Gartenbauwissenschaft, **65** (3). S. 115–120, 2000, ISSN 0016–478X. © Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart

Beeinflussung des Wachstums bakterieller Endophyten und der Sproßqualität bei *in vitro* Kulturen von *Argyranthemum frutescens*

Influencing Growth of Endophytic Bacteria and Quality of Shoots in Plant Tissue Cultures of *Argyranthemum frutescens*

Martina Seyring und Grit Vogt
(Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e. V. und Fachhochschule Erfurt, Fachbereich Gartenbau)

Zusammenfassung

Untersucht wurde sowohl die Wirkung der Cytokinine BAP, 2iP und Kinetin in Konzentrationen von 0; 0,1; 0,5 und 2,5 mg/l als auch der Auxine IBS und NES in einer Konzentration von 1,0 mg/l auf das Bakterienwachstum inokulierter *in vitro* Sprosse von *Argyranthemum frutescens* cv. Butterfly auf MS-Medium. Die Temperatur betrug während der Vermehrungs- und Bewurzelungsphase *in vitro* jeweils 22 °C und 30 °C. Der Cytokinineinfluss wurde sowohl im Plattentest mit Bakterienähragar als auch im MS-Medium ohne Pflanzenmaterial geprüft. Auf beiden Medien wurde durch Zugabe von BAP, 2iP oder Kinetin das Bakterienwachstum gehemmt.

Die Cytokinine wirkten bei 2,5 mg/l im Vermehrungsmedium unabhängig von der Temperatur bakteriostatisch. Dieser Effekt blieb bei der anschließenden Kultur auf den auxinhaltigen Bewurzelungsmedien bei 22 °C erhalten und wurde bei 30 °C weitestgehend aufgehoben.

Die Konzentration von 2,5 mg/l führte jedoch bei der Anwendung von BAP zu Hemmungen der Sprossentwicklung und der anschließenden Bewurzelung.

Summary

The effect of the cytokinins BAP, 2iP and Kinetin in concentrations of 0; 0.1; 0.5 and 2.5 mg/l as well as the influence of the auxins IBA and NAA in the concentration of 1.0 mg/l on bacterial growth in inoculated *in vitro* shoots of *Argyranthemum frutescens* cv. Butterfly on MS-medium was investigated. During the multiplication stage and for rooting, shoots were incubated in a growth room at 22 °C and 30 °C. The effect of cytokinins was also examined in a test with nutrient agar dishes and with MS-medium dishes without plants. In each case the application of BAP, 2iP or Kinetin inhibited the bacteria growth.

The examined cytokinins showed a bacteriostatic effect at 2.5 mg/l independent of temperature. This effect was stable when the shoots were rooted on medium with auxin at 22 °C but disappeared at 30 °C. However, the application of BAP in a concentration of 2.5 mg/l inhibited shoot growth and root formation.

Einleitung

Bakterielle Endophyten können über einen längeren Zeitraum *in vitro* latent und damit unerkannt im Pflanzengewebe vorkommen (Boxus und Terzi 1988, Cassels 1991, Cassels 1996, Cooke et al. 1992). Die Veränderung von Kulturbedingungen kann das Austreten von bakteriellen Endophyten aus Pflanzenmaterial bewirken und somit zu großen Ausfällen an etablierten Kulturen während der *in vitro* Vermehrung führen. Schwerpunkte der Untersuchungen waren bisher in erster Linie die Suche nach geeigneten Nachweismethoden, Identifizierung von latent vorkommenden Bakterien in Gewebekulturen und Möglichkeiten zur Hemmung bzw. Eliminierung des Bakterienwachstums insbesondere durch Behandlung des Pflanzenmaterials mit Antibiotika (Reed und Tanprasert 1995).

Beobachtungen, dass bei der Subkultivierung von *in vitro* Kulturen auf Medium mit anderer Phytohormonzusammensetzung das sichtbare Auftreten von Bakterien begünstigt oder auch gehemmt wird (Druart 1987, Boxus und Terzi 1988, Kneifel und Leonhardt 1992), führten zu der Überlegung, an künstlich infizierten *in vitro* Sprossen von *Argyranthemum frutescens*, den Einfluss von exogen applizierten Phytohormonen in verschiedenen Konzentrationen auf eine mögliche bakteriostatische Wirkung zu untersuchen.

Argyranthemum frutescens wird über Stecklinge vermehrt. Die Mutterpflanzen dazu werden zur Vermeidung phytosanitärer Probleme *in vitro* verklont (Seyring 1999). Wie auch bei anderen Pflanzenarten, z. B. *Choisya*, *Delphinium*, *Gerbera*, *Hemerocallis*, *Hosta*, *Iris* (Leifert et al. 1989), *Mentha* spp. (Reed et al. 1995), *Hydrangea* spp. (Tahmatsidou und Cassels 1996) sowie *Primula vulgaris* (Seyring 1998), konnten auch bei *Argyranthemum frutescens* bakterielle Endophyten (Seyring unveröffentlicht) nachgewiesen werden. Diese könnten sich negativ bei der Kultur *in vitro* auswirken.

