

Aus der Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof

Die Feststellung des Geschlechts bei Rebensämlingen

VON

E. WAGNER

Während die in Deutschland angebauten Ertragssorten von *Vitis vinifera* L., die rein vegetativ vermehrt werden, durchweg zwittrig sind, treten bei deren Kreuzung mit den diözischen Wildreben auch weibliche und männliche Formen auf. Damit ergibt sich für die Rebenzüchtung die Notwendigkeit, die alljährlich anfallenden Auslesestöcke aus den Sämlingspopulationen auch auf ihr Geschlecht hin zu untersuchen. Da die Auswahl dieser Stöcke vor allem nach Ertragseigenschaften erfolgt, handelt es sich in den weitaus meisten Fällen um die Erkennung und Unterscheidung von zwittrigen und weiblichen Stöcken. Nur in wenigen Gruppen können auch männliche Stöcke auftreten.

Die Tütenmethode und ihre Mängel

Die Geschlechtsbonitierung erfolgte ursprünglich nach den Ansatzverhältnissen. An dem zu prüfenden Stock wurden in drei aufeinander folgenden Jahren rechtzeitig vor dem Aufblühen einige Gescheine mit Pergamintüten umhüllt. Die frei abblühenden Gescheine konnten dann durch den eigenen oder durch fremden Pollen, die eingetüteten nur durch den eigenen Pollen bestäubt werden. Nach dem Ansatz innerhalb und außerhalb der Tüten wurde dann auf das Geschlecht geschlossen. Hatten sowohl die frei abgeblühten als auch die eingetüteten Gescheine angesetzt, so wurde der Stock als Zwitter notiert. Fehlender Ansatz unter beiden Bedingungen ließ auf Männchen schließen, die im allgemeinen keine funktionsfähigen Eizellen besitzen. Diejenigen Stöcke endlich, die Ansatz nur an den frei abgeblühten, nicht aber an den eingetüteten Gescheinen aufwiesen, mußten Weibchen sein, da deren Pollenkörner steril sind.

Ogleich diese Methode der Geschlechtsbestimmung im Prinzip richtig ist und auch lange Zeit angewendet wurde, ergaben sich in der Praxis doch beträchtliche Schwierigkeiten dadurch, daß die Beobachtungsergebnisse in den verschiedenen Jahren von einander abwichen bzw. es sich nachträglich herausstellte, daß eine Fehlbonitierung vorlag.

Die den Hauptteil der Auslesestöcke bildenden Zwitter wurden meist richtig erkannt. Auch bei den Männchen war die Gefahr einer Fehlbestimmung nicht sehr groß. Sie zeigen zwar gelegentlich einen gewissen Ansatz, da es hinsichtlich der Ausbildung der Samenanlagen Übergänge zum zwittrigen Zustand gibt und die Entwicklung des Fruchtknotens in Ausnahmefällen bis zu befruchtungsfähigen Eizellen führen kann (BARANOV und RAJKOVA 1929/30). Aber der Ansatz ist auch dann nur gering und an demselben Stock finden sich nebeneinander Gescheine mit Ansatz und solche, die typisch männlich abgeblüht sind (Abb. 1). Männchen sind nur in den wenigen Auslesegruppen zu

erwarten, bei denen die für die Züchtung von Ertragssorten wesentlichen Faktoren, wie Trauben- und Beereneigenschaften nicht berücksichtigt werden, z. B. in den hinsichtlich Holzreife, Gesundheitszustand, Frostresistenz u. ä. ausgelesenen Gruppen.

