



TC/50/17

ORIGINAL: englisch

DATUM: 28. Januar 2014

# INTERNATIONALER VERBAND ZUM SCHUTZ VON PFLANZENZÜCHTUNGEN

Genf

## TECHNISCHER AUSSCHUSS

**Fünzigste Tagung  
Genf, 7. bis 9. April 2014**

### ÜBERARBEITUNG VON DOKUMENT TGP/7: URSPRUNG VON VERMEHRUNGSMATERIAL

*vom Verbandsbüro erstelltes Dokument*

*Haftungsausschluß: dieses Dokument gibt nicht die Grundsätze oder eine Anleitung der UPOV wieder*

1. Zweck dieses Dokuments ist es, einen Entwurf für eine Anleitung zum Ursprung von Vermehrungsmaterial zur Aufnahme in eine künftige Überarbeitung von Dokument TGP/7 vorzulegen.

2. In diesem Dokument werden folgende Abkürzungen verwendet:

TC:	Technischer Ausschuß
TC-EDC:	Erweiterter Redaktionsausschuß
TWA:	Technische Arbeitsgruppe für landwirtschaftliche Arten
TWC:	Technische Arbeitsgruppe für Automatisierung und Computerprogramme
TWF:	Technische Arbeitsgruppe für Obstarten
TWO:	Technische Arbeitsgruppe für Zierpflanzen und forstliche Baumarten
TWP:	Technische Arbeitsgruppen
TWV:	Technische Arbeitsgruppe für Gemüsearten

3. Der Aufbau dieses Dokuments ist wie folgt:

HINTERGRUND .....	1
PRÜFUNG DURCH DIE TECHNISCHEN ARBEITSGRUPPEN IM JAHR 2013 .....	2
VORSCHLAG .....	3

ANLAGE I: URSPRUNG VON VERMEHRUNGSMATERIAL (DARGELEGT AUF DEN TAGUNGEN DER TECHNISCHEN ARBEITSGRUPPEN IM JAHR 2013)

ANLAGE II: URSPRUNG VON VERMEHRUNGSMATERIAL (NEUER VORSCHLAG)

### HINTERGRUND

4. Der Technische Ausschuß (TC) nahm auf seiner neunundvierzigsten Tagung vom 18. bis 20. März 2013 zur Kenntnis, daß Sachverständige der Europäischen Union der TWF und der TWO auf ihren Tagungen im Jahr 2013 Information über den Einfluß des Verfahrens vegetativer Vermehrung und des Ursprungs des von der Pflanze selbst entnommenen Vermehrungsmaterials auf die künftige Entwicklung der Pflanze und die Merkmalsausprägung, und wie dies in den Prüfungsrichtlinien behandelt werden könne, erteilen werden (vergleiche Dokument TC/49/41 „Bericht über die Entschließungen“, Absatz 81).

5. Als Antwort auf das Ersuchen des TC erstellte der Verfasser der Europäischen Union (Herr Jens Wegner) einen Entwurf einer Anleitung zum Ursprung von Vermehrungsmaterial und stimmte zu, daß dieses Dokument, von dem eine Abschrift in Anlage I dieses Dokuments enthalten ist, auf allen Tagungen der Technischen Arbeitsgruppen im Jahr 2013 vorgelegt werde.

#### PRÜFUNG DURCH DIE TECHNISCHEN ARBEITSGRUPPEN IM JAHR 2013

6. Die TWO, TWF, TWV, TWC und TWA prüften die von einem Sachverständigen aus der Europäischen Union vorgeschlagene Anleitung zum Ursprung von Vermehrungsmaterial, wie in Abschnitt IV „Anleitung für das Verfassen von Prüfungsrichtlinien“ der Anlagen der Dokumente TWO/46/10, TWF/44/10, TWV/47/10, TWC/31/10 und TWA/42/10 dargelegt (vergleiche Dokument TWO/46/29 „Report“, Absätze 22 und 23, Dokument TWF/44/31 „Report“, Absätze 25 bis 27 und Dokument TWV/47/34 „Report“, Absätze 25 bis 27, Dokument TWC/31/32 „Report“, Absätze 23 und 24 und Dokument TWA/42/31 „Report“, Absätze 24 bis 26 ), wie in Anlage I dieses Dokuments wiedergegeben.

7. Die TWO vereinbarte, daß es nicht zweckmäßig wäre, zusätzlichen Standardwortlaut zum Ursprung von Vermehrungsmaterial in den Technischen Fragebogen, Abschnitt 9.2., aufzunehmen. Allerdings nahm die TWO zur Kenntnis, daß das Dokument nützliche Informationen über den Einfluß des Ursprungs von Vermehrungsmaterial liefere und ersuchte um Ausarbeitung einer Kurzfassung als Quelle allgemeiner Anleitung für Verfasser von Prüfungsrichtlinien zur Aufnahme in Dokument TGP/7.

8. Die TWF merkte an, daß das Dokument nützliche Informationen über die Auswirkungen des Ursprungs von Vermehrungsmaterial als Quelle allgemeiner Anleitung für Verfasser von Prüfungsrichtlinien zur Aufnahme in Dokument TGP/7 liefere und ersuchte den Sachverständigen aus der Europäischen Union um die Erstellung einer Kurzfassung des Wortlauts zur Vorlage auf der fünfundvierzigsten Tagung der TWF im Jahr 2014.

9. Die TWF ersuchte einen Sachverständigen aus Spanien, auf der fünfundvierzigsten Tagung der TWF ein Referat über praktische Erfahrung mit der Verwendung von in-vitro-vermehrtem Material, das für die DUS-Prüfung oder zu Zertifizierungszwecken eingereicht wird, zu halten.

10. Die TWV merkte an, daß das Dokument nützliche Informationen über den Einfluß des Ursprungs von Vermehrungsmaterial als Quelle allgemeiner Anleitung für Verfasser von Prüfungsrichtlinien zur Aufnahme in Dokument TGP/7 liefere und ersuchte den Sachverständigen aus der Europäischen Union, mit Unterstützung von Sachverständigen aus Frankreich und den Niederlanden eine Kurzfassung des Wortlauts zur Vorlage auf der achtundvierzigsten Tagung der TWV im Jahr 2014 zu erstellen.

11. Die TWV bat um Hinzufügung von Beispielen für vegetativ vermehrte Gemüsesorten.

12. Die TWC nahm zur Kenntnis, daß das Dokument nützliche Informationen über den Einfluß des Ursprungs von Vermehrungsmaterial liefere und stimmte dem Ersuchen um Ausarbeitung einer Kurzfassung als Quelle allgemeiner Anleitung für Verfasser von Prüfungsrichtlinien zur Aufnahme in Dokument TGP/7 zu.

13. Die TWC bat den Verfasser, den Verweis auf Wikipedia zu vermeiden, um sicherzustellen, daß auf eine zuverlässige Informationsquelle verwiesen wird.

14. Die TWA stimmte mit der TWO überein, daß es nicht zweckmäßig wäre, zusätzlichen Standardwortlaut zum Ursprung von Vermehrungsmaterial in den Technischen Fragebogen, Abschnitt 9.2., aufzunehmen. Die TWA merkte an, daß das Dokument nützliche Informationen über die Auswirkungen des Ursprungs von Vermehrungsmaterial als allgemeine Anleitung für Verfasser von Prüfungsrichtlinien zur Aufnahme in Dokument TGP/7 liefere und ersuchte den Sachverständigen aus der Europäischen Union, mit Unterstützung von Sachverständigen aus Frankreich und den Niederlanden eine Kurzfassung des Wortlauts zur Vorlage auf der dreiundvierzigsten Tagung der TWA im Jahr 2014 zu erstellen. Die TWA nahm den Einfluß des Ursprungs von Vermehrungsmaterial auf landwirtschaftliche Arten, wie etwa Kartoffel, der bei der DUS-Prüfung berücksichtigt werden muß, zur Kenntnis.

