



Zoltán Sinkó (Autor)

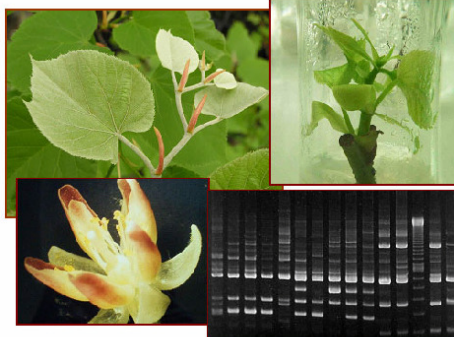
**Untersuchungen zu genotypspezifischen Reaktionen  
und zur taxonomischen Zugehörigkeit bei der In-  
vitro-Regeneration von stresstoleranten Sorten der  
Gattung *Tilia*, einschließlich in Ungarn selektierter  
Klone für die spätere Verwendung im urbanen Raum**

Zoltán Sinkó

---

**Untersuchungen zu genotypspezifischen Reaktionen  
und zur taxonomischen Zugehörigkeit bei der In-vitro-  
Regeneration von stresstoleranten Sorten der Gattung  
*Tilia*, einschließlich in Ungarn selektierter Klone für  
die spätere Verwendung im urbanen Raum**

---



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/2589>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

## 2 Zielstellung

Linden sind größtenteils an Standorten in Städten gepflanzt, wo sie deutlich höherer Stressbelastung ausgesetzt sind, als sie eigentlich ertragen können. Im Straßenbaumsortiment stehen jedoch nur vier geeignete Lindensorten für die Verwendung an sehr belasteten urbanen Standorten zur Verfügung. Demgegenüber sind noch keine Klone ausgewählt, die als stress-tolerante Lindenunterlagen im städtischen Bereich verwendbar wären. Daher ist die weitere Auswahl und Prüfung solcher Klone, die urbane Standorte ohne Schädigungen tolerieren können, ausgesprochen wünschenswert.

In Budapest, an der Corvinus-Universität (Gartenbauwissenschaftliche Fakultät, Fachgebiet Zierpflanzenbau und Dendrologie), wurden zwei Lindenklone (*Tilia* 'Szent István' und *Tilia* 'K3') aufgrund ihrer Vitalität aus einer Lindenallee an einem stark belasteten Standort ausgewählt. Um die Verwendungseignung dieser Klone später bewerten zu können, müssen diese autovegetativ vermehrt werden. Die in Ungarn durchgeführte Stecklingsvermehrung beider Klone war allerdings mit Problemen verbunden.

Die einzige Möglichkeit zur effektiven, autovegetativen Vermehrung dieser Lindenklone bietet die In-vitro-Regeneration. Es ist aber allgemein bekannt, dass In-vitro-Techniken bei der Gattung *Tilia* an die genotypspezifischen Eigenschaften der Klone angepasst werden müssen.

Daher ist es das wichtigste Ziel der Untersuchungen der vorliegenden Arbeit, eine entsprechende In-vitro-Vermehrungsmethodik für *Tilia* 'Szent István' und *Tilia* 'K3' zu erarbeiten. Um mit dem mikrovermehrten Pflanzenmaterial zukünftig wissenschaftlich fundierte bzw. vergleichbare Aussagen über die Standorteignung der beiden ungarischen Klone treffen zu können, sollen zugleich In-vitro-Vermehrungstechnologien für andere stresstolerante Sorten eingeführt werden. Aufgrund dessen ist es ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit, die Sorten *Tilia cordata* 'Wega', *Tilia* × *vulgaris* 'Pallida' und *Tilia tomentosa* 'Szeleste' in vitro zu vermehren und für die stark behaarte Sorte *Tilia tomentosa* 'Szeleste' eine Desinfizierungsmethode ohne die Verwendung von Quecksilberchlorid zu erarbeiten. Um Aussagen über die verschiedenen Reaktionen der Lindenklone treffen zu können, soll die Methode zur Vermehrbarkeit in der Breite gesucht werden. Daher sollen Nährböden mit verändertem Makronährstoff- und Hormongehalt getestet werden. Die In-vitro-Technologie der Sorte 'Wega' wurde bereits an der Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Vermehrungstechnologie/Baumschulwesen Mitte der neunziger Jahre ausgearbeitet. Darüber hinaus wird in der Arbeit angestrebt, die vorliegende Methodik an alle einbezogenen Klone anzupassen bzw. zu optimieren. Während der einzelnen Phasen der In-vitro-Vermehrung sollen die auftretenden genotypspezifischen Reaktionen einzelner Klone bewertet und dadurch die effektivste Methodik zur Regeneration ausgewählt werden. Dabei sollen Aussagen getroffen werden, die später bei der Mikrovermehrung weiterer Lindentaxa verwendet werden können.