Bei den physiologisch weiblichen Stöcken kam es dagegen sehr leicht zu Fehlbonitierungen. Sie wurden häufig als Zwitter angesprochen, weil auch an eingetüteten Gescheinen Ansatz beobachtet worden war. In diesen Fällen war fremder Pollen entweder bereits vor dem Eintüten zugeflogen oder aber die Isolierung durch die Tüten war ungenügend. Wie schwierig es ist, Fremdbestäubung mit Sicherheit auszuschließen, zeigt die sich lange hinziehende Diskussion um die Keimungsfähigkeit der Pollenkörner von weiblichen Rebsorten. Obgleich schon RATHAY (1888, 1889) die Verhältnisse im wesentlichen richtig erkannt hatte, konnte erst KACZMAREK (1938) diese Frage mit einer sehr sorgfältigen Versuchsmethodik endgültig dahingehend klären, daß eine Keimung niemals erfolgt. Die für eine einwandfreie Isolierung der Gescheine erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen sind bei der großen Zahl der jährlich anfallenden Auslesestöcke praktisch nicht durchzuführen.

Die falsche Eingruppierung weiblicher Stöcke hat unangenehme Folgen. Ihre Verwendung als Pollenspender führt wegen der Sterilität ihrer Pollenkörner zum völligen Ausfall der damit durchgeführten Kreuzungen. Bei der Benutzung als Muttersorte ergibt sich bei der Vorbereitung zum Kreuzen eine beträchtliche unnötige Mehrarbeit. Der Rebenpollen ist bekanntlich schon einige Tage vor dem Öffnen der Blüten und der Befruchtungsfähigkeit des Fruchtknotens ausgereift. Um nun bei zwittrigen Mutterstöcken unerwünschte Selbstungen zu verhindern, müssen die Gescheine rechtzeitig vor dem Aufspringen der Pollensäcke, nach RASMUSON (1917) 5—6 Tage vor dem Aufblühen, kastriert werden, d. h. die Staubgefäße einer jeden einzelnen Blüte sind sorgfältig zu entfernen. Das gelingt bei vielen zwittrigen Sorten zugleich mit dem Abheben des Käppchens, das aus den an der Spitze zusammengewachsenen Blütenblättern besteht und die Pollensäcke umgreift. Bleiben beim Abheben des Käppchens Antheren stehen, dann müssen diese einzeln abgezupft werden. Das kommt bei manchen Zwittern häufiger vor. Bei irrtümlich als zwittrig angesehenen weiblichen Stöcken ist es wegen der kurzen Filamente immer der Fall, so daß das Kastrieren dann sehr mühsam und zeitraubend wird. Wenn



Abb. 1:
Teil eines männlichen Weinstockes.
Oberes Geschein mit teilweisem Ansatz,
unteres Geschein typisch männlich ab-
geblüht.

dagegen als Weibchen erkannte Stöcke bei der Kreuzung als Muttersorte Verwendung finden, dann besteht die Vorbereitung zum Kreuzen einfach darin, daß die Käppchen ohne Beachtung der Staubgefäße abgehoben werden. Diese Arbeit ist in einem Bruchteil der Zeit erledigt, die zum sauberen Kastrieren erforderlich wäre.

Grundlagen einer neuen Methode

Um zu einer geeigneteren Methode der Geschlechtbonitierung zu gelangen, wurden vom Jahre 1952 ab entsprechende Untersuchungen durchgeführt. Dabei wurden statt des Ansatzes der Gescheine die Unterschiede in der Morphologie der Blüte und im mikroskopischen Bau der Pollenkörner zur Beurteilung herangezogen.

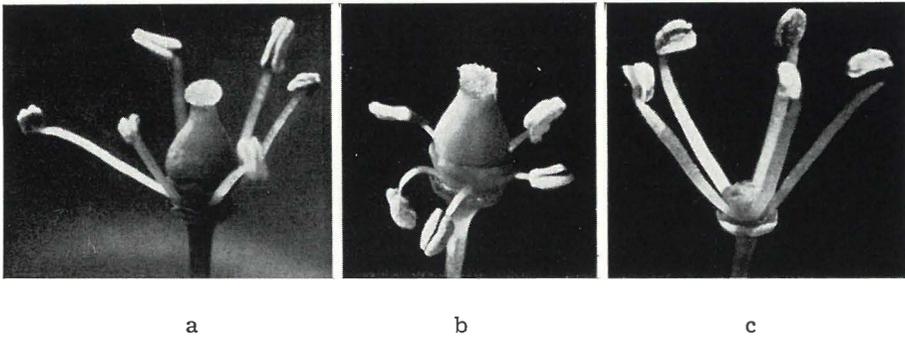


Abb. 2: Blüte eines a) zwittrigen, b) weiblichen und c) männlichen Weinstockes.