Material und Methoden

Prüfung der Wirkung von Phytohormonen auf das Bakterienwachstum im Plattentest

Das für die künstliche Inokulation eingesetzte Bakteriengemisch, *Aureobacterium* spp. und *Brevibacterium* spp. wurde aus einer etablierten *in vitro* Kultur von *Argyranthemum frutescens* 'Butterfly' isoliert. Die Identifizierung des Isolates erfolgte mittels Fettsäureanalyse.

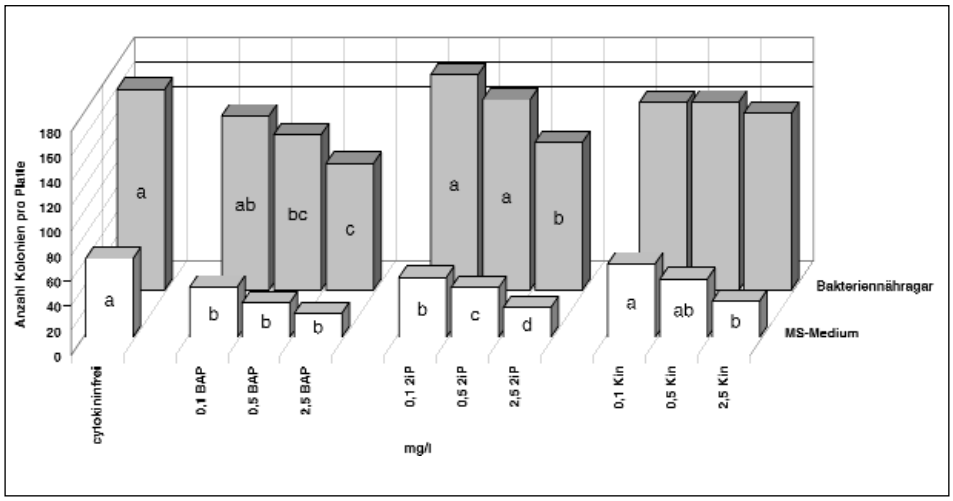


Abb. 1. Wirkung von Cytokininen auf das Bakterienwachstum im Agarplattentest. (Vergleich von MS-Medium und Bakteriennähragar)
Verschiedene Buchstaben bedeuten, dass sich die Anzahl Kolonien auf den jeweiligen Medien signifikant (Newman-Keuls-Test, p = 0,01) voneinander unterscheiden.
Effect of cytokinins on growth of bacteria in a test with agar dishes. (MS-medium in comparison with nutrient agar to promote bacterial growth

Geprüft wurde die Wirkung der Cytokinine BAP, 2iP und Kinetin in Konzentrationen von 0; 0,1; 0,5 und 2,5 mg/l und der Auxine IBS und NES in der Konzentration 1,0 mg/l auf das Wachstum einer Mischsuspension von *Aureobacterium* spp. und *Brevibacterium* spp. im Agarplattentest. Die Inokulumdichte betrug 10^4 Keime/ml. Pro Platte wurden 100 μl Suspension ausplattiert. Die Untersuchung erfolgte auf Bakteriennähragar (NaI, SIFIN GmbH, Berlin) und auf MS-Medium (MURASHIGE und SKOOG 1962), die die betreffenden Cytokinine bzw. Auxine enthielten. Die inokulierten Platten wurden im Brutschrank bei 27 °C bebrütet. Nach vier bzw. fünf Tagen wurde die Anzahl der gewachsenen Kolonien ermittelt. Pro Konzentrationsstufe wurden vier Wiederholungen angelegt.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels Varianzanalyse und dem Newman-Keuls-Test. Signifikanzen wurden für eine Wahrscheinlichkeit p = 0,01 berechnet.

Prüfung der Wirkung von Phytohormonen auf das Bakterienwachstum bei Sprosskulturen in vitro

Um einen latenten Bakterienbefall zu induzieren, wurden zuvor geprüfte, befallsfreie *in vitro* Sprosse von *Argyranthemum frutescens* 'Butterfly' (SEYRING unveröffentlicht) mit einer Mischsuspension von 10^4 Keimen/ml von *Aureobacterium* spp. und *Brevibacterium* spp. inokuliert. Die Sprosse wurden mit ihrer Schnittfläche 30 sek. in die Bakteriensuspension getaucht (JANSSEN 1990) und anschließend auf ein modifiziertes, cytokininhaltiges MS-Medium übertragen. Nach vier Kulturwochen erfolgte ein Umsetzen der regenerierten, visuell befallsfreien Sprosse zur Bewurzelung auf auxinhaltiges Medium. Visuell befallene Kulturen auf Vermehrungsmedium wurden verworfen. Aus arbeitstechnischen Gründen wurden die Untersuchungen zu den einzelnen Cytokininarten zeitlich versetzt angelegt, so daß jeweils auch eine zusätzliche Kontrollvariante notwendig war. Die Cytokinine und Auxine wurden in den gleichen Konzentrationen verwendet wie schon im Agarplattentest beschrieben. Die Inokulumdichte von 10^4 Keimen/ml war in einem Vorversuch ermittelt worden. Diese Konzentration war notwendig um 100% der Sprosse zumindest latent zu infizieren. Der Nachweis eines latenten Befalls wurde nach der von SEYRING (1998) beschriebenen Methode stichprobenartig durchgeführt.

