Die Vermehrungsrate ist das Verhältnis zwischen den Summen der produzierten Pflanzen und der Anzahl der für die Vermehrung vorgesehenen Pflanzen. Die Vermehrungsrate bei 'RL' (Abb. 89) zeigte, dass dem VM „Spitzen ohne Kallusanteil“ und das Anschneiden des VM „Nodien bzw. Spitzen mit Callus“ bei der Vermehrung höhere Raten (VR zwischen 2,9 und 3,2) erzielte, als die Produktion aus dem VM „Nodien ohne Kallus“ mit einer VR bei 2,3.

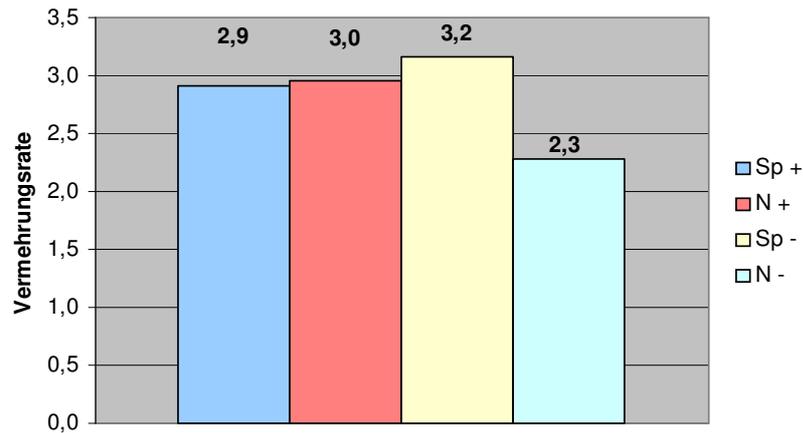


Abb. 89:
V14 Einfluss des Vermehrungsmaterials auf die Vermehrungsrate (VR) bei der Sorte 'RL'.



Abb. 90:
V14 Pflanzen der Sorte 'RL' im Kulturgefäß „M-Sack“ (Medium 698) nach 1 Woche Kultivierungsdauer des Vermehrungsmaterials „Spitzen mit Kallusanteil“.



Abb. 91:
V14 Pflanzen der Sorte Sorte 'RL' im Kulturgefäß „M-Sack“ (Medium 698) nach 4 Wochen Kultivierungsdauer des Vermehrungsmaterials „Spitze ohne Kallus“.

4.3 Sterile Bewurzelung der vermehrten Kulturen von *Corylus sp.*

Die Produktion von Pflanzen mit Hilfe der Gewebekultur beinhaltet die Bewurzelung. Der Einfluss der Mediumzusammensetzung wurde hinsichtlich ihrer Auswirkung auf die Vitalität der Pflanzen, die Bewurzelungsrate (Anzahl der bewurzelten Pflanzen in %), deren im Mittel gebildete Wurzelanzahl und die Länge der längsten Wurzel der bewurzelten Pflanzen an verschiedenen Sorten (V10: 'TR', V17: 'TR', 'RL', 'Id') untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. 25 zusammengefasst.

Tab. 25:
Ergebnisse der Bewurzelungsphase für die Versuchskodes V10, V17.

Versuchs- kode	Versuchs- gruppen		n	Bew. Pflanzen BR [%]	Vitalität der Pflanze*		Wurzel- anzahl		Längste Wurzel** [cm]	
					\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
V10	'TR'	513	15	20	2,00	0,93	2,0	0,80	2,33	1,53
		474	15	13	2,67	1,23	1,5	0,53	3,50	3,54
V17	'Id'	705	15	100	3,07	0,70	7,20	3,45	1,20	0,63
		706	15	33	3,4	1,34	2,20	1,10	0,52	0,44
	'RL'	705	27	100	3,44	0,80	9,48	2,08	2,04	1,27
		706	27	67	3,67	0,60	2,72	1,78	1,40	1,21
	'TR'	705	60	93	3,68	0,07	8,07	1,51	1,30	0,26
		706	60	72	3,88	0,03	2,37	0,37	0,75	0,15

* Die Bonitur der Vitalität erfolgte nach einer vierteiligen Skala die jener der Vermehrungsphase entsprach.

** Berechnet als das arithmetische Mittel aus der jeweils längsten Wurzel aller bewurzelten Pflanzen.

4.3.1 Bewurzelungserfolg mit den Medien 513 und 474 bei der Sorte 'TR' – V10

In den Untersuchungen V10 wurden die Medien 513 und 474 verglichen, die beiden unterschiedlichen Bewurzelungsmedien kommen in der Fa.Vitroplant bei anderen Kulturen erfolgreich zum Einsatz. Kultiviert wurden Spitzen mit 3 bis 5 Nodien unter Normalbedingungen. Die Auswertung erfolgte nach 6 Wochen ohne Öffnen der Kultur. Die Ergebnisse werden in den Abb. 92 bis 95 zusammengefasst.

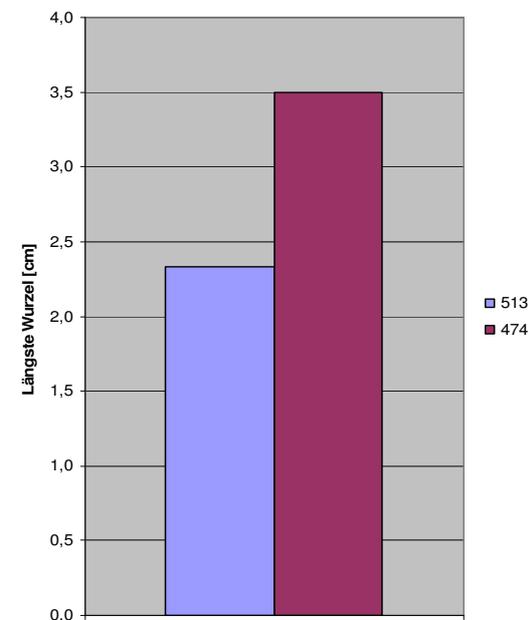
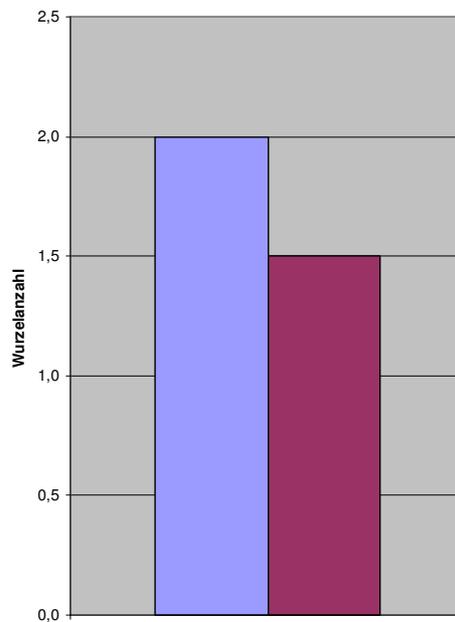
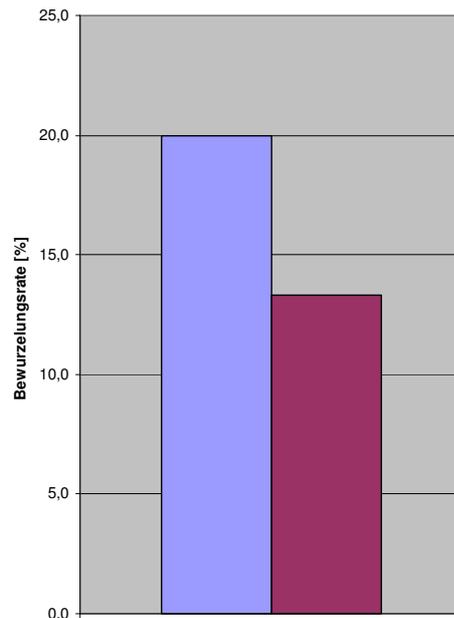
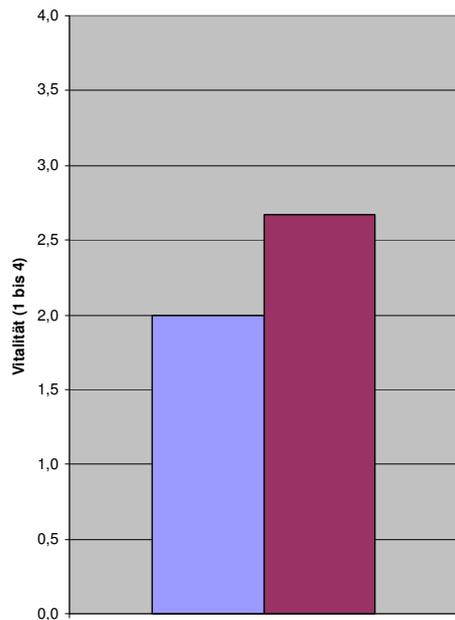


Abb. 92 (oben, links):
V10 Vitalität (1-4) der Sorte 'TR' nach der Bewurzelung auf den Medien 513 und 474.

Abb. 93 (oben, rechts):
V10 Bewurzelungsraten (%) der Sorte 'TR' nach der Bewurzelung auf den Medien 513 und 474.

Abb. 94 (unten, links):
V10 Gebildete Wurzelanzahl (\bar{x}) pro Pflanze aller bewurzelter Pflanzen der Sorte 'TR' nach der Bewurzelung auf den Medien 513 und 474.

Abb. 95 (unten, rechts):
V10 Längste Wurzel (\bar{x}) pro Pflanze aller bewurzelter Pflanzen nach der Bewurzelung auf den Medien 513 und 474.

Die Vitalität der Pflanzen lag bei den verwendeten Medien bei einem maximalen Wert von 2,67 bei Pflanzen die in Medium 513 gezogen wurden. Diese Werte entsprechen nicht den Anforderungen der Produktion. Der Anteil der bewurzelten Pflanzen mit nur 20 % auf Medium 513 (im Mittel 0,2 bewurzelte Pflanzen) und 13 % auf Medium 474 (im Mittel 0,13 bewurzelte Pflanzen) ist sehr gering. Die bewurzelten Pflanzen erreichten 2,0 (Med. 513) bzw. 1,5 (Med. 474) Wurzeln mit einer maximalen Länge von 2,3 bzw. 3,5 cm. Zusammenfassend ist die ungenügende Eignung dieser Medien für die Bewurzelung von *Corylus sp.* zu bemerken.

4.3.2 Bewurzelungserfolg mit den Medien 705 und 706 bei 3 Sorten – V17

Getestet wurden die Medien 705 und 706 (Tab. 26) an den Sorten 'RL', 'Id' und 'TR' unter Normalbedingungen. Die Auswertung erfolgte nach 28 Tagen hinsichtlich dem Bewurzelungserfolg und der Bewurzelungsqualität.

Tab. 26:
V10 Medienzusammensetzung

Medium	Basis	Zusätze	Gelbildner	IBA
705	Molt 1/3	+ 200 mg l ⁻¹ Sequestren®138	B&V	2 mg l ⁻¹
706	Molt 1/3	+ 200 mg l ⁻¹ Sequestren®138 + 8 g l ⁻¹ Aktivkohle	B&V	2 mg l ⁻¹

Die Vitalität der Pflanzen (Abb. 96) war bei der Verwendung des Bewurzelungsmediums 706 (mit Aktivkohle) bei allen 3 Sorten besser als bei Verwendung von Medium 705. Hinsichtlich der Bewurzelungsrate, der Wurzelanzahl und der längsten Wurzel sind die Ergebnisse bei Verwendung des Mediums 705 deutlich besser, die Ergebnisse wurden in den Abb. 97 bis 99 zusammengefasst.

Pflanzen, die auf Med. 705 bewurzelt wurden, wiesen Bewurzelungsraten zwischen 93 und 100% auf, bei Verwendung von Med. 706 lagen die Bewurzelungsraten zwischen 33 und 72%. Die im arithmetischen Mittel der drei Sorten berechnete Wurzelanzahl lag bei Med. 705 bei 8,3 Wurzeln pro bewurzelter Pflanze mit einer Länge der längsten Wurzel von 1,50 cm und bei Med. 706 bei 2,4 Wurzeln pro bewurzelter Pflanze und einer Länge der längsten Wurzel von 0,89 cm.

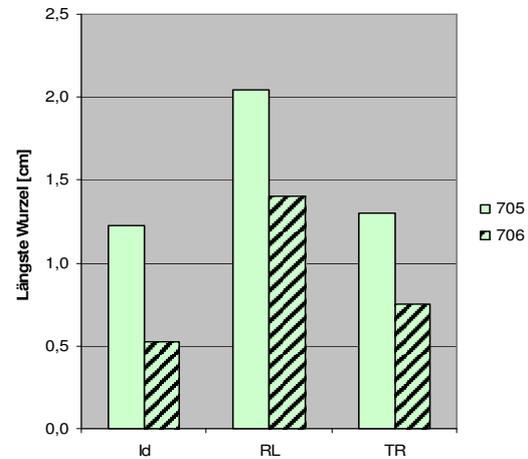
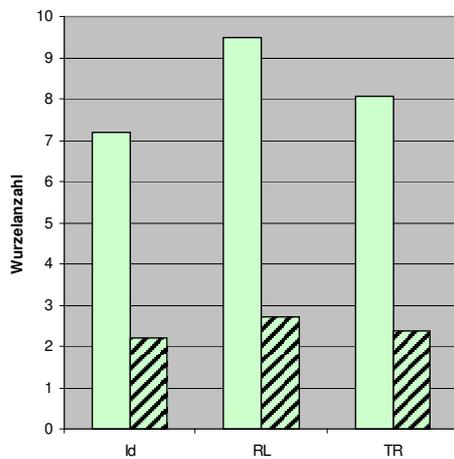
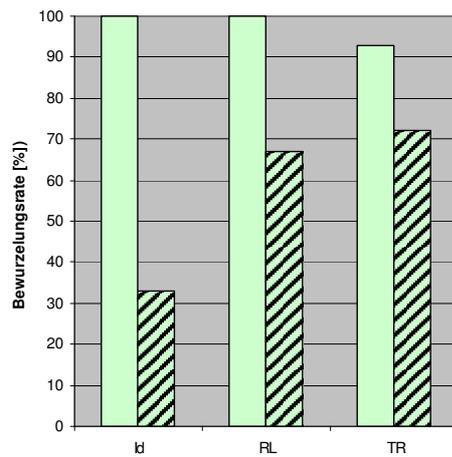
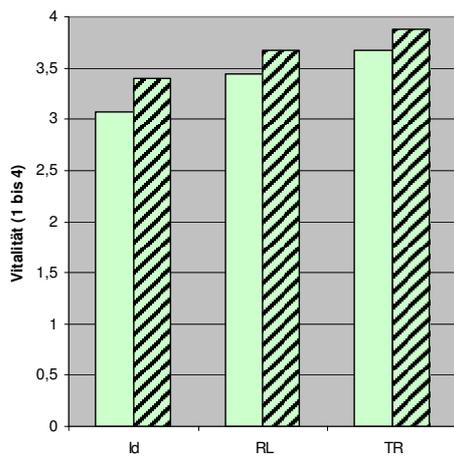


Abb. 96 (oben, links):
V17 Vitalität (1-4) von 3 Sorten nach 28 Tagen Bewurzelung auf den Medien 705 und 706.

Abb. 97 (oben, rechts):
V17 Bewurzelungsraten (%) von 3 Sorten nach 28 Tagen Bewurzelung auf den Medien 705 und 706.

Abb. 98 (unten, links):
V17 Wurzelanzahl (\bar{x}) pro Pflanze aller bewurzelter Pflanzen von 3 Sorten nach 28 Tagen Bewurzelung auf den Medien 705 und 706.

Abb. 99 (unten, rechts):
V17 Längste Wurzel (\bar{x}) pro Pflanze aller bewurzelter Pflanzen von 3 Sorten nach 28 Tagen Bewurzelung auf den Medien 705 und 706.

In den Abb. 100 bis 104 wurden Pflanzen der Sorte 'TR' und 'RL' auf und von den zwei Medien des Versuchskodes V17 im Bild dokumentiert. Die Abbildungen zeigen die Bewurzelungsergebnisse nach 28 Tagen.



Abb. 100 (links):
V17 Vitale Pflanzen der Sorte 'TR' im Med. 706.

Abb. 101 (Mitte):
V17 Bewurzelte Pflanzen der Sorte 'TR' im Med. 705.

Abb. 102 (rechts):
V17 Am Medium aufliegende Wurzeln bei Pflanzen der Sorte 'TR' auf Med. 705.



Abb. 103 (links)
V17 „Längste Wurzel“ der bewurzelten Pflanze der Sorte 'RL' von Med. 706.

Abb. 104 (rechts):
V17 Unbewurzelte Pflanzen der Sorte 'RL' von Med. 706.

Auf Basis der Ergebnisse der vorgenommenen Untersuchungen kann eine Verkürzung der Bewurzelungsdauer unter Beibehaltung der Bewurzelungsrate und Bewurzelungsqualität vermutet werden.

4.4 Ergebnisse der Akklimatisierungsphase

Pflanzen der Sorten 'RL' und 'TR' aus den Untersuchungen V17 wurden für den ersten Vorversuch zur Akklimatisierung herangezogen. Die Pflanzen wurden unter sterilen Bedingungen begutachtet und nicht bewurzelte Pflanzen angeschnitten und weiter in Bewurzelungsmedium kultiviert. Bewurzelte Pflanzen wurden in Wasser ausgewaschen, von Medienresten befreit, in Einheitserde mit Perlit pikiert und im Nebeltunnel nach beschriebener Methode (Kap. 3.10) kultiviert. Die Versuchsgruppen aus V17 (Medium 705 und 706) wurden weiterhin unterschieden. Die folgenden Abbildungen 105 bis 109 vermitteln einen Eindruck der Pflanzen und der Methode zu Beginn der Akklimatisierung.



Abb. 105:
Auswaschen der bewurzelten Pflanzen in Wasser.



Abb. 106:
Bewurzelte Pflanzen der Sorten 'TR' (oben) und 'RL' (unten) aus den Medien 705 (rechts) und 706 (links).



Abb.107 (links):
Pikieren der Versuchspflanzen aus V17.

Abb.108 (rechts):
Pikierte Pflanzen der Sorte 'TR' nach 5 Stunden.



Abb. 109:
Pflanzen zur Akklimatisierung im Nebeltunnel aus V17

5 DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurde ein praxisrelevantes Protokoll zur Etablierung und Vermehrung verschiedener Kultursorten der Haselnuss (*Corylus avellana* L.) und Baumhaselnuss (*Corylus colurna*) entwickelt. Wegen des großen wirtschaftlichen Interesses und die lange Geschichte als eine für die Ernährung relevante Pflanze sind wissenschaftliche Publikationen für viele Bereiche (traditionellen Vermehrungsverfahren, Gewebekultur und Nährstoffzusammensetzung der Kerne verschiedener Sorten) zu finden. Als Beispiel sei der Anstieg an Veröffentlichungen im Springer-Verlag 217 von 186 Publikationen in den Jahren 1990 – 1999 zu 907 Publikationen von 2000 bis heute genannt.

Basierend auf ausgewählten wissenschaftlichen Veröffentlichungen, im speziellen der Publikation von M. Damiano²¹⁸, wurde versucht, die bisherigen Erkenntnisse mit ausgewählten Sorten bzw. Arten zu bestätigen bzw. weiterzuentwickeln. Im Zuge der durchgeführten Arbeiten zeigte sich der starke Einfluss des physiologischen Zustands des Ausgangsmaterials auf den Erfolg der Kultur, der sich beginnend bei der Etablierung über die Vermehrung und Bewurzelung fortsetzte. Verschiedene Bereiche der Etablierung einer Kultur wurden untersucht, beginnend beim Einfluss durch den Termin der Reisernte und die anschließende Vorbereitung der Explantate, über die Chemikalien zur Oberflächen-Desinfektion sowie die Dauer der Behandlung bis hin zum geeigneten Etablierungs-, Vermehrungs- und Bewurzelungsmedium, durchgeführt.