Im charakteristischen Falle unterscheiden sich die drei Geschlechtsformen der Rebe morphologisch sehr deutlich von einander (BREIDER und SCHEU 1938, LEVADOUX 1946). Die zwittrige Rebenblüte besitzt einen wohlentwickelten Fruchtknoten und aufrecht stehende Staubgefäße (Abb. 2 a). Bei der typischen weiblichen Blüte sind die Filamente kurz und abwärts gebogen (Abb. 2 b). Der männlichen Blüte fehlt der Fruchtknoten oder er ist doch nur schwach entwickelt (Abb. 2 c). Die makroskopische Entscheidung nach der Blütenmorphologie ist zwischen Zwittern und Weibchen in den meisten Fällen ganz unzweifelhaft. Allerdings gibt es hinsichtlich der Antherenstellung auch Übergangstypen.

Bei diesen makroskopisch zweifelhaften Stöcken ist eine eindeutige Unterscheidung nach dem Bau des Pollens möglich. Im mikroskopischen Bild der reifen, deutlicher noch bei nicht ganz reifen, aufgequollenen Pollenkörnern von zwittrigen (und auch männlichen) Stöcken sind die normalerweise vorhandenen drei Keimporen deutlich zu sehen. Bei tetraploiden Reben und manchen Kreuzungssorten treten auch Pollenkörner mit abweichender Keimporenzahl und Pollengröße auf (WAGNER 1957, 1958). Die Keimporen sind schon im frisch hergestellten Karmin-Essigsäure-Präparat gut sichtbar, besser noch bei einige Stunden alten Präparaten (Abb. 3). Den Pollenkörnern der weiblichen Reben, die sich bei fortschreitender Reife eindellen (WAGNER 1951), fehlen stets die Keimporen und auch die Keimfurchen (Abb. 4).

Die makroskopische Unterscheidung zwischen Zwittern und Männchen kann

unsicher werden, wenn bei Scheinzwittern (Mooc, 1930) auf einem relativ gut entwickelten Fruchtknoten Griffel und Narbe mehr oder weniger stark angedeutet sind. Eine mikroskopische Entscheidung nach dem Pollenbau ist auch nicht möglich, da die Pollenkörner dieser beiden Geschlechtsformen in gleicher

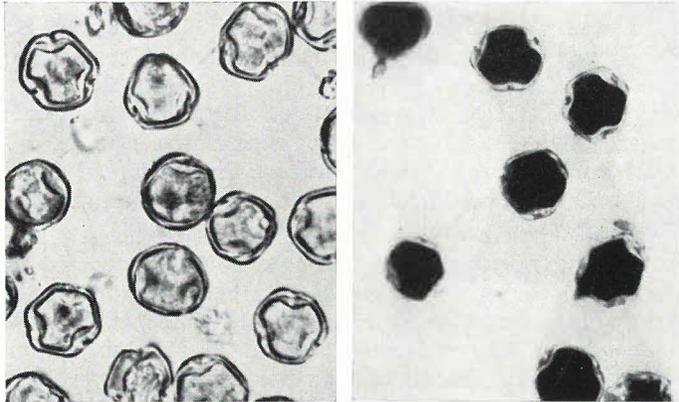


Abb. 3: Pollenkörner eines zwittrigen Weinstockes.
(in Karmin-Essigsäure, Gesamtvergrößerung etwa 600 \times)
links: Frischpräparat, rechts: Präparat etwa $\frac{1}{2}$ Tag alt.