Pro Versuchsglied wurden während der Vermehrungsphase 21 und während der Bewurzelungsphase zwölf *in vitro* Sprosse untersucht.

Die Kulturführung erfolgte bei Temperaturen von 22 °C und 30 °C im 16h-Tag. Die Kulturzeit betrug sowohl auf dem Vermehrungs- als auch auf dem Bewurzelungsmedium vier Wochen. Erfasst wurde der visuelle Bakterienwuchs im Medium, das Sprosswachstum, die Wurzelbildung und die Anzahl Wurzeln pro Spross.

Die statistische Auswertung erfolgte zur Beurteilung des visuellen Bakterienbefalles und der Wurzelbildung mit dem Chi-Quadrat-Test. Signifikanzen wurden für eine Wahrscheinlichkeit p = 0,01 berechnet.

Ergebnisse

Wirkung von Phytohormonen auf das Bakterienwachstum im Agarplattentest

Generell war die Kolonienbildung bei allen geprüften Cytokinin- und Auxinkonzentrationen auf MS-Medium im Vergleich zum Bakteriennähragar (NaI) deutlich geringer (Abb.1). Ebenso war die Kolonienbildung auf MS-Medium gegenüber NaI um drei Tage verzögert. Jedoch war sowohl auf Bakteriennähragar als auch auf MS-Medium das Bakterienwachstum bei Zugabe von Cytokininen zusätzlich gehemmt. Zudem nahm die Anzahl der gewachsenen Kolonien bei allen untersuchten Cytokininen mit der Erhöhung der Konzentration ab (Abb.1). Während die durch die Cytokininbehandlung verursachte Hemmung der Kolonienbildung auf MS-Medium für alle untersuchten Konzentrationen von BAP und 2iP gegenüber dem cytokininfreiem Medium statistisch abgesichert ist, war dies bei Kinetin nur bei 2,5 mg/l der Fall. Auf Bakteriennähragar führten 0,5 bzw. 2,5 mg/l BAP und 2,5 mg/l 2iP zu einer signifikanten Reduzierung der Anzahl Kolonien, während sich die Wirkung von Kinetin nicht signifikant unterschied. Die Wirkung von 2,5 mg/l 2iP unterschied sich auf beiden Medien deutlich von den geringeren geprüften Konzentrationen. Den größten hemmenden Effekt auf das Bakterienwachstum hatten insgesamt die Behandlungen mit BAP und 2iP, während Kinetin die geringste Wirkung zeigte.

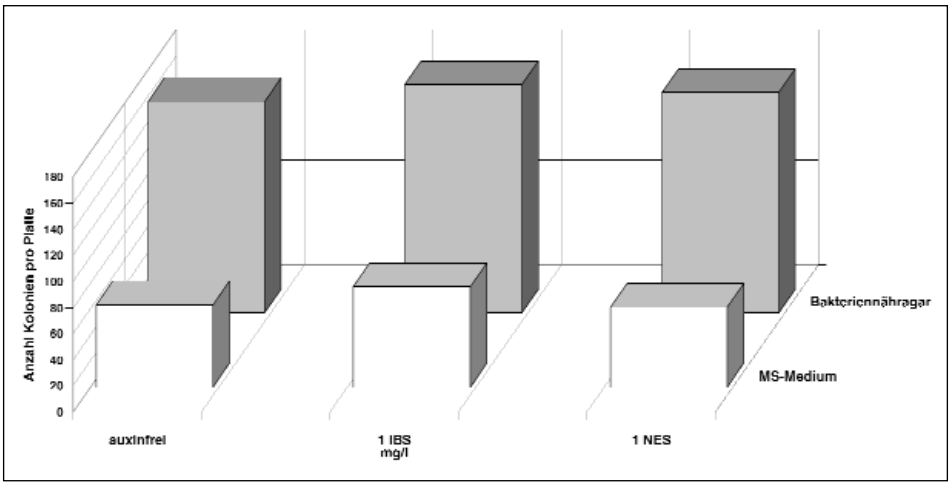


Abb. 2. Wirkung von Auxinen auf das Bakterienwachstum im Agarplattentest. (Vergleich von MS-Medium und Bakteriennähragar)
Effect of auxins on growth of bacteria in a test with agar dishes.
(MS-medium in comparison with nutrient agar to promote bacterial growth)