5.1 Etablierungsphase

Die Etablierungsphase beinhaltet wichtige Faktoren für das Gelingen der erfolgreichen In-vitro-Kulturnahme. Art und Herkunft der Explantate beeinflussen stark die weitere Vorgehensweise. Da auch der Faktor Zeit, von Vorversuchen bis hin zum eigentlichen Produktionsstart, wirtschaftlich relevant ist, konnte die Etablierung der In-vitro-Kultur nicht über Explantate aus Samen oder von Glashaus-Individuen erfolgen, sondern musste über Explantate aus adulten Freilandpflanzen erprobter Sorten der Sortensammlung der Firma Vitroplant vorgenommen werden.

²¹⁷ Online im WWW unter der URL www.springer.com [Stand 20.03.09]

²¹⁸ Damiano et al. 2005

5.1.1 Reiserernte und Vorbehandlung der Explantate

Die einzelnen Sorten zeigten sich zum jeweiligen Termin der **Reiserernte** (Explantatentnahme) in verschiedenen Entwicklungszuständen. Der Termin wurde auf Basis der Erfahrung der Fa. Vitroplant festgelegt. Der sorteneigene Rhythmus im physiologischen Zustand, ihre Abhängigkeit von jahreszeitlichen Einflüssen und witterungsbedingten Veränderungen zeigte sich auch in den vorgenommenen Untersuchungen. Auch das Ausmaß von Kontaminationen auf der Oberfläche eines Explantates, bzw. Anfälligkeiten für Mikroorganismen und/oder Schaderreger waren different.

Die im Freiland befindlichen Pflanzen unterliegen dem natürlichen Rhythmus der Jahreszeiten, die in unserem Klima auch eine winterliche Ruheperiode beinhalten. Heimische Pflanzen müssen diese Zeit der Kälte und des limitierten Wasserangebots durch **Dormanz** überdauern. Dormanz ist die temporäre, endogen regulierte und durch die Umwelt beeinflusste Unterbrechung des Wachstums.²¹⁹ Diese ist in den ruhenden Zellen autonom manifestiert und zeigt sich in einer arttypischen Blockierung der Genaktivität, so dass keine Unterbrechung, auch unter günstigen Umweltbedingungen, stattfinden kann.²²⁰

Schwankungen verschiedener Faktoren während der Ruhephase deuten darauf hin, dass unterschiedliche Mechanismen das Austriebsverhalten der Sprossknospen während der Ruhephase steuern. Dieser Wechsel ist durch Analysen von Hormon- und Zuckerkonzentration, des Wassergehaltes in den Knospen und/oder durch Schwankungen des Nuclein- und Proteinstoffwechsel nachgewiesen worden. Die davon abgeleitete Unterteilung der Dormanz erfolgt nach Lang et al. in die Para- (mittlere Sommer- bis Wintermonate), Endo- (Induzierende Signale, wie Kälte, Photoperiode oder Lichtspektrum bewirken in dem perzipierenden Organ eine endogene Wachstumskontrolle.) und Ecodormanz (der Ruhezustand wird nur durch äußere Faktoren wie Temperaturextreme, Nährstoffmangel oder Trockenheit bestimmt, die Aufhebung erfolgt durch günstige Umweltbedingungen).²²¹

Die Dauer und die zeitliche Lage der Dormanzstadien unterscheiden sich artspezifisch²²², ihre Ausprägungen und unterschiedliche Tendenz erwiesen sich im Verlauf der Arbeiten jedoch zusätzlich auch sortenspezifisch (Kap. 4.1.6.1, Abb. 37).

Die Ergebnisse der Versuche zur Etablierung zeigten in den ersten beiden Quartalen eines Kalenderjahres deutlich bessere Resultate. Eine Erklärung könnte die sehr früh im Jahr, oft auch bei sehr geringen Temperaturen einsetzende Blühphase der Haselnuss sein. In der mitteleuropäischen Klimazone kann von einem natürlichen Überwinden der Dormanz der Blühknospen schon zu Beginn der ersten Jahreshälfte ausgegangen werden. Die Zunahme an begünstigenden

²¹⁹ Kadolsky 2007, S. 99

²²⁰ Jende 2000, S. 14

²²¹ Jende 2000, S. 14

²²² Jende 2000, S. 14

Wachstumsregulatoren wird in dieser Phase angenommen, aber trotz vieler Untersuchungen konnten bisher keine Aussagen über die physiologischen und biochemischen Prozesse, denen *Corylus* im Bezug auf Reifung, Alterung, Phasenwechsel und Rejuvenilisierung unterliegt, getroffen werden²²³. Der Zusammenhang zwischen der Etablierungsdauer und dem Zeitpunkt der Reierentnahme findet in Veröffentlichungen zur In-vitro-Vermehrung von Gehölzen selten Beachtung²²⁴.

Um den optimalen Termin für die Explantatentnahme einer Sorte einschätzen zu können, müsste auch die Herkunft der einzelnen Sorten bedacht werden, was in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht gemacht wurde. Sorten mit südlicher Herkunft zeigen oft nur kurze Endodormanz oder keine Ruheperioden²²⁵ und könnten daher auch schon früher im Jahreslauf zur Etablierung einer Kultur herangezogen werden. Sorten nördlichen Ursprungs, und damit zumeist auch längerer Endodormanzphase, können erst später im Jahr ähnliche Ergebnisse erzielen oder die Endodormanz müsste aktiv durch geeignete Methoden, wie zum Beispiel das Forcieren der Knospen an den geschnittenen Zweigen mittels Raumtemperatur (>15°C), gebrochen werden. Die Vorteile, dieses **Forcierens** und Lagerns bei Raumtemperatur liegen im Brechen der Dormanz vor der Oberflächensterilisation und Etablierung, der Entwicklung frischer und grüner Gewebeteile und einem reduzierten Auftreten von Kontaminationen.²²⁶

Diaz-Sala²²⁷ empfiehlt zur Erhöhung der Sprossbildungskapazität vor dem Forcieren der Knospen eine Lagerung der Zweige für etwa 3 Monate bei 3-5°C. In der kommerziellen Produktion der Fa. Vitroplant wurde jedoch aus Gründen der Praktikabilität darauf verzichtet. Dies trifft auch auf alle Untersuchungen dieser Arbeit zu.

Als günstigster Entnahmezeitpunkt für Gehölze wird im Allgemeinen das Ende des Winters, im Anschluss an die Winterdormanz angegeben²²⁸. Das Beenden der Dormanz und der Beginn der Entwicklungsphase müssen bei *Corylus* sp. jedoch differenziert betrachtet werden. Die Blühphase erfolgt schon zu einem sehr frühen Zeitpunkt, noch vor einem Austrieb von Blättern und Trieben und es kann daher nicht automatisch von einer sichtbaren Entwicklung (Blüte) auf das Brechen der Winterruhe geschlossen werden. Gao²²⁹ empfiehlt Mitte Mai als besten Zeitpunkt für die Entnahme von axillären Knospen zur Etablierung einer Kultur von *Corylus* sp.. Das kann durch die vorliegenden Ergebnisse bestätigt werden (Kap. 4.1.6.1).

Damiano²³⁰ verwendet auch axilläre Knospen, allerdings findet die Entnahme in der Zeit von Mai bis September statt und seine Ausführungen enthalten keine Hinweise zum Einfluss des Reisererntetermins bzw. den

²²³ Andrés, Fernández, Rodríguez R., Rodríguez, 2002

²²⁴ Kadolsky 2007, S. 100

²²⁵ Mehlenbacher 1994

²²⁶ Cassells, 1997

²²⁷ Diaz-Sala, Rey, Rodriguez, 1990

²²⁸ Cassells, 1997

²²⁹ Gao, Liu, Ling, 2008

²³⁰ Damiano et al., 2005

genauen Entnahmezeitpunkt der Explantatentnahme seiner Untersuchungen.

Der Empfehlung des Forcierens der geschnittenen Zweige in Hormonlösungen von Ericiseli²³¹ wurde in der vorliegenden Arbeit nicht gefolgt. In diesem Fall wäre die Entnahme der Triebe auch in Phasen der Dormanz und in Phasen mit geringen Erfolgsaussichten, etwa Juli bis Jänner, denkbar. Dadurch würde die Anzahl der Entnahmezeitpunkte erhöht werden.

Die **Kontaminationsrate** beeinflusst wesentlich den Erfolg der Etablierung. Zahlreiche Autoren berichten bei der Entnahme der Explantate im Freiland von einer höheren Kontaminationsrate als bei der Entnahme im Glashaus²³². Viele Autoren bevorzugen die an frischen Austrieben gebildeten „grünen Knospen“ von Glashauspflanzen nicht wegen des besseren Wachstums sondern wegen geringerer Verluste durch Kontamination.²³³

Bedingt durch die geforderte Entnahme der Explantate im Freiland, und die Untersuchungen zur Forcierung der geschnittenen Triebe (V0, V15, V20) zeigt sich die Notwendigkeit des Wissens über Einflüsse auf die Kontaminanzzahl auf der Oberfläche der Explantate. Art und Anzahl der Organismen auf der Oberfläche von Explantaten unterliegen einerseits jahreszeitlichen Schwankungen und andererseits auch der Abhängigkeit von der Witterung vor der Explantatentnahme²³⁴ und beeinflussen die Kontaminationsrate der Explantate. Erfahrungen der Firma Vitroplant lassen diesen Zusammenhang zwischen dem Witterungseinfluss, bzw. klimatischen Einfluss und der Kontaminationsrate und in Folge der Etablierungsrate vermuten. Bei Betrachtung der Temperaturabweichung vom Jahresmittel²³⁵ zeigten sich in den Jahren 2005 und 2006 tiefere Temperaturen im Februar und März als in anderen Jahren und vermutlich eine dadurch bedingte Reduktion der Kontaminanzzahl auf der Oberfläche der Explantate.

Der richtige Zeitpunkt zum Brechen der Dormanz einerseits und der Zeitpunkt der geringsten Kontaminationsrate andererseits müssen in Einklang gebracht werden und das Ergebnis bestimmt unter anderem den idealen Zeitpunkt der Explantatentnahme. Die Infektionsrate der Explantate in den durchgeführten Untersuchungen zur Etablierung (V0, V4, V15, V20) war meist sehr gering (Eine Ausnahme stellt V8 (Tab. 16, Kapitel 4.1.3, Abb. 28 und 29) dar). Erklärung für den geringen Ausfall von Explantaten durch Infektionen ist entweder eine geringe Kontamination der Explantate im Freiland selbst oder eine hoch wirksame Sterilisationsmethode.

Als größere Herausforderungen als die Kontaminationsrate erwies sich die

²³¹ Ericisli, Read, Nas, 2001

²³² Bonga & VonAderkas, 1992

²³³ Kadolsky, 2007

²³⁴ Fa. VitroPlant Leonhardt, 2005

²³⁵ ZAMG, 2008

Verbräunung. Deswegen wurde kein Augenmerk auf die Ursache der Ausfälle sondern zumeist nur auf den Grad des Gesamtausfalls gelegt. Die Ergebnisse zeigten die beste Etablierung im 2. Quartal (Untersuchung V4, Mai, Sorte 'Istrska okrogloplodna' mit kroatischer Herkunft) (Kap. 4.1.2, Abb. 36, Kap. 4.1.6.1, Abb. 45 und 46). Dieses Ergebnis bestätigt die Vermutung einer positiven Beeinflussung der Anzahl der etablierten Explantate mit geringer Kontaminationsrate und den unmittelbar im Winter davor herrschenden tiefen Temperaturen. Ein positiver Einfluss auf die Etablierungsrate durch exogene Einflüsse auf den physiologischen, endogenen Status der Haselnuss-Pflanze und die Ecodormanz können jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Ziel war die rasche Vermehrung verschiedener Sorten; Überlebensraten von über 60% bei der Etablierung gelten in der Fa. Vitroplant als wirtschaftlich rentabel. Die schlechteren Ergebnisse mit max. 45% Überlebensrate im 3. und 4. Quartal zeigten den unter anderem den Einfluss des Ausgangsmaterials. Kadolsky²³⁶ erwähnt eine Studie an *Prunus avium*, in der die Austriebsbereitschaft von geernteten Zweigen untersucht wurde. In dieser Studie findet sich das Fehlen jeglichen Austriebs bei im Oktober geschnittenen Zweigen. Diese Ergebnisse decken sich tendenziell mit den Erfahrungen an *Corylus* für das 3. und 4. Quartal im Bezug auf die Überlebensrate. Die Etablierungswahrscheinlichkeit eines Explantats in dieser Jahreszeit scheint geringer. Im 1. Quartal (V20, Februar 2006) zeigt sich wieder eine bessere Überlebensrate von 55% (Kap. 4.1.6.1, Abb. 45).

Wird der Einfluss der **Vorbehandlung** gesondert betrachtet, zeigten sich die besten Ergebnisse für die Etablierung bei ruhenden Knospen ohne Forcierung (Kap. 4.1.6.2, Abb 47). In früheren Arbeiten wird lediglich der Aspekt der Kontamination erwähnt, der Zusammenhang von Ausfallraten aufgrund von geschädigtem Gewebe durch z.B. Oberflächen-Desinfektion bei forcierten Knospen mit jungen Zellen wird nur zum Teil hergestellt²³⁷. Die Zusammenfassung der Ergebnisse zur Etablierungsphase hinsichtlich dem Einfluss des Knospenzustandes (Kap. 4.1.6.2) zeigen jedoch die höhere Überlebensrate bei geschlossenen, ruhenden Knospen ohne jungen, frischen Zellen an der Oberfläche. Untersuchungen an *Pyrus pyraeaster* und *Sorbus torminalis*²³⁸ unterstützen insofern die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, als das zwar für direkt am Feld geerntete, also Explantate von „ruhenden“ axillären Knospen mit Erntetermin März, die höchste Etablierungsrate, jedoch nicht die kürzeste Etablierungsdauer und die höchsten Vermehrungskoeffizienten erreicht werden konnten. Dem wurde jedoch in den durchgeführten Untersuchungen nicht weiter nachgegangen.

Die Wirkung von AKACID®plus bei der Behandlung der geschnittenen Triebe während der Forcierung und im Freiland zur Reduktion der Kontaminanzzahl wurde nicht weiter untersucht, kann aber neben der Wirksamkeit der Oberflächenbehandlung auch eine Erklärung für die

²³⁶ Kadolsky, 2007

²³⁷ Kadolsky, 2007

²³⁸ Kadolsky, 2007

geringen Kontaminationsraten darstellen.

Abgeleitet aus den Ergebnissen ergibt sich folgende Empfehlung: Für eine erfolgreiche und extensive Kulturführung der Haselnuss in-vitro müsste die Entnahme der Explantate in der ersten Jahreshälfte, besser noch im 2. Quartal erfolgen und durch Schnitt von Reisern mit ruhenden Knospen im Freiland durchgeführt werden.

5.1.2 Wirksamkeit der Oberflächen-Desinfektion und der Behandlungsdauer mit Desinfektionsmittel

Der Ausfall durch Kontamination ist eine überdurchschnittlich hohe Verlustquelle beim Kulturstart von Haselnüssen²³⁹. Deshalb erfolgt eine Oberflächen-Desinfektion nach einem kombinierten Verfahren mit Alkohol, NaOCl und Hg-Merthiolat (Damiano²⁴⁰).

Die Behandlung mit NaOCl beeinflusst positiv eine schnellere Entwicklung, die Anzahl der gebildeten Knospen und verbessert die Elongation²⁴¹. Quecksilber stellt die bisher wirksamste Oberflächen-Sterilisationssubstanz bei Haselnüssen dar und erwies sich als wichtiger Faktor, der zwar zu geringer Kontaminationsrate, jedoch aber zu starken Verbräunungen und damit auch zu höheren Ausfällen führte.²⁴²

Die Verwendung von adultem Ausgangsmaterial im Hinblick auf die Kontaminationsrate erwies sich auch bei Bajaj²⁴³ als sehr schwierig und er berichtet über die Reduktion von bakteriellen und pilzlichen Kontaminationen auf der Oberfläche von Explantaten bei der Verwendung von Quecksilberchlorid ($0,5 \text{ gl}^{-1} \times 5 \text{ min}$) von 90 %.

Damiano erzielte eine Überlebensrate von 60 %²⁴⁴ bei der Verwendung von Hg-Merthiolat mit einer Behandlungsdauer von 20 min. Andere Sterilisationsansätze führten zu 95 % kontaminierten oder nekrotischen Pflanzen²⁴⁵, wobei keine Angaben zu den Anteilen der Ursachen der Ausfälle oder dem Zeitpunkt der Auswertung zu entnehmen sind.

Die Ergebnisse der Etablierungsversuche (insbesondere V8, Tab 16, Abb. 28 und 29) zeigen eine **Verschiebung der unterschiedlichen Ursachen** eines Ausfalls, beginnend mit Kontaminationen, über Verbräunung zu Recalcitranz im zeitlichen Verlauf von 34 Tagen der Etablierung. Eine Aussage zur Wirksamkeit der Oberflächen-Desinfektion und zum Etablierungserfolg hinsichtlich der Überlebensrate zu einem bestimmten Zeitpunkt kann frühestens nach 20, besser nach 30 Tagen getroffen

²³⁹ Fa. VitroPlant Leonhardt, 2005

²⁴⁰ Damiano et al., 2005

²⁴¹ George, Hall, Klerk, 2007

²⁴² Fa. VitroPlant Leonhardt, 2005

²⁴³ Bajaj, 1989

²⁴⁴ Damiano et al., 2005

²⁴⁵ Damiano et al., 2005

werden (Kap. 4.1.3). Vitale Explantate konnten erstmals nach 10 Tagen festgestellt werden und anschließend zunehmend in ihrem Anteil an der Gesamtheit aller oberflächen-desinfizierter Explantate bewertet werden.

Die Problematik der **Verbräunung** wird im Allgemeinen der Oxidation von Phenolen zugeschrieben und der Anteil an polyphenolischen Exudaten von Explantaten hängt mit der Art, Dauer und Wirksamkeit der Sterilisation und auch mit dem Entnahmezeitpunkt der Explantate stark zusammen²⁴⁶. Toxische phenolische Exudate verursachen Beschädigungen und diese wiederum mehr Exudate und mehr Verbräunung²⁴⁷, wie es sich auch in den Ausfallraten und Ausfallzeitpunkten der Explantate in den durchgeführten Untersuchungen immer wieder zeigte (Kap. 4.1.3, Abb. 37 und 38).

Nach Benson²⁴⁸ ist gerade bei Gehölzen die Problematik der Verbräunung schwerwiegend und diese wird einerseits einer Wundreaktion selbst und andererseits einer Schädigung durch die Oberflächensterilisation zurückgeführt. Ursache ist nach Bonga et al.²⁴⁹ nicht allein die Verwundung, sondern eine dadurch bedingte Destabilisierung der Membran und das Austreten von Kalium aus den Zellen als Folge.

Im Zusammenhang mit der Etablierung und der Problematik der Verbräunung der Explantate kann ein Zusatz von Polyaminen eine Verbesserung ermöglichen (Kap. 4.1.2, Abb. 36). Dies entspricht den Ergebnissen nach Bonga et al.²⁵⁰. Da die ersten Etablierungsversuche geringe Infektionsraten, aber dafür hohe Anteile an Verbräunung zeigten, wurde der Fokus nicht auf die eigentliche Wirkung der Quecksilberbehandlung sondern auf die Optimierung der Behandlungsdauer zur Reduktion dieser phenolischen Reaktionen gelegt (Kap. 4.1.4, V15).

Die vergleichenden Untersuchungen zur unterschiedlichen **Behandlungsdauer** mit Hg-Merthiolat zeigten deutlich eine höhere Überlebensrate bei kürzerer Einwirkzeit (V15, Kap. 4.1.4, Abb. 39 bis 43). In Kap. 4.1.3, Abb 48 ergibt sich die etwa doppelte Ausbeute bei halbiertes Quecksilber-Behandlungsdauer (49 % Ausbeuterate) im Gegensatz zum Standardprotokoll der Fa. Vitroplant (Damiano²⁵¹) mit einem Erfolg von 29%. Die von Damiano²⁵² angegebene Überlebensrate von 60% konnte dabei nicht bestätigt werden. V15 erfolgte jedoch im August und kann daher nicht mit dem optimalen Reisererntetermin im 2. Quartal verglichen werden.