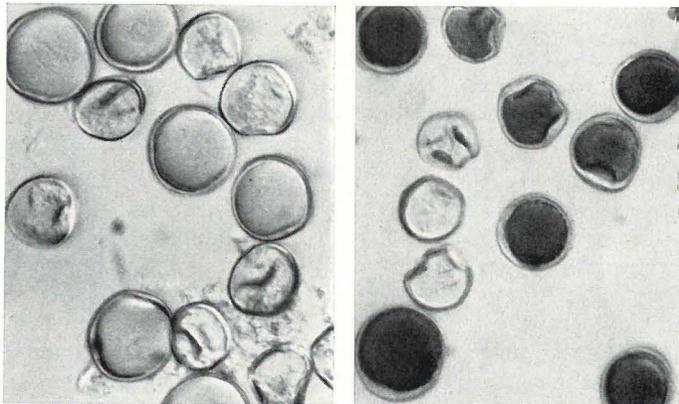


Abb. 4: Pollenkörner eines weiblichen Weinstockes.
(sonst wie Abb. 3)

Weise Keimporen und auch Keimfurchen besitzen. In diesen seltenen Fällen muß der Ansatz geprüft werden, wobei die erwähnte Möglichkeit einer teilweisen Fruchtbarkeit bei männlichen Stöcken zu berücksichtigen ist.

Nach einigen Vorversuchen im Jahre 1952 wurde dann im Jahre 1953 die gesamte Geschlechtsbonitierung der Auslesestöcke nach dem mikroskopischen

Bau der Pollenkörner und nach der Morphologie der Blüten durchgeführt. 1389 Stöcke waren zur Bonitierung vorgesehen (Tabelle 1). Davon fielen aus verschiedenen, noch zu erwähnenden Gründen 394 aus, so daß 995 bonitiert werden konnten. 81 % aller Stöcke gehörten in die nach Ertragseigenschaften ausgewählten Gruppen, konnten also nur Zwitter und Weibchen enthalten. Sämtliche Stöcke wurden mikroskopisch untersucht, die aus Männchen enthaltenden Gruppen auch morphologisch.

Um die Zuverlässigkeit der morphologischen Bonitierung zu prüfen, wurden einige Gruppen mit zusammen 150 Stöcken erst makroskopisch und dann mikroskopisch untersucht. Es ergab sich, daß von 117 nach morphologischen Merkmalen als „sicher“ bonitierten Stöcken 113 (96,6 % \pm 4,4) auch dem Pollenbau nach dasselbe Ergebnis brachten. Selbst bei den morphologisch nur als „wahrscheinlich“ bezeichneten Stöcken, die auf jeden Fall der mikroskopischen Untersuchung bedurft hätten, betrug die Übereinstimmung noch über 80 % (27 von 33 Stöcken).

Die Geschlechtsbonitierung kann unter Ausnutzung der auf dem Geilweilerhof üblichen Vermehrungsweise der Auslesestöcke zum Teil in die Gewächshäuser verlegt werden. Vom Februar ab werden dort von den im Vorjahr in den Sämlingsquartieren ausgesuchten Stöcken die für die Bepflanzung der Vorprüfungsanlagen erforderlichen Stupfer herangezogen. Diese kommen im April zum Blühen und können dann nach den beschriebenen Merkmalen bonitiert werden. Allerdings blühen unter Gewächshausbedingungen nicht alle Stupfer. Der Prozentsatz schwankt mit den verschiedenen Eltersorten. Im Durchschnitt kommen zwischen 50 und 60 % der Auslesestöcke als Stupfer zum Blühen. Von Bedeutung ist die Gewächshausbonitierung vor allem für diejenigen Auslesestöcke, die von auszuhausenden Parzellen stammen oder von Außenstellen, wo eine Freilandbonitierung aus technischen Gründen nicht durchführbar ist. Kommen die Stupfer dieser Stöcke nicht zum Blühen, dann ist eine Bonitierung erst möglich, wenn die Vermehrungen in den Vorprüfungsanlagen blühen. In diesen Anlagen, die nur Auslesestöcke enthalten, wäre die Bonitierung überhaupt bequemer vorzunehmen als in den viel umfangreicheren Sämlingsquartieren. Nur könnte man dann in den Vorprüfungsanlagen nicht schon im ersten Blühjahr Kreuzungsarbeiten durchführen.