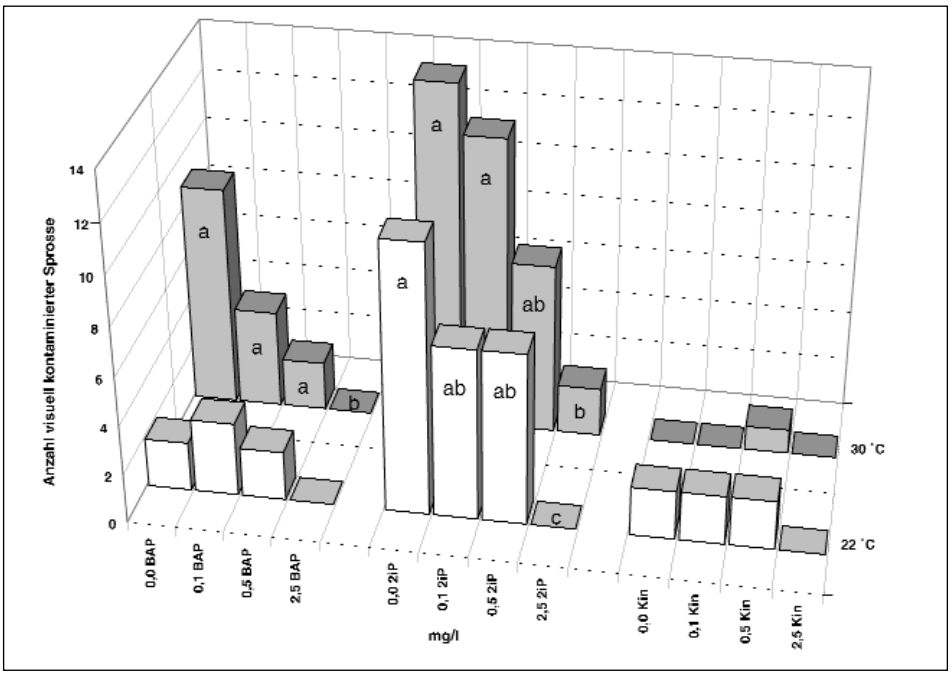


Abb. 3. Wirkung von Cytokininen auf das Bakterienwachstum inokulierter Sprosse von *Argyranthemum frutescens in vitro* (n = 21). Verschiedene Buchstaben bedeuten, dass sich die Anzahl visuell kontaminierter Sprosse bei den jeweiligen Temperaturen signifikant (Chi^2-Test, p = 0,01) voneinander unterscheiden.
Effect of cytokinins on bacterial growth of inoculated shoots of Argyranthemum frutescens in vitro.

Die Zugabe von Auxinen führte nicht zu einer Unterdrückung des Bakterienwachstums. Die Anzahl Kolonien war nahezu identisch den Kontrollplatten ohne Auxin, wobei die Wirkung von IBS eher noch einen leicht fördernden Einfluss auf die Kolonienausbildung hatte (Abb. 2).

Wirkung von Phytohormonen und der Temperatur auf das Bakterienwachstum und die Sprossqualität

Anhand von Abb. 3 ist erkennbar, dass es auf den cytokininfreien und auf cytokininhaltigen Medien zu einer Vermehrung der inokulierten Bakterien im Pflanzengewebe kam. Deutlich sichtbar war die Schleimbildung auf dem Kulturmedium unmittelbar an der Basis des Explantates. Jedoch verminderten Cytokinine meist das Austreten der Mikroorganismen aus dem pflanzlichen Gewebe. Mit Erhöhung der Cytokininkonzentration nahm die Anzahl visuell kontaminierter Sprosse gegenüber den cytokininfreien Kontrollen ab. Dieser Trend wurde besonders deutlich bei einer Kulturführung von 30 °C. Es zeigte sich damit der gleiche Verlauf wie im vorangegangenen Plattentest, wenn auch hier nur bei den auf BAP und 2iP kultivierten Sprossen. Die Anzahl visuell befallener Kulturen war bei 30 °C auf Medium mit 2,5 mg/l BAP signifikant reduziert, während bei 22 °C auf BAP- haltigem Medium keine Unterschiede in der Befallsrate gegenüber dem BAP- freiem Medium festgestellt wurden. Sowohl bei 30 °C als auch bei 22 °C wurde das Bakterienwachstum durch 2,5 mg/l 2iP signifikant gegenüber 0 und 0,1 mg/l ppm mg/l 2iP gehemmt. Die erhöhte Befallsrate bei Sprossen, die bei 30 °C kultiviert wurden, unterschied sich nicht signifikant von der Kulturführung bei 22 °C.

Das Übertragen visuell befallsfreier Sprosse auf cytokininfreies Bewurzelungsmedium führte zu einer teilweisen Aufhebung der hemmenden Wirkung. Die Anzahl der visuell kontaminierten Sprosse war abhängig von der Nachwirkung der Cytokinine im Vermehrungsmedium (Abb.4). Die Erhöhung von 0,1 auf 2,5 mg/l Cytokinin im Vermehrungsmedium führte jedoch nicht eindeutig zu einer Verringerung des sichtbaren Befalles an Sprossen auf dem auxinhaltigem

