

BGB Projekt 2955:

**In-vitro-Etablierung und gezielte Selektion von *Rhododendron ferrugineum*,
R. hirsutum und *R. x intermedium***

Teilbereich I – HBLVA für Gartenbau –Beprobung, Etablierung und Vermehrung

1 Beprobung

Die Beprobung der Herkünfte Gutenstein (19), Kirchkogel (20), Trnovski gozd (21), Großes Walsertal (28), Fernpass (29) und Versam-Station (30) erfolgte von der HBLVA für Gartenbau. Gemeinsam mit der Universität Innsbruck (Projektpartner 1) wurden die Tiroler Herkünfte Patscherkofel (22) und Axamer Lizum (25) beprobt (Tab. 1.1).

1.1 Problem und Aufgabenstellung

Die HBLVA für Gartenbau befasst sich seit 1996 im Rahmen von wissenschaftlichen Tätigkeiten (Versuchsberichte 1997 bis 2001: Sigmund 1997; Halbmayr & Sigmund 1998; Sigmund & Halbmayr 1999; Halbmayr & Kupfer 2000; Hristoforoglu & Halbmayr 2001), mit der In-vitro-Etablierung und In-vitro-Vermehrung der beiden *Rhododendron* -Wildarten *R. ferrugineum* und *R. hirsutum*. *Rhododendron* -Klone, die im Rahmen dieser Forschungsarbeit in vitro etabliert werden konnten, wurden 2001 an eine österreichische Baumschule verkauft (Vermehrungsvertrag Zl.29.017/33-II/A3/00).

Von den beiden heimischen *Rhododendron* -Wildarten *R. ferrugineum* und *R. hirsutum* gibt es noch keine, über Baumschulen zu kaufenden Klone, aus In-vitro-Vermehrung. Der Einsatz der In-vitro-Vermehrung erlaubt eine rasche Selektion und Massenvermehrung praxisrelevanter Klone.

Im Rahmen des BGB 022955 -Forschungsprojektes erfolgte eine In-vitro-Etablierung und gezielte Selektion von *Rhododendron ferrugineum* (Rostrote Alpenrose), *R. hirsutum* (Almrausch) und *R. x intermedium* -Klonen, aus umfassenden Naturstandorten und postglazialen Reliktbeständen (Österreich, Italien, Slowenien, Schweiz).

Rhododendron -Klone die an bestimmte Boden- und Klimaverhältnisse angepasst sind, wurden gezielt selektiert, um im Gartenbau (kalk-, hitzetolerante Klone) und in der Begrünung (z.B. Renaturierung nach baulichen Eingriffen) eingesetzt zu werden. Praxisrelevante *R. ferrugineum*, *R. hirsutum* und *R. x intermedium* -Sorten werden beim Europäischen Sortenschutzamt angemeldet.

1.2 Herkünfte des Pflanzenmaterials

Über die Ziehung von Pflanzen-, Samen- und Erdproben wird von der Universität Innsbruck, unter Punkt 3 ausführlich berichtet. Umfassende Angaben zu den Tiroler Herkünften sowie eine

Standortsbewertung ist ebenfalls unter Punkt 3 angeführt. Die Beprobungstabellen zu den einzelnen Standorten sind unter Punkt 5 (Anhang) zu finden.

R. ferrugineum kommt nur auf kalkfreien, sauren Böden und zwar auf silikatischem Gestein vor. Es ist durch die ganze Alpenkette zwischen 1500 und 2300 m verbreitet, oft auch tiefer herabsteigend und vereinzelt bis zu 2840 m vordringend. *R. hirsutum* bevorzugt dagegen die Kalkalpen und besiedelt Kalk- und Dolomitböden. Sein natürliches Verbreitungsgebiet liegt in den Bayrischen, Österreichischen und Schweizer Alpen, vorzugsweise in der Nadelwaldstufe zwischen 1200 und 2000 m. *R. hirsutum* kommt jedoch auch tiefer und vereinzelt (im Unterengadin) bis 2580 m vor (Hegi). *R. x intermedium*, die natürliche Hybridform der beiden *Rhododendron* -Arten kommt vorwiegend in Gegenden vor, wo Silikat- und Kalkgestein aneinander stoßen.

Von den in der Tabelle 1 angeführten Naturstandorten und Reliktbeständen wurden Samenproben und/oder Pflanzenproben von *R. ferrugineum*, *R. hirsutum* und *R. x intermedium* gesammelt. Dazu wurde an den Naturstandorten vor Ort, vegetatives Sprossmaterial und/oder Samen entnommen. Das vegetative Sprossmaterial und Samenmaterial wurde einerseits zur Etablierung von in vitro Klonen und andererseits für die molekularen Analysen verwendet. Für die molekularen Analysen wurde pro Standort und *Rhododendron* -Art, Blattmaterial von 20 bis 25 Pflanzen, stichprobenartig beprobt um die genetische Diversität des jeweiligen Naturstandortes zu erfassen. Von den für die In-vitro-Etablierung bestimmten *Rhododendron* -Sträucher wurden Erdproben gezogen (Anhang)

Tabelle 1.1 Beprobungsstandorte von *Rhododendron ferrugineum*, *R. hirsutum* und *R. x intermedium*

Kennung	Art	Herkunft	MH in m	Standort
19	Rh	<u>Gutenstein-Klostertal (A)</u> Wildföhrenstein	800	-
		Mamauwiese-Sandgrube	950	-
		Mamauwiese-Kohlberg	1000	-
20	Rf	<u>Kirchkogel-Predigtstuhl</u> bei Pernegg (A)	810	Nord/Westhang Serpentin
		Postglazialer Biotyp		
21	Rh	<u>Trnovski gozd-Predmeja (SLO)</u>	900	Süd/Osthang Karst
22	Rf	<u>Patscherkofel (A)</u>	1900 bis 2200	Westhang und Nordhang
23	Rh	<u>Karwendel-Seegrube (A)</u>	1900	Südhang Riffkalk
24*	Rh	<u>Kalkkögel, Saile 2000 (A)</u>	2000	Nordmulde Kalkuntergrund
25	Rx, Rf, Rh	<u>Axamer Lizum (A)</u>	1800	Kontaktzone (Kalk-Gneis)
26*	Rf	<u>Südalpen</u> Alpengarten Viote/Trient (I)	1500	Südalpines Klima (Kreide/Jura-Kalke)
28	Rh	<u>Großes Walsertal (A)</u> Buchboden- Bad Rotenbrunnen	1010	West/Nordwesthang
29	Rx, Rf, Rh	<u>Fernpass-Blindsee (A)</u>	1000	Gesamtes Westufer
30	Rh	<u>Graubünden, Versam-Station (CH)</u> Safien, Postglazialer Biotyp	650	Südhang Kalk

R. ferrugineum (Rf), *R. hirsutum* (Rh), *R. x intermedium* (Rx). *Die Beprobung der Herkünfte 24 und 26 wurde von der Universität Innsbruck, im Projektjahr 2003, durchgeführt.

1.2.1. Beprobungszeitpunkte und Auswahl der Genotypen



Abb. 1.1: 4. Juni 2002 - *R. hirsutum* (19)
Gutenstein-Klostertal, Wildföhrenstein,
Blütenknospen geschlossen



Abb. 1.2: 4. Juni 2002 – *R. hirsutum* (19)
Gutenstein-Klostertal, Mamauwiese,
Blütenknospen geschlossen



Abb. 1.3: 13. Juni 2002 – *R. ferrugineum*
Kirchkogel-Predigtstuhl bei Pernegg



Abb. 1.4: 13. Juni 2002 – *R. ferrugineum*
Kirchkogel-Predigtstuhl bei Pernegg
Vollblüte

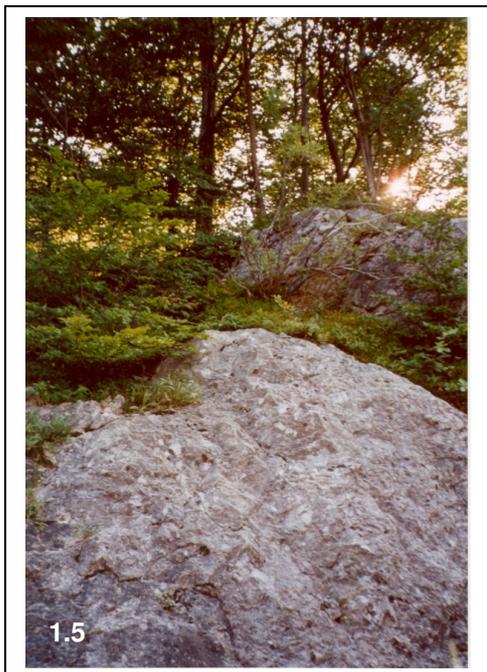


Abb. 1.5: 19./20. Juni 2002 – *R. hirsutum*
Trnovski gozd-Predmeja



Abb. 1.6: 19./20. Juni 2002 – *R. hirsutum*
Trnovski gozd-Predmeja, Beginn der Blüte

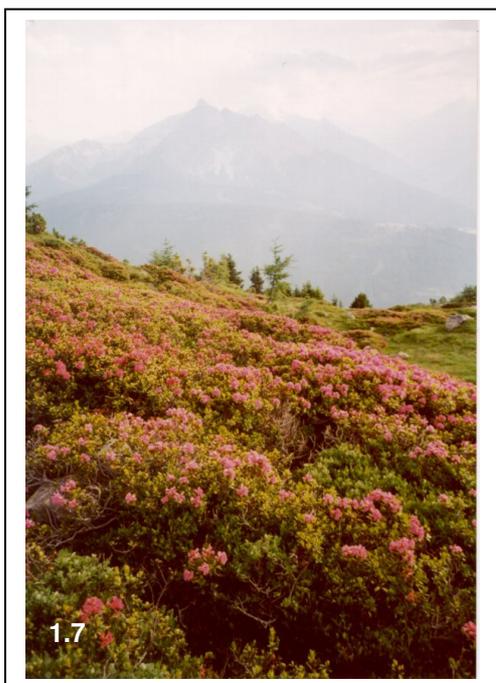


Abb. 1.7: 26. Juni 2002 – *R. ferrugineum*
Patscherkofel, Vollblüte

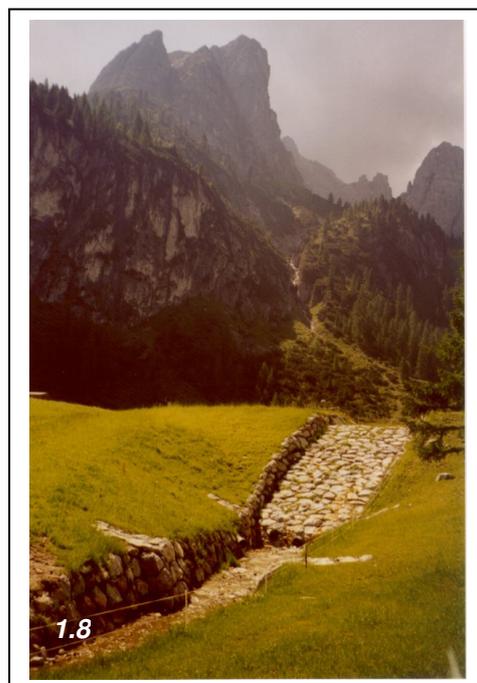


Abb. 1.8: 27. Juni 2002 – *R. x intermedium*
Axamer Lizum, Vollblüte

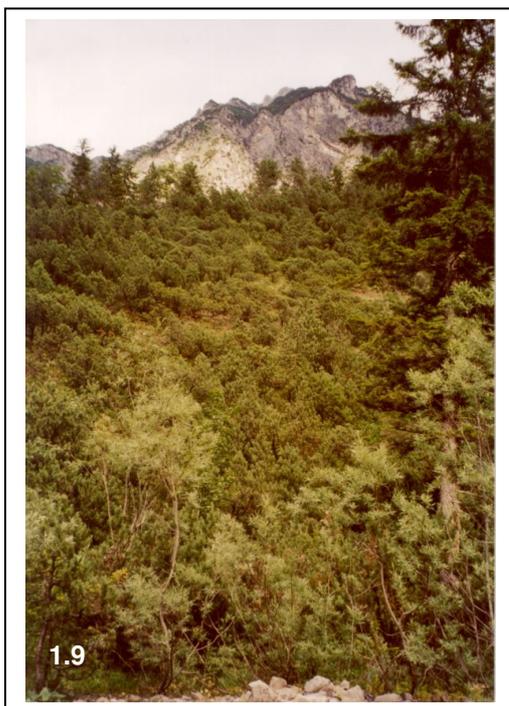


Abb. 1.9: 4. Juli 2002 – *R. hirsutum*
Großes Walsertal-Buchboden,
Bad Rotenbrunnen, Vollblüte

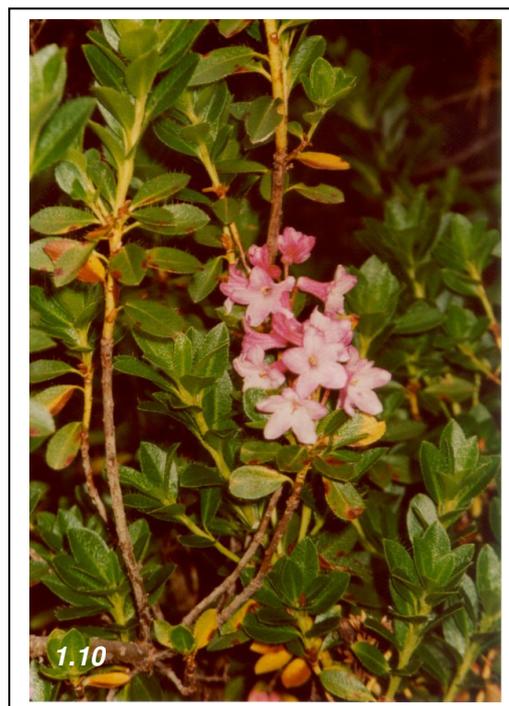


Abb. 1.10: 4. Juli 2002 – *R. hirsutum*,
Großes Walsertal, Vollblüte

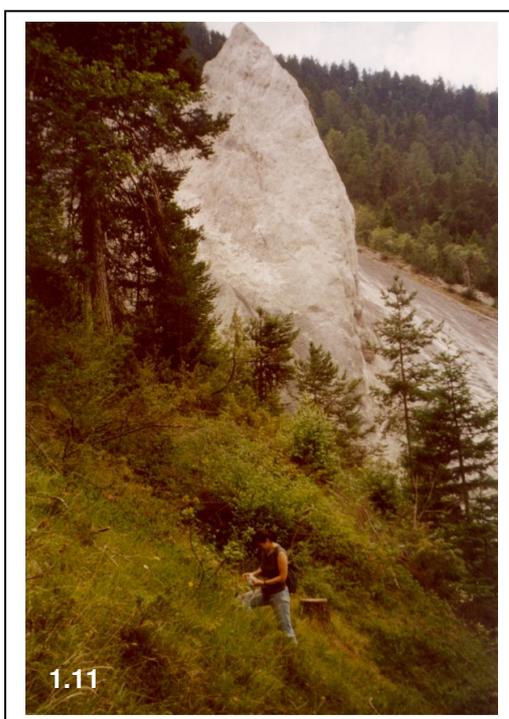


Abb. 1.11: 3. Juli 2002 – *R. hirsutum*
Versam-Station, Safien, Vollblüte

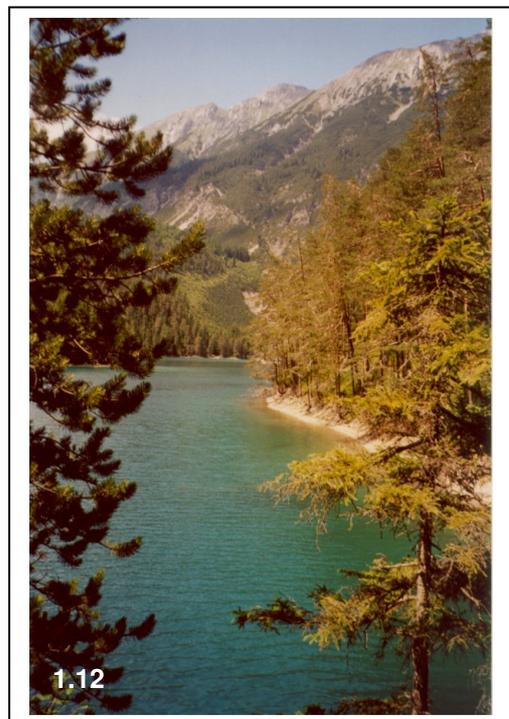


Abb. 1.12: 5. Juli 2002 – *R. x intermedium*
Fernpass-Blindsee, Zugspitzblick, Vollblüte

Abb. 1.1-1.12: Beprobungsstandorte von *R. ferrugineum*, *R. hirsutum* und *R. x intermedium*, an Naturstandorten in Österreich, Slowenien und der Schweiz.

Bei der Auswahl der Beprobungsstandorte wurden verschiedene Kriterien berücksichtigt: Um für den Gartenbau und für die Begrünung relevante Genotypen zu erhalten, wurde auf eine ausgewogene, flächendeckende Standortwahl geachtet. Wichtige Faktoren wie Meereshöhe und Bodenbeschaffenheit spielten zusätzlich eine wichtige Rolle. Neben Hochlagen wie Patscherkofel, Karwendel-Seegrube, Kalkkögel-Saile, Axamer Lizum und Viote-Trient wurden gezielte Beprobungen in Niedriglagen wie Gutenstein-Klostertal, Kirchkogel-Pernegg, Trnovski gozd-Predmeja, Großes Walsertal und Fernpass-Blindsee durchgeführt (Tab. 1.1, Abb.1.1 bis 1.12).

Bei den beiden postglazialen Reliktbeständen der Herkunft Kirchkogel-Pernegg und Versam-Station im Kanton Graubünden, handelt sich um Bestände in Niedriglagen, die sich nach der Eiszeit angesiedelt haben und die bis zum heutigen Zeitpunkt erhalten sind. Der *R. ferrugineum* - Reliktbestand am Kirchkogel (20) beträgt ca. 200 m² (Anhang). Es handelt sich dabei um einen Alpenrosen-Föhrenwald. Bei der Herkunft 30, Versam-Station, handelt es sich um einen völlig isolierten, postglazialen Reliktbestand (50 m²) von einem Steinrosen-Bergföhrenwald (*Rhododendro hirsuti-Pinetum montanae*). *R. hirsutum* ist an dieser Stelle am tiefliegendsten Standort des Kantons Graubünden zu finden (P. Steiger, 1995).

Beim Beprobungsstandort Trnovski gozd in Slowenien konnte aufgrund einer bereits vorgenommenen Beprobung, auf eine genaue Standortbeschreibung zurückgegriffen werden (Abb.1.13 bis 1.15). Es handelt sich dabei um einen kleinen *R. hirsutum* -Bestand von 100 m² auf einer Meereshöhe von 900 m . Detaillierte Informationen über die Niedriglagen Großes Walsertal und Fernpass-Blindsee wurden freundlicherweise vom Bundesamt und Forschungszentrum für Wald zur Verfügung gestellt. Die Beprobung von *R. ferrugineum* und *R. x intermedium* am Standort Blindsee erfolgte entlang des gesamten Westufers (Abb.1.16). Hierzu konnte aufgrund vorhandener Kartierungen auf das Vorkommen beider heimischen Arten sowie auf einen Hybridbestand (*R. x intermedium*) geschlossen werden.

Mit Ausnahme der Herkunft 19 (Gutenstein-Klostertal), bei der die Blütenknospen von *R. hirsutum* zum Beprobungszeitpunkt 4. Juni 2002 noch geschlossen waren, konnten alle restlichen Standorte zum optimalen Zeitpunkt beprobt werden. *R. ferrugineum* hat erfahrungsgemäß einen früheren Blühbeginn als *R. hirsutum*. Dies konnten wir deutlich bei der Beprobung von *R. ferrugineum* am Kirchkogel-Predigtstuhl bei Pernegg, am 13. Juni feststellen. Die Blüte war schon sehr weit fortgeschritten, vereinzelt beim Abblühen.

Von der Schweizer Herkunft 30 (Versam-Station) wurden keine In-vitro-Etablierungen durchgeführt. Es wurden Triebspitzen von 20 Genotypen, zufallsverteilt für die molekularen Analysen gesammelt (Tab. 1.1, Anhang).

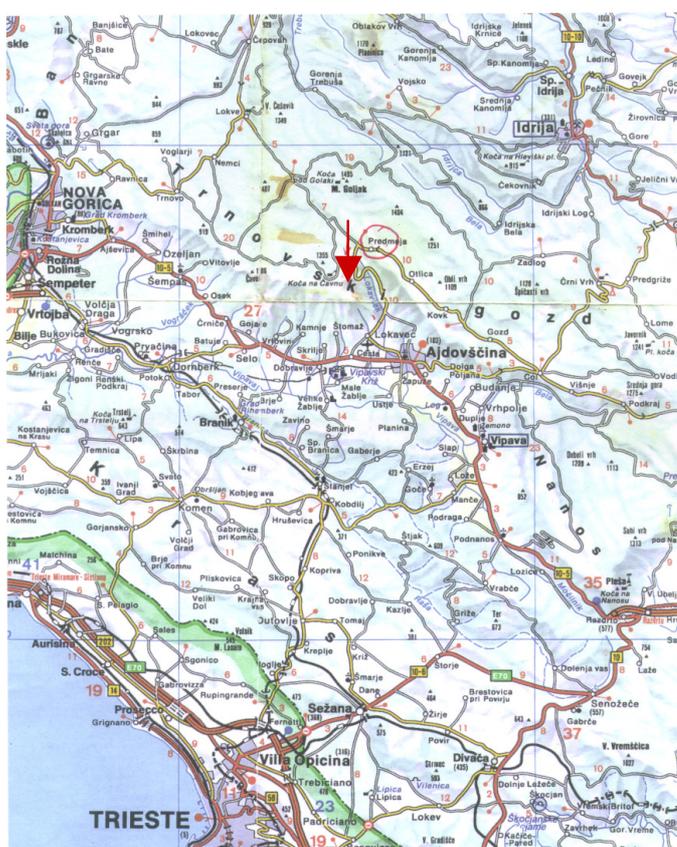
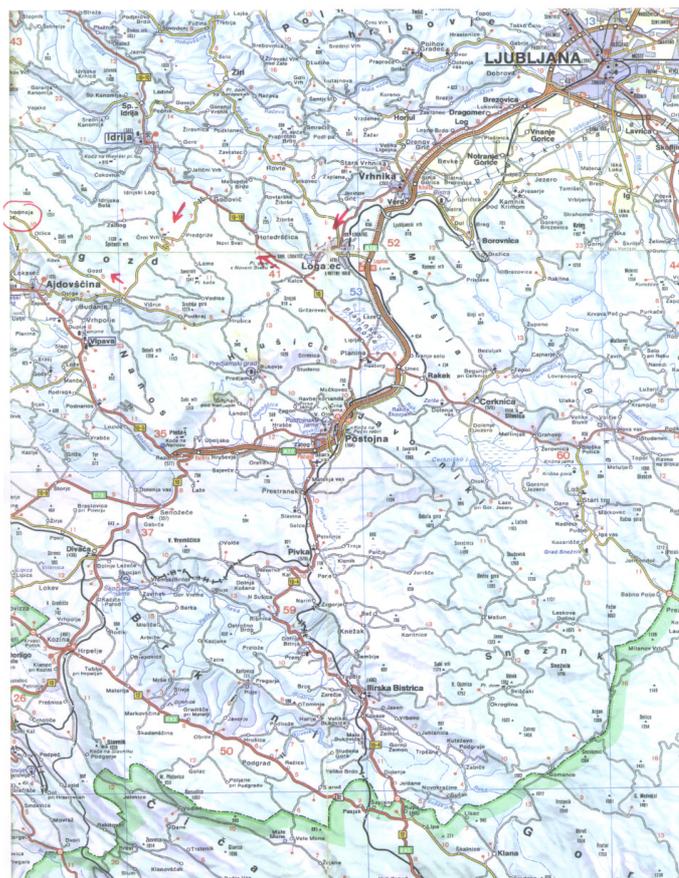


Abb. 1.13, 1.14: Beprobungsfahrt nach Slowenien (Pfeilmarkierungen) über Spielfeld, Ljubljana, Idrija, Lokavec nach Predmeja (Trnovski gozd).



Abb.1.15: Beprobungsstandort Predmeja/Trnovski gozd (Pfeilmarkierung). Süd/Osthang, 900 m MH.
 100 m² Beprobungsfläche von *R. hirsutum*.

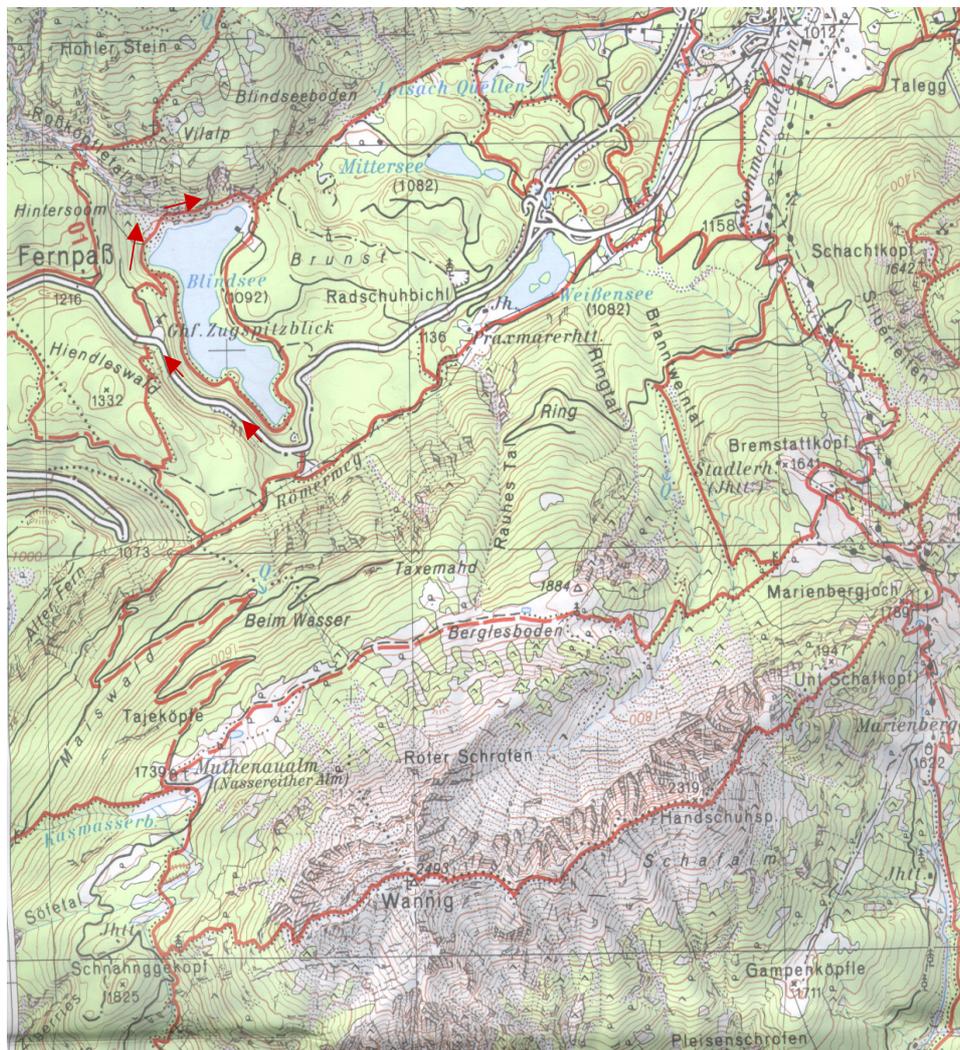


Abb.1.16: Beprobungsfläche Fernpass/Blindsee. Beprobung von *R. ferrugineum* am gesamten Westufer (Pfeilmarkierungen). Österreichische Karte 1:25000 V. Telfs (BMN 2701, 116).

