



DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„In vitro-Bewurzelung und Akklimatisierung von
Lancea tibetica Hook F. et Thoms“

verfasst von / submitted by

Maria Stöckl

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra der Pharmazie (Mag. pharm.)

Wien, 2016 / Vienna, 2016

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears
on the student record sheet:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt/
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie UniStG

Betreut von / Supervisor:

Ass.-Prof. Mag. Dr. Christoph Wawrosch

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Ass.-Prof. Mag. Dr. Christoph Wawrosch für die Bereitstellung des interessanten Themas und für seine immer hilfsbereite und freundliche Betreuung, sowohl während der praktischen Arbeit als auch beim Auswerten der zahlreichen Daten und beim Schreiben meiner Diplomarbeit.

Bei Herrn Mag. Florian Gössnitzer bedanke ich mich herzlichst für seine zahlreichen geduldigen Erklärungen und Hilfestellungen während des Arbeitens an der Sterilbank und beim Umgang mit den Geräten im Labor.

Dr. Davaakhuu Gaamaa danke ich für die Bereitstellung des Pflanzenmaterials sowie für ihre Mithilfe bei der in vitro-Vermehrung.

Meinen lieben Eltern, die mir mein Studium ermöglicht haben, gebührt viel Dank für ihre Geduld und Unterstützung während meiner Studienzeit.

Abkürzungsverzeichnis

MS	Basismedium nach Murashige und Skoog (1962)
$\frac{1}{2}$ MS	Medium nach Murashige und Skoog (1962) mit halber Konzentration an Makroelementen
IAA	Indol-3-essigsäure
IBA	4-(Indol-3-yl)buttersäure
NAA	α -Naphthylessigsäure
TTM	Traditionelle tibetische Medizin
IVS	in vitro soil-less

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Material und Methoden	5
2.1. Pflanzenmaterial	5
2.2. Nährmedien	5
2.3. Kulturbedingungen	7
2.4. Kulturauswertung	9
3. Ergebnisse	13
3.1. Bewurzelung mittels IBA-haltigem Seradix®-Pulver	13
3.1.1. Einfluss von Seradix® auf die Bewurzelungsrate	14
3.1.2. Einfluss von Seradix® auf die Wurzelanzahl	17
3.1.3. Einfluss von Seradix® auf die Wurzellänge	20
3.2. In vitro-Bewurzelung mittels Pulsbehandlung mit IBA	24
3.2.1. Gesamtergebnisse der Pulsbehandlung mit IBA	25
3.2.2. Bewurzelung bei 1-tägiger Pulsbehandlung	27
3.2.3. Bewurzelung bei 3-tägiger Pulsbehandlung	29
3.2.3.1. Bewurzelungsrate	29
3.2.3.2. Wurzelanzahl	33
3.2.3.3. Wurzellängen	38
3.2.4. Bewurzelung bei 7-tägiger Pulsbehandlung	43
3.3. Gesamtüberblick zur Bewurzelung	44
3.4. Akklimatisierung	48
3.5. Überlebensrate	50
3.6. Einfluss der Bewurzelungsmethode auf das Sprosswachstum ex vitro	52
3.6.1. Sprosswachstum nach Behandlung mit Seradix®	53
3.6.2. Sprosswachstum nach Pulsbehandlung	58
3.6.2.1. Sprosswachstum nach 1-tägiger Pulsbehandlung	59
3.6.2.2. Sprosswachstum nach 3-tägiger Pulsbehandlung	60
3.6.2.3. Sprosswachstum nach 7-tägiger Pulsbehandlung	65

3.6.3. Gesamtüberblick zum Sprosswachstum	66
4. Diskussion	71
5. Zusammenfassung	77
6. Summary	79
7. Literaturverzeichnis	81
Anhang 1	85
Anhang 2	93

1. Einleitung und Problemstellung

Lancea tibetica ist eine mehrjährige Rosettenpflanze, die bis vor Kurzem noch zur Familie der Scrophulariaceae gezählt wurde. Heute ordnet man sie gemeinsam mit dem einzigen weiteren Vertreter *Lancea hirsuta* (Su et al., 1999) der Familie der Mazaceae zu. Beheimatet ist die Pflanze in China, Tibet, Indien und der Mongolei. Sie wächst in Höhen von 3000 bis 4800 m bevorzugt auf Wiesen, lichten Wäldern und entlang von Flüssen. Die violetten bis bläulichen Blüten (Abbildung 1) zeigen sich von Mai bis Juli und ihre Wuchshöhe beträgt etwa 10 cm.



Abbildung 1: *Lancea tibetica* in voller Blüte
(Credit: David E. Boufford)

Die Pflanze ist einerseits in feuchten Gebieten wie Sümpfen oder Mooren zu finden, sie wächst aber teilweise auch auf Weideflächen. Aufgrund der nicht besonders schmackhaften und kleinen Blätter ist sie dort weitgehend vor Weidetieren sicher. Es scheint bislang nicht klar, ob die Pflanze besonders feuchte Böden braucht, jedoch ist sie jedenfalls sehr lichtliebend (Kletter und Kriechbaum, 2001).

Zu den Inhaltsstoffen von *L. tibetica* zählen Flavonoide, Terpenoide und auch Steroide, wirksamkeitsbestimmend sind vor allem Lignane und Phenylpropanglykoside (Song et al., 2011). In einer Studie von Miao et al. (2004)

wurde die Radikalfängerwirkung der beiden Lignane Lantibesid und Sylvatesmin (Abbildung 2) untersucht. Beide Inhaltsstoffe haben eine sehr ähnliche Struktur, Lantibesid ist noch zusätzlich glykosyliert. Die Radikalfängerwirkung ist bei Sylvatesmin stärker ausgeprägt, was laut der Studie auf den fehlenden Glukoserest zurückzuführen ist.

In einer früheren Arbeit von Su et al. (1999) wurden sowohl die Isolierung des Lignanglykosids Tibeticosid als auch eine antitumorale Wirkung von Sylvatesmin beschrieben (Abbildung 2). Auch für Verbascosid konnte eine starke antitumorale Aktivität nachgewiesen werden (Li et al., 1997).

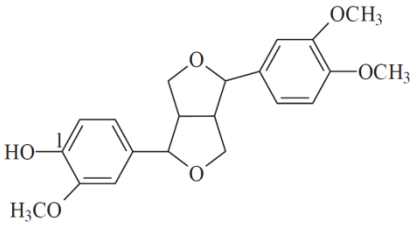
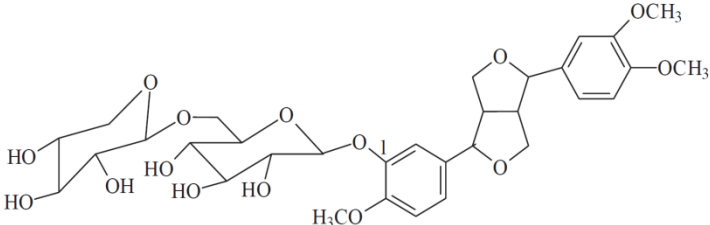
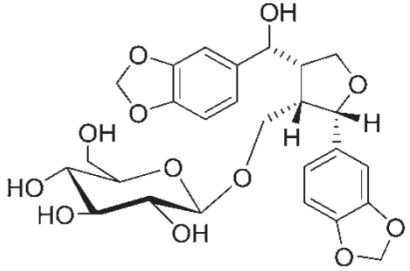
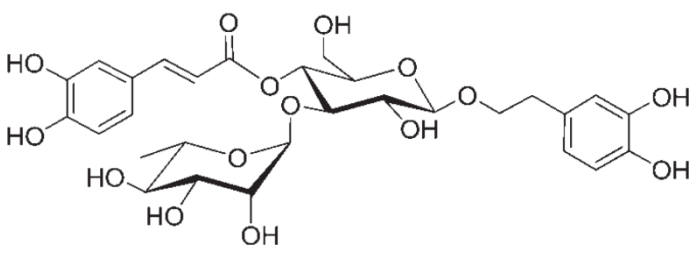
	
Sylvatesmin (Lignan)	Lantibesid (Lignan)
	
Tibeticosid (Lignanglykosid)	Verbascosid (Phenylpropanglykosid)

Abbildung 2: Wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoffe von *Lancea tibetica*

Eine neuere Studie aus dem Jahr 2014 berichtet von der Isolation eines Trehaloseesters (Liu et al., 2014). Die isolierte Substanz wies mit einem IC₅₀ Wert von 16,2 mM im Vergleich mit Cisplatin (IC₅₀ Wert von 29,6 mM) eine deutliche zytotoxische Wirkung auf.

In der Traditionellen Tibetischen Medizin (TTM) findet *Lancea tibetica* volksmedizinische Anwendung und ist in den Heimatländern sehr beliebt. Die Früchte verwendet man bei kardiovaskulären Erkrankungen, die Wurzeln zur Behandlung von Erkrankungen im Respirationstrakt (wie Pneumonie und Asthma)

und als Krautdroge nimmt man sie zur äußerlichen und innerlichen Wundheilung und als Antiphlogistikum (Kletter und Kriechbaum, 2001).

Lancea tibetica ist in der "Mongolian Red List" angeführt und befindet sich dort bereits seit einiger Zeit in der Kategorie "Critically Endangered", d.h. sie ist bereits vom Aussterben bedroht (Mongolian Red List of Plants, 2011). Einerseits kam es zu einer Abnahme der natürlichen Bestände durch die große Nachfrage in der Bevölkerung, die zur Folge hat, dass nicht unbeträchtliche Mengen an Drogenmaterial wild gesammelt werden. Weiters kommt es zum Verlust von natürlichem Lebensraum (Habitaten) durch menschliche und umweltbedingte Einflüsse wie vermehrte Besiedelung, Klimawandel und Eingriffe in das Ökosystem. Als Alternative zur Wildsammlung, die idealerweise nach GACP-Richtlinien (Good Agricultural and Collection Practice, Leitlinie für die gute Praxis des Anbaus und der Wildsammlung, World Health Organization, 2003) durchgeführt werden sollte, würde sich die Feldkultur anbieten. Dafür muss das Pflanzenmaterial zunächst vermehrt werden, was konventionell über Samen oder Glashausstecklinge oder aber über in vitro-Vermehrung erfolgen kann. Vorteile der in vitro-Vermehrung sind etwa, dass man genetisch einheitliches Pflanzenmaterial mit beispielsweise gleichem hohen Wirkstoffgehalt herstellen kann und außerdem in kurzer Zeit wesentlich höhere Vermehrungsraten erzielen kann als bei der konventionellen Vermehrung.

In Sommersemester 2013 wurden am Department für Pharmakognosie an der Universität Wien die ersten Schritte zur in vitro-Vermehrung von *Lancea tibetica* unternommen. Dr. Davaakhuu Gaamaa (Department of Biology, National University of Mongolia, Ulaanbaatar, Mongolei) keimte in der Mongolei gesammelte Samen unter sterilen Bedingungen aus und legte daraus Sprosskulturen auf verschiedenen Nährmedien an. In der Folge befassten sich Nguyen (Diplomarbeit in Vorbereitung), Osmen (2015) und Prenner (2015) mit der Vermehrung der Pflanze und konnten ein Protokoll für die Sprossbildung erarbeiten. Dabei wurden auch schon erste Versuche zur Bewurzelung und Akklimatisierung durchgeführt, die jedoch bislang ohne nennenswerten Erfolg blieben.

Die vorliegende Arbeit befasst sich nun mit der Bewurzelung von in vitro-vermehrten Sprossen und der darauf folgenden Akklimatisierung von *Lancea tibetica*.

Bei der in vitro-Bewurzelung von Pflanzen ist man mit gewissen Schwierigkeiten konfrontiert. So sind die im in vitro-System gebildeten Wurzeln manchmal nicht richtig funktionstüchtig, was ein Überleben außerhalb des Nährmediums in normalem Boden unmöglich macht. Es kann die Verbindung mit dem vaskulären System des Sprosses fehlen, wodurch der Transport von Wasser und Nährstoffen verhindert ist (Grout und Aston, 1978). Häufig tritt auch Kalluswachstum auf, die Wurzeln sind spröde und sterben oftmals nach dem Umsetzen ab (Debergh und Maene, 1981). Grundsätzlich kann der Prozess des Umsetzens vom Nährmedium in Erde schwierig sein, da es dabei zur Verletzung der Wurzeln kommen kann, beispielsweise beim Abwaschen von Resten des Mediums aus dem Wurzelsystem (George, 1996). Bleibt die Wurzelbildung überhaupt aus, so kann dies laut Newell (2006) häufig mit Sauerstoffmangel in den üblicherweise eingesetzten Agarmedien zusammenhängen.

In dieser Diplomarbeit sollte die Eignung des synthetischen Auxins Indolylbuttersäure (IBA) für die Bewurzelung untersucht werden. Die Anwesenheit von Auxinen ist vor allem bei der Induktionsphase der Bewurzelung von Bedeutung, während es in der Wachstumsphase der Wurzeln nicht mehr notwendig ist. Die Konzentration des Auxins ist aber in jedem Fall entscheidend und variiert von Art zu Art. Die ideale Konzentration muss daher für jede Pflanze experimentell ermittelt werden (George, 1996). Auch ist nicht immer jene Konzentration, die die höchste Anzahl an Wurzeln oder die längsten Wurzeln hervorbringt, die Beste, denn es geht vor Allem darum, funktionstüchtige Wurzeln zu erhalten. Am besten zu bewerten ist also jene Konzentration, bei der die Überlebensrate der bewurzelten Pflanzen am höchsten ist (George, 1996). Darüber hinaus sollte das von Newell (2006) erfolgreich eingesetzte IVS-Substrat, eine Mischung von Sand, Perlit und Torf, auf seine Eignung zur Bewurzelung von *L. tibetica* getestet werden.

2. Material und Methoden

2.1. Pflanzenmaterial

Das in den Versuchen eingesetzte Pflanzenmaterial geht auf Samen zurück, die von Dr. Davaakhuu Gaamaa (Department of Biology, National University of Mongolia, Ulaanbaatar, Mongolei) in der Provinz Huvsvugal Aimag, Mongolei, gesammelt worden waren. Die Samen wurden 2013 am Department für Pharmakognosie, Universität Wien nach Oberflächensterilisation unter sterilen Bedingungen in vitro gekeimt und mehrere Klone auf Nährmedien nach Murashige und Skoog (MS) mit Wuchsstoffen in verschiedenen Konzentrationen etabliert. Das beste Wachstum zeigte sich bislang bei Zusatz von 1 μ M Kinetin, weshalb dieses Medium für die Weitervermehrung zur Anwendung kam (Abbildung 3).



Abbildung 3: Stammkultur von Lancea tibetica auf MS Medium mit 1 μ M Kinetin

In der vorliegenden Arbeit setzten wir die Klone 2b, 2c, 5b, 7b, 9b, 9c, 11a und 11b ein, welche wir auch laufend weiter vermehrten.

2.2. Nährmedien

In der pflanzlichen Gewebekultur muss das in vitro-System alle für die Pflanze lebenswichtigen Faktoren wie Licht, Wasser und Nährstoffe bereitstellen. Eine

wichtige Rolle spielt dabei das Nährmedium. Ein bekanntes Basisnährmedium ist das MS-Medium nach Murashige und Skoog (1962). Es besteht aus anorganischen Makro- und Spurenelementen, Vitaminen, Zucker (meist Saccharose) und einem Gelbildner (Agar oder Gelrite®). Je nach Verwendungszweck können zusätzlich pflanzliche Wachstumsstoffe (Phytohormone) wie Auxine oder Cytokinine zugegeben werden. Da unsere Arbeit darauf abzielte, Sprosse erfolgreich zu bewurzeln, wurde in allen Versuchen das Auxin IBA (4-(Indol-3-yl)buttersäure) verwendet. Die Vermehrung des Versuchsmaterials erfolgte auf ½ MS-Medium, als Gelbildner wurde Gelrite® (Carl Roth GmbH, Karlsruhe) verwendet.

Bezüglich der Medien für die Bewurzelungsversuche orientierten wir uns an der Arbeit von Newell (2006). Seinen Studien liegt die Hauptthese zugrunde, dass Sauerstoffmangel (Hypoxie) in Agarmedien die in vitro-Bewurzelung sehr erschwert. Wir setzten das von ihm beschriebene IVS-Bewurzelungssubstrat (IVS-Medium) aus Sand (Korngröße 1-3 mm), Perlit und Torf in einem Verhältnis von 2:2:0,5 ein. Dies stellt ein sehr lockeres und im Gegensatz zum Agarmedium, welches sehr dicht ist, gut belüftetes Medium dar, welches mit Wasser getränkt und durch Zugabe von Kalk (Calciumcarbonat) auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt wird.

Laut Newell (2006) macht es auch die anschließende Akklimation leichter, wenn die Bewurzelung nicht in Agarmedium stattfindet, sondern im wesentlich besser belüfteten IVS-Medium. Der Vorgang des Umsetzens geht dann schneller und problemloser, denn es muss z.B. kein Nährmedium aus dem Wurzelnetz ausgewaschen werden (George, 1996). In Anlehnung an Newell kam in unserer Arbeit zu Vergleichszwecken auch ein MS-Medium mit halber Konzentration an Makroelementen (½ MS) und 0,8 % Agar (Fa. Merck) zum Einsatz.

Als Kulturgefäße wurden Gläser der Firma HIPPO® verwendet, in die jeweils etwa 40 ml Nährmedium gefüllt wurden. Auch für das IVS-Substrat wurden dieselben Gläser eingesetzt. Verschluss wurden die Gefäße mit Kunststoffdeckeln (Magenta B-Caps®) der Firma Sigma. Die Agarmedien wurden für 20 min. bei 121°C und 1 bar autoklaviert. Die Gläser mit IVS-Medium wurden an zwei

aufeinanderfolgenden Tagen jeweils für 60 min. bei 121°C und 1 bar autoklaviert (Newell, 2006).

2.3. Kulturbedingungen

Die Kulturen wurden in Klimaräumen mit konstanter Temperatur ($25\pm 1^\circ\text{C}$) und 16 h Kunstlicht mit einer Intensität von $40\ \mu\text{M}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Leuchtstoffröhren Sylvania Gro-Lux[®]) gehalten.

Für die Bewurzelungsversuche verwendeten wir ausschließlich Sprossspitzen, die alle in die gleiche Länge von ca. 1,5 cm geschnitten wurden. Es wurden bei allen Versuchen 15 Explantate eingesetzt, d.h. es wurden immer 5 Gläser mit je drei Sprossspitzen inokuliert. Die anfallenden Nodien wurden zur Weitervermehrung verwendet.

Unser Versuchsaufbau (Tabelle 1, S. 9) orientierte sich an der Arbeit von Newell (2006). Wir wandten zwei unterschiedliche Bewurzelungsmethoden an. Zum Einen setzten wir Seradix[®]-Bewurzelungspulver ein (Abbildung 4).



Abbildung 4: Seradix[®]-Bewurzelungspulver der Firma Kwizda

Dieses Pulver enthält das Auxin IBA und wird gärtnerisch zur Stecklingsbewurzelung eingesetzt. Es gelangten die drei Stärken B1 ($4900\ \mu\text{M}$ IBA), B2 ($14800\ \mu\text{M}$ IBA) und B3 ($39400\ \mu\text{M}$ IBA) zur Anwendung. Nachdem die Sprossspitzen an der Schnittstelle kurz in das Pulver getaucht wurden, brachten wir sie in IVS-Medium ein, wo sie 21 Tage bis zur Auswertung belassen wurden.

Die zweite Methode war eine Pulsbehandlung mit IBA im Dunklen (Abbildung 5) für eine Dauer von 1, 3 oder 7 Tagen. IBA wurde in den Stärken 40, 80, 160 und 320 μM in $\frac{1}{2}$ MS-Medium angewendet, wobei auch eine Kontrollbehandlung mit IBA-freiem Medium erfolgte.



Abbildung 5: Pulsbehandlung im Dunklen in einer verschließbaren Kartonbox

Danach wurden die Sprossspitzen so wie bei der Seradix®-Gruppe in ein Glas mit IVS-Medium umgesetzt und für 20, 18 oder 14 Tage dort belassen (Abbildung 6), sodass sich eine Gesamtversuchsdauer von 21 Tagen ergab.

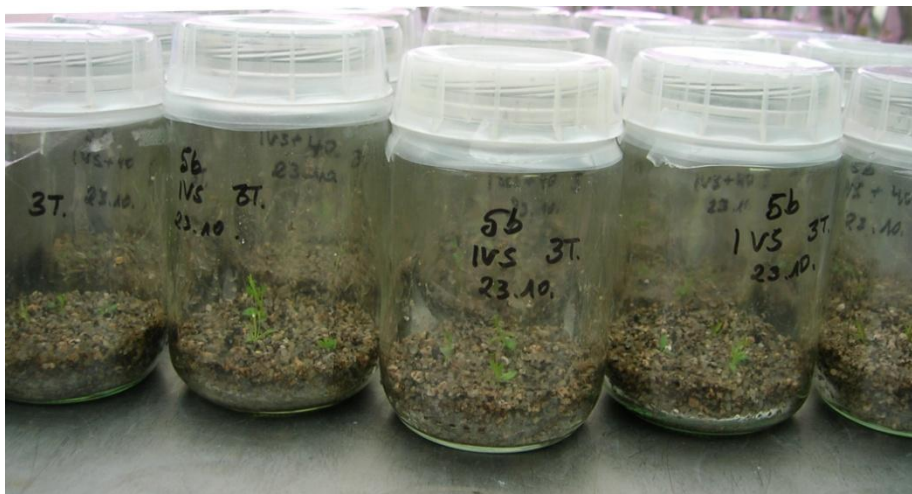


Abbildung 6: Sprossspitzen nach dem Umsetzen auf IVS-Medium

Auch die Lichtverhältnisse während des Bewurzelungsvorgangs können für den Erfolg entscheidend sein. Während der Behandlung mit IBA wurden die

Kulturgefäße mit den Pflanzen für 1, 3 oder 7 Tage unter Lichtausschluss in einem verschlossenen Karton gelagert (Abbildung 5, S. 8). Vor allem während der Induktionsphase der Wurzelbildung ist eine Kultivierung im Dunklen meist vorteilhaft (George, 1996). Bei der Seradix®-Gruppe war durch das IVS-Medium selbst von Anfang an eine Abdunkelung des Wurzelbereichs gegeben.

Tabelle 1: Überblick über die durchgeführten Bewurzelungsversuche

Behandlungsmethode	Dauer in Tagen	IBA-Konz. (µM)	Klone
Seradix®	21	4900	2b, 5b, 9b, 11a
		14800	2b, 5b, 7b, 9b, 11a
		39400	2b, 5b, 7b, 9b, 11a
Pulsbehandlung	1+20*	0	5b
		40	5b
		80	5b
		160	5b
		320	5b
	3+18*	0	2c, 5b, 9c, 11b
		40	2c, 5b, 9c, 11b
		80	2c, 5b, 9c, 11b
		160	2c, 5b, 9c, 11b
		320	2c, 5b, 9c, 11b
	7+14*	0	5b
		40	5b
		80	5b
		160	5b
		320	5b

* Die Pulsbehandlung erfolgte bei einer Gesamtdauer von 21 Tagen für 1, 3 oder 7 Tage im Dunklen und die restliche Zeit im Licht.

2.4. Kulturauswertung

Die Auswertung erfolgte immer genau 21 Tage nach Versuchsbeginn. Erhoben wurde zunächst die Bewurzelungsrate als Anteil der Explantate, die Wurzeln gebildet hatten. An bewurzelten Sprossen ermittelten wir die Anzahl der gebildeten Wurzeln (Wurzelsanzahl) sowie die Wurzellänge.

Danach wurden die bewurzelten Pflanzen in Töpfchen ($\varnothing$ 6 cm) mit IVS-Medium eingesetzt und in die Akklimatisierungskammer überführt, wo schließlich auch noch die Sprosslängen gemessen wurden. Für eine Akklimatisierung von in vitro gezogenen Pflanzen ist eine hohe Luftfeuchtigkeit unentbehrlich, damit eine erfolgreiche Adaptierung an ex vitro-Bedingungen gelingt. Die Pflanzen müssen so schnell wie möglich umgesetzt und wieder bei ausreichender Luftfeuchtigkeit gehalten werden (Abbildung 7), denn sonst besteht die Gefahr des Austrocknens innerhalb kurzer Zeit (George, 1996).



Abbildung 7: Jungpflanzen während des Akklimatisierungsprozesses

Beim Vorgang der Akklimatisierung werden die Pflanzen ausgehend von annähernd 100 % relativer Luftfeuchte im Kulturgefäß schrittweise an eine niedrigere Luftfeuchtigkeit gewöhnt – hier geht es vor allem darum, eine korrekte Funktion der Stomata zu erreichen. Zuerst wurden die Pflanzen eine Woche bei 80 % relativer Luftfeuchte in der Akklimatisierungskammer gelassen, anschließend eine Woche bei 75 % und eine weitere Woche bei 70 % Feuchte. Dann überführten wir die Pflanzen ins Glashaus, wo eine relative Luftfeuchte von ca. 60 % herrschte.

Während der Akklimatisierungsphase und auch während der Kultivierung im Glashaus wurde über einen Zeitraum von 8 Wochen je 1x pro Woche die Sprosslänge gemessen, um so auch das Sprosswachstum erfassen zu können.

Für die statistische Auswertung wurde das Programm Statistica der Firma StatSoft Inc., USA in der Version 6.1. verwendet. Mit Hilfe des Programms wurden die Mittelwerte und Standardfehler berechnet und die Varianz durch eine mehrfaktorielle Analyse mit anschließendem Duncan's Multiple Range Test ermittelt. Die Ergebnisse der Varianzanalyse werden in allen Diagrammen mit Kleinbuchstaben über den Messwerten dargestellt, wobei gleiche Kleinbuchstaben anzeigen, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Werten besteht (Signifikanzniveau $p \leq 0,05$). Bei allen Balkendiagrammen geben die schwarzen Striche über den Balken den Standardfehler des Mittelwertes wieder.

3. Ergebnisse

3.1. Bewurzelung mittels IBA-haltigem Seradix®-Pulver

Die folgenden Fotos (Abbildung 8) geben eine Übersicht über die in den folgenden Kapiteln besprochenen Ergebnisse der Bewurzelungsversuche mit Seradix®-Pulver. In dieser Gruppe wurden Versuche mit den Klonen 2b, 5b, 7b, 9b und 11a durchgeführt.

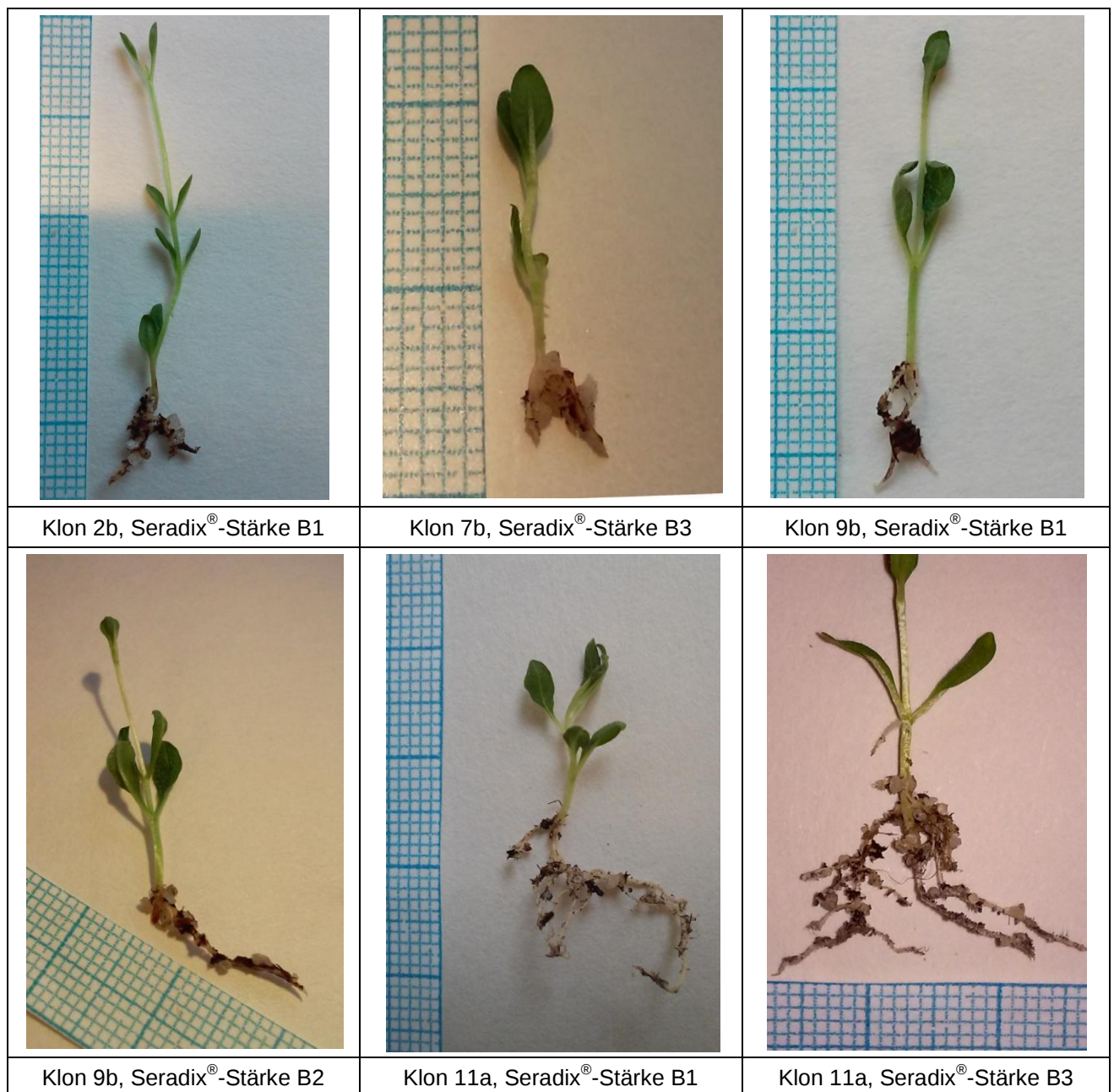


Abbildung 8: Erfolgreich bewurzelte Sprossexplantate aus der Seradix®-Gruppe

3.1.1. Einfluss von Seradix® auf die Bewurzelungsrate

Anhand von Diagramm 1 kann man erkennen, dass es zwischen den drei Stärken des Seradix®-Pulvers mit jeweils unterschiedlichem Gehalt an IBA keinen signifikanten Unterschied in der Bewurzelungsrate gab. Die höchste Bewurzelungsrate war mit über 50 % bei Einsatz von 39400 µM IBA zu beobachten.