15. Die TWA nahm zur Kenntnis, daß die in Dokument TWA/42/10 aufgeworfenen Fragen von der absichtlichen Verwendung von Chemikalien (z.B. Wachstumshemmer) bei allen in die DUS-Prüfung aufgenommenen Sorten abweichen. Sie erinnerte daran, daß die allgemeinen Angelegenheiten in folgendem Abschnitt von Dokument TG/1/3 „Allgemeine Einführung zur Prüfung auf Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit und Erarbeitung harmonisierter Beschreibungen von neuen Pflanzensorten“ behandelt seien (vergleiche Dokument TG/1/3, Kapitel 2, Abschnitt 2.5.3):

„Die Ausprägung eines Merkmals oder mehrerer Merkmale einer Sorte kann durch Faktoren wie Schadorganismen, chemische Behandlung (z.B. Wachstumshemmer oder Pestizide), Wirkungen einer Gewebekultur, verschiedene Unterlagen, Edelreiser, die verschiedenen Wachstumsstadien eines Baumes entnommen werden, usw., beeinflusst werden. In einzelnen Fällen (z.B. Krankheitsresistenz) wird die Reaktion auf bestimmte Faktoren absichtlich als Merkmal bei der DUS-Prüfung verwendet (siehe TG/1/3, Kapitel 4., Abschnitt 4.6.1). Ist der Faktor jedoch nicht für die DUS-Prüfung bestimmt, ist es wichtig, daß sein Einfluß die DUS Prüfung nicht verzerrt. Demgemäß hat die Prüfungsbehörde je nach Umständen sicherzustellen, daß:

- a) alle in Prüfung befindlichen Sorten frei von diesen Faktoren sind, oder
- b) alle in die DUS-Prüfung einbezogenen Sorten, einschließlich der allgemein bekannten Sorten, denselben Faktor enthalten und dieser Faktor die gleiche Wirkung auf alle Sorten hat, oder
- c) die beeinflussten Merkmale in Fällen, in denen noch immer eine zufriedenstellende Prüfung durchgeführt werden könnte, von der DUS-Prüfung ausgeschlossen werden, es sei denn, daß die tatsächliche Ausprägung des Merkmals des Pflanzengenotyps trotz der Anwesenheit des Faktors festgestellt werden kann.“

Die TWA erinnerte auch an die in Dokument TGP/12 enthaltene Anleitung „Anleitung zu bestimmten physiologischen Merkmalen.“

#### VORSCHLAG

16. Auf der Grundlage der von den TWP im Jahr 2013 gemachten Anmerkungen, erstellte der Sachverständige aus der Europäischen Union eine Kurzfassung des Entwurfs einer Anleitung zum Ursprung von Vermehrungsmaterial, die in Anlage II dieses Dokuments dargelegt ist. Der als neue erläuternde Anmerkung zur Qualität des Materials in eine künftige Überarbeitung von Dokument TGP/7 aufzunehmende Vorschlag ist in Teil IV von Anlage II enthalten.

17. Der TC-EDC zog auf seiner Sitzung in Genf am 8. und 9. Januar 2014 den Schluß, daß es zweckdienlich wäre, zu den Tagungen der TWP im Jahr 2014 als ersten Schritt zur Entwicklung von Anleitung Sachverständige einzuladen, die über ihre Erfahrungen im Hinblick auf die Ursprünge von Vermehrungsmaterial und wie sie mit den Problemen, die sich ergeben könnten, verfahren sind, sprechen. Auf der Grundlage dieser Information könnte Anleitung, die bewährte Verfahren aufzeigt, entwickelt werden.

*18. Der TC wird ersucht, Sachverständige zu ersuchen, den TWP auf ihren Tagungen im Jahr 2014 ihre Erfahrungen im Hinblick auf die Ursprünge von Vermehrungsmaterial in der DUS-Prüfung darzulegen, um Anleitung zu entwickeln, die bewährte Verfahren aufzeigt.*

[Anlagen folgen]

## ANLAGE I

URSPRUNG VON VERMEHRUNGSMATERIAL  
(den Technischen Arbeitsgruppen im Jahr 2013 dargelegt)

## I. EINFÜHRUNG

In gartenbaulichen Kreisen gibt es eine breite Vielfalt von Verfahren zur vegetativen Vermehrung. Auf gewerblicher Ebene sind die am häufigsten verwendeten Verfahren folgende:

- Stecklinge,
- Steckhölzer,
- Blattstecklinge,
- Abschnitte von Rhizomen oder Pflanzencluster,
- Ausläufer,
- Tochterzwiebeln,
- Mikrovermehrung,
- Pfropfen.

Bestimmte Verfahren, wie etwa Blattstecklinge, beschränken sich auf sehr wenige Arten (z.B. *Gesneriaceae*, *Begonia*, nicht panaschierte *Sanseveria*). Bei den wenigen Arten, bei denen das Verfahren angewandt werden kann, wird es üblicherweise für alle Sorten verwendet und führt deshalb nicht zu Komplikationen in der DUS-Prüfung. Deshalb wird dieses Verfahren nicht weiter behandelt. Dasselbe gilt für Pflanzen, die wirksam durch Ausläufer (z.B. *Fragaria*) und Tochterzwiebeln (z.B. *Tulipa*) vermehrt werden. Werden Arten allerdings alternativ durch Stecklinge, Steckhölzer oder durch Pfropfen vermehrt, so kann dies zu Komplikationen bei der DUS-Prüfung führen.

Mikrovermehrung kann entweder als alternatives Verfahren auf alle oder als einziges gewerblich interessantes Vermehrungsverfahren auf einige Pflanzen angewandt werden (z.B. *Orchidaceae*, *Bromeliaceae*). Mikrovermehrung sowie auch verschiedene andere *In-vitro*-Verfahren sind heute gängige Praxis in der Pflanzenzüchtung (z.B. „*embryo rescue*“), um die Pflanzen virenfrei zu machen, bei der (Massen-)Pflanzenvermehrung und bei der Konditionierung zum Zwecke der Vermehrung (z.B. Verjüngung). Alle Methoden und Verfahren können sowohl unmittelbare als auch spätere Auswirkungen auf den Phänotyp und damit auf die DUS-Prüfung haben.

Im Rahmen dieses Dokuments wird „Mikrovermehrung“ gleichbedeutend mit den allgemein gebräuchlichen Begriffen: „*In-vitro*-Verfahren“, „*In-vitro*-Kultur“ und „Gewebekultur“ verwendet.

Bei einigen Arten kann sich der Ursprung des von der Mutterpflanze entnommenen Vermehrungsmaterials ebenfalls sehr stark auf das künftige Erscheinungsbild der Tochterpflanzen auswirken. Dies muss deshalb neben dem Verfahren der vegetativen Vermehrung ebenfalls berücksichtigt werden.

Zweck dieses Dokuments ist es, herauszufinden, wie sich das Vermehrungsverfahren auf das Ergebnis der DUS-Prüfung auswirken könnte und wie falsche Entscheidungen über die Erfüllung der DUS-Voraussetzungen vermieden werden können.