Bei der Auswahl der für die In-vitro-Kultur interessanten Genotypen konnten folgende Beobachtungen gemacht werden: Prinzipiell wurde an jedem Naturstandort auf Unterschiede in der Blütenfarbe geachtet. Auffallend waren hierzu die geringen Farbunterschiede bei *R. hirsutum* der Herkunft Trnovski gozd. Es konnten nur Genotypen mit Rosaabstufungen detektiert werden. Zur Auswahl standen hellrosa, rosa (weiße Kronröhre) und dunkelrosa (hellrosa Kronröhre) *R. hirsutum* – Sträucher. Bei den beprobten Genotypen des Niedrigstandortes handelte es sich um sehr kleinwüchsige, buschige Sträucher mit einer durchschnittlichen Strauchhöhe von 27 ± 13 cm (Anhang). Die gleiche Beobachtung bezüglich der Blütenfarbe konnte auch beim Beprobungsstandort Großes Walsertal in Buchboden, Bad Rotenbrunnen gemacht werden. Es standen ebenfalls nur Genotypen mit Rosaabstufungen und zwar hellrosa-gestreift (weißliche Kronröhre), rosa, rosa (hellrosa

Kronröhre) und dunkelrosa zur Auswahl. Die durchschnittliche Strauchhöhe von 48 ± 12 cm dürfte für Niedriglagen nicht untypisch sein. Bei den Tiroler *R. hirsutum* –Herkünften Kalkkögel-Saile und Karwendel-Seeegrube konnten zusätzlich noch Genotypen mit der Blütenfarbe weinrot und violettrosa beprobt werden. Die Strauchhöhe dieser beiden Hochlagenherkünfte betrug 20 ± 0 cm. Die Blütengröße der oben angeführten *R. hirsutum* –Herkünfte betrug 7 bis 20 mm.

Vergleicht man die *R. ferrugineum* mit den *R. hirsutum* –Naturstandorten, so wurden am Tiroler Standort Patscherkofel interessante Farbabstufungen beobachtet. Neben den schon bei *R. hirsutum* auftretenden Rosaabstufungen hellrosa, rosa, dunkelrosa, dunkelrosa (rosa Kronröhre) gab es ein kräftiges rosa mit einem Lachston und ein rostrot mit gelb gepunkteter Krone (Anhang). Die gesamte Population wies jedoch überwiegend Genotypen mit dunkelrosa Blütenfarbe auf. Die Strauchhöhe der beprobten Genotypen betrug 53 ± 8 cm. Der *R. ferrugineum* -Niedrigstandort Kirchkogel-Pernegg wies neben den angeführten Rosaabstufungen die Farbe rostrot auf, die auch am Standort Patscherkofel auftrat (Anhang). Weitere Unterschiede in der Blüte konnten beim *R. ferrugineum* –Standort Viote-Trient aufgezeigt werden (Anhang). Es traten folgende Kombinationen auf: Hellrosa mit dunklem Mittelstreifen am Kronblatt, dunkelrosa mit stark gelb gepunkteter Kronröhre und violettrosa mit gelb gepunkteter Krone. Die Blütengröße der im Detail angeführten *R. ferrugineum* –Herkünfte betrug 10 bis 25 mm. Die Strauchhöhe der Kirchkogel-Pernegg und Viote-Trient -Genotypen betrug 55 ± 16 und $53\pm 4,4$ cm.

Betrachtet man die beiden *R. x intermedium* –Populationen Fernpass-Blindsee und Axamer Lizum so konnte man nun deutlich viele der bei *R. hirsutum* und *R. ferrugineum* auftretenden Farbnuancen im Hybrid vereint sehen. Weiters konnten zusätzliche Blütenfarben wie weißlich, fast weiß, rosa-weißgestreift und lachsrosa (weißlich-rosa Kronröhre) beobachtet werden (Anhang). Bei den Genotypen mit der rosa-weißgestreiften und fast weißen Blüte dürfte es sich jedoch um *R. hirsutum* dominante oder reine *R. hirsutum* -Genotypen handeln. Die Blütengröße der beiden *R. x intermedium* –Standorte betrug 9 bis 20 mm. Die Strauchhöhe betrug bei der Niedriglage Kirchkogel-Pernegg 41 ± 13 cm und bei der Hochlage Axamer Lizum 38 ± 10 cm.

Die etablierten Genotypen der Tiroler Standorte und des italienischen Standortes Viote-Trient sind unter Punkt 2.3.2, Abbildungen 2.12 bis 2.27 und 2.28 bis 2.32 abgebildet. Hierzu sieht man sehr schön die Farbenvielfalt der Hybriden aus der Axamer Lizum (Abb.2.18 bis 2.23).

Gesamt betrachtet konnte auf eine Vielzahl von Individuen zurückgegriffen werden, die sich in der Blütenfarbe und im Habitus deutlich unterschieden. Für die weitere Selektion bereits erfolgreich in vitro etablierter Genotypen spielt jedoch auch die unterschiedliche Bodenbeschaffenheit und der daraus resultierende pH-Wert eine bedeutende Rolle. Die Bodenanalysen sind unter Punkt 2. 7 angeführt.

2 Etablierung

2.1 Desinfektion des Pflanzenmaterials

A) Desinfektion von Triebspitzen

Von den in Tabelle 1.1 (Pkt.1.2, Anhang) und Tabelle 2.2 angeführten Genotypen aus verschiedenen Herkünften wurden In-vitro-Etablierungen vorgenommen. Dazu wurden zum Zeitpunkt der Blüte, von Individuen mit züchterisch für den Gartenbau lohnenden Eigenschaften, mindestens 20 unverholzte, 3 bis 5 cm lange Neutriebe beprobt.

Die Auswahl der verschiedenen Genotypen erfolgte anhand der Blütenfarbe (hell/dunkel), Blütengröße, Anzahl der Blüten pro Infloreszenz und buschigem Wuchs. Die Pflanzenproben wurden in Kühltaschen transportiert und innerhalb einer Woche nach der Probenahme in vitro etabliert.

Von den Neutrieben wurden Triebspitzen und Nodien geschnitten, unter Leitungswasser gewaschen und 24 bis 26 h in einer 1%igen PPM -Desinfektionslösung (Plant Preservative Mixture, <http://www.ppm4plant-tc.com/>), angereichert mit 50 mg/l $MgSO_4$, geschüttelt (Halbmayer & Kupfer 2000). Die Desinfektionslösung wurde mit autoklaviertem Osmosewasser hergestellt. Die Explantate wurden in 250 ml Erlenmeyerkolben gegeben und auf einem GFL-Schüttelapparat bei 120 U/min geschüttelt.



Abb. 2.1: Triebspitzen und Nodien von *R. hirsutum* (Herkunft 19) in PPM -Desinfektionslösung

B) Desinfektion von Samen

Die Beprobung der Samen wurde von der Universität Innsbruck durchgeführt (Abb. 2.2, 2.3). Es wurde keine Stratifizierung vorgenommen. Pro Genotyp (Tab. 2.2) wurden 450 mg (Ausnahme 210 mg beim Genotyp 24/3 der Herkunft Saile-Kalkkögel) der gereinigten, gesiebten Samen eingewogen und in

sterilen NALGENE -Filter (115 ml) sterilisiert. Dazu wurde die eingewogene Samenmenge in den oberen Behälter des Filters gegeben. Die Desinfektion erfolgte für 60 sec in 70%igem Alkohol und für 10 min in 5%iger Danclor -Lösung (< 5 % aktives Chlor), angereichert mit ein bis zwei Tropfen Manosol (Geschirrspülmittel). Die Sterilisationslösung wurde nach Erreichen der Sterilisationszeit, mit der Wasserstrahlpumpe in den unteren Behälter des Filters gezogen und ausgeleert. Nach der Desinfektion wurden die - im oberen Behälter befindlichen - sterilisierten Samen dreimal mit autoklaviertem Osmosewasser gewaschen und danach mit einer sterilen Pipettenspitze aufgenommen und auf Petrischalen transferiert.



Abb. 2.2, 2.3: 2.2) *R. ferrugineum*: Genotyp 2 der Herkunft 22 mit Samensäckchen 2.3) Rot verfärbte und bereits offene Kapseln vom Genotyp 2 am 30.08.02. Die Aufnahmen stammen vom Projektpartner 1.

2.3 Etablierung von Triebspitzen und Nodien

Nach der Desinfektion wurden die Triebspitzen und Nodien zum Aufsaugen des Desinfektionsmittels auf ein Rundfilterpapier transferiert. Nekrotische Teile wurden mit dem Skalpell entfernt (Abb.2.4, 2.5). Die Kultivierung der Explantate erfolgte bei $23 \pm 1^\circ\text{C}$ und 16 h Licht (SYLVANIA GRO-LUX, F36W/GRO-T8). Die Etablierung von Triebspitzen und Nodien erfolgte in 100 x 16 mm (Durchmesser) Eprouvetten, auf den beiden Nährböden 454 PPM und 458 PPM (Abb. 2.6, 2.7; Tab. 2.1). Die kultivierten Triebspitzen und Nodien wurden in Abständen von 4 Wochen an der Basis angeschnitten und auf frischem Nährboden subkultiviert. Kontaminierte und abgestorbene Explantate wurden ausgewertet.

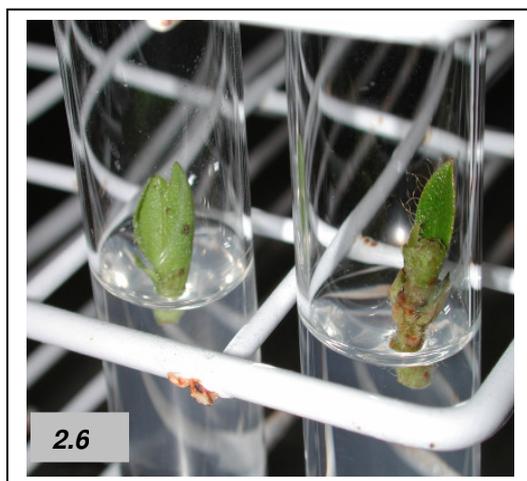
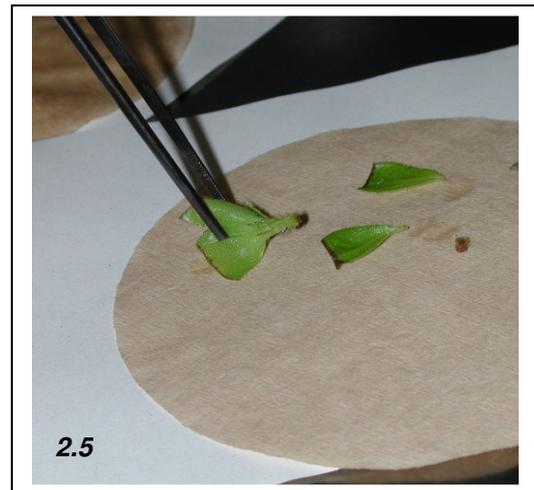
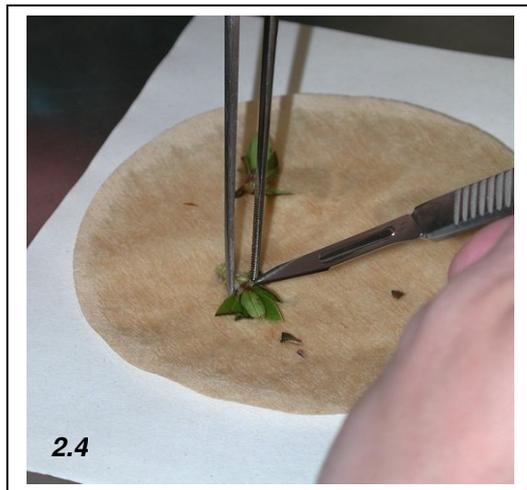


Abb. 2.4 bis 2.7: 2.4, 2.5) Entfernen von nekrotischen Stellen an Kurztrieben von *R. hirsutum* 2.6,2.7) Kultivierung der Triebspitzen auf 454 PPM in Epruvetten.

2.3.1 Nährböden

Tabelle 2.1: Nährbodenzusammensetzung für die Etablierung, Vermehrung und Bewurzelung von *R. ferrugineum*, *R. hirsutum* und *R. x intermedium*. Nährbodennummerierung der HBLVA für Gartenbau.

Medium	Nr	450	454 OH	454	458	454 IBA	458 IBA
	Menge f. 1L						
MAKRONÄHRSTOFFE	FI	1 A	1 WP				
MIKRONÄHRSTOFFE	FI	1 A	1 WP				
FeSO ₄ . Titriplex III-Lösung	ml	2	1	1	1	1	1
CALCIUM	FI	1 A	1 WP				
VITAMINE	FI	1 A	1 WP				
PPM	ml	2	2	2	2	2	2
Saccharose	g	30	30	30	30	30	30
IAA	ml=mg			1	1		
IBA	ml=mg					0,2	0,2
GA₃	ml=mg				1		
Zeatin	ml=mg				0,5		
2ip= Isopentenyladenin	ml=mg			5			
Adeninsulfat	mg		80	80		80	
Caseinhydrolysat	mg				50		50
Aktivkohle	g	3					
Geliermittel - Typ		Gelrite	Gelrite	Gelrite	Gelrite	Gelrite	Gelrite
					Agar +		Agar +
					1614		1614
Geliermittel - Menge	g	3	3	3	1+4	3	1+4
pH - Wert		5	5	5	5	5	5

450=Samenetablierung

454OH=Samenetablierung

454=Etablierung und Vermehrung von Triebspitzen und Nodien

458=Etablierung und Vermehrung von Triebspitzen und Nodien

454 IBA=Bewurzelung

458 IBA=Bewurzelung

450=Original (*Rhododendron*-) Nährboden nach Anderson (1978, 1980): Thiamin modifiziert mit 0,2mg/l statt 0,1 mg/l

454, 458=Original Woody Plant Nährboden nach Lloyd & Mc Cown (1981): Ohne K₂SO₄; CuSO₄x5H₂O modifiziert mit 0,025 mg/l statt 0,25 mg/l; Thiamin modifiziert mit 0,2 mg/l statt 0,1 mg/l

Zusätzliche Zitate: Anderson (1975), 1984); Lloyd & Mc Cown (1980b); Mc Cown & Lloyd (1983)

2.3.2 Ergebnisse zur Etablierung über Triebspitzen und Nodien

Da für die beiden Verwendungszwecke Begrünung und Gartenbau, vorwiegend die vegetative Vermehrung über Triebspitzen und Nodien vom Interesse ist, wurden ausgehend von erfolgreichen Ergebnissen, in der Desinfektion von vegetativem Pflanzenmaterial (Halbmayr & Kupfer 2000), gezielte Etablierungen anhand des Phänotyps (Pkt. 1.2.) vorgenommen. Durch die gezielte Auswahl anhand des Phänotyps, kann der Stichprobenumfang der zu etablierenden Herkünfte deutlich reduziert werden. Im Vergleich dazu ist der Stichprobenumfang bei der In-vitro-Etablierung über eine sterile Samenkeimung bedeutend höher (Pkt. 2.4.).

Betrachtet man den Zeitaufwand der für In-vitro-Etablierungen und intensiver Folgearbeiten wie Aussortieren von Infektionen und Retten von Kulturen mit endogenen Bakterieninfektionen benötigt wurde, so ist aufgrund der gewonnenen Erfahrungen, die Etablierung über sterile Samen die erfolgreichere und einfachere Methode. Es konnte keine eindeutige Erklärung gefunden werden, warum bei den Herkünften Trnovski gozd, Axamer Lizum und Fernpass-Blindsee eine Etablierung über Triebspitzen und Nodien möglich war. Eine eindeutige Aussage konnte für *R. ferrugineum* getroffen werden, da sowohl die Niedriglage Kirchkogel-Pernegg als auch die Hochlage Patscherkofel nicht etabliert werden konnte.

Bei den erfolgreichen Etablierungen konnten bei *Rhododendron hirsutum* und *R. x intermedium* an den etablierten Triebspitzen und Nodien, die Terminalknospen oder Axillarknospen zum Durchtreiben gebracht werden (Abb. 2.8-2.11). Hierzu konnten bei den Herkünften 21, 25 und 29 In-vitro-Etablierungen erzielt werden. Bei der Herkunft 21 (*R. hirsutum*), konnten 3 Genotypen von 6 (50 %) mit 13 Subklonen, bei der Herkunft 29 (*R. x intermedium*), 3 von 7 (43 %) mit 6 Subklonen und bei der Herkunft 25 (*R. x intermedium*), 1 Genotyp von 6 (17 %) erfolgreich etabliert werden (Tab.2.2). Der letztgenannte Genotyp der Herkunft 25 ist leider im Versuchsjahr 2004 ausgefallen, konnte jedoch über Samen erfolgreich etabliert werden. Inwieweit sich die Sämlingsklone vom beprobten Genotyp unterscheiden, kann erst anhand im Glashaus akklimatisierter Pflänzchen beurteilt werden.

Bei der slowenischen Herkunft 21, weist der Genotyp 21/3, eine hellrosa, der Genotyp 21/11, eine rosa (weiße Kronröhre) und der reichblühende Genotyp 21/12, eine rosa Blütenfarbe auf (Anhang). Bei der Innsbrucker Herkunft 25 aus der Axamer Lizum der nur als Samenetablierung vorhanden ist, weist der ursprüngliche Genotyp 25/18 eine fast weiße Blüte auf (Abb. 2.23, Anhang). Von der Herkunft Fernpass-Blindsee konnten Genotypen mit rostroter (29/4) und dunkelrosa Blütenfarbe (29/17) etabliert werden. Der Genotyp 29/18 besitzt eine lachsrosa Krone mit weißlich rosa Kronröhre (Anhang).

Bei *R. hirsutum* der Herkunft 19, kam es trotz Anschwellen der Terminalknospen zu keinem Durchtrieb, bei den *R. hirsutum*-Herkünften 23 und 29 konnte kein Anschwellen von Terminal- und Axillarknospen beobachtet werden (Tab. 2.2).

Im Vergleich zu *R. hirsutum* und *R. x intermedium* konnte bei *R. ferrugineum* weder vom postglazialen Reliktbestand am Kirchkogel der Herkunft 20, noch vom Naturstandort Patscherkofel der Herkunft 22, ein Austreiben der Knospen erzielt werden (Tab. 2.2). Auf den beiden Nährböden 454 PPM und 458 PPM kam es zu keinem Anschwellen von Terminal- und Axillarknospen. Die kultivierten Explantate zeigten eine starke Phenolbildung und starben sukzessive nach 4-wöchigen Subkulturintervallen ab.

Aufgrund der Erfahrungen die bei der Etablierung über Sprossspitzen und Nodien gemacht wurden, musste auf die Methodik der Samenetablierung zurückgegriffen werden. Hierzu wurden Samen, der von der Universität Innsbruck markierten Genotypen beprobt und im Versuchsjahr 2002 und 2003 für Etablierungsversuche verwendet. Die In-vitro-Etablierung über Samen wurde bei den Herkünften Patscherkofel, Karwendel-Seegrube, Kalkkögel-Saile, Axamer Lizum und Viote-Trient durchgeführt (Tab.2.2, Punkt 2.4).

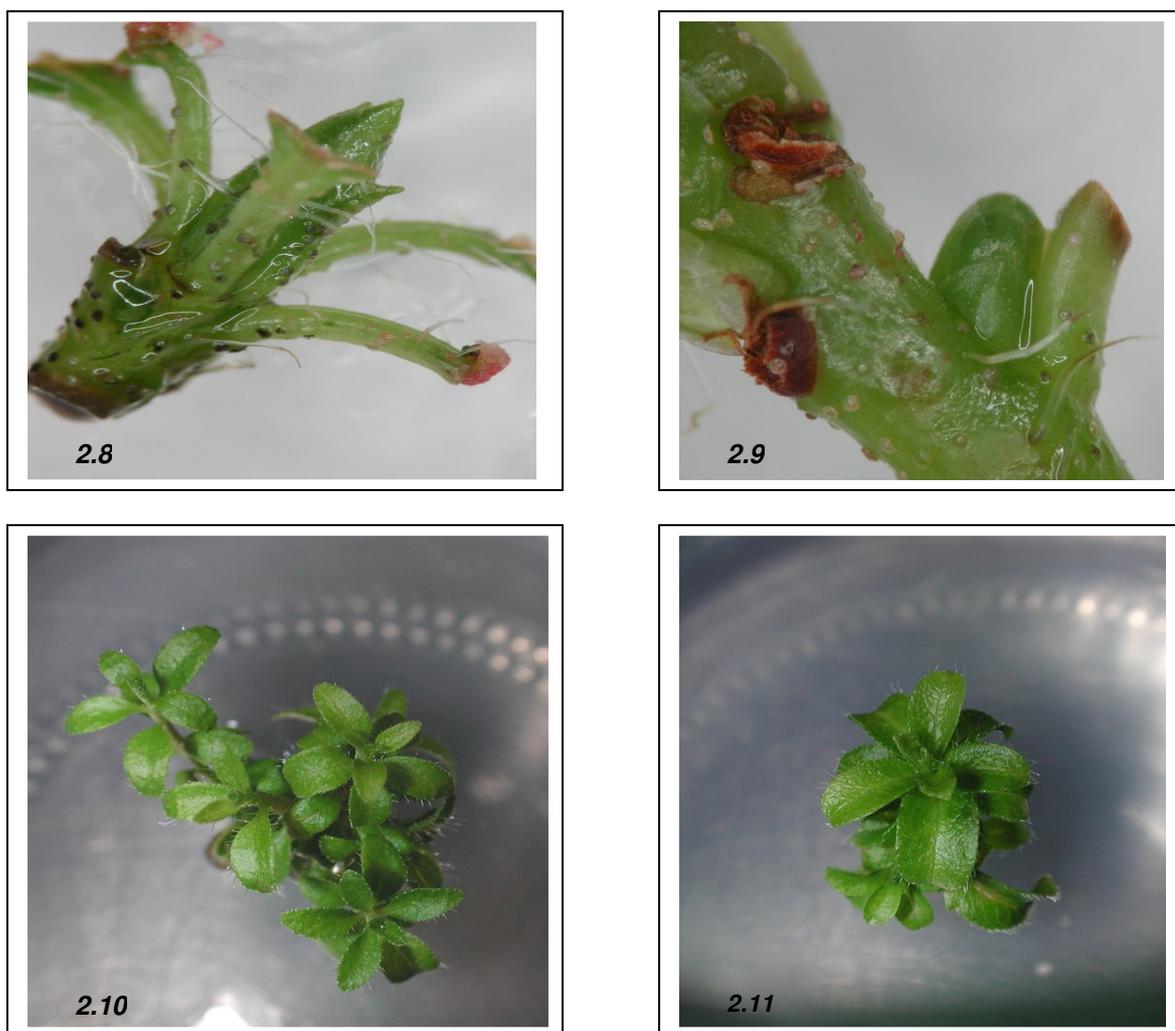


Abb. 2.8 bis 2.11: 2.8) Anschwellen der Terminalknospe an einem Kurztrieb von *R. hirsutum* 2.9) Streckung der Axillarknospen bei *R. hirsutum* 2.10) Induktion von Mikrospossen bei *R. x intermedium* des Genotyps 18, der Herkunft 29 und 2.11) bei *R. hirsutum*, Genotyp 12, der Herkunft 21, auf dem 454 PPM Nährboden.

Tab. 2.2: In-vitro-Etablierung von *R. ferrugineum*, *R. hirsutum* und *R. x intermedium* über Triebspitzen und Nodien sowie über Samen .

Herkunft	Art	Kennung/ Genotyp	Anzahl kultivierter Explantate	Anzahl etablierter Subklone
<u>Gutenstein-Klostertal, A</u>				
Wildföhrenstein, 800 m MH	Rh	19/1	14	0
		19/2	18	0
		19/3	34	0
		19/4	24	0
Mamauwiese/Sandgrube, 950 m MH	Rh	19/22	15	0
<u>Kirchkogel (Predigtstuhl 810 m MH) bei Pernegg, A</u>	Rf	20/1	22	0
		20/6	18	0
		20/10	27	0
		20/16	21	0

		20/20	24	0
<u>Trnovski gozd, Predmeja, 900 m MH, SLO</u>	Rh	21/3	27	3
		21/11	41	4
		21/12	32	6
		21/15	31	0
		21/16	21	0
		21/17	21	0
<u>Patscherkofel, 2000 – 2050 m MH, A</u>	Rf	22/1*	36/ 18 auf 458	0
Erfolgreiche Samenetablierung*		22/2*	41/ 20 auf 458	0
		22/7*	54/ 36 auf 458	0
		22/11*	40/22 auf 458	0
		22/16*	33/ 18 auf 458	0
		22/17*	21/ 12 auf 458	0
		22/21*	35/ 20 auf 458	0
<u>Karwendel, Seegrube, 1800 m MH, A</u>	Rh	23/23*	29	0
Erfolgreiche Samenetablierung*				
<u>Kakkögel, Saile, 2000 m MH, A</u>	Rh	24/3*		
Erfolgreiche Samenetablierung*		24/6*		
		24/20*		
<u>Axamer Lizum, 1600 – 1700 m MH, A</u>	Rx	25/1*	26	0
Erfolgreiche Samenetablierung*		25/2*	36	0
		25/5*	30	0
		25/9*	33	0
		25/16*	31	0
		25/18*	31	1 (Ausfall März 2004)
<u>Viote-Bondone/Trient (I)</u>		26/1*		
Erfolgreiche Samenetablierung*		26/4*		
		26/7*		
		26/8*		
		26/20*		
<u>Großes Walsertal, Buchboden, A</u>	Rh	28/2	35	0
Bad Rotenbrunnen, 1010 m MH		28/5	37	0
		28/7	28	0
		28/9	40	0
		28/19	36	0
		28/20	33	0
<u>Fernpass, Zugspitzblick, Blindsee, 1000 m MH, A</u>	Rx	29/3	28	0
		29/4	28	3
		29/6	26	0
		29/13	28	0
		29/14	26	0
		29/17	30	1
		29/18	30	2

* Von den markierten Herkunftsn gibt es etablierte Sämlinge in Sterilkultur, von denen 2003 bis 2005 Selektionen vorgenommen werden.