Eine Reduktion der toxischen Effekte von Quecksilber im Gewebe durch die Anwendung einer Lösung von 2,5 gl⁻¹ CaCl₂ zum Spülen der

²⁴⁶ Romano & Martins-Loucao, 1992

²⁴⁷ Bonga & VonAderkas, 1992

²⁴⁸ Benson, 2000

²⁴⁹ Bonga & VonAderkas, 1992

²⁵⁰ Bonga & VonAderkas, 1992

²⁵¹ Damiano et al., 2005

²⁵² Damiano et al., 2005

Explantate im Anschluss an die Hg-Behandlung könnte die Ausbeuterate weiter verbessern²⁵³. Diese Modifikation wurde aus betriebsinternen Gründen nicht durchgeführt.

5.1.3 Etablierungsmedien und ihre Modifikationen

Das Etablierungsmedium nach Damiano²⁵⁴ führte in der Überprüfung zu nekrotischen Spitzen und chlorotischen Gewebeteilen an den kultivierten *Corylus*-Pflanzen (Kap. 4.1.1, Abb. 39 bis 35, Kap. 4.2.5.3, Abb. 90). Messwerte wurden in diesem Zusammenhang nicht erhoben. Aufgrund der Beobachtungen wurde das Medium mit den Austausch von Na₂Fe-EDTA gegen **Sequestren®138** (200 mg l⁻¹) modifiziert²⁵⁵. Medien mit und ohne Sequestren® werden in der Zusammenfassung der Ergebnisse der Etablierungsmedien hinsichtlich ihrer Überlebensrate mehrerer Versuche verglichen. Der Einfluss der Modifikation ist in Kap. 4.1.6.3 dargestellt (Abb. 49 und 50).

Alle Haselnussorten und auch die Baumhasel zeigten mit dem modifizierten Medium eine satte, grüne Ausfärbung und keinerlei nekrotisches oder chlorotisches Blattgewebe oder Sprossspitzen. Die Überlebensrate (MW der Etablierungsversuche V0, V4, V8, V15 und V20) lag bei 10% für das Standard-Etablierungsmedium 687 und bei 42% für das Etablierungsmedium mit Sequestren 687S (Kap. 4.1.6.3, Abb. 49 und 50). Der anfängliche Ausfall durch Gewebenekrosen durch die Oberflächen-Desinfektion kann durch die Modifikation vielleicht verringert aber nicht verhindert werden.

Untersuchungen von Nas et al.²⁵⁶ zur Auswirkung der Eisenquelle bei *Corylus* können damit bestätigt werden; die Verwendung von Sequestren®138 führte zu mittleren Triebblängen bei der gleichzeitigen Ausbildung gesunder, dunkelgrüner Blätter und Sprosse.

Zur Verbesserung der Konstitution der Pflanzen durch die Art der Eisenquelle gibt es viele Erklärungen. Eisen, als Mikronährstoff, hat eine geringere Wirkung auf Blattwachstum, Zellanzahl oder Anzahl der Chloroplasten pro Zelle, eine größere auf die Größe und den Proteingehalt der Chloroplasten²⁵⁷. Zusätzlich besitzt Eisen eine Schlüsselrolle bei einer Vielzahl von Redox-Reaktionen in der pflanzlichen Zelle²⁵⁸. Nach Bajaj²⁵⁹ wird der negative Effekt von Fe-EDTA zwar durch verschiedene Autoren beschrieben aber auf Grund fehlender Referenzen nicht ausführlich diskutiert.

Eisensalze, wie Eisensulfat, zeigen nur geringe Löslichkeit und werden

²⁵³ Bajaj, 1989

²⁵⁴ Damiano et al., 2005

²⁵⁵ Nas & Read, 2001

²⁵⁶ Nas & Read, 2001

²⁵⁷ Marschner, 1995

²⁵⁸ Bonga & VonAderkas, 1992

²⁵⁹ Bajaj, 1989

daher mit dem Chelat-Bildner EDTA zur Verbesserung der Löslichkeit, und damit der Ionen-Verfügbarkeit und Verbesserung der Aufnahme und Verwertung durch die Zellen, zugeführt. Sie sind aber in dieser Kombination nicht sehr photostabil²⁶⁰. Die Photoinstabilität reduziert verfügbares Eisen und führt damit zu Chlorosen. Viele Autoren nach Nas und Read²⁶¹ berichten über schlechte Resultate in der Kultivierung und über Chlorosen bei der Verwendung von Fe-EDTA, während die Verwendung von Sequestren®138 die Farbe der Sprosse verbessere²⁶².

Fe-EDDHA (Sequestren®138) scheint photostabiler als Fe-EDTA und erhöht damit die Verfügbarkeit und daraus abgeleitet erklären sich die intensiver grüne Farbe und bessere Konstitution der Pflanzen. Viele weitere physiologische Effekte von EDTA und EDDHA verlaufen sehr different und es werden ihnen regulatorische (z.B. EDTA als Auxin Synergist) und toxische Effekte (höhere Konzentrationen von EDTA hemmen bzw. verhindern die Sprossbildung) zugeschrieben²⁶³.

Die positive Auswirkung der Ergänzung des Startmediums mit exogenen Polyaminen (z.B. **Putrescin**) nach Nas et al.²⁶⁴ konnte visuell bestätigt werden. Die Ergebnisse hinsichtlich der Vitalität während der Etablierung (Kap. 4.1.2, Abb. 36, Kap. 4.1.6.4, Abb. 50) zeigen, dass die Mittelwerte der Varianten mit und ohne Putrescin verschieden, jedoch mit $\alpha = 0,10$ nicht signifikant sind (Tab. 29). Die Überlebensrate der Pflanze auf Medium mit Putrescin war zwar insgesamt geringer als bei kultivierten Pflanzen auf Medium ohne Putrescin; Entwicklung und Wachstum (Vitalität) schien stärker und / oder früher einzusetzen.

Untersuchungen hinsichtlich der Wirkung von Polyaminen an Protoplasten zeigen eine wichtige Funktion bei stressinduzierten Reaktionen in Pflanzenzellen²⁶⁵.

Polyamine sind in Pflanzenzellen allgegenwärtige, niedermolekulare, aliphatische Amine und zeigen ihre Wirkung im Zusammenhang mit Zellwachstum und Zellentwicklung in allen eukaryotischen Zellen als Reaktion auf biotischen und abiotischen Stress. Putrescin dient als Vorstufe in der Bioynthese von Spermin und Spermidin, deren Konzentrationen bei Stress stark steigen. Endogene und exogene Polyamine zeigen unterschiedliche Reaktionen und Wirksamkeiten. Zelluläre Polyamine hemmen die NADPH-Oxidase-Aktivität als endogenes Antioxidanz, sie reduzieren die Akkumulation von Sauerstoffradikalen bzw. ROS (Reactive oxygen species). Die Wirkung von Putrescin ist als Erhöhung der Überlebensfähigkeit von Protoplasten durch Senken der Akkumulation von Sauerstoff-Radikalen, das Verhindern von PCD (Protoplast Cell Death), Wachstumsstimulation und die Förderung des Zellzyklus beschrieben. Weiters führt eine hohe

²⁶⁰ Nas & Read, 2001

²⁶¹ Nas & Read, 2001

²⁶² Nas & Read, 2001

²⁶³ George et al., 2007

²⁶⁴ Nas & Read, 2004

²⁶⁵ Papadakis & Roubelakis-Angelakis, 2005

Konzentration von Putrescin zu einer Inhibierung der DNA-Methylierung. Freies Putrescin bindet an antioxidative Enzyme und kleine antioxidative Moleküle und ermöglicht dadurch einen gezielten Transport zu Orten mit oxidativem Stress. Weiters wurde ein Nachweis zur Förderung des Stoffwechsels zur Proliferation erbracht.²⁶⁶

Explantate auf Medium mit Putrescin (Kap. 4.1.2, Abb. 36) zeigten Auswirkungen, die sich durch die beschriebene Wirkung von Putrescin auf Protoplasten²⁶⁷ ergeben haben könnten.

Garnica et al.²⁶⁸ findet einen Zusammenhang zwischen Putrescin und dem Stickstoffstoffwechsel; durch die Decarboxylierung von Arginin zu Agmatin entsteht ein Intermediat der Putrescin-Biosynthese.

Putrescin besitzt weiters eine ähnliche Wirkung wie der Wachstumsregulator Auxin auf pflanzliche Gewebe und ist direkt involviert in Zellteilungsaktivitäten und Elongation in Gewebekulturen und kann Auxin als Wachstumsregulator ersetzen²⁶⁹.

Viele Studien sprechen auch von Interaktionen zwischen Polyaminen und Ethylen²⁷⁰. George et al.²⁷¹ erklärt dies einerseits mit einer gemeinsamen Vorläufersubstanz, andererseits einer Inhibierung der Biosynthese von Ethylen durch Putrescin wobei auch Ethylen die Biosynthese von Polyaminen hemmen kann²⁷².

Polyamine konjugieren mit Phenolsäuren²⁷³. Es ist fraglich, ob die Auswirkung des Putrescins direkt über die Reduktion der Stresssituation, also durch die Hemmung der NADPH-Oxidase-Aktivität auch eine Reduktion der polyphenolischen Exudate brachte oder die Wirkung nur indirekt über Reaktionen mit den Exudaten der Explantate zu einer Reduktion der Stressreaktionen führte. Auch die Reduktion der Ethylen-Konzentration kann durch die inhibierende Wirkung von Polyaminen nicht ausgeschlossen werden. Aussagen zur langfristigen Verbesserung der Vitalität und Konstitution der Explantate können aus den vorgenommenen Untersuchungen nicht abgeleitet werden. Untersuchungen zur Wirkung von Putrescin auf die Kultivierung von *Corylus* im Hinblick auf den wirtschaftlichen Aspekt der Etablierungsdauer wären sehr wertvoll.

²⁶⁶ Papadakis & Roubelakis-Angelakis, 2005

²⁶⁷ Papadakis & Roubelakis-Angelakis, 2005

²⁶⁸ Garnica, Houdusse, Yvin, Gaarcia-Mina, 2009

²⁶⁹ George et al., 2007

²⁷⁰ Garnica et al., 2009

²⁷¹ George et al., 2007

²⁷² Bonga & VonAderkas, 1992

²⁷³ George et al., 2007

5.2 Multiplikationsphase

Hinsichtlich der Multiplikation wurden Faktoren der Kulturführung (Kap. 4.2.1), des Faktors Medium (Kap. 4.2.2) und des Vermehrungspotentials unterschiedlichen Ausgangsmaterials (Kap. 4.2.3) bearbeitet.

5.2.1 Einfluss der Kulturführung auf die Vermehrungsrate und Pflanzenqualität

Faktoren der Kulturführung beeinflussen umfassend den Erfolg einer Kultur²⁷⁴. Es wurde der Versuch unternommen, von den natürlichen Wachstumsbedingungen von *Corylus* auf die Kulturführungsbedingungen im Labor zu schließen.

Definiert nach den ökologischen Zeigerwerten nach Ellenberg²⁷⁵ ist *C. avellana* L. im Lichtbedarf eine Halbschatten bis Halblichtpflanze, der Temperaturwert spricht von einer mäßig wärmezeigenden Pflanze, der Kontinentalitätswert liegt zwischen ozeanisch und subozeanisch, Feuchte- und Reaktionszahl sind indifferent und der Stickstoffbedarf ist mäßig ausgeprägt. *C. avellana* ist eine typische Pflanze der Strauchschicht, im Unterholz lichter Laubwälder, in Gebüsch und Hecken, an Bachufern und Waldrändern und auch auf Pionierstandorten zu finden.

Nach Erfahrungswerten der Fa. VitroPlant zeigt sich bei *Corylus* eine **Lichtsensibilität** bei Jungpflanzen. Die Schattierung der Glashäuser bei stecklingsvermehrten oder aus Samen gezogener Haselnuss-Pflanzen verbessert die Qualität der Jungpflanzen gegenüber nicht schattierter Pflanzen bis in ein Alter von ca. 2 Jahren.²⁷⁶

Der Einfluss des Lichtangebotes hat sich für *Corylus* in den Ergebnissen der Untersuchungen (Kap. 4.2.1.1, Tab. 18, Abb. 53 bis 57) auch in der Gewebekultur als relevant gezeigt. Auf Standort (SO) 2 (40% KW) konnten die größte Sprosslänge, die beste Qualität und, dadurch bedingt, die höchste Vermehrungsrate erzielt werden. *Corylus* zeigte auf SO 1 (100% KW) ein Ausbleichen des Gewebes bzw. Nekrosenbildung und damit eine Sensibilität auf ein Überangebot an Licht. Die Farbwerte der Standorte sind bei SO 2 vs. SO 3 mit $\alpha = 0,0004$ sicher verschieden, bei SO 1 vs. SO 2 mit $\alpha = 0,006$ hoch signifikant und SO 1 vs. SO 3 mit $\alpha = 0,32$ nicht verschieden. Die Mittelwerte der Sprosslängen sind zunächst different, unterscheiden sich jedoch nicht signifikant (Tab. 29). Bei Kulturbedingungen mit 100% KW (CoolWhite) und auch bei 100% GL (GroLux) konnten gehemmtes Wachstum und auch zum Teil Blattspitzennekrosen festgestellt werden. Die Empfehlung für *Corylus* liegt in der Verwendung von CoolWhite-Leuchtstoffröhren mit einer Reduktion der Lichtintensität auf 40%.

²⁷⁴ Jain & Ishii, 2003

²⁷⁵ Universität für Bodenkultur, 2009

²⁷⁶ Fa. VitroPlant Leonhardt, 2005

Licht ist ein fundamentaler Faktor im Leben einer Pflanze; Direkt und indirekt spielt es eine ausschlaggebende Rolle in der Regulation von Wachstum und Entwicklung. In dem Bestreben, die Ausnutzung des Lichts für die Photosynthese permanent zu optimieren, entwickelten Pflanzen eine Vielzahl von signalverändernden Photorezeptoren um Präsenz, Lichteinfallswinkel, Lichtmenge, Dauer und Qualität zu erfassen und zu regulieren²⁷⁷. Die Qualität der Pflanzen in der in-vitro-Kultur ist ein direktes Resultat dieses Bestrebens. Zu einer Verbesserung der Kultur bei Reduzierung der Lichtintensität werden nach George et al.²⁷⁸ für verschiedene Krautige und für Gehölze angeführt: *Syringa* zeigt verbesserte Elongation bei einer Intensität bis $\sim 2 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ und auch zygotische Embryonen von *Populus deltoides* produzieren in reduziertem Licht kräftigere Sprosse als jene Embryonen die unter höheren Lichtintensitäten kultiviert wurden.

Die Überlegungen zur Entwicklung eines kommerziellen, rentablen und praktikablen Ablaufs für eine Pflanze in Gewebekultur, behandeln auch den Zusammenhang des Protokolls mit wirtschaftlichen und ökologischen Faktoren. Geringerer Energieverbrauch darf nicht außer Acht gelassen werden. Dieser Gedanke führt zur weiterführenden Frage wie weit die Lichtintensität für *Corylus* in einer In-vitro-Kultur, bei gleichem oder höherem Erfolg, reduziert werden könnte.

Das optimale **Kulturgefäß** bietet gleichermaßen gute Wachstumsbedingungen wie auch eine einfache Handhabung und Wirtschaftlichkeit. Die Ergebnisse der Untersuchungen V11 zeigten nur hinsichtlich der Sprossspitzenentwicklung Signifikanz (Tab. 29, „Hipp-Glas“ vs. „M-Sack“ $\alpha = 0,000$; sicher, „Epr.“ vs. „M-Sack“ $\alpha = 0,000$; sicher und „Hipp-Glas“ vs. „Epr.“ $\alpha = 0,0130$; signifikant). Die Parameter Qualität und Sprossgröße konnten visuell festgestellt werden; t-Tests ergaben jedoch keine signifikant verschiedenen Ergebnisse. Die Ergebnisse der Nodienbildung erwiesen sich nur zwischen „Hipp-Glas“ und „Epr.“ mit $\alpha = 0,0093$ als hoch signifikant.

Der Einfluss der Art des Kulturgefäßes wurde mit Hilfe der Ergebnisse aus V2 und V11 (Kap. 4.2.1.2, Abb. 58 bis 65, Tab. 20 und 21) mit den Parametern Sprossgröße, Nodien- und Sprossspitzenanzahl in eine gewichtete Rangreihenfolge gebracht (1. Rang 7 Punkte, 2. Rang 5 Punkte, 3. Rang 3 Punkt, 4. Rang 1 Punkt). Weiters wurden die Faktoren Mediummenge pro Pflanze, Platzbedarf des Kulturgefäßes pro Pflanze und der Faktor „Wirtschaftlichkeit“ mit den gleichen Gewichtungsfaktoren miteinbezogen. Bei Betrachtung aller Zusammenhänge ergab sich folgende Reihenfolge (Tab. 25): KG „M-Sack“ (V2, V11) > KG „Dose“ (V2) > KG „Epr.“ (V11) > KG „Hipp-Glas“ (V2, V11).

²⁷⁷ Jain & Ishii, 2003

²⁷⁸ George et al., 2007

Tab. 27:

Bewertung aller verwendeten KG nach Qualitätsparametern und den Faktoren Platzbedarf (KG) pro Pflanze, Mediummenge pro Pflanze und „Wirtschaftlichkeit“.

Kulturgefäß Versuchskode	„Hipp- Glas“ V2	„Hipp- Glas“ V11	„KS- Dose“ V2	„M- Sack“ V2	„M- Sack“ V11	„Epr.“ V11
Sprossspitzen	3	5	5	7	3	7
Nodienbildung	7	3	3	5	5	7
Sprossgröße	3	3	7	5	5	7
Σ Qualität	13	11	15	17	13	21
Mediummenge	3	3	5	7	7	1
Platzbedarf	3	3	5	7	7	1
Wirtschaftlichkeit	3	3	5	7	7	1
Σ Kosten	9	9	15	21	21	3
Gesamtsumme	22	20	30	38	34	24
Rang	5	6	3	1	2	4

Die Ergebnisse bezüglich der Kultivierung in Eprouvetten zeigten zwar die Qualität betreffend die besten visuellen Ergebnisse, es ist jedoch die Handhabung und der Platzbedarf bei dieser Form der Kultivierung den anderen Varianten weit unterlegen. Da aber gerade Handhabung und Platzbedarf für die wirtschaftliche Vermehrung ausschlaggebend sind, ist die Kultivierung in Belgischen Mikrosäcken („M-Sack“) die profitabelste Lösung. Hier vereint sich eine ausreichende Qualität mit einer wirtschaftlichen Handhabung. Zu bedenken sind jedenfalls die höheren Kosten der KS-Dosen in Anschaffung und durch Bestrahlung zur Sterilisation gegenüber den Belgischen Mikrosäcken. Der Gasaustausch ist bei fest verschlossenen „Hipp-Gläsern“ schlechter als bei Dosen oder Mikrosäcken, wobei trotz festem Verschluss in Eprouvetten der hohe Luftraum wieder einen Vorteil bringen dürfte.

Zusammengefasst lassen sich bei der Verwendung der Microsäcke mehrere Vorteile vereinen. Einerseits die gute Verschließbarkeit durch das Verschmelzen und dem durch die eingesetzten Filter gut stattfindenden Gasaustausch, die geringere Mediummenge und insgesamt leichte Handhabung führen zu einer Empfehlung dieses Produktes.

Werden die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungsparameter kombiniert (Kap. 4.2.1.2) ergibt sich eine Präferenz von Corylus zu einem großen Luftraum, sei es in Eprouvetten mit großer Höhe oder dem Gebrauch von Behältnissen mit Filtermembranen und damit verbessertem Gasaustausch im Gegensatz zu den Kunststoff-Steckdeckeln der „Hipp-Gläser“. Abgesehen vom vitaleren Eindruck der Pflanzen und der höheren Vermehrungsrate, zeigt sich auch eine Reduktion der Vitrifikation und dem Auftreten von Nekrosen. Das Vorkommen von vitrifizierten Pflanzen resultiert zumeist aus einer erhöhten Luftfeuchtigkeit im Kulturgefäß und einem verminderten Gasaustausch mit der Umgebung und damit einer Anreicherung von **Ethylen** im direkten Luftraum der Pflanze²⁷⁹.

