

Aus dem Institut für Kulturpflanzenwissenschaft (340e)

Universität Hohenheim

Fachgebiet Produktqualität der Sonderkulturen

Prof. Dr. R. Blaich



Lockerbeerigkeit bei Klonen von Spätburgunder (Pinot noir): Analyse von molekularen Markern und der Einfluss von Gibberellin auf die Trau- benmorphologie

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Agrarwissenschaften

vorgelegt
der Fakultät Agrarwissenschaften

von

Petra Hoffmann
aus Mainz

2014

Die Arbeit wurde am 09.04.2014 von der Fakultät Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim als Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften (Dr. sc. agr.) angenommen.

Tag der mündlichen Prüfung:	17.06.2014
Prodekan:	Prof. Dr. S. Böttinger
Berichtserstatter, 1 Prüfer:	Prof. Dr. R. Blaich
Mitberichtserstatter, 2 Prüfer	Prof. Dr. J. Wünsche
3 Prüfer:	Prof. Dr. R. Vögele

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	VI
Abkürzungen	VII
1. Einleitung	1
2. Literaturüberblick	4
2.1 Traubenmorphologie.....	4
2.2. Botrytis Cinerea	7
2.3 Entwicklung der Weinrebe	8
2.4 Lockerbeerigkeit durch Weinbaumanagment	10
2.5 Gibberellin.....	11
2.6 Lockerbeerigkeit durch eine Gibberellinapplikation	13
2.7 Auxin.....	17
2.8 Expansin	21
2.9 Molekulare Marker	25
3. Material & Methoden	28
3.1 Genetisch bedingte Lockerbeerigkeit.....	28
3.2 Feldexperiment 2006	45
3.3 Hormonanalysen.....	50
3.4 Morphologische Untersuchungen	54
3.5 Statistische Auswertung.....	56
4. Ergebnisse	57
4.1 Genetische Analyse	57
4.2 Hormonanaylse.....	62

Inhaltsverzeichnis

4.2.1 Auxinanaylse	62
4.2.2 Gibberellinanalyse	66
4.3. Phänologische Daten.....	71
5. Diskussion.....	79
6. Ausblick.....	92
7. Zusammenfassung	93
8. Summary	95
9. Anhang.....	97
10. Referenzen	100
Danksagung.....	124
Lebenslauf.....	127

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Kompakter Pinot noir (18 Gm); Kompakter Pinot noir (18 Gm) infiziert mit <i>B. cinerea</i> Foto: E. Schönhals	5
Abb. 2:	Lockerbeeriger Pinot noir (1-84 Gm) Foto: E. Schönhals	6
Abb. 3:	Idealisierte Darstellung des Reproduktionszyklus. Dieser zeigt die Blüten- und Beerenentwicklung. Das Anfangs und Endstadium der Phänologie und der Ernte ist abhängig von der Region, dem Klima, der Sorte und dem Weinbaumanagement. Die Véraison ist unter dem Begriff „Beerenformation“ und „Beerenreife“ zusammengefasst (nach Camona et al. 2008).	9
Abb. 4:	Entwicklungsverlauf des Beerenwachstums und der Beereninhaltsstoffe (Forneck 2011).....	10
Abb. 5:	Gibberellinbiosynthese in höheren Pflanzen (Thomas & Hedden 2006, Plant Hormone Signaling, Annual Plant Reviews, 24, 147-184)	13
Abb. 6:	Kompakter Pinot noir (18 Gm) Anthesis (BBCH 65) Foto: P. Hoffmann	14
Abb. 7:	Kompakter Pinot noir Klon (18 Gm) ohne GA ₃ -Behandlung Foto: E. Schönhals.....	14
Abb. 8:	Kompakter Pinot noir Klon (18 Gm) mit einer GA ₃ -Behandlung Foto: E. Schönhals.....	14
Abb. 9:	Extension der Zellwand Sampredo & Cosgrove 2005 Genome Biol. 6 (12), 242.	21
Abb. 10:	Darstellung des Proteins Expansin (Cosgrove 1997, the Plant Cell 9,1031-1041).....	22
Abb. 11:	PCR Amplifikationsprodukte des Markers ExpFI2. L Leiter (100 bp), 1. We M 848, 2. We M 242, 3. 1-1 Gm, 4. Fr 13 L, 5. 18 Gm, 6. 20 Gm, 7. 2-53, 8. WVWL33, 9. 1-84 Gm, Leiter (100 bp).....	34
Abb. 12:	SCAR Markerentwicklung. Die detektierte Sequenz zeigt grün markiert die Mutation für lockerbeerige Klone (4 bp Deletion und C/T SNP). Der forward Primer ist rot und der reverse Primer blau markiert. Die Produktgröße für Kompakt beträgt 166 bp und die für Locker 161 bp.....	36