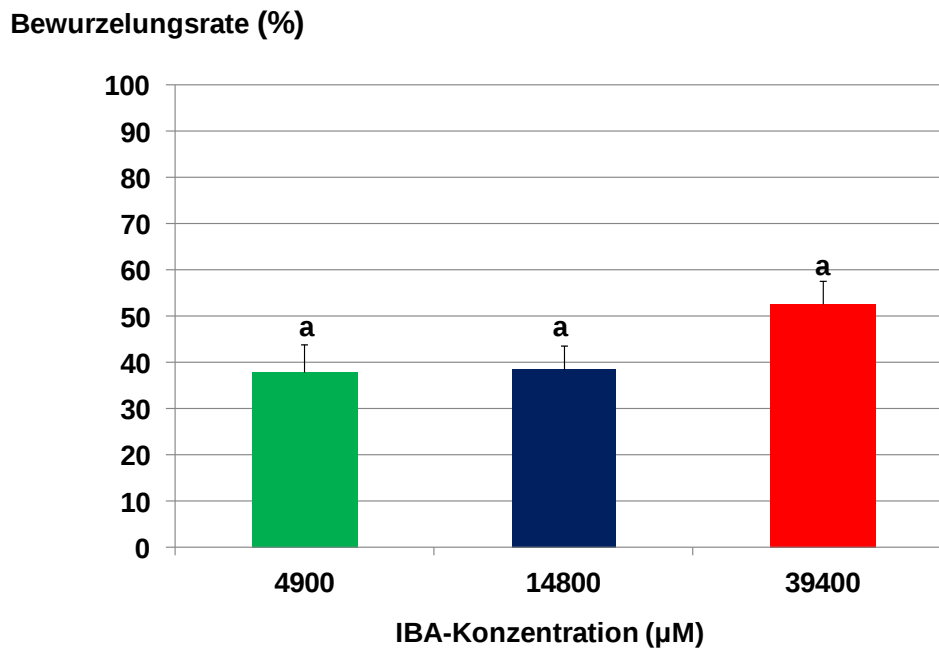


Diagramm 1: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate der Seradix®-Gruppe bei allen drei IBA-Stärken und über alle eingesetzten Klone gemittelt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

In Diagramm 1 sind alle Pflanzenklone, mit denen Seradix®-Versuche durchgeführt wurden, zusammengefasst dargestellt. Um die Unterschiede zwischen den einzelnen Klonen sichtbar zu machen, wurde im Folgenden für jede Seradix®-Stärke ein eigenes Diagramm angefertigt, wobei jeder Klon einzeln dargestellt wird.

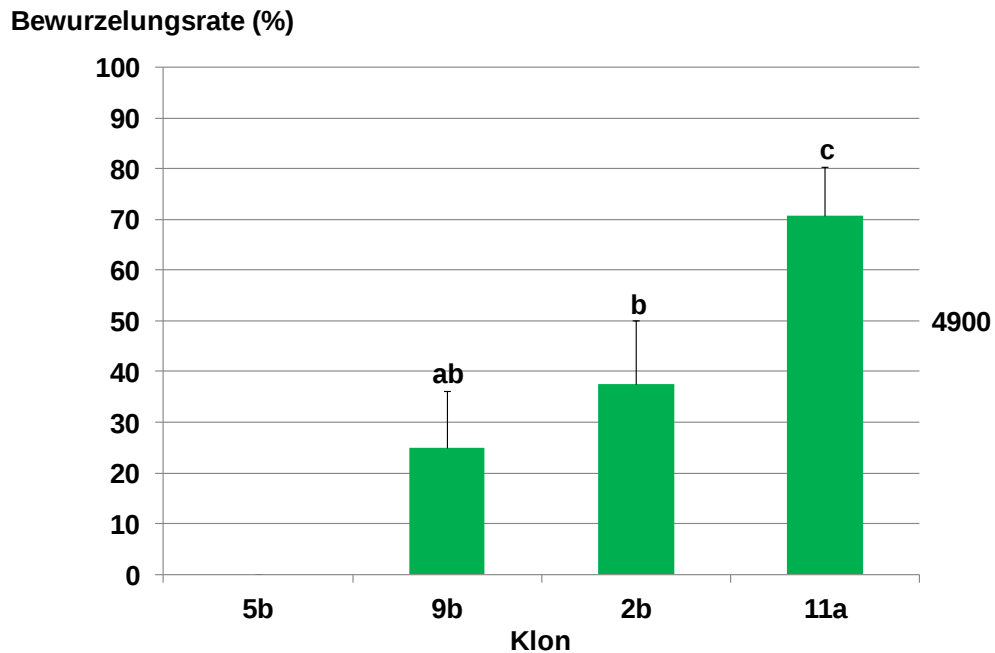


Diagramm 2: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate der Seradix®-Gruppe bei 4900 µM IBA und über alle eingesetzten Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

In Diagramm 2 werden die Unterschiede in der Bewurzelungsrate zwischen den einzelnen Klonen von *Lancea tibetica* nach Einsatz des Seradix®-B1-Pulvers (4900 µM IBA) deutlich. Bei Klon 11a wurden bei einer Bewurzelungsrate von knapp über 70 % die besten Erfolge erzielt. Dieser Wert unterscheidet sich auch signifikant von denen der Klone 9b und 2b. Bei Klon 5b kam es zu gar keiner Bewurzelung.

Bei den Versuchen mit den beiden höheren Stärken B2 und B3 des Bewurzelungspulvers wurde zusätzlich auch Klon 7b eingesetzt. Bei Einsatz von 14800 µM IBA hob sich Klon 11a von allen andern Klonen, mit Ausnahme von Klon 9b, deutlich ab. Er zeigte mit 75 % die höchste Bewurzelungsrate (Diagramm 3, S. 16), dieser Wert war höher als der mit 4900 µM IBA gemessene Anteil.

Bewurzelungsrate (%)

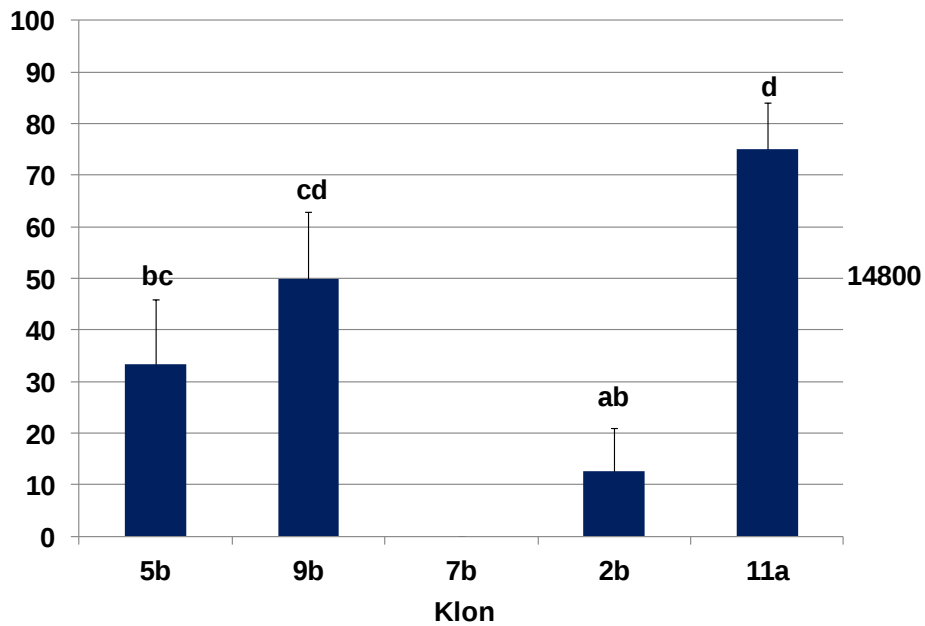


Diagramm 3: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate der Seradix®-Gruppe bei 14800 µM IBA und über alle eingesetzten Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Bewurzelungsrate (%)

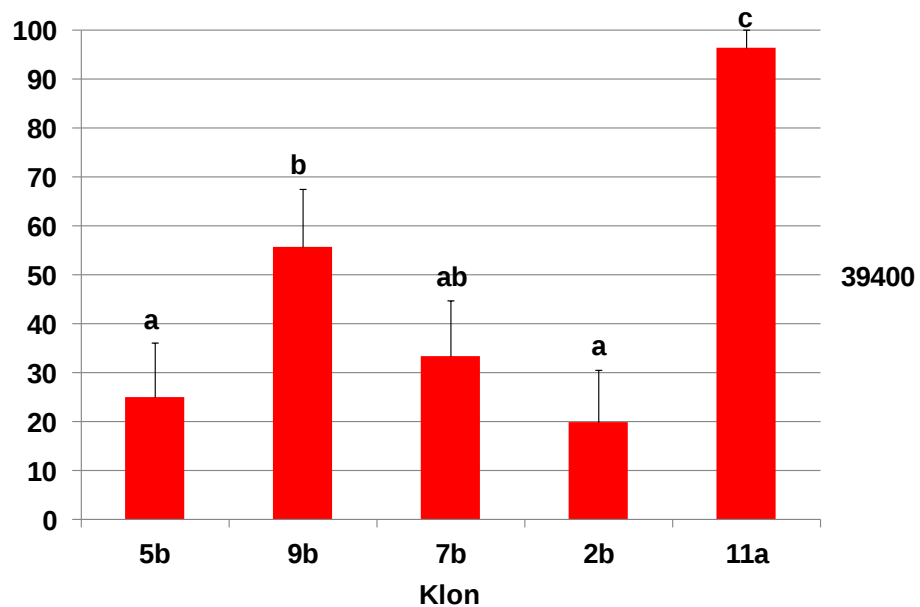


Diagramm 4: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate der Seradix®-Gruppe bei 39400 µM IBA und über alle eingesetzten Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

In Diagramm 4 (S. 16) zeigt sich nochmals deutlich, dass die Bewurzelung mit Seradix®-B3-Pulver bei Klon 11a am erfolgreichsten war. Hier lag die Bewurzelungsrate sogar bei über 95 % und dieser Wert unterschied sich signifikant von der Bewurzelungsrate aller anderen eingesetzten Klone. Die Klone 5b, 9b, 7b und 2b unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

3.1.2. Einfluss von Seradix® auf die Wurzelanzahl

Eine hohe Bewurzelungsrate bedeutet nicht unbedingt eine hohe Wurzelanzahl pro Pflanze, aber viele Wurzeln beeinflussen womöglich ein späteres Wachstum der Pflanze vorteilhaft. Daher wurde die Anzahl der Wurzeln pro Explantat erhoben.

In Diagramm 5 zeigt sich, dass bezüglich der Wurzelanzahl die niedrigste Konzentration an IBA die meisten Wurzeln hervorbrachte. Im Schnitt wurden pro Pflänzchen 3,4 Wurzeln ausgebildet. Dieser Wert unterscheidet sich signifikant von dem bei den anderen Seradix®-Stärken.

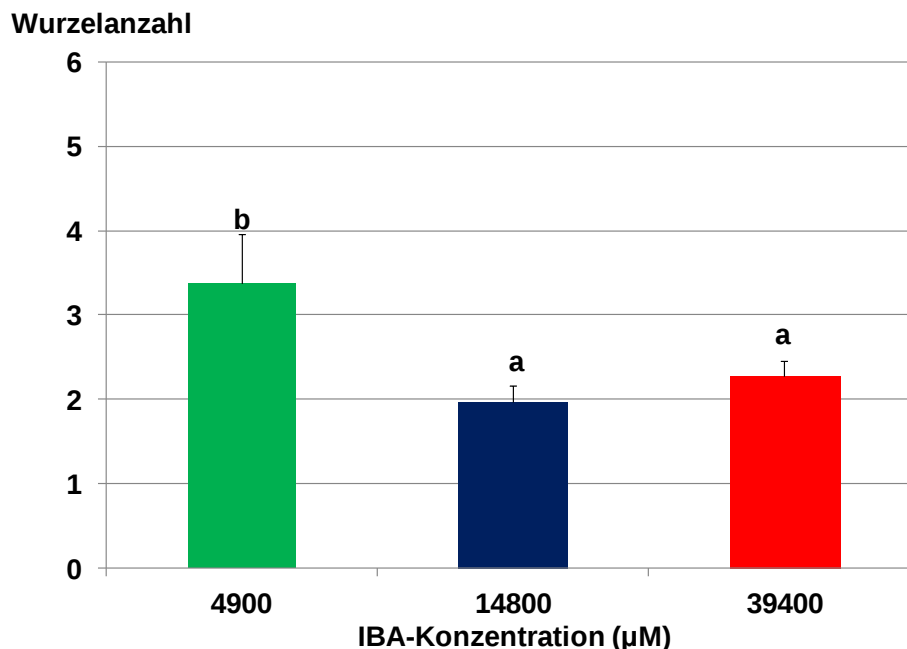


Diagramm 5: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelanzahl der Seradix®-Gruppe bei allen drei Stärken und über alle eingesetzten Klone gemittelt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Auch in diesem Kapitel werden auf den nächsten Seiten die verschiedenen Klone wieder getrennt voneinander dargestellt.

Mit Seradix®-B1 (4900 µM IBA) wurde zwar auch mit Klon 5b ein Versuch durchgeführt, jedoch kam es zu keiner Wurzelbildung. Klon 5b wird daher in den Diagrammen für Wurzelanzahl und Wurzellängen nicht aufgeführt, dasselbe gilt für Klon 7b bei 14800 µM IBA (Seradix®-B2).

Bei Einsatz von 4900 µM IBA zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Klonen (Diagramm 6). Die Explantate von Klon 11a bildeten aber mit etwa 4,5 durchschnittlich die meisten Wurzeln pro Spross aus.

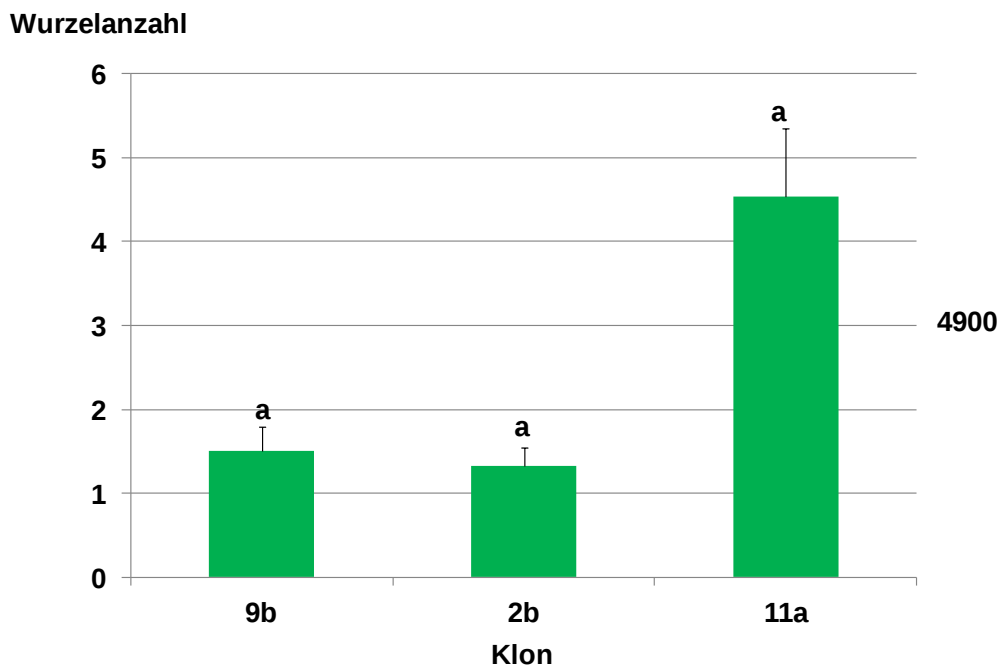


Diagramm 6: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelanzahl der Seradix®-Gruppe bei 4900 µM IBA und über alle eingesetzten Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Bei der mittleren Seradix®-Stärke unterschied sich Klon 11a mit durchschnittlich 2,5 Wurzeln pro Spross signifikant von den Klonen 5b und 9b (Diagramm 7, S. 19). Klon 11a wies auch die signifikant höchste Bewurzelungsrate auf. In diesem Fall schien also eine hohe Bewurzelungsrate mit einer hohen Anzahl an Wurzeln einher zu gehen.

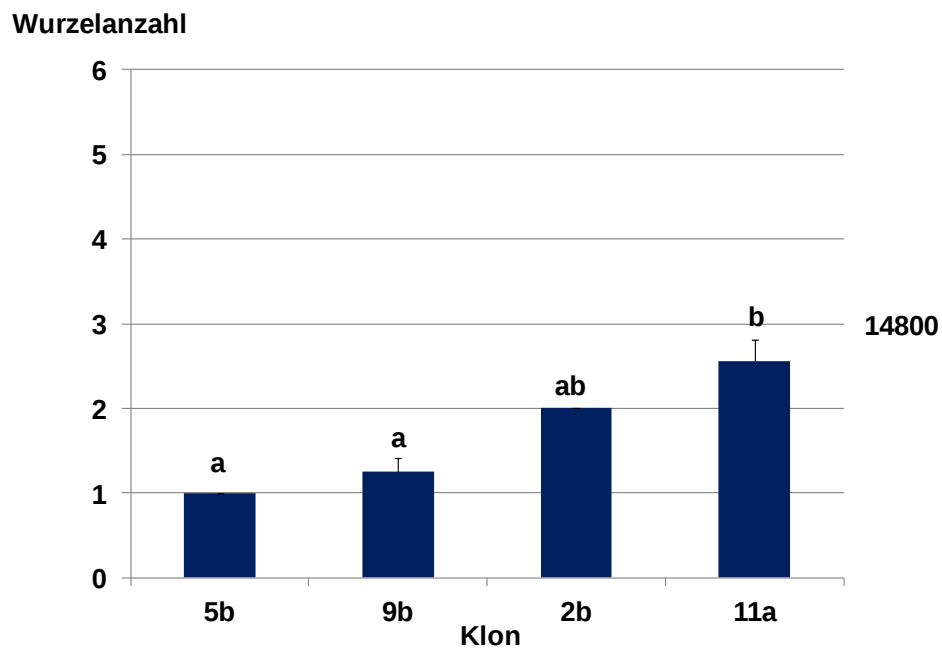


Diagramm 7: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelsanzahl der Seradix®-Gruppe bei 14800 µM IBA und über alle eingesetzten Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Auch in Diagramm 8 auf S. 20 (39400 µM IBA) zeigt Klon 11a bezüglich der Wurzelsanzahl einen signifikanten Unterschied zu Klon 2b, zu den Klonen 5b, 9b und 7b ist das jedoch nicht der Fall.

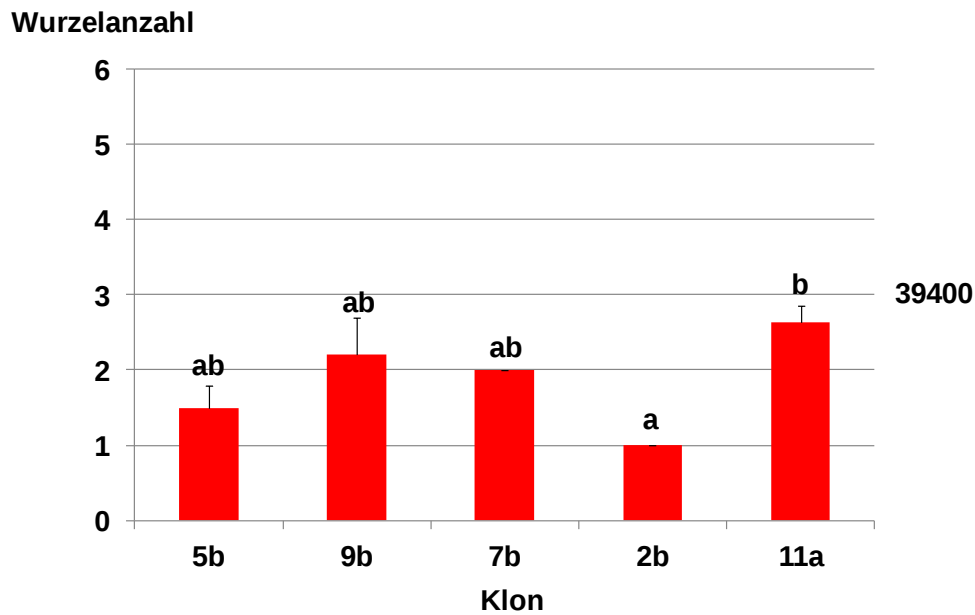


Diagramm 8: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelsanzahl der Seradix®-Gruppe bei 39400 µM IBA und über alle eingesetzten Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

3.1.3. Einfluss von Seradix® auf die Wurzellänge

Auch die Wurzellänge ist für die Funktionalität der Wurzeln und somit für das spätere Wachstum der Pflanzen von Bedeutung. Bezüglich der Wurzellängen gab es, wenn man alle Klone zusammengefasst dargestellt betrachtet, keinen signifikanten Einfluss der IBA-Konzentration (Diagramm 9, S. 21). Am längsten waren die Wurzeln mit über 0,7 cm Länge tendenziell bei Einsatz von 14800 µM IBA.

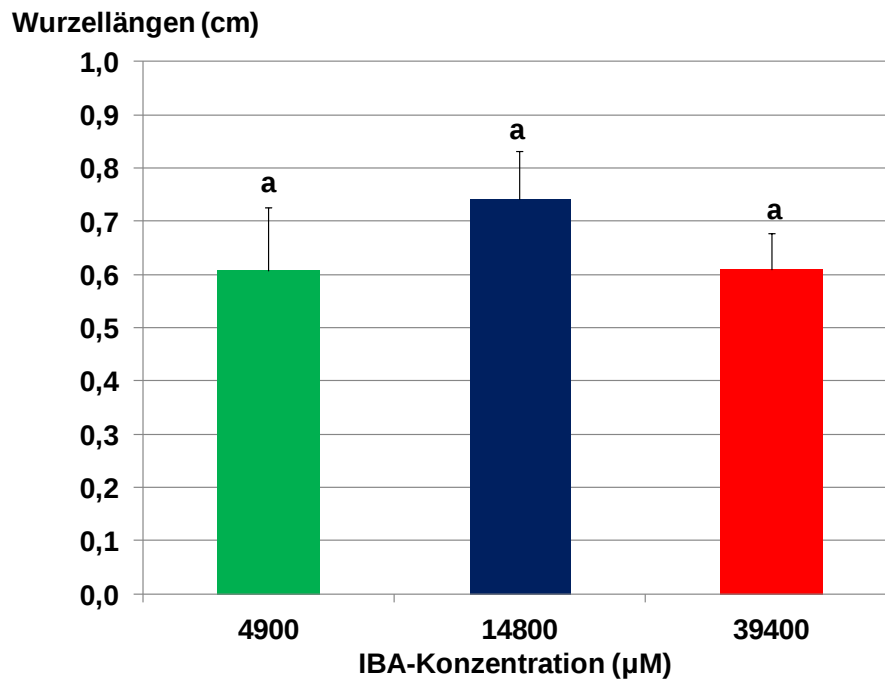


Diagramm 9: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen der Seradix®-Gruppe bei allen drei Stärken und über alle eingesetzten Klone, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

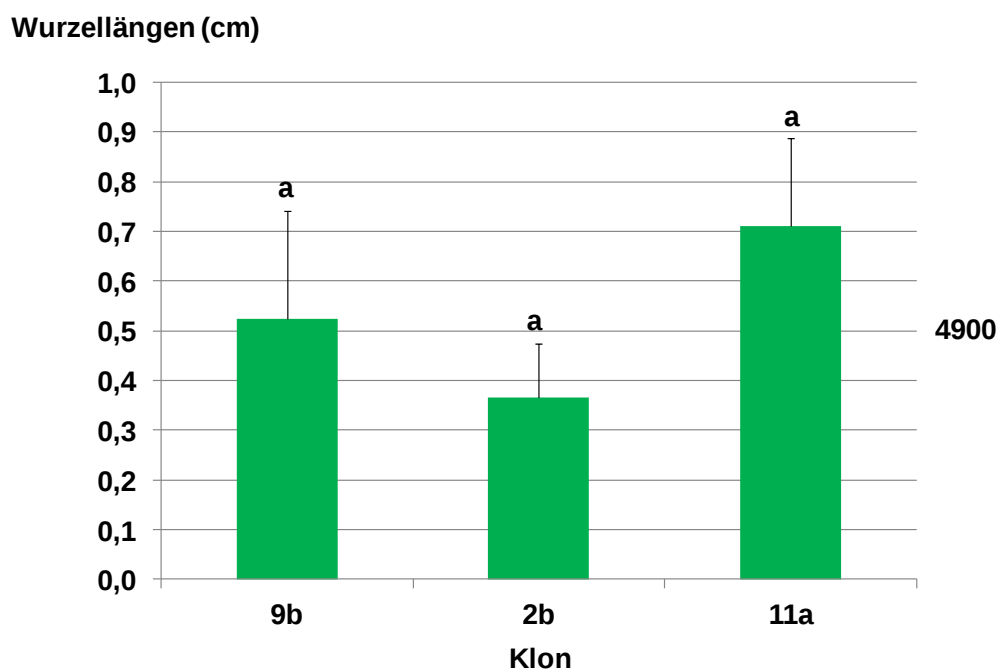


Diagramm 10: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen der Seradix®-Gruppe bei 4900 µM IBA und über alle eingesetzten Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Bei 4900 μM IBA zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Wurzellängen der Klone 9b, 2b und 11a (Diagramm 10, S. 21). Allerdings fiel auf, dass mit Klon 11a auch hier wieder, wie schon bei der Bewurzelungsrate und der Wurzelanzahl, die besten Ergebnisse erzielt werden konnten.

Bei Bewurzelung mit 14800 μM IBA unterschied sich Klon 11a mit einer durchschnittlichen Wurzellänge von etwa 0,93 cm signifikant von Klon 2b (0,1 cm, Diagramm 11). Kein signifikanter Unterschied bestand aber zu den Klonen 5b und 9b.

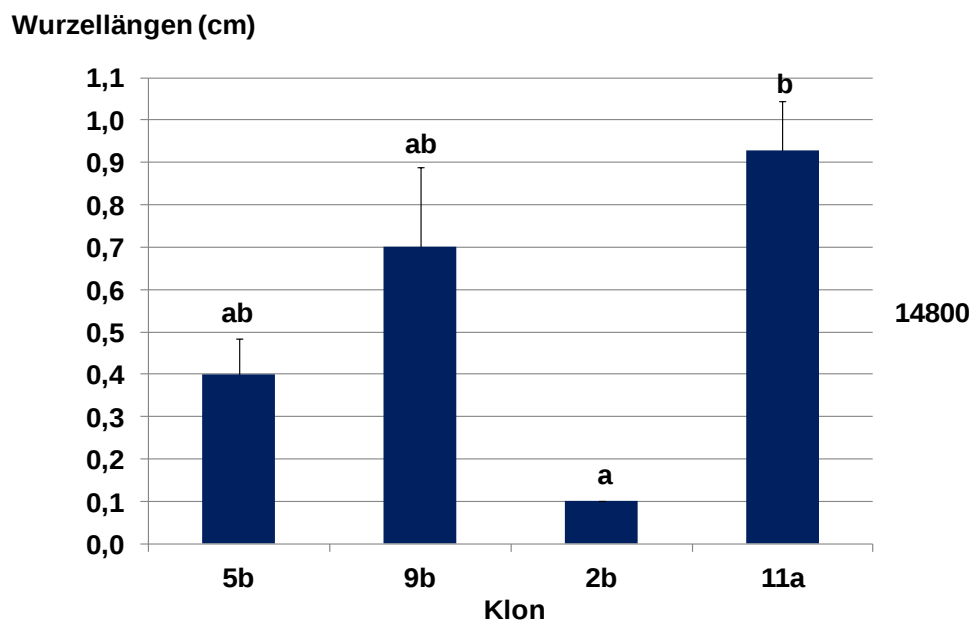


Diagramm 11: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen der Seradix®-Gruppe bei 14800 μM IBA und über alle eingesetzten Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Bei der höchsten Konzentration von 39400 μM IBA (Seradix® B3) bildeten sich an den Explantaten von Klon 11a mit einer durchschnittlichen Länge von 0,77 cm wieder die längsten Wurzeln. Auch Sprosse von Klon 9b generierten mit 0,67 cm noch recht lange Wurzeln. Beide Klone hoben sich auch signifikant von Klon 2b ab (Diagramm 12, S. 23).

Wurzellängen (cm)

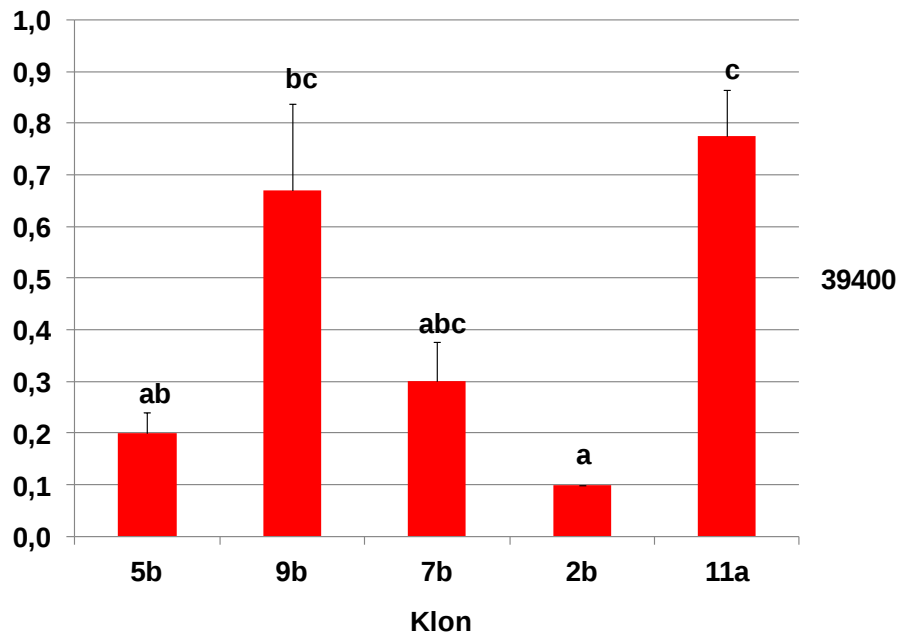


Diagramm 12: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen der Seradix[®]-Gruppe bei 39400 µM IBA und über alle eingesetzten Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

3.2. In vitro-Bewurzelung mittels Pulsbehandlung mit IBA

Bei dieser Behandlungsmethode wurden Versuche mit den Klonen 2c, 5b, 9c und 11b durchgeführt. Allerdings stand nur bei Klon 5b ausreichend Material zur Verfügung, um die Pulsbehandlung für 1, 3 und 7 Tage zu testen. Diese Versuche wurden zuerst durchgeführt, und da sich zeigte, dass bei 3-tägiger Pulsbehandlung mit IBA und folgendem Umsetzen auf wuchsstofffreies IVS-Medium die besten Ergebnisse erzielt wurden, führten wir mit den anderen Klonen dann nur noch die 3-tägige Behandlungsart durch. Die folgenden Fotos (Abbildung 9) zeigen einige Ergebnisse der Pulsbehandlung.

