

Untersuchungen über die Kallusbildung von di- und tetraploiden Reben in vitro

von

G. STAUDT, H.-G. BORNER und H. BECKER

Studies on callus growth of di- and tetraploid grapes in vitro

S u m m a r y . — Callus growth on shoot explants of di- and tetraploid *Vitis vinifera* "Riesling" and "Portugieser" was investigated in vitro. After 42 days the 4x explants showed on "Riesling" 28% more callus, and on "Portugieser" the increase was 65%.

There was no difference in the dry weight of the calli of diploid and tetraploid "Portugieser" explants. Therefore, the increased fresh weight of the calli of the 4x explants can be traced back to a higher water content of the cells. The average length of the calli cells of the tetraploid explants was almost double that of the 2x, while the width was equal. Accordingly, the length/width index was increased from 1.9 to 3.3. The average volume of the callus cells of the 4x explants was doubled.

The increased production of callus on the tetraploid explants must, to a certain extent, be traced back to polyploidisation, which is found equally in both types of callus. Although there is an equal occurrence of polyploidisation in the calli of 2x and 4x explants, the secondary increase of cell size, which is due to this polyploidisation, is more prominent in the calli of the 4x explants.

Einleitung

Kalluskulturen von Reben wurden bereits mit verschiedener Zielsetzung angelegt. So versuchte MOREL (1948) das Wirt-Parasit-Verhältnis dadurch zu untersuchen, daß er Rebenkallus mit *Oidium tuckeri*, *Uncinula necator* und *Plasmopara viticola* infizierte. Rebenkalli lassen sich auch zur Haltung von Rebläusen unter definierten Umweltbedingungen verwenden (RILLING und RADLER 1960). ARYA *et al.* (1962), ARYA (1965) und PELET *et al.* (1959) führten vergleichende Untersuchungen an normalem Sproßkallus und Kallus aus durch *Phylloxera* induzierten Gallen durch. ALLEWELDT und RADLER (1961, 1962) untersuchten das Kalluswachstum fotoperiodisch verschieden behandelte Rebenpflanzen und ALLEWELDT (1968) diskutierte, ob man die in vitro-Kultur als frühdiagnostisches Prinzip zur Ermittlung der Kallus- und Wurzelbildung in der Unterlagenzüchtung verwerten kann.

Im Zusammenhang mit den Untersuchungen zur Züchtung tetraploider Reben (WAGNER 1958, BAUER 1968, STAUDT und KASSRAVI unveröffentlicht) erschien es wichtig, das Wachstumsverhalten von di- und tetraploiden Reben in vitro zu untersuchen, um eventuell unterschiedliche Reaktionen in vivo erklären zu können.

Material und Methoden

Zu den Untersuchungen wurden Internodien und Blattstiele folgender Sorten herangezogen:

2x <i>Vitis vinifera</i> „Riesling 7“	Herkunft: Bernkastel-Kues, Mosel (2x R)
4x <i>Vitis vinifera</i> „Riesling 7“	Herkunft: Bernkastel-Kues, Mosel (4x R)
2x <i>Vitis vinifera</i> „Portugieser“	Herkunft: Ingenheim, Pfalz (2x P)
4x <i>Vitis vinifera</i> „Portugieser“	Herkunft: Ingenheim, Pfalz (4x P)

Die Sterilisation erfolgte mit frisch zubereiteter 9%iger Chlorkalklösung (20 min). Anschließend wurde mehrmals mit sterilem H₂O gewaschen.

Bei den Vorversuchen wurden die Explantate waagrecht auf das Medium gelegt und die Epidermis angeritzt, um ein besseres Eindringen der Nähr- und Wachstoffsstoffe zu ermöglichen. Bei den quantitativen Versuchen wurden die Explantate bis zu einem Drittel senkrecht in das Medium gesteckt.

Das Nährmedium wurde nach MURASHIGE und SKOOG (1962) mit 30 g Glucose/l, 1,0 mg α -Naphthylelessigsäure/l und 0,5 mg Kinetin/l angesetzt. Anstelle der von MURASHIGE und SKOOG angegebenen Saccharose wurde Glucose verwendet, weil nach SLABECKA-SZWEYKOWSKA (1952) für *Vitis*-Kalluskulturen Glucose günstiger sein soll.