²⁷⁹ Bonga & VonAderkas, 1992

Ethylen ist ein kleines, gasförmiges Molekül das von allen Arten von Pflanzenzellen, Geweben und Organen produziert wird und nicht nur bei der Reifung und Seneszenz²⁸⁰, sondern auch bei Stress in der Konzentration steigt^{281,282}. Die physiologischen Auswirkungen – positiv oder negativ auf das Explantat wirkend - sind abhängig von der Konzentration des Gases im Kulturgefäß. Der häufigste Effekt bei dikotylen Pflanzen ist jedoch die Hemmung von Wachstum und Entwicklung bei Überschreiten einer kritischen Konzentration in Abhängigkeit von der Art²⁸³.

Problematisch hierbei sind in erster Linie die positive Rückkopplung in der Biosynthese von Ethylen und die damit angeregte Produktion von Ethylen. Erscheint der Biosyntheseweg von Ethylen zunächst sehr simpel, zeigen sich bei näherer Betrachtung die vielen verschiedenen Variablen in der Synthese und der Regulation dieses Wachstumsregulators: Verschiedene Enzyme und Isoenzyme werden unterschiedlich kontrolliert. Die Regulation verläuft über die durch verschiedenen Stimuli (Auxin-Konzentration, Verwundung oder Reifeprozesse) aktivierte Expression von Isogenen, die aber auch durch andere Komponenten, wie Ethylen selbst, Abscisinsäure, Cytokinin, Kohlenstoff-Dioxide oder Licht, moduliert werden können.²⁸⁴

Auch Hazarika²⁸⁵ beschreibt die Wirkung von akkumuliertem Ethylen einerseits als Anhäufung von abnormen Zellen bei hoher Konzentration und Veränderung in der Morphologie von Pflanzen, aber andererseits auch als Auslöser für den Ausfall von Chlorophyll und damit zu Abscission und Seneszenz führend. Erste Anzeichen dafür sind die Wachstumshemmung und das Auftreten sichtbarer nekrotischer Areale im Blatt- und Spitzengewebe der Mikrospresse. Gleiches wurde in den Untersuchungen V2 und V11 (Kap. 4.2.1.2) festgestellt.

5.2.2 Einfluss der Medienzusammensetzung und von Medienzusätzen auf die Multiplikation und Qualität der Pflanzen

Die Vermehrungsphase wurde von der Suche nach einer geeigneten Basisrezeptur und adäquaten Gelbildnern bestimmt und die Medienzusätze Sequestren®138 und Putrescine wurden getestet. Ein Vergleich (Kap. 4.2.2.2) unterschiedlicher Medien mit der Basis nach Murashige und Skoog (MS)²⁸⁶ in verschiedener Varianten und Medien mit der Basis Molt²⁸⁷ in ebenfalls verschiedenen Varianten wurde

²⁸⁰ Bonga & VonAderkas, 1992

²⁸¹ Bonga & VonAderkas, 1992

²⁸² George et al., 2007

²⁸³ George et al., 2007

²⁸⁴ George et al., 2007

²⁸⁵ Hazarika, 2006

²⁸⁶ Murashige & Skoog, 1962

²⁸⁷ Damiano et al., 2005

durchgeführt. Die Rezepturen mit der Basis Molt mit reduzierten Makronährstoffen und erhöhter Calciumnitrat-Konzentration im Vergleich mit der Basis MS und die Verwendung des Gelbildners von B&V, begleitet von der Modifikation mit Sequestren®138, führten zu den besten Ergebnissen in der Konstitution und Vermehrungsrate der kultivierten Pflanzen (Kap. 4.2.2.2, Abb. 71 bis 81) und bestätigen die Ergebnisse von Damiano²⁸⁸.

Der Mediumvergleich (V7) brachte sehr differenzierte Ergebnisse, die aber wegen des sehr inhomogenen Ausgangsmaterials nur als Tendenz gewertet werden dürfen. Die Abstufung der Medien verläuft von der Kombination Basis Molt mit dem Gelbildner B&V für gute Ergebnisse in der Vermehrung und Qualität der Pflanzen, über die Verwendung des Gelbildners B&V in Kombination mit Medien der Basis MS und die Kombination eines Mediums mit der Basis MS und Merck-Agar bis hin zu den schlechtesten Ergebnissen bei der Verwendung eines Mediums mit der Kombination Basis MS und dem Gelbildner Gelrite.

Grundlegende Unterschiede der beiden Basisrezepturen ist die **Konzentration der Makro- und Mikronährstoffe**. Kalium bzw. Stickstoff in der Form von KNO_3 sind im Medium Basis Molt ersatzlos entfernt und dafür die Konzentration von KH_2PO_4 von 170 mg l^{-1} auf 217 mg l^{-1} erhöht. Auch NH_4NO_3 wurde im Medium Basis Molt halbiert. Als Stickstoffquelle diente dafür bei Molt die Zugabe von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, dadurch wurde nicht nur Stickstoff zugeführt, sondern gleichzeitig die Ca-Konzentration erhöht.

Die Verbesserung von Qualität und Vermehrungsrate bei höherem Ca-Gehalt ist nicht nur an *Corylus* festzustellen. An *Hibiscus rosa-chinensis* L. wurde die Reduktion der durch Ca-Defizite ausgelösten Symptome (Spitzennekrosen und Abnahme von Blattmasse) durch Erhöhen der Ca-Konzentration erreicht. Erklärend ist die Tatsache, dass die Calcium-Translokation über den Xylemstrom stark von der Transpiration abhängig ist. Auf Grund der erhöhten Luftfeuchtigkeit in Kulturgefäßen wird der Transpirationsstrom begrenzt und die Ca-Mobilität eingeschränkt.²⁸⁹

Auch Zink wurde als Nitrat und nicht als Sulfat zugeführt. Mangan- und Kupferkonzentrationen sind erhöht, Cobalt und Kaliumiodid nicht zugeführt und dafür die Basisrezeptur Molt mit Nickel ergänzt. Thiamin ist sogar in 10facher Dosierung im Medium Molt enthalten.

Thiamin (Vit. B₁) beeinflusst den Kohlenhydratstoffwechsel einerseits und ist im Aufbau von Aminosäuren direkt involviert, andererseits wird ihm auch eine Interaktion mit Cytokinen zugeschrieben²⁹⁰. Ein positiver Einfluss auf die Entwicklung von *Corylus* wird in der Literatur nicht erwähnt, lässt aber durch die Ergebnisse von Damiano²⁹¹ und der vorliegenden Arbeit eine Vermutung zu.

²⁸⁸ Damiano et al., 2005

²⁸⁹ Christensen, Sriskandarajah, Serek, Müller, 2008

²⁹⁰ George et al., 2007

²⁹¹ Damiano et al., 2005

Die Entwicklung der für *Corylus* angeführten Proliferationsmedien der vergangenen Jahrzehnte verläuft von der Empfehlung eines von Pérez et al. publizierten K(h)-Mediums in halber Konzentration²⁹² 1985 im Vergleich mit Medium MS und 1987 über die kontroverse Angabe von MS als bestes Medium zur Kultivierung von *Corylus* bei Rodriguez et al.²⁹³ bis hin zu einem modifizierten DKW-Medium von Yu und Reed²⁹⁴ im Jahre 1993. Die von Damiano²⁹⁵ veröffentlichte Empfehlung einer Kombination von WPM und DKW, genannt Molt, zeigt die Fortsetzung einer Tendenz zur Reduktion von Kaliumnitrat und Erhöhung von Calcium.

Die Medien weisen nicht nur Unterschiede in der Basisrezeptur (Makro-Mikronährstoffe und Vitamine) und dem Gelbildner auf, auch die zugesetzten Hormone in Art und Konzentration waren divergent (Kap. 4.2.2.2). Die Zugabe von BAP (1,5 mg l⁻¹), IBA (0,01 mg l⁻¹) und GA₃ (0,1 mg l⁻¹) erwies sich nicht nur in der Standardrezeptur dieser Arbeit (698, 699) sondern auch in einem Medium mit der Basis MS und Merck-Agar (695) BAP (1 mg l⁻¹) und IAA (0,1 mg l⁻¹) als hilfreich und die Qualität der Pflanzen wurde tendenziell gefördert.

Eine der wichtigsten Wachstumsregulatoren ist die Gruppe der Cytokinine und Benzylaminopurin (BAP) wird in der Gewebekultur sehr häufig zur Förderung der Sprossdifferenzierung angewandt²⁹⁶.

Untersuchungen zum Einfluss des **Zuckerangebots** (Saccharose 3%; Saccharose+Maltose+Sorbit je 1%) auf die Vermehrung (Kap. 4.2.2.3, V12) bestätigen visuell die Ergebnisse des Medienvergleiches aus Kap. 4.2.2.2, V7. Die Kombination aus Di- und Monosacchariden mit der Ergänzung eines Zuckeralkohols könnte eine Verbesserung der Vermehrungsfähigkeit darstellen, die Ergebnisse weisen jedoch keine Signifikanz hinsichtlich der Sprossgröße, der Sprossspitzenanzahl oder der Nodienbildung auf. Erklärt werden kann dies auch durch das sehr inhomogene Ausgangsmaterial der verschiedenen Sorten. Die tendenzielle Verbesserung der Ergebnisse zur Entwicklung und Vermehrungsrate beim Angebot einer Kombination von verschiedenen Kohlenhydratquellen ist für die Kultivierung von Gehölzen bekannt²⁹⁷.

Der Einfluss von **Sequestren®138** ist sowohl in der Etablierungsphase als auch in der Vermehrungsphase positiv. Bei der Verwendung im Medium als Eisenquelle konnte an den Pflanzen keine Nekrosen festgestellt werden. Die Vitalität und Qualität der Pflanzen, ausschlaggebend für das Vermehrungspotential, wurde maßgeblich verbessert (Abb. 51 und 52).

²⁹² Perez, Rodriguez, Tamés, 1985

²⁹³ Nas & Read, 2001

²⁹⁴ Nas & Read, 2001

²⁹⁵ Damiano et al., 2005

²⁹⁶ Peternel et al., 2009

²⁹⁷ Fa. VitroPlant, Leonhardt, 2005

Die Ergänzung mit **Putrescin**²⁹⁸ (Kap. 4.2.2.1, V6) im Medium zeigte wenig Wirkung bis zum ersten Transfer. Geringerer Nodienzugewinn und auch insgesamt eine geringere Vermehrungsrate konnten festgestellt werden, nur die Sprossgröße war besser als bei jenen Pflanzen ohne Putrescin als Mediumzusatz. Die Verbesserung dieser Ergebnisse beim zweiten Transfer ließen eine tendenzielle Entwicklung zu einer Adaption der Explantate an die Anwesenheit von Putrescin vermuten; Die Konstitution und auch die Vermehrungsrate stiegen an. Da beim vorhergehenden Transfer aber weniger Pflanzen vermehrt wurden, ist das Potential zur Vermehrung beim nächsten Transfer größer und die bessere Vermehrungsrate damit zu erklären. Zusätzlich ist der Ansatz, dass Putrescin den pflanzlichen Zellen bei der Überwindung der durch die neuerliche Verletzung verursachten Stresssituation dient, bzw. als Auxinersatz wirksam wird und die Zellteilung unterstützt und fördert vorhanden. Die Mittelwerte der Medien zeigen keine statistischen Unterschiede (Tab. 29, $\alpha > 0,1$).

Die Ergebnisse aus V7 (Kap. 4.2.2.2) zeigen neben dem Einfluss der Mediumzusammensetzung (Basis „Molt“ oder „MS“) auch Einflüsse des verwendeten Gelbildners im Medium. Eine positive Tendenz aller erhobenen Parameter ist für den Gelbildner „B&V“ und schwächer für den Gelbildner „Merck-Agar“ gegenüber dem Gelbildner „Gelrite“ festgestellt worden. Solange die Ursache dieser Präferenz nicht ausreichend aufgeklärt ist, kann dieser Faktor zugunsten der Kosten nicht vernachlässigt werden.

5.2.3 Einfluss der Art des Vermehrungsmaterials auf die Vermehrungsrate

Bezüglich des am Besten geeigneten Basismaterials wurden Spitzen, Nodien und diese jeweils mit und ohne Callusanteil getestet und nach ihrer Vermehrungsrate beurteilt. Bisherige Ergebnisse sprechen für die Empfehlung, in der kommerziellen Produktion die Gesamtheit des Materials zu nutzen. Vitale, starke Pflanzen für die Bewurzelung konnten durch Spitzen ohne Callus mit einer Ausgangslänge von etwa 1 cm Sprosslänge gewonnen werden, die Verwendung von Nodien mit angeritztem Basalcallus ergab jedoch eine größere Menge an neuen Sprossen durch Verzweigung und Adventivtriebe für die Gewinnung neuer Spitzen (Kap. 4.2.3, Abb. 85 bis 89). Eine Erklärung ist durch die Entfernung der Spitze und die damit verbundene fehlende Apikaldominanz gegeben. Der verbleibende Anteil des Sprosses verzweigt.

Die Erfahrungen an *Sorbus torminalis*²⁹⁹ zeigen einen höheren Vermehrungskoeffizient bei der Verwendung von monodialen Sprossegmenten gegenüber der Verwendung von Einzelsprossen. Diese Erfahrungen konnten für *Corylus* nicht bestätigt werden. Eine Tendenz zu einer notwendigen „Mindestgröße“ von ca. 1 cm und 3 bis 4 Nodien für den Erhalt der Vitalität und rasche Vermehrung waren zu erkennen.

²⁹⁸ Nas & Read, 2004

²⁹⁹ Kadolsky, 2007

5.3 Bewurzelung

Damiano³⁰⁰ gibt bei Halbierung der Konzentration des Bewurzelungsmediums DKW (fest) eine Erhöhung der Bewurzelungsrate von 54,6% auf 71% und eine Erhöhung der Anzahl der Wurzeln pro bewurzeltem Mikrosteckling von 4,3 auf 4,9 an. Die Ergebnisse zur Reduktion der Nährstoffkonzentration auf Basis Molt mit einem Drittel der Konzentration mit Sequestren®138 (200mg l⁻¹) und der Zugabe von IBA (2mg l⁻¹) werden in Kap. 4.3.2 (Abb. 96 bis 99) zusammengefasst. Für die Sorten 'Istrska dogolopodna' und 'Rote Lambert' wurden Bewurzelungsraten von 100% und für die Sorte 'Tonda Romana' von über 90% festgestellt. Das arithmetische Mittel der Wurzelanzahl aller bewurzelten Pflanzen lag zwischen 7,2 und 9,5 und damit fast doppelt so hoch wie bei Damiano³⁰¹ beschrieben. Die Mittelwerte der Wurzelanzahl sind bei beiden verglichenen Medien für alle untersuchten Sorten sicher ($\alpha=0,001$; Tab. 29) voneinander verschieden. Auch die Qualität der Pflanzen in der visuellen Bonitur erreichte hohe Werte, die Verschiedenheit der Werte der verglichenen Medien ist jedoch nur für die Sorte 'TR' signifikant (Tab. 29). Für die Praxis gilt diese Bewurzelungsrate als äußerst effizient und die Mediumrezeptur 705 als erfolgreich.

Die Ergänzung von Bewurzelungsmedien mit Aktivkohle ist in vielen Fällen sehr hilfreich und führt zu einer Erhöhung von Bewurzelungsraten³⁰². Bei der Ergänzung des Bewurzelungsmediums mit Aktivkohle (8g l⁻¹) konnten diese Erfahrungen jedoch für Haselnuss nicht bestätigt werden (Kap. 4.3.2). Die Bewurzelungsrate lag nur zwischen 33% und 70%. Der Erfolg der Bewurzelung kann nicht allein der Zusammensetzung des Mediums zugeschrieben werden. Auch die Konstitution des Ausgangsmaterials beeinflusste das Ergebnis und die zur Bewurzelung ausgewählten Sorten waren in der in-vitro-Kultur sehr gut etabliert.

Annähernd vollständige Bewurzelungsraten mit einer hohen Dichte und großen Wurzellängen (Kap. 4.3.2) lassen eine Verkürzung der Bewurzelungsdauer möglich erscheinen. Es ist davon auszugehen, dass die gewählte Bewurzelungsdauer von 4 Wochen stark reduziert werden könnte. Dies wurde noch nicht näher untersucht, eine kürzere Bewurzelungsphase vor einer möglichen Akklimatisierung könnte den finanziellen Aufwand in der Produktion weiters reduzieren.

³⁰⁰ Damiano et al., 2005

³⁰¹ Damiano et al., 2005

³⁰² Fa. VitroPlant, Leonhardt, 2005

5.4 Akklimatisierung

Erst die erfolgreiche Akklimatisierung gibt Aufschluss über den Erfolg eines Protokolls. Die Pflanzen aus den Bewurzelungsversuchen wurden pikiert und im Nebeltunnel akklimatisiert. Sie wurden im April 2006 an die Fa. Vitroplant übergeben und nach deren Aussage hat ein Großteil der Pflanzen die Einjahresmarke überschritten.

5.5 Einfluss der genetischen Variation „Sorteneinfluss“

Der Aufwand für die In-vitro-Vermehrung einer Species variiert mit dem Genotypus³⁰³ und viele Autoren berichten über unterschiedlichen Erfolg bei verschiedenen Genotypen, so auch bei Marillen³⁰⁴. Die Suche nach einem passenden Genotypus ist oft erfolgsversprechender als die Suche nach einem geeigneten Nährmedium, wie im dem Fall von *Populus* nach Bonga et al.³⁰⁵.

Die Erfahrungen der Firma Vitroplant lassen jedoch einen sehr starken Einfluss des Genotyps bei *Corylus* vermuten. Allein die Etablierung der verschiedenen Sorten zeigte unterschiedliche Ergebnisse für die Etablierungsrate, bzw. zu unterschiedlichen Zeitpunkten unterschiedlichen Erfolg der gleichen Sorte. Manche der Sorten mussten mehrmals oberflächen-sterilisiert werden, andere wiederum zeigten auch mit einer geringen Überlebensrate einen raschen Etablierungserfolg von sehr wenigen zu einer gelungenen Produktion.

Auf den Einfluss der Züchtungsherkunft der verschiedenen Sorten wurde in der vorliegenden Arbeit mehrfach verwiesen. Bei der Zusammenfassung der Ergebnisse lassen sich Tendenzen in der Kultivierbarkeit verschiedener Sorten erkennen. Die Sorten 'But' und 'En' erwiesen sich in der Etablierung und Kultivierung als aufwendiger, nach einigen Transfers jedoch aufgrund ihrer Konstitution auch produktionsfähig. Die französische Sorte ('E-104'), deren Herkunft und Abstammung nicht bekannt war, zeigte ähnliche Tendenzen mit größerem Aufwand für eine stabile, vitale und produktionsfähige Kultur. Ähnlich sind auch die spanischen, bzw. italienischen Sorten ('Seg', 'TdG', 'TdgL') einzustufen, die sich als eher langwierig, mit hohen Transferintervallen bis zur Produktionsfähigkeit, zeigten. Die Sorten 'lo' und 'ld' (Herkunft Balkan) erwiesen sich in der Etablierung verschieden aufwendig. 'ld' wurde einmalig im 4. Quartal (V0) etabliert und aus einer geringen Anzahl etablierter Mikrosprosse konnte die Produktion gestartet werden. 'lo' wurde mehrmals etabliert und bis zuletzt war die Produktion mit den etablierten Pflanzen aufgrund fehlender Konstitution nicht möglich. Als sehr rasch etablierungsfähig präsentierten sich die nördlich-europäischen Sorten 'MdB' = 'HR' und 'RL'. Die Etablierung verlief wenig aufwendig mit geringem Transferbedarf und einer raschen Entwicklung zu vitalen, vermehrungsfähigen Pflanzen und damit

³⁰³ Bonga & VonAderkas, 1992

³⁰⁴ Pérez-Tornero & Burgos, 2000

³⁰⁵ Bonga & VonAderkas, 1992

Potential für die Produktion. Die italienische Sorte 'TR' konnte in diesem Zusammenhang nur schlecht beurteilt werden, da diese schon in Kultur etabliert übernommen wurde.