Abb. 13: CAPS Markerentwicklung. Identifizierte Sequenz in Webcutter 2.0 (Heiman 1997). Die rot markierten Basenpaare sind die Schnittstelle der Restriktionsenzyme, grün die Mutation und blau der Primer ExpFI2.	41
Abb. 14: CodRed™ SNP Genotyping Kit (Hoffmann et al. 2009)	43
Abb. 15: Feldversuch am Standort Geisenheim. Zahlen neben den Pflanzen: Zeitpunkt der Probenahme für die Hormonanalyse und die Wiederholung (h = Stunden; d = Tage nach der Gibberellinapplikation; _1-3 = Wiederholung)	47
Abb. 16: Feldversuch am Standort Heppenheim Klon 1-84 Gm. Zahlen neben den Pflanzen: Zeitpunkt der Probenahme für die Hormonanalyse und die Wiederholung (h = Stunden; d = Tage nach der Gibberellinapplikation; _1-3 = Wiederholung).....	48
Abb. 17: Feldversuch am Standort Heppenheim Klon 18 Gm. Zahlen neben den Pflanzen: Zeitpunkt der Probenahme für die Hormonanalyse und die Wiederholung (h = Stunden; d = Tage nach der Gibberellinapplikation; _1-3 = Wiederholung).....	49
Abb. 18: Ausschnitt aus dem Sequenzabgleich des Markers ExpFI2. Sequenzunterschiede bei den lockerbeerigen und der kompakten Klonen.	57
Abb. 19: Detektion von SNP spezifischen DNA Fragmenten mit dem SNP Marker 1 für kompakte (Peak 22 bp) und mit dem SNP2 Marker für lockerbeerige Phänotypen (Peak 25 bp) mit dem Abi-Prism. Lockerbeerige Klone (We M848; We M242, 1-1 Gm; Fr 13 L), kompakten Klone (18 Gm; 20Gm; 2-53; WVWL 33).....	58
Abb. 20: Nachweis von jeweils zwei Amplifikationsfragmenten (166bp, 162 bp) bei den lockeren und den kompakten Klonen mit dem SCAR Marker Del1. Die Gelelektrophorese Auftrennung zeigt ein Fragment bei 162 bp für den lockerbeerigen und ein Fragment bei 166 bp für den kompakten Phänotypen. Die ersten drei Klone sind lockerbeerig (M1, 1-84 Gm, 1-44 Gm, M242) und die folgenden kompakt (18 Gm, 20 Gm, INRA 777, WVWL 33).....	59
Abb. 21: Ausschnitt aus der Kontrollsequenz des Markers ExpFI2 mit der Sequenz des SCAR Markers Del1. Der lockere und kompakte Klon zeigte zwei Fragmente. Das kürzere Amplifikationsprodukt zeigt die Mutation, der	