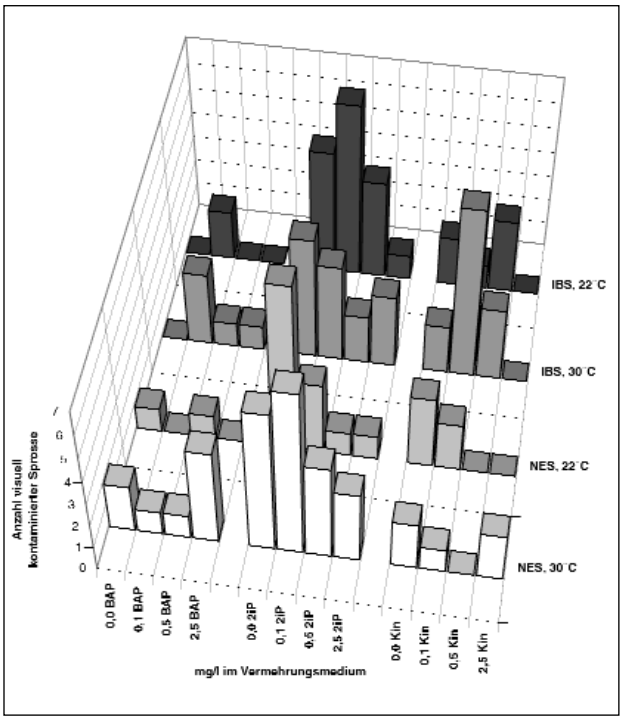


Abb. 4. Nachwirkung von Cytokininen auf das Bakterienwachstum inokulierter in vitro Sprosse von *Argyranthemum frutescens* bei Kultur auf Bewurzelungsmedium mit IBS bzw. NES (n = 12).
Aftereffect of cytokinins on bacterial growth of inoculated shoots of Argyranthemum frutescens in vitro on rooting medium with IBA or NAA (n = 12).

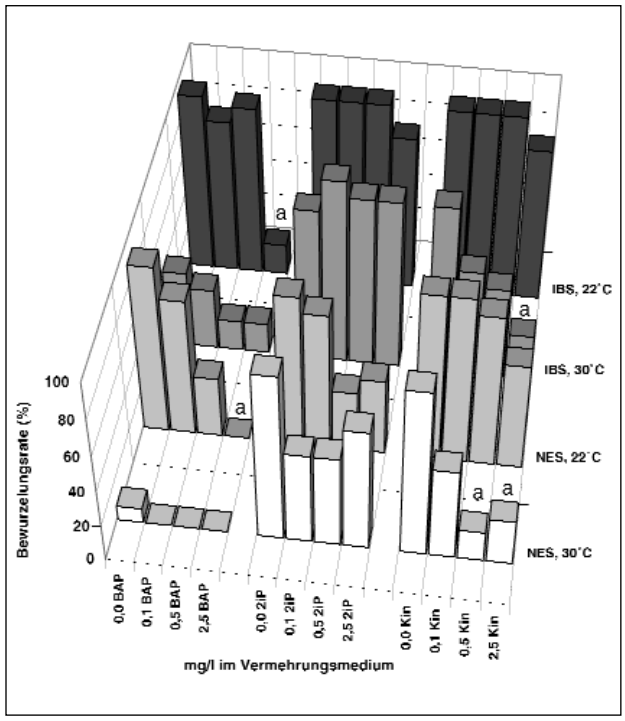


Abb. 5. Nachwirkung der Cytokininbehandlung auf die Bewurzelungsrate.
a bedeutet, dass sich die Bewurzelungsrate signifikant (Chi^2-Test, p=0,01) zu den jeweiligen cytokininfrei kultivierten Sprossen unterscheidet.
Aftereffect of the treatment with cytokinins on the percentage of rooted shoots.

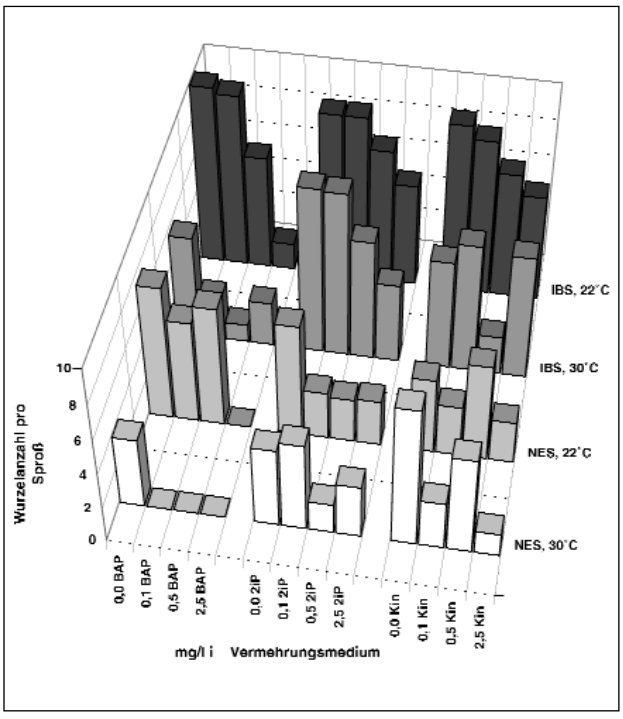


Abb. 6. Nachwirkung der Cytokininbehandlung auf die Wurzelanzahl/Spross.
Aftereffect of the treatment with cytokinins on the number of roots/shoot.

Bewurzelungsmedium (Abb.4). Die Unterschiede im visuellen Befall auf den Bewurzelungsmedien in Abhängigkeit von den cytokininhaltigen Vermehrungsmedien konnten nicht statistisch abgesichert werden. Die Kulturführung bei einer Temperatur von 30 °C begünstigte im Vergleich zu 22 °C teilweise die Vermehrung der Bakterien, jedoch waren die Unterschiede in der Befallsrate nicht signifikant.