Untersuchungen zur Sortencharakterisierung und Abstammung von Kultivaren von *C. avellana* nach Gökirmak et al.³⁰⁶ unterteilen die Europäische Haselnuss in vier geographische Hauptgruppen (A „Zentraleuropa“ mit einem deutschen und einem polnischen Cluster, B „Black Sea“, C „Englische“ Gruppe und die D „Spanisch-Italienische“ Gruppe). Tab 28 zeigt die von der Fa. Vitroplant ausgewählten Sorten und die Zuordnung zur geographischen Hauptgruppe und Abstammung nach Gökirmak et al.³⁰⁷.

Tabelle 28:
Zuordnung ausgewählter Sorten zur geographischen Hauptgruppe nach Gökirmak et al.

Hauptgruppen	Sorte	Abstammung
A	'Hall's Giant' (Syn. 'Merveille de Bollwiller' = 'Halleesche Riese')	
C	'Butler' und 'Ennis' 'Daviana' 'Red Filbert' (Syn. 'Rote Lambert')	'Daviana x Barcelona'
D	'Barcelona' 'Segorbe' 'Tonda gentile della Langhe' 'Tonda di Giffoni' 'Istrska okrogloplodna' 'Istrka debeloplodna'	

Nach Palmé und Vendramin³⁰⁸, basierend auf Analysen der cpDNA, ergeben sich bei der postglazialen Rekolonialisierung zwei Gruppen bei *Corylus avellana*. Einerseits zeigte sich eine Gruppe von Haselnüssen mit der Zugehörigkeit Italien und Balkan, andererseits die Gruppe der restlichen europäischen Haselnüsse. Sie führen dies auf zwei verschiedene Refugialstandorte (Süditalien und Golf von Biskaya) von *Corylus* während der Eiszeit zurück. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit von *Corylus* nach der Eiszeit von diesen Refugien aus war different.

Die Untersuchungen mittels SSR-Markern nach Gökirmak³⁰⁹ führen die Hauptgruppen A (Zentraleuropa), B (Black Sea) und C (England) auf den Refugialstandort an der atlantischen Küste (Golf von Biscaya) und dem Gebiet der Pyrenäen zurück; Sorten der Hauptgruppe D (Spanien-Italien) auf den Refugialstandort Süditalien. Der Unterschied der zentraleuropäischen Sorten zu den spanischen Sorten bzw. die Ähnlichkeit der spanischen mit den italienischen Sorten wird durch anthropogenen Einfluss (Handelsbeziehungen) im Mittelmeergebiet erklärt. Die Bewegung der Haselnuss-Sorten von Italien nach Spanien kann durch die Tatsache, dass Tarragona (spanisches Zentrum der Haselnuss-Kultivierung heute)

³⁰⁶ Gökirmak et al., 2009

³⁰⁷ Gökirmak et al., 2009

³⁰⁸ Palmé et al., 2002

³⁰⁹ Gökirmak et al., 2009

auch Hauptstadt der iberischen Halbinsel zur Zeit des Römischen Reiches war.

Die Hauptgruppen mittels SSR-Markern ³¹⁰ zu europäischen Haselnussorten konnte in der Etablierungsbereitschaft bzw. Kultivierbarkeit der ausgewählten Sorten wieder gefunden werden. Es ergab sich eine Tendenz im Aufwand der Etablierung und Kultivierung von zentraleuropäischen Sorten ('HR'), über englische Sorten ('RL'), über 'En' und 'But' (Elternsorten: 'Daviana' (englisch) x 'Barcelona' (spanisch-italienisch)) zu den Sorten der spanisch-italienischen Gruppe ('Barc', 'Seg', 'TdgL', 'TdG', 'Io' und 'Id').

Studien von Mena³¹¹ mit den Haselnuss-Sorten „Negret“, „Pauetet“ und „Gironell“ im Vergleich ergaben keine signifikanten Unterschiede. Nach Gökirmak et al. ³¹² zählen die Sorten 'Negret' und 'Pauetet' zur Negret-Gruppe und die Sorte 'Gironenc-Vermellet' (Synonyme nach Boccacci³¹³: 'Gironenc', 'Grossal', 'Grossal de Constantí', 'Gironell') zur Sant-Jaume-Gruppe. Beide Gruppen zählen zur spanisch-italienischen Hauptgruppe (D), die sich auch in den durchgeführten Untersuchungen in ihrer Etablierungsbereitschaft und Kultivierbarkeit als sehr ähnlich gezeigt haben.

Dass der Genotypus großen Einfluss auf die Etablierungsbereitschaft und Kultivierungsfähigkeit nimmt, zeigte sich bei vielen Spezies. Nicht nur Gehölze zeigen diese Abhängigkeit. Die Suche nach einer genotyp-unabhängigen Methoden für die Pflanzen-Regeneration bei Baumwolle³¹⁴ oder Untersuchungen an Englischem Weizen (*Triticum turgidum* Desf.) hinsichtlich des Einflusses des Genotyps auf die Regenerationsbereitschaft unreifer Embryos³¹⁵ sind nur zwei Beispiele.

Die Wahl einer Sorte für die Züchtung sollte nach Henry et al. ³¹⁶ eher von ackerbaulichen Überlegungen und nicht von der Kultivierbarkeit mittels Gewebekultur dominiert sein. Dennoch ist die Berechenbarkeit des Potentials einer Sorte (Etablierungsdauer, Vermehrungsrate) in der Gewebekultur rentabel vermehrt werden zu können für die kommerzielle Produktion hilfreich.

Wie sehr hier die Einflüsse auf die Kultivierbarkeit ausschließlich durch den Genotypus und die Abstammung aus einem Refugialstandort bestimmt wurden, oder aber andere Einflüsse wie Etablierungszeitpunkt, Produktionsbedingungen technischer oder anthropogener Natur, die Medienzusammensetzung oder unbekannte Faktoren einzuschätzen sind bleibt ungewiss und bieten eine Vielzahl offener Fragen für fortsetzende Untersuchungen mit *Corylus sp.*

³¹⁰ Gökirmak et al., 2009

³¹¹ Mena in Bajaj, 1989

³¹² Gökirmak et al., 2009

³¹³ Boccacci et al., 2005

³¹⁴ Mishra et al., 2002

³¹⁵ González et al., 2001

³¹⁶ Henry et al., 1994

Tab. 29:
Irrtumswahrscheinlichkeiten (α) der Mittelwerte mittels t-Test³¹⁷.

V4		Vitalität			
	687S vs. 687SP	0,1004			
V1		Farbwerte	Sprossgröße		
	SO1 vs.SO2	0,0057	0,4097		
	SO2 vs.SO3	0,0004	0,1316		
	SO1 vs.SO3	0,3150	0,5293		
V11		Qualität	Sprossgröße	Sprossspitzen	Nodienbildung
	Hipp vs. Sack	0,3145	0,8851	0,0000	0,2097
	Hipp vs. Epr.	0,1656	0,7385	0,0130	0,0093
	Sack vs. Epr.	0,9251	0,8888	0,0000	0,3983
V6		Qualität	Sprossgröße	Sprossspitzen	Nodienbildung
	698 vs. 697	0,5759	0,9144	0,3293	0,9700
V12 TR		Sprossgröße	Sprossspitzen	Nodienbildung	
	698 vs. 699	0,4130	0,3068	0,3141	
V12 TdgL		Sprossgröße	Sprossspitzen	Nodienbildung	
	698 vs. 699	0,4226	0,3785	0,4226	
V14		Nodienbildung	Sprossspitzen	Sprossgröße	Qualität
	Sp+ vs. Sp-	0,8192	0,2827	0,6686	0,4903
	Sp+ vs. N+	0,8744	0,0360	0,7991	0,6019
	Sp+ vs. N-	0,0005	0,1106	0,0041	0,0405
	Sp- vs. N+	0,9561	0,3224	0,8670	0,2129
	Sp- vs. N-	0,0000	0,0132	0,0006	0,0214
	N+ vs. N-	0,0000	0,0008	0,0023	0,0639
V10		Vitalität	Wu-Anzahl	Längste Wu.	
	513 vs. 474	0,1063	0,5612	0,7237	
V17		Längste Wu.l	Wu-Anzahl	Vitalität	
	705 vs. 706 Id	0,0195	0,0001	0,6188	
	705 vs. 706 RL	0,0950	0,0000	0,2919	
	705 vs. 706 TR	0,0003	0,0000	0,0313	

Irrtumswahrscheinlichkeit (α)		
$\leq 0,001$	= 0,1%	sicher
$\leq 0,01$	= 1%	hoch signifikant
$\leq 0,05$	= 5%	signifikant
$\leq 0,1$	= 10%	verschieden, aber nicht signifikant

³¹⁷ Sachs, 2003

LITERATURVERZEICHNIS

- Andrés, H.; Fernández, B.; Rodríguez R.; Rodríguez, A. (2002): Phytohormone content in *Corylus avellana* and their relationship to age and other developmental processes. In: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, H. 70, S. 173–180.
- Australian New Crops. Listing of Useful Plants of the World (1997). *Corylus avellana*. Online verfügbar unter <http://www.newcrops.uq.edu.au/listing/corylusavellana.htm>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Azarenko, Anita N.; Mehlenbacher, Shawn; Olsen, Jeffrey: Hazelnuts. Pollinizer Selection and Spacing. Nuts and Fruits Orchard Network for commercial growers (Oregon State University). Online verfügbar unter http://hort.oregonstate.edu/orchardnet/hazelnut/pollinizer_selection.htm, zuletzt geprüft am 24.01.2008.
- Azarenko, Anita N.; Mehlenbacher, Shawn; Smith, David; McCluskey, Rebecca: New Hazelnut Cultivars. "Clark" (OSU276.142). Online verfügbar unter <http://extension.oregonstate.edu/catalog/pdf/em/em8727-e.pdf>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Azarenko, Anita N.; Mehlenbacher, Shawn; Smith, David; McCluskey, Rebecca: New Hazelnut Cultivar. "Lewis" (OSU243.002). Online verfügbar unter <http://extension.oregonstate.edu/catalog/pdf/em/em8640-e.pdf>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Azarenko, Anita N.; Mehlenbacher, Shawn; Smith, David; McCluskey, Rebecca: Advanced Hazelnut Selections. OSU244.001.
- Bajaj, Yashpal P. S. (Hg.) (1989): *Biotechnology in agriculture and forestry*. Berlin: Springer (5).
- Baldwin, Basil (2004): The potential for hazelnut production in Australia. In: *AFBM Journal*, Jg. 1, H. 1, S. 84–92. Online verfügbar unter http://www.csu.edu.au/faculty/science/saws/afbmnetwork/afbmjournal/volume1/AFBMJournal_v01_n01_09_Baldwin.pdf, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Baldwin, Basil (2004): Hazelnuts. In: Byrne, Tony.; Bourke, Max.; Salvin, Sue. (Hg.): *The new crop industries handbook*. Canberra: Rural Industries Research and Development Corporation, S. 393–401.
- Barker, Melanie J.; Pijut, Paula M.; Ostry, Michael E.; Houston, David R. (1997): Micropropagation of juvenile and mature american beech. In: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, H. 51, S. 209–213.
- Benson, Erica B. (2000): Special Symposium: In vitro Recalcitrance: An Introduction. In: *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, Jg. 36, S. 141–148.
- Beyan, Neriman; Marangoz, Dilek (2007): An investigation of the relationship between reproductive growth and yield loss in hazelnut. In: *Scientia Horticulturae*, Jg. 113, H. 2, S. 208–215. Online verfügbar unter doi:10.1016/j.scienta.2007.02.007, zuerst veröffentlicht: 03.04.2007, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Bio-Gärtner: Haselnüsse (*Corylus*). Herausgegeben von Biogärtner. Online verfügbar unter <http://www.bio-gaertner.de/Articles/l.Pflanzen-dieDatenbank/Obstbaeume-Baumfruechte/Haselnusse.html>.
- Boccacci, P.; Akkak, A.; Botta, R. (2006): DNA typing and genetic relations among European hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars using microsatellite markers. In: *Genome*, Jg. 6, H. 49, S. 598–611.
- Bonga, J. M.; VonAderkas, P. (1992): *In vitro* culture of trees. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ (Forestry sciences, 38).

- Byrne, Tony.; Bourke, Max.; Salvin, Sue. (Hg.) (2004): The new crop industries handbook. Canberra: Rural Industries Research and Development Corporation.
- Cassells, A. C. (1997): Pathogen and microbial contamination management in micropropagation. [based on papers presented at the Second International Symposium on Bacterial and Bacteria-like Contaminants of Plant Tissue Cultures held at University College, Cork, Ireland, Sept. 1996]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers (Developments in plant pathology, 12).
- Christensen, Brian; Sriskandarajah, Sridevy; Serek, Margrethe; Müller, Renate (2008): In vitro culture of *Hibiscus rosa-sinensis* L.: Influence of iron, calcium and BAP on establishment and multiplication. In: Plant Cell, Tissue and Organ Culture, H. 93, S. 151–161.
- Coutts, Phil: The international Nut Trade. Scalzao Food Industries. Online verfügbar unter <http://www.wanatca.org.au/acotanc/Papers/Coutts-1/index.htm>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Crop Report. 2007 Hazelnut Crop Forecast Down 23 Percent (2007). Press Release. National Agricultural Statistics Service (USA-Oregon). Online verfügbar unter <http://www.westnut.com/pdfs/news/'07%20Crop%20Estimate.pdf>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Damiano, C.; Catenaro, E.; Giovinazzi, J. Fratarelli A.; Caboni, E. (2005): Micropropagation of Hazelnut (*Corylus avellana* L.). In: ISHS Acta Horticulturæ, Jg. VI International Congress on Hazelnut, H. 686.
- Diaz-Sala, Carmen; Rey, Manuel; Rodriguez, Roberto (1990): In vitro establishment of cycloclonal chain from nodal segments and apical buds of adult hazel (*Corylus avellana* L.). In: Plant Cell, Tissue and Organ Culture, H. 23, S. 151–157.
- Dittrich, Peter: Birkengewächse. Online verfügbar unter http://de.encarta.msn.com/text_761568016__1/Birkengew%C3%A4chse.html, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Dörfelt, Heinrich (1993): Ökologie der Pilze. In: Weber, Herbert; Arnold, Günter R. W. (Hg.): Allgemeine Mykologie. Mit 66 Tabellen. Jena: Fischer, S. 267ff.
- Dorn, Chad A. (1997): '97's nut market. Online verfügbar unter <http://www.allbusiness.com/wholesale-trade/merchant-wholesalers-nondurable/644333-1.html>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Driver, J. A.; Kuniyuki, A. H. (1984): In vitro propagation of Paradox walnut rootstock. In: Hort.Science, H. 19, S. 507–509.
- EPPO (1998): *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*. In: EPPO (Hg.): Distribution maps of quarantine pests for Europe. Distribution maps of quarantine pests for the European Union and for the European and Mediterranean Plant Protection Organization ; cartes de répartition géographique des organismes de quarantaine de l'Union Européenne de l'Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes. Wallingford: CABI Publ. in assoc. with the European and Mediterranean Plant Protection Organization, S. OEPP/EPPO: A2 no.134.
- EPPO (Hg.) (1998): Distribution maps of quarantine pests for Europe. Distribution maps of quarantine pests for the European Union and for the European and Mediterranean Plant Protection Organization ; cartes de répartition géographique des organismes de quarantaine de l'Union Européenne de l'Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes. Wallingford: CABI Publ. in assoc. with the European and Mediterranean Plant Protection Organization.
- EPPO (2004): Diagnostics. Diagnostic protocols for regulated pests. European and Mediterranean Plant Protection Organization. (EPPO standards). Online verfügbar unter <http://archives.eppo.org/EPPOStandards/diagnostics.htm>, zuletzt geprüft am 24.01.2008.
- Erdogan, Veli; Mehlenbacher, Shawn A. (2000): Interspecific Hybridisation in Hazelnut (*Corylus*). In: J. Amer. Soc. Hort. Sci., Jg. 125, H. 4, S. 489–497.

- Erdogan, Veli; Mehlenbacher, Shawn A.; Köksal, A. Ýlhami; Kurt, Haydar (2005): Incompatibility Alleles Expressed in Pollen of Turkish Hazelnut Cultivars. In: Turk J Biol, Jg. 29, S. 111–116.
- Ericisli, S.; Read, Paul E.; Nas, Mehmet Nuri (2001): Effect of Forcing Solution Composition on Budbreak and Shoot Elongation of four Hybrid Hazelnut Genotypes. In: ISHS Acta Horticulturæ, Jg. V International Congress on Hazelnut, H. 556, S. 259–261.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (2003): EPPO Standards - Diagnostic protocols for regulated pests. PM 7/22.
- FAS (Hg.) (?): FAS online. Hazelnut Situation and Outlook. Online verfügbar unter <http://permanent.access.gpo.gov/lps1768/www.fas.usda.gov/htp/circular/1999/99-11/hazsit.htm>, zuletzt geprüft am 31.01.2008.
- Foreign Agricultural Service/USDA (2000): China, Peoples Republic of Product Brief Hazelnut Opportunities in China. 2000. Online verfügbar unter <http://www.fas.usda.gov/gainfiles/200009/30678145.pdf>, zuletzt geprüft am 31.01.2008.
- Foreign Agricultural Service/USDA (2004): World Hazelnut Situation & Outlook. Online verfügbar unter http://www.fas.usda.gov/htp/Hort_Circular/2004/3-05-04%20Web%20Art/03-04%20Hazelnut%20Web%20Article.pdf, zuletzt geprüft am 31.01.2008.
- Frenguelli, Giuseppe; Bricchi, Emma; Romano, Bruno; Mincigrucci, Gianfranco; Ferranti, Francesco Antognozzi Evasio (1992): The role of air temperature in determining dormancy release and flowering of *Corylus avellana* L. In: Aerobiologia, Jg. 8, S. 415–418.
- Gao, X. -H; Liu, J. -N; Ling, Q. (2008): Tissue Culture and Rapid Propagation of Hybrid Hazelnut (*Corylus heterophylla* x *C. avellana*). In: Acta Hort. (ISHS), H. 771, S. 207–211. Online verfügbar unter http://www.actahort.org/books/771/771_30.htm.
- Garnica, Maria; Houdusse, Fabrice; Yvin, Jean Claude; Gaarcia-Mina, Jose M. (2009): Nitrate supply induces changes in polyamine content and ethylene production in wheat plants grown with ammonium. In: Journal of Plant Physiology, Jg. 166, S. 363–374.
- George, Edwin F.; Hall, Michael A.; Klerk, Geert-Jan De (2007): Plant Propagation by Tissue Culture. Volume 1. The Background. 3rd Edition. Dordrecht: Springer (Springer-11642 /Dig. Serial)].
- Girona, J.; Cohen, M.; Mata, M.; Marsal, J.; Miravete, C. (1994): Physiological, growth and yield responses of hazelnut (*Corylus avellana* L.) to different irrigation regimes. In: ISHS Acta Horticulturæ, Jg. III International Congress on Hazelnut, H. 351, S. 463–472.
- Gökirmak, Tufan; Mehlenbacher, Shawn A.; Bassil, Nahla V. (2009): Characterisation of European hazelnut cultivars using SSR markers. In: Genet Resour Crop Evol, H. 56, S. 147–172.
- Gonzaléz, J.M.; Frierio, E.; Jouve, N. (2001): Influence of genotype and culture medium on callus formation and plant regeneration from immature embryos of *Triticum turgidum* Desf. Cultivars. In: Plant Breeding 120, 513-517
- Grauke, L.J.; Thompson, T.E. (2003): Rootstock Development in temperate Nut Crops. In: ISHS Acta Horticulturæ, Jg. XXVI International Horticultural Congress Genetics and Breeding of Tree Fruits and Nuts, H. 622.
- Grünhage, Ludgar (2005): Klimawandel und Pflanzenphänologie in Hessen. Online verfügbar unter <http://www.hlug.de/klimawandel/inklim/dokumente/endberichte/phaenologie.pdf>, zuletzt aktualisiert am 25.08.2005, zuletzt geprüft am 25.01.2009.
- Hazarika, B. N. (2006): Morpho-physiological disorders in in vitro culture of plants. Review. In: Scientia Horticulturæ, H. 108, S. 105–120.
- Hazelnut Industry News (2002): Hazelnut Industry News. A Joint Publication of the AHPA, AHGA, and Land O'Lakes. Journal of Azerbaijan Hazelnut Industry. Online verfügbar unter <http://hostel.aznet.org/azhazelnuts/PDF/Haz%201.PDF>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.