lockerbeerigen Klone (4 bp indel, C/T Transition). Das längere amplifizierte Produkt entspricht den kompakten Klonen. Die Sequenzen 3 bis 6 sind die sequenzierten amplifizierten Produkte, die Sequenzen 1 und 2 die Kontrollsequenzen.	60
Abb. 22: Exon/Intron Darstellung. (Spider NCBI 01-2008)	61
Abb. 23: Bestimmung des Expansin-Gen Vlexp-1 wurden insilico Analysen der Sequenz AM48259 Vitis vinifera Klon ENTAV 115 (6-2007 softberry) durchgeführt.	61
Abb. 24: Auxingehalt in den Infloreszenzen des Klons 18 Gm am Standort Heppenheim.....	64
Abb. 25: Gibberellinkonzentration in den Infloreszenzen des Klons 18 Gm am Standort Heppenheim.	68
Abb. 26: Beziehung zwischen Gibberellin und Auxin am Standort Heppenheim	71
Abb. 27: Infloreszenz- und Stielchenwachstum oben: Klon 1-84 Gm, unten: Klon 18 Gm. Die Infloreszenzen der beiden Klone werden zum Zeitpunkt 21.06 und 28.06 als Variante behandelt und unbehandelt dargestellt. Fotos: E. Schönhals	72
Abb. 28: Wachstumsverlauf der Stielchen. Der Klon 1-84 Gm behandelt zeigt das stärkste Stielchenwachstum.	75
Abb. 29: Identifikation des heterozygoten Merkmals Traubenmorphologie.....	82
Abb. 30: Phänotypische Auswirkungen auf die Traubenarchitektur der Klone 18 Gm und 1-84 Gm. Oben: 1-84 Gm locker, rechts: behandelt; links: unbehandelt; unten: 18 Gm kompakt, rechts: behandelt; links: unbehandelt (Fotos: E. Schönhals)	87
Abb. 31: Ausschnitt aus dem Sequenzabgleich des Markers ExpFI2. Sequenzunterschiede bei den lockerbeerigen und der kompakten Klonen. RS Referenzsequenz (Vaclavicek 2004), PN Pinot noir, PM Pinot meunier, PG Pinot Gris, PB Pinot blanc.	97
Abb. 32: Temperaturverlauf Juni 2006; gestrichelte Farblinien: Standort Heppenheim nicht gestrichelte Linien: Standort Geisenheim.....	98
Abb. 33: Temperaturverlauf während des Versuchszeitraumes 2006: gestrichelte Farblinien: Standort Heppenheim; nicht gestrichelte Linien: Standort Geisenheim.....	98

Abb. 34: Standort Heppenheim: Umweltbedingungen am Tag der GA ₃ -Behandlung (relative Luftfeuchtigkeit, Temperatur und Niederschlag um 17:30 Uhr von 0,1mm Deutscher Wetterdienst 2006).	99
Abb. 35: Standort Geisenheim: Umweltbedingungen am Tag der GA ₃ -Behandlung (relative Luftfeuchtigkeit, Temperatur Deutscher Wetterdienst 2006	99

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Bezeichnung und Herkunft der verwendeten Klone	29
Tab. 2:	Primersequenz, Annealing Temperatur und Funktion.....	32
Tab. 3:	Überblick über die Versuchsdurchführung, den Entwicklungszustand und die klimatischen Bedingungen	51
Tab. 4:	Pflanzenmaterial und Entwicklungsstadium.....	55
Tab. 5:	Exon Position auf der Sequenz AM482589 (Velasco et al. 2007) und der mRNA Ebene (Spider NCBI 01-2008).	61
Tab. 6:	Varianzanalyse der Auxinkonzentrationen (IAA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen (2006).....	62
Tab. 7:	Mittelwerte der Auxinkonzentration (IAA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen des Klons 18 Gm	63
Tab. 8:	Mittelwerte der Auxinkonzentration (IAA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen des Klons 1-84 Gm	65
Tab. 9:	Varianzanalyse des Gibberellengehalts (GA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen.....	67
Tab. 10:	Mittelwerte der Gibberellinkonzentration (GA ng/g Trockengewicht) in den Gescheinen des Klon 18 Gm	67
Tab. 11:	Mittelwerte der Gibberellinkonzentration (GA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen des Klons 1-84 Gm	69
Tab. 12:	Varianzanalyse der Infloreszenz- und Stielchenlänge (2006).....	73
Tab. 13:	Länge der Infloreszenzen.....	73
Tab. 14:	Vergleich der Mittelwerte der Wechselwirkung beh x t x g.....	74
Tab. 15:	Mittelwerte der einzelnen Versuchsvarianten und der Zeit	75
Tab. 16:	Varianzanalyse der Merkmale Beerengewicht, Beerenanzahl, Traubengewicht Traubenlänge, Traubenvolumen, Stielgerüslänge, Stiellänge und Verzweigung (Herbst 2006).....	76
Tab. 17:	Mittelwertvergleich der Klone, der Behandlung und Wechselwirkung beh x g	78
Tab. 18:	Vergleich der Zeitpunkte des GA ₃ -Anstieges oder der Zellteilung/- dehnung nach einer GA ₃ -Applikation	84
Tab. 19:	Summe der Tagesglobalstrahlung (W/m ²) für den Monat Juni 2006.....	97