		
Klon 5b, 3-tägige Pulsbehandlung mit 160 µM IBA	Klon 9c, 3-tägige Pulsbehandlung mit 40 µM IBA	Klon 9c, 3-tägige Pulsbehandlung mit 80 µM IBA
		
Klon 11b, 3-tägige Pulsbehandlung mit 80 µM IBA	Klon 11b, 3-tägige Pulsbehandlung mit 160 µM IBA	Klon 11b, 3-tägige Pulsbehandlung mit 320 µM IBA

Abbildung 9: Erfolgreich bewurzelte Sprosse nach 3-tägiger Pulsbehandlung mit IBA in verschiedenen Konzentrationen

3.2.1. Gesamtergebnisse der Pulsbehandlung mit IBA

Die Pulsbehandlung hat durch die unterschiedliche Dauer der IBA-Behandlung im Dunklen sehr interessante Ergebnisse gebracht. Anhand von Diagramm 13 zeigt sich, dass eine 3-tägige Behandlung mit IBA bei jeder Stärke zu einer Bewurzelung führte. Bei 40, 80 und 160 μM des Auxins hob sich die Bewurzelungsrate auch signifikant von der Kontrollgruppe ohne IBA im Medium ab. Bemerkenswert hoch ist die Bewurzelungsrate bei 1-tägiger Pulsbehandlung mit 320 μM IBA.

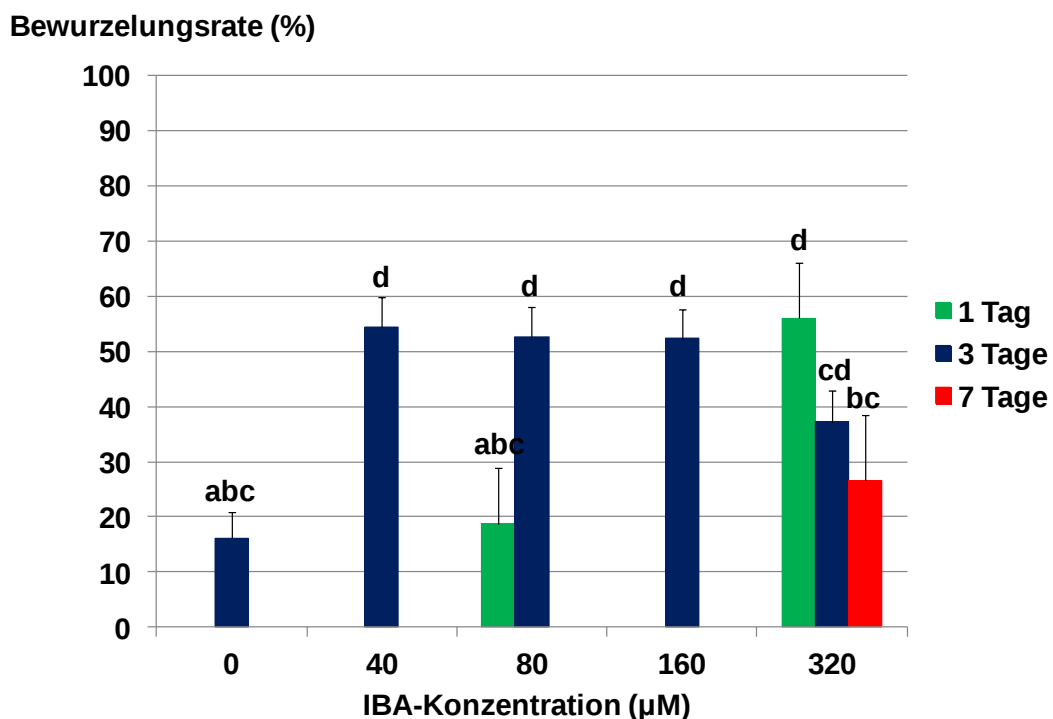


Diagramm 13: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate nach 1-, 3- und 7-tägiger Pulsbehandlung bei allen verwendeten IBA-Konzentrationen und über alle eingesetzten Klone gemittelt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Auch bei der Auswertung der Wurzelanzahl stach wieder die 1-tägige Behandlung mit 320 μM IBA heraus: Hier haben sich durchschnittlich 4,3 Wurzeln pro Spross gebildet. Dieses Ergebnis unterschied sich signifikant von allen anderen Behandlungsmethoden, außer der 3-tägigen Behandlung mit 160 μM IBA (Diagramm 14, S. 26).

Wurzelanzahl

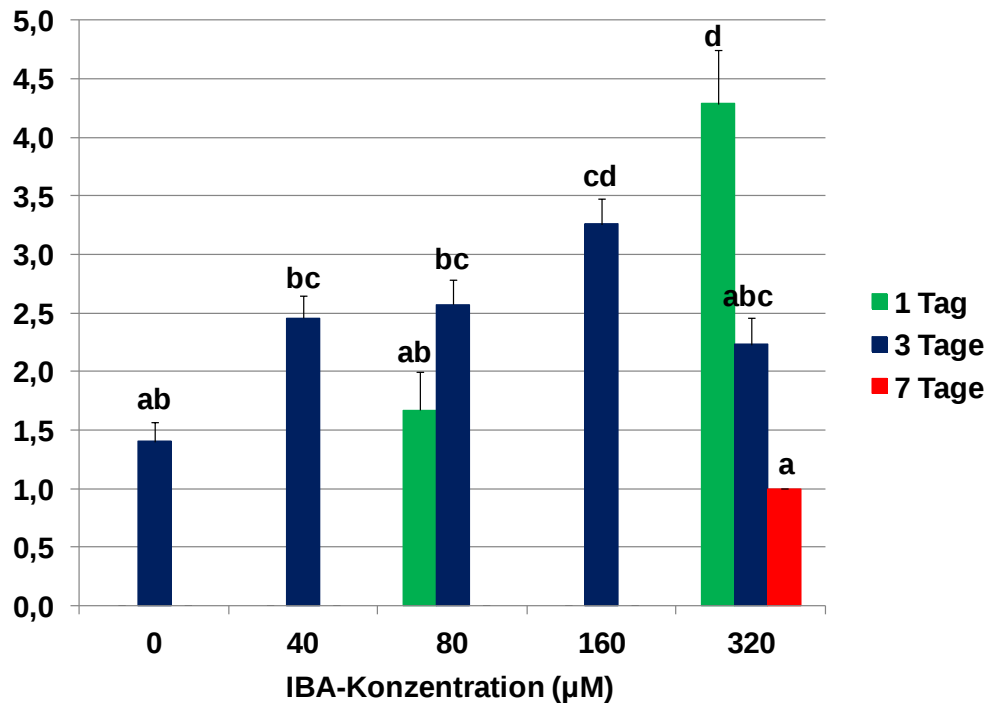


Diagramm 14: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelanzahl nach 1-, 3- und 7-tägiger Pulsbehandlung bei allen verwendeten IBA-Konzentrationen und über alle eingesetzten Klone gemittelt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Diagramm 15 (S. 27) zeigt, dass es bezüglich der Wurzellängen nur zwischen der 1-tägigen Behandlung bei 320 µM und der 3-tägigen Behandlung bei 0 und 40 µM signifikante Unterschiede gab. Bei der Bewertung der Wurzellängen fällt auf, dass die wenigen Wurzeln, die bei den Explantaten der Kontrollgruppe gewachsen sind, mit durchschnittlich 0,45 cm länger waren als bei Einsatz von Auxin, wenn auch nicht signifikant. Das unterstreicht die These, dass Auxin besonders die Induktionsphase der Bewurzelung begünstigt, für das Längenwachstum aber keine Vorteile bringt.

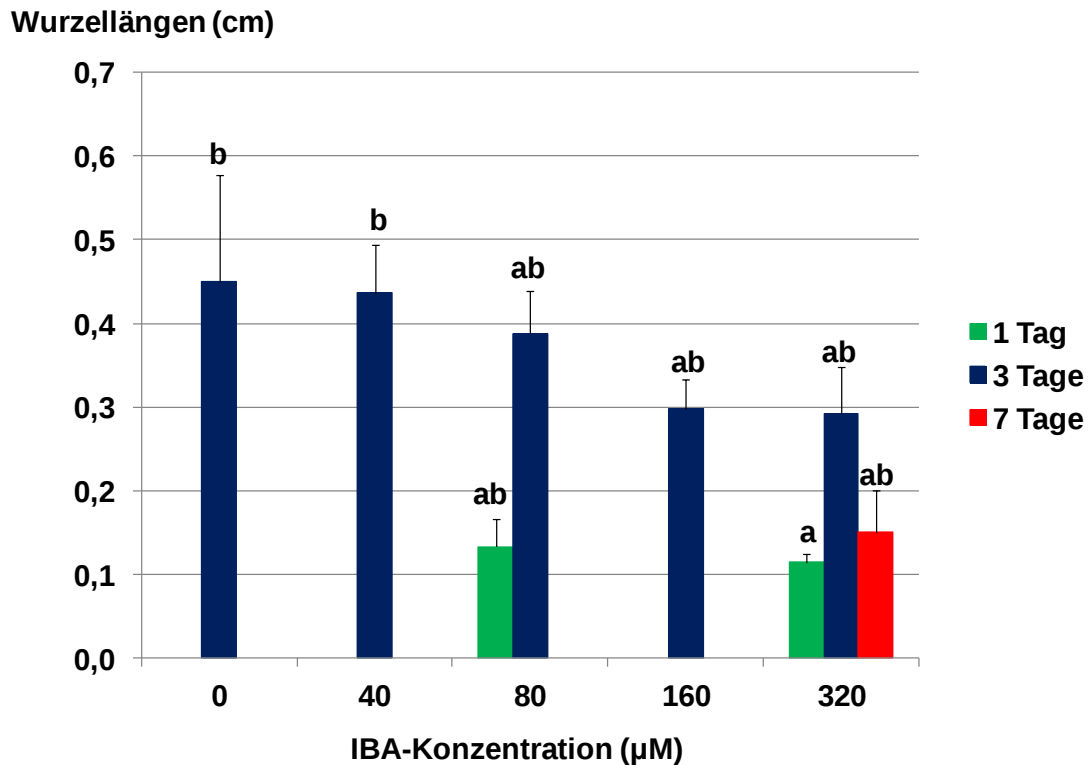


Diagramm 15: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen nach 1-, 3- und 7-tägiger Pulsbehandlung bei allen verwendeten IBA-Konzentrationen und über alle eingesetzten Klone gemittelt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Außerdem zeigte sich, dass bei 1-tägiger Behandlung mit 320 µM, wo sowohl die höchste Bewurzelungsrate als auch die höchste Wurzelanzahl beobachtet wurden, die Wurzeln im Schnitt am kürzesten waren (Diagramm 15). Eine hohe IBA-Konzentration wirkte sich hier auf das Längenwachstum offenbar negativ aus.

3.2.2. Bewurzelung bei 1-tägiger Pulsbehandlung

Die 1-tägige Pulsbehandlung wurde ausschließlich mit Klon 5b durchgeführt. Es kam nur bei 80 µM IBA und bei 320 µM IBA zu einer Wurzelbildung, die Bewurzelungsrate war bei 320 µM IBA allerdings signifikant höher als bei 80 µM (Diagramm 16, S. 28).

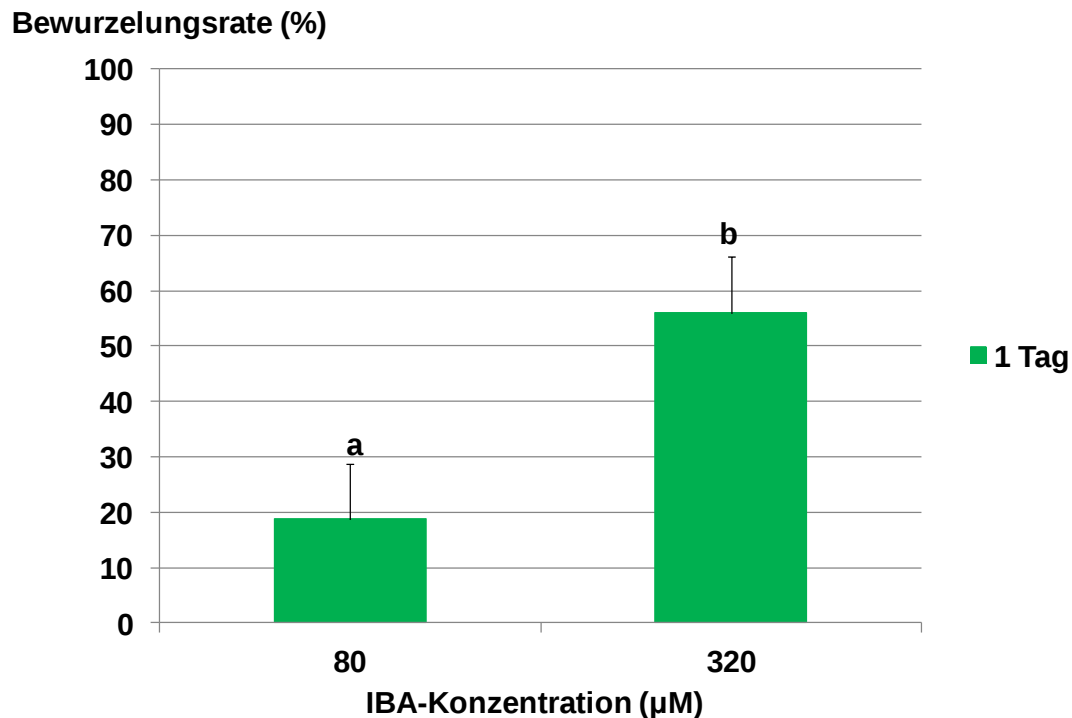


Diagramm 16: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate nach 1-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 5b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Eine eintägige Pulsbehandlung mit IBA ist sehr kurz, daher war es zu erwarten, dass hier höhere Konzentrationen an IBA benötigt wurden, damit es zu einer Induktion der Wurzelbildung kommt. Diese Theorie wurde durch die Ergebnisse bei 1-tägiger Behandlung bestätigt: Bei Einsatz von 40 µM kam es, wie bei der Kontrolle, noch zu keiner Bewurzelung und mit 80 µM war die Bewurzelungsrate noch wesentlich niedriger als mit 320 µM IBA. Allerdings bleibt unklar, wieso es bei Verwendung von 160 µM IBA zu gar keiner Bewurzelung kam.

Bezüglich der Wurzelanzahl zeigte sich, dass bei 80 µM IBA die durchschnittliche Anzahl bei 1,7 Wurzeln pro Spross lag, bei 320 µM Auxin fiel das Ergebnis mit 4,3 Wurzeln wesentlich höher aus.

Die Wurzellänge war bei beiden IBA-Konzentrationen mit durchschnittlich 0,1 cm fast ident.

3.2.3. Bewurzelung bei 3-tägiger Pulsbehandlung

Die 3-tägige Pulsbehandlung wurde mit insgesamt 4 Klonen (2c, 5b, 9c und 11b) durchgeführt. In den folgenden Kapiteln findet sich immer zuerst ein Gesamtüberblick über alle Klone, im Anschluss werden die Ergebnisse der einzelnen Klone genau analysiert.

3.2.3.1. Bewurzelungsrate

Betrachtet man Diagramm 17, ist ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe, wo IBA-freies Agarmedium verwendet wurde, und allen anderen Gruppen mit steigenden IBA-Konzentrationen zu erkennen. Die höchste Bewurzelungsrate lag bei Einsatz von 40 μM IBA vor und betrug etwa 54 %.

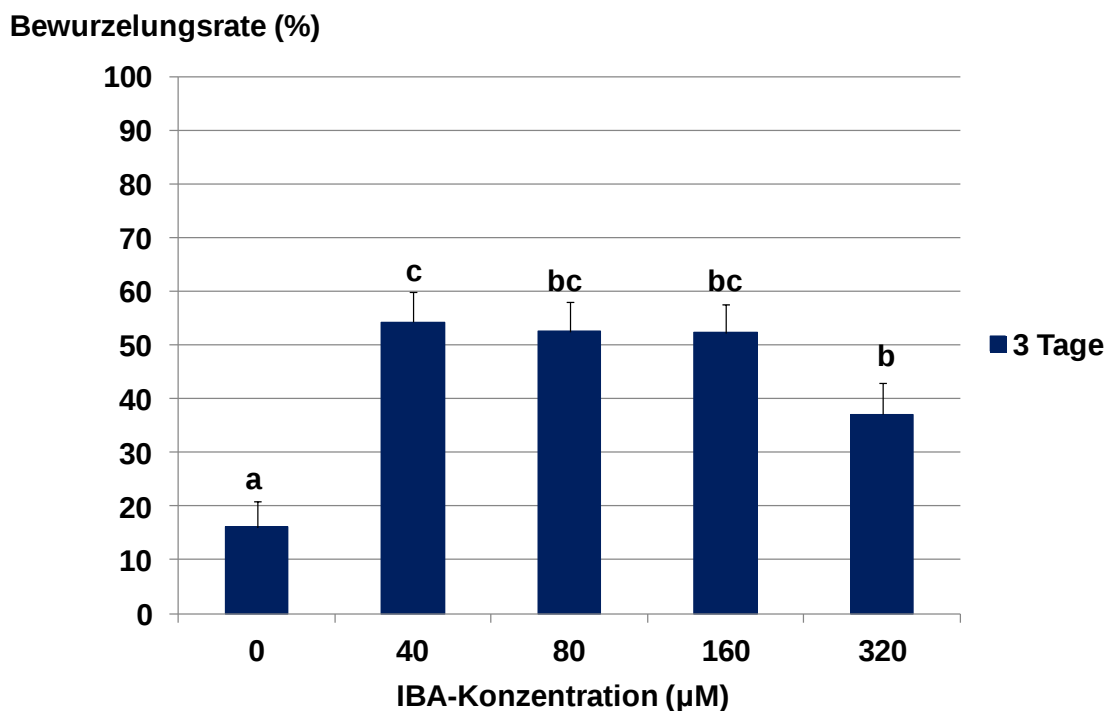


Diagramm 17: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei allen verwendeten IBA-Konzentrationen und über alle eingesetzten Klone, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Mit Klon 5b wurde die Pulsbehandlung nicht nur für 3, sondern auch für 1 und 7 Tage durchgeführt. Im Gegensatz zur 1-tägigen Behandlung (Diagramm 16, S. 28) kam es nach 3 Tagen (Diagramm 18, S. 30) bei allen IBA-Konzentrationen bis auf 80 μM zu einer Bewurzelung. Die maximale Bewurzelungsrate lag bei 27,7 % mit

40 μM IBA und damit deutlich unter der durchschnittlichen Bewurzelungsrate über alle Klone bei 3-tägiger Pulsbehandlung (Diagramm 17, S. 29). Signifikante Unterschiede zwischen den IBA-Konzentrationen zeigen sich in Diagramm 18 keine.

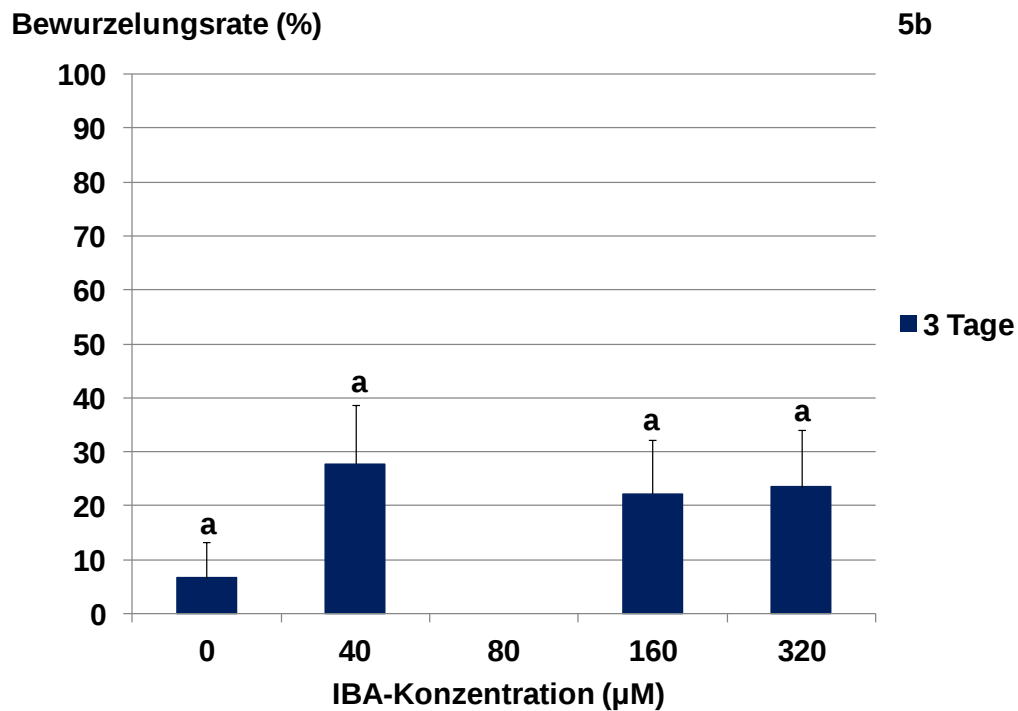


Diagramm 18: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 5b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Eine 3-tägige Behandlung von Sprossen des Klons 2c mit 80 μM IBA führte zur besten Bewurzelungsrate von etwa 42 %, wenngleich sich die Bewurzelungsrate nach Einsatz von 320 μM IBA (20 %) davon nicht signifikant unterschied (Diagramm 19, S. 31).

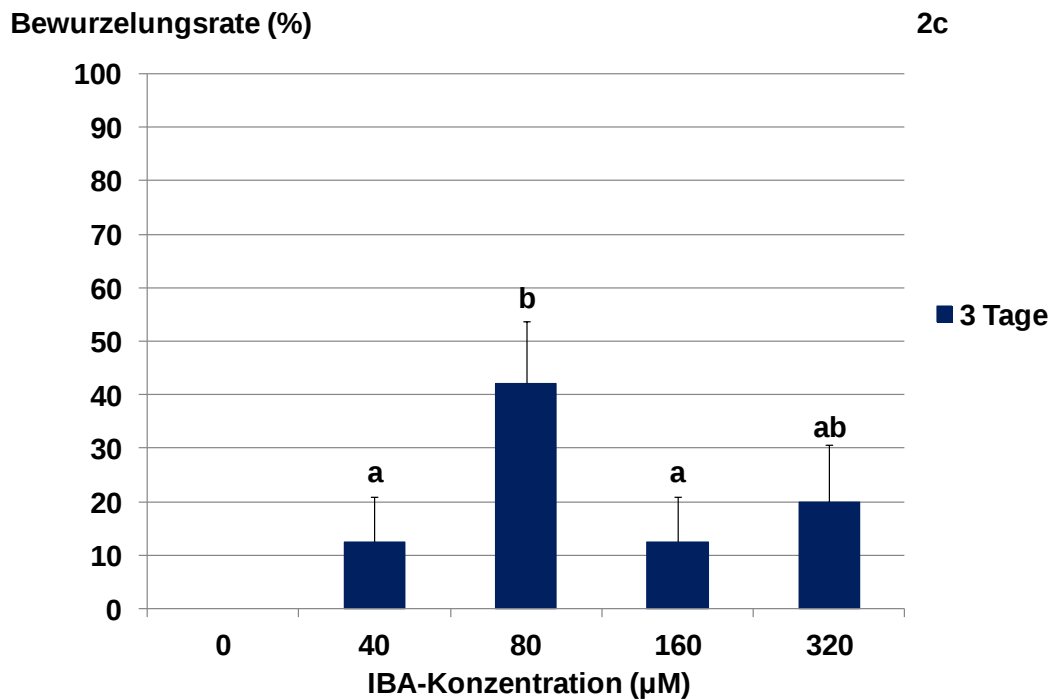


Diagramm 19: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 2c, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Anhand von Diagramm 20 (S. 32) sieht man, dass die maximale Bewurzelungsrate von ca. 74 % bei Klon 9c mit 40 µM IBA erzielt wurde. Dieser Wert und das Ergebnis bei Einsatz von 80 µM IBA hoben sich signifikant von der Kontrollgruppe ab.

Eine Bewurzelungsrate von 74 % ist ein sehr guter Wert, der auch deutlich über der durchschnittlichen Bewurzelungsrate über alle Klone bei 3-tägiger Behandlung (Diagramm 17, S. 29) lag.

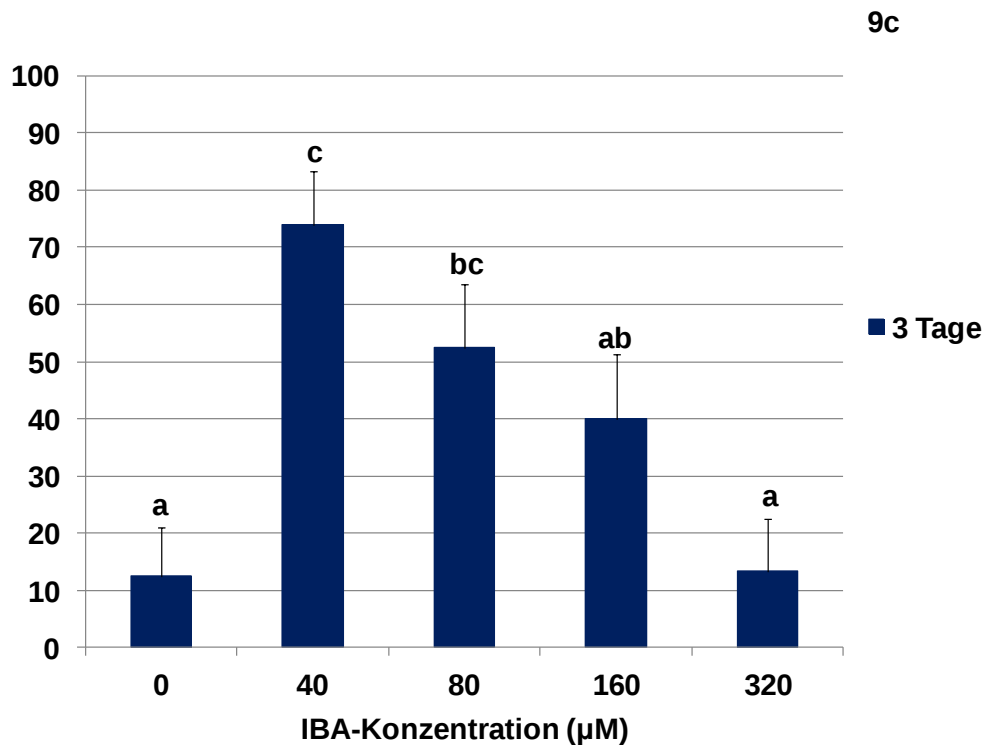


Diagramm 20: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 9c, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Besonders gute Ergebnisse ließen sich mit Klon 11b erzielen, hier betrug die Bewurzelungsrate nach Behandlung mit 80 oder 160 µM IBA über 90 %. Auch in der Kontrollgruppe wiesen knapp 45 % der Explantate Wurzelbildung auf (Diagramm 21, S. 33).

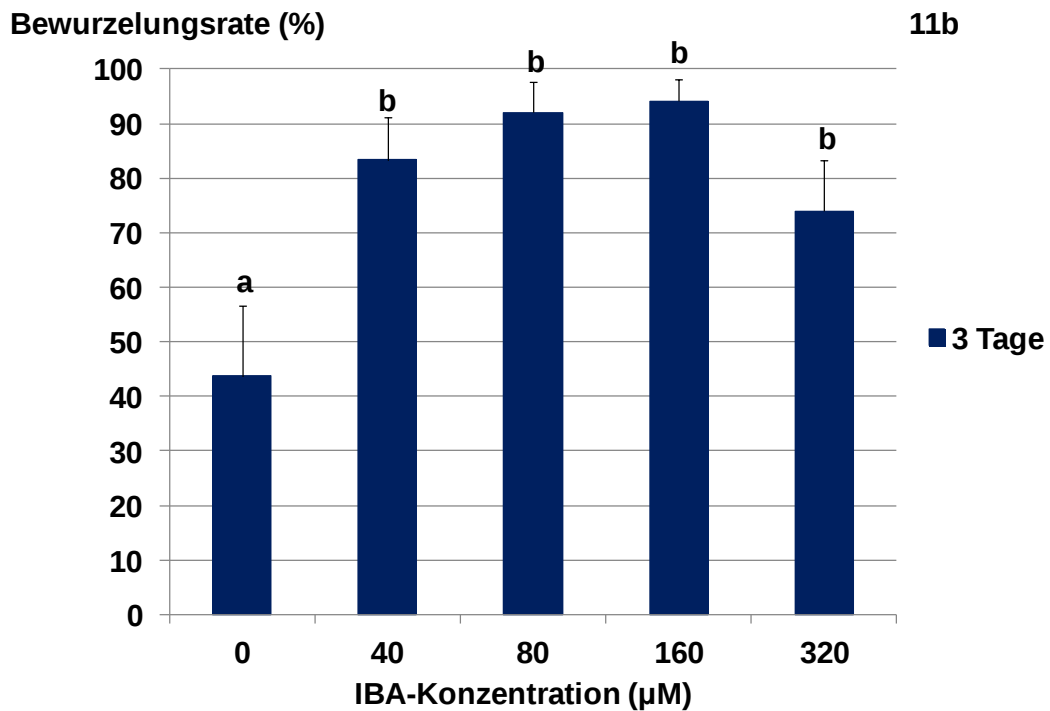


Diagramm 21: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 11b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

3.2.3.2. Wurzelanzahl

Das Diagramm zur Wurzelanzahl über alle Klone gemittelt zeigt eine signifikant höhere Anzahl an Wurzeln bei allen IBA-Konzentrationen im Gegensatz zur Kontrollgruppe (Diagramm 22, S. 34). Die meisten Wurzeln pro Spross bildeten sich mit einer durchschnittlichen Anzahl von 3,26 bei Einsatz von 160 µM IBA.