## II. VEGETATIVE VERMEHRUNG ÜBER STECKLINGE

Stecklinge, die üblicherweise von Trieben oder Zweigen, in seltenen Fällen auch von Wurzeln entnommen werden, weisen ein charakteristisches Verhalten für jeden Typ auf: Stecklinge wurzeln und wachsen schneller als Steckhölzer. Im Gegensatz zu Spitzenstecklingen ist die apikale Dominanz von Stecklingen aus mittleren oder basalen Teilen der Pflanze gebrochen und die aus ihnen hervorgehenden Pflanzen werden mit gestutzten oder zurückgeschnittenen Pflanzen mit mehreren Trieben vergleichbar sein, wodurch ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der Zahl der adventiven Triebe und ihrer Größe zu erwarten ist. Werden Merkmale, wie „Zahl der Triebe“, „Breite der Pflanze“, „Dichte der Pflanze“ usw. erfaßt, so ist der für die Pflanzenvermehrung verwendete Stecklingstyp von entscheidender Bedeutung.

Solange alle Sorten einer bestimmten Pflanze anhand desselben Stecklingstyps vermehrt werden, müssen keine Auswirkungen auf die DUS-Prüfung angenommen werden. Pflanzen, die mit Stecklingen, die aus den mittleren Teilen des Triebes stammen, vermehrt werden, und Pflanzen, die aus Spitzenstecklingen gezogen werden, sind unter Umständen vergleichbar, wenn letztere einmal gestutzt wurden.

Für die meisten Krautpflanzen ist die Frage des Ursprungs von der Pflanze selbst entnommenen Vermehrungsmaterials zwar mehr für eine wirksame (Massen-)Vermehrung als für die Vergleichbarkeit von Proben in der DUS-Prüfung von Bedeutung, aber bei bestimmten Holzpflanzen können diese Fragen

entscheidend wichtig sein: Topophysis und Cyclophysis des Stecklings müssen berücksichtigt werden, da sie nicht nur Einfluß auf die Bewurzelungsfähigkeit, sondern auch auf ihre Wuchsform und ihre Fähigkeit zur Zweigbildung und zum Blühen haben.

Werden Zweige orthotrop wachsender Pflanzen einer Sorte zur Erzeugung plagiotrop wachsender Pflanzen (z.B. *Abies*, *Araucaria*, *Picea* und *Pseudotsuga*) verwendet, so dürfen diese Pflanzen nicht als neue Sorten, sondern eher als eine von bestehenden Sorten abweichende Wuchsform behandelt werden. Auch wenn eine plagiotrope Pflanze gelegentlich orthotrop wachsende Basaltriebe hervorbringt, sollten diese nicht als Abweichtertriebe betrachtet werden.

Plagiotrope Pflanzen können großen Zierwert haben und sind unter Umständen die einzigen Pflanzen auf dem Markt. Wenn keine orthotropen Pflanzen der Sorte zum Vergleich verfügbar sind und es keine Sorte ist (z.B. lediglich eine Einzelpflanze - siehe UPOV/EXN/VAR, Absatz 5), wird die DUS-Prüfung am plagiotropen Typ durchgeführt werden müssen.

Bei Arten, bei denen der Einfluß von Topophysis und Cyclophysis bekannt ist, sollte das in der DUS-Prüfung zu bewertende Material, einschließlich des Ursprungs des von der Mutterpflanze entnommenen Vermehrungsmaterials, in den entsprechenden Prüfungsrichtlinien genau festgelegt werden. Züchter und Lieferanten von Vergleichsmaterial sollten sämtliche Einzelheiten liefern, eventuell indem sie spezielle, in den Technischen Fragebogen aufzunehmende Fragen beantworten.

### III. AUSWIRKUNGEN VON *IN-VITRO*-KULTUR

*In-vitro*-Kultur kann die Ausprägung nahezu jedes Merkmals beeinflussen. Bekannt sind morphologische und funktionale Veränderungen in Bezug auf Bewurzelung, Wuchsform, Blüte und Fruchtbildung. DUS-Prüfer sind normalerweise mit Problemen, wie ungleichem Pflanzenwachstum, atypischem Verzweigen (Verlust der apikalen Dominanz), verkürzten oder verlängerten Trieben, Verlust oder Auftreten von Blattpanaschierung, geringer Blüte usw. konfrontiert.

Diese Veränderungen können vorübergehender oder dauerhafter Art sein. Dauerhafte während der Gewebekultur auftretende Veränderungen können auf die Aktivierung von Transposonen, Absonderung von Chimären oder irgendwelche „gewöhnlichen“ Mutationen, zu denen es auch jederzeit *ex vitro* kommen kann, zurückzuführen sein. Pflanzen, die dauerhaft verändert werden, gehören nicht länger der Ursprungssorte an und werden deshalb als Abweicher behandelt; dabei wird verwiesen auf Dokument TGP10/1 (Abschnitt 4: Prüfung der Homogenität anhand der Abweicher). Ebenso führt epigenetische Variation (z.B. Methylierung) – oft als Nebeneffekt genetischer Transformation – bei der Gewebekultur (oder *ex vitro*) zur Ausprägung von Merkmalen, die nicht auf dem Genom basieren. Sind einzelne Pflanzen betroffen, so können diese Pflanzen nicht als Abweicher betrachtet werden; sind alle Pflanzen einer bestimmten „Sorte“ betroffen, so darf das - beim Fehlen einer genetischen Basis für die Ausprägung der jeweiligen Merkmale - nicht zur Erteilung eines Schutztitels führen. Die Schwierigkeit, mit der DUS-Prüfer konfrontiert sein könnten, liegt in der Unterscheidung dieser beiden Veränderungen. Im ersten Fall müßte die Probe als nicht für die Durchführung der DUS-Prüfung geeignet betrachtet werden; im zweiten Fall muß eine fälschlicherweise erklärte Erfüllung der Unterscheidbarkeitsvoraussetzung berichtet werden, was zur Nichtigkeit eines erteilten Rechts führt.

#### Gründe für die Auswirkungen von *In-vitro*-Kultur

Wenn Pflanzenmaterial – ganz gleich ob ganze Pflanzen, Pflanzenteile, einzelne Zellen oder Gruppen davon (z.B. Kallus), Protoplasten oder Samen – *in vitro* kultiviert werden, wird stets ein bestimmtes Wachstumsmedium verwendet. Wachstumsmedien enthalten unter anderem Wachstumsregulatoren (Pflanzenhormone). Die genaue Zusammensetzung des Wachstumsmediums und der zugesetzten Wachstumsregulatoren hängen vom Ziel der Verwendung von *In-vitro*-Kultur ab. Zusätzlich zu den vom Labor eingesetzten Wachstumsregulatoren produzieren die Pflanzen diese Hormone selbst.

#### *Größe des Explantats*

Neben den Wachstumsregulatoren sind dies andere Gründe für Unterschiede zwischen *in-vitro*- und konventionell vermehrten Pflanzen. Im Allgemeinen sind Mikrostecklinge, die auf ein Wurzelsubstrat *ex vitro* übertragen werden, um einiges kleiner als herkömmliche Stecklinge. Zudem ist der Transplantationsschock größer. Es muß zusätzliche Zeit für das Aufholen des Wachstums zugestanden werden. Solch ein Unterschied kann besonders wichtig sein, wenn mikrovermehrte Pflanzen mit Pflanzen verglichen werden, die über die Teilung von Rhizomen, Tochterzwiebeln oder Knollen vermehrt werden, da diese Organe wichtige Pflanzennährstoffreserven enthalten, die ein schnelles Wachstum nach dem Einpflanzen ermöglichen. Der DUS-Prüfer muß sicherstellen, daß sich die Pflanzen aller Sorten im Versuch im selben

Entwicklungsstadium befinden und vergleichbare Reserven an Pflanzennährstoffen aufweisen (z.B. junge Pflanzen mit Knollen versus kaum bewurzelte Stecklinge vor der Knollenentwicklung).