Mit steigender Cytokininkonzentration erhöhte sich einerseits die Anzahl regenerierter Sprosse, andererseits verschlechterte sich ihre Qualität. Die Kultur auf Vermehrungsmedium mit 2,5 mg/l Cytokinin führte zu Chlorosen, Wuchsdepressionen und zu verstärkter Kallusbildung. Diese Merkmale waren besonders bei BAP, weniger bei 2iP und Kinetin ausgeprägt (Daten nicht aufgeführt). Die nachhaltige Wirkung der Cytokinine, besonders von BAP, war noch auf dem cytokininfreiem Bewurzelungsmedium sichtbar. Neben den schon genannten Merkmalen war die Wurzelbildung verringert oder völlig unterbunden (Abb.5), sowie die Anzahl Wurzeln je Spross reduziert (Abb.6). Unabhängig von der Auxinart nahm die Wurzelbildung bei 22 °C mit der Erhöhung der BAP-Konzentration im Vermehrungsmedium signifikant ab, während bei 30 °C die Bewurzelungsrate insgesamt deutlich herabgesetzt bzw. auf NES-haltigem Medium völlig unterdrückt war. Unabhängig von der 2iP-Konzentration und der Temperatur wurzelten nahezu alle Sprosse auf IBS-haltigem Medium. Im Vergleich zu IBS hemmte NES die Wurzelbildung. Außerdem verringerte sich der Anteil bewurzel-

ter Sprosse unabhängig von der Temperatur auf dem NES-haltigem Medium mit der Erhöhung der 2iP-Konzentration im Vermehrungsmedium. Die Unterschiede in der Bewurzelungsrate waren jedoch nicht statistisch abzusichern. Auf Kinetin-haltigem Medium angezogene Sprosse wurzelten bei 30 °C schlechter als bei 22 °C. Zudem führte bei 30 °C die Erhöhung der Kinetinkonzentration von 0 auf 2,5 mg/l zu einer signifikanten Reduzierung der Wurzelbildung an diesen Sprossen, sowohl auf IBS- als auch auf NES-haltigem Bewurzelungsmedium.

Ein Einfluss des inokulierten Bakteriengemisches auf das Pflanzenwachstum *in vitro* konnte nicht nachgewiesen werden.

Diskussion

Mit diesem Experiment sollte geklärt werden, woran es liegt, dass bei *in vitro* Kulturen plötzlich nach einem Subkulturschritt bakterielle Endophyten sichtbar in Erscheinung treten. Dafür spielen nach den ersten Untersuchungen neben schon mehr oder weniger bekannten Einflussgrößen wie Temperatur und pH- Wert (COOKE et al. 1992, LEIFERT et al. 1994, REED et al. 1995, TANPRASERT und REED 1996), Cytokinine und ihre Konzentration im Medium eine bedeutende Rolle (BOXUS und TERZI 1988, SEYRING 1998).

Die Reduzierung des Bakterienwachstums bei dem verwendetem Bakteriengemisch von *Aureobacterium* spp. und *Brevibacterium* spp. auf MS-Medium gegenüber dem Bakteriennähragar (NaI) ist nicht verwunderlich, da diesem als Pflanzenkulturmedium die für die Vermehrung der Bakterien wichtigen organischen Substanzen, wie beispielsweise Hefeextrakt und Pepton fehlen. Weiterhin spielt die Wasserstoffionenkonzentration für eine optimale Vermehrung eine große Rolle (KLEINHEMPEL et al.1989). Diese sollte im neutralen bis schwach alkalischen Bereich liegen. Im Gegensatz zu NaI mit pH 7,2, liegt der pH-Wert mit 5,5 im MS-Medium dagegen schon im schwach sauren Bereich. Auf beiden Medien war es dennoch möglich, für BAP und 2iP in der Konzentration von 2,5 mg/l eine deutliche Hemmwirkung auf das Bakterienwachstum nachzuweisen.

Mit dem Experiment an inokulierten *in vitro* Sprossen bestätigten sich die Beobachtungen, dass Kontaminanten oft latent im Pflanzengewebe auf Vermehrungsmedien verbleiben, sich aber die Wachstumsbedingungen durch das Weglassen der Cytokinine auf Bewurzelungsmedium ändern (DRUART 1987, BOXUS und TERZI 1988). Die durch das Vermehrungsmedium induzierte bakteriostatische Wirkung bei Langzeitkulturen könnte auf die vermutliche Akkumulation der Cytokinine und die Speicherung von Metaboliten im Pflanzengewebe, insbesonders von BAP (WERBROUCK et al. 1995), zurückgeführt werden. Bedingt durch die stimulierende Wirkung der Cytokinine auf die Zellteilung und die Kulturführung unter für das Pflanzenwachstum optimalen Bedingungen erfolgt zusätzlich ein beschleunigtes Wachstum der *in vitro* Sprosse, so dass die Konzentration von Bakterien während der Vermehrungsphase eher abnimmt. Unter dem Einfluss von 'Stressfaktoren' (KLEINHEMPEL et al.1989), wie beispielsweise das Abtrennen des Sprosses vom Explantat und das Übertragen auf einen veränderten Nährboden, der Auxin enthält, könnte das Pflanzenwachstum zunächst kurzzeitig durch die Anpassung an die neuen Kulturbedingungen gehemmt und eine Vermehrung und Ausbreitung der Bakterien in Gang gesetzt werden. DEBERGH und MAENE (1984) führen überdies an, dass es bei Pflanzen während Perioden von geringem Wachstum, wie z. B. während der Bewurzelung, zu einem erhöhten Bakterienbefall kommen kann. Zum anderen zeigten 1,0 mg/l IBS bzw. 1,0 mg/l NES auch im Agarplattentest keine Wirkung auf die Anzahl der entstandenen Kolonien.