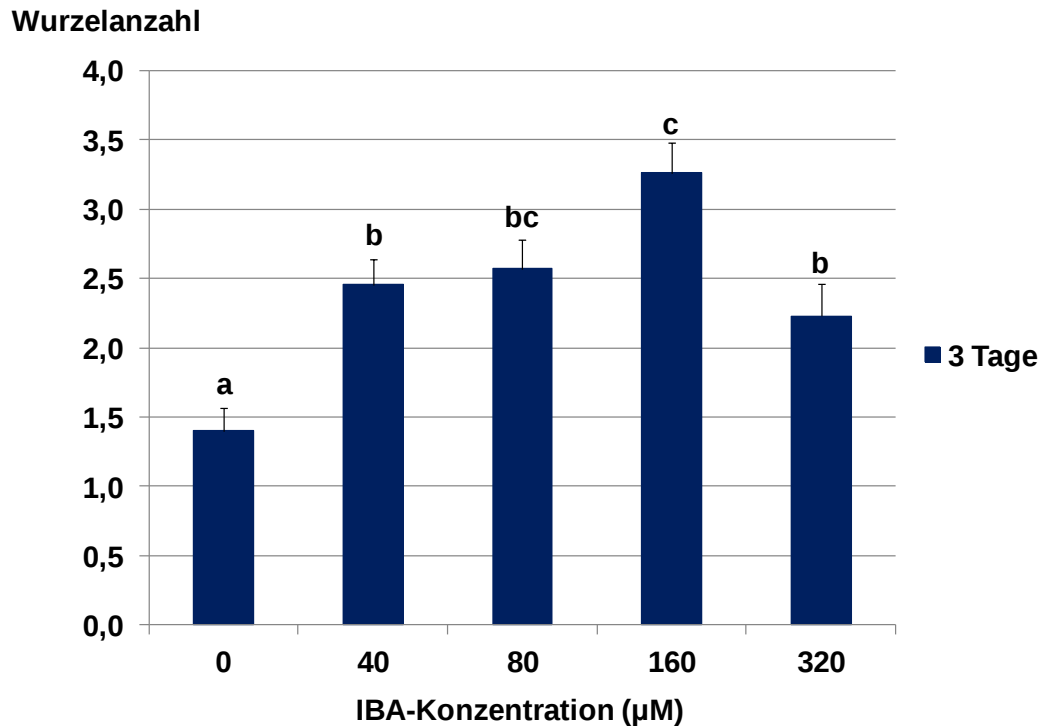


Diagramm 22: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelaanzahl nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei allen verwendeten IBA-Konzentrationen und über alle eingesetzten Klone, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Der Einsatz von 80 µM IBA führte bei Klon 5b zu keiner Bewurzelung, sodass in Diagramm 23 (S. 35) der entsprechende Balken fehlt.

Die Wurzelaanzahl bei allen Konzentrationen, bei denen es zu einer Bewurzelung kam, unterschied sich signifikant von der wesentlich niedrigeren Wurzelaanzahl bei der Kontrollgruppe (Diagramm 23, S. 35).

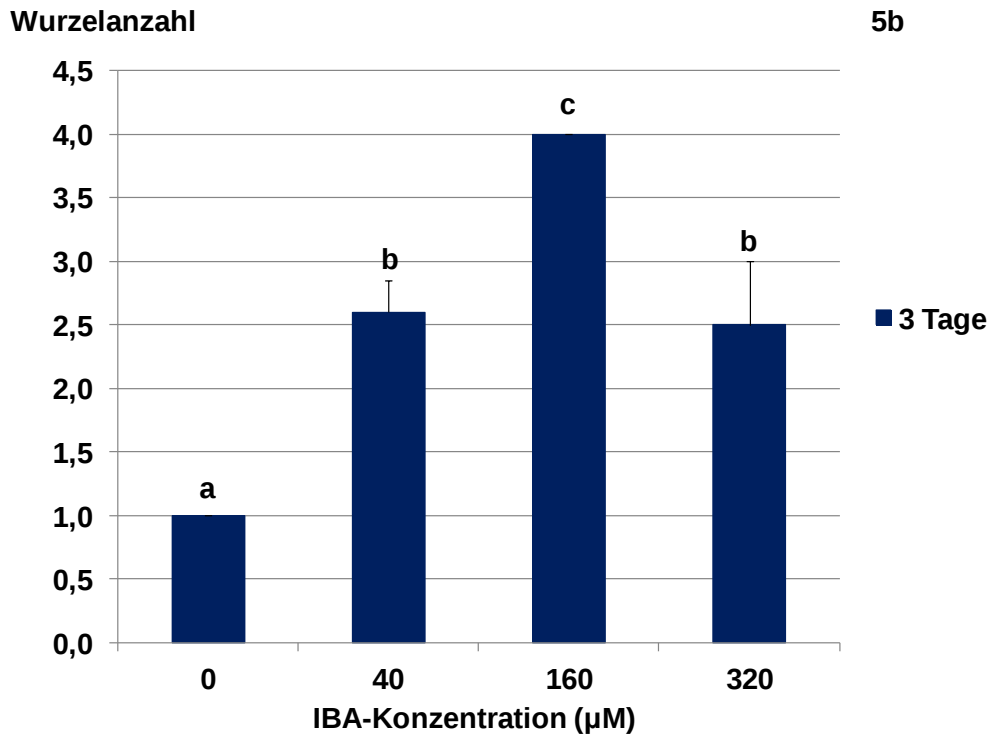


Diagramm 23: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelanzahl nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 5b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Der Balken bei 0 µM IBA (Kontrollgruppe) fehlt in Diagramm 24 (S. 36), da es bei dieser Konzentration bei Klon 2c zu keiner Bewurzelung kam. Bezüglich der durchschnittlichen Wurzelanzahl pro Spross gab es bei Klon 2c bei allen IBA-Konzentrationen keine signifikanten Unterschiede. Der maximale Wert bei 80 µM IBA betrug im Schnitt 2,75 Wurzeln pro Spross (Diagramm 24, S. 36).

Wurzelanzahl

2c

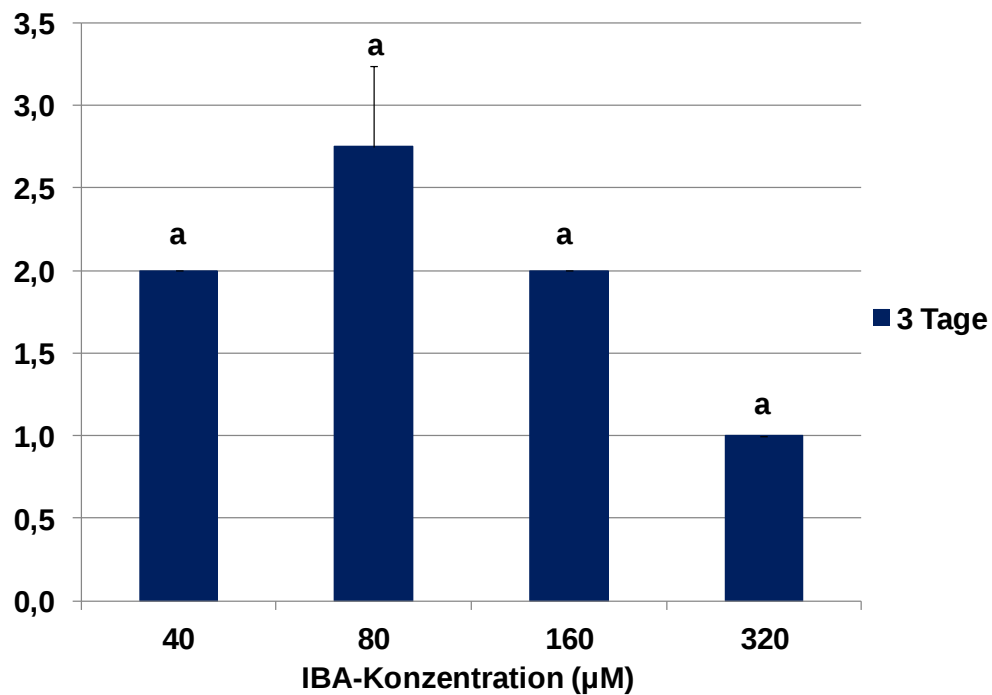


Diagramm 24: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelanzahl nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 2c, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

In Diagramm 25 (S. 37, Klon 9c) zeigt sich die durchschnittlich höchste Wurzelanzahl bei 160 µM IBA und diese betrug 3,25 Wurzeln pro Spross. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe oder auch zu den anderen Wuchsstoff-Konzentrationen lagen jedoch nicht vor.

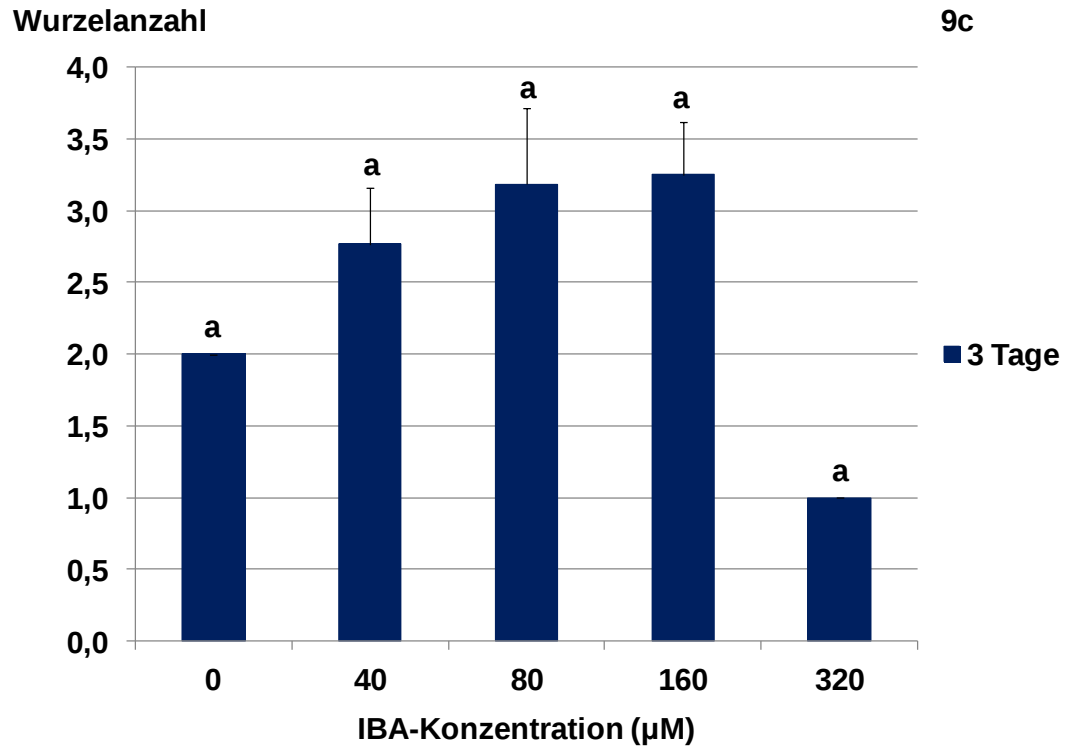


Diagramm 25: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelanzahl nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 9c, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Bei Klon 11b unterschied sich die durchschnittliche Anzahl der Wurzeln bei 40, 160 und 320 µM IBA signifikant von der Kontrollgruppe. Die maximale Anzahl an Wurzeln pro Spross war mit 3,25 bei Einsatz von 160 µM IBA zu beobachten (Diagramm 26, S. 38).

Wurzelsanzahl

11b

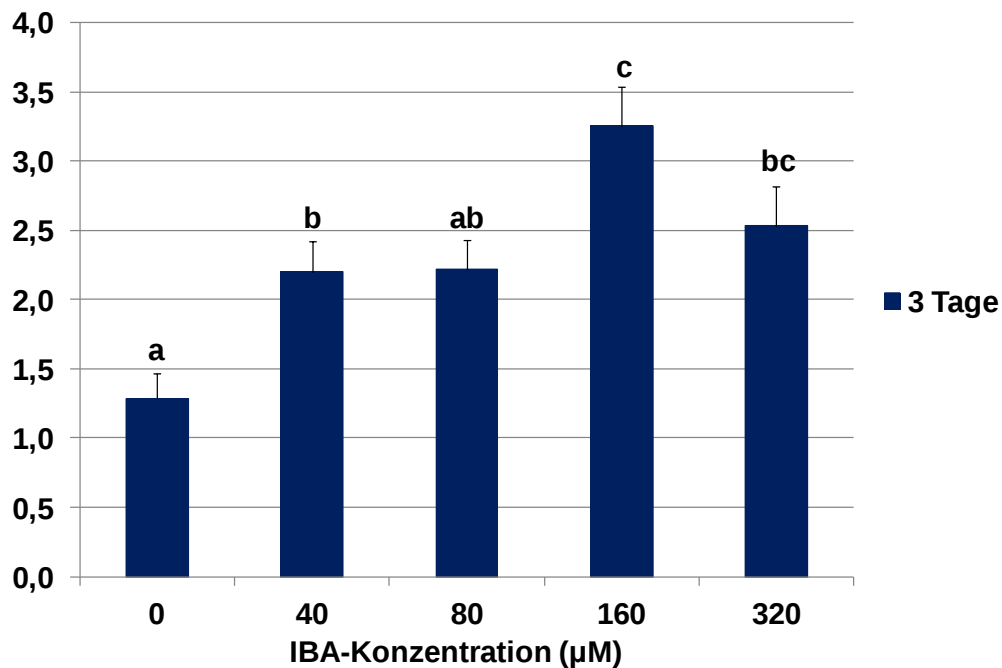


Diagramm 26: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzelsanzahl nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 11b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

3.2.3.3. Wurzellängen

Bei den folgenden Diagrammen zur Wurzellänge nach 3-tägiger Pulsbehandlung zeigt sich immer ein sehr ähnliches Bild. Die durchschnittlichen Wurzellängen über alle Klone sowie auch bei jedem einzelnen Klon wichen nicht besonders stark voneinander ab und es traten in der Regel keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen IBA-Konzentrationen und der Kontrollgruppe auf (Diagramm 27–Diagramm 31, S. 39–43). Bei Betrachtung der gemittelten Werte über alle Klone (Diagramm 27, S. 39) zeigten sich zwar keine signifikanten Unterschiede zwischen den IBA-Konzentrationen, tendenziell war aber eine hohe IBA-Konzentration für das Längenwachstum der Wurzeln von Nachteil.

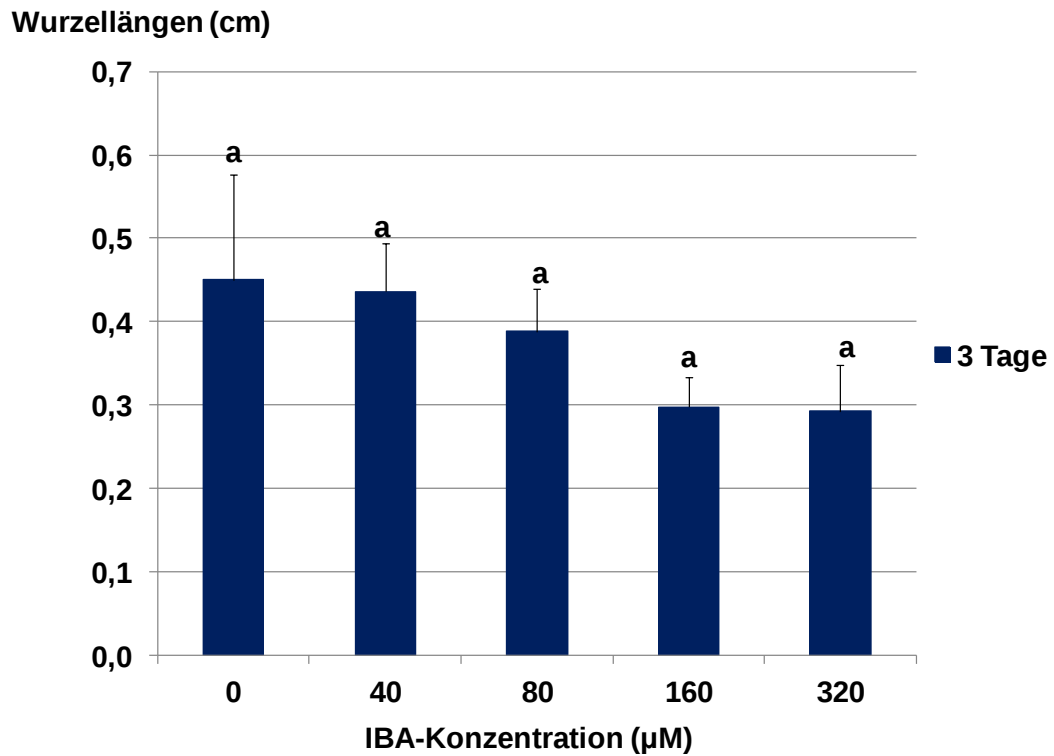


Diagramm 27: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei allen verwendeten IBA-Konzentrationen und über alle eingesetzten Klone, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Die Explantate von Klon 5b zeigten bei 80 µM IBA keine Wurzelbildung. Die maximale Wurzellänge von 0,3 cm lag bei 160 µM IBA vor, dieser Wert war signifikant höher als der bei 40 und 320 µM IBA (Diagramm 28, S. 40).

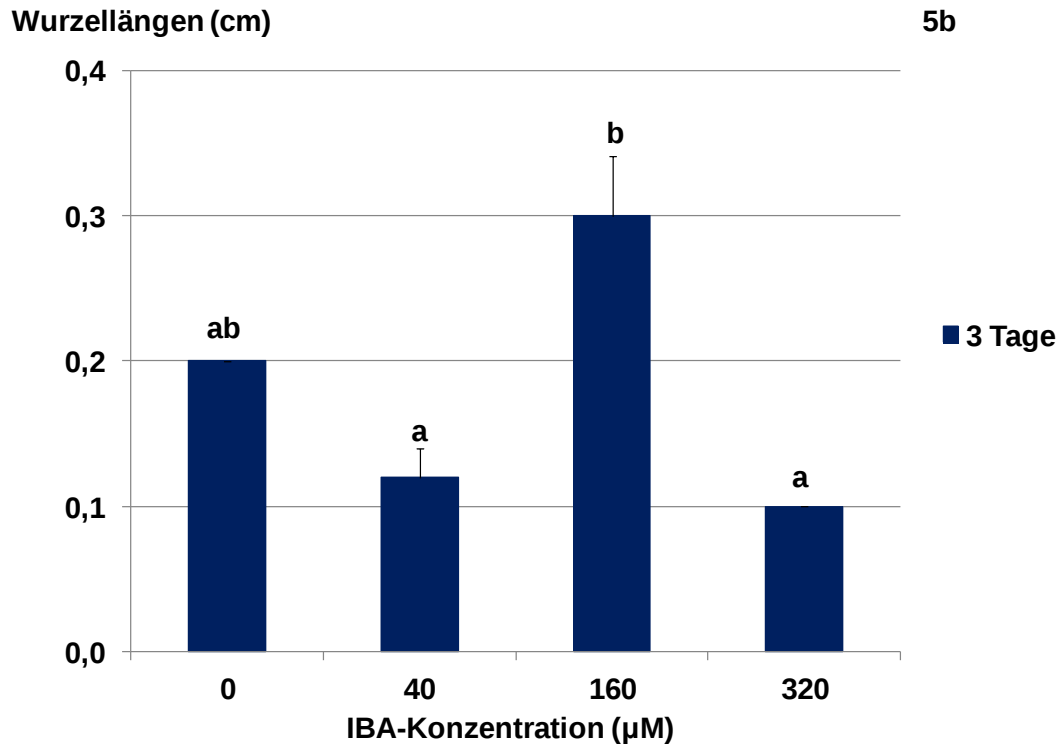


Diagramm 28: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 5b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Der Balken bei 0 µM IBA (Kontrollgruppe) fehlt im folgenden Diagramm 29 (S. 41), da es bei dieser Konzentration bei Klon 2c zu keiner Bewurzelung gekommen war. Im Gegensatz zum Gesamtergebnis (Diagramm 27, S. 39), wo es bei 320 µM IBA die kürzesten Wurzellängen gab, kam es bei Klon 2c bei 320 µM IBA zur maximalen Wurzellänge: Hier gab es Wurzeln mit einer durchschnittlichen Länge von 0,36 cm.

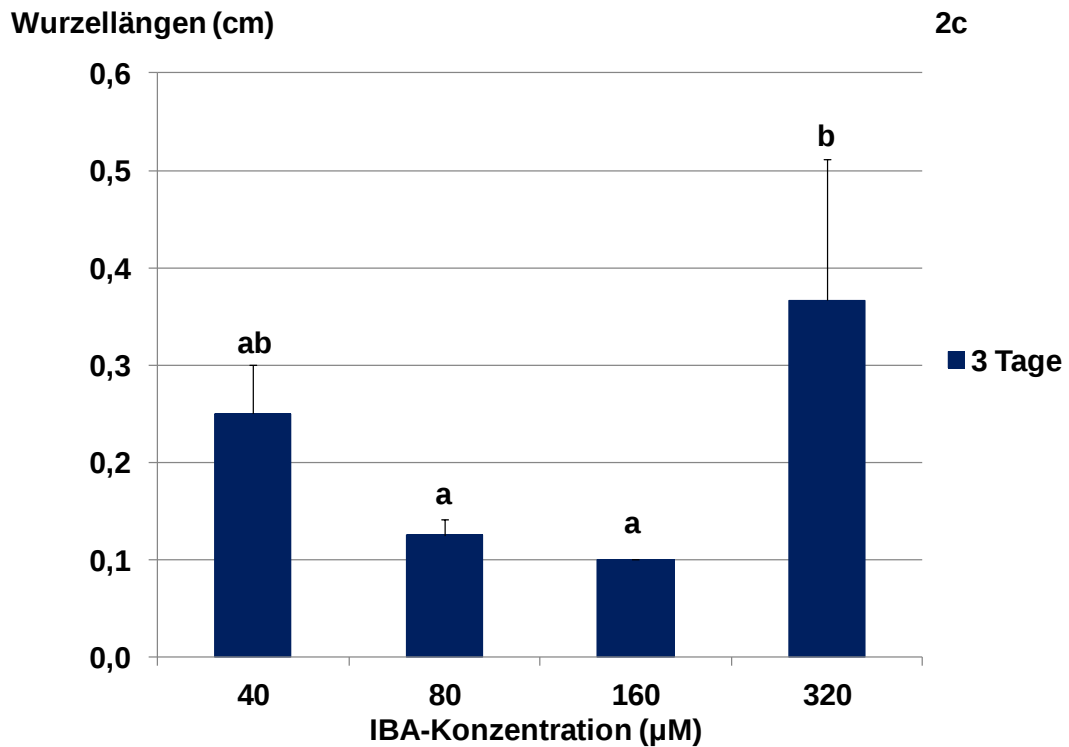


Diagramm 29: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 2c, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Die längsten Wurzeln bei Klon 9c fielen mit einer Länge von 0,27 cm eher kurz aus (Diagramm 30, S. 42), signifikante Unterschiede zwischen den IBA-Konzentrationen gab es keine.

Wurzellängen (cm)

9c

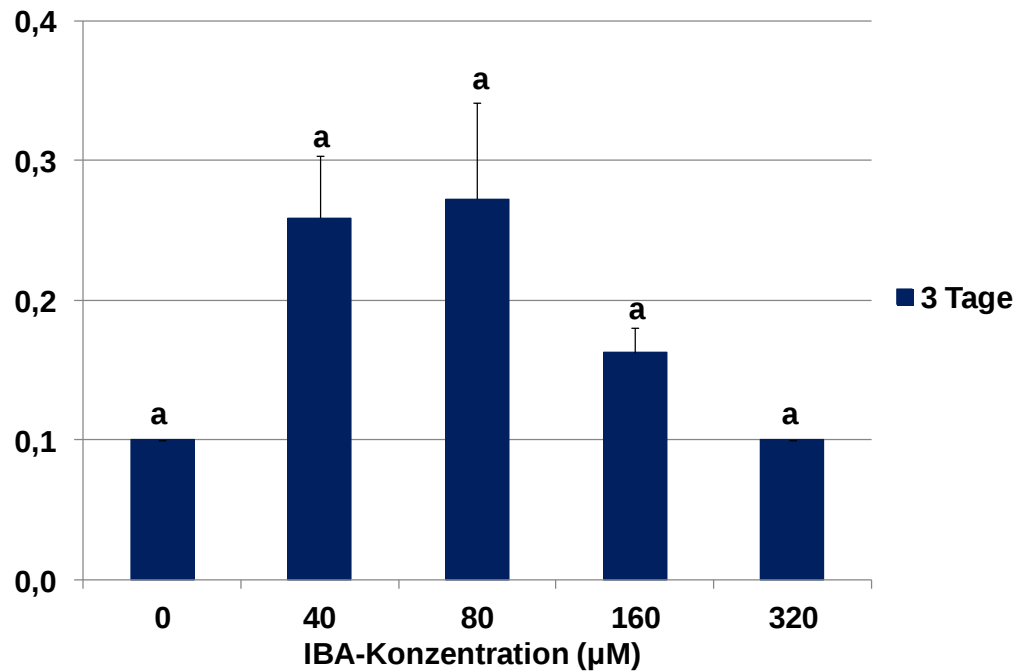


Diagramm 30: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 9c, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Bei Klon 11b schließlich bildeten sich die längsten Wurzeln bei 40 µM IBA. Mit einer durchschnittlichen Länge von fast 0,7 cm lag dieser Wert weit über den Wurzellängen aller anderen Klone (Diagramm 31, S. 43).

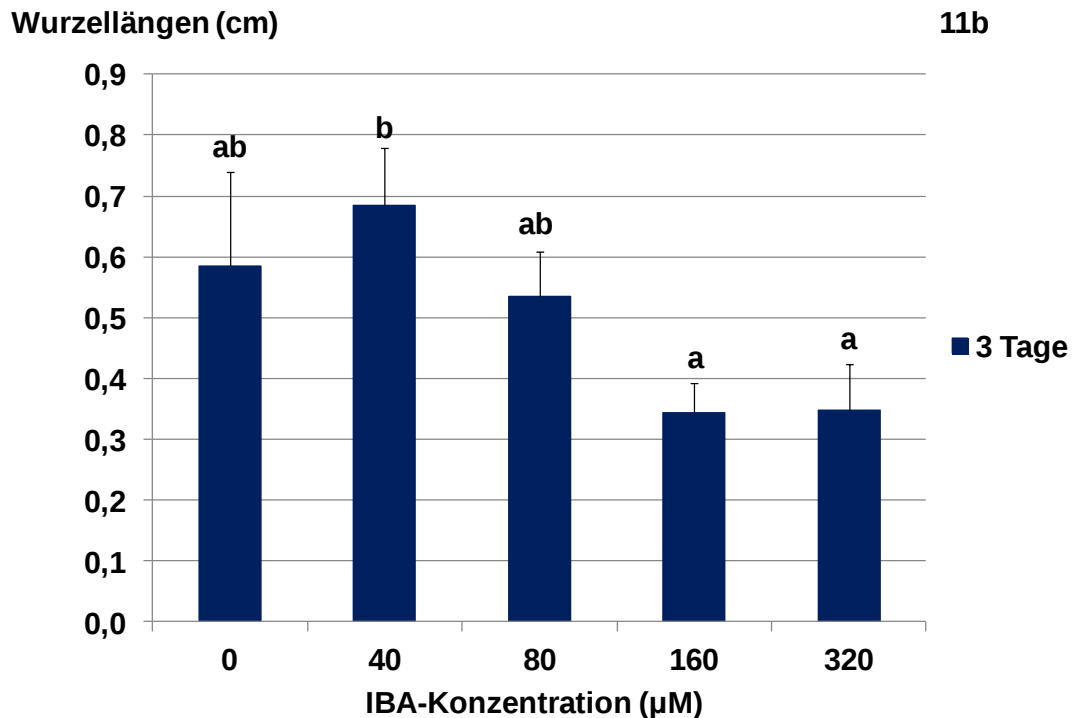


Diagramm 31: Mittelwerte und Standardfehler über die Wurzellängen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 11b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

3.2.4. Bewurzelung bei 7-tägiger Pulsbehandlung

Die 7-tägige Pulsbehandlung wurde ausschließlich mit Klon 5b durchgeführt. Wie die Diagramme in Kapitel 3.2.1. (S. 25) zeigen, kam es nur bei Einsatz von 320 µM IBA überhaupt zu einer Bewurzelung. Die Bewurzelungsrate betrug in diesem Fall 26,6 %, die durchschnittliche Wurzelanzahl lag bei nicht mehr als einer Wurzel pro Spross und der Mittelwert der Wurzellänge belief sich auf 0,15 cm. Bei Betrachtung der Gesamtergebnisse scheint eine Pulsbehandlung über 7 Tage schon zu lange zu sein, obwohl es hier gerade bei der höchsten IBA-Konzentration bei wenigen Explantaten doch zu einer Bewurzelung kam und diese Pflanzen auch die lange hochkonzentrierte Pulsbehandlung im Dunklen überstanden haben.

3.3. Gesamtüberblick zur Bewurzelung

In diesem Kapitel sind die Ergebnisse der beiden durchgeführten Bewurzelungsmethoden in einem Diagramm zusammengefasst, um so beide Methoden miteinander vergleichen zu können.

Die besten Ergebnisse bezüglich der Bewurzelungsrate gab es bei der Pulsbehandlung bei der 3-tägigen Behandlung mit 40, 80 und 160 μM IBA sowie bei der 1-tägigen Behandlung mit der höchsten Konzentration von 320 μM IBA (Diagramm 32, S. 45). Die konsistentesten Ergebnisse erhielten wir in jedem Fall mit der 3-tägigen Behandlungsdauer, eine 7-tägige Behandlung schien zu lang zu sein und eine 1-tägige Behandlung setzte eine hohe Wuchsstoff-Konzentration voraus, um eine Wurzelbildung auszulösen.

Bei der Seradix[®]-Behandlung war die höchste Bewurzelungsrate bei Verwendung des am höchsten konzentrierten Pulvers, nämlich bei 39400 μM IBA, festzustellen (Diagramm 32, S. 45). Die Bewurzelung mit Seradix[®]-Pulver führte generell bei jeder Stärke zu relativ guten Ergebnissen, war einfach durchführbar und hatte den Vorteil, dass die Sprossspitzen für die gesamte Versuchsdauer ohne Umsetzen im IVS-Medium verbleiben konnten.

Bewurzelungsrate (%)

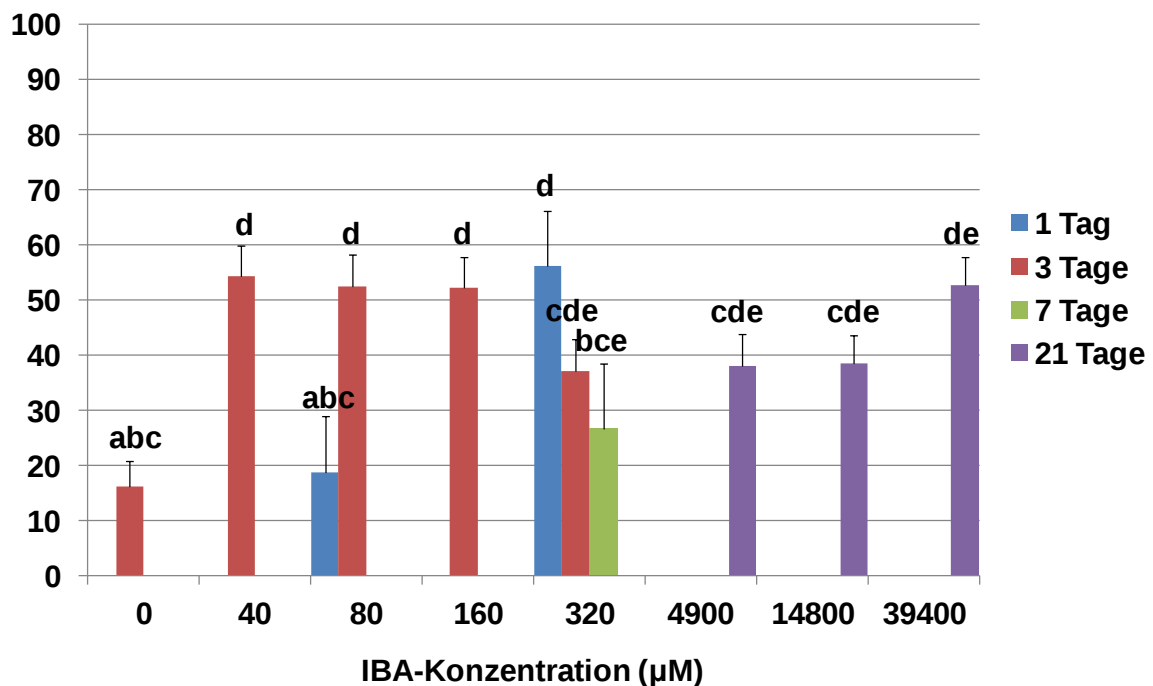


Diagramm 32: Mittelwerte und Standardfehler der Bewurzelungsrate über alle Bewurzelungsversuche und alle eingesetzten Klone, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Bei allen fünf oben erwähnten Bewurzelungsbehandlungen lag die Bewurzelungsrate bei über 50 %, also haben über die Hälfte der Sprossexplantate bewurzelt. Diese Ergebnisse unterschieden sich signifikant von der 3-tägigen Behandlung ohne Wuchsstoff (Kontrollgruppe).