Neben den In-vitro-Vermehrungsversuchen sollen die Klone *Tilia* 'Szent István' und *Tilia* 'K3' mit Hilfe morphologisch-phänologischer bzw. molekulargenetischer Methoden identifiziert werden. Dabei ist angestrebt, die exakte taxonomische Zuordnung beider Klone durch Vergleich der phänotypspezifischen Merkmale mit denen der vermeintlichen Eltern zu bewerten und zu beschreiben. Die morphologisch-phänologischen Untersuchungen werden dazu an zwei Standorten durchgeführt: am Selektionsstandort in Budapest und in Berlin-Dahlem. Mit der Feststellung der phänotypspezifischen Merkmale soll der Kreis möglicher Eltern eingeschränkt werden.

Die nachfolgenden molekulargenetischen Untersuchungen sollen die Aussagen untermauern, dass die taxonomische Zuordnung der Klone richtig war. Gegebenenfalls können ergänzende Aussagen über die zum Vergleich herangezogenen Taxa getroffen werden. Zusätzliches Ziel

der Arbeit ist, für die Gattung *Tilia* eine molekulargenetische Methode mit Hilfe der PCR-Technik auszuarbeiten, die bisher noch nicht zur Verfügung steht. Dazu soll Pflanzenmaterial aus verschiedenen Herkünften hinzugezogen werden, um die Zuverlässigkeit der neu verwendeten Methodik kontrollieren zu können.

Über den Versuchszeitraum hinaus sind Prüfungen zur Verwendungseignung und Standortanpassung der Klone *Tilia* 'Szent István' und *Tilia* 'K3' vorgesehen. Baumschulversuche bezüglich des Wachstums oder der Kompatibilität beider Klone sind zukünftig geplant. Als Ergebnis könnten zwei neue Straßenbaumsorten oder stresstolerante Universalunterlagen für Lindensorten zur Verwendung im urbanen Raum zur Verfügung gestellt werden.

## 3 Literaturübersicht

### 3.1 In-vitro-Verfahren zur Sprossvermehrung von Linden

Die In-vitro-Kultur wird bei den Linden verwendet, wenn die konventionellen Verfahren zur Vermehrung nicht oder nur mit hohem Aufwand möglich sind. Gegebenenfalls kann die In-vitro-Methodik zur Rejuvenilisierung und dadurch zur erhöhten Fähigkeit der Adventivwurzelbildung der ausgewählten Gehölzklone verwendet werden (JESCH 1988, 1995, PREECE & TRIGIANO 2001).

Im Allgemeinen werden zwei Methoden zur Sprossvermehrung bei der Gattung *Tilia* angewendet. Zum einen erfolgt die Vermehrung über multiple Sprossbildung. Bei dieser häufiger verwendeten Methode wird die Stimulation der Entwicklung von Axillarsprossen aus vorhandenen und ständig neu angelegten Knospen über den Phytohormongehalt im Medium bewirkt. Bei der zweiten Methode wird durch die Teilung der Sprosse in Segmente (mit einer Axialknospe) die Beseitigung der Apikaldominanz erreicht. Die Axialknospen treiben in der folgenden Subkultur aus (ZOGLAUER 1986, NOELLER 1990, JÁMBORNÉ 1993, EWALD 2004).