Zudem ist zu berücksichtigen, daß endophytische Bakterien innerhalb eines Sprosses nicht überall gleichermaßen nachweisbar sind (SEYRING 1998) und sich insbesondere in den Leitbündeln der Sprossbasis aufhalten (REUTHER 1988).

Sowohl in der Vermehrungs- als auch während der Bewurzelungsphase zeigte sich der Einfluss der Temperaturbedingungen. Der erhöhte visuelle Befall an Sprossen, die bei 30 °C kultiviert wurden, ist mit den für Bakterienwachstum optimalen Temperaturen zwischen 25 und 30 °C zu erklären. Die günstigsten Temperaturen für *in vitro* Sprosskulturen liegen unter 24 °C, so dass latente Infektionen zunächst unentdeckt bleiben können.

Bei den Untersuchungen mit inokulierten Sprossen von *Argyranthemum frutescens* können die dabei entstehenden Wirt/Endophyt-Beziehungen nicht unberücksichtigt bleiben. Für die Vermehrung und Ausbreitung der Infektion sind mögliche Mechanismen der Kontrolle über Endophyten durch den Wirt von Bedeutung (BEIDERBECK 1977, KLEINHEMPEL et al.1989). Diese Mechanismen sind hinsichtlich des Endophytenbefalls bei *in vitro* Kulturen weitestgehend unbekannt. Die während der Kulturführung ausgelösten unterschiedlichsten Stoffwechselvorgänge könnten eine mögliche Ursache für das unterschiedliche Verhalten des Pflanzenmaterials einerseits auf den cytokininfreien Kontrollmedien und andererseits den nicht immer eindeutigen Ergebnissen auf den auxinhaltigen Medien sein.

Nach den hier vorliegenden Ergebnissen kann den Cytokininen BAP und 2iP in Konzentrationen von 2,5 mg/l eine bakteriostatische Wirkung auf das untersuchte Bakteriengemisch zugeschrieben werden, wie auch der Agarplattentest mit Bakteriennährmedium und MS-Medium ohne Pflanzenmaterial bestätigte.

Obwohl BOXUS und TERZI (1988) einen Effekt für Kinetin bei einer Konzentration von 0,5 mg/l bei kontaminierten Sproßkulturen diverser *Prunus*-Arten feststellten, konnte in diesem Experiment für Kinetin kein klarer Trend gefunden werden, da möglicherweise die Konzentration der bakteriellen Endophyten im Pflanzengewebe nicht zum Austreten ausreichte, wie an der Kontrolle zu ersehen war. Stichprobenartig durchgeführte Tests ergaben jedoch immer einen Nachweis eines latenten Befalls.

Zu berücksichtigen sind bei den Versuchsergebnissen, dass die Bakterieninokulation an den *in vitro* Sproßkulturen für die Untersuchungen mit den einzelnen Cytokininen zu verschiedenen Zeitpunkten erfolgten. Desweiteren war der Untersuchungszeitraum nur sehr kurz gewählt. Bei einer *in vitro* Verklonung erfolgen eine Vielzahl von Vermehrungszyklen auf cytokininhaltigen Medien, ehe eine Bewurzelungsphase eingeschaltet wird.

Ob eine Möglichkeit gegeben ist, hohe Gaben von Cytokininen in das Kulturmedium auch gleichzeitig zur Unterdrückung des Bakterienwachstums bei problembehafteten Pflanzenarten während der *in vitro* Kultur einzusetzen, ist fraglich. Es ist zu berücksichtigen, dass wirkungsvolle Konzentrationen, ähnlich der Anwendung von Antibiotika, meist verbunden sind mit einhergehenden Hemmungen des Pflanzenwachstums, wie auch die vorliegenden Untersuchungen an *Argyranthemum frutescens* cv. Butterfly zeigen. Konzentrationen von 2,5 mg/l Cytokinin im Vermehrungsmedium hatten den höchsten bakteriostatischen Effekt, jedoch waren Sprossentwicklung und Wurzelbildung in Abhängigkeit von der Art des Cytokinins beeinträchtigt.

Die Untersuchungen wurden am Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e. V. (IGZ) mit Förderung des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten sowie des Ministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten des Landes Brandenburg und des Ministers für Landwirtschaft und Forsten des Freistaates Thüringen durchgeführt.

Unser besonderer Dank gilt Frau Katja Krüger für die zuverlässige technische Assistenz. Dank auch dem Plantenziektenkundige Dienst in Wageningen für die Identifizierung der Bakterienisolate.