#### *Lichtbedingungen*

Zudem erfolgt die *In-vitro*-Vermehrung bei künstlichem Licht und (normalerweise) unter Langtagsbedingungen. Die gelegentlich beobachtete geringe Blüte mikrovermehrter Pflanzen könnte darauf zurückzuführen sein.

#### *Pflanzenhormone*

Pflanzenhormone wirken sich auf nahezu alle Aspekte der Pflanzenentwicklung aus. Die Wirkung (und die Tendenz der Wirkung in Richtung positiv oder inhibitorisch), die Pflanzenhormone haben, hängt nicht nur von ihrer Konzentration, sondern auch von der Konzentration anderer Hormone ab. *Ex vitro* produzieren Pflanzen alle Hormone selbst, was sie nicht daran hindert, auf von außen zugesetzte Hormone zu reagieren. Es gibt fünf verschiedene Klassen von Pflanzenhormonen: Auxin, Cytokinin, Abscisinsäure, Gibberellin und Äthylen. Die ersten vier Klassen setzen sich aus vielen verschiedenen Chemikalien zusammen, die in ihrer Struktur zwar verschieden, aber in ihrer Wirkung auf Pflanzen ähnlich sind; sie können von einer Pflanzenart zur nächsten variieren. Zusätzlich gibt es zahlreiche synthetische Produkte mit vergleichbarer Wirkung auf die Pflanzenentwicklung.

#### *Zahl der Subkulturen*

Bezüglich des Einflusses, den die Zahl an Subkulturen (Vermehrungszyklen) *in vitro* nach dem Umpflanzen auf den Phänotyp von Pflanzen hat, wurden kontroverse Beobachtungen gemacht. In Fällen, in denen Gewebekultur mit einer Verjüngung des Gewebeexplantats einhergeht, wird sich dieses Phänomen mit jeder Subkultur verstärken, bis das Gewebe vollständig verjüngt ist. Dieser Effekt ist insbesondere bei Pflanzen mit unterschiedlichen juvenilen und ausgewachsenen Erscheinungsformen zu beobachten. Bei der gewerblichen Produktion kann solch eine Verjüngung erwünscht sein, da sie die Vermehrung von Pflanzen durch Stecklinge statt durch Pfropfen ermöglicht. Bei Arten, bei denen es keine unterschiedlichen juvenilen und ausgewachsenen Formen gibt, hat die Zahl an Subkulturen unter Umständen keine Auswirkungen.

#### *Verfahren der In-vitro-Multiplikation*

Die aus Gewebekulturen hervorgehenden Pflanzen können sich je nachdem, wie die Vermehrung stattgefunden hat, unter Umständen unterschiedlich verhalten: *In-vitro*-Spitzenstecklinge werden wahrscheinlich wie normale Spitzenstecklinge weiterwachsen, wohingegen geteilte Explantat-Cluster wahrscheinlich als Pflanzen mit mehreren Trieben weiterwachsen. Insbesondere wenn eine Verwendung von Spitzenstecklingen beabsichtigt war; die Schnitte wurden allerdings zu tief in das Cluster, oder wenn Cluster geteilt wurden, in Sub-Cluster gemacht und mit einer ungleichen Anzahl an Trieben werden die neu erzeugten Pflanzen wahrscheinlich anschließend ein ungleiches Wachstum aufweisen, wodurch die Zahl der Triebe in umgekehrtem Verhältnis zu ihrer Größe stehen kann.

#### *Transposone*

Schließlich kann es auch zu einer Aktivierung von Transposonen kommen, was zu Sorten führt, die eine erste DUS-Prüfung bestehen können; allerdings kann ihre Stabilität nicht als gegeben betrachtet werden. Dort wo die nationale Züchterrechtsgesetzgebung die Möglichkeit einer technischen Prüfung geschützter Sorten vorsieht, sollte sie durchgeführt werden.

#### Von Anmeldern erteilte Information, die bei der DUS-Prüfung zu berücksichtigen ist

Pflanzenzüchter lagern die Vermehrung über Gewebekultur oft an spezialisierte Labore aus. Obwohl in den meisten Fällen zwar das je nach den Bedürfnissen der Pflanzenart und der Erfahrung des Labors modifizierte klassische MS-Medium (ein Wachstumsmedium nach Murashige und Skoog) verwendet werden wird, ist es unwahrscheinlich, daß kommerziell arbeitende Labore dazu bereit sind, seine genaue Zusammensetzung preiszugeben, da dies als Geschäftsgeheimnis betrachtet wird. DUS-Prüfer können deshalb nicht erwarten, in der DUS-Prüfung vom Züchter vollständige Angaben über die Wachstumsregulatoren, die bei den Pflanzen (oder deren Mutterpflanzen) angewandt wurden, zu erhalten. Abgesehen von der unverhältnismäßig hohen administrativen Bürde, die die Einreichung solcher Einzelheiten für den Anmelder mit sich bringen würde, ist detaillierte Information von begrenztem Nutzen für die Prüfer, da der Einfluß sehr komplex sein kann und oft nebensächlich ist; der Einfluß von *In-vitro*-Kultur ist folglich für die Gestaltung der Prüfung schwer einschätzbar. Allerdings kann die Information über die

Tatsache, daß die Kandidatensorte Gegenstand von *In-vitro*-Kultur war, dennoch von Bedeutung für die Durchführung der DUS-Prüfung sein. Folgende drei Szenarien sind möglich:

Szenario 1: Gewebekultur ist das Standardvermehrungsverfahren, was bedeutet, daß alle gewerblich vermehrten Sorten *in vitro* vermehrt werden; das für die DUS-Prüfung verwendete Pflanzenmaterial - Kandidaten- und Vergleichssorten - kam ohne Zwischenvermehrung direkt aus dem Reagenzglas: der Einfluß von *In-Vitro*-Kultur auf den Phänotyp kann zwar sehr bedeutend sein, aber sein Einfluß auf die DUS-Prüfung kann nicht als bedeutender als derjenigen, der sich aus dem Vergleich von Pflanzenmaterial, das verschiedene Ursprünge hat, ergibt, betrachtet werden.

Beispiel: *Phalaenopsis*

Szenario 2: entfernte Mutter- oder Elitepflanzen wurden Gewebekultur unterzogen, was bedeutet, daß mehrere Zyklen von *Ex-Vitro*-Vermehrung stattgefunden haben, bevor das Pflanzenmaterial Gegenstand der DUS-Prüfung wird. Hier kann angenommen werden, daß das Pflanzenmaterial allen Spätfolgen, die die *In-Vitro* -Kultur möglicherweise hatte, entwichen ist.