#### 3.1.1 Etablierung

Das Alter des Ausgangsmaterials hat einen entscheidenden Einfluss auf den Erfolg des Vermehrungsverfahrens. Die Etablierung aus adultem Material ist möglich, jedoch oft mit Schwierigkeiten verbunden (ARRILLAGA et al. 1992, FEUERHAHN 2000, CHALUPA 2000, 2002). Zur Steigerung des Etablierungserfolgs wird in den meisten Fällen juveniles Ausgangsmaterial verwendet. Die Explantate werden entweder von 2 bis 4-jährigen Sämlingen, Veredlungen oder bei alten Bäumen von juvenilen Teilen der Pflanze (Stockausschläge, Wurzelaustritte) entnommen (CHALUPA 1983, EWALD 1998, FEUERHAHN 2000, SARVASOVA & DURKOVIC 2002).

#### Explantattyp

HEDTRICH (1982) vertritt die Meinung, dass sich die Verwendung verschiedener Explantattypen nach der spezifischen Regenerationskapazität der zu bearbeitenden Pflanzenart richtet. Beispielsweise wird die Regeneration von Linden aus somatischen Embryonen zwar angewandt (CHALUPA 1990a, 1990b, YUON & MOON 1996, ÜCLER & MOLLAMEHMETOGLU 2001), jedoch wegen der Unzuverlässigkeit und der in den verschiedenen Entwicklungsphasen hervortretenden Zellalterung nicht in der Praxis etabliert. Um die somaklonale Variabilität weiterhin zu vermeiden, werden infolgedessen am häufigsten Meristeme, Blattachselknospen und Triebspitzen als Ausgangsmaterial verwendet (CHALUPA 1987, PINKER et al. 1995, KUNNEMAN & ALBERS 1991, SARVASOVA & DURKOVIC 2002).

Als Explantate zur Etablierung von Linden eignen sich am besten achselknospentragende Sprosssegmente von Jungpflanzen. Am häufigsten werden bei der In-vitro-Vermehrung von Linden Sommerknospen verwendet. Bei Winterknospen ist es schwierig, die Winterruhe zu brechen und die hohe Bakterien- und Pilzkontamination der Knospen zu beseitigen. Nach GIOMARO et al. (1998) sind die Etablierungsraten von Winterknospen bei *Tilia platyphyllos* sehr gering (2-6 %).

#### Etablierungszeitpunkt

Nach PAUL & FEUCHT (1985) ist bei Gehölzen als günstigster Entnahmezeitpunkt der Zeitraum angegeben, wenn sich die Mutterpflanzen im Stadium des stärksten vegetativen Wachstums befinden. Untersuchungen haben bewiesen, dass bei *Rosa* (AL-HUSSIN 1988) und bei *Prunus serrulata* 'Kanzan' (BETHKE 1993) der Etablierungserfolg stark von dem jeweiligen Reifegrad der etablierten Sprosse abhing. Bei den o. g. zwei Taxa konnten die Sprosse mittleren Reifegrades mit den geringsten Verlusten etabliert werden.

Der jeweilige Etablierungszeitpunkt kann von Jahr zu Jahr schwanken. Aufgrund unterschiedlicher Umwelt- und Klimabedingungen ist es möglich, dass der Mutterbaum in seiner Entwicklung beeinflusst wird (PINKER 1997).

Die Wirkung auf den Etablierungserfolg bei unterschiedlichen Reifestadien der Sprosse wurde bisher bei Linden nicht untersucht. Mehrere Autoren sind der Ansicht, dass die Entnahme der Lindenexplantate am Anfang der Vegetationsperiode besonders günstig ist, wenn unverholzte Triebe zur Verfügung stehen (CHALUPA 1984a, 1984b, 1987, YUON et al. 1988, 1989, KUNNEMAN & ALBERS 1991, PINKER et al. 1995, SARVASOVA & DURKOVIC 2002).

#### 3.1.2 Desinfizierung

Explantate aus dem Freiland sind häufig stark kontaminiert. Deshalb wird oftmals ein Vortreiben im Gewächshaus unter halbsterilen Bedingungen vorgeschlagen. NOELLER (1990), KUNNEMAN & ALBERS (1991) und SZENDRÁK et al. (1997) haben außerdem beobachtet, dass die Desinfizierung der weichen Sprossspitzen problematisch ist, weil diese den Desinfizierungsprozess meistens nicht überleben.

