

In vitro Lagerung von Brokkolipflanzen (*Brassica oleracea var. italica*)

GUNDA MIX-WAGNER

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung

Einleitung

Pflanzenmaterial in vitro zu überlagern bringt im Bereich der Sicherung pflanzengenetischer Ressourcen bei den Pflanzenarten, die vegetativ vermehrt werden, und in der Züchtung, wo oftmals selektierte Genotypen langfristig erhalten werden müssen, große Vorteile.

Durch die Möglichkeit, Brokkolipflanzen in vitro vermehren zu können (Anderson et al., 1977; Dunemann et al., 1987; Mix-Wagner et al., 1990), wird oftmals auch eine Methode gebraucht, um Material aus einem Zuchtprogramm zu überlagern.

Erfahrungen über in vitro Lagerung liegen schon von einigen Pflanzenarten vor (Chrysanthem: Preil et al., 1979; Kartoffel: Mix, 1983; Zichorien, Topinambur: Mix et al., 1988 a, b).

Die vorliegende Arbeit beschreibt eine Methode, die zur mittelfristigen in vitro Lagerung von Brokkolimaterial geeignet ist.

Material und Methoden

Die Untersuchungen zur Lagerung von Pflanzen erfolgte mit acht verschiedenen Brokkolisorten. Die in vitro Pflanzen, die für den Lagerungsversuch herangezogen wurden, wurden aus ganzen Knospen regeneriert (Mix-Wagner et al. 1990). Die acht Sorten waren: Atlantik, Corvet, Futura, Green Vilient, Juwaprim, Neptune, Skiff und Sparko.

Nach einer guten Bewurzelung der Sprosse auf dem R-Nährboden erfolgte die Überführung der in vitro Pflanzen in unterschiedliche Lagerungsbedingungen. Der R-Nährboden, auf dem die Pflanzen während der Lagerung wuchsen, enthielt folgende Komponenten: MS-Makro- und Mikronährstoffe (Murashige und Skoog, 1962); 0,1 mg/l Indolyl-essigsäure, 0,1 mg/l 3-Aminopyridin, 10 g/l Saccharose und 6 g/l Agar.

Das Autoklavieren der Nährböden erfolgte für 10 Minuten bei 1,1 bar, nachdem alle Nährböden auf pH 5,8 eingestellt worden waren.

Die Pflanzen wurden während der Lagerungszeit in Gefäßen mit unterschiedlichen Volumina (100, 250, 1000 ml) kultiviert. Die Temperatur betrug 18°C bzw. 10°C. Der 10°C-Variante wurden 1,5 klx und der 18°C-Variante 4,0 klx bei einem 16 Stunden-Tag angeboten. Alle sechs Monate wurde die Überlebensrate der Pflanzen bestimmt. Die Endauswertung erfolgte nach zweieinhalb Jahren (30 Monate).

Ergebnisse und Diskussion

Bei der Pflanzgutherstellung wäre es von Interesse, Methoden zur Verfügung zu haben, die es ermöglichen, Pflanzenmaterial zu überlagern.

Aus diesem Grunde wurden die Pflanzen der acht Sorten in unterschiedlich großen Kulturgefäßen gelagert. Dabei konnte beobachtet werden, daß die Überlebensrate der Pflanzen generell bedeutend höher lag, wenn sie in einem 250 ml oder noch besser in einem 1000 ml großen Gefäß gelagert wurden. Das größte Gefäß bot genug Raum für ein wiederholtes Austreiben während der Lagerung.

Die gleichen Beobachtungen wurden auch bei in vitro gelagerten Topinambur- und Zichoriengenotypen gemacht. An den Topinamburpflanzen bildeten sich Stolonen, aus denen sich wieder eine Vielzahl von Pflanzen entwickelten. Bei den gelagerten Zichorienpflanzen war nur in den großen Gefäßen eine starke sekundäre Sproßbildung am Wurzelhals zu beobachten (Mix, 1988 a, b).