Beispiel: *Pelargonium*

Szenario 3: Gewebekultur ist auf kommerzieller Ebene nicht das einzige Vermehrungsverfahren. Das in der DUS-Prüfung verwendete Material - Kandidaten- oder Vergleichssorten - kann aus verschiedenen Vermehrungen stammen: einerseits Pflanzen, die entweder direkt aus Gewebekultur stammen oder unmittelbar von solchen Pflanzen abstammen, und andererseits Pflanzen, die konventionell vermehrt wurden. Eine Kombination von solchem Material in der Prüfung kann zu falschen Entscheidungen über die Erfüllung der Unterscheidbarkeitsvoraussetzung sowie auch zu verzerrten Sortenbeschreibungen führen. Der Einfluß auf die DUS-Prüfung ist in Abschnitt 2.3 ausgeführt.

Beispiel: *Rhododendron*

#### Einfluß auf die Durchführung der technischen DUS-Prüfung

##### *Variation innerhalb der Probe*

In Fällen, in denen Variation innerhalb der Probe auf *In-vitro*-Vermehrung zurückgeführt wird, kann keine Entscheidung über die Erfüllung der Unterscheidbarkeitsvoraussetzung getroffen werden. Es ist Sache der Prüfungsbehörde, die Proben entweder als nicht für die DUS-Prüfung geeignet zurückzuweisen oder das Pflanzenmaterial weiter zu vermehren, um den Einfluß, den die *In-vitro*-Kultur hatte, auszuwaschen zu lassen. In einigen Fällen kann das Zurückschneiden der Pflanzen zu einem gleichmäßigen Wiederaustrieb führen; allerdings kann es in einigen Fällen ausreichend sein, die technische Prüfung einfach um eine weitere Wachstumsperiode zu verlängern.

##### *Verjüngte Pflanzen*

Die Prüfer müssen sich der Tatsache bewußt sein, daß einige Pflanzenarten morphologisch deutlich unterscheidbare juvenile und ausgewachsene Formen aufweisen (z.B. Form des Blattes bei *Hedera helix*), die an die Tochterpflanze weitergegeben werden können. Solch eine Unterscheidung kann bei Pflanzen anderer Arten nicht hinsichtlich ihrer morphologischen Merkmale, eindeutig aber hinsichtlich ihrer physiologischen Merkmale (z.B. Bewurzelungsfähigkeit von *Syringa vulgaris*), die wiederum ihr künftiges Wachstum beeinflussen, vorgenommen werden. Prüfer müssen deshalb sicherstellen, daß alle Sortenbeschreibungen an Pflanzen gemacht werden, die dasselbe (standardisierte) physiologische Alter haben.

##### *Spätfolgen synthetischer Pflanzenhormone, die während der Mikrovermehrung zugesetzt wurden*

Wenn Gewebekulturpflanzen *ex vitro* auf ein Wachstumssubstrat übertragen werden, weisen sie immer noch Restmengen synthetischer Pflanzenhormone, die sie über das *In-Vitro*-Wachstumsmedium aufgenommen haben, auf. Diese Restmengen synthetischer Pflanzenhormone beeinflussen die Pflanzenentwicklung auch weiterhin. Wie lange solche Spätfolgen beobachtet werden können, hängt nicht von der absoluten Menge an restlichen synthetischen Pflanzenhormonen in der Pflanze ab, sondern von ihrer Konzentration im Gewebe und von der Konzentration der Hormone, die die Pflanze selbst produziert. Die Konzentration wird proportional zum künftigen Pflanzenwachstum abnehmen. Weitere *ex vitro* erfolgende Pflanzenvermehrung allein verringert also nicht die Spätfolgen von Gewebekultur; Stecklinge von Pflanzen, die kurz zuvor der Gewebekultur entnommen wurden, enthalten Reste synthetischer Pflanzenhormone in viel höherer Konzentration als Stecklinge von Pflanzen, die vor langer Zeit der Gewebekultur entnommen wurden (vorausgesetzt, diese Pflanzen wiesen in der Zwischenzeit ein bedeutendes vegetatives Wachstum auf). Pflanzenhormone werden innerhalb der Pflanze verschoben und können vorübergehend gespeichert und

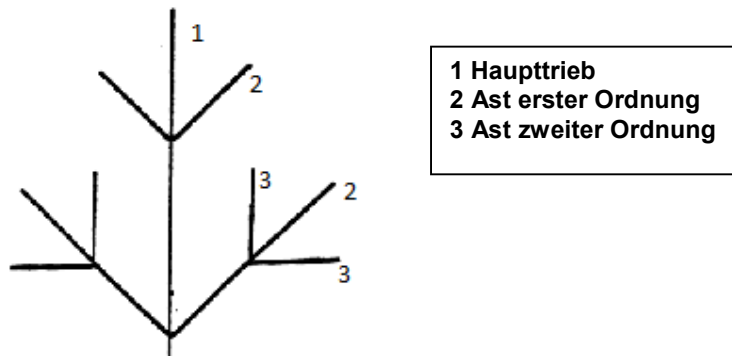
später freigegeben werden. Deshalb ist es weniger effizient, Pflanzen mit der Absicht, den Wiederaustrieb unterschiedlicher Proben vergleichbar zu machen, zurückzuschneiden, als neue Pflanzen aus Stecklingen zu erzeugen.

#### *Spätfolgen anderer Bedingungen der Mikrovermehrung*

Weist Pflanzenmaterial eine dürrtige oder vorzeitige Blüte auf, so sollte die Probe als nicht geeignet für die Durchführung der DUS-Prüfung betrachtet werden. Es ist Entscheidung der prüfenden Behörde, die Probe entweder zurückzuweisen oder den Mangel entweder durch Zurückschneiden der Pflanzen oder durch die Durchführung einer weiteren Wachstumsperiode zu beheben. Sind diese Auswirkungen gleichmäßig in allen Teilen einer bestimmten Sorte zu finden, so ist es schwer, den störenden Einfluß der *In-vitro*-Kultur auf die DUS-Prüfung innerhalb einer einzigen Wachstumsperiode zu erkennen.

#### IV. ANLEITUNG FÜR VERFASSER VON PRÜFUNGSRICHTLINIEN

Für konventionell *ex vitro* vermehrte Sorten muß in den Prüfungsrichtlinien - insbesondere für Arten, die während der Anbauprüfung nicht geschnitten werden - der Typ der Stecklinge, die zur Erzeugung der Probe für die DUS-Prüfung zu verwenden ist, festgelegt werden. Es könnte vorgeschlagen werden, daß TGP9 „Prüfung der Unterscheidbarkeit“ ein Kapitel über das in der DUS-Prüfung zu verwendende Material hinzugefügt wird: Für Pflanzen, bei denen topophysische und cyclophysische Auswirkungen bekannt sind, müssen die Anforderungen an das Vermehrungsmaterial, einschließlich seines von der Mutterpflanze entnommenen Ursprungs, besonders genaue Vorschriften enthalten, um die Vergleichbarkeit von Sorten sicherzustellen. Der Technische Fragebogen sollte Fragen enthalten, die es dem Prüfer ermöglichen, zu beurteilen, ob das vom Anmelder zur gewerblichen Verwertung der Sorte vermehrte Pflanzenmaterial sich auch für die Durchführung der DUS-Prüfung eignet, oder ob anderes Material eingereicht werden muß, etwa wie zum Beispiel ähnlich wie in TG/96/4 (*Picea abies* (L.) Karst.), wo es unter Punkt II 'Anforderungen an das Vermehrungsmaterial' heißt: „*Das eingesandte Vermehrungsmaterial sollte ... wenn möglich, nicht mit In-vitro-Vermehrung erzeugt werden. Bei Veredelungen sollte die verwendete Unterlage angegeben werden. Edelreiser sollten so ausgewählt werden, daß topophysisch bedingte Ausprägungen vermieden werden.*“ Im Technischen Fragebogen werden die Anmelder lediglich gebeten, anzugeben, ob die Sorte aus einem Sämling oder einer Mutation hervorgeht oder ob sie entdeckt wurde. Es wird vorgeschlagen, daß die Anmelder im Falle eines Mutanten oder einer Entdeckung gebeten werden sollten anzugeben (z.B. durch Kennzeichnung des jeweiligen Astes in einer Zeichnung), von welchem Teil der Mutterpflanzen das Ausgangsmaterial der Kandidatensorte entnommen wurde. Unten stehend ist die in TG/96/4, Kapitel VIII, zu diesem Zweck verwendete Zeichnung abgebildet:



Im Hinblick auf Mikrovermehrung kann in den Prüfungsrichtlinien festgelegt werden, ob solch ein Pflanzenmaterial für die DUS-Prüfung verwendet werden kann. Bei Pflanzen, bei denen Gewebekultur nicht das einzige zur Vermehrung verwendete Verfahren ist, müssen die Anmelder - z.B. im Technischen Fragebogen - genaue Angaben dazu machen, welche Pflanzengenerationen aus Gewebekultur hervorgegangen sind, statt die genaue Zusammensetzung des Wachstumsmediums anzugeben. Punkt 9.2 des Technischen Fragebogens könnte folgendermaßen geändert werden (Änderungen in *kursiv*):



„9.2 Das Vermehrungsmaterial darf keiner Behandlung unterzogen worden sein, die die Ausprägung der Merkmale der Sorte beeinflussen würde, es sei denn, daß die zuständigen Behörden eine solche Behandlung gestatten oder vorschreiben. Wenn das Vermehrungsmaterial behandelt worden ist, müssen die Einzelheiten der Behandlung angegeben werden. Zu diesem Zweck geben Sie bitte nach bestem Wissen an, ob das zu prüfende Vermehrungsmaterial folgendem ausgesetzt war:

- a) Mikroorganismen (z.B. Viren, Bakterien, Phytoplasma) Ja [ ] Nein [ ]
- b) Chemischer Behandlung (z.B. Wachstumshemmer, Pestizide) Ja [ ] Nein [ ]
- c) Gewebekultur (*Zutreffendes bitte ankreuzen*):
- i) *das zu prüfende Pflanzenmaterial wurde mikrovermehrt* [ ]
- ii) *das zu prüfende Pflanzenmaterial wurde ex vitro vermehrt, aber seine Mutterpflanzen waren Gegenstand von Gewebekultur* [ ]
- iii) *das zu prüfende Pflanzenmaterial wurde ebenso wie seine direkten Mutterpflanzen ex vitro vermehrt, aber entfernte Mutterpflanzen (z.B. Elitematerial) ging aus Gewebekultur hervor* [ ]
- iv) *weder das zu prüfende Pflanzenmaterial, noch irgendeiner seiner Vorfahren waren Gegenstand von Gewebekultur* [ ]
- d) Sonstige Faktoren Ja [ ] Nein [ ]

Wenn „Ja“, bitte Einzelheiten angeben.

.....”

Für die Arten, für die Gewebekultur verwendet wurde, könnten die Prüfungsrichtlinien regelmäßig mehr als eine Wachstumsperiode vorsehen, die dem Prüfer erstens ermöglichen würde, nicht angegebene Mikrovermehrung zu erkennen und zweitens Spätfolgen der Gewebekultur auswachsen zu lassen und dadurch die Gefahr einer Fehlentscheidung über die Unterscheidbarkeit zu verringern.

Literatur

Bhat, S.R. and Srinivasan, S. (2002): Molecular and genetic analysis of transgenic plants: Considerations and approaches. *Plant Science* 163: SS. 673-681.

Fouad, M., Swartz, H.J. and Buta, G. (1991): The role of abscisic acid and plant growth regulators in tissue culture-induced rejuvenation of strawberry ex vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 25: SS. 75-84.

Jesch, H.-H. and Plietzsch, A. (2000): Langzeit-Leistungsprüfung in vitro vermehrter Ziergehölze (Prunus). I. Morphologische Merkmale. *Gartenbauwissenschaft* 65: SS. 203-2012.

Jesch, H.-H. and Plietzsch, A. (2001): Langzeit-Leistungsprüfung in vitro vermehrter Ziergehölze (Prunus). II. Phänologische und physiologische Merkmale. *Gartenbauwissenschaft* 66: SS. 61-67.

Klaehn, F.U.: the relation of vegetative propagation to topophysis, cyclophysis and periphysis in forest trees.

Krüssmann, G. (1997): *Die Baumschule*. 6<sup>th</sup> Ed. Parey Berlin.

Murashige T. and Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15(3): SS. 473-497.

Ochatt, S.J., Pontécaille, C. and Rancillac, M. (2000): The growth regulators used for bud regeneration and shoot rooting affect the competence for flowering and seed set in regenerated plants of protein peas. *In Vitro Cell. Dev. Biol.; Plant* 36: SS. 188-193.

Smith, M.K. and Hamill, S.D. (1996): Field evaluation of micropropagated end conventionally propagated ginger in subtropical Queensland. *Austr. J. of Experimental Agriculture* 36: SS. 347-54.

Waldenmaier, S. and Bünemann, G. (1991): Ex vitro effects in micropropagation of *Syringa* L.; *Acta Horticulturae* S. 300.

Wikipedia: Plant hormone: [en.wikipedia.org/wiki/Plant\\_hormone](http://en.wikipedia.org/wiki/Plant_hormone).

[Anlage II folgt]

## ANLAGE II

## URSPRUNG VON VERMEHRUNGSMATERIAL

## I. EINFÜHRUNG

In gartenbaulichen Kreisen und bei einigen landwirtschaftlichen Arten gibt es eine breite Vielfalt von Verfahren zur vegetativen Vermehrung. Auf gewerblicher Ebene sind die am häufigsten verwendeten Verfahren folgende:

- Stecklinge,
- Steckhölzer,
- Blattstecklinge,
- Abschnitte von Rhizomen oder Pflanzencluster,
- Ausläufer,
- Tochterzwiebeln und Brutzwiebeln,
- Mikrovermehrung (auch bekannt als: *In-vitro*-Verfahren, „*In-vitro*-Kultur“ und „Gewebekultur“; im Rahmen dieses Dokuments werden alle Begriffe gleichbedeutend verwendet),
- Pfropfen
- (Mini- oder Mikro-)Knollen.

Da das Vermehrungsverfahren unmittelbaren Einfluß auf das Erscheinungsbild der Pflanzen haben kann, kann es bei der DUS-Prüfung zu Komplikationen kommen, wenn Pflanzen anhand verschiedener Vermehrungsverfahren alternativ vermehrt werden. Dies trifft besonders auf die erste Wachstumsperiode zu. Bei einigen Arten kann sich der Ursprung des von der Mutterpflanze entnommenen Vermehrungsmaterials ebenfalls stark auf das künftige Erscheinungsbild der Tochterpflanzen auswirken. Dies muss deshalb neben dem Verfahren der vegetativen Vermehrung ebenfalls berücksichtigt werden. Zu weiteren Komplikationen kann es kommen, wenn vegetativ vermehrte Sorten mit samenvermehrten Sorten verglichen werden müssen.