Zur Steigerung des Etablierungserfolgs werden in der Literatur verschiedene Methoden zur Desinfizierung aufgeführt. Im ersten Schritt des Desinfizierungsverfahrens ist das Auswaschen unerwünschter, hauptsächlich der Oberfläche anhaftender Substanzen nötig. Dazu wird das Wässern der Explantate (leaching) empfohlen (JONES et al. 1979, JÁMBORNÉ et al. 1993, GIOMARO et al. 1998, FEUERHAHN 2000, SARVASOVA & DURKOVIC 2002).

NOELLER (1990) und JÁMBORNÉ et al. (1993) vertreten die Meinung, dass bei Explantaten mit stark behaarter Oberfläche (z. B. Sprosse von *Tilia tomentosa*) das Wässern immer zu empfehlen ist. Bei solchen Pflanzentaxa wird vorgeschlagen, die Explantate nach dem Wässern zusätzlich kurz (3-5 Sekunden) in 70 %ige Alkohollösung einzutauchen und sodann abzutrocknen (YUON et al. 1988, KUNNEMAN & ALBERS 1991, NAUJOKS 2004). Somit wird das Wasser zwischen den Pflanzenhaaren durch Alkohol ersetzt und anschließend für die Desinfizierungsmittel leichter zugänglich gemacht.

Am häufigsten wird zur Desinfizierung der Explantate Quecksilberchlorid ( $\text{HgCl}_2$ ), Kalziumhypochlorid ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ) oder Natriumhypochlorid ( $\text{NaOCl}$ ) verwendet; seltener andere Chemikalien wie z. B. Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Die in der Literatur angegebenen Konzentrationen und Behandlungslängen variieren stark.

CHALUPA (1981, 1983, 1984a, 1984b, 1987, 2003) verwendete zur Desinfizierung von Lindensprossen eine 0,1-0,2 %ige Lösung von Quecksilberchlorid. Explantate von *Tilia cordata* bzw. *Tilia platyphyllos* wurden 15-45 Minuten lang desinfiziert. Zum Desinfizierungserfolg stehen keine konkreten Angaben zur Verfügung.

Bei der Sorte *Tilia cordata* 'Wega' wurde auch Quecksilberchlorid-Lösung zur Desinfizierung verwendet, und zwar in einer Konzentration von 0,2 % bei einer 3-minütigen Behandlung. Der Desinfizierungserfolg dieser Sorte lag bei 80 % (PINKER et al. 1995).

Winterknospen von *Tilia platyphyllos* konnten wiederum durch die Verwendung von einer 0,5 %igen Quecksilberchlorid-Lösung desinfiziert werden. Die Explantate wurden 30 Minuten lang behandelt. Der Desinfizierungserfolg lag lediglich bei 2 %, weil die Explantate stark mit Bakterien kontaminiert waren (GIOMARO et al. 1998).

SARVASOVA & DURKOVIC (2002) behandelten die Explantate von *Tilia* × *vulgaris* für 20-30 Minuten ebenfalls mit einer Quecksilberchlorid-Lösung (0,1 %). Der Desinfizierungserfolg lag zwischen 65 und 72 %.

Gegenüber den vorher erwähnten Autoren desinfizierten KUNNEMAN & ALBERS (1991) Sprosse von *Tilia tomentosa* 'Brabant', *Tilia cordata* 'Greenspire' und *Tilia* × *vulgaris* 'Pallida' mit einer 0,5 %igen Lösung von Kalziumhypochlorid. Mit einer Behandlungsdauer von 15 Minuten konnten die Explantate desinfiziert werden. Es stehen jedoch keine Angaben zum Desinfizierungserfolg zur Verfügung. Saubere Kulturen konnten jedoch aufgebaut

werden, so wie bei YUON et al. (1988, 1989). Hier wurden Sprosse von *Tilia cordata* 15 Minuten lang mit 3 %iger Wasserstoffperoxid-Lösung erfolgreich desinfiziert.