In Vorversuchen mit verschiedenen Wachstoffsstoffen, IES, NES und 2,4 D, wurde NES als der das Kalluswachstum am stärksten fördernde Wachstoffsstoff ermittelt.

Die Kulturen wurden bei $25 \pm 2^\circ$ C gehalten und einem 12 Stunden-Tag mit Osram Fluora-L-Lampen ausgesetzt. Die Beleuchtungsstärke betrug in der Höhe der Kulturen ca. 500 Lux, was einer Beleuchtungsstärke von ca. 3000 Lux Tageslicht entspricht.

Ergebnisse

1. Am 30. 7. 1970 wurden von Freilandpflanzen der vier Varianten ausgewachsene Blattstiele aus dem apikalen Triebbereich geerntet und Explantate etwa gleichen Durchmessers mit einem Gewicht von 350 ± 10 mg in Kultur genommen. Jeweils im Abstand von 7 Tagen wurden pro Variante 10 Kalli untersucht. Neben der absoluten Gewichtszunahme wurden nach der Formel $\ln w_e/w_0 = r \cdot t$ der prozentuale Zuwachs pro Tag bestimmt (CAPLIN 1947), wobei w_e Endgewicht, w_0 Ausgangsgewicht, r Wachstumsrate in % und t Zeit in Tagen ist.

Wie die Abb. 1 zeigt, begann das Wachstum mit einer mehr oder weniger ausgeprägten lag-Phase, deren Dauer nach STREET *et al.* (1965) u. a. von der Größe der Explantate und deren Vorbehandlung abhängt. Bis zum 21. Tag nach Kulturbeginn war die Kallusbildung bei allen Varianten annähernd gleich. Die Unterschiede

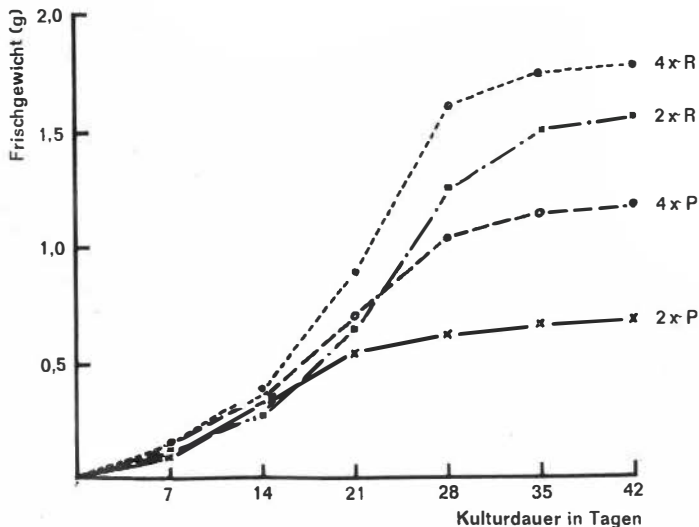


Abb. 1: Kallus-Wachstumskurven von di- und tetraploidem *Vitis vinifera* „Riesling“ und „Portugieser“.

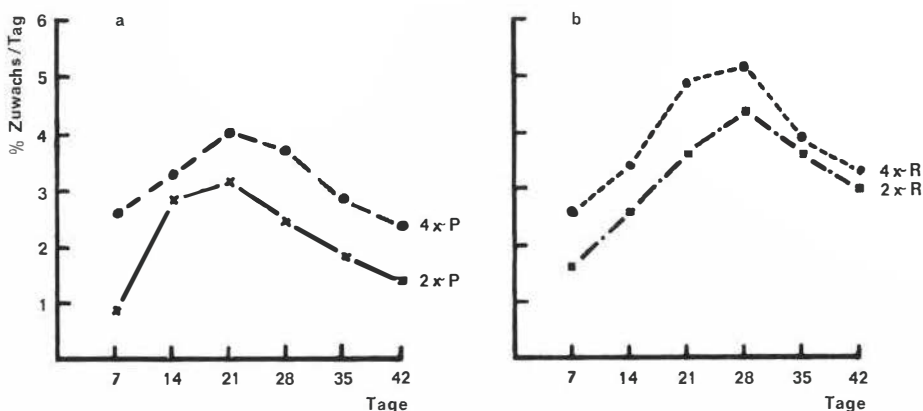


Abb. 2: Zuwachsrate der Kalli von di- und tetraploidem *Vitis vinifera* „Riesling“ (b) und „Portugieser“ (a).

waren nicht signifikant, obwohl schon nach 7 Tagen eine stärkere Kallusbildung bei 4x R sichtbar war. Die exponentielle Wachstumsphase begann nach 7—14 Tagen. Sie ging bei 2x P nach 21, bei 4x P, 2x und 4x R nach 28 Tagen in die stationäre Phase über.