- Hedman, Yvonne (2005): Studies of root formation of micropropagated shoots in vitro and cuttings from light treated mother plants ex vitro of Manchurian Dutchman's pipe (*Aristolochia manshuriensis*). Master thesis. Betreut von Margareta Welander und Li-Hua Zhu. Alnarp. Swedish University of Agricultural Science, Horticultural Science.
- Henry, Y.; Vain, P.; De Buyser, J. (1994) : Genetic analysis of in vitro plant tissue responses and regeneration capacities. In: *Euphytica* 79:45-58
- Jäger, Eckehart J.; Werner, Klaus; Rothmaler, Werner (2002): Gefäßpflanzen, kritischer Ergänzungsband. 9., völlig neu bearb. Aufl. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verl. (Exkursionsflora von Deutschland, 4).
- Jain, S. Mohan; Ishii, Katsuaki (2003): Micropropagation of Woody Trees and Fruits /// Micropropagation of woody trees and fruits. (Forestry Sciences). Dordrecht, Boston: Kluwer Academic Publishers (Forestry sciences, 75).
- Jakoby, William Bernard; Colowick, Sidney P.; Kaplan, Nathan O. (1979): Cell culture. New York: Academic Press (Methods in enzymology, 58).
- Janick, Jules; Moore, James N. (Hg.) (1996): Nuts. New York: Wiley (Fruit breeding / edited by Jules Janick, James N. Moore, Vol. 3).
- Jende, Andreas (2000): Untersuchungen zum Entwicklungsrhythmus und zur Kultursteuering belaubt überwinternder Stauden am Beispiel von *Aster alpinus* □Happy End□. Online verfügbar unter <http://www.edoc.hu-berlin.de/dissertationen/jende-andreas-2000-03-23/PDF/Jende.pdf>, zuletzt aktualisiert am 19.06.2000, zuletzt geprüft am 25.01.2009.
- Kadolsky, Marianne (12.07.2007): Kryokonservierung und in vitro Kultur von *Pyrus pyraeaster* (L.) BURGSD. und *Sorbus torminalis* (L.) CRANTZ. Berlin. Humboldt-Universität Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät. Online verfügbar unter <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/kadolsky-marianne-2006-07-21/PDF/kadolsky.pdf>, zuletzt geprüft am 25.01.2009.
- Köksal, A. Ýlhami (2000): Inventory of hazelnut research, germplasm and references. Herausgegeben von A. Ýlhami Köksal. FAO Regional office for Europe. (REU Technical Series, No.56). Online verfügbar unter <http://www.fao.org/docrep/003/X4484E/X4484E00.HTM>, zuletzt aktualisiert am 23.01.2008, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Kreckl, Wolfgang; Poschenrieder, Georg; Theil, Sigrid; Kraus, Josef (10-2006): LfL - Haselnussanbau in Bayern - Pflanzenschutzfragen. Herausgegeben von LfL Bayern. BayStMLF. Online verfügbar unter <http://www.lfl.bayern.de/ips/erwerbsobstbau/15573/index.php>, zuletzt geprüft am 27.12.2008.
- Le noisetier (2004). Paris: Éd. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes (Monographie).
- Liu, Ji-Hong; Honda, Chikako; Moriguchi, Takaya (2006): REVIEW Involvement of Polyamine in Floral and Fruit Development. In: *JARQ*, Jg. 40, H. 1, S. 51–58.
- Lloyd, G.; McCown, B. (1980): Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society, H. 30, S. 421–427.
- Marschner, Horst (1995): Mineral Nutrition of Higher Plants. Second Edition. London: Academic Press.
- Maurer, K.J. (1982): Schalenobst- Anbau. Walnuß, Haselnuß, Edelkastanie, Mandel. (Broschiert): Ulmer Eugen Verlag.
- Mehlenbacher, Shawn A. (1994): Genetic Improvement of the Hazelnut. In: *ISHS Acta Horticulturae*, Jg. III International Congress on Hazelnut, H. 351.
- Mingeau, M.; Ameglio, T.; Pons, B.; Rousseau, V. (1994): Effects of Water Stress on Development Growth and Yield of Hazelnut Trees. In: *ISHS Acta Horticulturae*, Jg. III International Congress on Hazelnut, H. 351, S. 305–315.

- Mishra, Rajiv; Wang, Huai-Yu; Yadav, Neelam R.; Wilkins; Thea A. (2003): Development of a highly regenerable elite Acala cotton (*Gossypium hirsutum* cv. Maxxa) – a step towards genotype-independent regeneration. In: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 73:21-35
- Moes, Danièle (2006): Signaltransduktion des Phytohormons Abscisinsäure: Rolle der nukleären Lokalisation der Proteinphosphatase ABI1. Dissertation. München. Technischen Universität, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt. Online verfügbar unter <http://mediatum2.ub.tum.de/doc/603776/document.pdf>, zuletzt geprüft am 28.12.2008.
- Murashige, T.; Skoog, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. In: *Physiologia Plantarum*, Jg. 15, S. 473–497.
- Nas, Mehmet Nuri (2004): Inclusion of Polyamines in the Medium Improves Shoot Elongation in Hazelnut (*Corylus avellana* L.) Micropropagation. In: *Turk J Agric For*, Jg. 28, S. 189–194.
- Nas, Mehmet Nuri; Read, Paul E. (2001): Micropropagation of Hybrid Hazelnut: Medium Composition, Physical State and Iron Source affect Shoot Morphogenesis, Multiplication and Explant Vitality. In: *ISHS Acta Horticulturae*, Jg. V International Congress on Hazelnut, H. 556, S. 251–258.
- Nas, Mehmet Nuri; Read, Paul E. (2003): Ex Vitro Survival of Hybrid Hazelnut Shoots Produced In Vitro. In: *ISHS Acta Horticulturae*, Jg. I International Symposium on Acclimatization and Establishment of Micropropagated Plants, H. 616, S. 215–219.
- Nas, Mehmet Nuri; Read, Paul E. (2004): A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. In: *Scientia Horticulturae*, Jg. 101, H. 1-2, S. 189–200.
- Neumann, Karl Hermann (1995): Pflanzliche Zell- und Gewebekulturen. Eine Einführung ; 72 Tabellen. Stuttgart: Ulmer (UTB für Wissenschaft Uni-Taschenbücher, 1869).
- Noisetier (*Corylus avellana*). Liste de noisetiers (ou coudrier) anciens et courant encore commercialisés. Online verfügbar unter <http://www.pommiers.com/noisetier/noisette.htm>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- OSUE: An Online Guide to Plant Disease Control. Herausgegeben von Oregon State University Extension. Online verfügbar unter http://plant-disease.ippc.orst.edu/plant_searchResults.cfm?search_str=h&host_alpha=Select&host_text=h&submit=++Go%21, zuletzt geprüft am 24.01.2008.
- Palmé, A.E.; Vendramin, G.G. (2002): Chloroplast DNA variation, postglacial recolonization and hybridization in hazel, *Corylus avellana*. In: *Molecular Ecology*, 11, 1769-1779
- Papadakis, Anastasia K.; Roubelakis-Angelakis, Kalliopi A. (2005): Polyamines inhibit NADPH oxidase-mediated superoxide generation and putrescine prevents programmed cell death induced by polyamine oxidase-generated hydrogen peroxide. In: *Planta*, H. 220, S. 826–837.
- Perez, Cesar; Rodriguez, Roberto; Tamés, Ricardo S. (1985): "In vitro" filbert (*Corylus avellana* L.) micropropagation from shoot and cotyledonary node segments. In: *Plant Cell Reports*, H. 4, S. 137–139.
- Pérez-Tornero, o.; López, J.M.; Egea, J.; Burgos, L.; (2000): Effect of basal media and growth regulators on the in vitro propagation of apricot (*Prunus armenica* L.) cv. Canino. In: *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, Jg. 75, H. 3, S. 283–286.
- Pérez-Tornero, Olaya; Burgos, Lorenzo (2000): Different media requirements for micropropagation of apricot cultivars. In: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, H. 63, S. 133–141.
- Peternel, Spela; Gabrovsek, Karin; Gogala, Nada; Regvar, Marhjana (xxx): In vitro propagation of European aspen (*Populus tremula* L.) from axillary buds via organogenesis. In: *Scientia Horticulturae*, Jg. 2009, H. xxx, S. xxx.

- Plant profile - Hazelnut. Online verfügbar unter <http://cropandsoil.oregonstate.edu/classes/css430/lecture1-08/hazelnutfinal.pdf>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Ponce, Maria Theresa; Guinazu, Monica Elisabeth; Tizio, Ricardo (2002): Improved in vitro embryo development of stenospemic grape by putrescine. Brief Note. In: BIOCELL, Jg. 26, H. 2, S. 263–266. Online verfügbar unter http://www3.cricyt.edu.ar/biocell/vol/pdf/26_2/08.pdf.
- Pscheidt, Jay W.; Ocamb, Cynthia M.: Introduction, An Online Guide to Plant Disease Control, Oregon State University. Herausgegeben von Oregon State University Extension. Online verfügbar unter <http://ipmnet.org/plant-disease/intro.cfm>, zuletzt geprüft am 27.12.2008.
- Reed, Barbara M.; Mentzer, Jessica; Tanprasert, Piyarak; Yu, Xiaoling (1998): Internal bacterial contamination of micropropagated hazelnut: identification and antibiotic treatment. In: Plant Cell, Tissue and Organ Culture, H. 52, S. 67–70.
- Rey, Manuel; Diaz-Sala, Carmen; Rodriguez, Roberto (1994): Polyamines as markers for juvenility in fibert. In: ISHS Acta Horticulturae, Jg. III International Congress on Hazelnut, H. 351, S. 233–238.
- Rey, Manuel; Diaz-Sala, Carmen; Rodriguez, Roberto (1994): Exogenous polyamines improve rooting of hazel microshoots. In: Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Jg. 36, H. 3, S. 303–308.
- Rieger, Marc (2008): Hazelnut or Fibert - *Corylus avellana* L. Online verfügbar unter <http://www.uga.edu/fruit/hazelnut.html>, zuletzt aktualisiert am 23.01.2008.
- Romano, A.; Martins-Loucao, M. A. (1992): Micropropagation of mature Cork-Oak (*Quercus suber* L.): Establishment Problems. In: Scientia gerundensis, H. 18, S. 17–27.
- Rutter, Philip A. (2005): Hybrid Hazelnut Handbook. Badgersett Research Corporation (USA). Online verfügbar unter <http://www.badgersett.com/HazHandbook1.html>, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- Sachs, Lothar; (2003): Angewandte Statistik: Anwendung statistischer Methoden. 11.Aufl.: Springer Verlag
- Santanen, Arja (2000): POLYAMINE METABOLISM DURING DEVELOPMENT OF SOMATIC AND ZYGOTIC EMBRYOS OF PICEA ABIES (NORWAY SPRUCE). Dissertation. Helsinki. University of Helsinki, Department of Biosciences, Division of Plant Physiology. Online verfügbar unter <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/mat/bioti/vk/santanen/polyamin.pdf>, zuletzt geprüft am 28.12.2008.
- Scortichini, Marco (2002): Bacterial Canker and Decline of European Hazelnut. In: Plant Disease, Jg. 86, H. 7, S. 704–709. Online verfügbar unter <http://www.apsnet.org/pd/pdfs/2002/0430-01F.pdf>, zuletzt geprüft am 24.01.2008.
- Skuhřavý, V.; Zúmr, V. (1978): Zur Migration der Nonnenmännchen (*Lymantria monacha* L.), untersucht durch Markierung und Fang an Pheromon-Lockfallen. In: Journal of Pest Science, Jg. Volume 51, H. 3, S. 39–42.
- Smith, Roberta H. (2000): Plant tissue culture. Techniques and experiments. 2nd ed. San Diego: Academic Press.
- Snare, Lester N. (1998): Hazelnut production. Agfact H3.1.49 (second edition). Online verfügbar unter www.agric.nsw.gov.au/reader/deciduous-fruits/h3149-hazelnut-production.htm, zuletzt aktualisiert am 08.12.2004, zuletzt geprüft am 11.02.2006.
- Solar, A.; Smole, J.; Stampar, F. (1994): Investigations of different methods of propagation of hazelnut (*Corylus avellana* L.). In: ISHS Acta Horticulturae, Jg. III International Congress on Hazelnut, H. 351.
- Stoll, Karl; Gremminger, Ulrich (1986): Besondere Obstarten. Vom Reichtum seltener, südländischer und wildwachsender Früchte. Stuttgart: Ulmer.

- Strauß, Eduard; Nowak, Rudolf (1998): Obstbau-Praxis. Anlage, Pflege, Ernte, Lagerung, Sorten. 2., überarb. Aufl. Wien: Österr. Agrarverl.
- Thompson, M.M.; Lagerstedt, H.B.; Mehlenbacher, Shawn A. (1996): Hazelnuts. In: Janick, Jules; Moore, James N. (Hg.): Nuts. New York: Wiley (Fruit breeding / edited by Jules Janick, James N. Moore, Vol. 3), Bd. 3, S. 125–184.
- Tytti, Sarjala; Seppo, Kaunisto (2002): Potassium nutrition and free polyamines of *Betula pendula* Roth and *Betula pubescens* Ehrh. In: Plant and Soil, H. 238, S. 141–149.
- Universität für Bodenkultur (Hg.) (2009): Zeigerwerte nach Ellenberg. Online verfügbar unter <http://statedv.boku.ac.at/zeigerwerte>, zuletzt aktualisiert am 20.03.2009, zuletzt geprüft am 20.03.2009.
- Weber, Herbert; Arnold, Günter R. W. (Hg.) (1993): Allgemeine Mykologie. Mit 66 Tabellen. Jena: Fischer.
- www.eflora.org (2008): Flora of North America. 5. *Corylus*. Online verfügbar unter http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=108088, zuletzt aktualisiert am 23.01.2008, zuletzt geprüft am 23.01.2008.
- ZAMG (2008): Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik (ZAMG). Herausgegeben von Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik (ZAMG). Online verfügbar unter <http://www.zamg.ac.at/>, zuletzt aktualisiert am 20.03.2009, zuletzt geprüft am 24.03.2009.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: (links): Habitus der Sorte 'Seg' mit steiler und aufrechter Struktur. Im April 2005 sind nur wenige männliche Infloreszenzen zu bemerken.	2
Abb. 2: (rechts): Habitus der Sorte 'MdB' mit weit ausladender Krone mit vielen weiblichen und männlichen Blütenständen im April 2005.	2
Abb. 3: (links): Weibliche und männliche Infloreszenzen der Sorte 'En' (März 2005).	3
Abb. 4: (Mitte): Männliche Blüte im Detail der Sorte 'RL' (März 2005).	3
Abb. 5: (rechts): Weibliche Blüte im Detail der Sorte 'TgdL' (März 2005).	3
Abb. 6: Wichtige Produktionsländer und ihre Verteilung vor 2000.	13
Abb. 7: Produktionsanstieg bis 2002 ausgewählter Länder (Türkei, Italien).	14
Abb. 8: Haselnuss-Produktion und jährliche Schwankungen in ausgewählten Ländern bis 2005.	15
Abb. 9: Schematische Zusammenfassung der verschiedenen Verfahren der Zell- und Gewebekulturtechnik und einige Anwendungsmöglichkeiten.	16
Abb. 10 (links): 10 Tage forcierte Triebe der Sorte 'lo' (Dez. 2005).	35
Abb. 11 (Mitte): 10 Tage forcierte Triebe der Baumhasel (Dez. 2005).	35
Abb. 12 (rechts): Frisch geschnittene Triebe verschiedener Sorten (Feb. 2006).	35
Abb. 13 (links): Ruhende Knospen der Sorte 'En' (Feb. 2006).	35
Abb. 14 (rechts): Forcierte Knospen der Sorte 'lo' nach 10 Tagen (Dez. 2005).	35
Abb. 15 (links): Vorbereitungen zur Oberflächensterilisation.	35
Abb. 16 (rechts): Ruhende, axilläre Knospen der Sorte 'MdB' (Dez. 2005).	35
Abb. 17: Spülen der geschnittenen Knospen vor der eigentlichen Oberflächendesinfektion.	36
Abb. 18: Strukturformel Thimerosal	37
Abb. 19 (links): Oberflächensterilisation der Explantate mit Hg-Merthiolat in der Steril-Werkbank.	38
Abb. 20 (rechts): Aufbewahrung der Explantate bis zur Weiterverarbeitung in MS-Startlösung.	38
Abb. 21 (links): Entfernung der verholzten Bereiche.	38
Abb. 22 (rechts): Befreiung des Apikalmeristems von Blattprimordien.	38
Abb. 23 (links): Entfernung aller losen Teile.	39
Abb. 24 (rechts): Apikalmeristem nach der Präparation	39
Abb. 25: Startröhrchen: Apikalmeristeme im Etablierungsmedium für V15	39
Abb. 16: Struktur und Funktion von Pflanzenhormonen.	41
Abb. 27 (links): Micro-Sack; 'RL'	45
Abb. 28 (Mitte): Hipp-Kulturglas; 'TR'	45
Abb. 29 (rechts): Röhrchen; 'TdG', 'TdgL'	45
Abb. 30: Kulturraum und Kulturführung von <i>Corylus sp.</i> der Fa. Vitroplant, Korneuburg	46
Abb. 31 (links): Schema der Vermehrungsschnittführung von Sprossunterteilen mit Kallusgewebe.	47
Abb. 32 (rechts): Schema der Schnittführung bei großen Mikrosprossen	47
Abb. 33: V0 Überlebensrate (%) der getesteten Sorten	54
Abb. 34: V0 Sorte 'lo' (Med. 687) 2 Wochen nach der Oberflächen-Desinfektion.	54
Abb. 35: V0 Sorte 'lo' (Med. 687) Verbräunung der Explantate.	54
Abb. 36: V4 Überlebensrate (%) mit und ohne Putrescin im Medium 687 + Sequestren@138.55	
Abb. 37: V8 Überlebensrate und Ausfälle (%) nach 34 Tagen der getesteten Sorten sowie der Durchschnitt aller Sorten (MW).	56
Abb. 38: V8 Überlebensrate und Ausfallrate (%) nach 10, 20 und 34 Tagen sowie der Durchschnitt aller Sorten (MW).	57
Abb. 39: V15 Überlebensrate (%) verschiedener Sorten nach den Protokollen der Versuchsgruppen A1, A2, B1, B2.	58
Abb. 40: V15 Mittlere Überlebensrate (%) aller Sorten (<i>C. avellana</i>).	59
Abb. 41: V15 Überlebensrate (%) bei <i>C. colurna</i> .	59
Abb. 42: V15 Überlebensrate (%) der Sorten von <i>C. avellana</i> und <i>C. colurna</i> Sowie der Durchschnitt aller Sorten von <i>C. avellana</i> .	60
Abb. 43: Flächen der Antwortgrößen (%) auf die Überlebensrate.	60
Abb. 44: V20 Überlebensrate (%) verschiedener Sorten im modifizierten Etablierungsprotokoll sowie der Durchschnitt aller Sorten (MW).	61