### Verwendung von Antibiotika und Fungiziden (endogene Kontaminationen)

Pilzliche und bakterielle Infektionen stellen oft ein Hindernis für die erfolgreiche Mikrovermehrung von Pflanzen dar. In der Regel bedeuten jedoch nicht die exogenen Kontaminationen (z. B. Schimmelpilze) eine Erschwernis bei der Etablierung von In-vitro-Kulturen, sondern endogene Mikroorganismen, die durch die Oberflächendesinfizierung nicht erfasst werden können (WALDENMAIER et al. 1986, SZENDRÁK et al. 1997, TAHMATSIDOU & CASSELLS 1997). Diese sog. endogenen Kontaminationen werden gelegentlich gleich nach der Etablierung sichtbar. In einigen Fällen werden sie jedoch durch Veränderung der Bedingungen (Medienwechsel und Temperatur- oder Lichtstärkeschwankungen in Wachstumsräumen) hervorgerufen und erst nach mehreren Subkulturen erkennbar (HEGEDŰS 1993, REED et al. 1997, EWALD et al. 1999).

Bakterienkontaminationen können anhand einer im Medium gebildeten, unscharfen „Wolke“ und Hefekontaminationen durch einen auf dem Medium gebildeten, farbigen Pilzschwamm gesichtet werden. Infolge von Bakterienkontamination wachsen die Explantate entweder langsamer, werden nekrotisch oder sterben ab. Hefepilzkontaminationen führen in jedem Fall zum Absterben der Explantate. Bakterien und Hefepilze sind überaus artenreich, ihre exakte Bestimmung ist oft problematisch (SZENDRÁK et al. 1997, VAN DEN HOUWE & SWENNEN 2000, STEAD et al. 2000).

Gegen endogene Schaderreger können verschiedene Antibiotika und Fungizide (Tab. 2) eingesetzt werden. Ihre Wirkung ist stark von der Dosierung, von der Art der kontaminierenden Bakterien/Pilze und von der infizierten Pflanzenart abhängig (TAHMATSIDOU & CASSELLS 1997, EWALD et al. 2000). Solche Chemikalien sind allgemein phytotoxisch, die verwendeten Konzentrationen müssen immer an die behandelte Pflanzenart angepasst werden (VAN DEN HOUWE & SWENNEN 2000).

Tab. 2: Die allgemein in der In-vitro-Vermehrung verwendeten Antibiotika und Fungizide (nach HEGEDŰS 1993)

Antibiotika		Fungizide	
Cefotaxime	50-100 mg/l	Myconazol	5-20 mg/l
Penicillin G	100 mg/l	Nystatin	5-25 mg/l
Rifampicin	20 mg/l	Amphotericin B	5 mg/l
Carbenicillium	50 mg/l	Griseofulvin	2-5 mg/l
Bacitracin	50 mg/l	Dowicid	1-10 mg/l
Trimetoprim	20 mg/l		

Bei der In-vitro-Vermehrung von Linden wurde über endogene bakterielle und pilzliche Kontaminationen und ihre Bekämpfung bisher nicht berichtet.

Die Komplexität der In-vitro-Bakterienbekämpfung zeigen die folgenden Angaben:

- EWALD et al. (1999, 2000) haben mit Hilfe von Cefotaxime-Behandlungen bei somatischen Embryonen von *Picea* und *Larix* die Bakterienkontamination erfolgreich reduziert. Eine Säuberung von Kalluskulturen war jedoch nicht möglich.
- SZENDRÁK et al. (1997) konnten erfolgreich In-vitro-Kulturen von *Castanea*, *Ligustrum*, *Spiraea*, *Syringa*, *Corylus*, *Populus* und *Salix* durch Malachitgrün-Behandlungen von den Bakterien säubern. Diese Chemikalie war bei *Robinia-pseudoacacia*-Kulturen nicht effektiv (NAUJOKS et al. 2000).
- Zur Säuberung von *Hydrangea*-Meristemkulturen wurde von TAHMATSIDOU & CASSELLS (1997) 400 µg/l Cefotaxime im Medium verwendet.