Zwischen den Sorten Riesling und Portugieser und innerhalb der Sorten zwischen den Polyploidiestufen war ein sehr unterschiedliches Kalluswachstum zu beobachten. Die tetraploiden Varianten produzierten erheblich mehr Kallus als die entsprechenden diploiden. Nach 42 Tagen hatte 4x P 65% mehr Kallus produziert als 2x P und 4x R 28% mehr als 2x R. Alle Meßwerte nach 28, 35 und 42 Tagen sind mit $P < 0,01$ signifikant unterschiedlich, d. h. auch zwischen den Sorten bestehen Unterschiede.

Den höchsten prozentualen Zuwachs zeigten die Portugieser-Kalli (2x und 4x) um den 21. Tag, die Riesling-Kalli dagegen erst um den 28. Tag nach Versuchsbeginn. Das Maximum für die Riesling-Kulturen lag dabei deutlich höher als das der Portugieser-Kulturen (Abb. 2a und b).

2. Um zu prüfen, ob das höhere Kallus-Frischgewicht der 4x-Varianten das Ergebnis einer erhöhten Stoffproduktion ist oder auf einen höheren Wassergehalt der Zellen zurückzuführen ist, wurden in einem weiteren Versuch Frisch- und Trockengewichte von 2x und 4x Portugieser untersucht. Es wurden vom 15. 2. 1971 ab ungefähr 1 cm lange Internodiensegmente von etwa gleichem Durchmesser mit einem Ausgangsgewicht von 100 ± 10 mg kultiviert. Als Ausgangsmaterial dienten junge Sproßachsen von angetriebenen 2-Augen-Stecklingen.

Das Kalluswachstum stimmte im Prinzip mit den Ergebnissen unter 1 überein (Abb. 3a). Es wurde jedoch nur die halbe Menge Kallus produziert wie im Versuch 1. Das kann sowohl auf das unterschiedliche Ausgangsmaterial, Blattstiele — Sproßachsen, als auch auf das geringere Ausgangsgewicht der Explantate zurückgeführt werden. Wie im Versuch 1 beendete die 2x-Variante nach 21 Tagen, die 4x-Variante dagegen erst nach 28 Tagen die Phase des exponentiellen Wachstums und ging in die stationäre Phase über. Vom 21. Tag an war der Kalluszuwachs bei der 4x-Variante deutlich stärker als bei der diploiden. Die Unterschiede der Meßwerte am 28., 35. und 42. Tag sind mit $P < 0,01$ signifikant. Nach 42 Tagen hatten die tetraploiden Explantate 59% mehr Kallus gebildet als die diploiden.

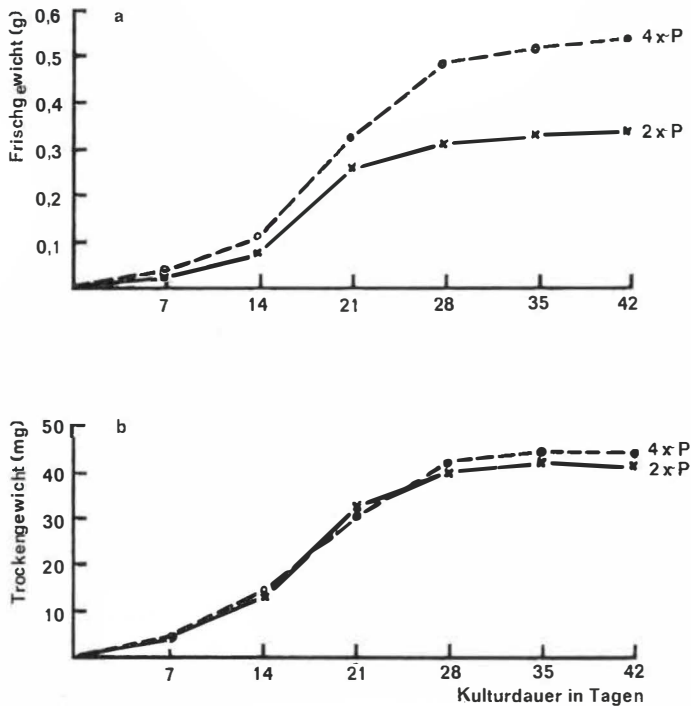


Abb. 3: Kallus-Wachstumskurven von di- und tetraploidem *Vitis vinifera* „Portugieser“, a. Frischgewicht, b. Trockengewicht.