Abb. 2.12 bis 2.17: Detailblütenaufnahmen der über Samen etablierten Genotypen von *R. ferrugineum*, Herkunft Patscherkofel (22). Die Fotodokumentation erfolgte vom Projektpartner 1.



Abb. 2.18 bis 2.23: Detailblütenaufnahmen der über Samen (25/1, 25/2, 25/5, 25/9, 25/16, 25/18) und Triebspitzen (25/18), etablierten Genotypen von *R. x intermedium*, Herkunft Axamer Lizum (25). Die Fotodokumentation erfolgte vom Projektpartner 1.



Abb. 2.24: Detailblütenaufnahme des über Samen etablierten Genotyps 23 von *R. hirsutum*, Herkunft Karwendel (23). Die Fotodokumentation erfolgte vom Projektpartner 1.



Abb. 2.25 bis 2.27.: Detailblütenaufnahmen der über Samen etablierten Genotypen 24/3, 24/6 und 24/20 von *R. hirsutum*, Herkunft Kalkkögel-Saile (24). Die Fotodokumentation erfolgte vom Projektpartner 1.



Abb. 2.28 bis 2.32: Detailblütenaufnahmen der über Samen etablierten Genotypen 26/1, 26/4, 26/7, 26/8 und 26/20 von *R. ferrugineum*, Herkunft Viote/Trient (26). Die Fotodokumentation erfolgte vom Projektpartner 1.

2.3.2.1 Ergebnisse zum Kulturverlust von Triebspitzen und Nodien

Vergleicht man die 4 *R. hirsutum* -Standorte, so zeigte der Tiroler Standort 23, die geringste Kontaminationsrate mit 10% (Abb. 2.35). Die Kontaminationen wurden durch Pilze verursacht, es kam zu keiner Infektion durch endogene Bakterien. Von den Standorten 19, 21 und 28 aus Niedriglagen wurden Kontaminationsraten von 29, 68 und 39 % beobachtet (Abb. 2.33, 2.34, 2.36). Der endogene Bakterienbefall war bei der Herkunft 21 und 28, mit 40 und 30 % sehr hoch.

Die geringere Kontaminationsrate bei Herkünften aus Hochlagen im Vergleich zu Niedriglagen ist bei *R. x intermedium* deutlich sichtbar (Abb. 2.37, 2.38). Hierzu konnte beim Tiroler Standort 25 eine Kontaminationsrate von 24 % (19 % Pilz-, 5 % Bakterieninfektion), im Vergleich zu 73 % (10 % Pilz-, 63 % Bakterieninfektion) des Niedrigstandortes 29, beobachtet werden. Der endogene Bakterienbefall der Herkunft 25 war mit 5 % sehr gering. Im Vergleich dazu wurden 63 % der Kontaminationen des Niedrigstandortes 29, durch endogene Bakterien verursacht. Hierbei wirkten sich sichtlich die höheren Temperaturen der Niedriglagen auf den Befall mit endogenen Bakterien aus.

Bei den endogenen Bakterien der Herkunft 28 und 29 handelte es sich um Cyanobakterien, die äußerst schwierig in Sterilkultur zu eliminieren sind.

Bei *R. ferrugineum* wurde der Kulturverlust der kultivierten Explantate zu 97 bis 100 % durch Absterben verursacht (Abb. 2.39, 2.40). Die Tiroler Herkunft 22 hatte keine Kontaminationen im Vergleich zum Niedrigstandort 20, mit 3 % Pilzinfektion. Die Ursache für die geringe Kontaminationsrate bei *R. ferrugineum* könnte im höheren Polyphenolgehalt liegen. Es konnte kein Unterschied zwischen Niedriglage und Hochlage beobachtet werden.

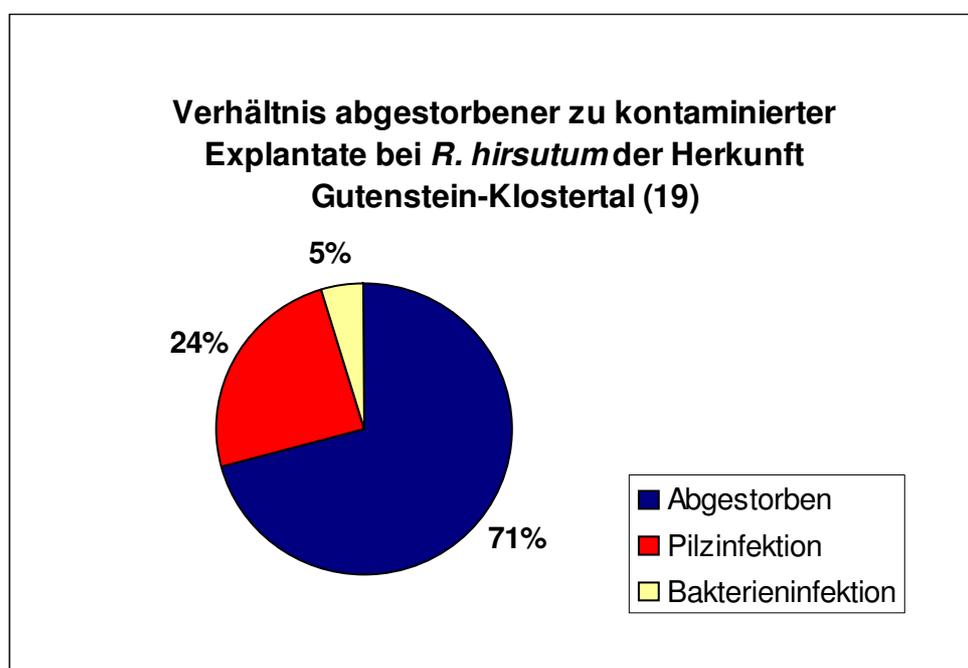


Abb. 2.33: *R. hirsutum* der Herkunft 19, Gutenstein-Klostertal. Verhältnis abgestorbener zu kontaminierter Explantate. Kontaminierte Explantate = Pilzinfektion, Bakterieninfektion.

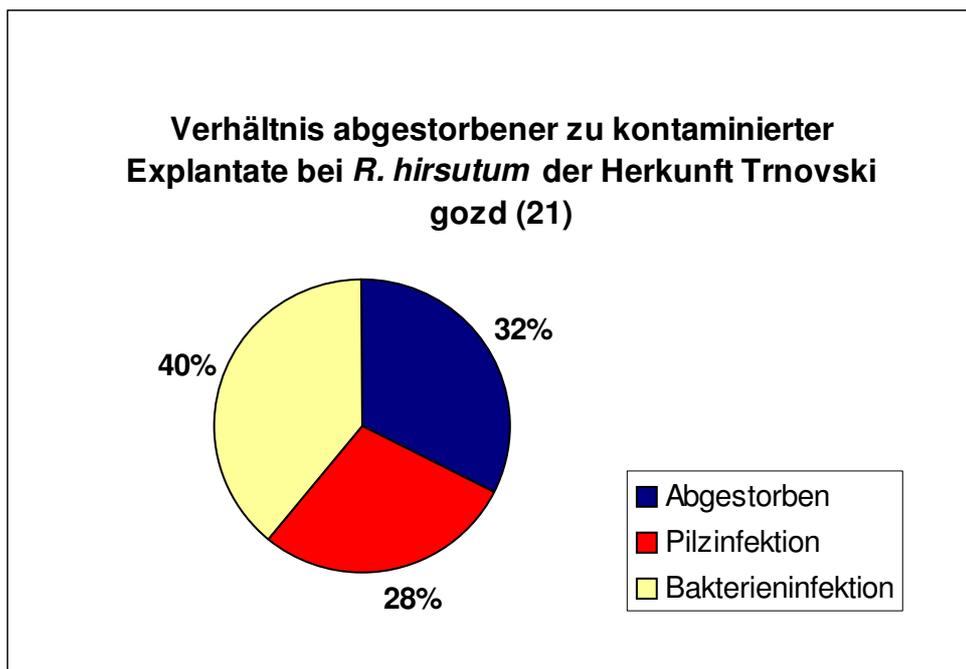


Abb. 2.34: *R. hirsutum* der Herkunft 21, Trnovski gozd. Verhältnis abgestorbener zu kontaminierter Explantate. Kontaminierte Explantate = Pilzinfektion, Bakterieninfektion.

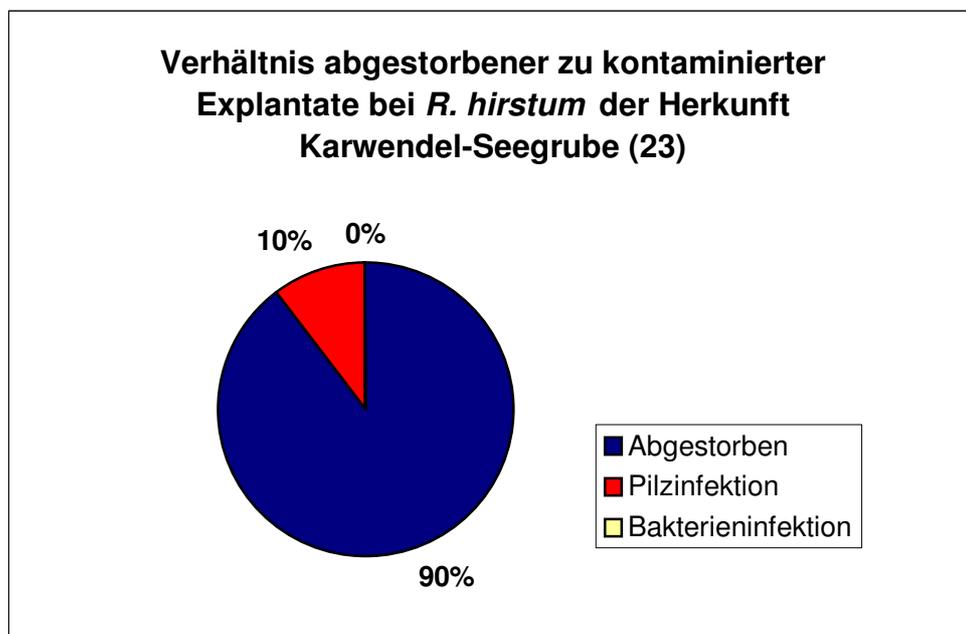


Abb. 2.35: *R. hirsutum* der Herkunft 23, Karwendel-Seegrube. Verhältnis abgestorbener zu kontaminierter Explantate. Kontaminierte Explantate = Pilzinfektion, Bakterieninfektion.

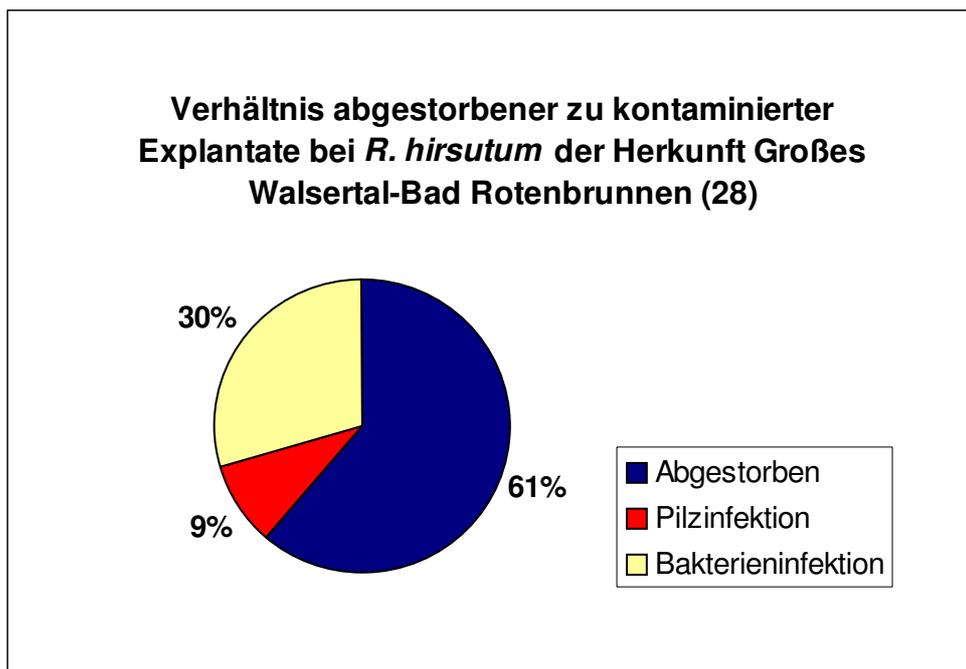


Abb. 2.36: *R. hirsutum* der Herkunft 28, Großes Walsertal-Bad Rotenbrunnen. Verhältnis abgestorbener zu kontaminierter Explantate. Kontaminierte Explantate = Pilzinfektion, Bakterieninfektion.

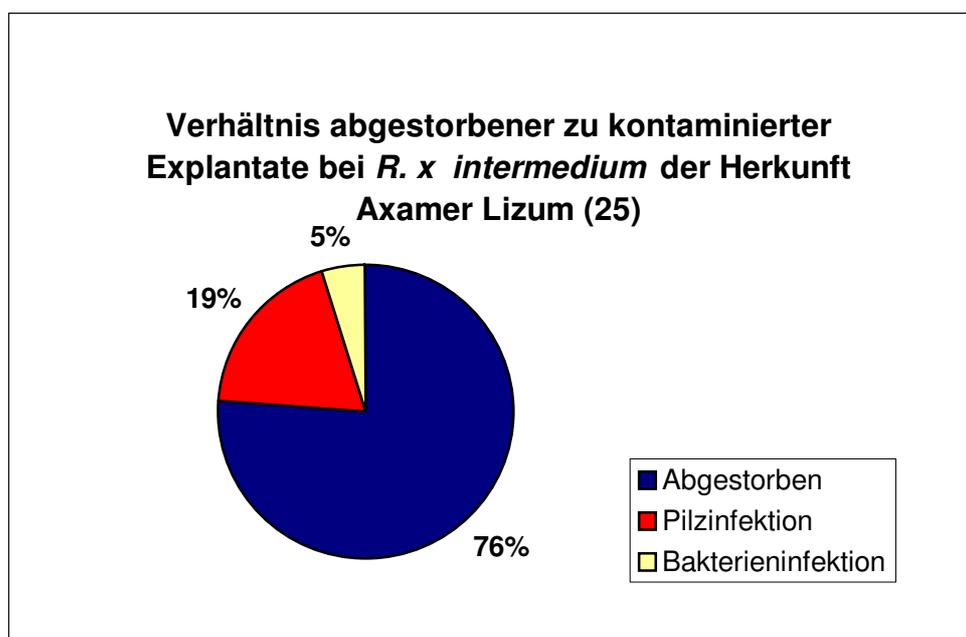


Abb. 2.37: *R. x intermedium* der Herkunft 25, Axamer Lizum. Verhältnis abgestorbener zu kontaminierter Explantate. Kontaminierte Explantate = Pilzinfektion, Bakterieninfektion.

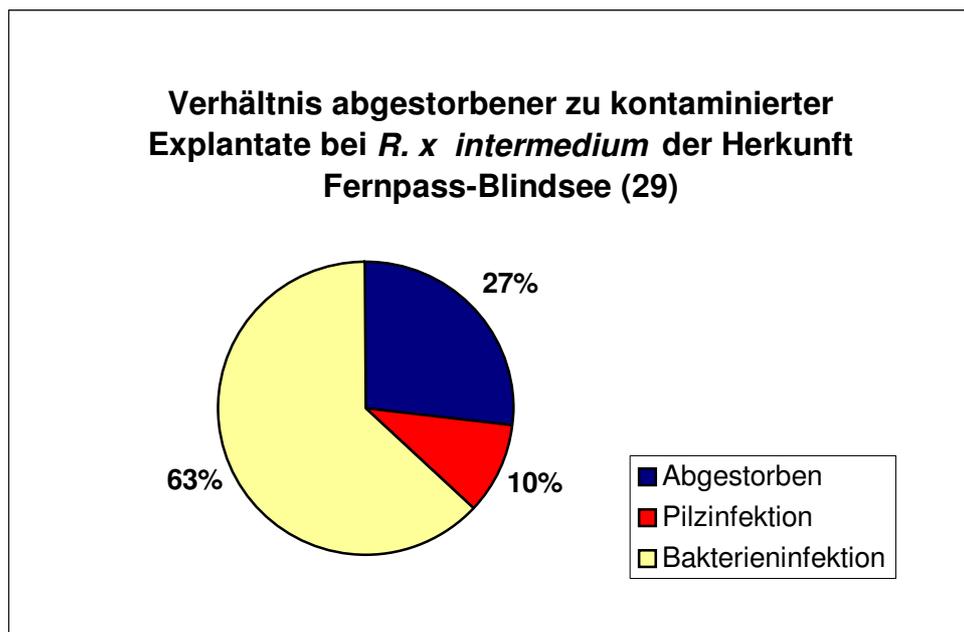


Abb. 2.38: *R. x intermedium* der Herkunft 29, Fernpass-Blindsee. Verhältnis abgestorbener zu kontaminierter Explantate. Kontaminierte Explantate = Pilzinfektion, Bakterieninfektion.

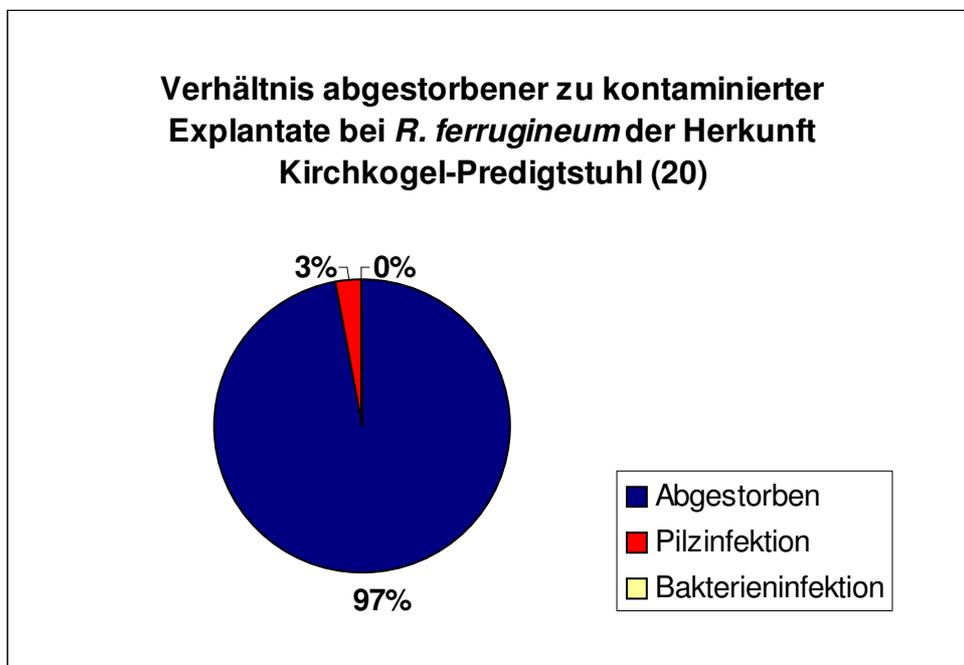


Abb. 2.39: *R. ferrugineum* der Herkunft 20, Kirchkogel-Predigtstuhl. Verhältnis abgestorbener zu kontaminierter Explantate. Kontaminierte Explantate = Pilzinfektion, Bakterieninfektion.

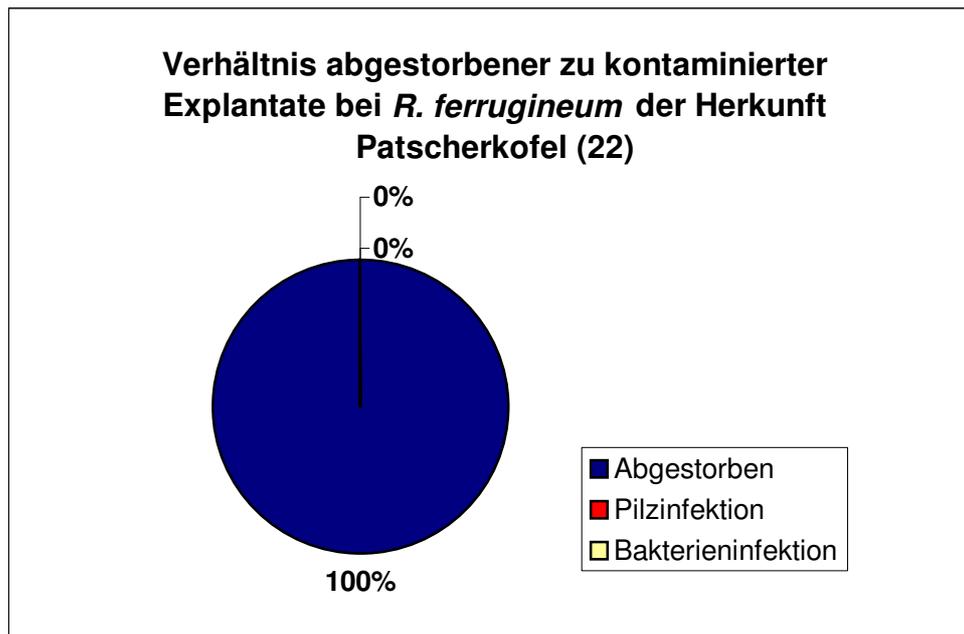


Abb. 2.40: *R. ferrugineum* der Herkunft 22, Patscherkofel. Verhältnis abgestorbener zu kontaminierter Explantate. Kontaminierte Explantate = Pilzinfektion, Bakterieninfektion.

2. 4 Etablierung von Samen

Die desinfizierten Samen wurden mit einer sterilen Pipettenspitze aufgenommen und auf den Nährböden 450 PPM und 454OH PPM (Tab. 2.1, Abb. 2.41 bis 2.44), in Petrischalen mit 9 cm Durchmesser transferiert. Die Keimung der *Rhododendron* -Samen erfolgte bei $23 \pm 1^\circ\text{C}$ und 16 h Licht (OSRAM L 36W/20, Cool White). Die Auswertung der Keimungsrate erfolgte für *R. ferrugineum* und *R. x intermedium* nach 4 Wochen, für *R. hirsutum* nach 4, 5 und 6 Wochen.

2.4.1 Ergebnisse zur Etablierung von Samen

Die unter Punkt 2.1. angeführte Desinfektionsmethode in sterilen NALGENE -Filter erwies sich als einfach zu handhabende Methode. Da die Rhododendron -Samen sehr klein sind war das Ausbringen der sterilisierten Samen auf Petrischalen mittels steriler Pipettenspitze von Vorteil. Das Auftropfen der Samen konnte rasch und gleichmäßig erfolgen. Der Nachteil einer Samenetablierung in Petrischalen besteht darin, dass ein einziger unsteriler Samen ausreicht um aus der ganzen Platte einen Pilz- oder Bakterienherd zu machen.

Nach Austestung der in der Tabelle 2.1 angeführten Keimungsnährböden 450 (Anderson 1978, 1980) und 454OH (Lloyd & Mc Cown 1981) erwies sich der Nährboden 450 als besser geeignet.

Bei *R. ferrugineum* konnte bei der Herkunft 22, Genotyp 1 auf 450 PPM (Tab. 2.1) eine deutlich höhere Keimungsrate von 69 %, im Vergleich zu 46 % auf 454OH PPM, erzielt werden (Abb. 2.45). Die *Rhododendron* -Samen keimten und streckten sich rascher auf 450 PPM im Vergleich zu 454OH PPM. Vergleicht man die Keimungsraten der verschiedenen Genotypen der Herkunft 22, auf 450 PPM, so betragen die Werte zwischen 57 % und 83 %, mit Ausnahme von 19 % des Genotyps 16 (Abb. 2.46).

Bei *R. hirsutum* der Herkunft 23, Genotyp 23 konnten auf 454OH PPM, im Vergleich zu 450 PPM höhere Keimungsraten erzielt werden (Abb. 2.47). Die Qualität der Sämlinge war jedoch auf 450 PPM zufriedenstellender. Diese Beobachtung konnte schon bei *R. ferrugineum* gemacht werden. Die Keimung dauerte bei *R. hirsutum* um ca. 1 Woche länger als bei *R. ferrugineum*. Zusätzlich waren die Keimungsraten verglichen mit *R. ferrugineum* deutlich geringer. Auf dem 450 PPM Nährboden betrug die Keimungsrate nach 4, 5 und 6 Wochen, 12,8 %, 16,1 % und 17,6 %. Auf dem 454OH PPM Nährboden konnten Keimungsraten von 16,2 %, 19,4 % und 20,2 %, erzielt werden. Zwischen der 5. und 6. Woche, kam es nur noch zu einer geringen Erhöhung der Keimungsrate.

Im zweiten Versuchsjahr wurde in einem weiteren Etablierungsschritt die *R. ferrugineum* -Herkunft 26 und die *R. hirsutum* -Herkunft 24 etabliert (Abb. 2.50, 2.48). Vergleicht man die beiden *R. ferrugineum* -Herkünfte Patscherkofel (22) und Viote (26) miteinander so konnten in beiden Fällen ähnlich hohe Keimungsfrequenzen erzielt werden (Abb. 2.46, 2.50). Bei Viote (26) beliefen sich die Keimungsfrequenzen der einzelnen Genotypen zwischen 42 und 94 %. Bei den Keimlingen handelte es sich um schön entwickelte kräftige Pflänzchen, die jedoch je nach etabliertem Genotyp ein unterschiedliches Wachstum zeigten.

Vergleicht man die beiden *R. hirsutum* -Herkünfte miteinander so konnten bei der Herkunft Kalkkögel-Saile noch geringere Keimfrequenzen als bei der im ersten Versuchsjahr etablierten Herkunft Karwendel-Seeegrube erzielt werden (Abb. 2.48, 2.47). Die Keimfrequenzen betragen bei der Herkunft Kalkkögel-Saile zwischen 3 und 12 % (Abb. 2.48). Zu diesen Keimfrequenzen muss jedoch ergänzt werden, dass nur vollständig entwickelte Keimlinge mit intakten Wurzeln und grünen Kotyledonen bewertet wurden. Bei der Herkunft 24 wurde jedoch ein hoher Anteil von Keimlingen beobachtet, die auskeimten, jedoch keine Grünfärbung der Kotyledonen aufwiesen. Die Sämlinge sind in diesem Stadium verblieben und haben sich nicht weiter entwickelt. Diese Beobachtung einer unvollständigen Keimung konnte im ersten Versuchsjahr bei der Herkunft Karwendel-Seeegrube (23) nicht beobachtet werden.

Bei *R. hirsutum* wurde analog *R. ferrugineum* vor der Keimung keine Stratifizierung der Samen vorgenommen. Bei *R. ferrugineum* konnte in verschiedenen wissenschaftlichen Arbeiten, durch Stratifizierung der Samen, keine Erhöhung der Keimungsrate erzielt werden (Bianco & Bulard 1974). Da bei *R. hirsutum* keine Erfahrungswerte vorliegen, könnte eventuell durch eine Stratifizierung, die Keimungsrate erhöht werden. Da im Rahmen dieser Projektarbeit nicht die Keimungsrate, sondern eine sterile In-vitro-Etablierung im Vordergrund stand, wurde diese Fragestellung nicht weiter untersucht.