Tab. 20: Summe der Tagesglobalstrahlung (W/m^2) für den Versuchszeitraum

15.06. -26.06.200697

Abkürzungen

Zeichen	Bedeutung
A	Adenin
ATP	Adenosintriophosphat
C	Cystein
CAPS	cleaved amplified polymorphic sequence
cv.	Cultiar
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dATP	Desoxyadenosintriophosphat
dCTP	Desoxycytosintriophosphat
dGTP	Desoxyguanosintriophosphat
dNTPs	Desoxyribonukleosidtriophosphat
dTTP	Desoxytyrosintriophosphat
dUTP	Desoxyuraciltriophosphat
dw	dry waight (Trockengewicht)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EST	<i>Expressed Sequence Tags</i>
et al.	Und andere
EtOH	Ethanol
EXP	Expansin
EXPL	Expasin-like
GA	Gibberellin
GC-MS	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie
Gm	Geisenheim
HP	Heppenheim
IAA	Indol Acetic Acid
log	logarithmisch
M	molare Masse
MAS	marker assistend selection
m/s	Meter pro Sekunde
mRNA	<i>Messenger RNA</i>
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PVP	Polyvinylpyrrolidon
RIA	Radioimmunoassay
RNA	Ribonukleinsäure
SCAR	sequence characterized amplified region
<i>Smil</i>	Restriktionsenzym
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
ssp.	Subspecies
T	Thymin
TAE	Tris – Acetat – EDTA – Puffer
TBE	Tris – Borsäure – EDTA – Puffer
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
Tris	Tris(hydroxymethyl) – Aminomethan

Abkürzungen

Messeinheiten

Messeinheiten	Bedeutung
bp	Basenpaar(e)
°C	Celciusd
d	Tag
g	Gramm
h	Stunde
kp	Kilopasenbarr(e)
mA	Milliampere (10^{-3} Ampere)
Mp	Megabasenpaar(e)
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter
mM	Millimolar (10^{-3} molar)
ng	Nanogramm (10^{-9} Gramm)
pM	Picomolar (10^{-12} Molar)
μ g	Mikrogramm
μ l	Mikroliter
rpm	Umdrehugen pro Minute (rounds per minute)
sek	Sekunde
U	Units
V	Volt
% v/v	percent volume/volume
% w/v	percnet weight/volume
W	Watt

Freilandversuch

Freilandversuch	Bedeutung
t	Termin
beh	Behandlung
g	Genotyp
o	Standort
n.s.	nicht signifikant
pfl	Pflanze
anfang	Kovariable
*, **, *** , , ,	signifikant bei < 5 %, < 1 %, < 0,1 Irrtumswahrscheinlichkeit
mm	Millimeter
cm	Zentimeter
BBCH	Biologische Bundesanstalt Bundessortenamt und Chemische Industrie