Die Bestimmungen der Trockengewichte ergaben trotz der deutlichen Unterschiede beim Frischgewicht für die 2x- und 4x-Kalli fast übereinstimmende Ergebnisse. Auch das um 3% höhere Trockengewicht der tetraploiden Kalli nach 42 Tagen erwies sich gegenüber dem Trockengewicht der diploiden Kalli mit $P > 0,05$ als nicht signifikant unterschiedlich (Abb. 3b).

3. Nach 17 Tagen, also während der exponentiellen Wachstumsphase, wurden die „weißen“ Kalli (s. S. 5) mikroskopisch untersucht. Es zeigte sich, daß die Zellen von diploiden Explantaten deutlich kleiner waren als die von tetraploiden Explantaten. Die Zellbreite war dabei nahezu gleich. Signifikant unterschiedlich war jedoch die Länge der Zellen. Die Kalluszellen der tetraploiden Explantate waren nahezu doppelt so lang wie die der diploiden Explantate. Somit ergab sich eine Erhöhung des Längen/Breitenindex von di- zu tetraploid von 1,9 auf 3,3. Das Volumen der Kalluszellen der tetraploiden Explantate war verdoppelt und die Oberfläche der Zellen war nahezu verdoppelt (Tab. 1).

4. Bei vier Ansätzen innerhalb der Monate April—Juli konnte eine deutliche Abhängigkeit der Kallus- und Wurzelbildung von der Jahreszeit beobachtet werden (Tab. 2). Die Kallusbildung nahm von April bis Juli sukzessiv ab, während die Tendenz zur Wurzelbildung zunahm. Im April bildeten alle Varianten zu 100% Kallus aus, während bei den Ansätzen im Juli bei den diploiden nur ungefähr die Hälfte, bei den tetraploiden ungefähr zwei Drittel der Explantate Kalli bildeten.

5. Bei den senkrecht im Medium stehend kultivierten Explantaten wurden zwei verschiedene, sich in Farbe und Konsistenz unterscheidende Kallustypen gebildet

Tabelle 1

Messungen an Kalluszellen von di- und tetraploiden *V. vinifera* „Portugieser“-Explantaten

	2x P	4x P
\bar{x} Breite der Zellen	44,8 ± 23,1 μm	46,2 ± 18,9 μm
\bar{x} Länge der Zellen	87,5 ± 40,1 μm	155,8 ± 49,7 μm
Längen/Breitenindex	1,9	3,3
Volumen/Zelle	114,33 · 10 ⁴ μm^3	235,25 · 10 ⁴ μm^3
Oberfläche/Zelle	12,31 · 10 ⁴ μm^2	22,60 · 10 ⁴ μm^2
Oberfläche/Volumenindex	0,108	0,096

(Abb. 4a und b). Zunächst entstand an den Explantaten auf der Höhe der Oberfläche des Nährmediums ein grauer, lockerer Kallus, der sich rings um das Explantat auf der Oberfläche des Agars ausbreitete. Einige Tage später begann an der oberen Schnittfläche des Explantats ein weißer, fester Kallus auszuwachsen, der schnell die gesamte Schnittfläche überwucherte, aber immer ohne Kontakt mit dem Nährmedium blieb.

Die mikroskopischen Untersuchungen zeigten, daß der „weiße“ Kallus aus dem Kambium hervorgegangen war, wie es für viele Holzgewächse als typisch nachgewiesen worden ist (GAUTHERET 1959). Der „graue“ Kallus war dagegen aus Rindenparenchymzellen hervorgegangen. Das Kambium hatte hier etwa das gleiche Aussehen wie in den Explantaten bei Versuchsbeginn (Abb. 5a, b, c).