Abb. 45: Überlebensrate (%) aller Startversuche bezogen auf den Reisererntetermin.	63
Abb. 46: Überlebensrate (%) beeinflusst vom Reisererntetermin der Sorten 'lo', 'En' und 'MdB'.	63
Abb. 47: Überlebensrate (%) bei unterschiedlichem Knospenzustand.	64
Abb. 48: Überlebensrate (%) verschiedener Sorten im Hinblick auf die Hg-Merthiolat-Behandlungsdauer.	65
Abb. 49: Überlebensrate (%) der Explantate im Medium mit und ohne Sequestren@138.	66
Abb. 50: Überlebensrate (%) der Sorte 'lo' auf drei Etablierungsmedien.	67
Abb. 51 (links): Pflanze der Sorte 'TR' in Med. 686 ohne Sequestren@138. An den Blattränder, am Appex und bei Berührung des Mediums erscheinen Nekrosen.	67
Abb. 52 (rechts): Pflanze der Sorte 'TR' in Med. 698 mit Sequestren@138 ohne Nekrosen und mit großer Vitalität.	67
Abb. 53: V1 Farbwerte (\bar{x} , 1-4) als Qualitätsmerkmal bei Explantaten mit unterschiedlichem Lichtangebot (SO1, SO2, SO3).	70
Abb. 54: V1 Anteile der Farbwerte (%) in Abhängigkeit von Lichtintensität und Qualität der Standorte 1,2 und 3.	71
Abb. 55: V1 Sprossgröße (\bar{x} , cm) in Abhängigkeit vom Standort (MW der Versuchsgruppen).	71
Abb. 56: V1 Verteilung der Sprossgrößenanteile (%) bei unterschiedlicher Lichtintensität und Lichtqualität.	72
Abb. 57: V1 Vermehrungsrate (VR) und die Verteilung der Absolutwerte der Ausgangsmenge (Basis) und der Produkte der Vermehrung bei unterschiedlichen Lichtverhältnissen.	73
Abb. 58: V2 Anzahl der Sprossspitzen (\bar{x} , inkl. der ursprünglich umgelagerten Sprossspitzen) nach fünf und sieben Wochen.	75
Abb. 59: V2 Anzahl der gebildeten Nodien (\bar{x} , inkl. der ursprünglichen drei Nodien) nach fünf und sieben Wochen.	75
Abb. 60 (links): V2 Sprossgröße (\bar{x} , cm, inkl. der urspr. Sprossgröße) nach fünf und sieben Wochen.	76
Abb. 61 (rechts): V2 Sprossgröße (\bar{x} , cm) im Zeitverlauf von sieben Wochen in den KG „Hipp“, „Dose“ und „Sack“.	76
Abb. 62 (oben, links): V11 Sprossgröße (\bar{x} , cm, inkl. der urspr. Sprossgröße) nach sechs Wochen.	79
Abb. 63 (oben, rechts): V11 Nodienanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Nodienanzahl) nach sechs Wochen.	79
Abb. 64 (unten, links): V11 Sprossspitzenanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Sprossspitzen) nach sechs Wochen.	79
Abb. 65 (unten, rechts): V11 Qualität (Gesamteindruck bei der visuellen Bonitur) (1-4) der Pflanzen nach sechs Wochen in den unterschiedlichen KG „Hipp“, „Sack“ und „Epreuve“.	79
Abb. 66 (oben, links): V11 Sprossgröße (\bar{x} , cm, inkl. der urspr. Sprossgröße) nach zwölf Wochen.	81
Abb. 67 (oben, rechts): V11 Nodienanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Nodienanzahl) nach zwölf Wochen.	81
Abb. 68 (unten, links): V11 Sprossspitzenanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Sprossspitzen) nach zwölf Wochen.	81
Abb. 69 (unten, rechts): V11 Qualität (Gesamteindruck bei der visuellen Bonitur) (1-4) der Pflanzen nach zwölf Wochen in Medium mit und ohne Putrescin.	81
Abb. 70: Vermehrungsrate unter Einfluss von Putrescin als Mediumzusatz bei der Sorte 'TR'.	82
Abb. 71: V7 Nodienzuwachs (\bar{x} , inkl. ursprünglich zwei Nodien) auf unterschiedlichen Medien.	83
Abb. 72 (links): V7 Pflanze mit Kalluswucherung der Sorte 'TR' in Medium 82.	84
Abb. 73 (Mitte): V7 Pflanze ohne Entwicklung der Sorte 'TR' in Medium 82 MZ.	84
Abb. 74 (rechts): V7 Pflanze schlechter Konstitution der Sorte 'TR' in Medium 695.	84
Abb. 75: V7 Qualität und Farbwerte (\bar{x}) der Sorte 'TR' auf unterschiedlichen Medien.	84
Abb. 76 (links): V7 Nekrotische Pflanze der Sorte 'TR' in Medium 684.	85
Abb. 77 (Mitte): V7 Pflanze ohne sichtbarer Veränderung seit der Umlagerung der Sorte 'TR' in Medium 93.	85
Abb. 78 (rechts): V7 Pflanze der Sorte 'TR' in Medium 690 mit schwacher Konstitution.	85
Abb. 79 (links): V7 Vitale, kräftige Pflanze der Sorte 'TR' in Medium 698.	86
Abb. 80 (rechts): V7 Vitale, kräftige Pflanze der Sorte 'TR' in Medium 699.	86

Abb. 81: Vermehrungsrate auf unterschiedlichen Medien.	86
Abb. 82: V12 Sprossgröße (\bar{x} , cm) in Abhängigkeit von Medien mit unterschiedlicher Zuckerkombination bei unterschiedlichen Sorten.	87
Abb. 83: V12 Anzahl der Sprossspitzen (\bar{x}) in Abhängigkeit von Medien mit unterschiedlicher Zuckerkombination bei unterschiedlichen Sorten.	88
Abb. 84: V12 Anzahl der Nodien (\bar{x}) in Abhängigkeit von Medien mit unterschiedlicher Zuckerkombination bei unterschiedlichen Sorten.	88
Abb. 85 (oben, links): V14 Sprossgröße (\bar{x} , cm, inkl. der urspr. Sprossgröße) nach sechs Wochen.	90
Abb. 86 (oben, rechts): V14 Nodienanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Nodienanzahl) nach sechs Wochen.	90
Abb. 87 (unten, links): V14 Sprossspitzenanzahl (\bar{x} , inkl. der urspr. Sprossspitzen) nach sechs Wochen.	90
Abb. 88 (unten, rechts): V14 Qualität (Gesamteindruck bei der visuellen Bonitur 1-4) der Pflanzen nach sechs Wochen von unterschiedlichem Vermehrungsmaterial (Spitzen mit und ohne Kallus, N mit und ohne Kallus).	90
Abb. 89: V14 Einfluss des Vermehrungsmaterial auf die Vermehrungsrate (VR) bei der Sorte 'RL'.	91
Abb. 90: V14 Pflanzen der Sorte 'RL' im Kulturgefäß „M-Sack“ (Medium 698) nach 1 Woche Kultivierungsdauer des Vermehrungsmaterials „Spitzen mit Kallusanteil“.	92
Abb. 91: V14 Pflanzen der Sorte Sorte 'RL' im Kulturgefäß „M-Sack“ (Medium 698) nach 4 Wochen Kultivierungsdauer des Vermehrungsmaterials „Spitze ohne Kallus“.	92
Abb. 92 (oben, links): V10 Vitalität (1-4) der Sorte 'TR' nach der Bewurzelung auf den Medien 513 und 474.	94
Abb. 93 (oben, rechts): V10 Bewurzelungsraten (%) der Sorte 'TR' nach der Bewurzelung auf den Medien 513 und 474.	94
Abb. 94 (unten, links): V10 Gebildete Wurzelanzahl (\bar{x}) pro Pflanze aller bewurzelten Pflanzen der Sorte 'TR' nach der Bewurzelung auf den Medien 513 und 474.	94
Abb. 95 (unten, rechts): V10 Längste Wurzel (\bar{x}) pro Pflanze aller bewurzelter Pflanzen nach der Bewurzelung auf den Medien 513 und 474.	94
Abb. 96 (oben, links): V17 Vitalität (1-4) von 3 Sorten nach 28 Tagen Bewurzelung auf den Medien 705 und 706.	96
Abb. 97 (oben, rechts): V17 Bewurzelungsraten (%) von 3 Sorten nach 28 Tagen Bewurzelung auf den Medien 705 und 706.	96
Abb. 98 (unten, links): V17 Wurzelanzahl (\bar{x}) pro Pflanze aller bewurzelter Pflanzen von 3 Sorten nach 28 Tagen Bewurzelung auf den Medien 705 und 706.	96
Abb. 99 (unten, rechts): V17 Längste Wurzel (\bar{x}) pro Pflanze aller bewurzelter Pflanzen von 3 Sorten nach 28 Tagen Bewurzelung auf den Medien 705 und 706.	96
Abb. 100 (links): V17 Vitale Pflanzen der Sorte 'TR' im Med. 706.	97
Abb. 101 (Mitte): V17 Bewurzelte Pflanzen der Sorte 'TR' im Med. 705.	97
Abb. 102 (rechts): V17 Am Medium aufliegende Wurzeln bei Pflanzen der Sorte 'TR' auf Med. 705.	97
Abb. 103 (links) V17 „Längste Wurzel“ der bewurzelten Pflanze der Sorte 'RL' von Med. 706.	97
Abb. 104 (rechts): V17 Unbewurzelte Pflanzen der Sorte 'RL' von Med. 706.	97
Abb. 105: Auswaschen der bewurzelten Pflanzen in Wasser.	98
Abb. 106: Bewurzelte Pflanzen der Sorten 'TR' (oben) und 'RL' (unten) aus den Medien 705 (rechts) und 706 (links).	98
Abb. 107 (links): Pikieren der Versuchspflanzen aus V17.	99
Abb. 108 (rechts): Pikierte Pflanzen der Sorte 'TR' nach 5 Stunden.	99
Abb. 109: Pflanzen zur Akklimatisierung im Nebeltunnel aus V17	99

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Häufige und weniger häufige tierische Schädigungen an der Pflanze und den Früchten.	7
Tab. 2: Pilzkrankungen der Haselnuss 1	8
Tab. 3: Pilzkrankungen der Haselnuss 2 (Fortsetzung zu Tab. 2).	9
Tab. 4: Schädigungen an der Nussfrucht durch Pilzinfektionen.	9
Tab. 5: Bakteriosen bei <i>C. avellana</i> .	9
Tab. 6: Virosen bei <i>C. avellana</i> .	10
Tab. 7: Physiologische Schädigungen und Erkrankungen unbekanntes Ursprungs.	10
Tab. 8: Auswahl der untersuchten Sorten mit einem relativen Ranking ihrer Anfälligkeit für Eastern Filbert Blight. Erstellt durch Beobachtungsdaten aus Vancouver.	33
Tab. 9: Übersicht zur Pollen-Kompatibilität (grün: Pollination möglich, rot: Pollination nicht möglich.; grau: keine Daten vorhanden, gelb: Selbstbefruchtung möglich) mit Angabe der zitierten Publikation.	34
Tab. 10: Verwendete Regulatoren, Abkürzungen und Hersteller.	42
Tab. 11: Chemikalienliste und Beispiele entsprechender Produkte.	44
Tab. 12: Kulturgefäße, Typbezeichnung und Hersteller.	45
Tab. 13: Versuchsplan der Etablierungsphase (V0, V4, V8, V15, V20).	48
Tab. 14: Versuchsplan der Vermehrungsphase (V1, V2, V6, V11, V7, V12, V14)	49
Tab. 15: Versuchsplan der Bewurzelungsphase (V10, V17).	50
Tab. 16: Ergebnisse der Etablierungsphase für die Versuche V0, V4, V8, V15, V20.	52
Tab. 17: Ergebnisse der Multiplikationsphase für die Versuchskodes V1, V2, V6, V7, V11, V12, V14.	68
Tab. 18: V1 Einfluss von Lichtqualität und Lichtintensität auf die Vermehrungsrate und Qualität der Pflanzen.	69
Tab. 19: V2 Verwendete Kulturgefäße (KG) und Angaben zur Mediummenge und Pflanzenanzahl pro KG, Gesamtanzahl der einzelnen KG und Pflanzenanzahl je Versuchsgruppe.	74
Tab. 20: V2 Gewichtete Rangsummen zu den Qualitätsparametern nach fünf und sieben Wochen der Kulturgefäße „Hipp-Glas“, „KS-Dose“ und „M-Sack“.	77
Tab. 21: V2 Bewertung der KG nach Qualitätsparametern und dem Faktor „Wirtschaftlichkeit“.	77
Tab. 22: V11 Verwendete Kulturgefäße (KG) und Angaben zur Mediummenge und Pflanzenanzahl pro KG, Gesamtanzahl der einzelnen KG und Pflanzenanzahl je Versuchsgruppe.	78
Tab. 23: V6 Medienzusammensetzung	80
Tab. 24: V7 – Zusammensetzung der Medien, Wachstumsregulatoren in mg l ⁻¹ .	83
Tab. 25: Ergebnisse der Bewurzelungsphase für die Versuchskodes V10, V17.	93
Tab. 26: V10 Medienzusammensetzung	95
Tab. 27: Bewertung aller verwendeten KG nach Qualitätsparametern und den Faktoren Platzbedarf (KG) pro Pflanze, Mediummenge pro Pflanze und „Wirtschaftlichkeit“.	113
Tab. 28: Zuordnung ausgewählter Sorten zur geographischen Hauptgruppe nach Gökirmak et al..	120
Tab. 29: Irrtumswahrscheinlichkeiten (α) der Mittelwerte mittels t-Test.	VII

Medienrezepturen

mg l ⁻¹		DKW ³¹⁸	WPM ³¹⁹	MS ³²⁰	M 2 ³²¹ Pérez- Tornero	Molt ³²²
Macros	KNO ₃			1.900 mg		
	NH ₄ NO ₃	1.417 mg	400 mg	1650 mg	800 mg	800 mg
	MgSO ₄ x 7H ₂ O	740 mg	370 mg	370 mg	740 mg	555 mg
	K ₂ SO ₄	1.560 mg	990 mg			990 mg
	KH ₂ PO ₄	265 mg	170 mg	170 mg	340 mg	217,5 mg
CaCl₂	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	149 mg	96 mg	440 mg	192 mg	96 mg
	Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	1.960 mg	556 mg		1112 mg	1968 mg
Micros	ZnSO ₄ x 7 H ₂ O		8,6 mg	8,6 mg	17 mg	
	Zn(NO ₃) ₂ x 6 H ₂ O	17 mg				13 mg
	H ₃ BO ₃	4,8 mg	6,2 mg	6,2 mg	4,8 mg	5,5 mg
	MnSO ₄ x H ₂ O	33,8 mg	22,3 mg	16,9 mg	33,5 mg	27,3 mg
	CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,25 mg	0,25 mg	0,03 mg	0,25 mg	0,25 mg
	Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,39 mg	0,25 mg	0,25 mg	0,39 mg	0,25 mg
	CoCl ₂ x 6 H ₂ O			0,03 mg		
	KI			0,83 mg		
	NiSO ₄ x 7 H ₂ O					0,005 mg
Vitamine	Glycin	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg
	Nicotinsäure	1 mg	0,5 mg	0,5 mg	1 mg	1 mg
	Pyridoxid x HCl		0,5 mg	0,5 mg		
	Thiamine x HCl	2 mg	1 mg	0,2 mg	2 mg	2 mg
	Myo-Inositol	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
Eisen	FeSO ₄ x 7 H ₂ O		27,85 mg	27,85 mg	33,8 mg	27,8 mg
	Na ₂ EDTA x 2 H ₂ O		37,25 mg	37,25 mg	50,26 mg	37,3 mg

³¹⁸ Driver, Kuniyuki 1984

³¹⁹ Lloyd, McCown 1980

³²⁰ Murashige, Skoog 1962

³²¹ PÉREZ-TORNERO et al. 2000

³²² Damiano et al. 2005

	mg l ⁻¹	687	687S = 707	687SP
BASIS		M 2	M 2	M 2
VERW.		Start	Start	Start
Macros	KNO ₃			
	NH ₄ NO ₃	800 mg	800 mg	800 mg
	MgSO ₄ x 7H ₂ O	740 mg	740 mg	740 mg
	K ₂ SO ₄			
	KH ₂ PO ₄	340 mg	340 mg	340 mg
CaCl₂	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	192 mg	192 mg	192 mg
	Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	1.112 mg	1.112 mg	1.112 mg
Micros	ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	17 mg	17 mg	17 mg
	Zn(NO ₃) ₂ x 6 H ₂ O			
	H ₃ BO ₃	4,8 mg	4,8 mg	4,8 mg
	MnSO ₄ x H ₂ O	33,5 mg	33,5 mg	33,5 mg
	CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,25 mg	0,25 mg	0,25 mg
	Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,39 mg	0,39 mg	0,39 mg
	CoCl ₂ x 6 H ₂ O			
	KI			
	NiSO ₄ x 7 H ₂ O			
Vitamine	Glycin	2 mg	2 mg	2 mg
	Nicotinsäure	1 mg	1 mg	1 mg
	Pyridoxid x HCl			
	Thiamine x HCl	2 mg	2 mg	2 mg
	Myo-Inositol	100 mg	100 mg	100 mg
Eisen	FeSO ₄ x 7 H ₂ O	33,8 mg		
	Na ₂ EDTA x 2 H ₂ O	50,26 mg		
	Sequestren 138		200 mg	200 mg
WReg.	IBA	0,04 mg	0,04 mg	0,04 mg
	BAP	0,5 mg	0,5 mg	0,5 mg
	GA ₃	0,05 mg	0,05 mg	0,05 mg
	PUT			65 mg
Zucker	Saccharose	30.000 mg	30.000 mg	30.000 mg
GB	Gelrite			
	B&V Agar	6.000 mg	6.000 mg	6.000 mg
	Merck			
pH		5,7	5,7	5,7

	mg l ⁻¹	686	697	698	699
BASIS		Molt	686	686	698
VERW.		Verm.	Verm.	Verm.	Verm.
Macros	KNO ₃				
	NH ₄ NO ₃	800 mg	800 mg	800 mg	800 mg
	MgSO ₄ x 7H ₂ O	550 mg	550 mg	550 mg	550 mg
	K ₂ SO ₄	990 mg	990 mg	990 mg	990 mg
	KH ₂ PO ₄	217,5 mg	217,5 mg	217,5 mg	217,5 mg
CaCl₂	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	96 mg	96 mg	96 mg	96 mg
	Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	1.968 mg	1.968 mg	1.968 mg	1.968 mg
Micros	ZnSO ₄ x 7 H ₂ O				
	Zn(NO ₃) ₂ x 6 H ₂ O	13 mg	13 mg	13 mg	13 mg
	H ₃ BO ₃	5,5 mg	5,5 mg	5,5 mg	5,5 mg
	MnSO ₄ x H ₂ O	27,3 mg	27,3 mg	27,3 mg	27,3 mg
	CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,25 mg	0,25 mg	0,25 mg	0,25 mg
	Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,25 mg	0,25 mg	0,25 mg	0,25 mg
	CoCl ₂ x 6 H ₂ O				
	KI				
	NiSO ₄ x 7 H ₂ O	0,01 mg	0,01 mg	0,01 mg	0,01 mg
Vitamine	Glycin	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg
	Nicotinsäure	1 mg	1 mg	1 mg	1 mg
	Pyridoxid x HCl				
	Thiamine x HCl	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg
	Myo-Inositol	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
Eisen	FeSO ₄ x 7 H ₂ O	27,85 mg			
	Na ₂ EDTA x 2 H ₂ O	37,25 mg			
	Sequestren 138		200 mg	200 mg	200 mg
WReg.	IBA	0,01 mg	0,01 mg	0,01 mg	0,01 mg
	BAP	1,5 mg	1,5 mg	1,5 mg	1,5 mg
	GA ₃	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg
	PUT		32,2 mg		
Zucker	Saccharose	30.000 mg	30.000 mg	30.000 mg	10.000 mg
	Sorbit				10.000 mg
	Maltose				10.000 mg
GB	Gelrite				
	B&V Agar	6.000 mg	6.000 mg	6.000 mg	6.000 mg
	Merck				
pH		5,7	5,7	5,7	5,7