Die hohen Unterschiede in der Keimfrequenz zwischen den beiden Wildarten *R. ferrugineum* und *R. hirsutum* konnten deutlich bei *R. x intermedium* beobachtet werden.

Es konnten somit beim *R. x intermedium* der Herkunft 25 extreme Unterschiede in den Keimfrequenzen der verschiedenen Genotypen beobachtet werden (Abb. 2.49). Die Keimungsraten betrugen zwischen 5 % und 59 %. Da die Hybriden das Erbmaterial beider Elternteile aufweisen, könnte der große Unterschied in den Keimungsraten damit erklärt werden, dass es sich bei den Extremwerten um *R. ferrugineum*- oder *R. hirsutum* -dominante Typen handelt. Bei den beiden Genotypen 25/16 und 25/18 mit Keimfrequenzen von 13 % und 5 % kann man aufgrund des Phänotyps von *R. hirsutum* dominaten oder sogar von reinen *R. hirsutum* –Genotypen sprechen. Der Genotyp 25/1 mit der höchsten Keimfrequenz von 59 % wurde ebenso aufgrund phänologischer Merkmale als *R. ferrugineum* – dominanter Genotyp eingestuft (Anhang). Diese übereinstimmenden Ergebnisse müssten jedoch durch molekulare Analysen abgeklärt werden.

Die Selektion der Samenherkünfte erfolgte 2003 und wird 2004 fortgesetzt. Hierzu wurden direkt aus den Petrischalen Sämlinge selektiert und auf 454 PPM (*R. hirsutum*, *R. x intermedium*) oder 458 PPM (*R. ferrugineum*, *R. x intermedium*), zur Induktion von Seitensprossen, kultiviert (Pkt.2.5).

Bei den Keimungsplatten wurden nicht nur die Keimfrequenzen ermittelt sondern auch die Infektionsraten erfasst.

Bei der Samenetablierung der Innsbrucker Herkünfte, konnten bei *R. ferrugineum*, *R. hirsutum* (Herkunft 23) und *R. x intermedium*, Kontaminationsraten von durchschnittlich 6,4 %, 25 % und 25 bis 90 % beobachtet werden. Auffallend hoch war der Anteil an Infektionen (Pilz-, Bakterieninfektion) bei *R. x intermedium*. In einem zweiten Samen-Etablierungsversuch, von drei stark infizierten Genotypen, konnte mit erhöhter Konzentration der Danclorlösung (von 5 auf 10 %), die Infektionsrate (10 bis 30 %) deutlich reduziert werden.

Bei den Samenetablierungen im zweiten Versuchsjahr traten bei *R. hirsutum* der Herkunft 24 auf den Keimplatten der Genotypen 24/3 und 24/20 keine Infektionen auf, während der Genotyp 24/6 eine hohe Infektionsrate von 63 % aufwies. Beim *R. ferrugineum* -Naturstandort 26 kam es zu auffällig hohen Verlusten. Innerhalb von einer Woche wurde hohe Pilz- oder Bakterien- und auch Mischinfektionen detektiert. Trotz Erhöhung der Danclor -Konzentration von 10 auf 20 und 40 % zeigten beim *R. ferrugineum* –Genotyp 26/1, 50 bis 100 %, bei den Genotypen 26/4, 26/7 und 26/20, 75 bis 100 % der Keimplatten Infektionen. Der Genotyp 26/8 wies die geringste Kontaminationsrate von 25 bis 50 % auf. Im Vergleich dazu konnten im ersten Versuchsjahr auf den Keimplatten des *R. ferrugineum* -Naturstandortes Patscherkofel (22) bei den verschiedenen Genotypen nur 6,4 % Infektionen detektiert werden.

Der italienische Naturstandort 26, mit 1500 m MH ist der niedrigste Standort bei dem eine Etablierung über Samen vorgenommen wurde. In niedrigeren und klimatisch begünstigten Regionen ist der Infektionsdruck durch mildere Temperaturen höher. Dies könnte eine Erklärung für die stark infizierten Rhododendron -Samen der Herkunft 26 sein.

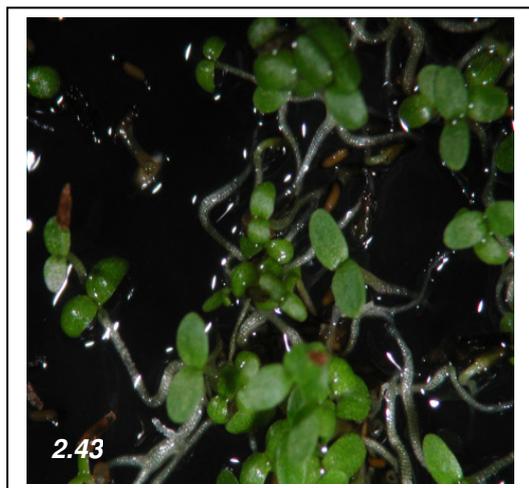
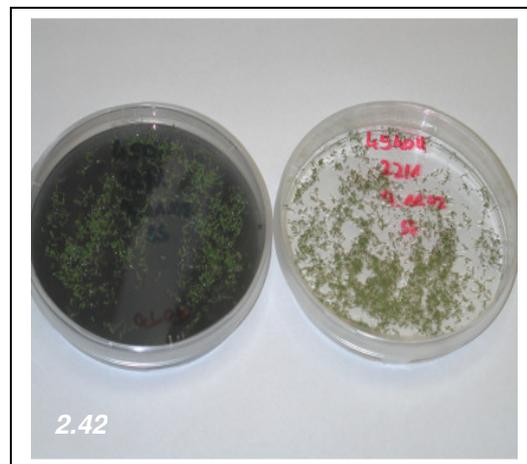


Abb. 2.41 bis 2.44: 2.41, 2.42) Gekeimte Samen vom Genotyp 1, der Herkunft 22 (Patscherkofel), in 9 cm Petrischalen, auf 450 PPM und 454OH PPM. 2.43) Sämlinge des Genotyps 1, auf dem Aktivkohlennährboden 450 PPM, 20 Tage nach Kultivierung. 2.44) Sämlinge des Genotyps 1, auf 454OH PPM, 20 Tage nach Kultivierung.

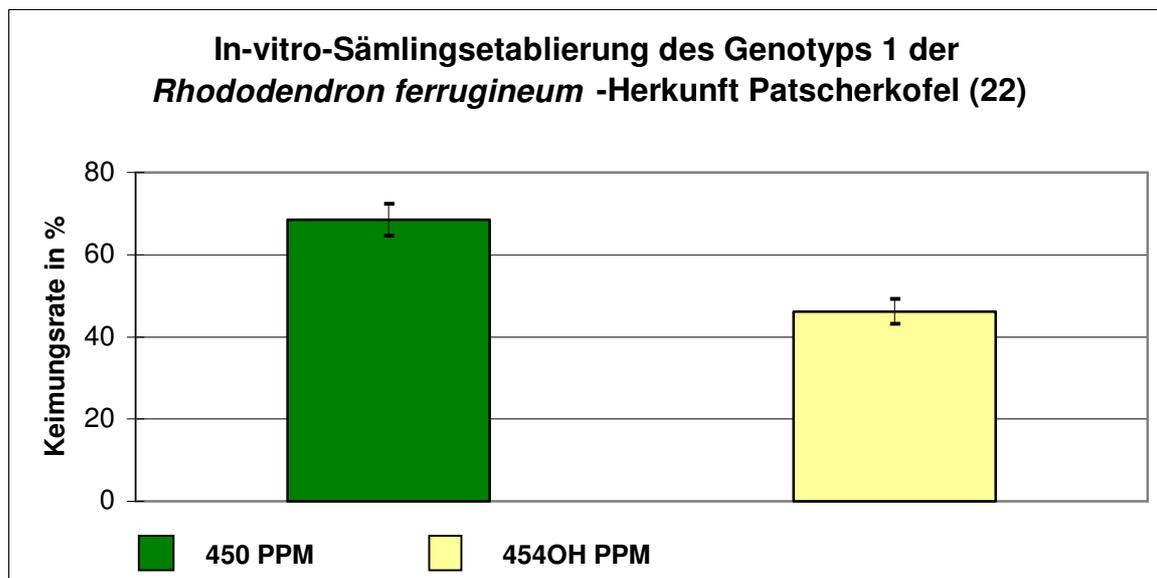


Abb. 2.45: *R. ferrugineum*. Keimungsrate in % \pm Standardabweichung, beim Genotyp 1, der Herkunft 22 (Patscherkofel). Nährbodenvergleich 450 PPM und 454OH PPM.

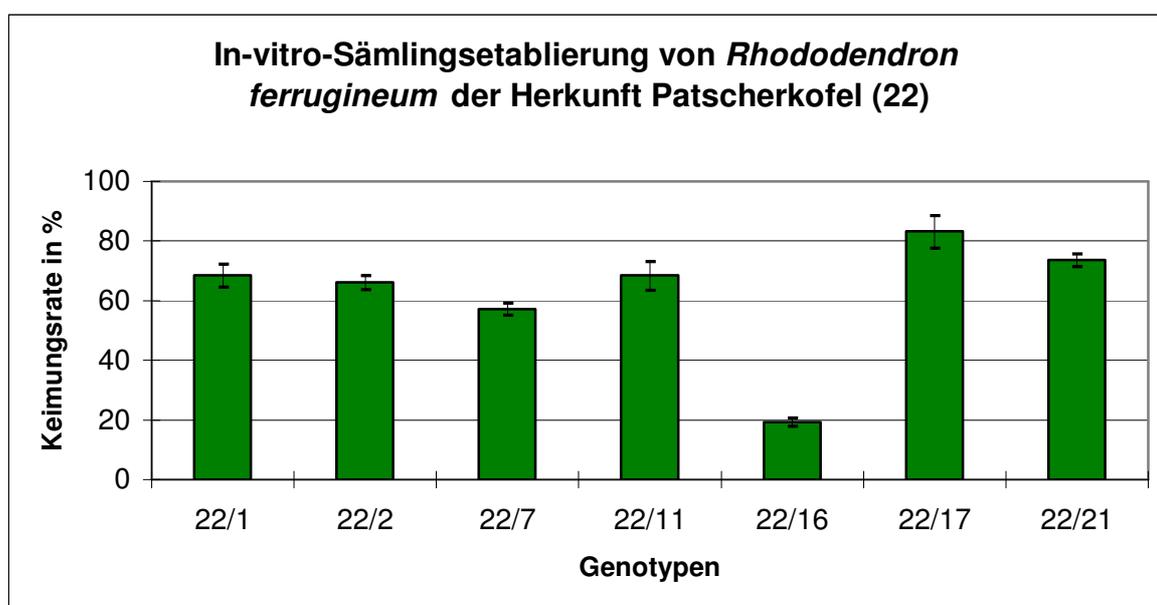


Abb. 2.46: *R. ferrugineum*. Keimungsrate in % \pm Standardabweichung, bei den verschiedenen Genotypen der Herkunft 22 (Patscherkofel), auf 450 PPM.

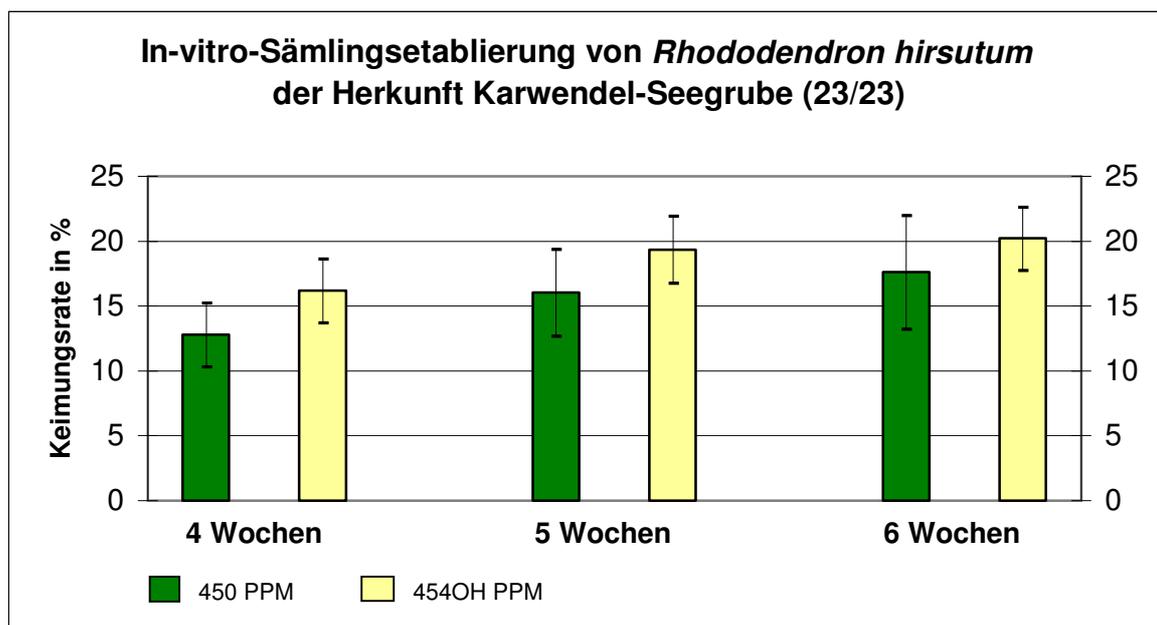


Abb. 2.47: *R. hirsutum*. Keimungsrate in % \pm Standardabweichung, beim Genotyp 23, der Herkunft 23 (Karwendel-Seegrube). Nährbodenvergleich 450 PPM und 454OH PPM.

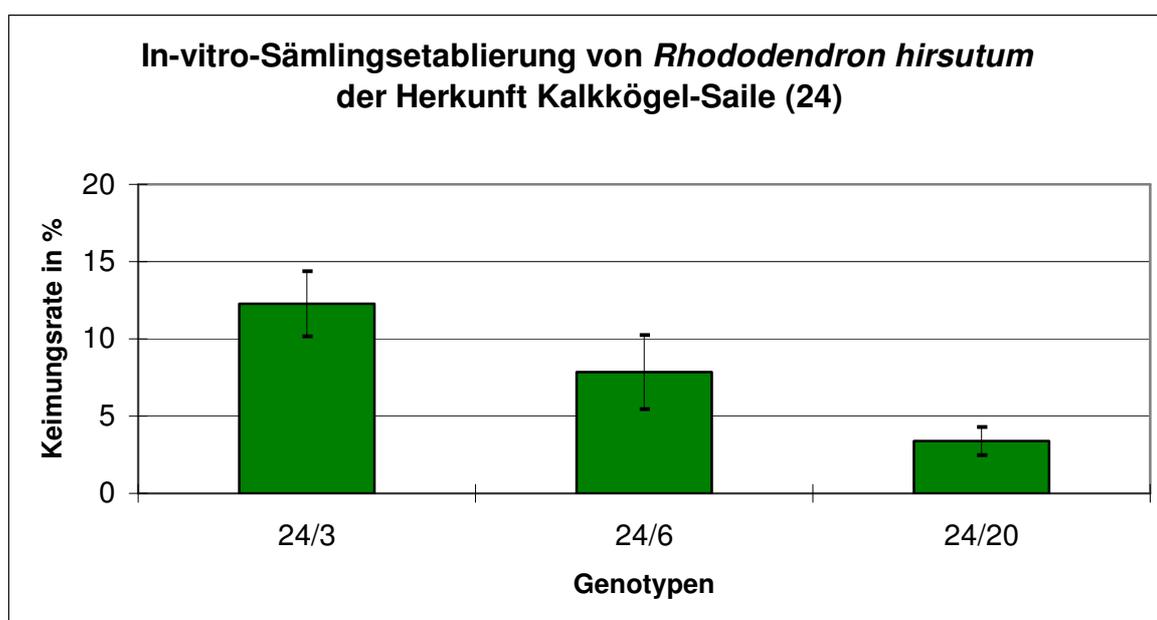


Abb. 2.48: *R. hirsutum*. Keimungsrate in % \pm Standardabweichung, bei den Genotypen 24/3, 24/6 und 24/20 der Herkunft 24 (Kalkkögel-Saile) auf 450 PPM.

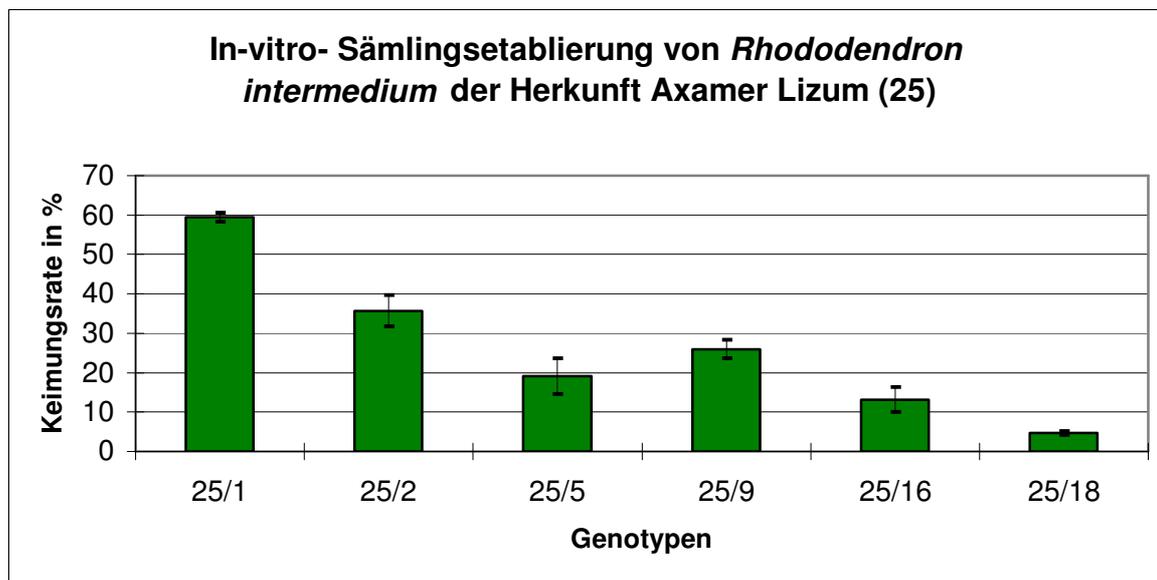


Abb. 2.49: *R. x intermedium*. Keimungsrate in % \pm Standardabweichung, bei den verschiedenen Genotypen der Herkunft 25 (Axamer Lizum), auf 450 PPM.

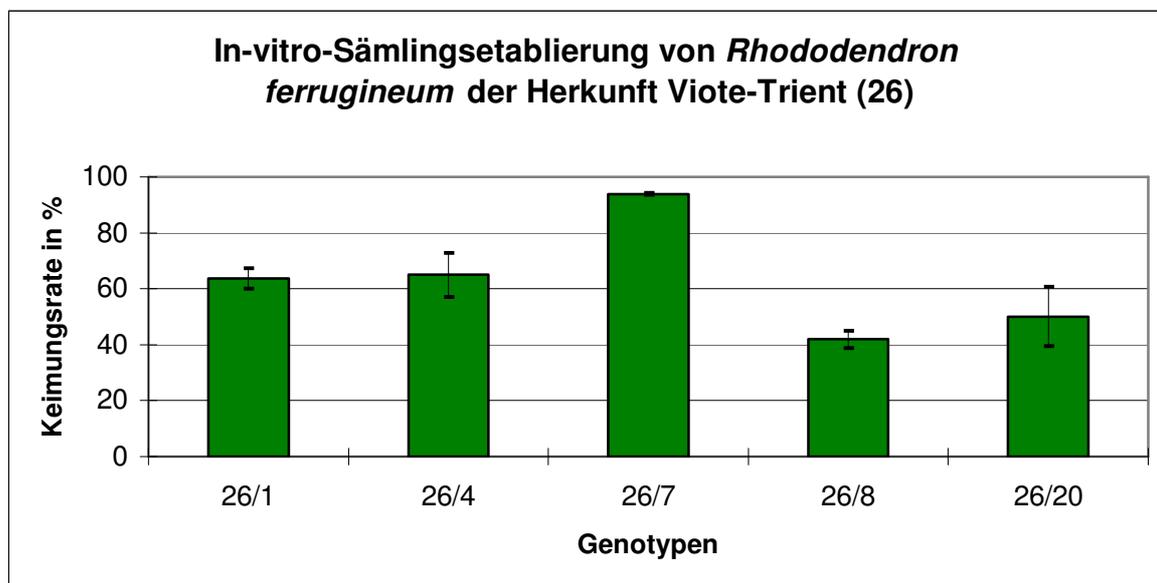


Abb. 2.50: *R. ferrugineum*. Keimungsrate in % \pm Standardabweichung, bei den fünf Genotypen der Herkunft 26 (Viote-Trient) auf 450 PPM.

2.5 Vermehrung

Nach der In-vitro-Etablierung über Sprossspitzen, Nodien und Samen erfolgte die Weiterkultur auf den beiden Nährboden 254 und 258, wobei im ersten Versuchsjahr der jeweiligen Herkunft noch das Biozid PPM zugefügt wurde (Tab. 2.1). Da endogene Bakterien erst nach einigen Monaten auftreten können, ist es sinnvoll bis zu einem Jahr, PPM dem Nährboden zuzusetzen. Im Rahmen dieses Projektes konnte interessanterweise festgestellt werden, dass für die beiden Wildarten *R. ferrugineum* und *R. hirsutum* in der Vermehrung unterschiedliche Phytohormone verwendet werden mussten (Tab. 2.1). Der Nährboden 454 auf dem die Kultivierung der *R. hirsutum* – Herkünfte erfolgte, wurde mit Indolelessigsäure (IAA) und Isopentenyladenin (2ip) angereichert, währenddessen der Nährboden 258 für die verschiedenen *R. ferrugineum* – Herkünfte IAA, Gibberellinsäure (GA₃) und Zeatin enthält. Bei den *R. x intermedium* Genotypen mussten beide Nährböden eingesetzt werden, da *R. hirsutum* – dominante Genotypen auf dem Nährboden 458 kein Wachstum aufwiesen.

Die Sämlingsetablierung erfolgte direkt aus den angelegten Keimplatten, wobei ca. 1 cm große Keimlinge zur Weiterkultur selektiert wurden. Die Etablierung erfolgte auf den oben angeführten Nährböden. Pro Herkunft und Genotyp wurden je 30 (Ausnahme Genotyp 24/20 mit 19 Sämlingsklonen) schön entwickelte Sämlinge ausselektiert und in 130 ml Hipp -Gläser kultiviert. Pro Hipp -Glas wurde je ein Sämling transferiert.

Die Selektion der Sämlingsklone erfolgte nach Anzahl induzierter Seitensprosse, Blattgröße, Wachstum und Glasigkeit der Sprosse (Vitrifizierung). Sämlingsklone mit feinen oder glasigen Trieben oder zu geringer Sprosstreckung wurden nicht für die Weiterkultur verwendet.

Die Bewertung der Sämlingsklone erfolgte zu zwei Zeitpunkten, wobei beim ersten Zeitpunkt der Vermehrungsnährboden noch mit PPM angereichert war. Die Anzahl schön entwickelter Sprosse/Explantat wurde 9 Wochen nach der Subkultur ausgewertet.

Mit Ausnahme des Genotyps 22/1 der Herkunft Patscherkofel wurden pro Genotyp und Herkunft, von den 30 etablierten Sämlingsklonen, die 10 besten Klone für die Weiterkultur ausselektiert.

2.5.1 In-vitro-Vermehrung der *R. ferrugineum* – Herkunft Patscherkofel

Die Genotypen 22/1, 22/2, 22/7, 22/11, 22/16, 22/17 und 22/1 der Herkunft Patscherkofel zeigten unterschiedliches Wuchsverhalten. Der Genotyp 22/1 erwies sich als äußerst homogen, es zeigten sich die geringsten Unterschiede zwischen den 30 Sämlingsklonen (Abb. 2.51, 2.52). Eine Ausnahme bildeten die beiden Sämlingsklone 23 und 27 bei denen keine Sprosse induziert werden konnten. Zu den beiden Boniturzeitpunkten konnten durchschnittlich $3,4 \pm 1,3$ und $3,4 \pm 0,97$ Sprosse induziert werden. Insgesamt wurden die Sämlingsklone 4, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 28, 29, 30 zur Weiterkultur selektiert (Abb. 2.51).

Beim Genotyp 22/2 konnten durchschnittlich $2,8 \pm 1,5$ und $3,4 \pm 1,6$ Sprosse/Explantat induziert werden (Abb. 2.53). Der Sämlingsklon 23 zeigte zu den beiden Boniturzeitpunkten keine Sprossinduktion. Die Anzahl der Sprosse/Explantat der zweiten Bonitur entspricht den Werten die für den Genotyp 22/1

ermittelt werden konnten. Zur Weiterkultur wurden die Sämlingsklone 7, 10, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 24 und 30 ausgewählt (Abb. 2.53).

Der Genotyp 22/7 bildete $2,7 \pm 1,5$ und $2,8 \pm 1,1$ Sprosse/Explantat (Abb. 2.54). Es wurden die Sämlingsklone 3, 11, 13, 15, 16, 19, 21, 24, 27 und 30 weiterkultiviert (Abb. 2.54).

Der Genotyp 22/11 zeigte mit $2,6 \pm 0,96$ und $2,9 \pm 0,94$ ähnliche Werte wie Genotyp 22/7 (Abb. 2.55). Die 30 Sämlingsklone zeigten ein homogeneres Bild als die Genotypen 22/2 und 22/7. Es wurden folgende Sämlingsklone zur Weiterkultur ausgewählt: 5, 13, 16, 19, 22, 25, 27, 28, 29, 30 (Abb. 2.55).

Beim Genotyp 22/16 konnte die Induktionsrate von $2,0 \pm 0,92$ auf $2,7 \pm 0,86$ erhöht werden (Abb. 2.56). Es wurden die Sämlingsklone 5, 8, 9, 11, 13, 18, 21, 25, 28 und 29 weiterkultiviert. (Abb. 2.56)

Der Genotyp 22/17 zeigte zum ersten Boniturzeitpunkt nur beim Sämlingsklon 21 eine Sprossinduktion (Abb. 2.57). Es konnten durchschnittlich $1,1 \pm 0,31$ Sprosse/Explantat induziert werden. Zum zweiten Boniturzeitpunkt konnte bei der Mehrheit der Sämlingsklone die Induktionsrate verbessert werden. Sämlingsklon 1 zeigte den Maximalwert von 6 Sprosse/Explantat. Durchschnittlich wurden $2,3 \pm 0,99$ Sprosse/Explantat induziert. Folgende Klone wurden weiterkultiviert: 1, 2, 6, 9, 10, 14, 15, 16, 21 und 30 (Abb. 2.57).

Der Genotyp 22/21 zeigte eine ähnlich geringe Sprossinduktion wie Genotyp 22/17. Es wurden $1,03 \pm 0,18$ und $1,9 \pm 0,87$ Sprosse/Explantat induziert (Abb. 2.58). Es wurden die Sämlingsklone 2, 3, 7, 12, 14, 15, 16, 25, 29 und 30 zur Weiterkultur ausgewählt (Abb. 2.58).