Tabelle 2

Das Wachstum der Explantate nach 28 Tagen in Abhängigkeit von der Jahreszeit

Sorte	Versuchsbeginn	Explantate n	Explantate mit Kallus %	Explantate mit Wurzeln %
2x P	23. 4.	30	100	60
	3. 6.	30	83	55
	4. 7.	100	45	80
	31. 7.	100	52	100
4x P	23. 4.	30	100	0
	3. 6.	30	92	10
	4. 7.	100	72	10
	31. 7.	100	67	18
2x R	23. 4.	30	100	0
	3. 6.	30	96	10
	4. 7.	—	—	—
	31. 7.	100	51	35
4x R	23. 4.	30	100	0
	3. 6.	30	98	20
	4. 7.	—	—	—
	31. 7.	100	64	16

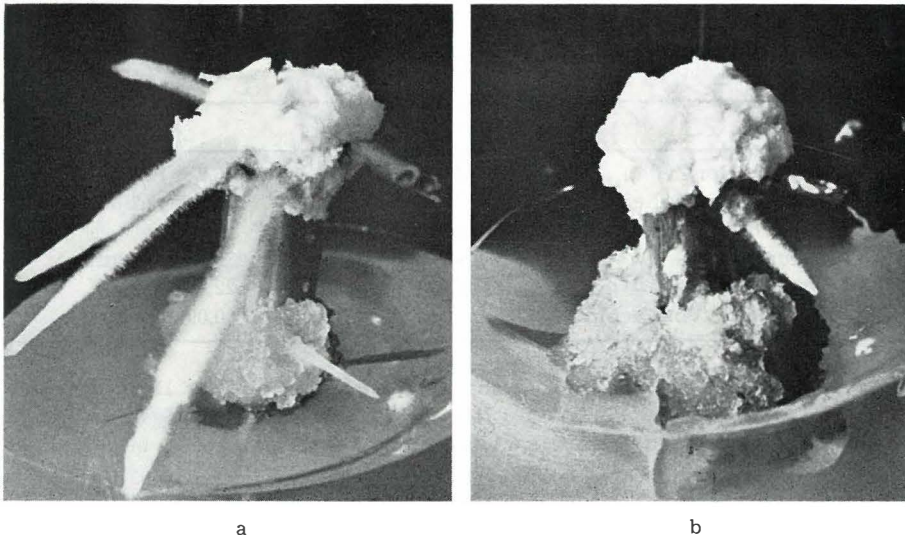


Abb. 4: Kallus- und Wurzelwachstum an Explantaten von *Vitis vinifera* „Portugieser“, a. diploid, b. tetraploid.

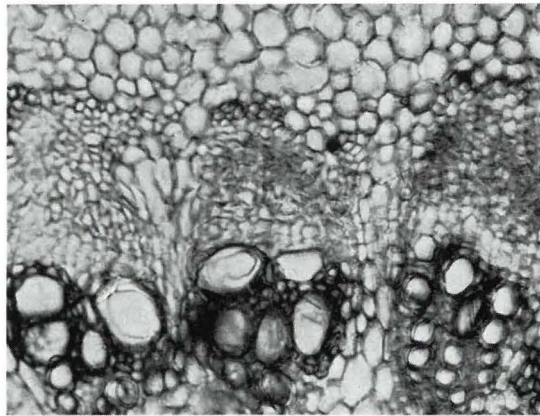
Der „weiße“ Kallus blieb während der gesamten Versuchsdauer und auch bei den folgenden Passagen weiß. Beim grauen Kallus der 2x und 4x P-Explantate wurden nach etwa drei Wochen anthozyanhaltige Zellen ausgebildet.