Tabelle 1: **Einfluß der Lagerungsdauer und Temperatur auf die Überlebensrate (%) der Sorten, gelagert in 1000 ml-Kulturgefäßen/ Influence of the storage duration and the temperature on the survival rate (%) of the varieties stored in 1000 ml culture vessels**

Sorten	6 Monate		30 Monate	
	18 °C	10 °C	18 °C	10 °C
Futura	40	100	4	88
Juwaprim	42	100	1	84
Corvet	30	100	0	79
Neptune	22	100	0	78
Green Vilient	15	100	0	79
Skiff	6	92	0	64
Sparko	8	90	0	60
Atlantik	5	89	0	62

Der Einfluß der Temperaturen (18°C bzw. 10°C) auf die Überlebensrate der Pflanzen verschiedener Sorten war sehr ausgeprägt. Bei 18°C zeigten die Pflanzen ein sehr gutes Wachstum, was schnell zur Erschöpfung des Nährbodens führte. Nach etwa 5-8 Monaten, abhängig von der Sorte, färbten sich die Pflanzen langsam gelb und starben ab. Dieses würde vorher ein erneutes Umsetzen bedeuten. Bei 10°C entwickelten sich die Pflanzen sehr langsam und konnten deshalb 30 Monate auf dem gleichen Nährboden verbleiben. Einige Pflanzen, die in großen Gefäßen (1000 ml) lagerten, zeigten sogar nach 36 Monaten noch ein gutes Aussehen (Sorte "Futura").

Wie zu erwarten war, verhielten sich unter den vorgegebenen Lagerungsbedingungen nicht alle Sorten gleich. Die Tabelle 1 faßt die erzielten Überlebensraten der einzelnen Sorten nach 6- bzw. 30-monatiger Lagerungsdauer bei 10°C bzw. 18°C in 1000 ml- Kulturgefäßen zusammen.

Die errechneten Prozentzahlen, (die absolute Pflanzenanzahl pro Sorte und Variante betrug 25), zeigen deutlich, daß die Pflanzen aller Sorten bei 18°C schnell abbauten. Die Sorte "Futura", bei der selbst noch nach 30 Monaten vier Pflanzen überlebten, weist scheinbar eine gute Tauglichkeit für in vitro-Bedingungen, wie schon die gute Regenerationsfähigkeit der Knospen zeigte, auf (M i x - W a g n e r et al., 1990). Bei der Sorte "Atlantik" dagegen waren schon nach 6 Monaten (18°C) 95% der Pflanzen abgestorben.

Bei 10°C lagen die Überlebensraten bedeutend höher und sanken bei keiner Sorte nach einer 30-monatigen Lagerungsdauer unter 60 %. Nach 6 Monaten überlebten bei allen Sorten noch über 80 % der Pflanzen.

Die Überlebensraten der Pflanzen in den 100 ml-Kulturgefäßen sanken bei 18°C nach 6-monatiger Lagerungsdauer unter 20 %. Auch hier zeigte die Sorte "Futura" die höchste Rate von 18 %, gefolgt von den Sorten "Juwaprim", "Corvet" und "Green Vilient" mit 16 % (Tabelle 2). Bei den drei Sorten "Skiff", "Sparko" und "Atlantik" überlebten noch 3% der Pflanzen. Nur 2 % der "Futura"-Pflanzen konnten von allen acht gelagerten Sorten nach 30 Monaten noch als lebensfähig bezeichnet werden. Nach 30-monatiger Lagerung bei 10°C überlebten dagegen noch 40 % der "Futura"- aber nur 3 % der "Sparko"-Pflanzen.

Das Überleben der Pflanzen, die in 250 ml-Kulturgefäßen gewachsen waren, lag zwischen dem in 100 ml- bzw. 1000 ml-Kulturgefäßen, wobei aber die Überlebensrate der Pflanzen bei der 18°C-Variante immer niedriger lag als bei der 10°C-Variante.

Die acht gelagerten Brokkolisorten lassen sich im Hinblick auf eine in vitro Lagerung in sehr gut und in begrenzt lagerfähig einteilen. Solche sortenspezifischen Unterschiede sind auch von anderen Pflanzenarten wie z.B. der Kartoffel bekannt (M i x, 1981).

Zusammenfassung

Die Untersuchungen zur Lagerung von Pflanzen regeneriert aus Knospen wurden mit acht Brokkolisorten durchgeführt.

Die Lagerung der in vitro-Pflanzen erfolgte in unterschiedlich großen Kulturgefäßen. Die Überlebensrate der Pflanzen lag unabhängig von der Temperatur (10°C, 18°C) in 1000 ml-Kulturgefäßen bedeutend höher als in den kleineren Gefäßen (100 ml, 250 ml).

Nach 6-monatiger Lagerungsdauer bei 18°C in einem 1000 ml-Kulturgefäß hatten noch 40 % der "Futura"-Pflanzen, die anderen Sorten lagen weit darunter, überlebt. Jedoch verblieben nach einer 30-monatigen Lagerungsdauer nur 4 % bzw. 1 % der Pflanzen der Sorte "Futura" bzw. "Juwaprim". In 10°C waren nach 6 Monaten noch fast 90% aller gelagerten Pflanzen grün und sogar nach 30 Monaten sank die Überlebensrate maximal auf nur 60 % ("Sparko").