In Diagramm 33 (S. 46) sind die Mittelwerte der Wurzelanzahl bei den verschiedenen Behandlungen dargestellt. Der Maximalwert lag mit 4,3 Wurzeln pro Sprossspitze bei 1-tägiger Pulsbehandlung mit 320 µM IBA recht hoch und unterschied sich auch signifikant von der Kontrollgruppe und allen anderen Werten, bis auf die Wurzelanzahl bei 3-tägiger Behandlung mit 160 µM IBA und dem Ergebnis bei Einfluss von 4900 µM (Seradix®-Gruppe).

Wurzelsanzahl

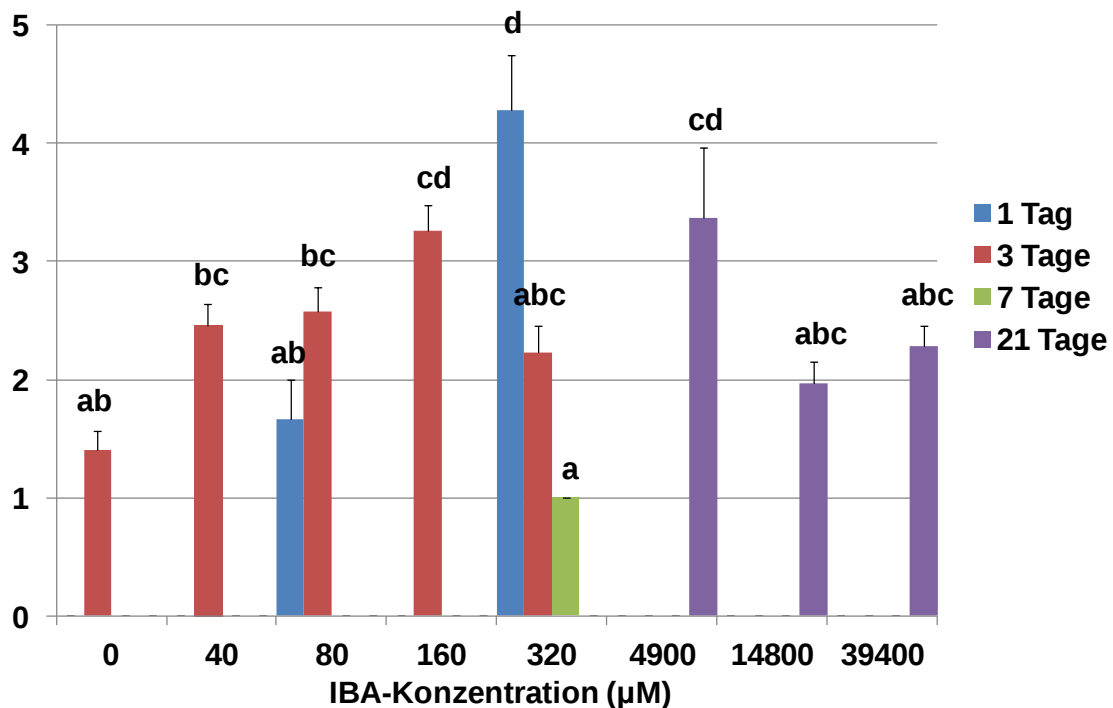


Diagramm 33: Mittelwerte und Standardfehler der Wurzelsanzahl über alle Bewurzelungsversuche und alle eingesetzten Klone, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Bei der Pulsbehandlung schienen höhere IBA-Konzentrationen vorteilhaft bezüglich der Anzahl an Wurzeln zu sein. Tendenziell wurden bei der Pulsbehandlung etwas mehr Wurzeln pro Pflanze gebildet als bei der Bewurzelung mit Seradix®-Pulver.

In Diagramm 34 (S. 47) zeigt sich im Vergleich zu den Mittelwerten der Wurzelsanzahl in Diagramm 33 ein umgekehrten Trend. Die Wurzeln waren in der Seradix®-Gruppe tendenziell länger als nach der Pulsbehandlung, allerdings waren die Unterschiede nicht signifikant.

Wurzellängen (cm)

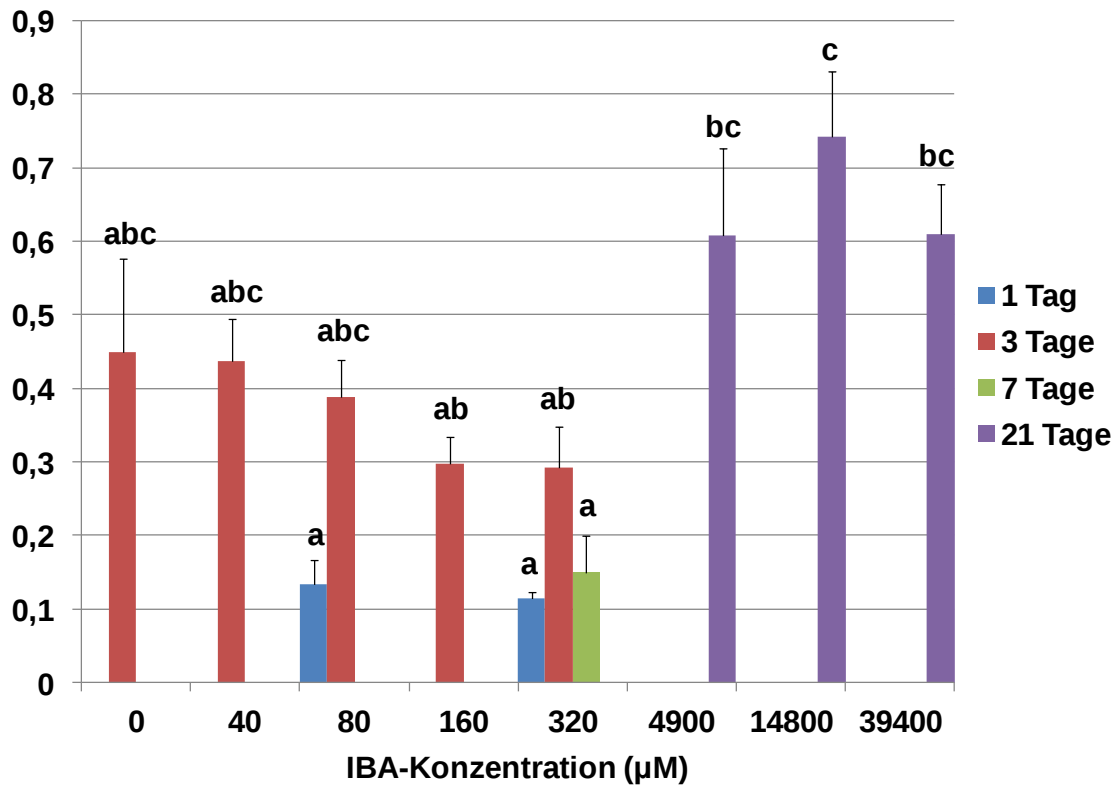


Diagramm 34: Mittelwerte und Standardfehler der Wurzellängen über alle Bewurzelungsversuche und alle eingesetzten Klone, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Bei der Pulsbehandlung wirkte sich eine niedrigere IBA-Konzentration positiv auf die Länge der Wurzeln aus. In jedem Fall zeigte sich auch hier wieder, dass mit einer Behandlungsdauer von 3 Tagen mit IBA im Dunklen die besten Ergebnisse erzielt werden konnten.

Bei der Seradix®-Gruppe haben sich bei allen Stärken durchwegs im Verhältnis längere Wurzeln gebildet. Ein Grund dafür könnte sein, dass diese Pflanzen von Anfang an im IVS-Medium belassen wurden, welches durch die gute Belüftung möglicherweise vorteilhaft für die Ausbildung langer Wurzeln ist.

3.4. Akklimatisierung

Die bewurzelten Sprosse wurden sofort nach der Auswertung in Töpfe mit IVS-Medium eingesetzt und in die Akklimatisierungskammer (Abbildung 10) gebracht.



Abbildung 10: Jungpflanzen von Lancea tibetica in IVS-Substrat in der Klimakammer

Die relative Luftfeuchte in der Akklimatisierungskammer betrug zunächst 80 %. Nach einer Woche wurde sie auf 75 % gesenkt und nach einer weiteren Woche auf 70 %. Nach 3 Wochen konnten die Pflanzen schließlich ins Glashaus (Abbildung 11, S. 49) überführt werden, wo etwa 60 % relative Luftfeuchte herrschte.

Die Akklimatisierung verlief bei allen Pflanzen zufriedenstellend und ohne größere Verluste (siehe Kapitel 3.5., S. 50). Nach der Überführung ins Glashaus trat in den nächsten Wochen mehrmals ein Befall mit Blattläusen auf, der jedes Mal mit Paraffinöl bekämpft wurde. Dies wurde jedoch von den Pflanzen gut vertragen und führte zu keinen größeren Verlusten.



Abbildung 11: Jungpflanzen von *Lancea tibetica* im Glashaus

3.5. Überlebensrate

Um den Erfolg der Akklimatisierung und die Lebensfähigkeit der Pflanzen unter ex vitro-Bedingungen zu erfassen, wurde die Überlebensrate bestimmt. Es handelte sich dabei um den Anteil aller erfolgreich bewurzelten Sprosse, die 8 Wochen nach der Auswertung der Bewurzelungsversuche noch lebten. Der Tag der Auswertung stellte gleichzeitig den Auswertemesspunkt 0 dar, von dem ausgehend auch die Überlebensrate der Pflanzen bestimmt wurde. Über den 8-wöchigen Beobachtungszeitraum (Auswertemesspunkte 1 bis 8) wurde auch das Sprosswachstum der Pflanzen vermessen und dokumentiert (siehe Kapitel 3.6., S. 52).

In Diagramm 35 (S. 51) zeigt sich, dass die Bewurzelungsmethode keinen signifikanten Einfluss auf die Überlebensrate der Pflanzen hatte. Der niedrigste Wert bei Bewurzelung durch Pulsbehandlung lag bei genau 50 % (1-tägige Behandlung mit 320 μM IBA). Alle anderen Werte lagen deutlich höher als 50 %, weit mehr als die Hälfte aller Pflanzen hatten den Akklimatisierungsprozess und auch die Wochen danach bis zum Auswertemesspunkt 8 in gutem Zustand überlebt. Der höchste Wert lag bei 100 % nach Bewurzelung durch 1-tägige Pulsbehandlung mit 80 μM IBA.

Auch bei der Seradix®-Gruppe lag die Überlebensrate erfreulich hoch: Der niedrigste Wert bei Bewurzelung mit 4900 μM IBA lag bereits bei 75 % und bei Einsatz von 14800 μM IBA betrug die Überlebensrate fast 81 %.

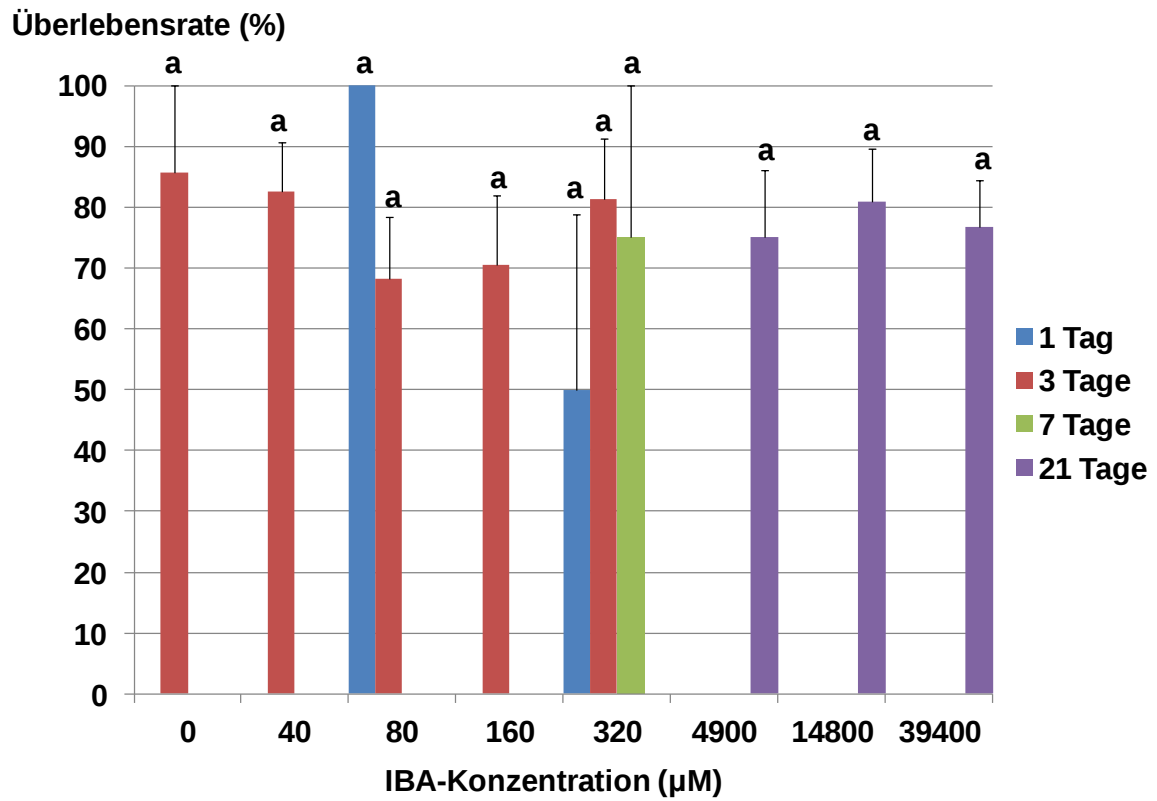


Diagramm 35: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate an Messpunkt 8 über alle Bewurzelungsversuche und alle eingesetzten Klone gemittelt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

3.6. Einfluss der Bewurzelungsmethode auf das Sprosswachstum ex vitro

Das folgende Diagramm 36 gibt einen Überblick über die Sprosslängen am Auswertungstag, also 21 Tage nach dem jeweiligen Versuchsbeginn. Alle Sprossspitzen waren zu Beginn der Bewurzelungsbehandlung auf die gleiche Länge (etwa 1,5 cm) geschnitten und dann alle nach Möglichkeit gleich tief (etwa 0,5 cm) in das jeweilige Medium eingesetzt worden. Als Sprosslänge wurde dann jener Teil der Pflänzchen vermessen, der aus der Erde herausragte.

Sprosslängen (cm) am Auswertungstag

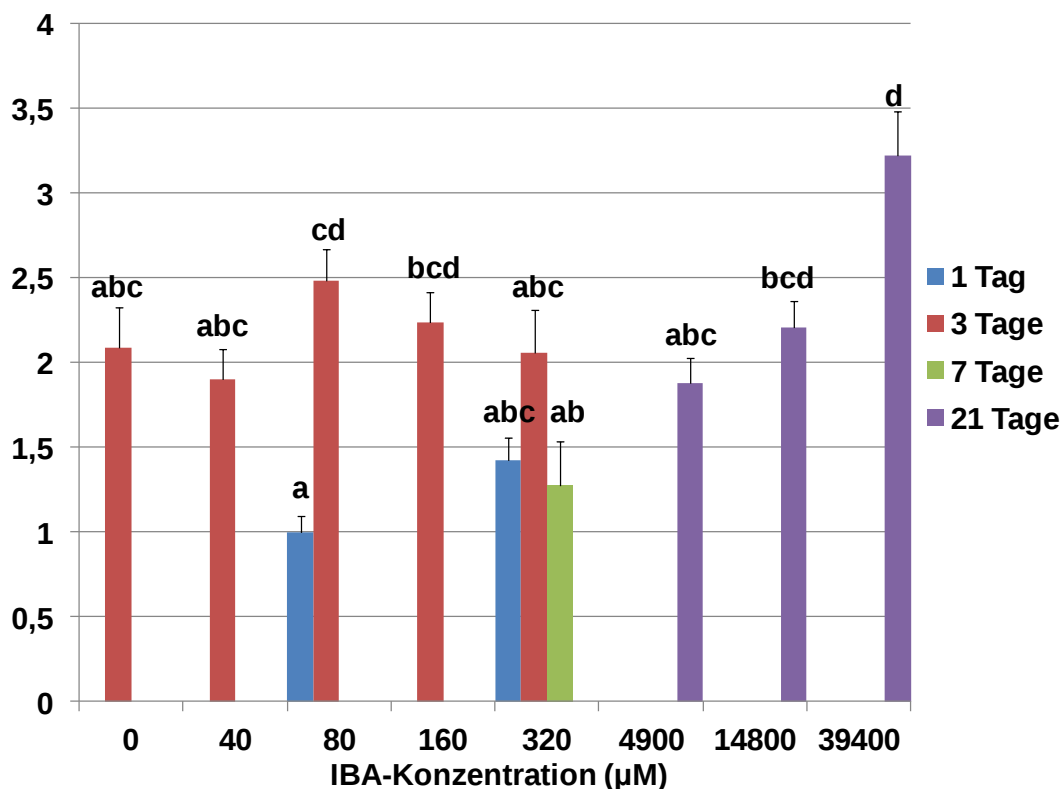


Diagramm 36: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen am Auswertungstag über alle Bewurzelungsversuche und alle eingesetzten Klone gemittelt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Aus Diagramm 36 ist ersichtlich, dass in den drei Wochen des Versuchs die Pflanzen der Seradix®-B3-Gruppe (39400 µM IBA) das stärkste Sprosswachstum aufwiesen: Die Sprosse hatten am Auswertungstag eine durchschnittliche Länge von über 3 cm und waren somit auf mehr als das Doppelte der Ausgangslänge angewachsen. Auch die Sprosse der Seradix®-Gruppe mit 14800 µM IBA sowie

bei 3-tägiger Pulsbehandlung mit 80 und 160 μM IBA zeigten ein starkes Wachstum, dass sich allerdings nicht signifikant von dem bei Einsatz von 39400 μM IBA unterschied (Diagramm 36, S. 52).

In den nun folgenden Kapiteln zum ex vitro-Sprosswachstum der Pflanzen beziehen sich die Angaben der Varianzanalyse bei allen Liniendiagrammen (Diagramm 37–Diagramm 48, S. 54–66) immer nur auf den jeweiligen Messpunkt. Die Varianzanalyse wurde also für jeden Messpunkt einzeln durchgeführt, eine Aussage über Signifikanzunterscheide zwischen verschiedenen Messpunkten kann dadurch nicht getroffen werden. Somit wurden die jeweiligen Unterscheide zwischen Behandlungsdauer, IBA-Konzentration und auch Klon herausgearbeitet, die für eine abschließende Beurteilung des Versuchs von Bedeutung sind.

Um die Ergebnisse der Varianzanalyse (Kleinbuchstaben über den Werten) eindeutiger zeigen zu können, wurden die Kleinbuchstaben über den Werten eingefärbt. Da eine Darstellung der Standardfehler in den folgenden Diagrammen unübersichtlich erschien, finden sich die entsprechenden Daten zu den jeweiligen Diagrammen in Anhang 1 (S. 85).

3.6.1. Sprosswachstum nach Behandlung mit Seradix[®]

Analog zu den Ergebnissen der Bewurzelung wurde auch hier zunächst ein Diagramm erstellt, welches alle eingesetzten Klone miteinschließt und das Sprosswachstum auf die drei verschiedenen Seradix[®]-Stärken aufgeteilt darstellt (Diagramm 37, S. 54). Die auf den nächsten Seiten folgenden Diagramme zeigen dann wieder die verschiedenen Klone aufgeteilt bei jeder einzelnen IBA-Konzentration.

Aus Diagramm 37 (S. 54) geht hervor, dass die Sprosse nach Bewurzelung mit 4900 μM IBA durchgehend am kürzesten waren. Am Ende der Bewurzelungsbehandlung (Messpunkt 0) waren die Sprosse nach Einsatz von 39400 μM IBA am stärksten gewachsen, die Sprosslänge unterschied sich signifikant von den Längen nach Behandlung mit den beiden niedrigeren Konzentrationen des Bewurzelungspulvers. Dieser Unterscheid war allerdings bereits beim ersten und zweiten Auswertemesspunkt nicht mehr vorhanden.

Sprosslängen (cm)

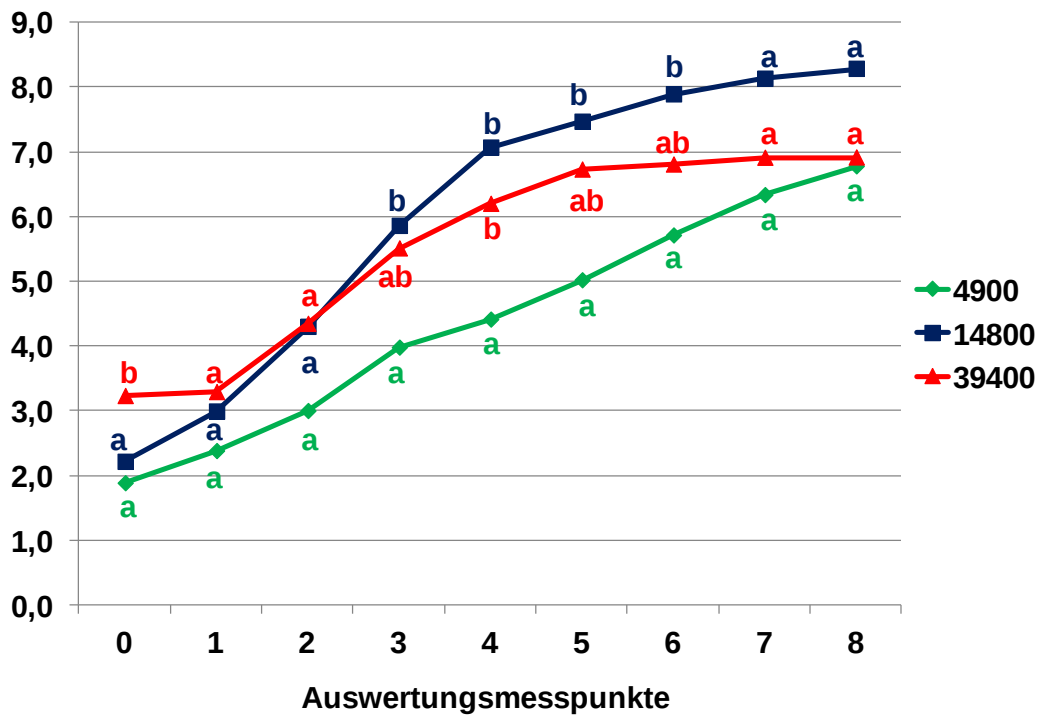


Diagramm 37: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach Seradix®-Behandlung in allen drei Stärken und über alle gewachsenen Klone, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1, Tabelle 2 (S. 85)

Bei den Messpunkten 3 bis 6 wiesen die mit 14800 µM IBA bewurzelten, bei Messpunkt 4 auch die mit 39400 µM IBA behandelten Sprosse signifikant höhere Längen auf als die mit 4900 µM IBA erhaltenen Pflänzchen (Diagramm 37). Am Ende der 8-wöchigen Vermessung zeigte sich allerdings, dass die Sprosse bei allen drei IBA-Stärken annähernd gleich gut gewachsen waren und es keine signifikanten Unterschiede mehr gab.

Nach Bewurzelung mit 4900 µM IBA zeigten sich bei den Klonen 9b, 2b und 11a über die gesamte 8-wöchige Vermessungsperiode keine signifikanten Unterschiede im Sprosswachstum. Die Pflänzchen von Klon 11a erreichten bei Messpunkt 8 mit fast 7,5 cm die höchste Sprosslänge (Diagramm 38, S. 55).

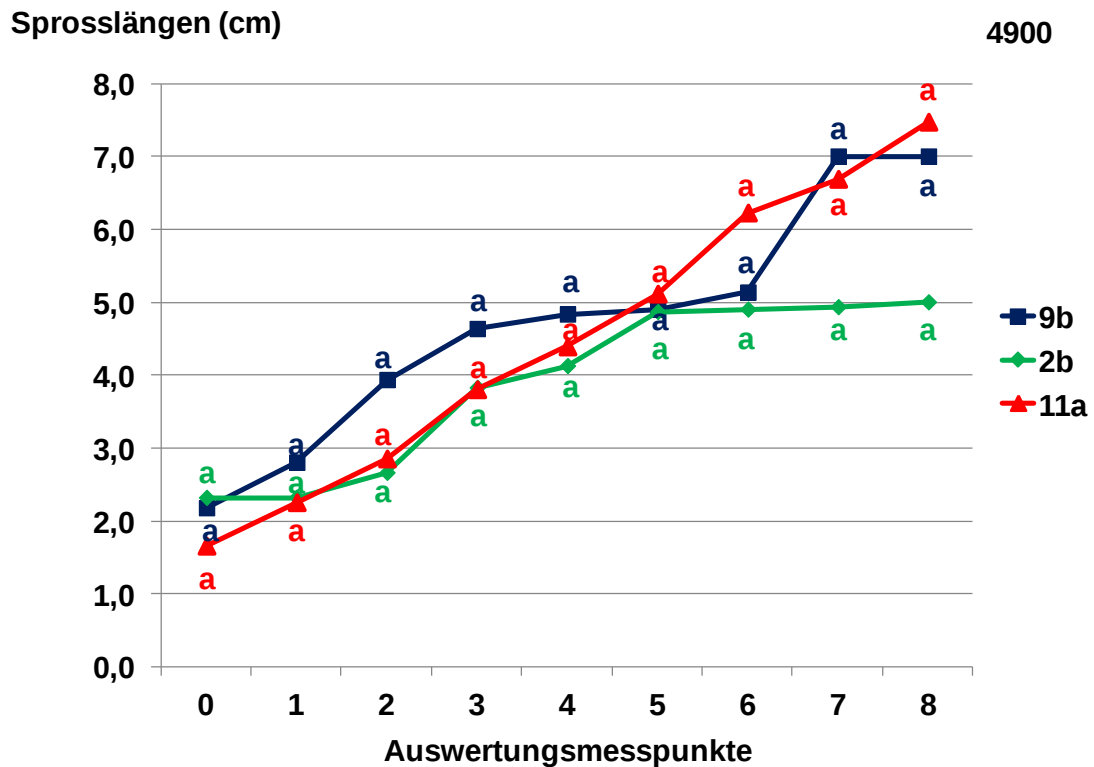


Diagramm 38: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach Seradix®-Behandlung mit 4900 µM IBA und über alle gewachsenen Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 3 (S. 85)

Auch die Überlebensrate war bei Klon 11a die höchste und lag bei 87,5 %. Bei Klon 9b betrug sie 66,7 % und bei Klon 2b war die Überlebensrate mit genau 60 % die niedrigste (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 18, S. 93).

Sprosslängen (cm)

14800

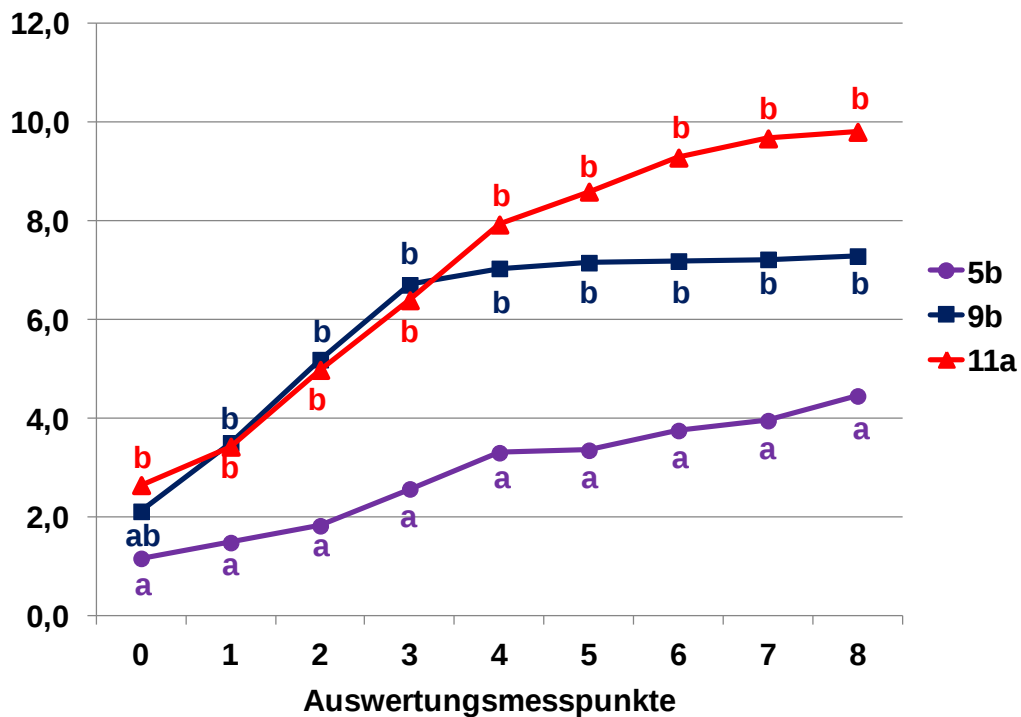


Diagramm 39: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach Seradix® - Behandlung mit 14800 μ M IBA und über alle gewachsenen Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 4 (S. 86)

In Diagramm 39 zeigt sich ein eindeutiges Ergebnis. Klon 11a unterschied sich von Anfang an signifikant von Klon 5b mit den kürzesten Sprossen und hob sich bezüglich der Sprosslänge ab Woche 4 auch von Klon 9b ab. In Woche 8 wies Klon 11a nach Behandlung mit 14800 μ M IBA mit einer durchschnittlichen Sprosslänge von 9,8 cm die höchste Sprosslänge der Seradix®-Gruppe überhaupt auf. Die Explantate von Klon 11a hatten auch bei allen drei Seradix®-Stärken immer die längsten Wurzeln ausgebildet. Es schien hier eine Korrelation zwischen langen Wurzeln und einem starken Sprosswachstum zu bestehen.

