

In-vitro-Vermehrung verschiedener *Sambucus nigra* -Sorten (BGB 3343)

In Vitro Propagation of Various Sambucus nigra Cultivars

Projektleiter: **Dr.HRISTOFOROGLU Katharina**
 Mitarbeiter: S.Szalay, M.Schilcher, M.Fiedler
 Projektdauer: 2014 – 2016

Der Holunderanbau (*Sambucus nigra*) erfolgte zu Beginn seiner kommerziellen Nutzung vor allem wegen der pharmazeutisch interessanten Inhaltstoffe, da die Holunderfrucht eine Reihe „bioaktiver Substanzen“ mit gesundheitsfördernden Eigenschaften aufweist. Aufgrund der intensiven Farbe der Frucht finden Holunderbeeren mittlerweile im hohen Ausmaße in der Lebensmittelindustrie, zur Gewinnung des natürlichen Farbstoffes Sambucyanin Verwendung.

An der HBLFA für Gartenbau wurden nach erfolgreicher In-vitro-Vermehrung von *Sambucus nigra* 'Haschberg' (FB 2014, Heft 49, BGB 3342) weitere 4 Sorten (ROT=Klon17, GRÜN=Klon25, WEISS=KlonB, SCHWARZ=Tatin) in vitro etabliert. Konventionell wird *Sambucus* leicht über Steckhölzer vermehrt. Es gibt jedoch auch Sorten, die eine geringe Bewurzelung -Rate aufweisen. Über die In-vitro-Kultur ergibt sich die Möglichkeit, höhere Vermehrungsraten zu erzielen. Gleichzeitig kann über den Schritt der In-vitro-Kultivierung eine Viruseliminierung durchgeführt werden.

Jungtriebe der 4 Sorten wurden vom Auftraggeber zu den verschiedenen Etablierungszeiten zur Verfügung gestellt. Die Etablierung erfolgte sofort nach Zustellung des Pflanzenmaterials oder wie bei der Sorte 'Haschberg' innerhalb einer bestimmten Zeitspanne, wobei die Jungtriebe bis zur Explantat -Entnahme eingewässert wurden. Die eingeweichten, verholzten *Sambucus* -Triebe mussten analog der Sorte 'Haschberg' laufend mit Frischwasser versorgt werden, da an den Schnittstellen Bakterien und Hefen austraten.

Die In-vitro-Etablierung erfolgte über Sprossspitzen und Nodien. Analog der Sorte 'Haschberg' zeigte sich auch bei den 4 neu zu etablierenden Sorten eine Besiedelung mit Endophyten. Ein massives Auftreten von Hefen und Bakterien sowie eine rasche Schwarzverfärbung an den Ausgangsexplantaten (Jungtrieben) wurden vor allem bei den Sorten WEISS=KlonB und Schwarz=Tatin beobachtet. Diese beiden Sorten lassen sich in der konventionellen Vermehrung schwer über Steckhölzer vermehren. Inwieweit die doch sehr starke Besiedelung mit Endophyten einen Einfluss darauf hat, kann nicht gesagt werden. Nur dass das Überhandnehmen von Symbionten bei der Pflanze zum Stress führen kann.

Endophyten

Bakterien können über Samen, die Keimwurzel, Wurzeln, Stomata oder Verletzungen in Pflanzen eindringen. Über

das Gefäßsystem kommt es zur Ausbreitung oder „Besiedelung“. Es ist wichtig in diesem Zusammenhang zu erwähnen, dass dem besiedelten Wirt kein Schaden zugefügt wird. Ging man vor einigen Jahren noch davon aus, dass es sich bei diesen, in Gehölzen nachgewiesenen Bakterien um pathogene Keime handelt, so hat sich die Betrachtungsweise in den letzten Jahren geändert. Mittlerweile konnte aufgezeigt werden, dass besonders langlebige Pflanzen, wie z.B. Bäume über einen längeren Zeitraum ein Endophyten -Spektrum aufbauen, welches unter Trockenstress, Nährstoffmangel oder Schädlingsbefall die Widerstandsfähigkeit dieser erhöht. Positive Effekte gehen auf die Produktion von Antibiotika, Induktion von Resistenzen, Bildung von Siderophoren (Verbesserung der Eisen- und Phosphoraufnahme) sowie die Synthese wachstumsstimulierender Enzyme und Substanzen zurück.