In Dokument TG/1/3 „Allgemeine Einführung zur Prüfung auf Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit und Erarbeitung harmonisierter Beschreibungen von neuen Pflanzensorten“ (vergleiche Dokument TG/1/3, Kapitel 2, Abschnitt 2.5.3) heißt es, daß:

„Die Ausprägung eines Merkmals oder mehrerer Merkmale einer Sorte kann durch Faktoren wie Schadorganismen, chemische Behandlung (z.B. Wachstumshemmer oder Pestizide), Wirkungen einer Gewebekultur, verschiedene Unterlagen, Edelreiser, die verschiedenen Wachstumsstadien eines Baumes entnommen werden, usw., beeinflusst werden. In einzelnen Fällen (z. B. Krankheitsresistenz) wird die Reaktion auf bestimmte Faktoren absichtlich als Merkmal bei der DUS-Prüfung verwendet (siehe TG/1/3, Kapitel 4., Abschnitt 4.6.1). Ist der Faktor jedoch nicht für die DUS Prüfung bestimmt, ist es wichtig, daß sein Einfluß die DUS Prüfung nicht verzerrt. Demgemäß hat die Prüfungsbehörde je nach Umständen sicherzustellen, daß:

- a) alle in Prüfung befindlichen Sorten frei von diesen Faktoren sind, oder
- b) alle in die DUS-Prüfung einbezogenen Sorten, einschließlich der allgemein bekannten Sorten, denselben Faktor enthalten und dieser Faktor die gleiche Wirkung auf alle Sorten hat, oder
- c) die beeinflussten Merkmale in Fällen, in denen noch immer eine zufriedenstellende Prüfung durchgeführt werden könnte, von der DUS-Prüfung ausgeschlossen werden, es sei denn, daß die tatsächliche Ausprägung des Merkmals des Pflanzengenotyps trotz des Vorhandenseins des Faktors festgestellt werden kann.“

Zweck dieses Dokuments ist es, herauszufinden, wie das Vermehrungsverfahren das Ergebnis der DUS-Prüfung beeinflussen könnte und wie falsche Entscheidungen über die Einhaltung der DUS-Anforderungen vermieden werden können, indem zusätzlicher Standardwortlaut für Prüfungsrichtlinien vorgeschlagen wird.

## II. VEGETATIVE VERMEHRUNG ÜBER STECKLINGE

Stecklinge weisen ein typisches Verhalten für jeden Typ sowie auch gemäß dem ihrer Mutterpflanze entnommenen Ursprung auf, was bei der Erfassung von Merkmalen, wie „Anzahl Triebe“, „Breite der Pflanze“, „Dichte der Pflanze“ usw. berücksichtigt werden muß.

Zudem, und zwar speziell bei einigen Holzpflanzen, sind Topophysis und Cyclophysis des Stecklings zu berücksichtigen, da sie sich nicht nur auf die Bewurzelungsfähigkeit, sondern auch auf ihre Wuchsform und ihre Fähigkeit zur Zweigbildung und Blüte auswirken. Werden Zweige orthotrop wachsender Pflanzen einer Sorte zur Erzeugung plagiotrop wachsender Pflanzen (z.B. *Abies*, *Araucaria*, *Picea* und *Pseudotsuga*) verwendet, so dürfen diese Pflanzen nicht als neue Sorten, sondern eher als eine von bestehenden Sorten abweichende Wuchsform behandelt werden. Auch wenn eine plagiotrope Pflanze gelegentlich orthotrop wachsende Basaltriebe hervorbringt, sollten diese nicht als Abweichtertriebe betrachtet werden.

Plagiotrope Pflanzen können großen Zierwert haben und sind unter Umständen die einzigen Pflanzen auf dem Markt. Wenn keine orthotropen Pflanzen der Sorte zum Vergleich verfügbar sind und es keine Sorte ist (z.B. lediglich eine Einzelpflanze - siehe UPOV/EXN/VAR, Absatz 5), wird die DUS-Prüfung am plagiotropen Typ durchgeführt werden müssen.

## III. AUSWIRKUNGEN VON *IN-VITRO*-KULTUR

*In-vitro*-Kultur kann die Ausprägung nahezu jedes Merkmals beeinflussen. Es sind morphologische und funktionale Veränderungen in Bezug auf Bewurzelung, Wuchsform, Blüte und Fruchtbildung bekannt. DUS-Prüfer sind normalerweise mit Problemen, wie ungleichem Pflanzenwachstum, atypischer Zweigbildung (Verlust der apikalen Dominanz), verkürzten oder verlängerten Trieben, Verlust oder Auftreten von Blattpanaschierung, geringer Blüte usw. konfrontiert. Die Gründe für diese Auswirkungen sind unter Umständen die Größe des Explantats, die angewandten Lichtbedingungen, Pflanzenhormone, die dem Wachstumsmedium hinzugefügt wurden, die Zahl der Subkulturen, das Verfahren der *In-vitro*-Vermehrung, die Aktivierung von Transposonen, die Absonderung von Chimären, somoklonale Variation oder irgendeine „gewöhnliche“ Mutation, zu der es auch jederzeit *ex vitro* kommen kann.

### Von Anmeldern erteilte Information, die bei der DUS-Prüfung zu berücksichtigen ist

Pflanzenzüchter lagern die Vermehrung über Gewebekultur oft an spezialisierte Labore aus. Die Bitte um Angabe von Einzelheiten über die angewandten Wachstumsregulatoren kann für die Anmelder nicht nur eine unverhältnismäßig schwere administrative Bürde darstellen, sondern sie ist auch nur begrenzt von Nutzen für die Prüfer, da der Einfluß sehr komplex sein kann und oft nebensächlich ist; die Folgen von *In-vitro*-Kultur sind folglich für die Gestaltung der Prüfung schwer abschätzbar. Allerdings kann die Information über die Tatsache, daß die Kandidatensorte Gegenstand von *In-vitro*-Kultur war, dennoch von Bedeutung für die Durchführung der DUS-Prüfung sein. Folgende drei Szenarien sind möglich:

Szenario 1: Gewebekultur ist das Standardvermehrungsverfahren, was bedeutet, daß alle auf gewerblicher Ebene vermehrten Sorten *in vitro* vermehrt werden; das für die DUS-Prüfung verwendete Pflanzenmaterial - Kandidaten- und Vergleichssorten - kam ohne Zwischenvermehrung direkt aus dem Reagenzglas: der Einfluß von *In-Vitro*-Kultur auf den Phänotyp kann zwar sehr bedeutend sein, aber seine Folgen für die DUS-Prüfung können nicht als bedeutender als diejenigen, die sich aus dem Vergleich von Pflanzenmaterial, das verschiedene Ursprünge hat, ergeben, betrachtet werden.

Beispiel: *Phalaenopsis*

Szenario 2: Entfernte Mutter- oder Elitepflanzen wurden Gewebekultur unterzogen, was bedeutet, daß mehrere Zyklen von *Ex-vitro*-Vermehrung stattgefunden haben, bevor das Pflanzenmaterial Gegenstand der DUS-Prüfung wird. Hier kann angenommen werden, daß das Pflanzenmaterial allen Spätfolgen, die die *In-vitro*-Kultur möglicherweise hatte, entwachsen ist.