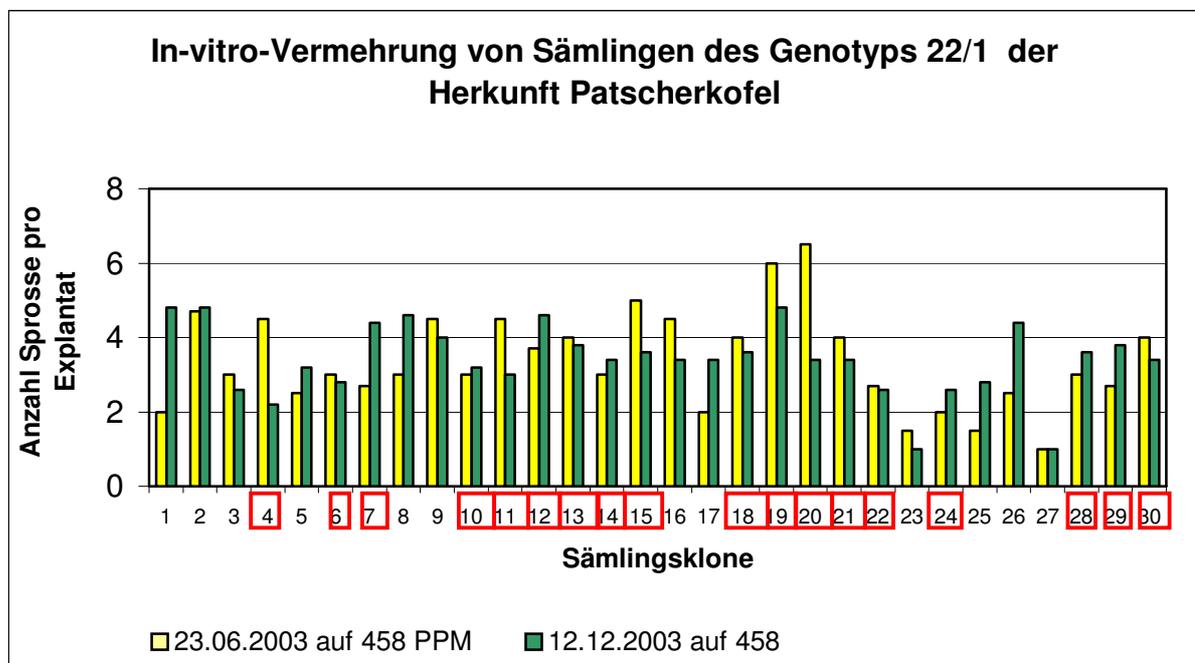


Abb. 2.51: Herkunft Patscherkofel. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 22/1. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 23.06. und 12.12.03.



Abb. 2.52: Mikrosprosse des Genotyps 22/1 der Herkunft Patscherkofel auf künstlichem Nährboden

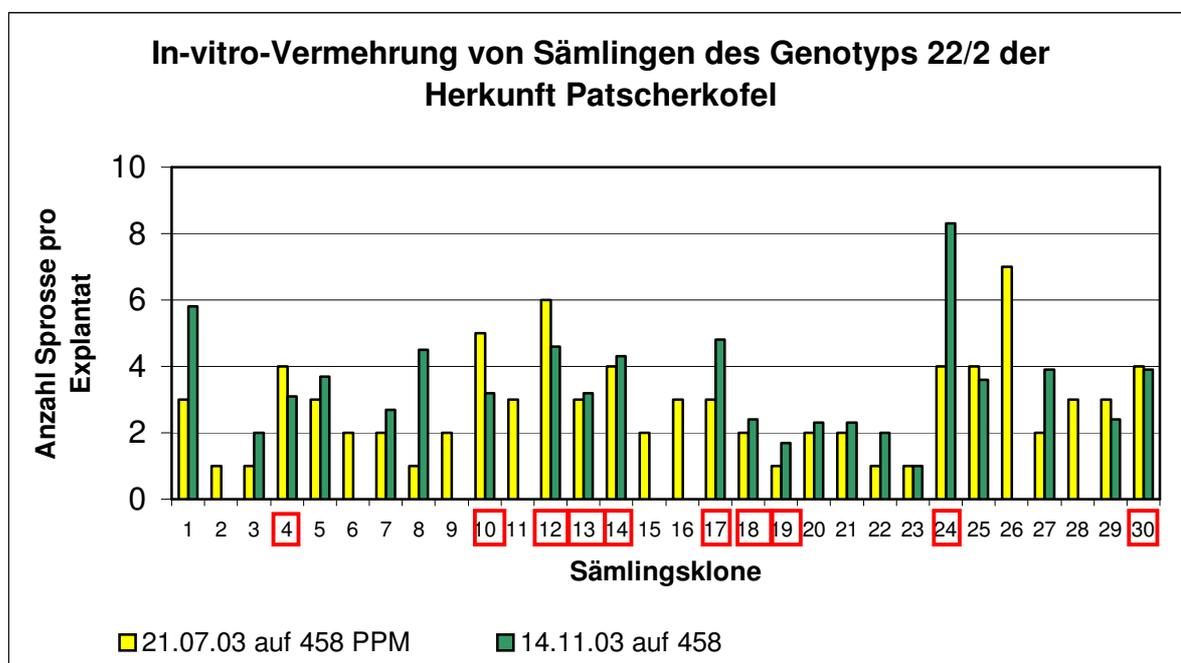


Abb. 2.53: Herkunft Patscherkofel. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 22/2. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 21.07. und 14.11.03.

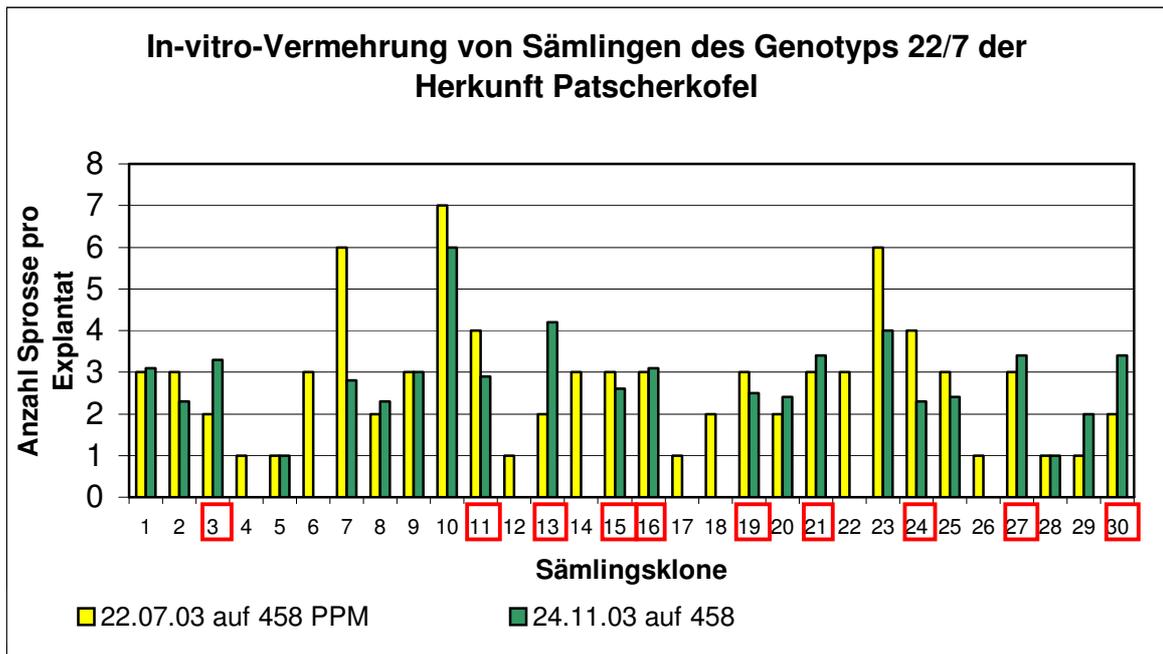


Abb. 2.54: Herkunft Patscherkofel. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 22/7. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 22.07. und 24.11.03.

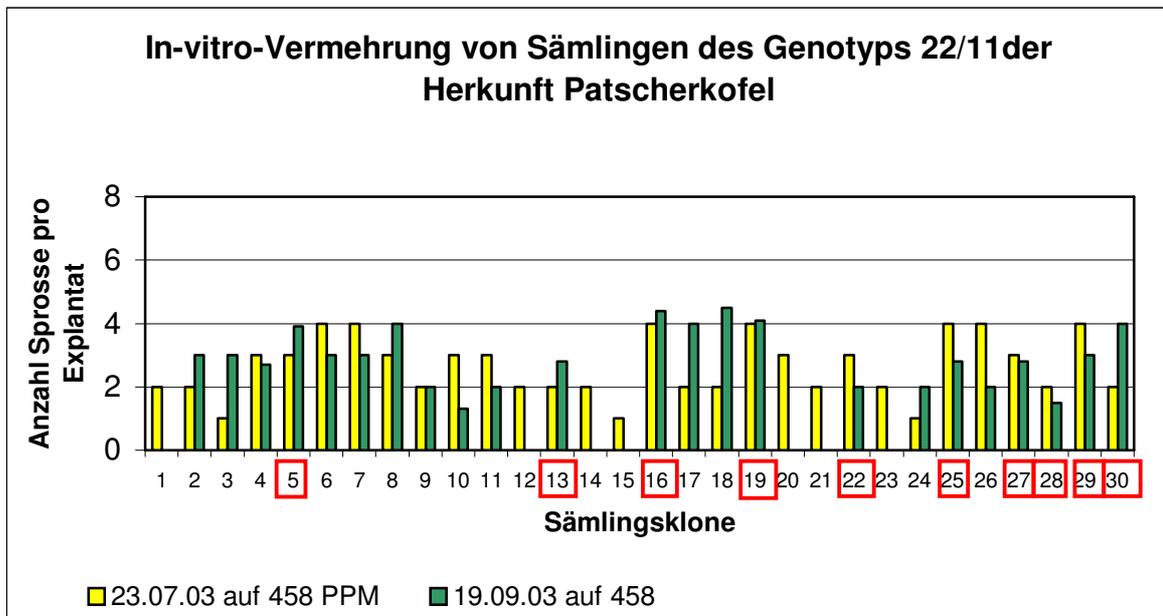


Abb. 2.55: Herkunft Patscherkofel. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 22/11. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 23.07. und 19.09.03.

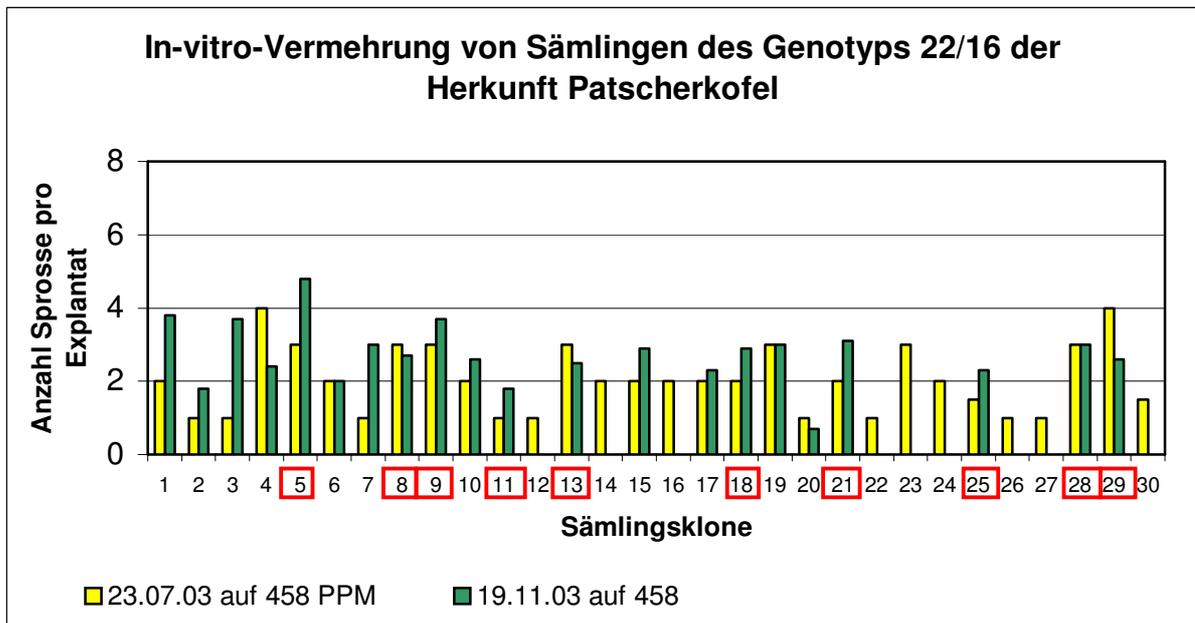


Abb. 2.56: Herkunft Patscherkofel. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 22/16. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 23.07. und 19.11.03.

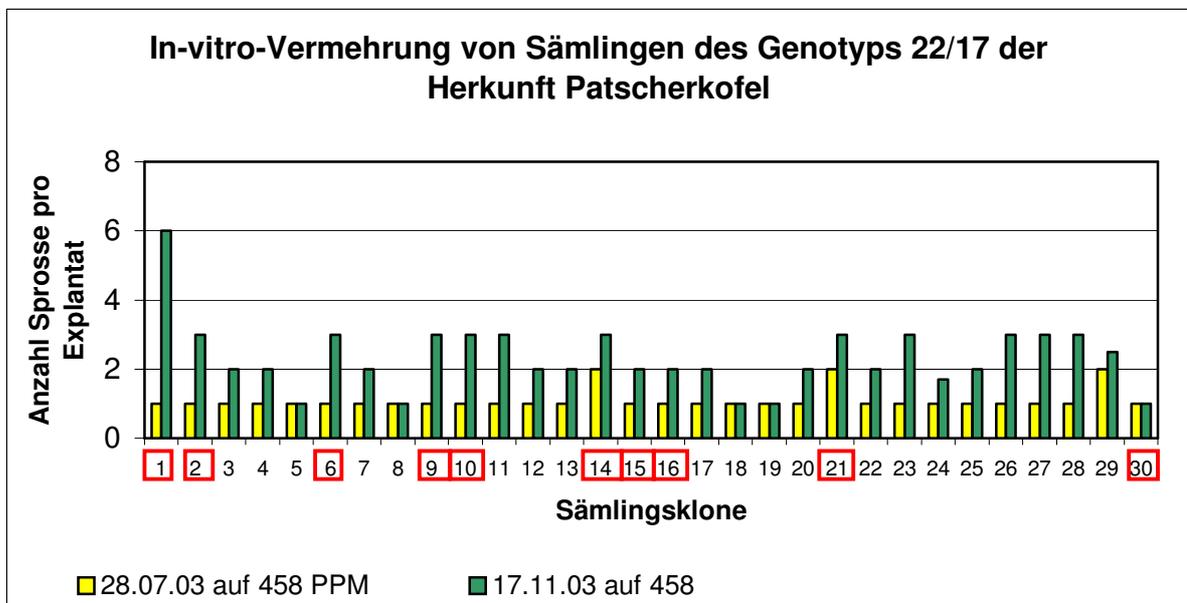


Abb. 2.57: Herkunft Patscherkofel. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 22/17. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 28.07. und 17.11.03.

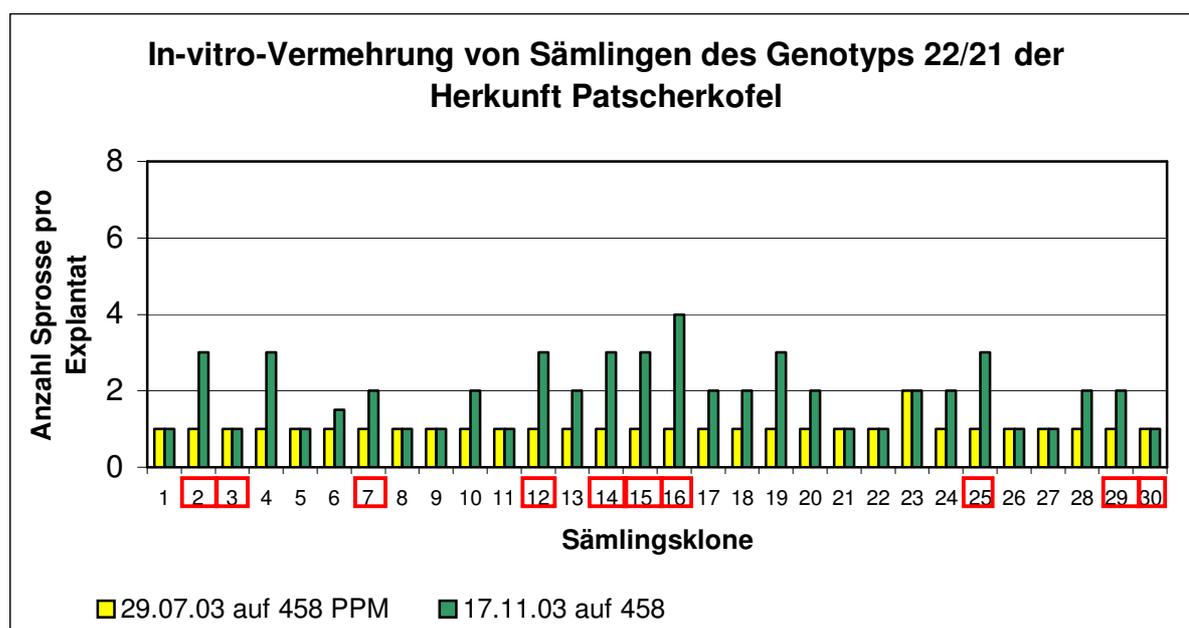


Abb. 2.58: Herkunft Patscherkofel. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 22/21. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 29.07. und 17.11.03.

2.5.2 In-vitro-Vermehrung der *R. hirsutum* –Herkunft Karwendel-Seegrube über Samen

Von der *R. hirsutum* –Herkunft Karwendel-Seegrube wurde nur ein Genotyp mit der Kennungsnummer 23/23 in vitro etabliert (Anhang). Dieser Genotyp wurde zur In-vitro-Etablierung ausgewählt, da er einen für *R. hirsutum* seltenen Farbton von intensivem violettrosa aufweist.

Zum Boniturzeitpunkt 14.07.03 konnten $3,5 \pm 1,6$ Sprosse/Explantat induziert werden (Abb. 2.59). Bei der zweiten Bewertung am 13.11.03 wurde ein geringerer Wert von $2,1 \pm 0,93$ Sprosse/Explantat bonitiert. Es wurden die Sämlingsklone 9, 11, 13, 16, 20, 21, 24, 27, 28 und 30 zur Weiterkultur ausgewählt (Abb. 2.59).

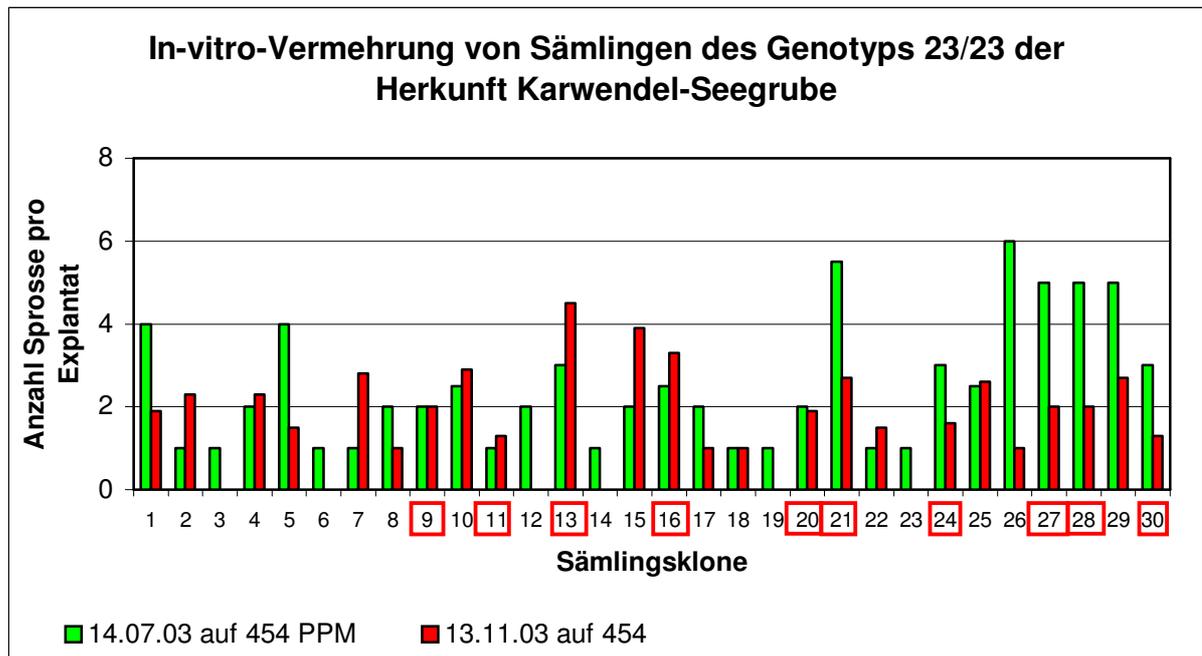


Abb. 2.59: Herkunft Karwendel-Seegrube. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 23/23. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 14.07. und 13.11.03.

2.5.3 In-vitro-Vermehrung der *R. x intermedium* –Herkunft Axamer Lizum über Samen

Von der *R. x intermedium* -Herkunft Axamer Lizum wurden 6 Genotypen in vitro etabliert (Anhang). Die verschiedenen Genotypen 25/1, 25/2, 25/5, 25/9, 25/16 und 25/18 zeigten unterschiedliches Wuchsverhalten. Bei den Genotypen 25/5, 25/16 und 25/18 erfolgte die Vermehrung auf dem Nährboden 454 während die restlichen Genotypen auf dem Nährboden 458 kultiviert werden konnten.

Beim Genotyp 25/1 erfolgte zum Boniturzeitpunkt 14.07.03 nur bei den Sämlingsklonen 1, 5, 17 und 28 eine Induktion von Sprossen (Abb. 2.60). Durchschnittlich konnten somit nur $1,13 \pm 0,35$ Sprosse/Explantat induziert werden. Zum zweiten Boniturzeitpunkt kam es zu einer Verbesserung der Induktionsrate von durchschnittlich $1,7 \pm 0,75$. Folgende Sämlingsklone wurden zur Weiterkultur selektiert: 3, 4, 5, 6, 9, 13, 24, 25, 28 und 30 (Abb. 2.60).

Beim Genotyp 25/2 wurde zum ersten Bewertungszeitpunkt eine geringfügig höhere Induktionsrate von $1,7 \pm 0,88$ Sprosse/Explantat, als beim Genotyp 25/1 erzielt (Abb. 2.61). Die Anzahl der Sprosse/Explantat war bei der zweiten Bewertung mit $1,96 \pm 1,1$ nur geringfügig höher verglichen zur ersten Bewertung. Die Sämlingsklone 1, 3, 7, 8, 12, 17, 22, 26, 29 und 30 wurden weiterkultiviert (Abb. 2.61).

Verglichen zum Genotyp 25/1 konnten beim Genotyp 25/5, zu den beiden Boniturzeitpunkten höhere Induktionsraten von $2,5 \pm 1,3$ und $2,1 \pm 0,89$ erzielt werden (Abb. 2.62). Nach erfolgreicher Selektion wurden die Sämlingsklone 1, 5, 8, 17, 18, 22, 24, 25, 26, und 28 weiterkultiviert (Abb. 2.62).

Die Sämlingsklone des Genotyps 25/9 bildeten zu den Boniturzeitpunkten 30.07. und 24.11. 03, $2,1 \pm 1,4$ und $2,7 \pm 0,99$ Sprosse/Explantat (Abb. 2.63). Diese Werte sind ähnlich den Induktionsraten des Genotyps 25/5. Zur Weiterkultur wurden folgende Sämlingsklone ausgewählt: 4, 9, 10, 13, 14, 15, 17, 18, 23 und 25 (Abb. 2.63).

Genotyp 25/16 erreichte innerhalb der verschiedenen *R. x intermedium* –Genotypen die höchste Induktionsrate mit $3,6 \pm 1,6$ Sprosse/Explantat, bildete jedoch bei der zweiten Bewertung deutlich weniger, nämlich $1,8 \pm 0,73$ Sprosse/Explantat aus (Abb.2.64). Die Sämlingsklone 5, 14, 20, 21, 22, 24, 25, 27, 28 und 29 wurden zur Weiterkultur ausgewählt (Abb. 2.64).

Beim *R. x intermedium* –Genotyp, 25/18 wurden $2,4 \pm 1,2$ und $2,0 \pm 0,73$ Sprosse/Explantat induziert (Abb. 2.65). Es wurden die Sämlingsklone 3, 5, 8, 10, 12, 13, 26, 27, 28 und 29 zur Weiterkultur ausselektiert (Abb. 2.65).

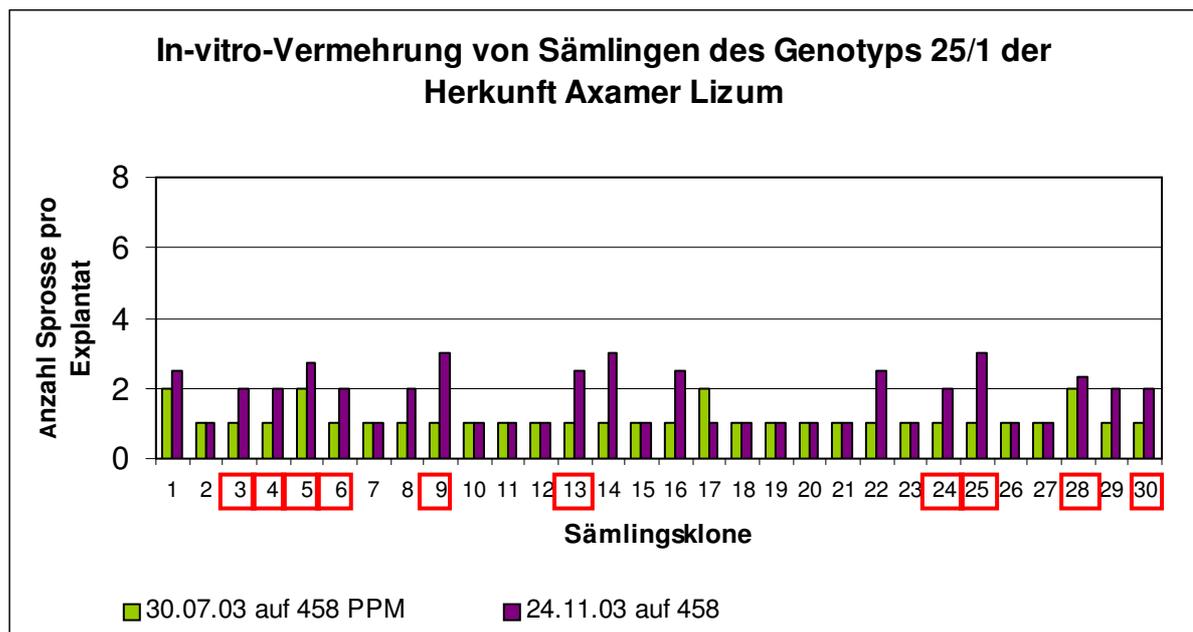


Abb. 2.60: Herkunft Axamer Lizum. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 25/1. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 30.07. und 24.11.03.