- REED et al. (1997) haben zur Säuberung von *Corylus*-Kulturen Timentin, Streptomycin-Sulfat und Gentamicin verwendet. Die endogenen Kontaminationen konnten nur mit genotypspezifischen Antibiotikakombinationen vermindert bzw. beseitigt werden.
- In Sprosskulturen von *Musa*-Arten wurden von VAN DEN HOUWE & SWENNEN (2000) 38 endogene Bakterienstämme isoliert und bestimmt. Die *Bacillus*- und *Mycobacter*-Arten, die am häufigsten die Kulturen kontaminierten, konnten mit Hilfe von 100 mg/l Rifampicin vollständig beseitigt werden. Es wurden gleichzeitig Bacitracin, Chloramphenicol, Streptomycin-Sulfat, Doxycyclin, Tetracyclin, Nitrofurantoin, Thrimetoprim, Erythromycin und Penicillin in Konzentrationen zwischen 25-200 mg/l getrennt getestet.
- TANPRASERT & REED (1997) haben in *Fragaria*-Kulturen 16 Bakteriumarten identifiziert, die endogen und unsichtbar vorhanden waren. Mit Timentin-, Streptomycin- und Gentamicin-Behandlungen konnten die Kulturen gesäubert werden.

#### 3.1.3 Vermehrung

##### Nährböden

Zur Vermehrung von Lindensprossen werden hauptsächlich zwei Grundmedien empfohlen. Größtenteils wird das MS-Medium (MURASHIGE & SKOOG 1962) eingesetzt, unmodifiziert jedoch nur sehr selten (GIOMARO et al. 1998, ÜCLER & MOLLEMEHMETOGLU 2001). Häufiger werden Nährböden mit modifiziertem Makronährstoffgehalt verwendet.

Neben den MS-Medienvarianten wird noch das Woody Plant Medium (WPM) (LLOYD & MCCOWN 1980) ohne Veränderungen als Grundmedium zur Lindenvermehrung eingesetzt (CHALUPA 1983, 1984b, 1987, YUON et al. 1988, 1989, 1996).

##### Modifizierter Makronährstoffgehalt

Zur erfolgreichen Vermehrung müssen die Nährböden den Ansprüchen der bearbeiteten Pflanzentaxa angepasst werden. Es wurde beobachtet, dass der Makronährstoffgehalt des unveränderten MS-Mediums allgemein wegen des hohen Stickstoffanteils für die Vermehrung bestimmter Gehölzarten (*Quercus*, *Betula*, *Fagus*, *Syringa* und *Tilia*) nicht geeignet ist (PINKER et al. 1995, NAUJOKS 2004, EWALD 2004). Das MS-Grundmedium enthält 1900 mg/l Kaliumnitrat ( $\text{KNO}_3$ ) und 1650 mg/l Ammoniumnitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) (MURASHIGE & SKOOG 1962).

Aufgrund dessen hat CHALUPA (1983) *Tilia cordata* und *Tilia platyphyllos* auf einem modifizierten MS-Medium mit 475 mg/l  $\text{KNO}_3$  und mit 412 mg/l  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  erfolgreich vermehren können. Demgegenüber konnten Sprosse von *Tilia cordata* 'Wega' auf einem MS-Medium vermehrt werden, wobei der  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ -Gehalt im Nährboden um die Hälfte (auf 825 mg/l) reduziert wurde (KLAUSCH 1993, PINKER et al. 1995).

KUNNEMAN & ALBERS (1991) haben während der Vermehrung von *Tilia tomentosa* 'Brabant', *Tilia cordata* 'Greenspire' und *Tilia* × *vulgaris* 'Pallida' Kalziummangel in den Kulturen beobachtet. In ihren Vermehrungsversuchen wurden veränderte MS-Medien verwendet (keine konkreten Angaben zur Medienzusammensetzung). Die Blätter der Explantate wurden gelb und die Sprosse nekrotisch. Die Blattvergilbung konnte mit der Zugabe von 2880 mg/l reinem Kalziumnitrat ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ) reduziert werden, so dass keine nekrotischen Sprosse mehr gebildet wurden. SHA et al. (1985) haben bei Kartoffelsprossen die gleichen Symptome beobachtet und mit der Zugabe von Kalziumnitrat erfolgreich behoben. Nach ihren Erfahrungen ist Kalzium zum Aufbau der Zellstruktur unerlässlich.