Diskussion

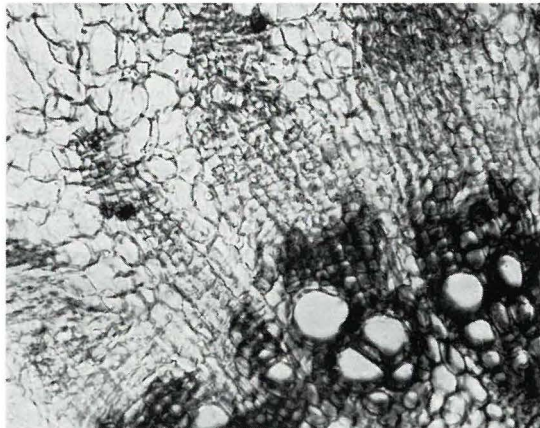
Spontan oder artifiziell entstandene Polyploide unterscheiden sich von ihren diploiden Ausgangsformen durch eine Reihe von Merkmalen, die charakteristisch für Polyploide sind. Seit den ersten vergleichenden Untersuchungen an di- und artifiziell tetraploiden Pflanzen weiß man, daß sich die tetraploiden Pflanzen meist durch eine geringere Wachstumsrate von den diploiden Ausgangspflanzen unterscheiden. In vielen Untersuchungen hat SCHWANITZ nachgewiesen, daß wahrscheinlich alle Unterschiede zwischen di- und tetraploiden Pflanzen auf die, durch die höhere Chromosomenzahl bedingte, Volumenvergrößerung der Zellen der tetraploiden Pflanzen zurückgeführt werden kann. In den meisten Fällen tritt dabei eine Verringerung des Längen/Breiten-Index von Zellen und Organen auf (PIRSCHLE 1942 a, b, SCHWANITZ 1953), wodurch das Verhältnis Zelloberfläche/Volumen verringert wird. Als Folge dieser relativen Verringerung der Zelloberfläche kann man bei den tetraploiden Zellen mit einem verringerten Stoffwechsel rechnen (SCHWANITZ 1953).

Aufgrund dieser Ergebnisse sollte man kein gesteigertes Kalluswachstum bei den tetraploiden Reben erwarten. Nach 42tägiger Kultur konnte aber bei den tetraploiden Formen der Sorten Riesling und Portugieser ein um 28% bzw. 65% stärkeres Kalluswachstum nachgewiesen werden. Auch BAUER (1968) hat bei drei tetraploiden Sorten ein stärkeres Kalluswachstum beobachtet, so daß es sich hierbei sehr wahrscheinlich um eine charakteristische Eigenschaft der tetraploiden Reben handelt. Vielleicht ist es sogar charakteristisch für alle Polyploiden. Bisher sind unseres Wissens keine vergleichenden Untersuchungen an di- und polyploiden Kalluskulturen durchgeführt worden, so daß diese Frage offen bleiben muß.

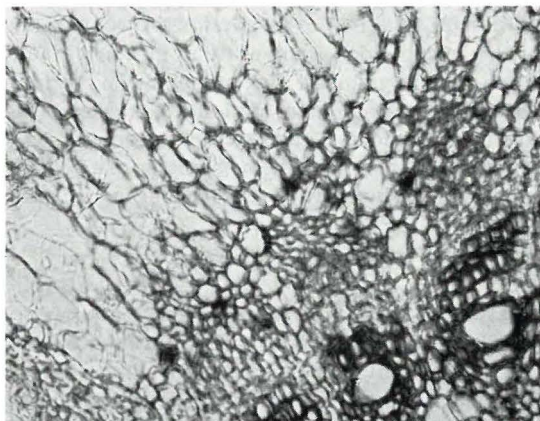
Die jahreszeitlich bedingte Abnahme der Kallusbildung stimmt mit Beobachtungen von MOREL (1948) und ALLEWELDT (1968) überein. MOREL vermutete, daß es



a



b



c

Abb. 5: Die Entstehung des „weißen“ und „grauen“ Kallus an Explantaten von diploidem *Vitis vinifera* „Portugieser“. a. Sproßquerschnitt bei Versuchsbeginn, b. Sproßquerschnitt mit gesteigerter Aktivität des Kambiums („weißer Kallus“), c. Sproßquerschnitt mit Zellteilungs- und Streckungsaktivität des Rindenparenchyms („grauer Kallus“), normale Aktivität des Kambiums. Vergrößerung ca. 100 \times .

sich um eine Hemmstoffwirkung handelt, da das Wachstum auch durch höhere Wuchsstoffgaben nicht stimuliert werden konnte. MOREL (1948) hat bei den meisten Rebensorten nur einen Kallus am apolaren Ende der Explantate erhalten. Aufgrund unserer Untersuchungen ist das verständlich, denn er hatte das Rindenparenchym, aus dem bei unseren Versuchen der „graue“ Kallus hervorgegangen ist, zuvor abgeschält.