Auch Klon 9b zeigte bereits ab Woche 1 signifikant längere Sprosse als Klon 5b (Diagramm 39). Bezüglich der Überlebensrate trat bei Klon 5b der signifikant schlechteste Wert mit nur 40 % auf. Bei Klon 9b betrug der Wert 85,7 % und bei Klon 11a haben mit 100 % alle Pflanzen über den 8-wöchigen

Vermessungszeitraum überlebt (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 19, S. 93).

Auch nach Bewurzelung mit 39400 μM IBA (Seradix[®] B3) traten wie nach Behandlung mit 14800 μM IBA bei Klon 5b die kürzesten Sprosse auf. Der Klon mit den längsten Sprossen war 9b: Dieser hob sich über die gesamten 8 Wochen signifikant von Klon 5b ab und die Pflänzchen erreichten am Ende eine durchschnittliche Sprosslänge von etwa 8,4 cm (Diagramm 40, S. 58). Auch die Pflänzchen von Klon 11a zeigten außer bei den Messpunkten 3 und 8 signifikante Unterschiede zu Klon 5b. Im Bewurzelungsversuch mit Seradix[®] B3-Pulver (39400 μM IBA) hatte Klon 9b nach Klon 11a die zweitlängsten Wurzeln ausgebildet (Diagramm 12, S. 23).

Die beiden Klone 5b und 7b hatten mit 66,7 % die niedrigste Überlebensrate aufgewiesen. Die Pflänzchen von Klon 2b hatten allesamt überlebt, bei Klon 9b betrug die Überlebensrate 85,7 % und bei Klon 11a 71,4 % (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 20, S. 93).

Sprosslängen (cm)

39400

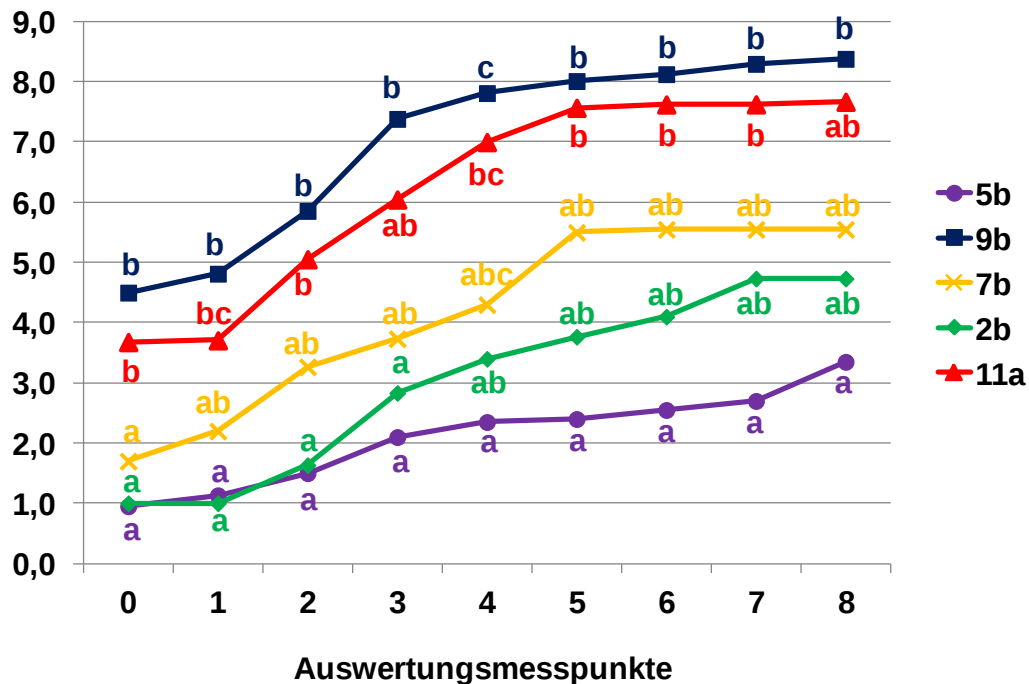


Diagramm 40: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach Seradix®-Behandlung mit 39400 µM IBA und über alle gewachsenen Klone aufgeteilt dargestellt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 5 (S. 86)

3.6.2. Sprosswachstum nach Pulsbehandlung

Diagramm 41 (S. 59) gibt das Sprosswachstum nach Pulsbehandlung bei allen eingesetzten IBA-Konzentrationen, einschließlich der Kontrollgruppe, wieder. Die Werte sind dabei über die 1-, 3- und 7-tägige Behandlungsdauer und auch über alle Klone gemittelt. Zwischen den Konzentrationen 0 bis 320 µM IBA zeigen sich in Diagramm 41 (S. 59) weitestgehend keine signifikanten Unterschiede. Einzig beim Messpunkt 0 hob sich der Wert bei 80 µM signifikant von dem bei 320 µM ab. Dieser Signifikanzunterschied verschwand aber bereits in der ersten Woche der Akklimatisierungsphase wieder.

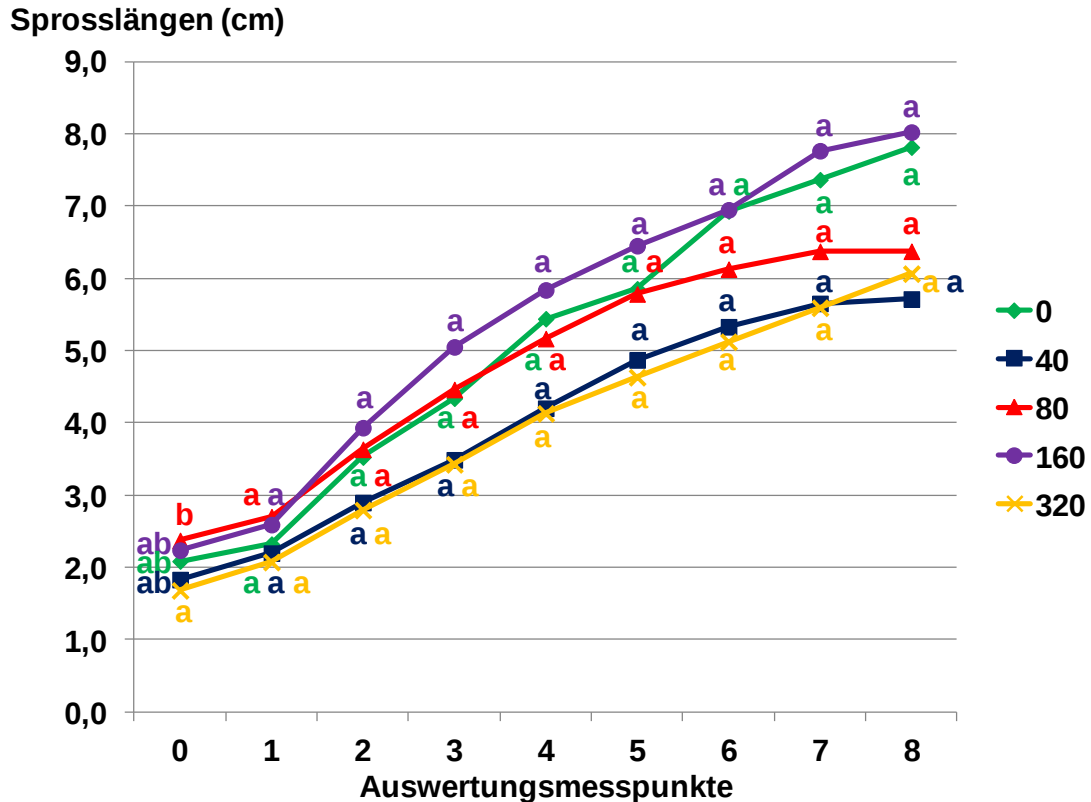


Diagramm 41: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen bei allen verwendeten IBA-Konzentrationen, über 1-, 3- und 7-tägige Pulsbehandlung und über alle gewachsenen Klone gemittelt, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($\rho \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 6 (S. 87)

Interessanterweise zeigte sich auch, dass die Pflanzen aus der Kontrollgruppe bezüglich der Sprosslängen durchwegs im oberen Bereich lagen (Diagramm 41).

Auch die Überlebensrate war hier bei der Kontrollgruppe mit 85,7 % am höchsten. Bei 40 µM IBA lag sie bei 82,6 % und bei 320 µM IBA bei 75 %. Die schlechtesten Werte zeigten sich nach Einsatz von 80 und 160 µM IBA mit je etwa 70 % Überlebensrate (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 21, S. 94).

3.6.2.1. Sprosswachstum nach 1-tägiger Pulsbehandlung

Die 1-tägige Pulsbehandlung wurde, wie bereits erwähnt nur mit Klon 5b durchgeführt. Bei 1-tägiger Pulsbehandlung kam es nur mit 80 und 320 µM IBA zu einer Bewurzelung. Die mit 320 µM IBA bewurzelten Sprosse zeigten zwar ein

etwas besseres Wachstum, signifikante Unterschiede zwischen den beide Konzentrationen gab es aber nicht (Diagramm 42). Interessanterweise verhielt es sich bei der Überlebensrate genau umgekehrt, denn diese betrug bei Bewurzelung mit 80 μM IBA 100 % und bei Behandlung mit 320 μM IBA nur 50 % (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 22, S. 94).

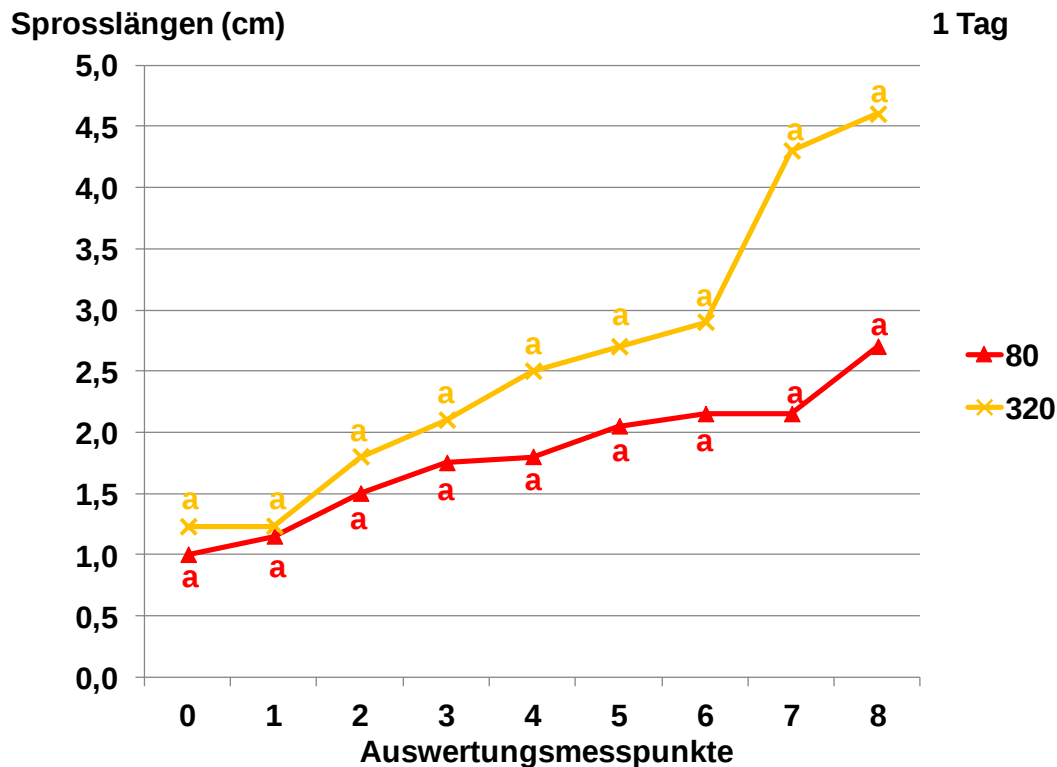


Diagramm 42: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach 1-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 5b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 7 (S. 87)

3.6.2.2. Sprosswachstum nach 3-tägiger Pulsbehandlung

Diagramm 43 (S. 61) zeigt das Wachstum nach 3-tägiger Pulsbehandlung. Die Sprosslängen der Kontrollgruppe sind auch hier wieder im oberen Bereich angesiedelt. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen IBA-Konzentrationen waren über die 8-wöchige Beobachtungsdauer nicht festzustellen.

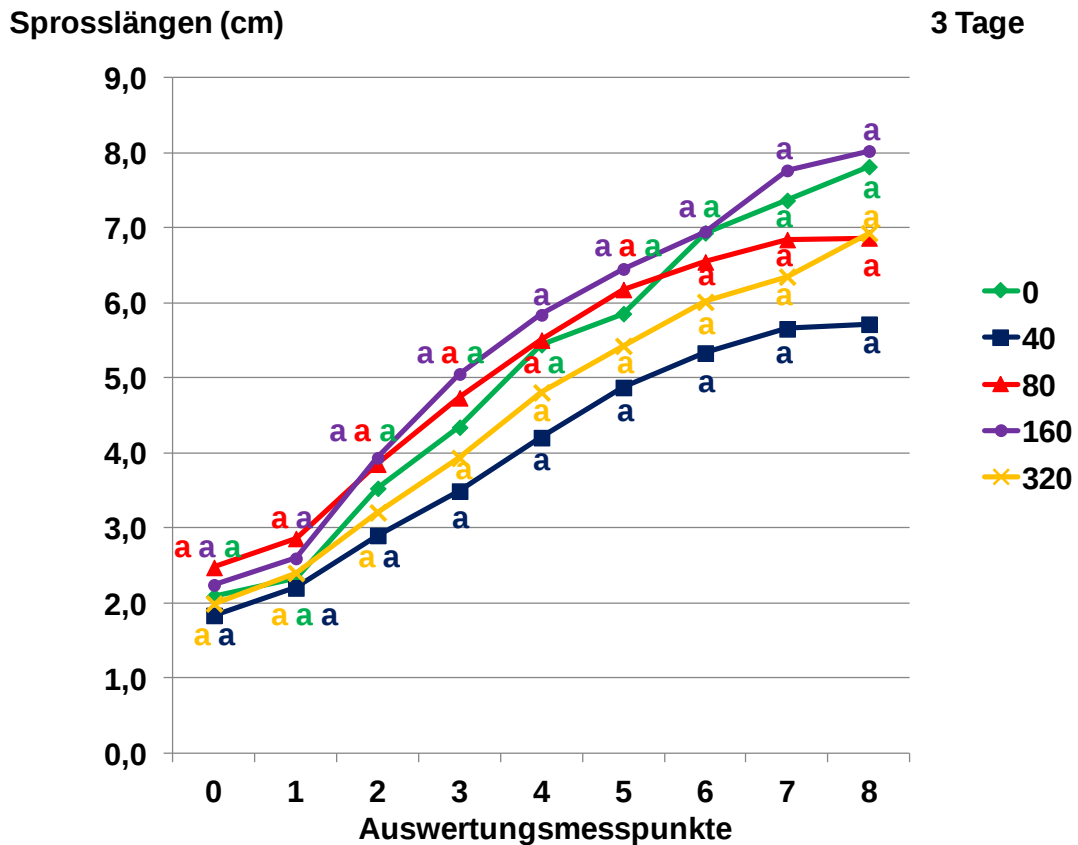


Diagramm 43: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei allen verwendeten IBA-Konzentrationen und über alle gewachsenen Klone, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 8 (S. 88)

Die nächsten vier Diagramme zeigen nun das Sprosswachstum der einzelnen Klone nach 3-tägiger Pulsbehandlung.

Bei Klon 5b kam es mit 80 µM IBA zu keiner Bewurzelung, daher fehlt diese Konzentration in Diagramm 44 (S. 62). Nach Bewurzelung mit 40 und 160 µM IBA bildeten sich im Schnitt die längsten Sprosse, signifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlichen IBA-Konzentrationen zeigten sich aber nicht.

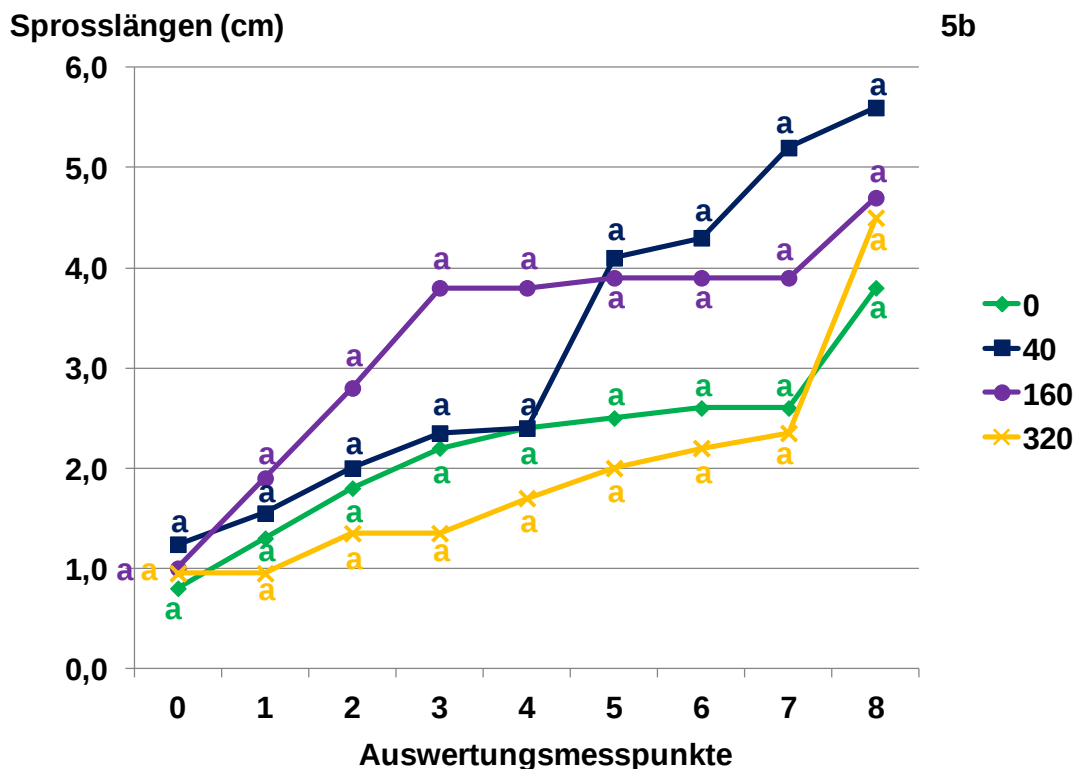


Diagramm 44: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 5b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 9 (S. 88)

Mit einer Maximallänge von durchschnittlich 5,6 cm nach Bewurzelung mit 40 µM IBA blieben die Sprosse von Klon 5b im Vergleich mit den anderen Klonen (Diagramm 45–Diagramm 47, S. 63–65) aber recht kurz. Dieses Ergebnis korrelierte auch mit den Ergebnissen der Seradix®-Gruppe, wo bei Klon 5b ebenfalls die geringsten Sprosslängen beobachtet worden waren.

Die Überlebensrate betrug bei der Kontrollgruppe sowie bei den mit 160 µM IBA bewurzelten Explantaten je 100 % und lag bei den anderen beiden IBA-Konzentrationen bei nur 50 %. Dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 24, S. 94).

Bei Klon 2c waren, wie sich in Diagramm 45 (S. 63) zeigt, bei Bewurzelung mit 160 µM IBA nach Woche 6 alle Pflanzen abgestorben. Bei Messpunkt 0 war noch ein signifikanter Unterschied zwischen den Sprosslängen bei 160 und 320 µM IBA

und den wesentlich kürzeren Sprossen bei 40 und 80 μM IBA festzustellen. Im weiteren Verlauf des Wachstums zeigt sich dieser Unterschied jedoch nicht mehr.

Die höchste Überlebensrate von 100 % gab es bei der Gruppe mit dem geringsten Wachstum (Bewurzelung mit 40 μM IBA). Bei den mit 80 μM IBA bewurzelten Sprossen lag sie bei 75 % und nach Behandlung mit 320 μM IBA überlebten 66,7 % der Pflänzchen (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 25, S. 95).

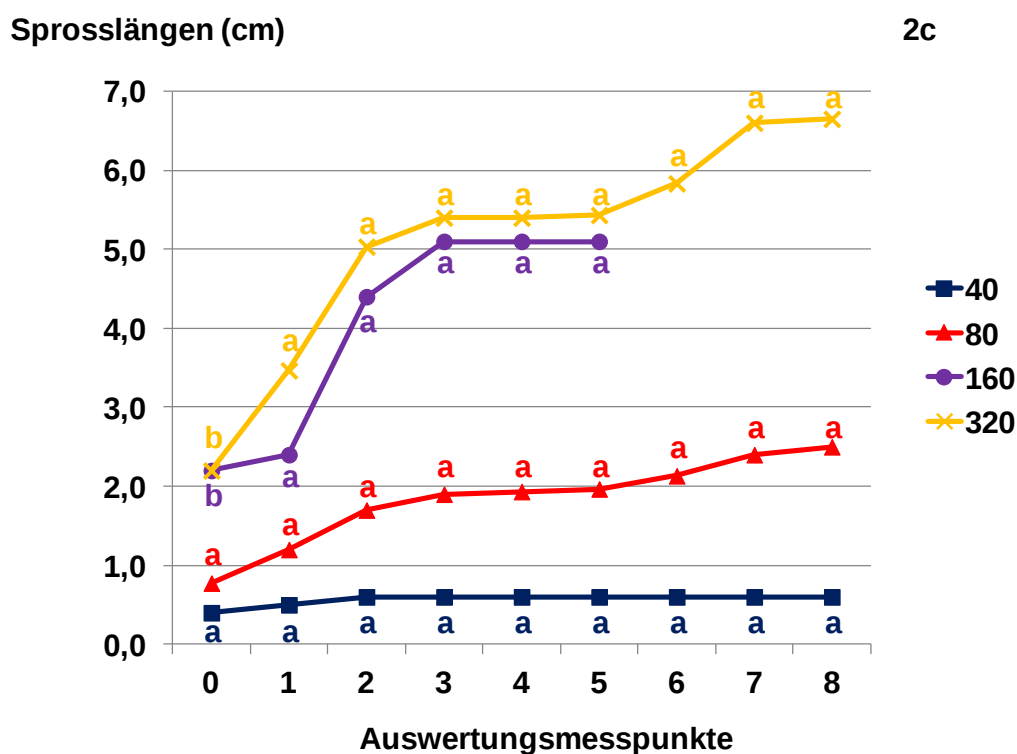


Diagramm 45: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 2c, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 10 (S. 89)

In Diagramm 46 (S. 64) zeigt sich, dass bei der Kontrollgruppe bei Messpunkt 6 bereits alle Pflanzen abgestorben waren. Bei Messpunkt 0 konnten wir einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Konzentrationen mit den längsten Sprossen, nämlich 0 und 80 μM IBA, und der Konzentration mit den kürzesten Sprossen, also 320 μM IBA, feststellen. Weiters zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den IBA-Konzentrationen (Diagramm 46, S. 64).

Bei 40 und 160 μM IBA lag die Überlebensrate bei 100 %, bei 80 μM IBA bei 80 % und bei 320 μM überlebten 50 % der Pflanzen über den 8-wöchigen Beobachtungszeitraum (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 26, S. 95).

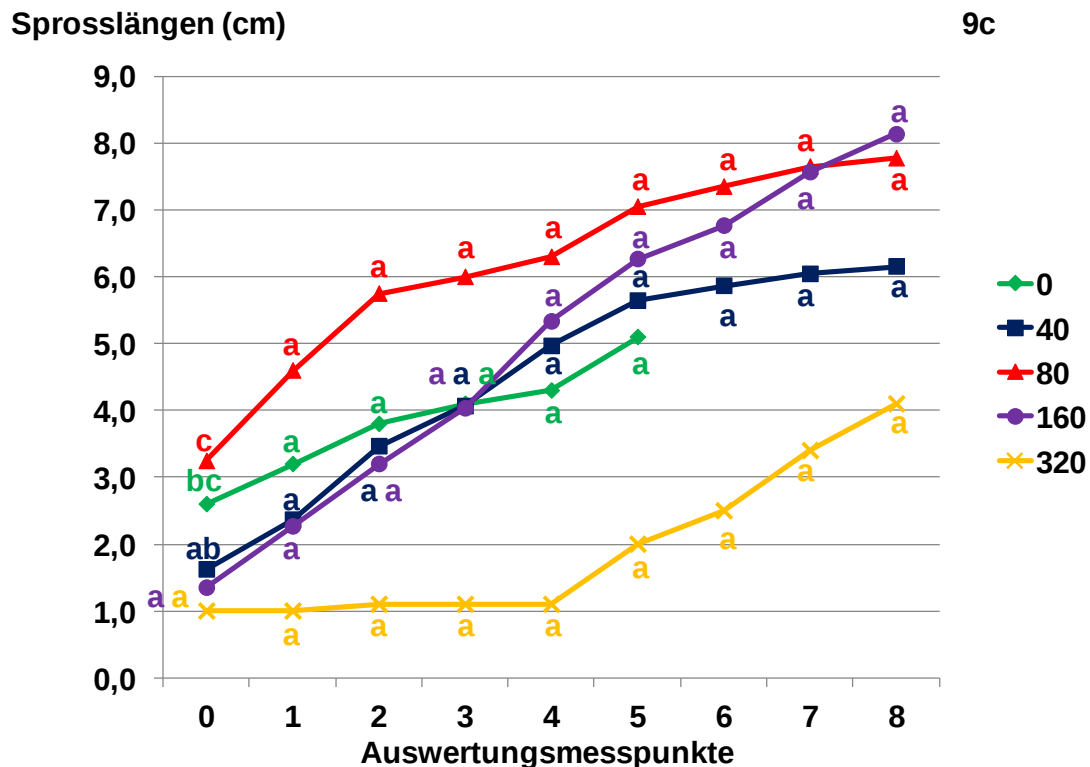


Diagramm 46: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 9c, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 11 (S. 89)

Bei Klon 11b war nur in der letzten Woche der Vermessung ein signifikanter Unterschied zu beobachten. Die Pflänzchen der Kontrollgruppe wiesen hier eine signifikant höhere Sprosslänge auf als die mit 40 μM IBA bewurzelten Sprosse (Diagramm 47, S. 65). In der Kontrollgruppe kam es im Schnitt zu einer geringeren Bewurzelungsrate und auch zu niedrigerer Wurzelanzahl als bei Einsatz von Auxin. Bezüglich der Wurzellänge waren die Ergebnisse jedoch umgekehrt gelagert und das lässt den Schluss zu, dass lange Wurzeln für ein gutes und schnelles Sprosswachstum von Vorteil waren. Die höchste Überlebensrate betrug 100 % bei den Pflanzen aus der Gruppe mit 320 μM IBA, gefolgt von der

Kontrollgruppe, die eine Überlebensrate von 83,3 % aufwies. Bei Behandlung mit 40 µM IBA lag der Wert bei 72,7 %, und die niedrigste Überlebensrate von 61,5 % weisen die mit 80 und 160 µM IBA bewurzelten Pflänzchen auf (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 27, S. 95).

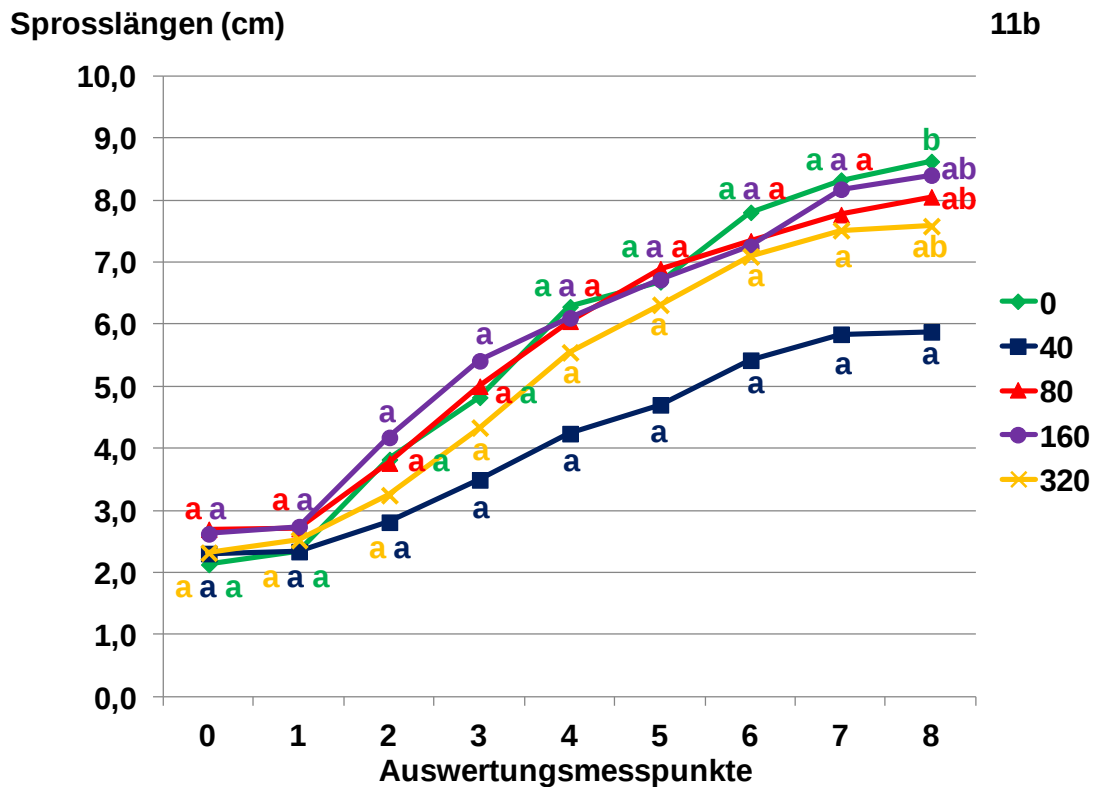


Diagramm 47: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach 3-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 11b, nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$), die Ergebnisse der Varianzanalyse beziehen sich nur auf den jeweiligen Messpunkt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 12 (S. 90)

3.6.2.3. Sprosswachstum nach 7-tägiger Pulsbehandlung

Die 7-tägige Pulsbehandlung wurde wie bereits erwähnt nur mit Klon 5b durchgeführt. Es kam nur bei einer einzigen IBA-Konzentration (320 µM) zu einer Bewurzelung, die Pflänzchen erreichten nach 8 Wochen eine eher geringe durchschnittliche Sprosslänge von 3,3 cm (Diagramm 48, S. 66). Die Überlebensrate der Pflanzen an Auswertemesspunkt 8 lag bei 75 % (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 28, S. 95).