	mg l ⁻¹	692	93	82 / 82 MZ	690
BASIS		MS	MS/2	MS	Molt
VERW.		Verm.	Verm.	Verm.	Verm.
Macros	KNO ₃	1.900 mg	950 mg	1.900 mg	
	NH ₄ NO ₃	1650 mg	825 mg	1650 mg	800 mg
	MgSO ₄ x 7H ₂ O	370 mg	185 mg	370 mg	555 mg
	K ₂ SO ₄				990 mg
	KH ₂ PO ₄	170 mg	85 mg	170 mg	217,5 mg
CaCl₂	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	440 mg	440 mg	440 mg	96 mg
	Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O				1968 mg
Micros	ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	8,6 mg	4,3 mg	8,6 mg	
	Zn(NO ₃) ₂ x 6 H ₂ O				13 mg
	H ₃ BO ₃	6,2 mg	3,1 mg	6,2 mg	5,5 mg
	MnSO ₄ x H ₂ O	16,9 mg	8,45 mg	16,9 mg	27,3 mg
	CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,03 mg	0,0125 mg	0,03 mg	0,25 mg
	Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,25 mg	0,125 mg	0,25 mg	0,25 mg
	CoCl ₂ x 6 H ₂ O	0,03 mg	0,0125 mg	0,03 mg	
	KI	0,83 mg	0,42 mg	0,83 mg	
	NiSO ₄ x 7 H ₂ O				0,005 mg
Vitamine	Glycin	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg
	Nicotinsäure	0,5 mg	0,5 mg	0,5 mg	1 mg
	Pyridoxid x HCl	0,5 mg	0,5 mg	0,5 mg	
	Thiamine x HCl	0,2 mg	0,2 mg	0,2 mg	2 mg
	Myo-Inositol	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
Eisen	FeSO ₄ x 7 H ₂ O	27,85 mg	27,85 mg	27,85 mg	27,8 mg
	Na ₂ EDTA x 2 H ₂ O	37,25 mg	37,25 mg	37,25 mg	37,3 mg
	Sequestren 138				
WReg.	IAA				
	IBA	2 mg		0,2 mg	
	BAP				
	GA ₃				0,5 mg
	Zeatin			0,1 mg	0,1 mg
	PUT				
Zucker	Saccharose	20.000 mg	20.000 mg	20.000 mg	30.000 mg
GB	Gelrite	2.500 mg	2.500 mg	2.500 mg	2.500 mg
	B&V Agar				6.000 mg
	Merck			4.000 mg	
pH		5,8	5,8		

	mg l ⁻¹	684	695
BASIS		MS	MS
VERW.		Verm.	Verm.
Macros	KNO ₃	1.900 mg	1.900 mg
	NH ₄ NO ₃	1650 mg	1650 mg
	MgSO ₄ x 7H ₂ O	370 mg	370 mg
	K ₂ SO ₄		
	KH ₂ PO ₄	170 mg	170 mg
CaCl₂	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	440 mg	440 mg
	Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O		
Micros	ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	8,6 mg	8,6 mg
	Zn(NO ₃) ₂ x 6 H ₂ O		
	H ₃ BO ₃	6,2 mg	6,2 mg
	MnSO ₄ x H ₂ O	16,9 mg	16,9 mg
	CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,03 mg	0,03 mg
	Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,25 mg	0,25 mg
	CoCl ₂ x 6 H ₂ O	0,03 mg	0,03 mg
	KI	0,83 mg	0,83 mg
	NiSO ₄ x 7 H ₂ O		
Vitamine	Glycin	2 mg	2 mg
	Nicotinsäure	0,5 mg	0,5 mg
	Pyridoxid x HCl	0,5 mg	0,5 mg
	Thiamine x HCl	0,2 mg	0,2 mg
	Myo-Inositol	100 mg	100 mg
Eisen	FeSO ₄ x 7 H ₂ O	27,85 mg	27,85 mg
	Na ₂ EDTA x 2 H ₂ O	37,25 mg	37,25 mg
	Sequestren 138		
WReg.	IAA		0,1 mg
	IBA		
	BAP		1,0 mg
	GA ₃	0,5 mg	
	PUT		
Zucker	Saccharose	30.000 mg	20.000 mg
GB	Gelrite	2.500 mg	
	B&V Agar		
	Merck		4.000 mg
pH			

	mg l ⁻¹	705	706
BASIS		Molt 1/3	Molt 1/3
VERW.		Bew.	Bew.
Macros	KNO ₃		
	NH ₄ NO ₃	267 mg	267 mg
	MgSO ₄ x 7H ₂ O	185 mg	185 mg
	K ₂ SO ₄	330 mg	330 mg
	KH ₂ PO ₄	72,5 mg	72,5 mg
CaCl₂	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	32 mg	32 mg
	Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	656 mg	656 mg
Micros	ZnSO ₄ x 7 H ₂ O		
	Zn(NO ₃) ₂ x 6 H ₂ O	4,3 mg	4,3 mg
	H ₃ BO ₃	1,83 mg	1,83 mg
	MnSO ₄ x H ₂ O	9,1 mg	9,1 mg
	CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,083 mg	0,083 mg
	Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,083 mg	0,083 mg
	CoCl ₂ x 6 H ₂ O		
	KI		
	NiSO ₄ x 7 H ₂ O	0,0016 mg	0,0016 mg
Vitamine	Glycin	2 mg	2 mg
	Nicotinsäure	1 mg	1 mg
	Pyridoxid x HCl		
	Thiamine x HCl	2 mg	2 mg
	Myo-Inositol	100 mg	100 mg
Eisen	FeSO ₄ x 7 H ₂ O		
	Na ₂ EDTA x 2 H ₂ O		
	Sequestren138	200 mg	200 mg
WReg.	IBA	2 mg	2 mg
	BAP		
	GA ₃		
	PUT		
Zucker	Saccharose	20.000 mg	20.000 mg
GB	Gelrite		
	B&V Agar	6.000 mg	6.000 mg
	Merck		
Zusatz	Aktivkohle		8.000 mg
pH		5,7	5,7

ZUSAMMENFASSUNG

Etablierung einer in-vitro Kultur zur kommerziellen Produktion von *Corylus avellana* L.

Die Produktion von Haselnüssen, und damit verbunden die Produktion von *Corylus*-Pflanzen, gewinnt zunehmend an Bedeutung. Die Produktion und der Verbrauch von Haselnüssen sind in den letzten Jahrzehnten stark gestiegen. Die Anforderungen der Haselnuss-Erzeuger an Haselnuss-Produktionspflanzen-Produzenten reichen von der Sortenüberprüfung auf Produktions- und Ertragseigenschaften, über die sortenechte Vermehrung bis hin zu gesundem Pflanzenmaterial, wobei die beiden letzt genannten Anforderungen mit Hilfe der Gewebekultur einfacher als in der herkömmlichen Vermehrung möglich sind. Die Mikrovermehrung von *Corylus sp.* als „attraktive Alternative“³²³ zur Vermehrung der Haselnuss mit herkömmlichen Methoden kann durch die Erfahrungen dieser Arbeit nur bestätigt werden. Die Ergebnisse waren positiv und lassen eine Wirtschaftlichkeit bei der Produktion von *Corylus* in-vitro erkennen.

Ausgewählte Strauch-Sorten von *C. avellana* L. ('Barcelona', 'Butler', 'E-104', 'Ennis', 'Istrska debeloplodna leska Slovenia', 'Istrska okroloplodna leska Jugoslavia', 'Merveille de Bollwiller'='Halle'sche Riesen', 'Rote Lambertsnuß', 'Segorbe', 'Tonda di Giffoni', 'Tonda gentile della Langhe', 'Tonda Romana') und die Baumhasel *C. colurna* L. als Unterlage für die Veredelung mit Edelsorten, dienten exemplarisch für die Ausarbeitung eines wirtschaftlichen, rentablen und praktikablen Protokolls von der Etablierung bis zur Akklimatisierung für die in-vitro Vermehrung der Haselnuss.

Die Explantate (axilläre Knospen adulter Pflanzen) wurden hinsichtlich des Einflusses des Reisererntetermins und der Vorbehandlung der geschnittenen Triebe auf den Etablierungserfolg untersucht. Der Einfluss auf die Überlebensrate von der Behandlungsdauer mit Hg-Merthiolat bei der Oberflächen-Desinfektion und den Medienzusätzen Putrescin (exogenes Polyamin) und Sequestren®138 (Eisenquelle) waren weitere untersuchte Faktoren der Etablierungsphase.

Die höchste Überlebensrate der Explantate war mit der Entnahme „ruhender“ Knospen bei der Reisernte im 2. Quartal eines Kalenderjahres im Freiland festgestellt worden.

³²³ Nas & Read, 2003

Die Oberflächen-Desinfektion nach Damiano³²⁴ mit einer Kombination aus EtOH (70% v/v x 1 min), NaOCl (0,08% x 5 min) und der Reduzierung der Behandlungsdauer mit Hg-Merthiolat von 20 auf 10 min zeigte die höchste Überlebensrate.

Das Etablierungsmedium nach Damiano³²⁵ wurde mit 200 mg^l⁻¹ Sequestren®138 ergänzt (Medium 687S) und die Qualität und Konstitution der Explantate dadurch verbessert. Der Einfluss des Polyamins Putrescin (65 mg^l⁻¹) war positiv mit einem erhöhten Anteil an vitalen Pflanzen, bei einer Reduzierung der Gesamt-Überlebensrate, festzustellen.

Die Vermehrungsphase bei *Corylus* wurde hinsichtlich der Einflüsse von Lichtintensität und -qualität untersucht und eine Verbesserung der Qualität und der Vermehrungsrate bei reduziertem Lichtangebot auf 40 % „CoolWhite“ konnte festgestellt werden.

Der Einfluss der Art des Kulturgefäßes hinsichtlich der Qualität zeigte eine Rangreihenfolge von dem Kulturgefäß (KG) „Eprovette“ über „Belgische Mikrosäcke“ und „KD-Dosen“ zu dem KG „Hipp-Glas. Ergänzt wurde diese Reihung mit dem Bedarf an Medium je KG pro Pflanze, dem Platzbedarf je KG pro Pflanze und der Wirtschaftlichkeit und es erfolgt eine Empfehlung für die Verwendung von „Belgischen Mikrosäcken“ für die kommerzielle Produktion.

Die von Nas et al.³²⁶ als problematisch angegebene Proliferation, ungenügende Triebblänge, hohe Kontaminationsraten und Vitrifikation haben sich in den durchgeführten Untersuchungen während der Vermehrungsphase von *Corylus sp.* nur sehr schwach, bzw. nur bei wenigen Sorten gezeigt. Das Problem der Chlorosen³²⁷ konnte durch die Zugabe von Sequestren®138 (200 mg^l⁻¹) zum Vermehrungsmedium 686 befriedigend gelöst werden. Ein positiver Einfluss von Putrescin (32,2mg^l⁻¹) auf die Vermehrung (Qualität oder Vermehrungsrate) konnte nicht festgestellt werden.

Das beste Bewurzelungsmedium (705: Basis Molt1/3 + Seuestren®138 200 mg^l⁻¹ + 2mg^l⁻¹ IBA) zeigte bei einer Bewurzelungsdauer von 4 Wochen Bewurzelungsraten von annähernd 100%, mit einer Anzahl von im Mittel 8 Wurzeln pro Pflanze und einer Länge der längsten Wurzel von im Mittel 1,5 cm.

Die genotypspezifischen Unterschiede³²⁸ waren in den Untersuchungen zu erkennen, und ermöglichten eine Gruppierung der Sorten mit leichterem und schwierigerem Etablierungs- und Vermehrungsphasen, diese Gruppierung entspricht weitgehend den phylogenetischen

³²⁴ Damiano, Catenaro, Giovinazzi, Caboni, 2005

³²⁵ Damiano, Catenaro, Giovinazzi, Caboni, 2005

³²⁶ Nas & Read, 2001

³²⁷ Nas & Read, 2001

³²⁸ Nas & Read, 2001

Untersuchungen nach Gökirmak et al.³²⁹ und dieser Gruppierung nach der ursprünglichen Herkunft einer Sorte. Sorten mit nördlich-europäischer Herkunft zeigten sich besser in der Etablierungs- und Vermehrungsphase als Sorten mit südlich-europäischer Herkunft und daraus folgend auch die amerikanischen Sorten.

Bei den ausgewählten Sorten lassen sich nur geringe Unterschiede in der Akzeptanz der Medien und Methoden, von Etablierung bis Bewurzelung, erkennen und die erarbeiteten Hinweise für eine kommerzielle Produktion können empfohlen werden bzw. für weitere Sorten und Arten von *Corylus* sp. L. relevant werden.

³²⁹ Gökirmak et al., 2009

ABSTRACT

Establishment of an in-vitro culture of *Corylus avellana* L. for commercial application

The production of hazelnuts and therefore of *Corylus*-plants becomes more important. Production and consumption have been increasing in recent years. The requirements of the producers are knowledge of the cultivar characteristics and authentic propagation of clean and healthy plants. Micropropagation has advantages for the control of the authenticity and the phytopathology status of the plant material. The results of these studies advise micropropagation as efficient option in view of conventional propagation methods.

Selected cultivars of *C. avellana* L. ('Barcelona', 'Butler', 'E-104', 'Ennis', 'Istrska debeloplodna leska Slovenia', 'Istrska okroloplodna leska Yugoslavia', 'Merveille de Bollwiller'='Halle'sche Riesen', 'Rote Lambertsnuß', 'Segorbe', 'Tonda di Giffoni', 'Tonda gentile della Langhe', 'Tonda Romana') and one tree-species *C. colurna* L. were used for the establishment of an economical, lucrative and workable micropropagation protocol of the Hazelnut.

Axillary buds of mature plants were used to study several effects such as harvest date of twigs, pretreatment of twigs (physiological state of buds), the influence of the Hg-Merthiolat surface disinfection treatment duration and the effect of the media-additives Putrescine (exogenous polyamine) and Sequestren®138 (iron source).

Explants from unforced twigs, harvest date in the 2nd quarter of a calendar year showed the best results. Combination of EtOH (70% v/v x 1 min), NaOCl (0,08% x 5 min) and reduction of the disinfection duration with Hg-Merthiolat from 20 to 10 min showed highest survival rates. For culture establishment the media concentration of Damiano³³⁰ was used and for best results (best quality and constitution) supplemented with Sequestren®138 (200 mg l⁻¹) (media 687S). The additive Putrescine (65 mg l⁻¹) showed positive effects during establishment on vitality of plants.

For multiplication explants were tested in regard to light-intensity and light-quality. Reduction of "CoolWhite"-light to 40 % improved quality and multiplication rate of the explants. Different culture vessels ("Hipp"-jars, plastic microboxes and microbags, eprouvettes) were evaluated and analyses were made in regard to the quality of plants and practicability. Results lead to a recommendation of plastic microbags.

³³⁰ Damiano, Catenaro, Giovinazzi, Caboni, 2005

Results of Nas et al.³³¹ showed difficulties in proliferation, deficient shoot length, high contamination rates and vitrification during multiplication of *Corylus sp.* Results of these studies showed these difficulties in a low and seldom way and only for some cultivars. The problem of chlorosis³³² could be solved with addition from Sequestren®138 (200 mg l⁻¹) in media 698. A positive effect (quality or multiplication rate) of Putrescine (32.2 mg l⁻¹) during multiplication could not be detected.

Best results of rootage after 4 weeks rooting duration with media 705 (Basis Molt 1/3+Seuestren®138 200 mg l⁻¹ +2mg l⁻¹ IBA) showed rooting rates nearly 100% with a mean value of 8 roots per plant with a mean length of 1.5 cm.

Genotyp specific differences³³³ could be observed and results allow for an arrangement of cultivars, which were easy or hard to establish and multiply. This internal arrangement is in a large extend equivalent to an arrangement of *Corylus* cultivars of Gökirmak et al.³³⁴ after phylogenetic studies. Cultivars from the north of Europe showed better results during establishment and multiplication as cultivars from the south of Europe. Gökirmak et al.³³⁵ found different refugial habitats of wild hazel populations as origin for north- and south-cultivars today.

Selected cultivars showed widely acceptance of media from establishment, multiplication and rooting phase and this protocol can be used for commercial application and provides also a profound micropropagation basis for investigations on other cultivars and species of *Corylus sp.* L.

³³¹ Nas & Read, 2001

³³² Nas & Read, 2001

³³³ Nas & Read, 2001

³³⁴ Gökirmak et al., 2009

³³⁵ Gökirmak et al., 2009

EVA – MARIA VOGL

PERSÖNLICHE ANGABEN:

- Staatsangehörigkeit: österreichische
- Alter und Geburtsort: 30, geb. am 31. Jänner '79 in Klosterneuburg
- Adresse: 3400 Klosterneuburg, Leopoldstr. 21/5/5
- E-Mail: e.vogl@gmx.at

AUSBILDUNG:

- 8 Jahre Pflichtschule in Klosterneuburg, anschließend
- HBLA für wirtschaftliche Berufe in Wien 19
Ausbildungsschwerpunkt **Umweltökonomie**, Matura am 22. Juni 1999
- Universität Wien, Fakultät für Formal- und Naturwissenschaften
Seit Okt 1999 Studienrichtung Anthropologie (Ende 2. Abschnitt)
Schwerpunkt Genetik, Verhaltensbiologie
Seit Okt 2005 **Studienrichtung Botanik - Pflanzenphysiologie**

EINSCHLÄGIGE BERUFSERFAHRUNG:

seit Okt. 2008 Landwirtschaftlicher Betrieb K. und A. Vogl
Landwirtschaftliche Mitarbeiterin

- Produktion von Wein- und Tafeltrauben, Kern- Stein- Schalen- und Wildobst
- Obstverarbeitung zur Herstellung naturtrüber Säfte und für die Brennerei
- Mitarbeit Vermarktung und Kundenberatung

Mai 2008 – Okt. 2008 HBLA und BA Wein- u. Obstbau Klosterneuburg
Verwaltungspraktikantin – Abteilung Biologie/ Pflanzenschutz

- Diagnose und Bonitur von Schaderregern in Obst- u. Weinbau
- Blattdünger und ihre physiologischen Auswirkungen auf Zellen bei *Vitis vinifera* und ihre „Nebenwirkungen“ auf Schaderreger

Aug. 2007 – Sept. 2007 HBLA und BA Wein- u. Obstbau Klosterneuburg
Verwaltungspraktikantin – Abteilung Biologie/ Mikrobiologie

- Etablierung einer PNA-FISH zum Nachweis von *Brettanomyces bruxellensis*

April 2006 – Juni 2006 HBLA und BA Wein- u. Obstbau Klosterneuburg
Verwaltungspraktikantin – Abteilung Biologie/ Pflanzenschutz

- Mitarbeit im mikrobiologischen Labor; Bakterien und Pilze
- Diagnose und Bonitur von Schaderregern in Obst- u. Weinbau

März 2005 – März 2006 Firma VitroPlant

Wiss. Mitarbeiterin

- Durchführung des praktischen Teils der Diplomarbeit:
**Etablierung einer in-vitro Kultur
zur kommerziellen Produktion von *Corylus sp. L.***
- Mitarbeit im chemischen und botanischen Labor
- Mitarbeit bei Glashaus- und Freilandtätigkeiten
- Kundenbetreuung

Aug. 2004 – Sept. 2004 Firma VitroPlant

Laborarbeiterin

- Hauptarbeitsbereich im chemischen und botanischen Labor
- Pflege und Beobachtung im Glashaus und Freiland

19. Juli – 18. Aug. 2004 HBLA und BA Wein- u. Obstbau Klosterneuburg

Verwaltungspraktikantin – Abteilung Rebenzüchtung

- Erstellen von genetischen Profilen einer Rebsorte
- Diagnostik von Phytoplasmen
- Vermehrung von Rebmateriale in vitro und embryo rescue Methodik

Okt. 2000 – Aug. 2001 Firma VitroPlant

Feb. 2002 – April 2002 Firma VitroPlant

Laborarbeiterin

- Ausführende Tätigkeiten im Labor und im Freiland

SONSTIGE BERUFSERFAHRUNG:

Nov. 2003 – Jän. 2005 Kirbisch Anita GMBH Anita's Familienland

Mitarbeiterin

- Programmgestaltung und Organisation, Bürotätigkeiten
- Animateurin

Juli 1998 – Aug. 2000 Fahrschule Prohaska Klosterneuburg

Sekretärin

- Kundenbetreuung, Verrechnung, Organisation und Prüfungsabwicklung

Aug. 1997 – Sept. 1997 Haus Klosterneuburg, CARITAS d. Erzd. Wien

Ferialpraktikantin

Juli 1996 Hotel Anker Klosterneuburg

Ferialpraktikantin

EHRENAMTLICHE TÄTIGKEIT:

Abgeschlossene Ausbildung zur Jugendleiterin; Pfadfinder

1995 – 2005 Leitung einer Kindergruppe (7-10 Jahre)

seit Juni 2006 Mitarbeit auf Landesebene, Erwachsenenbildung

Beginn der Ausbildung zum Trainer