Im Jahre 1954 konnten von 502 Auslesestöcken die im Gewächshaus vermehrten Stupfer und später dann die Stöcke selbst im Freiland bonitiert werden. Die Zahl der morphologisch fraglichen und daher mikroskopisch zu untersuchenden Fälle war unter den Gewächshausbedingungen mit 76 Stöcken (15,1 %) mehr als doppelt so groß als an demselben Material im Freiland, wo es sich nur um 32 Stöcke (6,4 %) handelte. Bei der höheren Zahl der fraglichen Stöcke im Gewächshaus handelte es sich, wie die Keimporenverhältnisse zeigten, fast nur um Weibchen, die in der Blütenform den Zwittern relativ ähnlich gesehen hatten. Möglicherweise wird die Längenentwicklung der Filamente durch das Gewächshausklima beeinflusst. Im Gesamtergebnis zeigte sich zwischen den Bonitierungen im Gewächshaus und denen im Freiland mit 492 von 502 Stöcken eine Übereinstimmung von 98,0 % \pm 1,7.

Die Bonitierungen nach Blütenbau und Pollenform stimmten mit fast 97 %, die in Gewächshaus und Freiland mit 98 % so gut überein, daß alle diese Beurteilungsarten brauchbar sind und miteinander kombiniert werden können. Die Sicherheit dieser Methode der Geschlechtsbonitierung erscheint so hoch, daß Wiederholungen in mehreren Jahren nicht erforderlich sind.

Die makroskopisch-mikroskopische Methode

Auf Grund der in den Jahren 1952 bis 1954 gemachten Feststellungen und Erfahrungen wurde in den folgenden Jahren das Geschlecht sowohl im Gewächshaus als auch im Freiland makroskopisch und mikroskopisch bonitiert. Im Gewächshaus wurde besonderes Augenmerk auf die Stupfer von den im Freiland nicht verfügbaren Stöcken gerichtet. Die Bonitierung erfolgte in der Weise, daß zunächst die Blütenform makroskopisch beurteilt und in allen Zweifelsfällen Knospen fixiert und der Pollenbau mikroskopisch geprüft wurde. Bei allen makroskopisch als Männchen bonitierten Stöcken wurde noch eine Ansatzkontrolle durchgeführt, bzw. die endgültige Beurteilung ausgesetzt bis die Vermehrungen im Freiland zum Fruchten kamen. Die Bonitierungen im Gewächshaus erfolgten in mehreren Durchgängen, da die Stupfer nacheinander gesteckt wurden und entsprechend zum Blühen kamen. Im Freiland waren wegen der verschiedenen Blühtermine zwei Durchgänge erforderlich.

Tabelle 1

Ergebnisse der Geschlechtsbonitierung nach der makroskopisch-mikroskopischen Methode

Jahr	Anzahl der zu bonitierenden Stöcke	davon ausgefallen (in %)	Anzahl der bonitierten Stöcke	davon mikroskopisch untersucht	Verteilung der Geschlechtsformen (in %)		
					♂♂	♀♀	♂♂
1953	1389	28,6	995	995	61,3	33,6	5,1
1954	1608	6,0	1510	138	50,2	47,3	2,5
1955	1129	13,3	979	130	59,2	40,6	0,2
1956	1311	43,3	744	54	55,8	42,2	2,0
1957	1009	53,1	473	78	55,4	39,9	4,7
1958	1422	31,8	970	17	70,8	25,4	3,8
1959	1235	43,8	700	13	57,0	38,3	4,7
1954 - 1959:	7714	30,3	5376	430	57,7	39,6	2,7
pro Jahr:	1286		896	72			