## Phytohormone

Von besonderer Bedeutung für den Erfolg einer In-vitro-Kultur sind die Phytohormone. Sie sind für die Steuerung der Organogenese verantwortlich. Auxine und Cytokinine sind als die am effektivsten einsetzbaren Phytohormone bekannt (HEINRICH & HAHN 1984). Die wichtigsten für eine Gewebekultur verwendeten Hormone sind Auxine, wie Indolylessigsäure (IES), Indolylbuttersäure (IBS), Naphtylessigsäure (NES) sowie 2,4-Dichlorphenoxy-Essigsäure (2,4-D). Auxine hemmen in größeren Mengen die Sprossbildung. In kleineren Mengen fördern sie die Sprosstreckung (HEDTRICH 1982).

Als Cytokinine werden 6-Benzylaminopurin (BAP, oder BA bzw. Benzyladenin), Kinetin (KIN), Zeatin, 2-Isopentenyl-Adenin (2iP) und Thidiazuron häufig angewandt (HEDTRICH 1982, HEINRICH & HAHN 1984, JÁMBORNÉ et al. 1993). In der Vermehrungsphase fördern Cytokinine das Wachstum der Blattachselknospen und heben die apikale Dominanz auf. Die Konzentrationen der Cytokinine stehen während der Vermehrung deutlich über denen der Auxine.

Gibberellinsäuren wirken ähnlich wie Auxine und sind für die Streckung der Sprosse verantwortlich. Als Gibberellinsäure wird am häufigsten in den In-vitro-Kulturen die GA<sub>3</sub>-Gibberellinsäure (GA<sub>3</sub>) zur Rejuvenilisierung der Explantate eingesetzt (JÁMBORNÉ et al. 1993).

Die Effektivität der Vermehrungsphase wird in Abhängigkeit von der jeweiligen Phytohormonkonzentration durch die Anzahl neugebildeter Sprosse je Subkultur gekennzeichnet. Eine In-vitro-Subkultur dauert in der Regel 4-5 Wochen und ist von der vermehrten Pflanzenart abhängig (JESCH 1995).

Bei der In-vitro-Vermehrung von Linden werden unterschiedlichste Phytohormonkonzentrationen verwendet, die vom bearbeiteten Taxon abhängig sind (Tab. 3).

Tab. 3: Übersicht der Literaturquellen zur Vermehrungsphase

Art/Sorte	Cytokinine (mg/l)	Auxine (mg/l)	Verm. Rate	Durchschn. Sprosslänge (mm)	Autoren
<i>T. cordata</i>	BAP; 0,2-1 TDZ; 0,005-0,02	IBS; 0,1	4-8 10-17	22-25 11-14	CHALUPA (1983, 1984a, 1987)
<i>T. cordata</i>	BAP; 0,2	IBS; 0,03	5,2	k. A.	YUON et al. (1988)
<i>T. amurensis</i>	BAP; 0,2	IBS; 0,03	2,6	k. A.	YUON et al. (1989)
<i>T. tomentosa</i> 'Brabant' <i>T. cordata</i> 'Greenspire' <i>T. × vulgaris</i> 'Pallida'	BAP; 0,2-1 TDZ; 0,005-0,02	IBS/NES 0,1-0,2	4,2-8,4	k. A.	KUNNEMAN & ALBERS (1991)
<i>T. cordata</i> 'Wega'	BAP; 0,5-1	IES; 0,01	1,5-4	8-30	KLAUSCH (1993), PINKER et al. (1995)
<i>T. platyphyllos</i>	BAP; 0,2	k. A.	2-3	k. A.	GIOMARO et al. (1998)
<i>T. × vulgaris</i>	BAP; 0,2	IBS; 0,1	2,13	k. A.	SARVASOVA & DURKOVIC (2002)
<i>T. platyphyllos</i>	BAP; 0,6	IBS; 0,1	4,1	23-29	CHALUPA (2003)