1. Einleitung

Im Weinbau steht heute das Interesse im Vordergrund Weine mit hoher Qualität zu produzieren. Gesunde Trauben mit hoher Fruchtqualität sollen erwirtschaftet werden. Ein Einflussfaktor auf die Fruchtqualität ist die Beerengesundheit. Besonders bei roten Sorten (*Vitis vinifera* L.) hat die Traubenmorphologie einen großen Einfluss auf die Qualität des Lesegutes. Insbesondere in regenreichen Jahren tritt bei Pinot noir ein starker Befall von *Botrytis cinerea* (*Botrytis c.*) auf. Der Befall ist ertragsreduzierend und kann bis zur wirtschaftlichen Bedrohung der Winzer führen (Dry et al. 1988, Marois et al. 1992). Besonders betroffen von einer starken *Botrytis cinerea* Infektion sind die Trauben der kompakten Pinot noir Klone (Vail et al. 1998, Vail et al. 1991). Ihre Traube ist dicht gepackt oder besitzt große Beeren, die sich gegenseitig abdrücken oder aufplatzen können (Abb. 2). Das erhöht die Infektionsgefahr. Die Infektion geht oft von der Mitte der Trauben aus, denn hier ist die Durchlüftung gering. Nach einem Niederschlag können die Beeren schlecht abtrocknen. Der Fäulnisbefall des Lesegutes kann durch eine lockere Traubenmorphologie reduziert werden (Baker 1982, Marois et al. 1986, Percival et al. 1993). Ein längeres Stielgerüst, längere Stielchen und frei hängende Beeren verhindern das Abquetschen der Beeren und lassen ein besseres Abtropfen der Beeren zu (Abb. 2, Alleweldt 1959). Aus diesem Grund ist die Frucht- und Weinqualität oft verbessert (Marois et al. 1986, 1992, Bleyer 2001). Wegen der genannten Gründe ist die Lockerbeerigkeit ein wichtiges Züchtungsziel.

Die Rebsorte Pinot noir (*Vitis vinifera* L.) gehört zu den ältesten, bekanntesten Kulturreben (Levadoux 1956, Viala & Vermorel 1902). Sie gehört der Burgunderfamilie an. Heute geht man davon aus, dass Pinot noir von Wildtyp *V. vinifera* ssp. *sylvestris* abstammt (Aradhya et al. 2003). Erstmals wurde Pinot noir im 4 Jh. n. Chr. in Burgund, Frankreich, nachweisbar erwähnt (Becker 2004). In der Bodenseeregion wurden Reben aus Burgund von Kaiser Karl III eingeführt (Sievers 2007). Im 12. Jhd. wurde Pinot noir durch Zisterzienser im Rheingau angesiedelt und europaweit verbreitet (Becker 2004). Heute ist der blaue Spätburgunder die wichtigste Rebsorte des deutschen Weinbaus. Die Burgunderfamilie ist sehr mutationsfreudig. Eine Mutation ist

eine spontan auftretende genetische Veränderung der Erbinformation. Dadurch können Klone mit phänotypischen Veränderungen auftreten. Blaich et al. (2007) zeigten, dass Pinot noir eine hohe phänotypische Variation und eine hohe genetische Variabilität besitzt. Durch Mutation ist die Sorte Pinot gris aus der Sorte Pinot noir und Pinot blanc aus Pinot gris entstanden. In diesem Fall ruft die Mutation eine Farbveränderung hervor. Innerhalb der Sorte Pinot noir gibt es eine hohe Anzahl an Klonen mit phänotypischen Veränderungen, wie z.B. bei der Traubenmorphologie. Konradi et al. (2007) und Cervera et al. (1998) konnten klonale Unterschiede zwischen den einzelnen Klonen aufzeigen. Aufgrund dieser Mutationsfreudigkeit dient Pinot noir für unsere Forschungsstudien als Modellpflanze. Aktuelle Studien wie die Untersuchungen der Beerenfarbe (Hocquigny et al. 2004, Yakushiji et al. 2006) und der Traubenmorphologie (Blaich et al. 2007, Konradi et al. 2007) wurden an Pinot noir bisher durchgeführt.