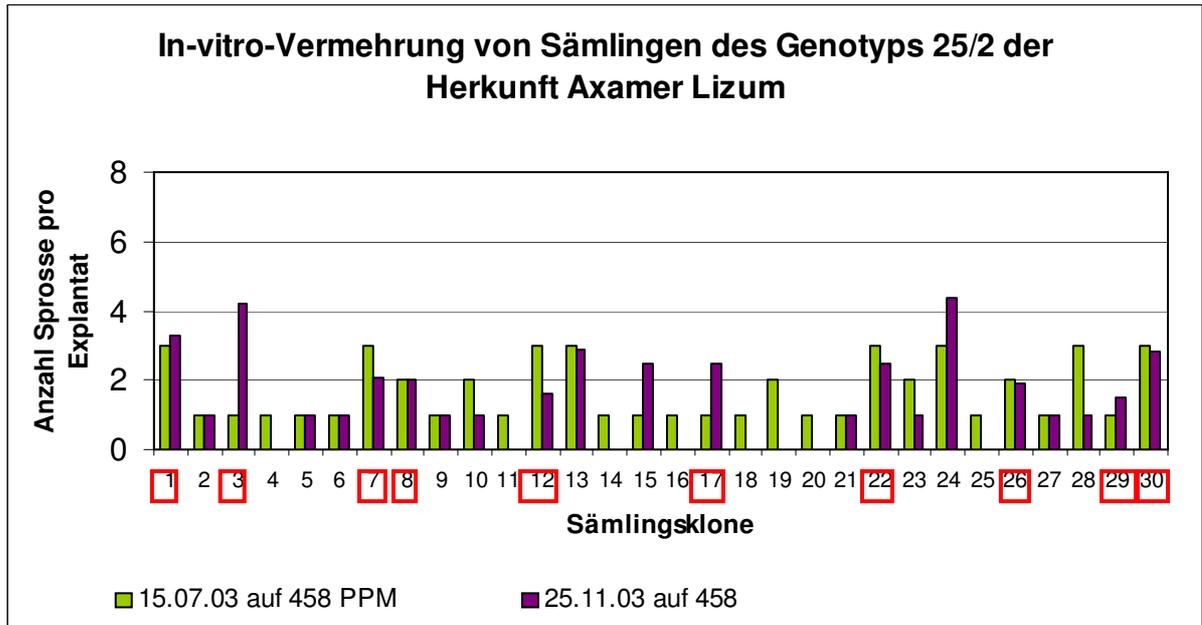


Abb. 2.61: Herkunft Axamer Lizum. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 25/2. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 15.07. und 25.11.03.

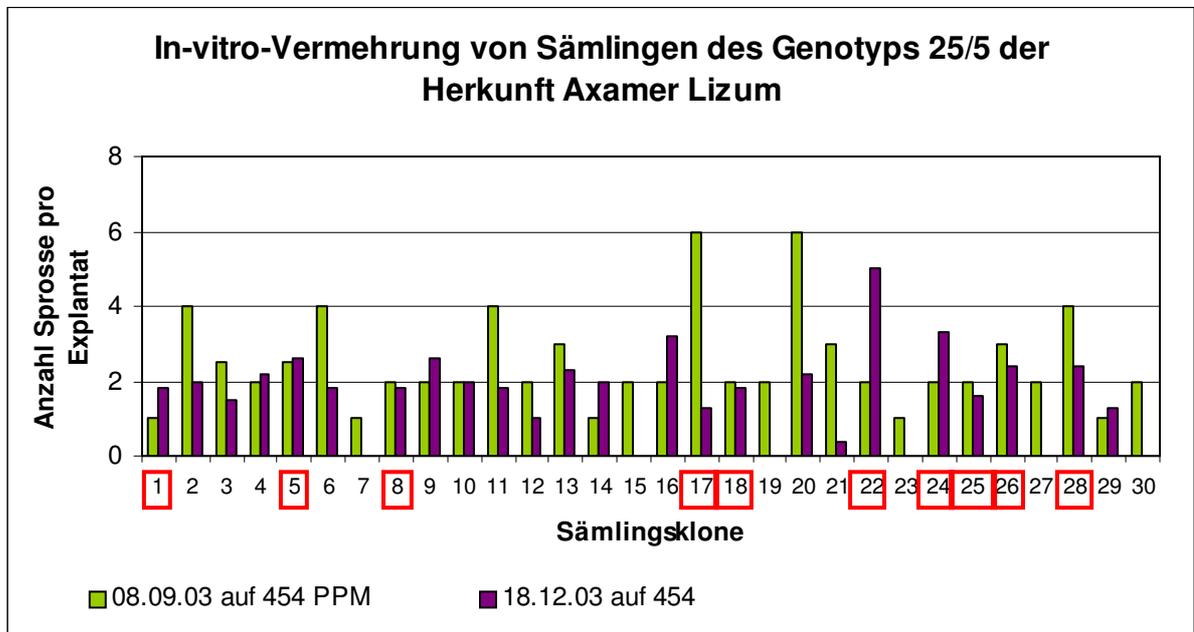


Abb. 2.62: Herkunft Axamer Lizum. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 25/5. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 08.09. und 18.12.03.

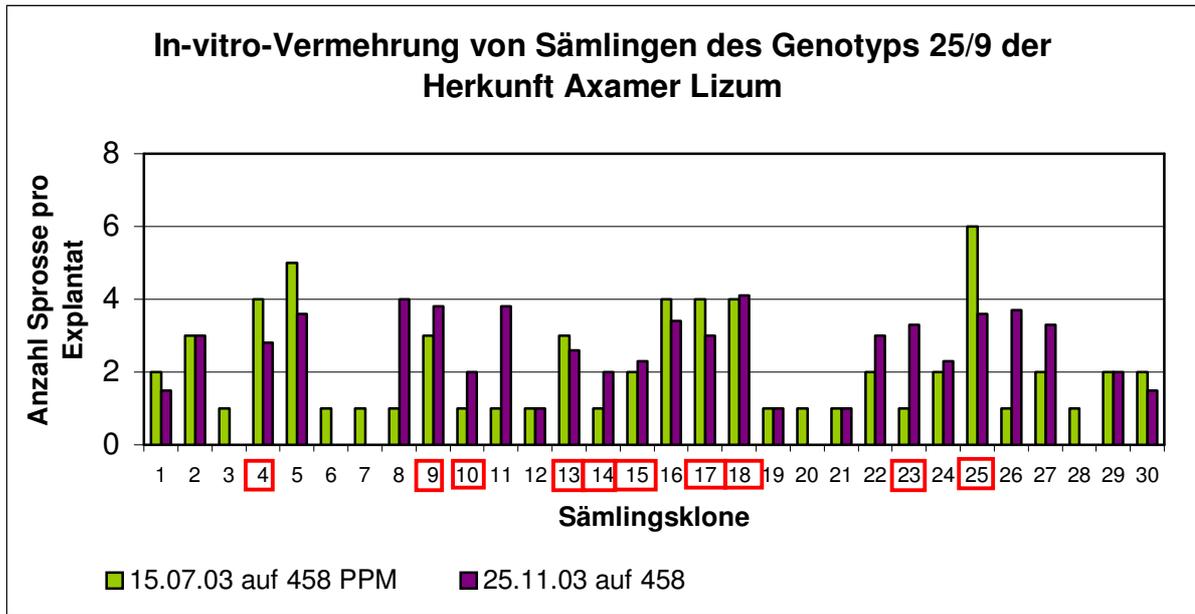


Abb. 2.63: Herkunft Axamer Lizum. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 25/9. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 15.07. und 25.11.03.

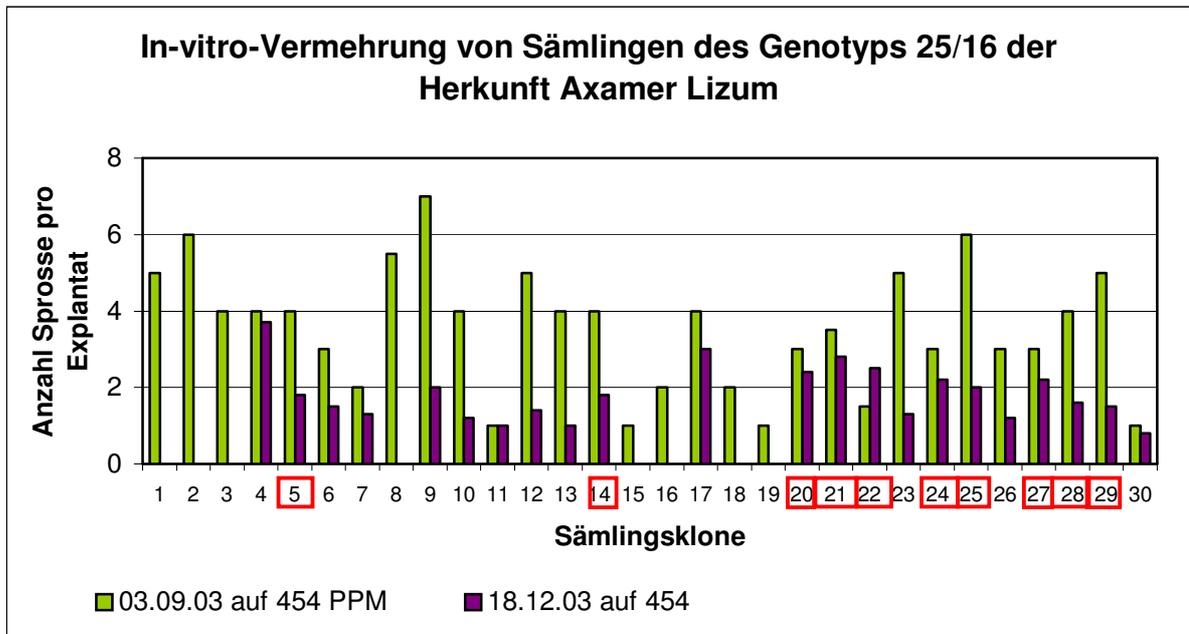


Abb. 2.64: Herkunft Axamer Lizum. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 25/16. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 03.09. und 18.12.03.

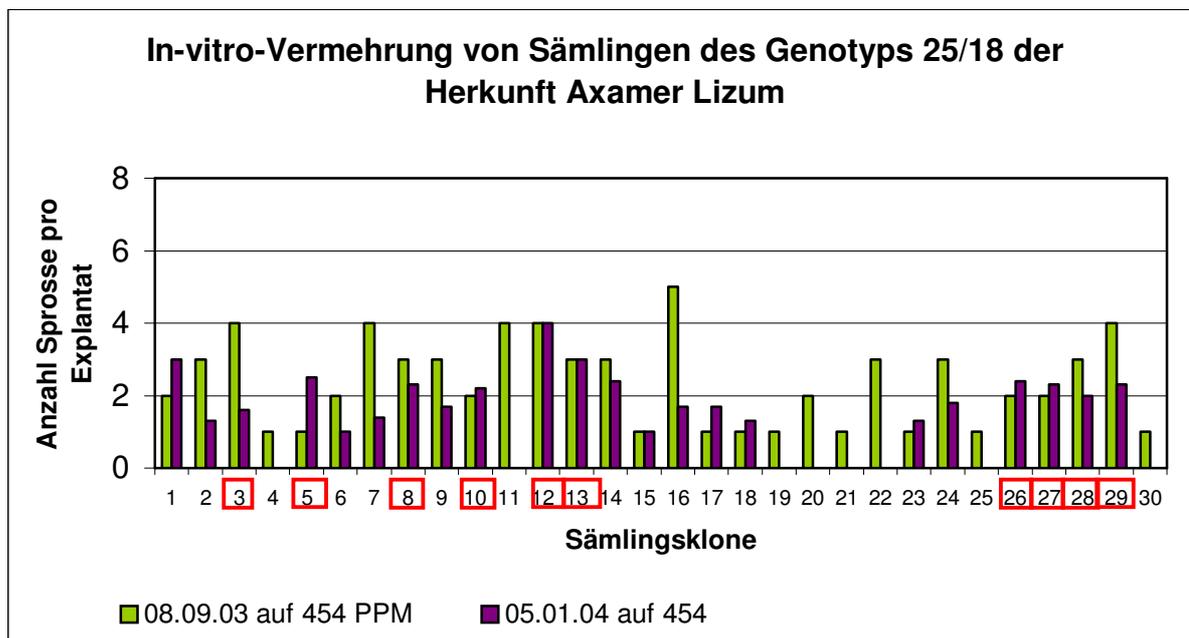


Abb. 2.65: Herkunft Axamer Lizum. Bewertung der Sämlingsklone des Genotyps 25/18. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 08.09.03 und 05.01.04.

2.5.4 In-vitro-Vermehrung der *R. hirsutum* –Herkunft Trnovski gozd über Sprossspitzen

Generell konnte beobachtet werden, dass *R. hirsutum* und *R. x intermedium* –Genotypen die über Sprossspitzen und Nodien vermehrt wurden, am Beginn der In-vitro-Etablierung eine längere Zeitdauer zur Induktion von Mikrospalten benötigten. Trotz der neu ausgetriebenen, unverholzten Triebspitzen handelte es dabei um Pflanzenmaterial, das von adulten Sträuchern beprobt wurde. Ausgekeimte Sämlinge zeigten im Vergleich dazu ein juveniles Verhalten und generell eine schnellere Induktion von Seitensprossen.

Die drei *R. hirsutum*- Genotypen der Herkunft Trnovski gozd mussten innerhalb kürzester Zeit nach Umstellung auf dem Nährboden 458 erneut auf den Nährboden 454 umgestellt werden. Die Mikrostecklinge zeigten auf dem Nährboden 458 geringes Wachstum bis Absterben von Explantaten. Bei der *R. x intermedium* –Herkunft Fernpass-Blindsee musste der Genotyp 29/18, vom Nährboden 458 auf den Nährboden 454 umgestellt werden. Beim *R. x intermedium* -Genotyp 25/18 der Herkunft Axamer Lizum wurde die gleiche Beobachtung gemacht. Nach der Kultivierung auf den bei der Etablierung verwendeten Nährboden 454 kam es jedoch nur mehr zur Sprosstreckung und zu keiner Induktion von neuen Sprossen, sodass dieser Genotyp 2004 ausfiel. Vom Genotyp 25/18 konnten jedoch Sämlingsklone etabliert werden(siehe Abb. 2.65).

Generell kann man bei der *R. hirsutum* –Herkunft Trnovski gozd sagen, dass alle drei in vitro etablierten Genotypen ein geringes Wachstum zeigten. Der Grund ist jedoch nicht in der Vermehrung über Sprossspitzen zu sehen, da die beiden *R. x intermedium* –Genotypen der Herkunft Fernpass-Blindsee im Vergleich zur *R. hirsutum*- Herkunft Trnovski gozd ein zufriedenstellendes Wachstum aufwiesen.

Die Subklone der drei etablierten *R. hirsutum* -Genotypen der Herkunft Trnovski gozd zeigten Unterschiede in der Induktion von Sprossen. Beim Genotyp 21/3 bildete der Subklon 21/3/2 die höchste Anzahl von 1,9 Sprosse/Explantat (Abb. 2.66). Beim Subklon 21/3/3 konnte nur eine Sprosstreckung jedoch keine Induktion neuer Sprosse beobachtet werden. Beim Genotyp 21/11 zeigte nur der Subklon 21/11/2 mit 1,7 Sprosse/Explantat eine Induktion von neuen Sprossen (Abb. 2.67). Bei den Subklonen 21/11/1, 21/11/3 und 21/11/4 kam es nur zur Sprosstreckung. Dieselbe Beobachtung konnte auch beim Genotyp 21/12 gemacht werden. Hierzu kam es nur bei den beiden Subklonen 21/12/4 und 21/12/5 zur Induktion von 1,6 und 2 Sprossen/Explantat (Abb. 2.68, 2.69).

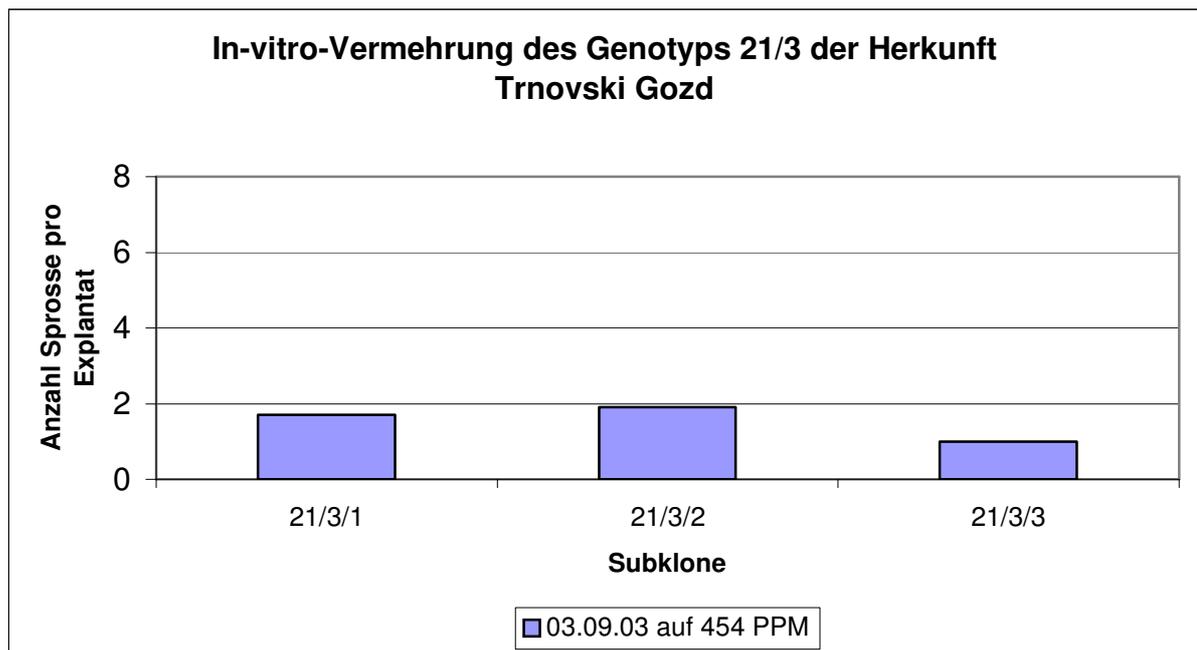


Abb. 2.66: Herkunft Trnovski gozd. Bewertung der Subklone des Genotyps 21/3. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkt 03.09.03.

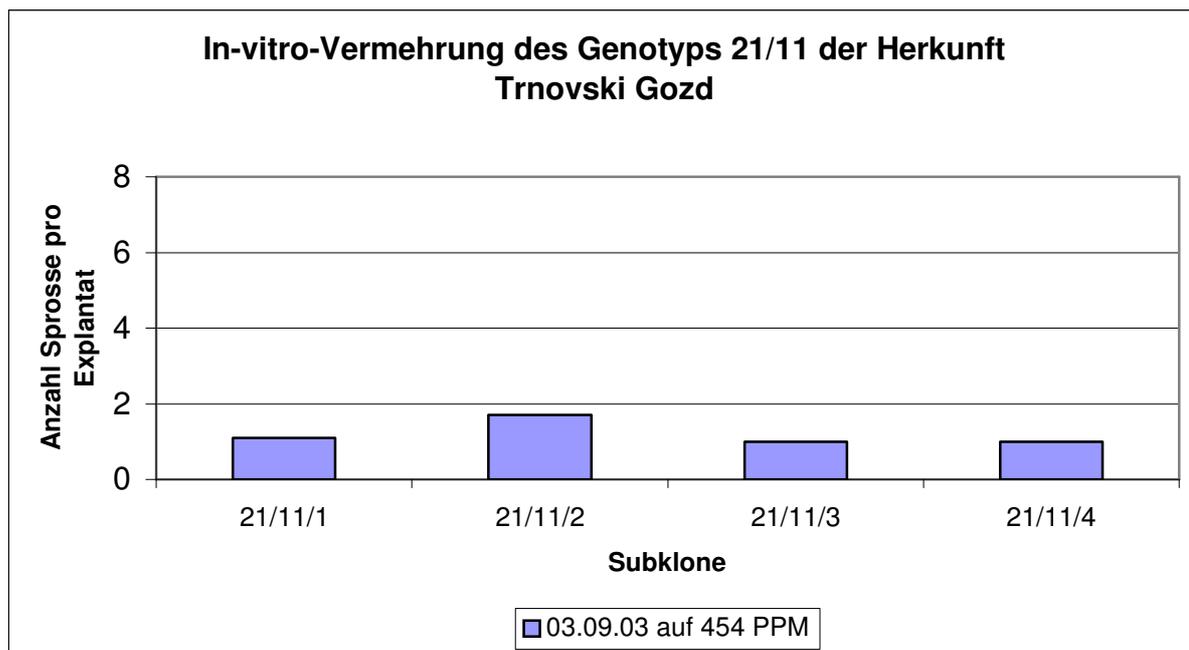


Abb. 2.67: Herkunft Trnovski gozd. Bewertung der Subklone des Genotyps 21/11. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkt 03.09.03.

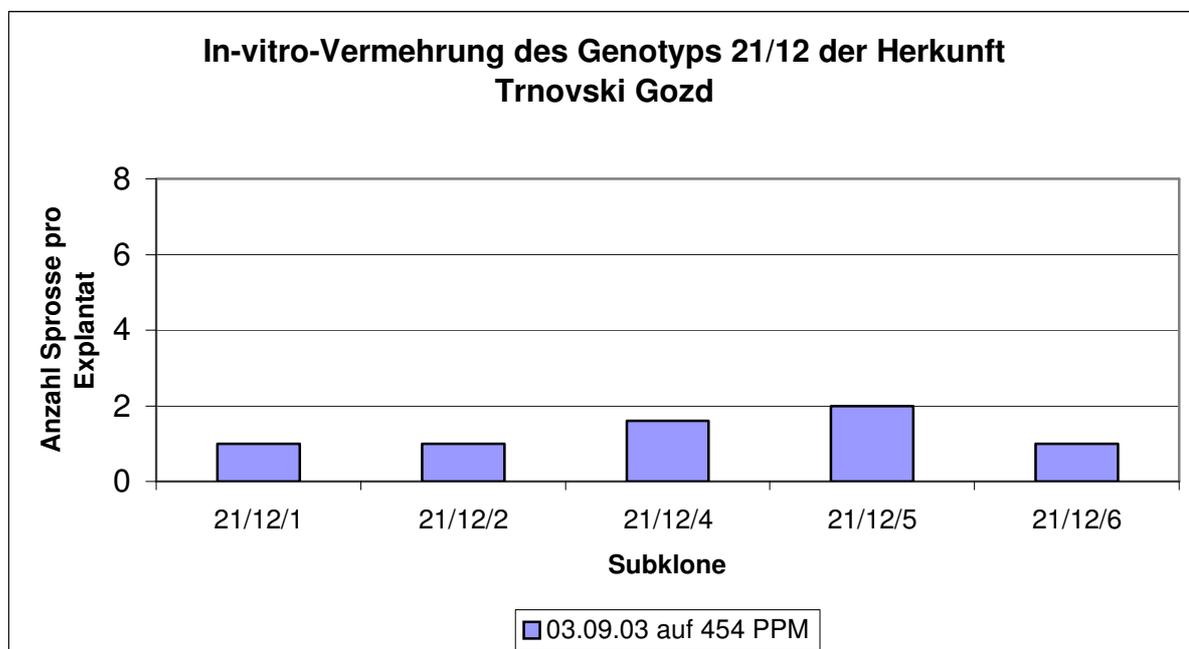


Abb. 2.68: Herkunft Trnovski gozd. Bewertung der Subklone des Genotyps 21/12. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkt 03.09.03.



Abb. 2.69: Sprosse des Genotypen 21/12 der Herkunft Trnovski gozd auf künstlichem Nährboden

2.5.5 In-vitro-Vermehrung der *R. x intermedium* –Herkunft Fernpass-Blindsee über Sprosspitzen

Die drei *R. x intermedium* -Genotypen der Herkunft Fernpass-Blindsee zeigten im Vergleich zur *R. hirsutum* – Herkunft ein besseres Wuchsverhalten. Bei den verschiedenen Genotypen konnte eine rasche Adaption an die künstlichen Bedingungen beobachtet werden. Diese rasche Anpassung konnte im Vergleich dazu bei der Herkunft Trnovski gozd nicht festgestellt werden. Bei der Herkunft Fernpass-Blindsee kam es mit Ausnahme des Genotyps 29/18 bei dem die beiden Subklone auf den Nährboden 454 rückgestellt werden mussten, zu keinen Kulturproblemen. Der Genotyp 29/18 zeigte nach der Umstellungsphase eine Wachstumsverbesserung.

Beim Genotyp 29/4 konnten bei den drei Subklonen 29/4/1, 29/4/2 und 29/4/3, 3, 3,1 und 3,7 Sprosse/Explantat induziert werden (Abb. 2.70, 2.71).

Der Genotyp 29/17, bei dem zum Boniturzeitpunkt 15.07.03 nur 1,3 Sprosse induziert werden konnten, zeigte zum Boniturzeitpunkt 6.10.03 eine zufriedenstellende Induktion von 3,6 Sprosse/Explantat (Abb. 2.72).

Beim Genotyp 29/18 wurden bei den Subklonen 29/18/2 und 29/18/3, zum Boniturzeitpunkt 13.04.04, 1,6 und 1,4 Sprosse/Explantat ermittelt (Abb. 2.73, 2.74). Eine Verbesserung in der Induktionsrate wird analog Genotyp 29/17 erwartet.