Sprosslängen (cm)

7 Tage

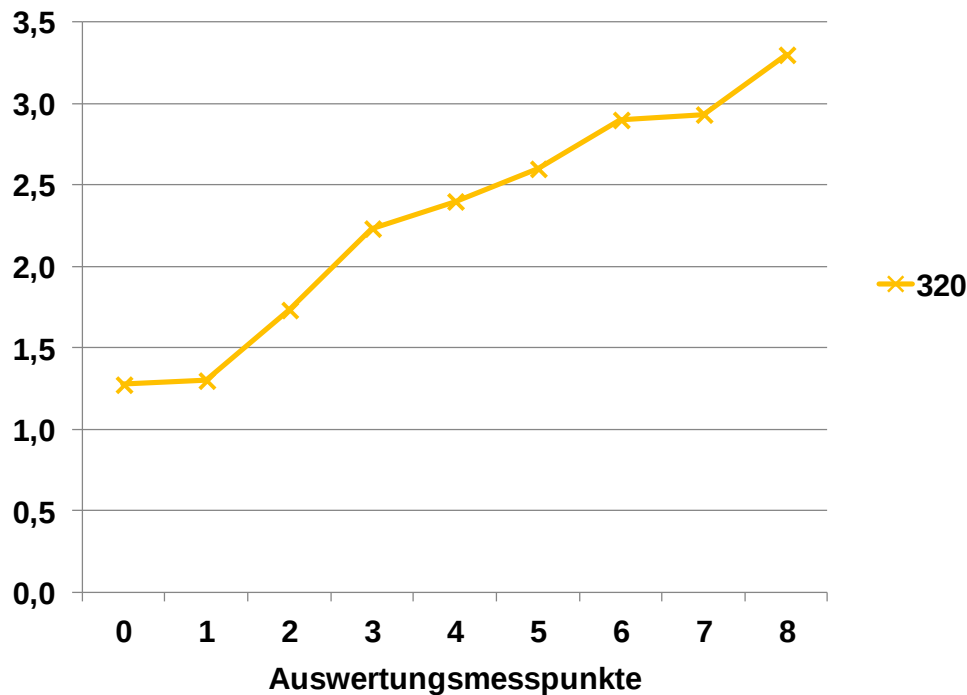


Diagramm 48: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach 7-tägiger Pulsbehandlung bei Klon 5b, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 13 (S. 90)

3.6.3. Gesamtüberblick zum Sprosswachstum

Im Folgenden sollen die beide Bewurzelungsmethoden (Seradix® und Pulsbehandlung mit IBA) einander gegenübergestellt werden. Bei den Diagrammen wurde keine Signifikanzanalyse durchgeführt, da verschiedene Faktoren zugunsten einer Vergleichbarkeit beider Behandlungsmethoden in den Darstellungen nicht berücksichtigt wurden und daher eine korrekte Varianzanalyse nicht möglich war.

Diagramm 49 (S. 67) verdeutlicht die Unterschiede zwischen der Behandlung mit Seradix®-Pulver (21 Tage) und den verschiedenen Behandlungsdauern der Pulsbehandlung mit IBA. Man sieht hier, dass bezüglich des Sprosswachstums die 3-tägige Pulsbehandlung mit IBA und auch die Behandlung mit Seradix®-Pulver am erfolgreichsten waren. Die Überlebensrate am Messpunkt 8 war bei der Seradix-Behandlung (21 Tage) mit 77,6 % am höchsten und am niedrigsten bei der 1-tägigen Pulsbehandlung (66,7 %). Die 3-tägige und 7-tägige Behandlung lag

dabei zwischen den beiden Werten (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 29, S. 96).

Sprosslängen (cm)

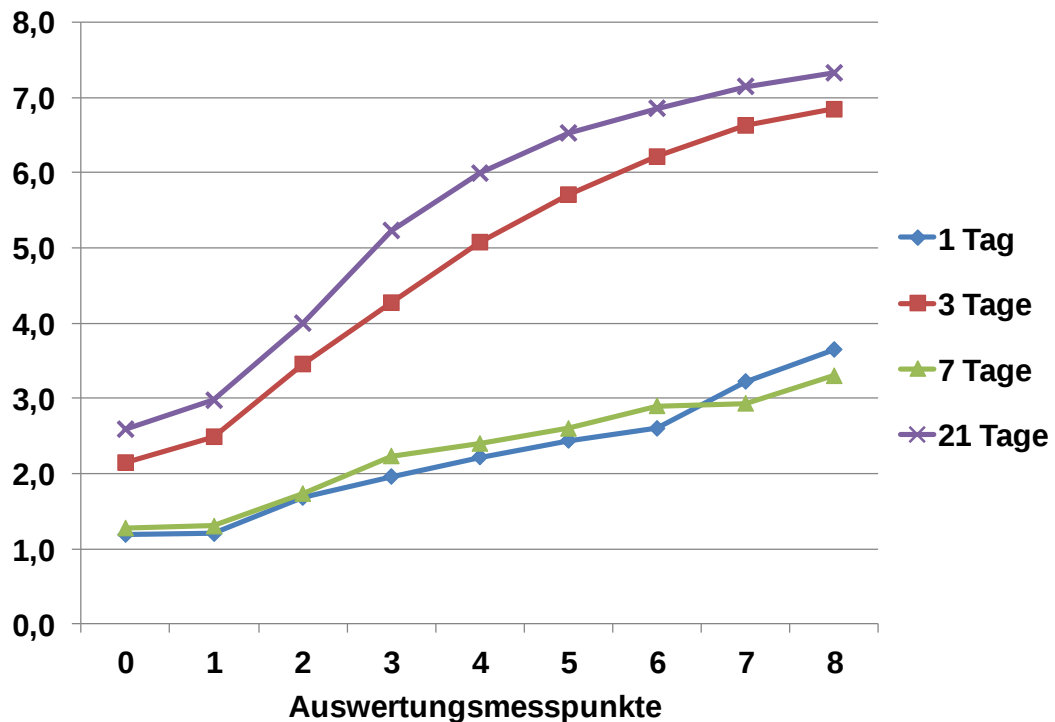


Diagramm 49: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach 1-, 3- und 7-tägiger Pulsbehandlung sowie 21-tägiger Behandlung mit Seradix®-Pulver, gemittelt über alle IBA-Konzentrationen und über alle gewachsenen Klone, nach Behandlungsdauer aufgeteilt dargestellt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 14 (S. 91)

Versucht man alle verwendeten IBA-Konzentrationen zu vergleichen, zeigt sich, dass ab Messpunkt 3 die Sprosse aus der Seradix®-Gruppe mit 14800 μM am besten gewachsen sind. Sie erreichten nach 8 Wochen eine Länge von durchschnittlich 8,3 cm pro Spross (Diagramm 50, S. 68). Bei der Bewertung der Wurzellängen (Diagramm 34, S. 47) zeigten die Pflanzen bei 14800 μM IBA die signifikant längsten Wurzeln. Auch hier ist also wieder ein Zusammenhang zwischen langen Wurzeln und einem guten Sprosswachstum erkennbar.

Die Überlebensrate war bei allen Konzentrationen etwa gleich hoch und lag zwischen 70 und 86 % (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 30, S. 96).

Sprosslängen (cm)

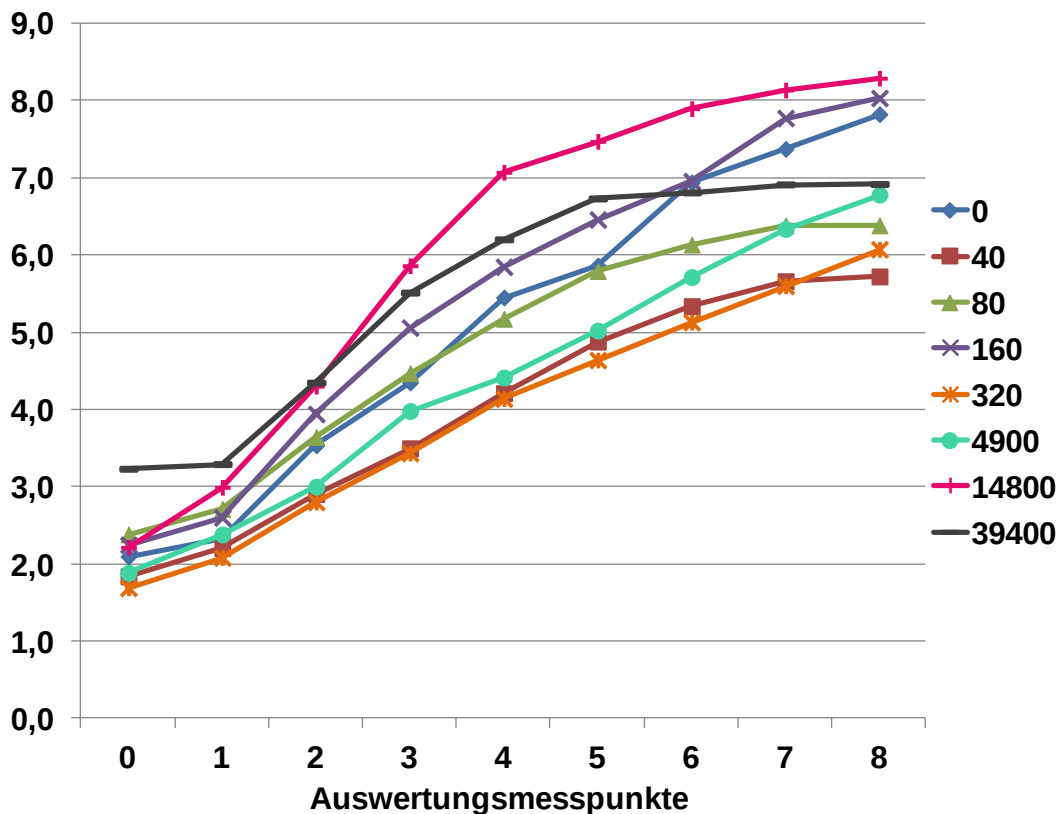


Diagramm 50: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen nach 1-, 3- und 7-tägiger Pulsbehandlung sowie 21-tägiger Behandlung mit Seradix®-Pulver bei allen IBA-Konzentrationen und gemittelt über alle gewachsenen Klone, nach Wuchsstoff-Konzentration aufgeteilt dargestellt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 15 (S. 91)

Das letzte Diagramm zeigt nun die Unterschiede im Sprosswachstum zwischen den einzelnen Klonen (Diagramm 51, S. 69). Wie erwartet wies Klon 5b auch im Gesamtvergleich die kürzesten Sprosslängen auf. Vor allem bei den Klonen 11a und 9b trat ein wesentlich stärkeres Sprosswachstum auf. Es bestätigt sich nochmals, dass Klone mit langen Wurzeln in der Regel ein starkes Sprosswachstum aufwiesen. Weiters fiel auf, dass auch eine hohe Bewurzelungsrate in einem guten Sprosswachstum mündete. Das bedeutet, dass es offenbar gelungen ist, in den meisten Fällen die Bildung funktionstüchtiger Wurzeln auszulösen, denn sonst wären die Pflanzen nach Überführung in ex vitro-Bedingungen bald abgestorben.

Die Höhe der Überlebensrate variiert hier etwas stärker als beim Vergleich der unterschiedlichen IBA-Konzentrationen. Klon 5b zeigte mit 62,5 % die geringste

Überlebensrate, gefolgt von Klon 7b mit 66,7 %. Die höchste Überlebensrate wies Klon 9c mit 89,5 % auf, alle anderen Klone lagen dazwischen (Mittelwerte und Standardfehler siehe Anhang 2, Tabelle 31, S. 96).

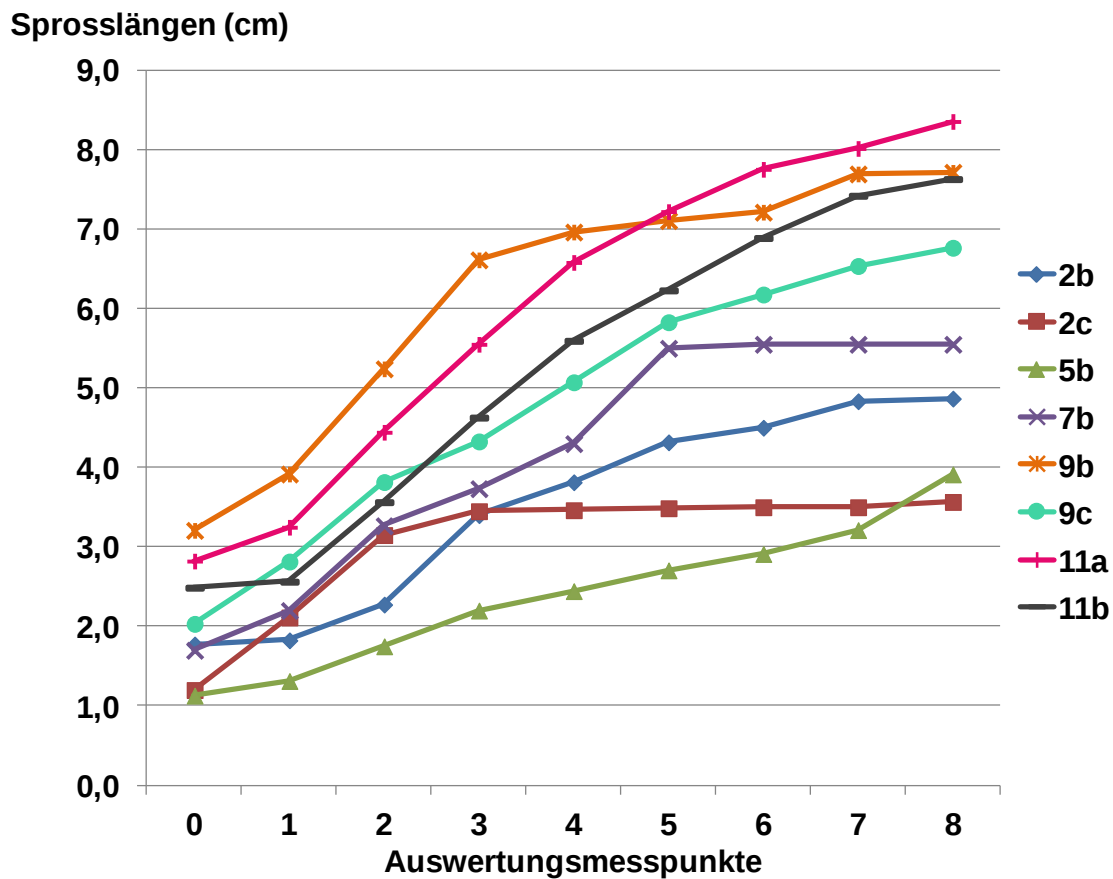


Diagramm 51: Mittelwerte des ex vitro-Sprosswachstums über 8 Wochen, gemittelt über alle IBA-Konzentrationen und über alle gewachsenen Klone dargestellt, Standardfehler siehe Anhang 1 Tabelle 16 (S. 92)

4. Diskussion

Lancea tibetica (Scrophulariaceae) ist eine volksmedizinisch in der Traditionellen Tibetischen Medizin vielfältig eingesetzte und sehr beliebte Heilpflanze. Das benötigte Drogenmaterial wird aus unkontrollierter Wildsammlung gewonnen, die Spezies ist in der "Mongolian Red List of Plants" (2011) in der Kategorie "Critically Endangered" angeführt. Es scheint daher notwendig, eine andere Beschaffungsmethode für die Droge zu finden, um die natürlichen Bestände von *L. tibetica* nicht weiter zu gefährden.

In vorangegangenen Arbeiten wurde von Prenner (2015), Osmen (2015) und Nguyen (Diplomarbeit in Vorbereitung) bereits ein in vitro-Vermehrungsprotokoll ausgearbeitet, wobei jedoch die Bewurzelung von in vitro-vermehrten Sprossen noch nicht zufriedenstellend durchgeführt werden konnte. Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit war nun die Ausarbeitung einer Bewurzelungsmethode, die funktionstüchtige Wurzeln hervorbringt und den Pflanzen das Überleben während des Akklimatisierungsprozesses und bei ex vitro-Bedingungen ermöglicht.

Bereits Prenner (2015) hatte versucht, mit dem Wuchsstoff NAA, einem starken Auxin, eine Bewurzelung von *L. tibetica*-Sprossen durchzuführen. Allerdings hatten sich bei diesem Versuch die meisten Wurzeln auf dem Kontrollmedium ohne Wuchsstoff ausgebildet, die Bewurzelungsrate lag dort bei allen untersuchten Klonen bei über 40 %. Bei einer Konzentration von 1 µM NAA war es nur zu einer maximalen Bewurzelungsrate von 30 % gekommen und bei der höchsten getesteten NAA-Konzentration von 5 µM kam es zu gar keiner Bewurzelung. NAA scheint für die Bewurzelung von *Lancea tibetica* also nicht der geeignete Wuchsstoff zu sein (Prenner, 2015). Die bewurzelten Sprosse aus der Kontrollgruppe starben allerdings während der Akklimatisierung innerhalb der ersten Wochen ab, was darauf hinweist, dass die ohne Wuchsstoff gebildeten Wurzeln nicht funktionstüchtig waren (Prenner, 2015).

Neben NAA stehen zur Bewurzelung noch verschiedene andere Wuchsstoffe zur Verfügung. Das Auxin IBA wird am häufigsten zur in vitro- und ex vitro-Bewurzelung von Stecklingen verwendet (George, 1996). Weiters kann auch noch

das natürliche Auxin IAA zur Induktion der Wurzelbildung verwendet werden. De Klerk et al. (1997) untersuchten den Einfluss der drei Auxine IAA, IBA und NAA auf die in vitro-Bewurzelung von Apfelsprossen. In den Versuchen zeigte sich nach 21 Tagen der Behandlung mit NAA eine im Vergleich zu IAA und IBA niedrige maximale Wurzelanzahl. Der Einsatz von IAA führte über einen größeren Konzentrationsbereich zu guter Wurzelbildung, während bei NAA und IBA jeweils nur eine Konzentration das beste Ergebnis lieferte. Weiters hemmten NAA und IBA das Längenwachstum der Wurzeln wesentlich stärker als IAA, weshalb IAA das bevorzugte Auxin für die Bewurzelung von Apfelsprossen darstellte (De Klerk et al., 1997).

Laut De Klerk (2002) lässt sich die Bewurzelung von Apfel-Stecklingen in drei aufeinanderfolgende Phasen einteilen. In einer ersten Entdifferenzierungs-Phase erlangen die Zellen die Fähigkeit, auf ein Bewurzelungssignal eines Wuchsstoffes (Auxins) zu reagieren. Bei den von De Klerk verwendeten Apfel-Stecklingen handelte es sich bei dieser Phase um die ersten 24 Stunden nach Präparation der Stecklinge. Erst danach kommt es in den nächsten 2 bis 3 Tagen unter Behandlung mit Auxin dazu, dass bestimmte Zellen zur Wurzelbildung determiniert werden. In dieser Phase wirken Auxin-Antagonisten wie etwa Cytokinine hemmend auf die Induktion der Wurzelbildung. In der dritten Phase, der Differenzierungsphase, bilden die determinierten Zellen Wurzeln aus. Das Bewurzelungssignal ist in dieser Phase nicht mehr erforderlich, Auxine wirken ab dieser Phase sogar hemmend auf das Wurzelwachstum und sollten aus dem Medium entfernt werden (De Klerk, 2002).

Diese Beobachtungen machen eine Pulsbehandlung sinnvoll, denn dabei werden die Sprosse für kurze Zeit einer Behandlung mit einem geeigneten Wuchsstoff unterzogen und danach in wuchsstofffreies Medium umgesetzt. Vor allem Pulsbehandlungen mit hohen Konzentrationen an Auxinen können für eine Bewurzelung zielführend sein. Bei Prenner (2015) zeigten sich bei Pulsbehandlung mit NAA bessere Ergebnisse als bei kontinuierlicher Auxinbehandlung, und es wurde eine Bewurzelungsrate von etwa 40 % erreicht. Bei einer Pulsbehandlung mit IBA konnte sogar eine Bewurzelungsrate von knapp über 50 % erreicht werden. Allerdings kam es oft zu Kallusbildung und außerdem

wiesen fast alle Sprosse Hyperhydratisierung auf - solche Sprosse eignen sich nicht für eine Akklimatisierung (Debergh und Maene, 1984).

Laut Newell (2006) kann ein Grund für die Bildung von funktionsunfähigen Wurzeln die Hypoxie in Agarmedien sein. Er definierte daher ein neuartiges Bewurzelungssubstrat, das sogenannte IVS-Medium (in vitro soil-less medium). Dabei handelt es sich um eine Mischung aus Torf, Sand und Perlit (0,5/2/2), der pH-Wert des Mediums wird mit Kalk auf 6,8 eingestellt. Das IVS-Medium ist relativ grobkörnig und porös und ermöglicht daher eine gute Sauerstoffversorgung der Wurzeln. Dies führte bei Newell (2006) im Gegensatz zu normalen Agarmedien zu einer signifikant höheren Bewurzelungsrate bei 28 australischen Pflanzenarten. Nach einer Bewurzelung auf IVS-Medium kam es auch zu weniger Ausfällen bei der Akklimatisierung (Newell et al., 2003). In einer anderen Studie von Newell et al. (2006) konnte auch gezeigt werden, dass eine gute Belüftung bei der Bewurzelung von Linsen-Stecklingen wichtiger ist als die Orientierung des Sprosses. Die Bewurzelungsrate war zwar bei normaler Orientierung und guter Belüftung des proximalen Endes der Stecklinge am höchsten, wenn sich aber das proximale Ende des Sprosses in Agar befand, so war die Bewurzelungsrate unabhängig von der Orientierung des Sprosses signifikant niedriger.

Eine andere Möglichkeit für eine ausreichende Belüftung der Wurzeln wäre die Verwendung eines porösen Agarmediums. Barrett-Lennard und Dracup (1988) konnten das Wurzelwachstum von *Trifolium subterraneum* in porösem Agarmedium im Vergleich zu normalem nicht-porösem Agarmedium um 80-90 % steigern. Das poröse Nährmedium wurde mit 3,5 % Agar und denselben Nährstoffen wie normaler Agar zubereitet, autoklaviert und dann in Plastikspritzen aufgezogen. Nachdem der Agar fest war, wurde das Medium aus den Spritzen in ein geeignetes steriles Gefäß gedrückt und bildete dort ein locker gepacktes poröses Medium mit zahlreichen Lufteinschlüssen (Barrett-Lennard und Dracup, 1988).

In der vorliegenden Arbeit wurden in Anlehnung an Newell (2006) zwei Arten von Versuchen mit IVS-Medien durchgeführt. Zum einen wurde eine Pulsbehandlung mit IBA-hältigem Agarmedium für eine Dauer von 1, 3 und 7 Tagen durchgeführt

und die Sprosse anschliessend auf wuchsstofffreies IVS-Medium gesetzt. Vor allem die 3-tägige Pulsbehandlung brachte dabei gute Erfolge: Die Bewurzelungsrate lag bei etwa 50 % und unterschied sich signifikant von der Kontrollgruppe ohne IBA im Medium. Bei der 7-tägigen Behandlung gab es kaum überlebende Sprosse, daher liegt der Schluss nahe, dass eine Pulsbehandlungsdauer von einer Woche bereits zu lang war. Dies wurde von De Klerk (2002) auch für Apfel-Stecklinge gezeigt, nach 7 Tagen befanden sich diese bereits wieder in der Differenzierungsphase, wo die Anwesenheit von Auxinen auf die Wurzelbildung hemmend wirkt. Bei der 1-tägigen Behandlung konnten wir nur bei der höchsten IBA-Konzentration eine Bewurzelungsrate von etwa 50 % verzeichnen.

Eine etwas kürzere Pulsbehandlung wurde bei *Pinus peuce*, einer Kiefernart, erfolgreich durchgeführt (Stojičić et al., 2012). Hier wurden Sprosse für zwei Stunden einer Pulsbehandlung mit einer Wuchsstoff-haltigen Lösung (1 mM NAA oder IBA) unterzogen. Die Behandlung mit IBA brachte dabei bessere Ergebnisse als die mit NAA, sowohl bezüglich des Überlebens der Sprosse, als auch bezüglich der Bewurzelungsrate: Von 67,5 % überlebenden Sprossen nach zweistündiger Pulsbehandlung haben etwa 33 % der Sprosse bewurzelt.

Als zweite Bewurzelungsmethode kam in der vorliegenden Arbeit ein Bewurzelungspulver zur Anwendung. Verwendet wurde IBA-haltiges Seradix®-Pulver in drei verschiedenen Stärken („B1“: 4900 µM IBA; „B2“: 14800 µM IBA; „B3“: 39400 µM IBA). Ein solches Pulver, welches gärtnerisch zur Stecklingsbewurzelung eingesetzt wird, fand auch bei Newell (2006) Anwendung und brachte in Verbindung mit IVS-Medium gute Ergebnisse. Auch bei Yeboah et al. (2009) führte die Anwendung von Seradix®-Bewurzelungspulver beim Sheanussbaum (*Vittelaria paradoxa*) zu einer erfolgreichen Bewurzelung. Tchigio und Duguma (1998) verglichen in einer Studie die Eignung von zwei verschiedenen Bewurzelungspulvern. Sie verwendeten sowohl Seradix® B3, welches als Wuchsstoff nur IBA enthält, als auch Bouture CF, welches neben IBA auch noch NAA und MNAA (Methyl-Naphthylelessigsäure) enthält. Die höchste Bewurzelungsrate von 91 % trat zwar bei Behandlung mit Bouture CF auf, es gab aber keinen signifikanten Unterschied zur Bewurzelungsrate mit Seradix® B3, die

89 % betrug. Bezüglich Wurzelanzahl und Wurzellänge lieferte Seradix® B3 die besten Ergebnisse. Das Sprosswachstum, die Sprosslänge und die Anzahl an gebildeten Blättern waren aber bei Einsatz von Bouture CF signifikant höher als bei Behandlung mit Seradix® B3.

Bei unseren Versuchen wurden die Sprosse von *Lancea tibetica* an der basalen Schnittstelle nur für wenige Sekunden in das Pulver getaucht und dann in IVS-Medium eingesetzt. Diese Bewurzelungsmethode führte bei allen drei Seradix®-Stärken zu einer Induktion der Wurzelbildung, allerdings variierten die Ergebnisse zwischen den einzelnen Klonen recht stark. Die höchste Bewurzelungsrate konnte mit über 90 % bei Klon 11a unter Verwendung der Seradix®-Stärke B3 (39400 µM IBA) erreicht werden.

Nach der Auswertung des Bewurzelungsversuches begann der Akklimatisierungsvorgang für die Pflanzen. Obwohl immer wieder die eine oder andere Pflanze abstarb, überlebte ein Großteil der Pflanzen den Prozess über den 8-wöchigen Beobachtungszeitraum, in dem jede Woche das Sprosswachstum vermessen wurde. Die Überlebensrate aller erfolgreich bewurzelten Pflanzen war unabhängig von Bewurzelungsmethode und eingesetzter IBA-Konzentration durchwegs ähnlich hoch und lag zwischen 50 und 100 %, nur bei einzelnen Klonen kamen selten auch niedrigere Werte vor.

In der Seradix®-Gruppe lag die maximale Überlebensrate bei fast 81 % nach Bewurzelung mit 14800 µM IBA im Pulver. Bei der Pulsbehandlung gab es mit durchschnittlich 84 % die höchsten Überlebensraten vorwiegend bei den mit niedrigen IBA-Konzentrationen bewurzelten Pflanzen sowie auch in der Kontrollgruppe.

Die Auswertung der Sprosslängen ergab eine Korrelation zwischen Bewurzelungsrate und Sprosswachstum: Eine hohe Bewurzelungsrate führte auch zu einem starken Sprosswachstum, wobei vor allem längere Wurzeln positiv für das Sprosswachstum zu sein schienen.

Um den Akklimatisierungsvorgang zu vereinfachen, könnte man darauf verzichten, die Sprosse nach der Bewurzelung noch einmal umzusetzen. Man könnte bereits

den Bewurzelungsvorgang in kleinen sterilen Töpfen mit IVS-Medium vornehmen und die Pflanzen dann auch für die Akklimatisierung in diesen Töpfen belassen.

Eine andere Methode zur Erhöhung der Effizienz des Akklimatisierungsprozesses wurde von Saglam (2010) beschrieben. In seinen Versuchen mit Esparsetten wurden die Pflanzen zunächst einer kurzen Pulsbehandlung mit IBA unterzogen und dann für 4 Wochen auf MS-Medium belassen. Danach wurde der Agar vorsichtig aus dem Wurzelnetz entfernt. Eine Hälfte der Pflanzen wurde dann für 15-20 min. in Wasser eingetaucht und die andere Hälfte wurde sofort in Erde gesetzt. Die erste Hälfte der Pflanzen ließ sich im Folgenden viel besser Akklimatisieren als die zweite Gruppe: Von der ersten Gruppe überlebten 100 % der Pflanzen den Akklimatisierungsprozess, aus der zweiten Gruppe nur 40 %.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Diplomarbeit befasst sich mit der Bewurzelung von in vitro-vermehrten Sprossen der mongolischen Arzneipflanze *Lancea tibetica* und der anschließenden Akklimatisierung der bewurzelten Pflanzen. Dabei wurde mit mehreren Klonen (Genotypen) der Pflanze gearbeitet. Wir wandten zwei Bewurzelungsmethoden an, wobei immer das Auxin IBA als Wachstumsstoff zum Einsatz kam. Weiters wurde ein spezielles Medium, das sogenannte IVS-Medium aus Torf, Sand und Perlit, für die Versuche benutzt. Ein Vorteil dieses Mediums liegt in seiner grobkörnigen und porösen Struktur, die nicht so dicht ist wie die eines Agarmediums und deshalb viel Sauerstoff zu den Wurzeln durchlässt. Die Bewurzelung mittels IBA-hältigem Seradix®-Bewurzelungspulver führte zu guten Ergebnissen. Bei allen drei Stärken des Pulvers (4900, 14800 und 39400 μM IBA) kam es zur Induktion der Wurzelbildung. Die Ergebnisse variierten allerdings deutlich bei den unterschiedlichen Klonen. Die höchste Bewurzelungsrate wurde mit Klon 11a bei einer Konzentration von 39400 μM IBA im Pulver erreicht und lag bei über 90 %. Als zweite Methode wurde eine Pulsbehandlung durchgeführt. Dabei wurden die Pflanzen für einen begrenzten Zeitraum dem Auxin in höherer Konzentration ausgesetzt, um die Wurzelbildung zu induzieren. Danach überführten wir die Sprosse auf wachstumsstofffreies Medium. Die Pulsbehandlung wurde mit 40, 80, 160 oder 320 μM IBA im Medium für 1, 3 oder 7 Tage durchgeführt, wobei die Ergebnisse nach der 3-tägigen Behandlung mit 40 μM IBA die besten waren. Die durchschnittliche Bewurzelungsrate lag hier durchwegs bei etwa 50 %. Dieser Wert hob sich signifikant von der Kontrollbehandlung ohne IBA ab.