Die Entstehung lockerbeeriger Trauben ist bis heute ungeklärt. Bekannt ist, dass die Lockerbeerigkeit durch das natürliche „Verrieseln“ der Blüte ausgelöst wird, durch einen reduzierten Anschnitt, durch eine Fruchtausdünnung oder Teilung der Gescheine erreicht werden kann. Außerdem kann durch eine Gibberellinapplikation oder eine Applikation verwandter Metabolite zum Zeitpunkt der Blüte eine lockerbeerige Traubenmorphologie ausgelöst werden. Durch den Einsatz von Bioregulatoren wird die Anzahl der Beeren reduziert und ein größeres Stielgerüst und längere Stielchen ausgebildet (Alleweldt 1959, Kast 2005). Der Mechanismus, wie Gibberellin eine Ausbildung lockerer Trauben induziert, ist bis heute ungeklärt. Ob und inwieweit das Hormon Auxin involviert ist, ist bisher nicht bekannt. Das Hormon Auxin oder eine Auxin-Gibberellin-Interaktion können eine Zellelongation auslösen (Cleland 2010, Ross et al. 2000). Zudem kann Auxin eine Expansinexpression bewirken, die ebenfalls eine Zellelongation hervorruft (Cleland 2010).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist, zur Aufklärung der Lockerbeerigkeit bei Reben beizutragen. Um ein detaillierteres Wissen zu erlangen, wird die genetische und hormonelle Ebene untersucht. Diese Arbeit basiert auf vorhergegangenen Ergebnissen, die einen genetischen Unterschied zwischen locker und kompakten Pinot noir Klonen in einem ausgewählten DNA Bereich aufweisen. Diese Mutationstelle soll überprüft

werden und an weiteren Pinot Klonen, sowie anderen Vitis Sorten detektiert werden. Ziel ist es, einen molekularen Marker zu entwickeln, der lockerbeerige und kompakte Pinot noir Klone anhand eines PCR Amplifikationsproduktes differenziert. Im nächsten Schritt wird der Marker an anderen lockeren und kompakten Vitis Sorten getestet. Anschließend soll der Marker der Marker-gestützten Selektion zur Verfügung gestellt werden. Zwei verschiedene molekulare Markersysteme, wie der CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) und der SCAR (sequence characterized amplified region) Marker sind zur Markerentwicklung eingesetzt worden. In der NCBI wurde die Sequenz mit der Mutation (locker/kompakt) auf der Nukleotid- und Proteinebene verglichen, um die Position im Genom und die Expression der Gene zu finden. Auf der hormonellen Ebene beruht die Arbeit auf bisherigen Erkenntnissen. In der Arbeit wird davon ausgegangen, dass hormonelle Veränderungen der Infloreszenzen eine Auswirkung auf die Traubenstruktur locker und kompakt haben. Hintergründe über die Entstehung der GA₃-induzierten Lockerbeerigkeit bei kompakten Klonen sollen aufgedeckt werden. Mit der Radioimmunoassay (RIA) Methode soll nach hormonellen Unterschieden von IAA und GA in den Infloreszenzen von locker und kompakten Klonen gesucht werden. Den Einfluss einer GA₃-Behandlung auf den Hormongehalt von IAA und GA in den Infloreszenzen der beiden Klone soll ebenfalls untersucht werden, um weitere Aufschlüsse über den Zusammenhang des Hormongehalts und der Phänotypveränderung zu erhalten. Abschließend wird versucht, die hormonellen und genetischen Ergebnissen in einen Zusammenhang zu stellen.

2. Literaturüberblick

2.1 Traubenmorphologie

Die Traubenmorphologie weist vier natürlich vorkommende Phänotypen von Pinot noir auf: Kompakt, locker, aufrechwachsend und kleinbeerig (Blaich et al. 2007, Hofäcker 1999). Die Ausbildung der Traubenmorphologie wirkt sich auf die Trauben- und Beerenstruktur aus. Wichtige Merkmale der Traubenstruktur sind Beerdichte, Beerenanzahl pro Traube, Beerengröße, Länge der Stielchen und Aufbau des Stielgerüsts. Die Beerenhaut- und elastizität, der Zuckergehalt und die Beerenreife werden vom Aufbau der Beerenstruktur beeinflusst.