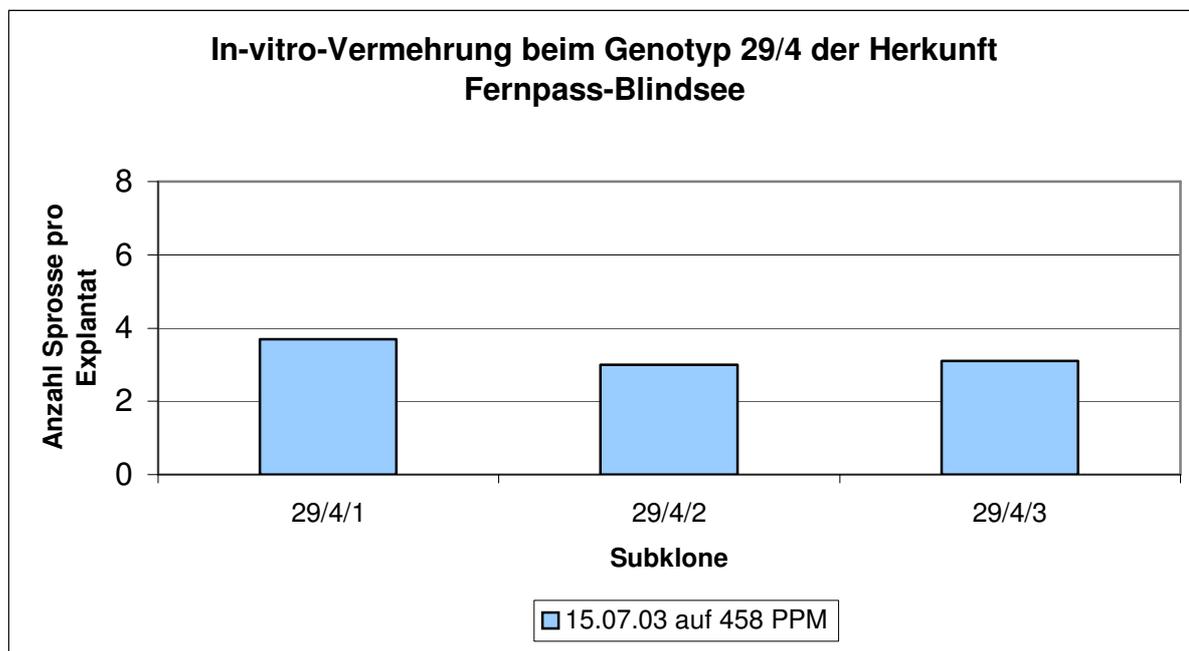


Abb. 2.70: Herkunft Fernpass-Blindsee. Bewertung der Subklone des Genotyps 29/4. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkt 15.07.03.



Abb. 2.71: Mikrosprosse des Genotyps 29/4 der Herkunft Fernpass-Blindsee auf künstlichem Nährboden

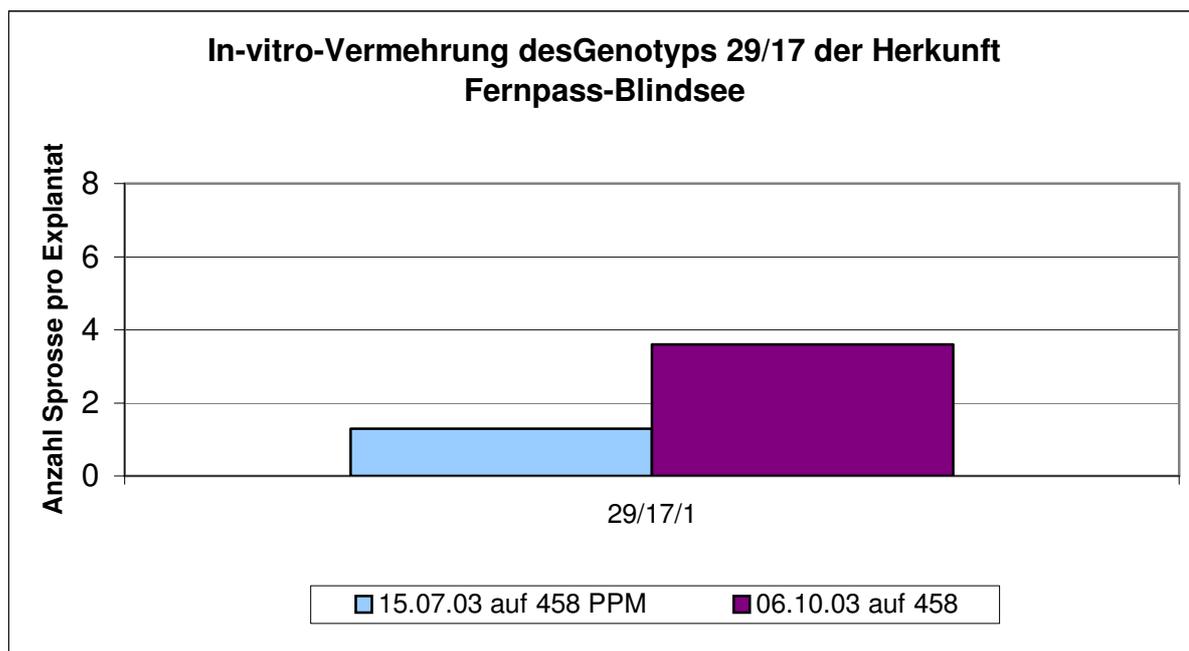


Abb. 2.72: Herkunft Fernpass-Blindsee. Bewertung des Genotyps 29/17. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkte 15.07. und 6.10.03.

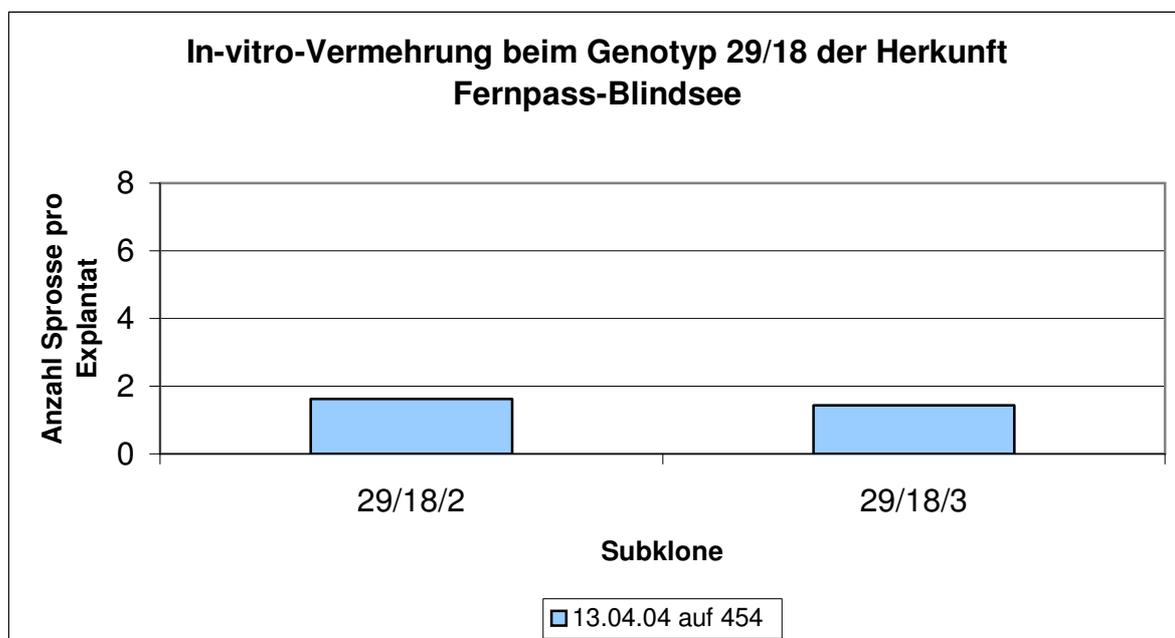


Abb. 2.73: Herkunft Fernpass-Blindsee. Bewertung des Genotyps 29/18. Anzahl induzierter Sprosse pro Explantat. Boniturzeitpunkt 13.04.04.



Abb. 2.74: Mikrosprosse des Genotyps 29/18 der Herkunft Fernpass-Blindsee auf künstlichem Nährboden

2.6 In-vitro-Bewurzelung und Glashaus –Akklimatisierung

Zur In-vitro-Bewurzelung wurden 1 bis 2 cm Mikrosprosse mit dem Skalpell geschnitten und auf den Nährböden 454 IBA oder 458 IBA kultiviert (Tab. 2.1). Die Bewurzelungsnährböden unterscheiden sich von den Vermehrungsnährböden insofern, dass nur das Phytohormon Indolbuttersäure (IBA), als Bewurzelungsauxin in einer Konzentration von 0,2 mg/l beigefügt wurde.

Generell konnte beobachtet werden, dass vor allem bei den Genotypen der *R. ferrugineum* –Herkunft Patscherkofel die Wurzelbildung innerhalb von 4 Wochen induziert werden konnte. Bei den *R. x intermedium* -Genotypen der Herkunft Axamer Lizum und Fernpass-Blindsee sowie bei den *R. hirsutum* -Genotypen der Herkunft Trnovski gozd konnten erst nach 6 bis 8 Wochen Wurzeln induziert werden. Im Optimalfall zeigten die bewurzelten Pflänzchen eine zufriedenstellende Sprossstreckung, sodass ca. 2 bis 4 cm große Rhododendron –Pflänzchen in mit Perlite vermischte Moorbeeterde transferiert werden konnten.

Um zu untersuchen ob es einen Unterschied in der Akklimatisierungsrate zwischen selektierten - über mehrere Subkulturen vermehrten - Sämlingsklonen und Sämlingen gibt, wurden ca. 2 cm große In-vitro-Sämlinge ohne Zwischenschritt einer Vermehrung und Selektion in Moorbeeterde gesetzt.

Da im Rahmen dieses 2-jährigen Projektes die Testung aller etablierten Genotypen (30 Sämlingsklone/Genotyp) zeitlich nicht möglich war, wird nach Beendigung des Projektes im Rahmen einer wissenschaftlichen Tätigkeit die Selektion fortgeführt.

2.6.1 In-vitro- Bewurzelung und Akklimatisierung der *R. ferrugineum* - Sämlingsherkunft Patscherkofel

Bei den Sämlingsklonen des Genotyps 22/1 konnten mit Ausnahme des Klons 22/1/28, mit einer Bewurzelungsrate von 38 %, zufriedenstellende Frequenzen von 57 bis 100 % erzielt werden (Abb. 2.75). Von 25 bewurzelten Sämlingsklonen bildeten 13 Klone zu 100 % Wurzeln aus.

In der Abbildung 2.76 konnten bei den Sämlingsklonen der Genotypen 22/2, 22/7, 22/11 und 22/16 unterschiedliche Bewurzelungsraten erzielt werden. Beim Genotyp 22/2 zeigte der Sämlingsklon 22/2/4 keine und der Sämlingsklon 22/2/12 eine geringe Wurzelbildung von 25%. Der Sämlingsklon 22/2/30 bildete im Vergleich zu den beiden angeführten Klone zu 88 % Wurzeln aus. Beim Genotyp 22/7 konnte bei den Sämlingsklonen 22/7/10, 22/7/23 und 22/7/30 eine zufriedenstellende Wurzelinduktion von 83, 90 und 67 % erzielt werden. Bei den Genotypen 22/11 und 22/16 konnten bei den Sämlingsklonen 22/11/5, 22/11/19 und 22/16/10 sogar zu 100 % Wurzeln induziert werden.

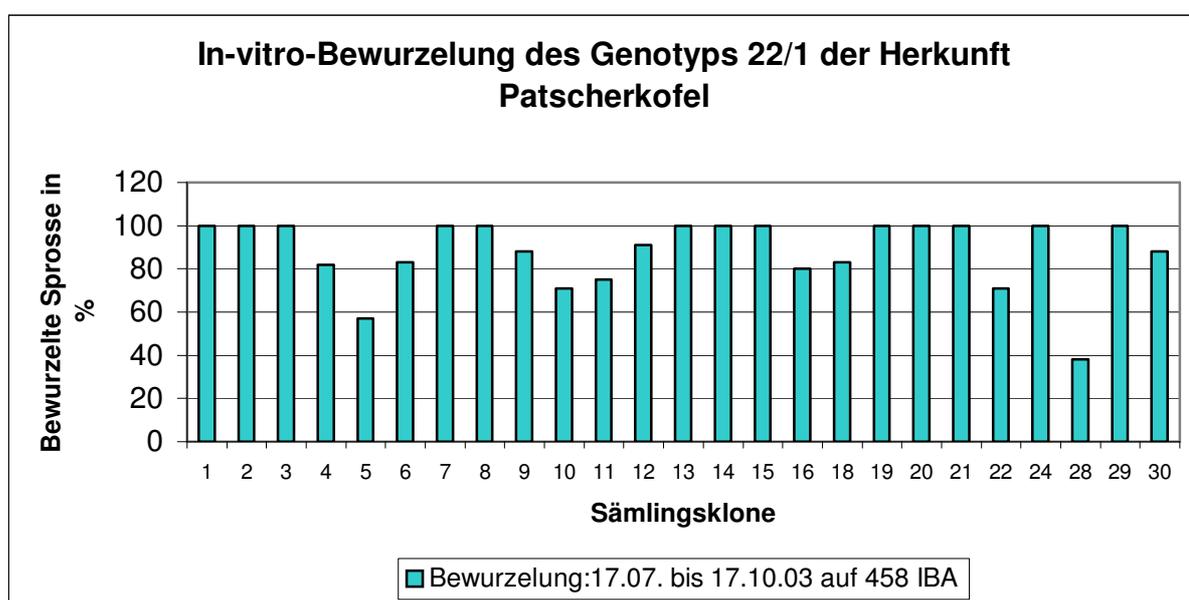


Abb. 2.75: Bewurzelte Sprosse in % beim Genotyp 22/1 der *R. ferrugineum* – Herkunft Patscherkofel. Bewurzelungsnährboden 458 IBA.

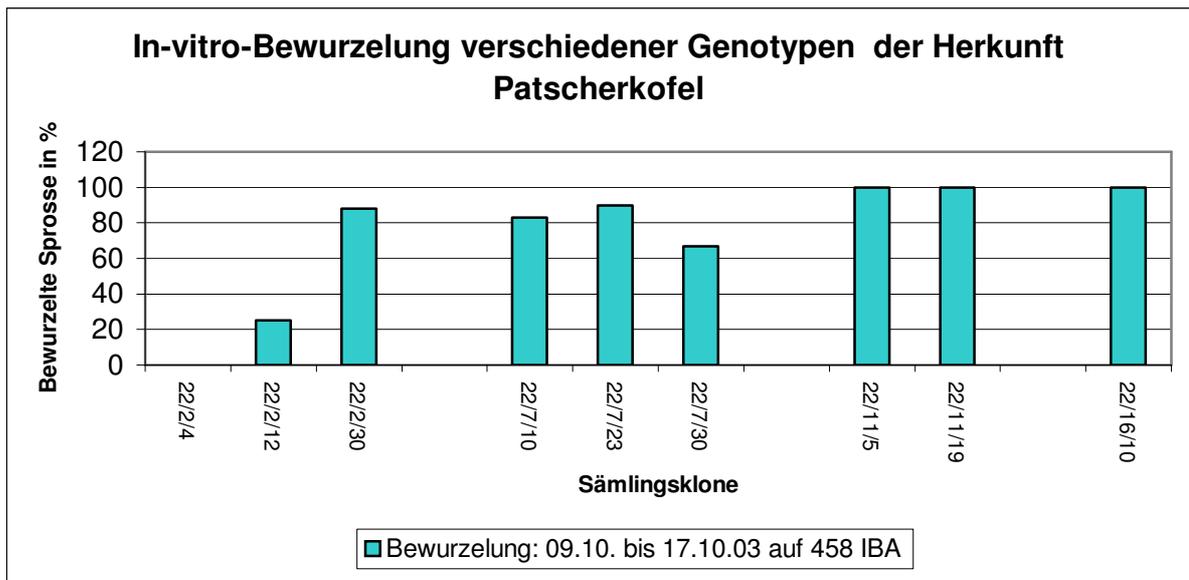


Abb. 2.76: Bewurzelte Sprosse in % bei den Genotypen 22/2, 22/7, 22/11 und 22/16 der *R. ferrugineum* – Herkunft Patscherkofel. Bewurzelungsnährboden 458 IBA.

Beim Genotyp 22/1 konnten nicht nur bei der In-vitro-Bewurzelung sondern auch bei der Akklimatisierung zufriedenstellende Ergebnisse erzielt werden. Bei den Sämlingsklonen 22/1/4, 22/1/11, 22/1/12, 22/1/15 und 22/1/20 wurden sogar Überlebensraten von 100 % erzielt (Abb. 2.77, 2.78). Die Sämlingsklone 22/1/2, 22/1/16 und 22/1/18 zeigten eine Überlebensrate von 92, 75 und 60 %.

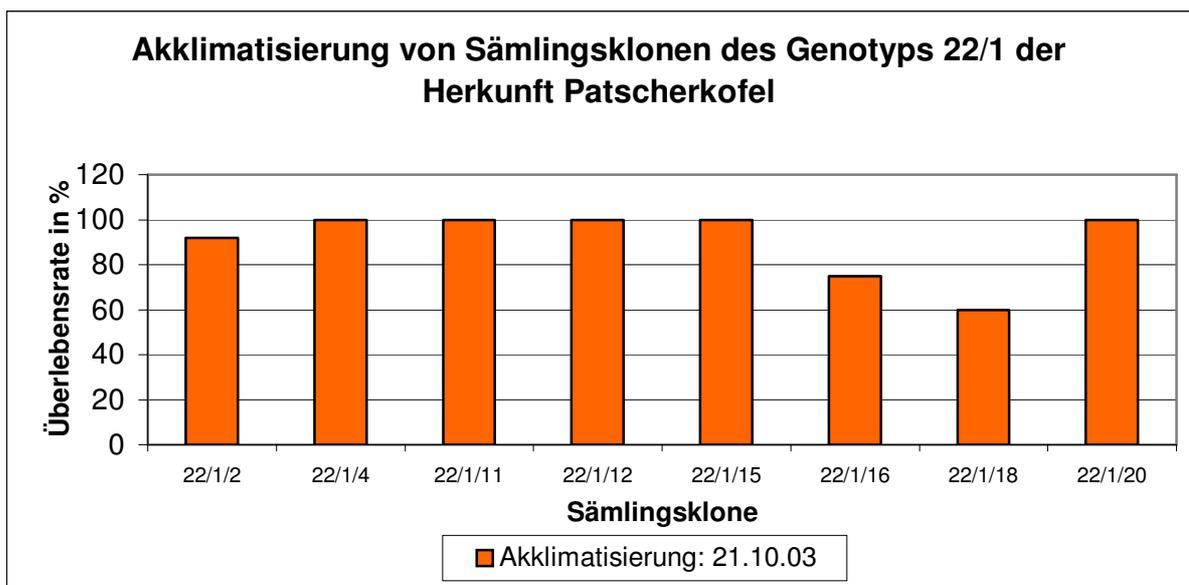


Abb. 2.77: Überlebensrate in % beim Genotyp 22/1 der *R. ferrugineum* – Herkunft Patscherkofel. Akklimatisierungszeitpunkt 21.10.03.



Abb. 2.78: Akklimatisierte Pflänzchen des Genotyps 22/1 der Herkunft Patscherkofel

2.6.2 In-vitro-Bewurzelung der *R. x intermedium* -Sämlingsherkunft Axamer Lizum

Die *R. x intermedium* -Genotypen der Herkunft Axamer Lizum unterschieden sich in der Bewurzelung deutlich von der *R. ferrugineum* –Herkunft Patscherkofel. Die Wurzelinduktion erfolgte auf den Bewurzelungsnährböden 454 IBA und 458 IBA, erst 6 bis 8 Wochen nach der Kultivierung. Die Bewurzelungsraten waren geringer als beim Genotyp 22/1 der Herkunft Patscherkofel. Beim Genotyp 25/2 bildeten die Genotypen 25/2/7 und 25/2/30 zu 88 und 67 % Wurzeln aus (Abb. 2.79). Die Sämlingsklone des Genotypen 25/5 zeigten geringere Wurzelfrequenzen. Hierzu konnten bei den Klonen 25/5/3, 25/5/4 und 25/5/20 zu 50 % beim Klon 25/5/6 zu 63 % Wurzeln induziert werden. Beim Genotyp 25/9 konnten bei den Sämlingsklonen 25/9/5, 25/9/13, 25/9/17 und 25/9/25 Bewurzelungsraten von 76, 100 und 64 % erzielt werden.

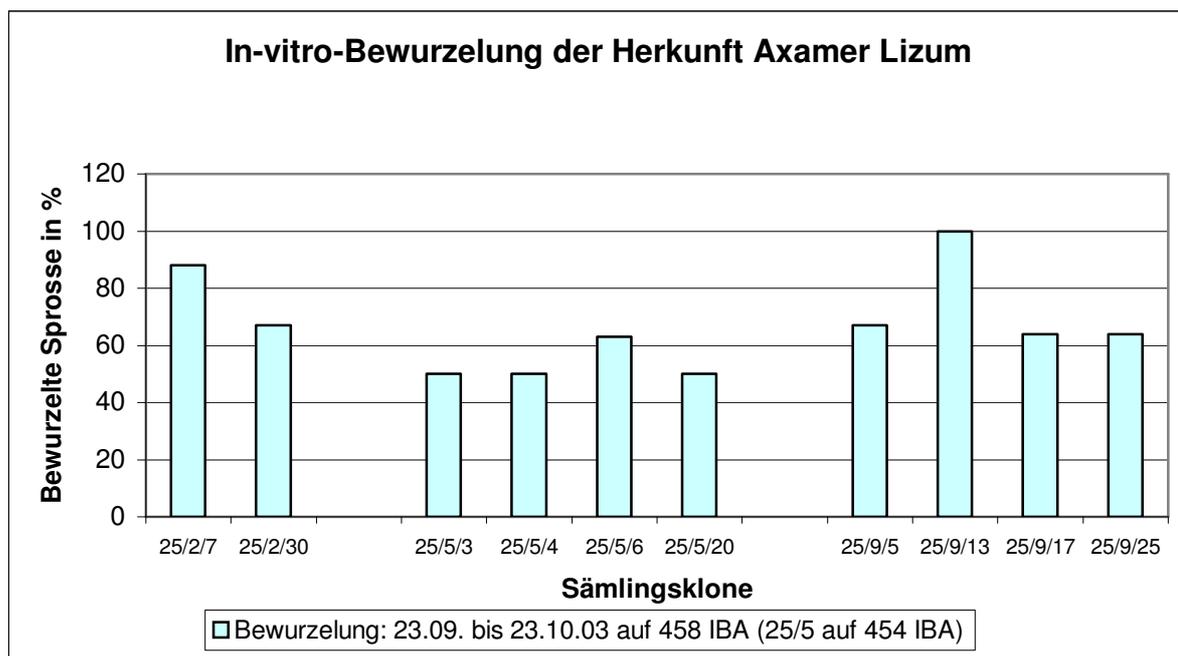


Abb. 2.79: Bewurzelte Sprosse in % bei den Genotypen 25/2, 25/5 und 25/9 der *R. x intermedium* – Herkunft Axamer Lizum. Bewurzelungsnährböden 458 IBA und 454 IBA.

2.6.3 Akklimatisierung von Sämlingen der Genotypen 22/1, 22/16 und 25/9, aus sterilen Keimplatten

Die direkt aus den Keimplatten in Moorbeeterde gepflanzten Sämlinge der Herkunft Patscherkofel und Axamer Lizum zeigten zu den beiden Akklimatisierungszeitpunkten große Unterschiede in der Überlebensrate. Während zum Zeitpunkt 21.05.03 nur wenige Sämlinge der Genotypen 22/1, 22/16 und 25/9 überlebten, konnten zum Zeitpunkt 9.09.03, Überlebensraten von 71, 24 und 52 % erzielt werden (Abb. 2.80). Der Verlust fast aller Sämlingspflänzchen zum ersten Akklimatisierungstermin könnte durch die hohen Außentemperaturen (> 30°C), und dadurch bedingte starke Erwärmung im Glashaus verursacht worden sein. Zum zweiten Zeitpunkt im September gab es keine Temperaturspitzen.

Vergleicht man Genotyp 22/1 bezüglich der Akklimatisierungsart, so konnte bei der Akklimatisierung über selektierte Sämlingsklone eine deutlich höhere Überlebensrate von 91 ± 15 % erzielt werden (Abb. 2.77, 2.80). Zu den Genotypen 22/16 und 25/9 liegen zum gegebenen Zeitpunkt - für die Akklimatisierung über Sämlingsklone - keine Daten vor.

Generell kann jedoch die Aussage getroffen werden, dass sich selektierte Sämlingsklone einfacher im Glashaus adaptieren ließen und nicht so sensitiv auf Temperaturmaxima reagierten.

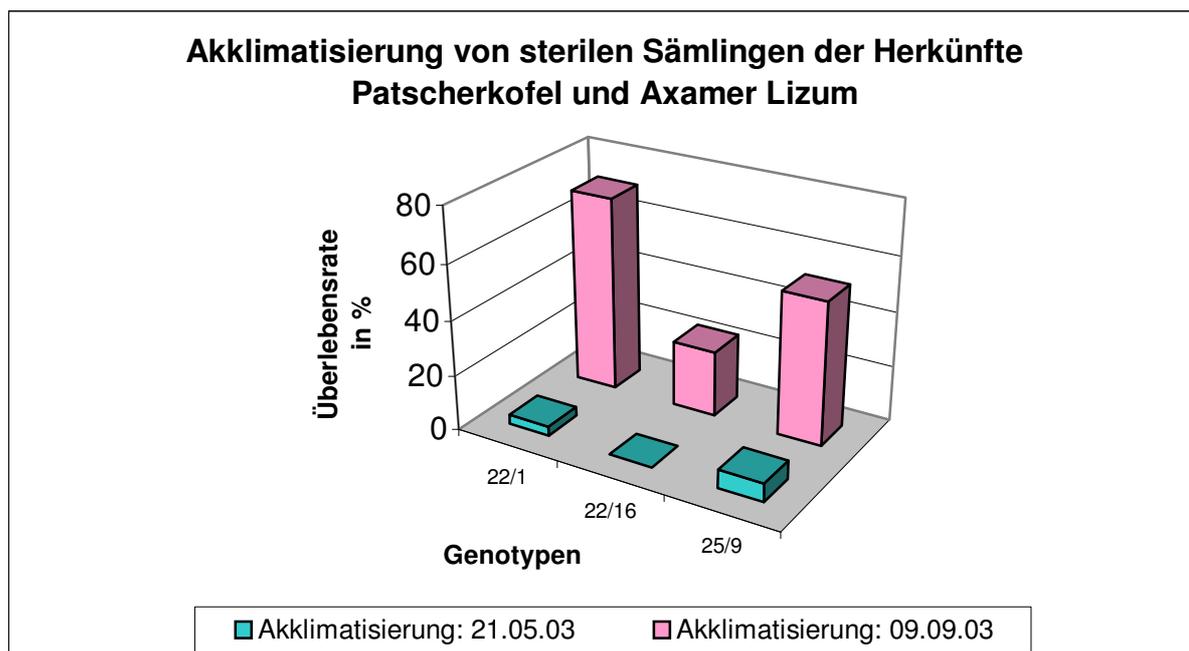


Abb. 2.80: Akklimatisierung von sterilen Sämlingen. Überlebensrate in % der Genotypen 22/1, 22/16 und 25/9 der Herkunft Patscherkofel und Axamer Lizum. Akklimatisierungszeitpunkte 21.05. und 09.09.03.

2.6.4 In-vitro- Bewurzelung der *R. hirsutum* –Herkunft Trnovski gozd

Die *R. hirsutum* -Herkunft Trnovski gozd zeigte neben der geringen Sprossinduktion in der Vermehrung auch in der Bewurzelung eine unzureichende Wurzelinduktion. Während beim Genotyp 21/3/2 (Subklon2) keine Wurzeln induziert werden konnten, bildeten beim Genotyp 21/11, 7,1 % der Sprosse Wurzeln (Abb. 2.81).