Literatur

BEIDERBECK, R. 1977: Pflanzentumoren. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.

BOXUS, Ph. und J. M. TERZI 1988: Control of accidental contaminations during mass propagation. Acta Horticulturae **225**, 189–191.

CASSELS, A. C. 1991: Problems in tissue culture: Culture contamination. In P. Debergh und P. H. Zimmermann: Micropropagation, Technology and Application. Kluver Academic Publ., Dordrecht, The Netherlands, 31–44.

CASSELS, A. C. 1996: The production of disease-free planting material by the process of micropropagation. In: Second International Symposium on Bacteria and bacteria-like contaminants of plant tissue cultures. 3.–6. 9. 96 University College Cork, Ireland, Abstract-Band, 4–5.

COOKE, D. L., W. M. WAITES und C. LEIFERT 1992: Effects of Agrobacterium tumefaciens, Erwinia carotovora, Pseudomonas syringae and Xanthomonas campestris on plant tissue cultures of Aster, Cheiranthus, Delphinium, Iris and Rosa; disease development in vivo as a result of latent infection in vitro. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz **99** (5), 469–481.

DEBERGH, P. und L. MAENE 1984: Pathological and physiological problems related to the in vitro culture of plants. Parasitica **40** (2–3), 69–75.

DRUART, Ph. 1987: Contribution à l' élaboration de techniques de production en masse in vitro d' espèces ligneuses utilisables en culture fruitière. Thèse Faculté des Sciences Agronomiques, 174 pp.

JANSSEN, A. 1990: Resistenzprüfung von Pappelklonen durch Frühtests in vitro am Beispiel des Pappelkrebses. Mitteilungsblatt des Fördervereins für schnellwachsende Baumarten in Hann. Münden, **44**, 3/4.

KLEINHEMPEL, H., K. NAUMANN und D. SPAAR 1989: Bakterielle Erkrankungen der Kulturpflanzen. VEB Gustav Fischer Verlag Jena.

KNEIFEL, W. und W. LEONHARDT 1992: Testing of different antibiotics against gram-positive and gram-negative bacteria isolated from plant tissue culture. Plant Cell Tissue and Organ Culture **29**, 139–144.

LEIFERT, C., W. M. WAITES und J. R. NICHOLAS 1989: Bacterial contaminants of micropropagated plant cultures. Journal of Applied Bacteriology, **67**, 353–361.

LEIFERT, C., B. WAITES, J. W. KEETLEY, S. M. WRIGTH, J. R. NICHOLAS und W. M. WAITES 1994: Effect of medium acidification on filamentous fungi, yeasts and bacterial contaminants in Delphinium tissue cultures. Plant Cell and Organ Culture **36**, 149–155.

MURASHIGE, T. und F. SKOOG 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant **15**, 473–497.

REED, B. M., P. M. BUCKLEY und T. N. DE WILDE 1995: Detection and eradication of endophytic bacteria from micropropagated mint plants. In Vitro Cell. Dev. Biol. **31P**, 53–57.

REED, B. M. und P. TANPRASERT 1995: Detection and control of bacterial contaminants of plant tissue cultures. A review of recent literature. Plant Tissue Culture and Biotechnology, **1** (3), 137–142.

SEYRING, M. 1998: Nachweis und Identifizierung von bakteriellen Endophyten bei in vitro Kulturen von Primula vulgaris Huds. Gartenbauwissenschaft, **63** (1), 27–33.

SEYRING, M. 1999: Einfluß von Antibiotika auf die Eliminierung von Agrobacterium tumefaciens und das Wachstum von Argyranthemum frutescens- Sproßkulturen in vitro und in vivo. Gartenbauwissenschaft, **64**, 177–182.

REUTHER, G. 1988: Problems of transmission and identification of bacteria in tissue culture propagated Geraniums. Acta Horticulturae **225**, 139–152.

TAHMATSIDOU, V. I. und A. C. CASSELS 1996: Elimination of bacteria from meristem tip explants of Hydrangea spp. using antibiotics. In: Second International Symposium on Bacteria and Bacteria-like Contaminants of Plant Tissue Cultures. 3.–6. 9. 96 University College Cork, Ireland, Abstract-Band, 16.

TANPRASERT, P. und B. REED 1996: Detection and characterization of bacterial contaminants of Strawberry runner explants. In: Second International Symposium on Bacteria and Bacteria-like Contaminants of Plant Tissue Cultures. 3.–6. 9. 96 University College Cork, Ireland, Abstract-Band, 42.

WERBROUCK, ST. P. O., B. VAN DER JEUGT, W. DEWITTE, E. PRINSEN, H. A. VAN ONCKELEN und P. C. DEBERGH 1995: The metabolism of benzyladenine in Spathiphyllum floribundum 'Schott Petite' in relation to acclimatisation problems. Plant Cell Reports, **14**, 662–665.

Eingegangen: 21.5.1999/12.8.1999

Anschrift der Verfasserin: Martina Seyring, Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren-Erfurt, Kühnhäuser Straße 101, 99189 Erfurt-Kühnhausen.