Die Tendenz zur Wurzelbildung (Tab. 2) scheint sortenspezifisch zu sein, worauf ALLEWELDT (1968) schon hinwies; zum anderen hängt sie von der jahreszeitlichen Entwicklung und von der Polyploidiestufe ab. Der diploide Portugieser zeigte während der gesamten Versuchsdauer eine höhere Wurzelbildungstendenz als der tetraploide (Abb. 4a und b).

Weiterhin war die Frage zu klären, ob die erhöhte Kallusbildung nur eine Folge der durch die Polyploidie ausgelösten Zellvergrößerung ist, oder ob die Anzahl der Zellen erhöht ist. Nach den Trockengewichtsbestimmungen kann man die letzte Erklärung wahrscheinlich ausschließen. Die geringe Erhöhung des Trockengewichts bei $4x$ P ist nicht signifikant. Die erhöhte Produktion an Kallus-Frischgewicht beruht wahrscheinlich allein auf dem erhöhten Wassergehalt der Zellen. Im Durchschnitt war das Volumen der Kalluszellen aus den tetraploiden Explantaten verdoppelt (untersucht an 17 Tage alten Kulturen). Abweichend von den meisten artifizuell oder spontan entstandenen Polyploiden nahm aber der Längen/Breiten-Index zu, so daß die mit der Volumenvergrößerung einhergehende Oberflächenverringerung relativ gering ist. Das Verhältnis Oberfläche/Volumen war mit 0,096 mit dem Verhältnis von 0,108 bei den diploiden Zellen sogar fast übereinstimmend (Tab. 1). Wenn die Interpretation von SCHWANITZ (1953) zu Recht besteht, dann müßte man demnach für die Kalluszellen der tetraploiden Explantate annähernd die gleichen Bedingungen des Zellstoffwechsels voraussetzen wie für die der diploiden Explantate.

Seit langem ist bekannt, daß in Kalluskulturen Endopolyploidie und chromosomale Aberrationen auftreten können (REINERT und TORREY 1961, MITRA und STEWARD 1961, D'AMATO 1964, TULECKE 1964). In unseren Untersuchungen wurden Zellen gefunden, in denen wahrscheinlich bis zu drei Polyploidisierungen stattgefunden haben (STAUDT, BORNER und BECKER, in Vorbereitung). Obwohl die Polyploidisierungen in den Kalli der di- und tetraploiden Explantate in gleichen Häufigkeiten auftraten, macht sich der Anteil der polyploiden Zellen bei der Errechnung der Volumina der Zellen aus den Kalli der tetraploiden Explantate stärker bemerkbar als bei den Zellen aus den Kalli der diploiden Explantate. Die erhöhte Kallusproduktion der tetraploiden Explantate muß also zu einem gewissen Teil auf die mit der Polyploidisierung einhergehende sekundäre Zellvergrößerung zurückgeführt werden.

Zusammenfassung

An Sproßexplantaten von di- und tetraploidem *Vitis vinifera* „Riesling“ und „Portugieser“ wurde das Kalluswachstum *in vitro* untersucht. Nach 42 Tagen hatte sich an den tetraploiden Explantaten der Sorte Riesling 28%, an den tetraploiden Explantaten der Sorte Portugieser 65% mehr Kallus gebildet als an den betreffenden diploiden Explantaten.

Das höhere Frischgewicht der Kalli von tetraploiden Explantaten kann auf den höheren Wassergehalt der Zellen zurückgeführt werden. Es konnte kein Unterschied im Trockengewicht der Kalli von di- und tetraploiden Explantaten der Sorte Portugieser festgestellt werden. Die durchschnittliche Länge der Kalluszellen von

tetraploiden Explantaten war gegenüber denen von diploiden Explantaten nahezu verdoppelt, während die Breite der Zellen gleich war. Dadurch war der Längen/Breitenindex bei den Kalluszellen der tetraploiden Explantate von 1,9 auf 3,3 erhöht. Das durchschnittliche Volumen der Kalluszellen der tetraploiden Explantate war verdoppelt.

Die erhöhte Kallusbildung an den tetraploiden Explantaten muß zu einem gewissen Teil auf Polyploidisierungen zurückgeführt werden, die in beiden Kallustypen festgestellt werden konnte. Obwohl diese Polyploidisierungen in den Kalli der di- und tetraploiden Explantate gleich häufig auftraten, wirkte sich die dadurch bedingte sekundäre Vergrößerung der Zellen in den Kalli der tetraploiden Explantate stärker aus als in den Kalli der diploiden Explantate.