Beispiel: *Pelargonium*

Szenario 3: Gewebekultur ist auf gewerblicher Ebene nicht das einzige Vermehrungsverfahren. Das in der DUS-Prüfung verwendete Material - Kandidaten- oder Vergleichssorten - kann aus verschiedenen Vermehrungen stammen: einerseits Pflanzen, die entweder direkt aus Gewebekultur stammen oder unmittelbar von solchen Pflanzen abstammen, und andererseits Pflanzen, die konventionell vermehrt wurden. Eine Kombination von derartigem Material in der Prüfung kann zu falschen Entscheidungen über die Erfüllung der Unterscheidbarkeitsvoraussetzung sowie auch zu verzerrten Sortenbeschreibungen führen. Die Folgen für die DUS-Prüfung sind in folgendem Abschnitt ausgeführt.

Beispiel: *Rhododendron*, *Spargel*, *Tomate* und *Paprika*

### Folgen für die Durchführung der technischen DUS-Prüfung

Aus Gewebekultur resultierende Veränderungen können vorübergehender oder dauerhafter Art sein. Pflanzen, die dauerhaft verändert werden, gehören nicht länger der Ursprungssorte an und werden deshalb als Abweicher behandelt; dabei wird verwiesen auf Dokument TGP10/1 (Abschnitt 4: Prüfung der Homogenität anhand der Abweicher).

Ebenso kann in Fällen, in denen Variation innerhalb der Probe auf *In-vitro*-Vermehrung zurückgeführt wird, keine Entscheidung über die Erfüllung der Unterscheidbarkeitsvoraussetzung getroffen werden, da die Ausprägung von Merkmalen nicht auf dem Genom basiert.

Sind allerdings alle Pflanzen einer gegebenen „Sorte“ gleichermaßen betroffen (etwa durch Verjüngung oder Spätfolgen von Pflanzenhormonen und anderen angewandten Wachstumsbedingungen), so darf dies - bei Fehlen einer genetischen Basis für die Ausprägung der betreffenden Merkmale - nicht zur Erteilung eines Schutztitels führen. Die Schwierigkeit, mit der ein DUS-Prüfer konfrontiert sein könnte, liegt in der Unterscheidung dieser beiden Veränderungen.

Im ersten Fall sollte die Probe als nicht für die Durchführung der DUS-Prüfung geeignet betrachtet werden (und es ist Sache der prüfenden Behörde, die Probe entweder als nicht für die DUS-Prüfung geeignet zurückzuweisen oder den Anbauversuch über eine weitere Wachstumsperiode hinaus zu verlängern, um den Einfluß, den die *In-vitro*-Kultur hatte, auswachsen zu lassen); im zweiten Fall wird eine etwaige fälschlicherweise erklärte Erfüllung der Unterscheidbarkeitsvoraussetzung berichtigt werden müssen, was zur Erklärung der Nichtigkeit eines erteilten Rechts führt.

#### IV. ANLEITUNG FÜR VERFASSER VON PRÜFUNGSRICHTLINIEN

Dokument TGP/7 „Erstellung von Prüfungsrichtlinien“ liefert Standardwortlaut im Hinblick auf die Menge an für die DUS-Prüfung erforderlichem Vermehrungsmaterial, sagt aber nichts über die Pflanzenqualität aus. Deshalb wird die Bereitstellung einer erläuternden Anmerkung vorgeschlagen, um potentielle Probleme in der DUS-Prüfung, die aus dem Ursprung des Vermehrungsmaterials resultieren können, zu erklären.

#### Stecklinge (ex vitro):

Für konventionell *ex-vitro*-vermehrte Sorten - insbesondere für Arten, die während der Anbauprüfung nicht geschnitten werden - muß in den Prüfungsrichtlinien die Art von Stecklingen, die zur Erzeugung der Probe für die DUS-Prüfung zu verwenden ist, festgelegt werden. Mögliche Auswahloptionen könnten sein:

- a) *Pflanzen müssen über Spitzenstecklinge vermehrt worden sein und dürfen weder gestutzt noch geschnitten worden sein.*
- b) *Pflanzen müssen über Spitzenstecklinge vermehrt worden sein und gestutzt/geschnitten/einmal/zweimal zurückgeschnitten worden oder über Stecklinge aus dem mittleren oder basalen Teil der Mutterpflanze vermehrt worden sein.*
- c) *Pflanzen müssen über Steckhölzer vermehrt worden sein.*

Für Pflanzen, bei denen topophysische und cyclophysische Auswirkungen bekannt sind, müssen die Anforderungen an das Vermehrungsmaterial, einschließlich seines der Mutterpflanze entnommenen Ursprungs, besonders genaue Vorschriften enthalten, um die Vergleichbarkeit von Sorten sicherzustellen. Deshalb wird folgende, aus TG/96/4 (*Picea abies* (L.) Karst.) entnommene erläuternde Anmerkung als Beispiel vorgeschlagen:

*„...Edelreiser [oder Stecklinge] sollten so ausgewählt werden, daß topophysisch bedingte Ausprägungen vermieden werden.“*

#### Mikrovermehrung:

Bei Pflanzenarten, bei denen Gewebekultur nicht das einzige Vermehrungsverfahren ist, kann in den Prüfungsrichtlinien ausgeführt werden:

*„Das eingesandte Vermehrungsmaterial sollte, wenn möglich, nicht mit In-vitro-Vermehrung erzeugt werden.“*

Für die Arten, für die Gewebekultur verwendet wird, könnten die Prüfungsrichtlinien - falls durchführbar - regelmäßig mehr als eine Wachstumsperiode vorsehen (möglicherweise mit einer zusätzlichen Vermehrung), die dem Prüfer erstens ermöglichen würde, nicht angegebene Mikrovermehrung zu erkennen, und zweitens Spätfolgen der Gewebekultur auswachsen zu lassen und dadurch die Gefahr einer Fehlentscheidung über die Unterscheidbarkeit zu verringern.

V. LITERATUR:

Bhat, S.R. and Srinivasan, S. (2002): Molecular and genetic analysis of transgenic plants: Considerations and approaches. *Plant Science* 163: SS. 673-681.

Fouad, M., Swartz, H.J. and Buta, G. (1991): The role of abscisic acid and plant growth regulators in tissue culture-induced rejuvenation of strawberry *ex vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 25: SS. 75-84.

Jesch, H.-H. and Plietzsch, A. (2000): Langzeit-Leistungsprüfung *in vitro* vermehrter Ziergehölze (*Prunus*). I. Morphologische Merkmale. *Gartenbauwissenschaft* 65: SS. 203-2012.

Jesch, H.-H. and Plietzsch, A. (2001): Langzeit-Leistungsprüfung *in vitro* vermehrter Ziergehölze (*Prunus*). II. Phänologische und physiologische Merkmale. *Gartenbauwissenschaft* 66: S. 61-67.

Klaehn, F.U.: the relation of vegetative propagation to topophysis, cyclophysis and periphysis in forest trees.

Krüssmann, G. (1997): *Die Baumschule*. 6<sup>th</sup> Ed. Parey Berlin.

Murashige T. and Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15(3): SS. 473-497.

Ochatt, S.J., Pontécaille, C. and Rancillac, M. (2000): The growth regulators used for bud regeneration and shoot rooting affect the competence for flowering and seed set in regenerated plants of protein peas. *In Vitro Cell. Dev. Biol.; Plant* 36: SS. 188-193.

Smith, M.K. and Hamill, S.D. (1996): Field evaluation of micropropagated end conventionally propagated ginger in subtropical Queensland. *Austr. J. of Experimental Agriculture* 36: SS. 347-54.

Waldenmaier, S. and Bünemann, G. (1991): *Ex vitro* effects in micropropagation of *Syringa* L.; *Acta Horticulturae*, S. 300.

[Ende der Anlage II und des Dokuments]