Nach der Bewurzelung wurden die Pflänzchen an ex vitro-Bedingungen akklimatisiert, wozu sie für die Dauer von drei Wochen bei sinkender relativer Luftfeuchte gehalten wurden. Im Anschluss erfolgte die Überführung ins Glashaus. Das Wachstum wurde durch wöchentliche Vermessung der Sprosslängen über einen Zeitraum von zwei Monaten protokolliert. Es zeigte sich, dass das Sprosswachstum mit der Bewurzelungsrate konform ging: Eine hohe Bewurzelungsrate hatte auch ein starkes Sprosswachstum ex vitro zur Folge. Vor allem Pflanzen mit großen Wurzellängen zeigten dabei ein gutes und schnelles

Sprosswachstum. Die Überlebensrate aller erfolgreich bewurzelten Pflanzen während des 8-wöchigen Beobachtungszeitraums lag zwischen 40 und 100 % und zeigte kaum signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Bewurzelungsbehandlungen. Bei der Seradix®-Gruppe fanden sich mit fast 81 % die höchsten Werte bei Bewurzelung mit 14800 µM IBA und nach Bewurzelung über Pulsbehandlung waren die besten Überlebensraten mit durchschnittlich 84 % bei Bewurzelung ohne Auxin und mit 40 µM IBA zu verzeichnen.

6. Summary

The present diploma thesis deals with rooting and acclimatization of in vitro-propagated shoots of the Mongolian medical plant *Lancea tibetica*. This was accomplished with several clones (genotypes) of the plant. We applied two rooting methods based on the auxin IBA. Further on a special kind of medium was used for the experiments, the IVS-medium consisting of peat, sand and perlite. The advantage of this medium is its gritty and porous structure, which is not as solid as with an agar medium and thus provides much oxygen to the roots. Rooting with IBA containing Seradix[®] rooting powder led to good results. Root formation could be stimulated with all three strengths of the powder (4900, 14800 and 39400 μM IBA). However, the results diverged considerably within the different clones. The highest rooting rate of over 90 % was achieved for clone 11a with a concentration of 39400 μM IBA in the powder. The second method was a pulse treatment. The shoots were exposed to elevated concentrations of the auxin to induce rooting. Subsequently the shoots were transferred to hormone free medium. The pulse treatment was carried out with 40, 80, 160, or 320 μM IBA in the medium for one, three or seven days. The best results were achieved after a three days treatment with 40 μM IBA, with an average rooting rate of approx. 50 %. This value was significantly different from the control treatment without IBA.

After rooting the plantlets were acclimatized to ex vitro conditions by cultivation at falling relative air humidity for three weeks and subsequent transfer to the greenhouse. The growth was monitored by weekly estimation of the shoot length over a period of two months. It became apparent that the shoot growth was accordant with the rooting rate. A high rooting rate resulted in a strong ex vitro growth of the plantlets. Especially plants with longer roots showed a good and quick shoot elongation. During the eight weeks monitoring period the survival rate of all successfully rooted plantlets was between 40 and 100 % and no significant differences between the rooting method was apparent. Within the Seradix[®] group the survival rate was highest (81 %) after rooting with 14800 μM IBA. The best survival rates after rooting via pulse treatment averaged at 84 % without auxin or after application of 40 μM IBA.

7. Literaturverzeichnis

Barrett-Lennard E. G., Dracup M. (1988), A porous agar medium for improving the growth of plants under sterile conditions, *Plant Soil* **108**: 294-298

Debergh P. C. A., Maene L. J. (1981), A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture, *Sci. Hort.* **14**: 335-345

Debergh P. C. A., Maene L. J. (1984), Pathological and physiological problems related to in vitro culture of plants, *Parasitica* **40**: 69-75

De Klerk G.-J., Ter Brugge J., Marinova S. (1997), Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthaleneacetic acid during adventitious root formation in vitro in *Malus* 'Jork 9', *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **49**: 39-44

De Klerk G.-J. (2002), Rooting of Microcuttings: Theory and Practice, *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* **38**: 415-422

George E. F. (1996), *Plant Propagation by Tissue Culture*, 2. Auflage, Band 2, Kapitel 14: Rooting and Establishment, Exegetics Ltd., Edington, S. 670-732

Grout B.W.W., Aston M.J. (1978), Transplanting of cauliflower plants regenerated from meristem culture, 2. Carbon dioxide fixation and the development of photosynthetic activity, *Hort. Res.* **17**: 65-71

Kletter C., Kriechbaum M. (2001), *Tibetan Medicinal Plants*, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, S. 266-269

Li J., Zheng Y., Hong Z., Su B. N., Zheng R. L. (1997), Differentiation of human gastric adenocarcinoma cell line MGc80-3 induced by verbascoside, *Planta Med.* **63**: 499-502

Liu S.-J., Liao Z.-X., Liu C., Qu Y.-B. (2014), A trehalose ester from *Lancea tibetica*, *Nat. Prod. Res.* **28**: 1613-1618

Miao J., Wang W., Wu T., Dou D., Zhao H., Yao S., Zheng R. (2004), Studies on the reactions of sylvatesmin and lantibeside with oxidizing free radicals, Rad. Phys. Chem. **69**: 25-29

Murashige T., Skoog F. (1962), A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, Physiol. Plant. **15**: 473-497

Newell C. J., McComb J., Grown D. (2003), The influence of medium aeration on in vitro rooting of Australian plant microcuttings, Plant Cell Tissue Organ Cult. **75**: 131-142

Newell C. J. (2006), In vitro soil-less (IVS) rooting medium, Dissertation, Murdoch University

Newell C. J., Grown D., McComb J. (2006), Aeration is more important than shoot orientation when rooting Lentil (*Lens culinaris* Medik.) cv. 'Digger' microcuttings in vitro, In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant **42**: 197-200

Nguyen N. C., In vitro Vermehrung von *Lancea tibetica* HOOK F. et THOMS, Diplomarbeit, Universität Wien, in Vorbereitung

Nyambayar D., Oyuntsetseg B., Tungalag R. (2011), Mongolian Red List of Plants, Admon Printing, Ulaanbaatar, S. 31

Osmen S. (2015), Mikrovermehrung von *Lancea tibetica* HOOK F. et THOMS, Diplomarbeit, Universität Wien

Prenner K. (2015), Klonale Vermehrung der mongolischen Arzneipflanze *Lancea tibetica* Hook. f. et Thoms, Diplomarbeit, Universität Wien

Saglam S. (2010), Growth Regulators Effects on In Vitro Shoot Regeneration of Sainfoin (*Onobrychis sativa* Lam.), Biotech. Biotechnol. Equip. **24**: 2077-2079

Song Z.-H., Wang Y.-H., Qian Z.-Z., Smillie T. J., Khan I. A. (2011), Quantitative Determination of 10 Phenylpropanoid and Lignan Compounds in *Lancea tibetica* by High-Performance Liquid Chromatography with UV Detection, *Planta Med.* **77**: 1562-1566

Stojičić D., Janošević D., Uzelac B., Čokeša V., Budimir S. (2012), Micropropagation of *Pinus peuce*, *Biol. Plant.* **56**: 362-364

Su B. N., Zhu Q., Gao K., Yuan C., Jia Z. (1999), Lignan and Phenylpropanoid Glycosides from *Lancea tibetica* and their antitumor Activity, *Planta Med.* **65**: 558-561

Tchigio I., Duguma B. (1998), Vegetative propagation of *Calliandra calothyrsus* (Meissner), *Agrofor. Syst.* **40**: 275-281

World Health Organization (2003) WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants, Genf, Schweiz

Yeboah J., Lower S.T., Amoah F.M. (2009), The rooting performance of Shea (*Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn) cuttings leached in water and application of rooting hormone in different media, *J. Plant Sci.* **4**: 10-14

http://www.efloras.org/object_page.aspx?object_id=90551&flora_id=800,
aufgerufen am 1.11.2015 (Abbildung 1, S. 1)

Anhang 1

Tabelle 2: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 37 (S. 54)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (μM)		
	4900	14800	39400
0	$1,88 \pm 0,15$	$2,21 \pm 0,16$	$3,23 \pm 0,26$
1	$2,38 \pm 0,29$	$2,99 \pm 0,29$	$3,29 \pm 0,38$
2	$2,99 \pm 0,41$	$4,30 \pm 0,44$	$4,34 \pm 0,48$
3	$3,97 \pm 0,55$	$5,86 \pm 0,52$	$5,51 \pm 0,54$
4	$4,41 \pm 0,65$	$7,06 \pm 0,54$	$6,20 \pm 0,57$
5	$5,01 \pm 0,75$	$7,46 \pm 0,60$	$6,73 \pm 0,57$
6	$5,71 \pm 0,88$	$7,89 \pm 0,58$	$6,80 \pm 0,59$
7	$6,33 \pm 0,92$	$8,13 \pm 0,59$	$6,91 \pm 0,58$
8	$6,78 \pm 0,93$	$8,28 \pm 0,58$	$6,91 \pm 0,62$

Tabelle 3: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 38 (S.55)

Auswertemesspunkt	Klon		
	9b	2b	11a
0	$2,18 \pm 0,35$	$2,32 \pm 0,34$	$1,65 \pm 0,18$
1	$2,80 \pm 0,78$	$2,32 \pm 0,39$	$2,25 \pm 0,47$
2	$3,93 \pm 1,29$	$2,66 \pm 0,46$	$2,85 \pm 0,64$
3	$4,63 \pm 1,61$	$3,83 \pm 0,56$	$3,80 \pm 0,88$
4	$4,83 \pm 1,69$	$4,13 \pm 0,67$	$4,39 \pm 1,09$
5	$4,90 \pm 1,72$	$4,87 \pm 0,80$	$5,11 \pm 1,19$
6	$5,13 \pm 1,81$	$4,90 \pm 0,82$	$6,23 \pm 1,41$
7	$7,00 \pm 0,70$	$4,93 \pm 0,83$	$6,69 \pm 1,47$
8	$7,00 \pm 0,70$	$5,00 \pm 0,87$	$7,47 \pm 1,52$

Tabelle 4: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 39 (S. 56)

Auswertemesspunkt	Klon			
	5b	9b	2b	11a
0	1,16 ± 0,08	2,11 ± 0,36	1,30**	2,64 ± 0,16
1	1,48 ± 0,17	3,50 ± 0,57	/*	3,42 ± 0,30
2	1,82 ± 0,35	5,19 ± 0,66	/*	4,98 ± 0,52
3	2,57 ± 0,74	6,70 ± 0,55	/*	6,39 ± 0,67
4	3,30 ± 0,10	7,03 ± 0,57	/*	7,92 ± 0,70
5	3,35 ± 0,15	7,15 ± 0,56	/*	8,59 ± 0,75
6	3,75 ± 0,15	7,18 ± 0,56	/*	9,28 ± 0,61
7	3,95 ± 0,25	7,22 ± 0,58	/*	9,67 ± 0,58
8	4,45 ± 0,45	7,28 ± 0,58	/*	9,80 ± 0,59

* bei Klon 2b waren ab Messpunkt 1 alle Pflanzen abgestorben

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 5: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 40 (S. 58)

Auswertemesspunkt	Klon				
	5b	9b	7b	2b	11a
0	0,95 ± 0,05	4,50 ± 0,55	1,70 ± 0,22	1,00 ± 0,17	3,68 ± 0,30
1	1,13 ± 0,09	4,81 ± 0,81	2,20 ± 0,40	1,00 ± 0,17	3,71 ± 0,49
2	1,50 ± 0,23	5,86 ± 0,92	3,27 ± 0,73	1,63 ± 0,50	5,05 ± 0,67
3	2,10 ± 0,30	7,39 ± 0,85	3,73 ± 0,90	2,83 ± 1,03	6,05 ± 0,79
4	2,35 ± 0,35	7,81 ± 0,72	4,30 ± 1,13	3,40 ± 0,95	7,00 ± 0,87
5	2,40 ± 0,40	8,01 ± 0,70	5,50 ± 1,00	3,77 ± 0,74	7,57 ± 0,87
6	2,55 ± 0,55	8,13 ± 0,64	5,55 ± 0,95	4,10 ± 0,85	7,63 ± 0,94
7	2,70 ± 0,50	8,30 ± 0,64	5,55 ± 0,95	4,73 ± 0,58	7,63 ± 1,00
8	3,35 ± 0,65	8,38 ± 0,76	5,55 ± 0,95	4,73 ± 0,58	7,67 ± 1,10

Tabelle 6: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 41 (S. 59)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (μM)				
	0	40	80	160	320
0	$2,09 \pm 0,24$	$1,83 \pm 0,17$	$2,38 \pm 0,18$	$2,24 \pm 0,18$	$1,68 \pm 0,17$
1	$2,33 \pm 0,29$	$2,20 \pm 0,28$	$2,70 \pm 0,37$	$2,59 \pm 0,27$	$2,08 \pm 0,34$
2	$3,53 \pm 0,43$	$2,90 \pm 0,37$	$3,64 \pm 0,47$	$3,94 \pm 0,38$	$2,80 \pm 0,48$
3	$4,34 \pm 0,59$	$3,49 \pm 0,47$	$4,46 \pm 0,53$	$5,05 \pm 0,45$	$3,43 \pm 0,54$
4	$5,44 \pm 0,70$	$4,20 \pm 0,54$	$5,17 \pm 0,60$	$5,84 \pm 0,46$	$4,13 \pm 0,62$
5	$5,86 \pm 0,84$	$4,87 \pm 0,57$	$5,79 \pm 0,66$	$6,45 \pm 0,50$	$4,63 \pm 0,66$
6	$6,93 \pm 1,01$	$5,33 \pm 0,62$	$6,13 \pm 0,67$	$6,95 \pm 0,56$	$5,12 \pm 0,68$
7	$7,37 \pm 1,15$	$5,65 \pm 0,62$	$6,38 \pm 0,72$	$7,77 \pm 0,51$	$5,59 \pm 0,70$
8	$7,82 \pm 0,99$	$5,72 \pm 0,65$	$6,38 \pm 0,81$	$8,03 \pm 0,51$	$6,07 \pm 0,65$

Tabelle 7: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 42 (S. 60)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (μM)	
	80	320
0	$1,00 \pm 0,10$	$1,23 \pm 0,11$
1	$1,15 \pm 0,25$	$1,23 \pm 0,47$
2	$1,50 \pm 0,40$	$1,80 \pm 0,78$
3	$1,75 \pm 0,45$	$2,10 \pm 0,93$
4	$1,80 \pm 0,50$	$2,50 \pm 1,10$
5	$2,05 \pm 0,45$	$2,70 \pm 1,15$
6	$2,15 \pm 0,55$	$2,90 \pm 1,25$
7	$2,15 \pm 0,55$	$4,30 \pm 0,10$
8	$2,70 \pm 0,70$	$4,60 \pm 0,20$

Tabelle 8: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 43 (S. 61)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (μM)				
	0	40	80	160	320
0	$2,09 \pm 0,24$	$1,83 \pm 0,17$	$2,47 \pm 0,18$	$2,24 \pm 0,18$	$1,99 \pm 0,26$
1	$2,33 \pm 0,29$	$2,20 \pm 0,28$	$2,86 \pm 0,39$	$2,59 \pm 0,27$	$2,40 \pm 0,44$
2	$3,53 \pm 0,43$	$2,90 \pm 0,37$	$3,85 \pm 0,49$	$3,94 \pm 0,38$	$3,21 \pm 0,63$
3	$4,34 \pm 0,59$	$3,49 \pm 0,47$	$4,74 \pm 0,55$	$5,05 \pm 0,45$	$3,93 \pm 0,67$
4	$5,44 \pm 0,70$	$4,20 \pm 0,54$	$5,51 \pm 0,61$	$5,84 \pm 0,46$	$4,81 \pm 0,76$
5	$5,86 \pm 0,84$	$4,87 \pm 0,57$	$6,18 \pm 0,66$	$6,45 \pm 0,50$	$5,43 \pm 0,79$
6	$6,93 \pm 1,01$	$5,33 \pm 0,62$	$6,55 \pm 0,67$	$6,95 \pm 0,56$	$6,01 \pm 0,81$
7	$7,37 \pm 1,15$	$5,65 \pm 0,62$	$6,84 \pm 0,71$	$7,77 \pm 0,51$	$6,35 \pm 0,84$
8	$7,82 \pm 0,99$	$5,72 \pm 0,65$	$6,87 \pm 0,83$	$8,03 \pm 0,51$	$6,93 \pm 0,72$

Tabelle 9: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 44 (S. 62)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (μM)			
	0	40	160	320
0	0,80**	$1,24 \pm 0,22$	1,00**	$0,95 \pm 0,25$
1	1,30**	$1,55 \pm 0,85$	1,90**	$0,95 \pm 0,75$
2	1,80**	$2,00 \pm 1,30$	2,80**	$1,35 \pm 1,15$
3	2,20**	$2,35 \pm 1,65$	3,80**	$1,35 \pm 1,15$
4	2,40**	$2,40 \pm 1,70$	3,80**	$1,70 \pm 1,50$
5	2,50**	4,10**	3,90**	$2,00 \pm 1,80$
6	2,60**	4,30**	3,90**	$2,20 \pm 1,90$
7	2,60**	5,20**	3,90**	$2,35 \pm 2,05$
8	3,80**	5,60**	4,70**	4,50**

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 10: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 45 (S. 63)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (μM)			
	40	80	160	320
0	0,40**	$0,78 \pm 0,13$	2,20**	$2,20 \pm 0,38$
1	0,50**	$1,20 \pm 0,57$	2,40**	$3,47 \pm 1,00$
2	0,60**	$1,70 \pm 0,75$	4,40**	$5,03 \pm 1,33$
3	0,60**	$1,90 \pm 0,84$	5,10**	$5,40 \pm 1,42$
4	0,60**	$1,93 \pm 0,84$	5,10**	$5,40 \pm 1,42$
5	0,60**	$1,97 \pm 0,87$	5,10**	$5,43 \pm 1,44$
6	0,60**	$2,13 \pm 1,02$	/*	$5,83 \pm 1,11$
7	0,60**	$2,40 \pm 1,19$	/*	$6,60 \pm 2,10$
8	0,60**	$2,50 \pm 1,19$	/*	$6,65 \pm 2,05$

* bei 160 μM IBA waren ab Messpunkt 6 alle Pflanzen abgestorben

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 11: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 46 (S. 64)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (μM)				
	0	40	80	160	320
0	2,60**	$1,62 \pm 0,18$	$3,25 \pm 0,29$	$1,35 \pm 0,09$	$1,00 \pm 0,10$
1	3,20**	$2,37 \pm 0,45$	$4,60 \pm 1,42$	$2,27 \pm 0,93$	1,00**
2	3,80**	$3,47 \pm 0,64$	$5,75 \pm 1,83$	$3,20 \pm 1,69$	1,10**
3	4,10**	$4,07 \pm 0,73$	$6,00 \pm 1,91$	$4,03 \pm 2,09$	1,10**
4	4,30**	$4,97 \pm 0,81$	$6,30 \pm 1,98$	$5,33 \pm 1,94$	1,10**
5	5,10**	$5,64 \pm 0,84$	$7,05 \pm 2,21$	$6,27 \pm 2,09$	2,00**
6	/*	$5,87 \pm 0,83$	$7,35 \pm 1,98$	$6,77 \pm 1,86$	2,50**
7	/*	$6,04 \pm 0,79$	$7,65 \pm 1,84$	$7,57 \pm 1,55$	3,40**
8	/*	$6,16 \pm 0,78$	$7,78 \pm 1,82$	$8,13 \pm 1,44$	4,10**

* bei der Kontrollgruppe (0 μM) waren ab Messpunkt 6 alle Pflanzen abgestorben

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 12: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 47 (S. 65)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (μM)				
	0	40	80	160	320
0	$2,13 \pm 0,27$	$2,31 \pm 0,30$	$2,70 \pm 0,18$	$2,62 \pm 0,22$	$2,32 \pm 0,35$
1	$2,35 \pm 0,32$	$2,34 \pm 0,41$	$2,71 \pm 0,26$	$2,74 \pm 0,32$	$2,52 \pm 0,57$
2	$3,82 \pm 0,45$	$2,81 \pm 0,51$	$3,76 \pm 0,34$	$4,18 \pm 0,37$	$3,24 \pm 0,82$
3	$4,82 \pm 0,66$	$3,49 \pm 0,71$	$5,00 \pm 0,47$	$5,41 \pm 0,41$	$4,33 \pm 0,85$
4	$6,28 \pm 0,58$	$4,24 \pm 0,82$	$6,05 \pm 0,54$	$6,10 \pm 0,47$	$5,54 \pm 0,96$
5	$6,68 \pm 0,85$	$4,70 \pm 0,82$	$6,89 \pm 0,45$	$6,72 \pm 0,52$	$6,31 \pm 0,97$
6	$7,80 \pm 0,63$	$5,42 \pm 0,95$	$7,34 \pm 0,52$	$7,25 \pm 0,57$	$7,09 \pm 0,96$
7	$8,32 \pm 0,79$	$5,84 \pm 0,97$	$7,76 \pm 0,56$	$8,17 \pm 0,45$	$7,51 \pm 0,89$
8	$8,62 \pm 0,72$	$5,88 \pm 1,13$	$8,05 \pm 0,67$	$8,40 \pm 0,43$	$7,58 \pm 0,88$

Tabelle 13: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 48 (S. 66)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (μM)
	320
0	$1,28 \pm 0,27$
1	$1,30 \pm 0,44$
2	$1,73 \pm 0,77$
3	$2,23 \pm 1,13$
4	$2,40 \pm 1,17$
5	$2,60 \pm 1,29$
6	$2,90 \pm 1,24$
7	$2,93 \pm 1,24$
8	$3,30 \pm 1,29$

Tabelle 14: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 49 (S. 67)

Auswertemesspunkt	Tage			
	1	3	7	21
0	1,19 ± 0,09	2,15 ± 0,09	1,28 ± 0,27	2,59 ± 0,14
1	1,20 ± 0,27	2,49 ± 0,16	1,30 ± 0,44	2,97 ± 0,21
2	1,68 ± 0,45	3,46 ± 0,21	1,73 ± 0,77	4,00 ± 0,28
3	1,96 ± 0,54	4,27 ± 0,25	2,23 ± 1,13	5,23 ± 0,33
4	2,22 ± 0,65	5,08 ± 0,28	2,40 ± 1,17	6,00 ± 0,37
5	2,44 ± 0,67	5,71 ± 0,30	2,60 ± 1,29	6,53 ± 0,38
6	2,60 ± 0,73	6,21 ± 0,31	2,90 ± 1,24	6,86 ± 0,39
7	3,23 ± 0,66	6,63 ± 0,33	2,93 ± 1,24	7,15 ± 0,39
8	3,65 ± 0,62	6,84 ± 0,34	3,30 ± 1,29	7,33 ± 0,40

Tabelle 15: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 50 (S. 68)

Auswertemesspunkt	IBA-Konzentration (µM)							
	0	40	80	160	320	4900	14800	39400
0	2,09 ± 0,24	1,83 ± 0,17	2,38 ± 0,18	2,24 ± 0,18	1,68 ± 0,17	1,88 ± 0,15	2,21 ± 0,16	3,23 ± 0,26
1	2,33 ± 0,29	2,20 ± 0,28	2,70 ± 0,37	2,59 ± 0,27	2,08 ± 0,34	2,38 ± 0,29	2,99 ± 0,29	3,29 ± 0,38
2	3,53 ± 0,43	2,90 ± 0,37	3,64 ± 0,47	3,94 ± 0,38	2,80 ± 0,48	2,99 ± 0,41	4,30 ± 0,44	4,34 ± 0,48
3	4,34 ± 0,59	3,49 ± 0,47	4,46 ± 0,53	5,05 ± 0,45	3,43 ± 0,54	3,97 ± 0,55	5,86 ± 0,52	5,51 ± 0,54
4	5,44 ± 0,70	4,20 ± 0,54	5,17 ± 0,60	5,84 ± 0,46	4,13 ± 0,62	4,41 ± 0,65	0,54 ± 7,06	6,20 ± 0,57
5	5,86 ± 0,84	4,87 ± 0,57	5,79 ± 0,66	6,45 ± 0,50	4,63 ± 0,66	5,01 ± 0,75	7,46 ± 0,60	6,73 ± 0,57
6	6,93 ± 1,01	5,33 ± 0,62	6,13 ± 0,67	6,95 ± 0,56	5,12 ± 0,68	5,71 ± 0,88	7,89 ± 0,58	6,80 ± 0,59
7	7,37 ± 1,15	5,65 ± 0,62	6,38 ± 0,72	7,77 ± 0,51	5,59 ± 0,70	6,33 ± 0,92	8,13 ± 0,59	6,91 ± 0,58
8	7,82 ± 0,99	5,72 ± 0,65	6,38 ± 0,81	8,03 ± 0,51	6,07 ± 0,65	6,78 ± 0,93	8,28 ± 0,58	6,91 ± 0,62

Tabelle 16: Mittelwerte und Standardfehler der Sprosslängen zu Diagramm 51 (S. 69)

Ausw erte- mess punkt	Klone							
	5b	9b	2c	9c	7b	2b	11a	11b
0	1,13 ± 0,06	3,21 ± 0,38	1,20 ± 0,21	2,03 ± 0,17	1,70 ± 0,22	1,77 ± 0,26	2,82 ± 0,18	2,49 ± 0,12
1	1,31 ± 0,12	3,92 ± 0,45	2,11 ± 0,58	2,82 ± 0,45	2,20 ± 0,40	1,83 ± 0,34	3,25 ± 0,28	2,56 ± 0,17
2	1,75 ± 0,20	5,24 ± 0,51	3,15 ± 0,84	3,82 ± 0,60	3,27 ± 0,73	2,28 ± 0,37	4,44 ± 0,40	3,56 ± 0,23
3	2,20 ± 0,29	6,61 ± 0,54	3,45 ± 0,90	4,33 ± 0,65	3,73 ± 0,90	3,40 ± 0,53	5,55 ± 0,49	4,63 ± 0,28
4	2,44 ± 0,32	6,96 ± 0,53	3,46 ± 0,90	5,07 ± 0,67	4,30 ± 1,13	3,81 ± 0,53	6,58 ± 0,56	5,59 ± 0,32
5	2,71 ± 0,34	7,11 ± 0,53	3,49 ± 0,91	5,83 ± 0,71	5,50 ± 1,00	4,32 ± 0,55	7,22 ± 0,58	6,23 ± 0,33
6	2,91 ± 0,35	7,21 ± 0,52	3,50 ± 1,02	6,18 ± 0,71	5,55 ± 0,95	4,50 ± 0,56	7,75 ± 0,60	6,89 ± 0,35
7	3,21 ± 0,36	7,69 ± 0,40	3,50 ± 1,27	6,54 ± 0,67	5,55 ± 0,95	4,83 ± 0,45	8,01 ± 0,62	7,42 ± 0,35
8	3,91 ± 0,33	7,71 ± 0,43	3,57 ± 1,27	6,76 ± 0,65	5,55 ± 0,95	4,87 ± 0,47	8,35 ± 0,63	7,63 ± 0,39

Anhang 2

Tabelle 17: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 37 (S.54), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

IBA-Konzentration (μM)	Überlebensrate (%)
4900	75,0 ^a $\pm$ 11,2
14800	81,0 ^a $\pm$ 8,8
39400	76,7 ^a $\pm$ 7,9

Tabelle 18: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 38 (S. 55), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Klone	Überlebensrate (%)
9b	66,7 ^a $\pm$ 33,3
2b	60,0 ^a $\pm$ 24,5
11a	87,5 ^a $\pm$ 12,5

Tabelle 19: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 39 (S. 56), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Klone	Überlebensrate (%)
5b	40,0 ^a $\pm$ 24,5
9b	85,7 ^b $\pm$ 14,3
11a	100,0 ^{b**}

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 20: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 40 (S. 58), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

Klone	Überlebensrate (%)
5b	66,7 ^a $\pm$ 33,3
9b	85,7 ^a $\pm$ 14,3
7b	66,7 ^a $\pm$ 33,3
2b	100,0 ^{a**}
11a	71,4 ^a $\pm$ 12,5

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 21: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 41 (S. 59), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

IBA-Konzentration (μM)	Überlebensrate (%)
0	85,7 ^a $\pm$ 14,3
40	82,6 ^a $\pm$ 8,1
80	70,8 ^a $\pm$ 9,5
160	70,6 ^a $\pm$ 11,4
320	75,0 ^a $\pm$ 9,0

Tabelle 22: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 42 (S. 60), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

IBA-Konzentration (μM)	Überlebensrate (%)
80	100,0 ^{a**}
320	50,0 ^a $\pm$ 28,9

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 23: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 43 (S. 61), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

IBA-Konzentration (μM)	Überlebensrate (%)
0	85,7 ^a $\pm$ 14,3
40	82,6 ^a $\pm$ 8,1
80	68,2 ^a $\pm$ 10,2
160	70,6 ^a $\pm$ 11,4
320	81,3 ^a $\pm$ 10,1

Tabelle 24: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 44 (S. 62), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

IBA-Konzentration (μM)	Überlebensrate (%)
0	100,0 ^{a**}
40	50,0 ^a $\pm$ 50,0
160	100,0 ^{a**}
320	50,0 ^a $\pm$ 50,0

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 25: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 45 (S. 63), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

IBA-Konzentration (μM)	Überlebensrate (%)
40	100,0 ^{a**}
80	75,0 ^a $\pm$ 25,0
320	66,7 ^a $\pm$ 33,3

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 26: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 46 (S. 64), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

IBA-Konzentration (μM)	Überlebensrate (%)
40	100,0 ^{ab**}
80	80,0 ^{ab} $\pm$ 20,0
160	100,0 ^{b**}
320	50,0 ^a $\pm$ 50,0

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 27: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 47 (S. 65), nicht signifikant unterschiedliche Werte sind mit gleichen Kleinbuchstaben beschriftet ($p \leq 0,05$)

IBA-Konzentration (μM)	Überlebensrate (%)
0	83,3 ^a $\pm$ 16,7
40	72,7 ^a $\pm$ 14,1
80	61,5 ^a $\pm$ 14,0
160	61,5 ^a $\pm$ 14,0
320	100,0 ^{a**}

** kein Standardfehler da lauter gleiche Werte oder nur noch eine lebende Pflanze

Tabelle 28: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 48 (S. 66)

IBA-Konzentration (μM)	Überlebensrate (%)
320	75,0 $\pm$ 25,0

Tabelle 29: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 49 (S. 67)

Tage	Überlebensrate (%)
1	66,7 ± 21,1
3	76,5 ± 4,6
7	75,0 ± 25,0
21	77,6 ± 5,1

Tabelle 30: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 50 (S. 68)

IBA-Konzentration (µM)	Überlebensrate (%)
0	85,7 ± 14,3
40	82,6 ± 8,1
80	70,8 ± 9,5
160	70,6 ± 11,4
320	75,0 ± 9,0
4900	75,0 ± 11,2
14800	81,0 ± 8,8
39400	76,7 ± 7,9

Tabelle 31: Mittelwerte und Standardfehler der Überlebensrate zu Diagramm 51 (S. 69)

Klone	Überlebensrate (%)
5b	62,5 ± 10,1
9b	82,4 ± 9,5
2c	75,0 ± 16,4
9c	89,5 ± 7,2
7b	66,7 ± 33,3
2b	75,0 ± 16,4
11a	83,9 ± 6,7
11b	73,1 ± 6,2