Insgesamt wurden bisher über 6000 Stöcke in der beschriebenen Weise bonitiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Pro Jahr waren im Mittel 1286 Auslestestöcke zur Bonitierung vorgesehen, von denen etwa 30% aus verschiedenen Gründen ausfielen. So kamen, wie erwähnt, von den Gewächshausstupfern nur etwa 60% zum Blühen. Die Freilandstöcke waren zum Teil nicht verfügbar, da sie auswärts standen oder bereits ausgehauen waren; zum Teil brachten sie keine Gescheine, hatten zu einem ungünstigen Zeitpunkt geblüht oder waren abgestorben. In den Jahren 1956 und 1957 wirkten sich auch Frostschäden stärker aus. Die ausgefallenen Bonitierungen wurden, soweit

es möglich war, im nächsten Jahr oder aber erst in den Vorprüfungsanlagen nachgeholt. Im Durchschnitt wurden jährlich 896 Stöcke bonitiert, davon nur 72 (8,7%) auch mikroskopisch. Dieser Anteil, der hauptsächlich Weibchen umfaßte, schwankte von Jahr zu Jahr recht beträchtlich, die Extremwerte lagen bei 1,8% und 19,8%.

Es erscheint denkbar, daß nicht näher bekannte Klimabedingungen zu bestimmten Entwicklungszeiten die Ausbildung der Antheren beeinflussen können, besonders im Sinne einer Verlängerung der Filamente bei weiblichen Blüten. Die erwähnten Erfahrungen mit Stupfern weiblicher Stöcke im Gewächshaus und den Stöcken selbst im Freiland deuten ja auch in diese Richtung. Eine weitere Beobachtung spricht ebenfalls für die Möglichkeit einer Beeinflussung durch Außenbedingungen. Bei einer bestimmten Sorte des hiesigen Sortiments erfolgt das Aufblühen nicht in der für *Vitis* charakteristischen Form durch Abwerfen des Käppchens, sondern die Blüten öffnen sich stets in der sonst bei Angiospermen üblichen Weise: die Blütenblätter bleiben an der Basis haften und spreizen sich nach außen. Dieses sternförmige Aufblühen erfolgt zu einem Zeitpunkt, an dem die Antheren noch unentwickelt sind. Im Freiland bleiben die Filamente kurz, die Pollensäcke trocknen ein bevor die Pollenkörner reif sind und der Ansatz ist schlecht. Unter Gewächshausbedingungen dagegen entwickeln sich nach dem Aufblühen die Antheren noch weiter. Die Filamente strecken sich zur normalen Länge, die Pollenkörner reifen aus und es wird voller Ansatz erzielt (WAGNER, unveröffentlicht).

Bedingt durch die angewandten Ausleseprinzipien ergibt sich ein beträchtliches Überwiegen der Zwitter (57,7%) gegenüber den Weibchen (39,6%), während die Zahl der Männchen (2,7%) sehr gering ist. Die Schwankungen dieser Prozentsätze zwischen den einzelnen Jahren bewegen sich in relativ engen Grenzen (Tab. 1, S. 195).