Die Sorte ROT=Klon17 konnte beim ersten Etablierungstermin am 03.05.2013 erfolgreich etabliert werden. Von den 54 kultivierten Nodien und Sprossspitzen konnten 11 (20%) Subklone (1, 2, 5, 8, 10, 12,13, 14, 15, 16, 17) erfolgreich vermehrt und bewurzelt werden. Bei 29 % und 34 % der Explantate kam es zum Verlust durch Bakterien- und Pilzkontamination. Der Anteil abgestorbener Explantate belief sich auf 17 %. Bei der Bonitur der Vermehrungsrate des Subklons ROT/1 wurde zum Zeitpunkt 11.11.2014 die höchste Anzahl von $3,07 \pm 0,55$ Sprosse/Explantat erzielt.



Abb. 1: Sorte ROT=Klon17, Subklon ROT/2 auf Ribavirin -Nährboden zur Viruseliminierung.

Analog zur Sorte ROT=Klon17 konnte auch die Sorte GRÜN=Klon25 beim ersten Etablierungszeitpunkt (03.05.2013) erfolgreich etabliert werden. Im Gegensatz zu ROT=Klon17 mit 11 Subklonen konnte bei GRÜN=Klon25 nur 1 (4%) Subklon vermehrt und bewurzelt werden. Bei 57 % und 17 % der kultivierten Explantate kam es zum Verlust durch Bakterien- und Pilzkontamination, bei 22 % zum Absterben der Explantate. Der sehr hohe Verlustanteil durch Bakterienkontamination weist auf einen hohen Gehalt an

endogenen Bakterien hin. In der Vermehrung des Subklons GRÜN/3 konnte eine deutlich geringere Vermehrungsrate von maximal $2,02 \pm 0,51$ (21.10.2014) als bei der Sorte ROT=Klon17 mit maximal $3,07 \pm 0,55$ (11.11.2014) Sprosse/Explantat erzielt werden. Im Vergleich zu den 4 neu zu etablierenden Sorten konnte bei der Sorte 'Haschberg' eine höhere Vermehrungsrate von maximal $3,60 \pm 0,62$ (09.02.2012) Sprosse/Explantat erzielt werden.

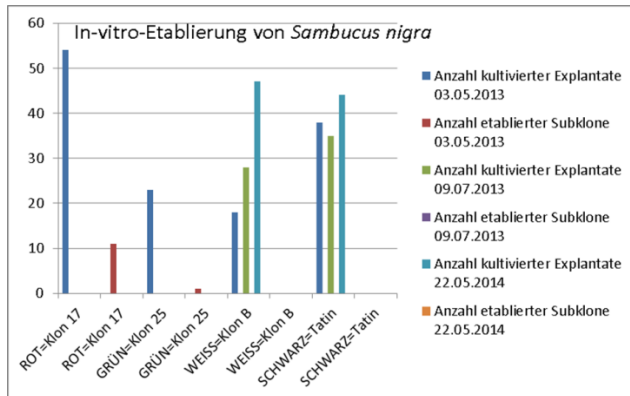


Abb. 2: In-vitro-Etablierung von 4 *Sambucus nigra* – Sorten. Anzahl kultivierter Explantate in Relation zu den etablierten Subklonen.