Die Überlebensrate der Pflanzen in den 100 ml-Kulturgefäßen sank bei 18°C nach 6-monatiger Lagerung unter 20 %. Nach 30-monatiger Lagerungsdauer verblieben von der Sorte "Futura" in 18°C noch 2 %, in 10°C dagegen noch 40 % der Pflanzen.

Das sortenspezifische Verhalten der acht getesteten Brokkolisorten unter den beschriebenen in vitro Lagerungsbedingungen ist, mit dem Verhalten anderer Pflanzenarten und deren Sorten unter ähnlichen Lagerungsbedingungen, vergleichbar.

Tabelle 2: **Einfluß der Lagerungsdauer und Temperatur auf die Überlebensrate (%) der Sorten, gelagert in 100 ml- bzw. 250 ml- Kulturgefäßen/ Influence of the storage duration and temperature on the survival rate (%) of the varieties stored in 100 ml and 250 ml culture vessels**

Sorte	6 Monate				30 Monate			
	18 °C		10 °C		18 °C		10 °C	
	100 ml	250 ml	100 ml	250 ml	100 ml	250 ml	100 ml	250 ml
Futura	18	26	78	91	2	3	40	68
Juwaprim	16	27	71	90	0	1	32	67
Corvet	16	23	73	87	0	0	30	62
Neptune	8	21	67	85	0	1	10	60
Green vilient	16	11	67	84	0	0	16	60
Skiff	3	3	64	80	0	0	12	42
Sparko	3	5	62	81	0	0	8	40
Atlantik	3	3	64	79	0	0	8	41

In vitro storage of broccoli plants (*Brassica oleracea* var. *italica*)

The investigation of storage of plants which were regenerated from whole buds were carried out with eight varieties of broccoli.

The in vitro plants were stored in culture vessels of different sizes. The survival rate of the plants was independent of the temperature (10°C, 18°C) considerably higher when 1000 ml culture vessels were used instead of the smaller 100 ml or 250 ml vessels.

After six months of storage at 18°C in a 1000 ml-culture vessel only 40% of the "Futura" plants had survived, but this percentage was much higher than that for the other varieties. After 30 months of storage, only 4% "Futura" and 1% "Juwaprim" plants were still surviving. After 6 months of storage at 10°C, almost 90% of all stored plants were still green. After 30 months, the survival rate had only dropped to a maximum of 60% which was the rate for the variety "Sparko".

The variety specific behaviour of the eight broccoli varieties under these in vitro storage conditions is comparable with other plant species and the behaviour of their varieties under similar storage conditions.

Literatur

Anderson, W.C. and Carstens, J.B.: Tissue Culture Propagation of Broccoli, *Brassica oleracea* (Italica Group), for Use in F₁ - Hybrid Seed Production. -In: J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102 (1977), S.69-73.

Dunemann, F. und Grunewaldt, J.: In vitro Massenvermehrung von *Brassica oleracea*-Varietäten. -In: Gartenbauwissenschaften 52 (1987), S. 249-254.

Mix, G.: Preservation of old potato varieties by means of meristem culture. -In: 8th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Book of Abstracts EAPR, München, (1981), S. 176-177.

Mix, G. und Schittenhelm, S.: Langzeitlagerung von Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) in vitro.-In: Landbauforschung Völkenrode 38 (1988), S. 178-181.

Mix, G. und Frese, L.: Die Entwicklung einer in vitro-Langzeitlagerungsmethode für Zichorien-Zuchtmaterial (*Cichorium intybus* L.) -In: Landbauforschung Völkenrode 38 (1988), S. 170 - 172.

Mix-Wagner, G. und Wang Hui-Ming: Regeneration von bakterienfreien Brokkolipflanzen (*Brassica oleracea* var. *italica*) durch in vitro Knospenkultur.-In: Landbauforschung Völkenrode 40 (1990), S. 251-256.

Murashige, T. and Skoog, F.J. : A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. -In: Physiologia Plantarum 15 (1962), S. 473-497.

Preil, W.; Huhnke, W.; Engelhardt, H. und Hoffmann, M.: Gewebekulturen in der Pflanzenzüchtung.-In: Gb + Gw 79 (1979), S. 614-618.

Verfasser: Mix-Wagner, Gunda, Dr. agr., Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft Braunschweig-Völkenrode (FAL), Leiter: Prof. Dr. agr. M. Dambroth.