Neben dem für die Anwendung der neuen Methode allein entscheidenden Sicherheitsfaktor ist noch bemerkenswert, daß der Arbeitsaufwand geringer ist als bei der Tütenmethode. Die makroskopische Bonitierung eines Stockes bzw. in Zweifelsfällen das Fixieren der Knospen erfordert weniger Zeit als das Aufhängen der Tüten. Im Gewächshaus geht die Arbeit noch schneller vor sich als im Freiland, da die Stupfer dicht zusammen stehen; allerdings sind mehrere Durchgänge erforderlich. Im Freiland muß wegen der zeitlich verschiedenen Blühtermine ein zweiter Durchgang erfolgen, der aber schneller durchzuführen ist als die Ansatzkontrolle bei der Tütenmethode. Die Mehrarbeit durch die Ansatzkontrolle der Männchen fällt bei deren geringer Zahl von durchschnittlich 27 pro Jahr nicht sehr ins Gewicht. Auch die mikroskopische Untersuchung der im Mittel jährlich 72 Stöcke kann in wenigen Stunden erledigt werden. Der Zeitaufwand ist somit in einem Jahr schon geringer als bei der Tütenmethode. Da diese wegen ihrer unsicheren Ergebnisse dreimal erfolgte, ergibt sich, daß nach der neuen Methode bei erhöhter Sicherheit weniger als ein Drittel der früher aufgewendeten Zeit für die Geschlechtsbonitierung benötigt wird.

Zusammenfassung

1. Zur Feststellung des Geschlechts von Rebensämlingen wurde in den Jahren 1952 bis 1954 ein neues Bonitierungsverfahren entwickelt.

2. Diese makroskopisch-mikroskopische Methode beruht darauf, daß die drei Geschlechtsformen der Rebenblüte sich in der Morphologie (Länge und Stellung der Antheren, Vorhandensein oder Fehlen des Fruchtknotens) unterscheiden, daß die Pollenkörner der Zwitter und Männchen Keimporen besitzen, und daß die Männchen im allgemeinen keinen Ansatz bringen.
3. Die zu bestimmenden Stöcke werden zum Teil im Gewächshaus, zum Teil im Freiland zuerst makroskopisch nach der Blütenmorphologie bonitiert. In allen Zweifelsfällen werden dann die Pollenkörner mikroskopisch untersucht. Bei den als Männchen bonitierten Stöcken wird eine Ansatzkontrolle durchgeführt.
4. Die makroskopisch-mikroskopische Methode hat sich bei der Geschlechtsbonitierung von jährlich im Mittel etwa 900, insgesamt bei über 6 000 Auslesestöcken bewährt.

Literaturverzeichnis

- BARANOV, P. and H. RAJKOVA: The "male" flowers of grapes. Bull. appl. Bot., Genet. and Pl. Breed. **24**, 183 — 189 (1929/30) (russ.).
- BREIDER, H. und H. SCHEU: Die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts innerhalb der Gattung *Vitis*. Gartenbauwiss. **11**, 627 — 274 (1938).
- KACZMAREK, A.: Zur Frage der Keim- und Befruchtungsfähigkeit des Pollens der weiblichen Rebenblüte. Gartenbauwiss. **11**, 483 — 522 (1932).
- LEVADOUX, L.: Etude de la fleur et de la sexualité chez la vigne. Ann. Ecole nat. Agric. Montpellier **27**, 1 — 89 (1946).
- MOOG, H.: Beiträge zur Ampelographie. Mitt. Preuss. Rebenveredlungskommission Nr. 6 Geisenheim 1930.
- RASMUSON, H.: Kreuzungsuntersuchungen bei Reben. Z. Vererbungslehre **17**, 1 — 52 (1917).
- RATHAY, E.: Die Geschlechtsverhältnisse der Reben und ihre Bedeutung für den Weinbau I, II. Wien 1888, 1889.
- WAGNER, E.: Cytologische Untersuchungen über Meiose und Pollenentwicklung weiblicher Rebensorten. Chromosoma **4**, 439 — 455 (1951).
- — : Über das Auftreten von Pollenkörnern mit abnormer Keimporenzahl bei der Weinrebe. *Vitis* **1**, 9 — 13 (1957).
- — : Über spontane tetraploide Mutanten von *Vitis vinifera* L. *Vitis* **1**, 197 — 217 (1958).

eingegangen am 15. 2. 1960