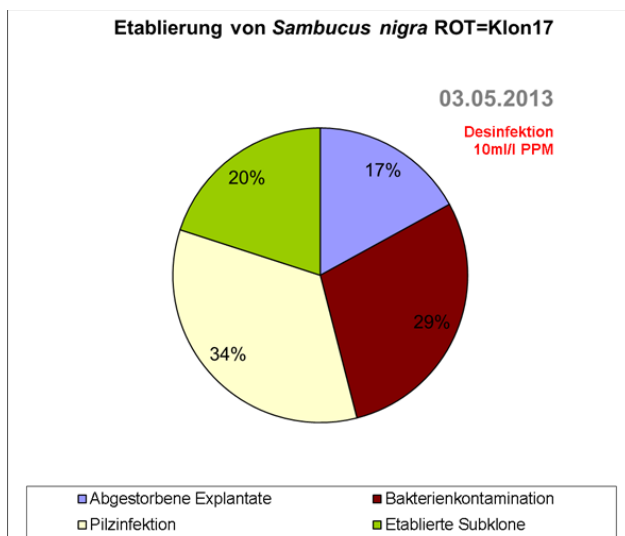


Abb. 3: In-vitro-Etablierung von *Sambucus nigra* ROT=Klon 17.

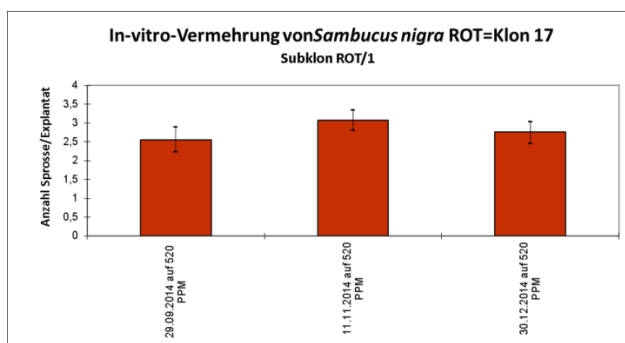


Abb. 4: In-vitro-Vermehrung der Sorte ROT=Klon17, Subkon ROT/1. Anzahl Sprosse/Explantat.

Bei den Sorten WEISS=KlonB und SCHWARZ=Tatin wurden je drei Etablierungen (03.05.2013, 09.07.2013, 22.05.2014) durchgeführt. Trotz häufig durchgeführter Subkulturen, 28 % durchgetriebener Explantate (Sorte WEISS=KlonB, Etablierung 03.05.2013) sowie übertroffen mit 100 % PPM kam es zum Verlust aller Explantate mit Durchtrieb. Sowohl WEISS=KlonB und SCHWARZ=Tatin zeigten hohe Verlustanteile durch Bakterienkontamination von 44 %, 72 % und 45 % sowie 90 %, 57 % und 50 %.

Die in-vitro-Bewurzelung erfolgte analog der Sorte 'Haschberg' und erwies sich als einfach. Die bewurzelten Jungpflanzen wurden in ECO2-Boxen dem Auftraggeber zur Akklimatisierung übergeben.

Die Viruseliminierung erfolgte analog der Sorte 'Haschberg' mit zwei verschiedenen Ribavirin – Konzentrationen. Die Virustestung erfolgte durch den Auftraggeber. Das Ergebnis zeigte bei den Sorten/Subklonen ROT/1, ROT/2 und GRÜN/3 analog der Sorte 'Haschberg' keine Virusbefreiung. Es konnten zwei unterschiedliche Virustypen detektiert werden. Da die Viruseliminierung im Rahmen dieser wissenschaftlichen Tätigkeit nicht im Vordergrund stand, wurden keine weiteren Versuche durchgeführt.



Abb.5: In-vitro-Bewurzelung der Sorte ROT=Klon17, Subklon ROT/1. Kräftig entwickeltes Wurzelsystem.

Vergleicht man die vier neu etablierten Sorten untereinander so erwies sich die Sorte ROT=Klon17 sehr einfach in der Etablierung und Vermehrung. Dies zeigte sich auch in der großen Anzahl etablierter Subklone. GRÜN=Klon25 benötigte mehrere Subkulturschritte um genügend Pflanzenmaterial zur Weitergabe zu erhalten. Die beiden konventionell über Steckhölzer schwierig zu vermehrenden Sorten WEISS=KlonB und Schwarz=Tatin erwiesen sich in vitro trotz mehrerer Etablierungsschritte als nicht vermehrbar.

Die Sorten ROT=Klon17 (Subklon ROT/1) und GRÜN=Klon25 (Subklon GRÜN/3) konnten an den Auftraggeber zur Massenvermehrung weiter gegeben werden.