Bei den Genotypen der Herkunft Trnovski gozd kann erst nach Optimierung der Vermehrung - somit nach Ausbildung einer ausreichenden Anzahl von Mikrosprossen - die Wurzelinduktion anhand verschiedener IBA- Konzentration ausgetestet werden.

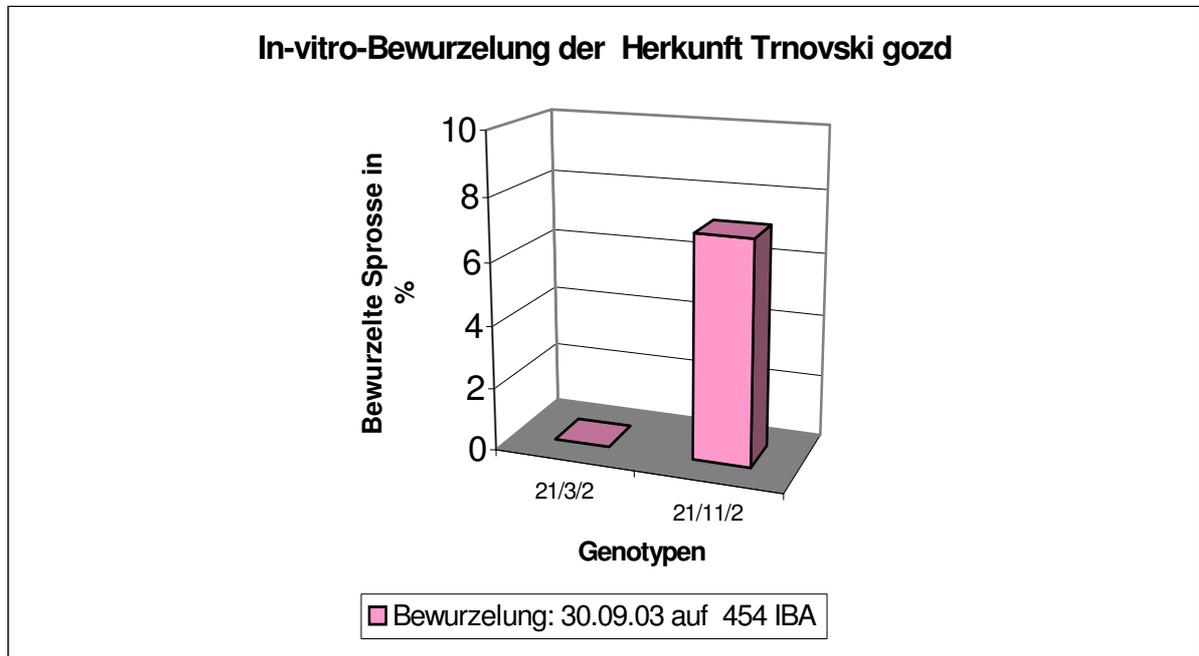


Abb. 2.81: Bewurzelte Sprosse in % bei den Genotypen 21/3 und 21/11 der *R. hirsutum* –Herkunft Trnovski gozd. Bewurzelungsnährboden 454 IBA.

2.6.5 In-vitro- Bewurzelung der *R. x intermedium* –Herkunft Fernpass-Blindsee

Vergleicht man die *R. x intermedium* -Herkunft Axamer Lizum mit der *R. hirsutum* -Herkunft Trnovski gozd so sieht man einen deutlichen Unterschied. Da bei beiden Herkünften die In-vitro-Etablierung über Sprossspitzen und Nodien erfolgte und nicht über Samen, wäre eine mögliche Ursache für eine geringe Wurzelinduktion in der Etablierungsart zu sehen. Diese Begründung konnte jedoch aufgrund der hohen Wurzelinduktionsfrequenzen der beiden Genotypen 29/4 und 29/17 der Herkunft Blindsee widerlegt werden.

Die Subklone 29/4/1, 29/4/2 und 29/4/3 des Genotypen 29/4 bildeten sehr einheitliche Induktionsraten von 69, 73 und 76 % (Abb. 2.82). Vom Genotyp 29/17/1 konnten zu den Bewurzelungszeitpunkten 15.07. und 9.10.03, zu 67 und 69 % Wurzeln induziert werden (Abb. 2.83). Somit zeigten beide Genotypen der Herkunft Fernpass-Blindsee eine zufriedenstellende Wurzelbildung. Die ausstehenden Bewurzelungsversuche des Genotyps 29/18 werden nach Beendigung des Projektes, im Rahmen der fortführenden wissenschaftlichen Tätigkeit durchgeführt.

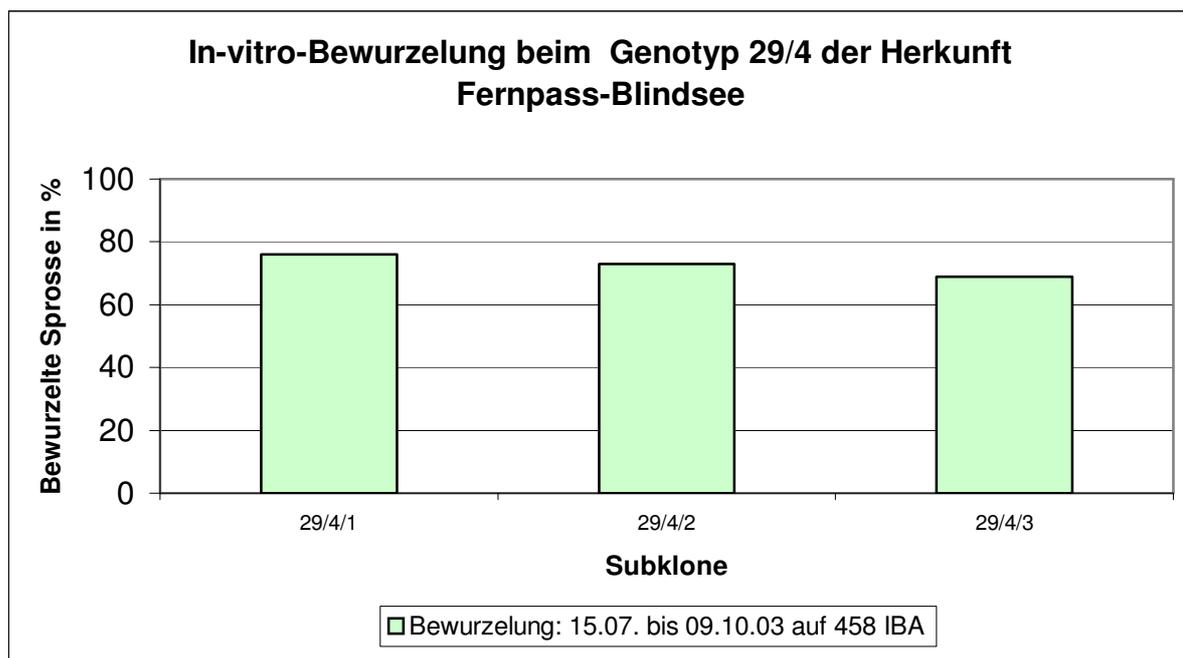


Abb. 2.82: Bewurzelte Sprosse in % beim Genotyp 29/4 der *R. x intermedium* –Herkunft Fernpass-Blindsee. Bewurzelungsnährboden 458 IBA.

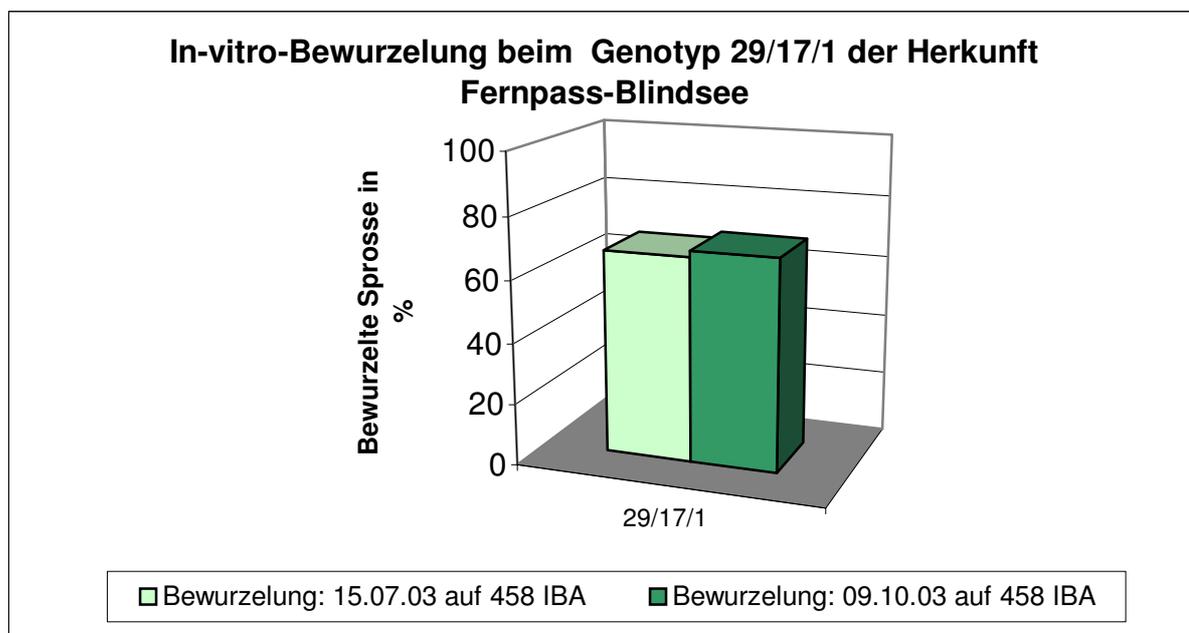


Abb. 2.83: Bewurzelte Sprosse in % beim Genotyp 29/17 der *R. x intermedium* –Herkunft Fernpass-Blindsee. Bewurzelungszeitpunkte 15.07 und 9.10.03. Bewurzelungsnährboden 458 IBA.

2.7 Bodenanalysen

Bedingt durch die unterschiedlichen Bodenansprüche findet man im Normalfall *R. ferrugineum* auf Silikatgestein und *R. hirsutum* auf Karbonatgestein (Kalk, Marmor, Dolomit). Für *R. ferrugineum* gibt es jedoch auch Vorkommen auf Dolomit, Mergel, tonigen Schichten, Buntsandstein, eiszeitlichen Moränen, auf ausgelaugten Böden und Auflagehumus. Im Vergleich dazu meidet *R. hirsutum* saure Böden und ist somit nicht auf Silikatgestein zu finden. Besteht jedoch eine Kontaktzone zwischen Silikat- und Karbonatgestein so kommt es zu Kreuzungen (*R. x intermedium*) zwischen den beiden Arten. Verschiedene Genotypen von *R. x intermedium* wurden in den Nordtiroler Kalkalpen am Fernpass-Blindsee und in der Axamer Lizum beprobt. In der Axamer Lizum sind über kristalline Metamorphite und Paragneis des Altkristallins der Stubai Alpen, Karbonatgesteine des Brennermesozoikum geschichtet (siehe Kapitel 3, Projektpartner 1). Somit wurden *R. x intermedium* – Genotypen über Karbonatuntergrund und in der Kontaktzone zwischen Silikat- und Kalkgestein für die In-vitro-Etablierung beprobt (Tab. 2.3).

Das CaCO_3 , der Kalzit oder Kalkspat ist unter den Karbonaten mengenmäßig am häufigsten vertreten. Seine chemische Widerstandsfähigkeit ist relativ gering. Das reine MgCO_3 , der Magnesit gleicht in vielem dem Kalkspat. $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, der Dolomit ist ein echtes Doppelsalz. Kalkstein, Dolomit, Mergel und Gips sind Ausgangsgesteine für den Bodentyp der Rendسين. Aus harten hochprozentigen Kalken und Dolomiten entstehen flachgründige, aus weichen, porösen und nichtkarbonatreichen Gesteinen (Mergel) tiefgründige Böden. Für *R. hirsutum* ist Moder-Rendسينa ein günstiges Substrat. Der Kalkhumusboden besteht aus humusreichem Mull auf darunter liegendem steinigem Ca-Mineralhorizont.

Für Bestände von *R. ferrugineum* sind alpine Podsolböden auf Silikatgrund typisch (Westhang Patscherkofel). Alpine Podsolböden können aber auch zu oligotrophen Braunerden degenerieren (Nordstandort Patscherkofel.). Bei der Podsolierung kommt es zur Tonzerstörung, Verlagerung von Fe- und Al-Oxiden und von organischen Verbindungen. Mit der Wasserbewegung von oben nach unten ist eine Auswaschung von Basen und damit eine starke Versauerung des Bodens verbunden. Aufgrund der ungünstigen Bedingungen für die Mikroorganismen kommt es zu einem langsamen Abbau der organischen Substanz. Eine Folgeerscheinung davon ist die Ausbildung des Rohhumus oder Auflagehumus.

An den verschiedenen Naturstandorten wurde von den Genotypen, die für die In-vitro-Etablierung ausgewählt wurden, Bodenproben in einer Tiefe von 0 bis 25 cm entnommen. Pro Genotyp wurden ungefähr 1000 g Bodenprobe in Plastiksäckchen gegeben und bis zur Bodenanalyse bei -18°C eingefroren. Die Nährstoffanalysen wurden von der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES, Wien) durchgeführt.

In der Tabelle 2.3 sind die mittleren Mineralstoffgehalte der verschiedenen Naturstandorte angeführt. Die Genotypen der *R. ferrugineum* –Herkunft Patscherkofel West wiesen auf dem alpinen Podsolboden einen stark sauren potentiellen pH-Wert von $3,5 \pm 0,3$ auf. Im Vergleich dazu konnte am Nordhang, wo der Podsol zu oligotropher Braunerde degenerierte ein saurer pH-Wert von 4,7

gemessen werden. Vergleicht man die *R. ferrugineum* -Standorte untereinander so zeigte sowohl der Naturstandort Kirchkogel-Predigtstuhl auf Silikatgestein (Serpentin) als auch der Standort Viote-Trient auf Karbonatgestein schwach saure pH-Werte von 6,2 und $6,0 \pm 0,14$. Da für die Nutzung der verschiedenen Genotypen im Gartenbau eine Anpassung an die Bodenbeschaffung der einzelnen Hausgärten erwünscht wäre, zeigte sich die *R. ferrugineum* -Herkunft Viote-Trient mit dem schwach saurem Boden pH-Wert, als besonders geeignet. Von der *R. ferrugineum* -Herkunft Kirchkogel-Predigtstuhl, die ebenfalls einen schwach sauren Boden pH-Wert aufwies konnten keine Genotypen in vitro etabliert werden.

Bei den Genotypen der Herkunft Patscherkofel West konnten sehr hohe K-, Mg- und Fe -Werte gemessen werden. Im Vergleich dazu wurde am Nordhang, K in niedriger Konzentration, Mg in optimaler und Fe in sehr hoher Konzentration gemessen. Die *R. ferrugineum* -Herkunft Viote-Trient wies sehr hohe Fe-, hohe bis sehr hohe Mg- und mittlere bis sehr hohe Mn -Werte auf.

Alle Genotypen der *R. x intermedium* -Herkunft Axamer Lizum zeigten sehr hohe Mg- und Fe-Gehalte. Die potentiellen Boden pH-Werte betragen bei den Beprobungsstandorten in 1620 m MH (Kontaktzone) 6,9, in 1680 m MH (Karbonat) 6,7 und in 1750 m MH $5,4 \pm 0,57$. Somit konnten bei den in vitro etablierten *R. x intermedium* -Genotypen saure bis neutrale Boden pH-Werte gemessen werden. Bei den Genotypen mit neutralem Boden pH-Wert dürfte es sich um *R. hirsutum* dominante - Genotypen handeln.

Sehr hohe Mg- und Fe- Werte konnten verglichen zur *R. x intermedium* -Herkunft Axamer Lizum auch bei der *R. x intermedium* -Herkunft Fernpass-Blindsee gemessen werden.

Betrachtet man die Nährstoffanalysen der etablierten *R. hirsutum* -Standorte, so konnten folgende Werte ermittelt werden. Während am *R. hirsutum* -Naturstandort Trnovski gozd sehr hohe Mg- und Fe -Werte ermittelt wurden, zeigte der Naturstandort Karwendel-Seeegrube hohe Mg-, und sehr hohe Fe- und Mn -Werte. Für die Naturstandorte Trnovski gozd und Karwendel-Seeegrube wurden pH- Werte von $6,2 \pm 1,0$ und $6,8 \pm 0,07$ ermittelt.

2.8 . Zusammenfassung

Von 10 *Rhododendron* –Wildpopulationen (*R. ferrugineum*, *R. hirsutum*, *R. x intermedium*) konnten 7, mit insgesamt 28 verschiedenen Genotypen erfolgreich in vitro etabliert werden. Hierzu konnten über Triebspitzen und Nodien bei *Rhododendron hirsutum* und *R. x intermedium* der Herkünfte 21, 29 und 25 folgende Genotypen etabliert werden: *R. hirsutum* (21), 3 von 6 (21/3, 21/11, 21/12) Genotypen mit 13 Subklonen; *R. x intermedium* (29), 3 von 7 (29/4, 29/17, 29/18) Genotypen mit 6 Subklonen; *R. x intermedium*. (25), 1 Genotyp von 6 (25/18). Der letztgenannte Genotyp 25/18 fiel im Versuchsjahr 2004 aus, konnte jedoch über sterile Samen erneut etabliert werden. Über Triebspitzen und Nodien konnten keine *R. ferrugineum* -Herkünfte etabliert werden.

Bei der In-vitro-Etablierung über reife Samen konnten alle 22 Genotypen, von 5 beprobten Herkünften etabliert werden. Inwieweit sich die Sämlingsklone vom ursprünglichen Genotyp unterscheiden, kann erst anhand im Glashaus akklimatisierter Pflänzchen beurteilt werden. Bei *R. ferrugineum* konnten deutlich höhere Keimungsraten als bei *R. hirsutum* beobachtet werden. Hierzu konnten bei den *R. ferrugineum* -Herkünften 22 und 26, Keimfrequenzen von 57 bis 83 % (Ausnahme Genotyp 16 mit 19 %) und 42 bis 94 % erzielt werden. Im Vergleich dazu konnte bei den *R. hirsutum* –Herkünften 23 und 24, bei 20 % und 3 bis 12 % eine Keimung induziert werden. Dieser deutliche Unterschied der in der sterilen Keimung zwischen den beiden *Rhododendron* -Wildarten auftrat, konnte interessanterweise zwischen den verschiedenen Genotypen der *R. x intermedium* –Herkunft 25, beobachtet werden. Es konnten Keimungsraten von 5 bis 59 % gemessen werden. Die großen Unterschiede in den Keimungsraten könnten dadurch erklärt werden, dass es sich bei den Extremwerten um *R. ferrugineum*- oder *R. hirsutum* –dominante Genotypen handelt.

Bei der In-vitro-Vermehrung erfolgte bei den über Samen etablierten Genotypen eine Selektion von 10 aus 30 Sämlingsklonen. Hierzu konnten bei den Genotypen 22/1, 22/2, 22/7, 22/11, 22/16, 22/17 und 22/21 der *R. ferrugineum* –Herkunft Patscherkofel maximal $3,4 \pm 1,3$, $3,4 \pm 1,6$, $2,8 \pm 1,1$, $2,9 \pm 0,94$, $2,7 \pm 0,86$, $2,3 \pm 0,99$ und $1,9 \pm 0,87$ vitale Sprosse/Explantat induziert werden. Die einzelnen Genotypen zeigten deutliche Unterschiede in der Induktionsfrequenz. Diese Beobachtung konnte auch bei der *R. x intermedium* -Herkunft Axamer Lizum gemacht werden, wobei Genotyp 25/1 mit $1,7 \pm 0,75$ die geringste Anzahl und Genotyp 25/16 mit $3,6 \pm 1,6$ die höchste Anzahl vitaler Sprosse/Explantat aufwies. Beim Genotyp der *R. hirsutum* –Herkunft 23/23 konnten zu den beiden Boniturzeitpunkten Induktionsfrequenzen von $3,5 \pm 1,6$ und $2,1 \pm 0,93$ erzielt werden.

Bei der über Triebspitzen und Nodien etablierten Herkunft Trnovski gozd konnte bei allen drei Genotypen keine zufriedenstellenden Vermehrungsraten erzielt werden. Im Vergleich dazu wurden bei den beiden Genotypen 29/4 und 29/17, der ebenfalls über Triebspitzen und Nodien etablierten Herkunft Fernpass-Blindsee, hohe Induktionsraten von 3,7 und 3,6 vitaler Sprosse/Explantat erzielt. Genotyp 29/18 derselben Herkunft zeigte jedoch eine geringe Induktionsrate von 1,6 Sprosse/Explantat.

Bei der In-vitro-Bewurzelung von Sämlingsklonen des Genotyps 22/1 der *R. ferrugineum* -Herkunft Patscherkofel, konnten mit Ausnahme des Klons 22/1/28, mit einer Bewurzelungsrate von 38 %, zufriedenstellende Frequenzen von 57 bis 100 % erzielt werden. Von 25 bewurzelten Sämlingsklonen

bildeten 13 Klone zu 100 % Wurzeln aus. Diese zufriedenstellenden Ergebnisse des Genotyps 22/1 konnten auch bei der Akklimatisierung erzielt werden. Bei den Sämlingsklonen 22/1/4, 22/1/11, 22/1/12, 22/1/15 und 22/1/20 konnten sogar Überlebensraten von 100 % erreicht werden.

Bei der *R. x intermedium* -Herkunft Axamer Lizum konnten bei den Sämlingsklonen der Genotypen 25/2, 25/5, und 25/9 ähnliche In-vitro-Bewurzelungsfrequenzen erzielt werden, wobei jedoch bei *R. x intermedium* die Wurzelinduktion circa zwei Wochen später erfolgte.

Die *R. hirsutum* -Herkunft Trnovski gozd zeigte neben der geringen Sprossinduktion in der Vermehrung auch in der Bewurzelung eine unzureichende Wurzelinduktion. Während beim Genotyp 21/3/2 keine Wurzeln induziert werden konnten, bildeten beim Genotyp 21/11, 7,1 % der kultivierten Sprosse Wurzeln aus. Im Vergleich dazu konnten bei der Herkunft Fernpass-Blindsee zwischen den Subklonen 29/4/1, 29/4/2 und 29/4/3 des Genotyps 29/4, zufriedenstellende, einheitliche Bewurzelungsfrequenzen von 69, 73 und 76 % erzielt werden. Auch Genotyp 29/17 zeigte zu den beiden Bewurzelungszeitpunkten einheitliche Frequenzen von 67 und 69 %.

Die Selektion, Bewurzelung und Akklimatisierung der etablierten Sämlingsklone aus 7 *Rhododendron* -Wildpopulationen wird nach Beendigung des Projektes, im Rahmen einer wissenschaftlichen Tätigkeit fortgeführt. Nach Beendigung der wissenschaftlichen Tätigkeit wird diese neue *Rhododendron* -Klonsammlung an die bereits involvierte, österreichische Baumschule verkauft.

2.9 Literatur

Anderson WC (1975) Propagation of *rhododendrons* by tissue culture: Part 1. Development of a culture medium for multiplication of shoots. Comb Proc Int Plant Propagators Soc 25:129-135

Anderson WC (1978a) Tissue culture propagation of *rhododendrons*. In Vitro 14:334 (Abstr)

Anderson WC (1978b) Rooting of tissue-cultured *rhododendrons*. Comb Proc Int Plant Propagators Soc 28:135-139

Anderson W. C. (1980) Tissue culture propagation of red and black raspberries, *Rubus idaeus* and *R. occidentalis*. Acta Hort. 112, 13-20

Anderson WC (1984) A revised tissue cultured medium for shoot multiplication of *rhododendron*. J Am Soc Hortic Sci 109:343-347

Bianco J., Bulard C. (1974) Etude de la germination des graines de *Rhododendron ferrugineum* L. et de *Tofieldia calyculata* (L.) Wahlb. Trav. Sc. Parc National Vanoise 5:121-130

Hegi G. Illustrierte Flora von Mitteleuropa mit besonderer Berücksichtigung von Österreich, Deutschland und der Schweiz. V. Band, 3. Teil

Halbmayer H., Sigmund J. (1998) Findung einer Vermehrungsmethode bei *Rhododendron hirsutum* L. und *R. ferrugineum* L. Versuchsbericht der HBLVA für Gartenbau, Heft 33, GB0201/96:186-189

Halbmayer H., Kupfer J. (2000) Vermehrung von *Rhododendron hirsutum* und *Rh. ferrugineum*. Versuchsbericht der HBLVA für Gartenbau, Heft 35, BGB 3052: 85-91

HRISTOFOROGLU K (2004) *Rhododendron* -Wildarten. Gärtner + Florist 1:12-13

HRISTOFOROGLU K (2004) Wilde Rhodos im Labor . Deutsche Baumschule 1:43-45

Hristoforoglu K., Halbmayr H. (2001) Bewurzelung von *Rhododendron* in Vitro und in Vivo. Versuchsbericht der HBLVA für Gartenbau, Heft 36, BGB 3344: 122-125

HRISTOFOROGLU K., FLUCH S., WAGNER J. (2003) In vitro Etablierung und gezielte Selektion von *Rhododendron ferrugineum* und *R. hirsutum*. Erfassung der genetischen Vielfalt mittels Mikrosatelliten. Zwischenbericht an das BMLFUW. April 2003

HRISTOFOROGLU K., FLUCH S., WAGNER J. (2004) Posterpräsentation: In-vitro-Etablierung und gezielte Selektion von *Rhododendron ferrugineum* und *R. hirsutum*. Erfassung der genetischen Vielfalt mittels Mikrosatelliten. 41. DGG-Tagung, Wien (25.02-28.02). "Lebensmittelqualität und Lebensmittelsicherheit - Herausforderung und Chance für den europäischen Gartenbau", Kurzfassungen der Vorträge und Poster, BDGL - Schriftenreihe Band 22

Lloyd GB, McCown BH (1980b) Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* species. HortSci 15:416-417 (Abstr)

McCown BH, Lloyd GB (1981) Woody plant medium (WPM) – a mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species. HortSci 16:453 (Abst)

McCown BH, Lloyd GB (1983) A survey of the response of *Rhododendron* to in vitro culture. Plant Cell Tissue Org Cult 2:77-85

PPM. A powerful technology to prevent and eliminate microbial contamination. <http://www.ppm4plant-tc.com/>

ORF ON Science – <http://science.orf.at/science/news/74485>: Projekt "Almrausch", 2003

Sigmund J. (1997) Findung einer Vermehrungsmethode bei *Rhododendron hirsutum* und *R. ferrugineum*. Versuchsbericht der HBLVA für Gartenbau, Heft 32, GB020102/96: 26-28

Sigmund J., Halbmayr H. (1999) Vermehrung von *Rhododendron hirsutum* und *Rh. ferrugineum*. Versuchsbericht der HBLVA für Gartenbau, Heft 34, 0101/95:94-95

Steiger, P. (1995): Gutachten Schutzwürdige Waldflächen Kanton Graubünden, unveröffentlicht. http://www.ubavie.gv.at/umweltsituation/biodiv/biodiv_d.htm