Literaturverzeichnis

- ALLENWELDT, G., 1968: Ein frühdiagnostisches Prinzip zur Ermittlung der Kallusbildung in der Unterlagenzüchtung. *Vitis* 7, 185—200.
- — und RADLER, F., 1961: Das Wachstum der Gewebekulturen photoperiodisch vorbehandelter Rebenpflanzen. *Naturwiss.* 48, 109.
- — und — —, 1962: Interrelationship between photoperiodic behavior of grapes and the growth of plant tissue cultures. *Plant Physiol.* 37, 376—379.
- ARYA, H. C., 1965: Culture behavior of insect gall and normal plant stem single cell-clones. In RAMAKRISHNAN: *Tissue culture*, Junk Publishers, Den Haag.
- —, HILDEBRANDT, A. C. and RIKER, A. J., 1962: Growth in tissue culture of single cell-clones from grape stem and *Phylloxera* gall. *Plant Physiol.* 37, 387—392.
- BAUPE, O., 1968: Polyploide Vitaceae, experimentelle Herstellung und vergleichende Untersuchungen an polyploiden Reben und ihren Ausgangsformen. Diss. Gießen.
- CAPLIN, S. M., 1947: Growth and morphology of tobacco tissue cultures. *Amer. J. Bot.* 46, 324—329.
- D'AMATO, F., 1964: Endoploidy as a factor in plant tissue development. *Caryologia* 17, 41—52.
- GAUTHIERET, R. J., 1959: *La culture des tissus végétaux*. Masson et Cie., Paris.
- MITRA, J. and STEWARD, F. C., 1961: Growth induction in cultures of *Haplopappus gracilis*. *Amer. J. Bot.* 48, 358—368.
- MOREL, G., 1948: Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. *Ann. Epiphyties (Paris)* 14, 123—124.
- MURASHIGE, T. and SKOOG, F., 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant. (Lund)* 15, 473.
- PELET, F. A., HILDEBRANDT, C., RIKER, A. J. and SKOOG, F., 1959: Growth in vitro of tissues isolated from normal stems and insect galls. *Amer. J. Bot.* 47, 186—195.
- PIRSCHLE, K., 1942: Quantitative Untersuchungen über Wachstum und Ertrag autopolyploider Pflanzen. *Z. Vererbungsl.* 80, 126—156.
- —, 1942: Weitere Untersuchungen über Wachstum und Ertrag von Autopolyploiden (2n, 3n, 4n) und ihren Bastarden. *Z. Vererbungsl.* 80, 247—270.
- REINERT, J. and TORREY, J. G., 1961: Über die Kultur von Geweben aus *Haplopappus gracilis*. *Naturwiss.* 48, 132.
- RILING, G. und RADLER, F., 1960: Die kontrollierbare Aufzucht der Reblaus auf Gewebekulturen von Reben. *Naturwiss.* 47, 547—548.
- SCHWANITZ, F., 1953: Die Zellgröße als Grundelement in Phylogenese und Ontogenese. *Züchter* 23, 17—44.
- SLABECKA-SZWEJKOWSKA, A., 1952: On the conditions of anthocyanin formation in the *Vitis vinifera* tissue cultivated in vitro. *Act. Soc. Bot. Pol.* 21, 537—576.
- STAUDT, G., BORNER, H.-G. und BECKER, H.: Karyologische Untersuchungen an Kalluskulturen von di- und tetraploiden Reben (*Vitis vinifera*) (in Vorbereitung).
- STREET, H. E., HENSHAW, G. and BUIATTI, M. C., 1965: The culture of isolated plant cells. *Chem. and Ind.* 1, 27.
- TULECKE, W., 1964: Advantages of plant tissue cultures for working at the cellular level. *Phytomorph.* 14, 148—154.
- WAGNER, E., 1958: Über spontane tetraploide Mutanten von *Vitis vinifera* L. *Vitis* 1, 197—217.

Eingegangen am 25. 2. 1972

Prof. Dr. G. STAUDT
BFA für Rebenzüchtung
Geilweilerhof
6741 Siebeldingen