Kompakte Traubenarchitektur

Zu den klassischen alten Spätburgunderklonen, die das Spätburgunderaroma prägen, gehört die kompakte Traubenform (Porten 2004). Bei einer kompakten Traubenmorphologie (Abb. 1) besitzt die Traube sehr dicht gepackte Beeren. Dadurch können die Beeren aufplatzen, sich gegenseitig abquetschen und abschnüren (Porten 2004, Vail et al. 1998, Vail et al. 1991). Durch die großen Berührungsflächen der Beeren weist die Epikutikula eine reduzierte Wachsschicht auf. Die Durchlüftung der Traube ist schlecht und besonders nach einem Niederschlag trocknen die Beeren schlecht ab. Dies führt zu einer hohen Feuchtigkeit innerhalb der Traube und durch die reduzierte Wachsschicht der Epikutikula können leicht Botrytisnester entstehen (Vail et al. 1998, Vail et al. 1991, Abb. 1). Die Feuchtigkeit bietet den Konidien ein gutes Potential zur Keimung bis zum Ausbruch von *Botrytis cinerea*. (Marois et al. 1992, Vail et al. 1998). Die infizierten Beeren erreichen die vollständige Reife nicht. Somit haben sie einen negativen Einfluss auf die Qualität des Lesegutes und reduzieren den Ertrag. Bei reifenden Beeren dagegen steigt der Zuckergehalt, der pH-Wert und der Säuregehalt sinkt.



Abbildung 1: Kompakter Pinot noir (18 Gm); Kompakter Pinot noir (18 Gm) infiziert mit *B. cinerea* Foto: E. Schönhals

Lockerbeerigkeit

Eine wirtschaftliche Alternative gegenüber den kompakten Spätburgunderklonen bietet der lockerbeerige Traubentyp (Porten 2004). Die lockerbeerigen Klone (Abb. 2) besitzen ein längeres Stielgerüst, längere Stielchen und oft eine reduzierte Beerenanzahl gegenüber den kompakten Klonen (Abb. 1). Sie haben einen lockeren Aufbau der Traube, denn ihre Beeren zeigen einen geringeren Packungsgrad, wodurch die einzelnen Beeren frei hängen. Dadurch sind die Trauben besser durchlüftet und trocknen bei Regen schneller ab. Zudem findet keine Veränderung der Wachsschicht der Epikutikula statt. Durch diese Traubenmorphologie ist das Abdrücken und Abquetschen von einzelnen Beeren gering. Selbst in Jahren mit einem hohen Botrytisbefall liegt bei der lockeren Traubenform die Infektion nicht höher als 15%. Der kompakte Spätburgunder hingegen kann einen *Botrytis c.* Befall bis zu 25% aufweisen (Porten 2004).

Drei Typen von lockerbeerigen Klonen gibt es:

1. Der L-Typ, der aus der Freiburger Umgebung stammt und seit 1936 selektioniert wird (Bleyer 2001, Hill 1981).
2. Der M-Typ, der ursprünglich aus Mariafeld, Wädenswil (Schweiz) stammt und seit 1965 selektioniert wird (Thoma 1981, 1993).
3. Der Gm-Typ, der aus Geisenheim (Deutschland) stammt und seit 1981 selektioniert wird (Bleyer 2001, Hill 1981).

Diese Morphologie der Traube führt zu einer höheren Fruchtqualität, da eine längere Reifeperiode durch gesundes Lesegut möglich ist (Bleyer 2001, Porten 2001, 2004). Oft bilden die lockeren Trauben jedoch größere Beeren aus, was zu einem Ungleichgewicht zwischen der Beerenhaut und dem Fruchtfleisch führen kann. Für den Ausbau von Rotwein ist dies ein Nachteil. Dieses Ungleichgewicht kann durch eine längere Reife im Weinberg aufgehoben werden (Porten 2004). In der Beerenhaut gibt es viele Phenole, Vitamine, Aromastoffe und Farbstoffe, die einen Einfluss auf die Weinqualität haben. Kleine Beeren, wie bei den kompakten Klonen, haben eine bessere Beerenhaut - Beerenfleisch - Relation (Porten 2001, 2004). Lockerbeerige Klone haben im Durchschnitt eine geringere Säure, ein konzentriertes Aroma und eine höhere Farbintensität.

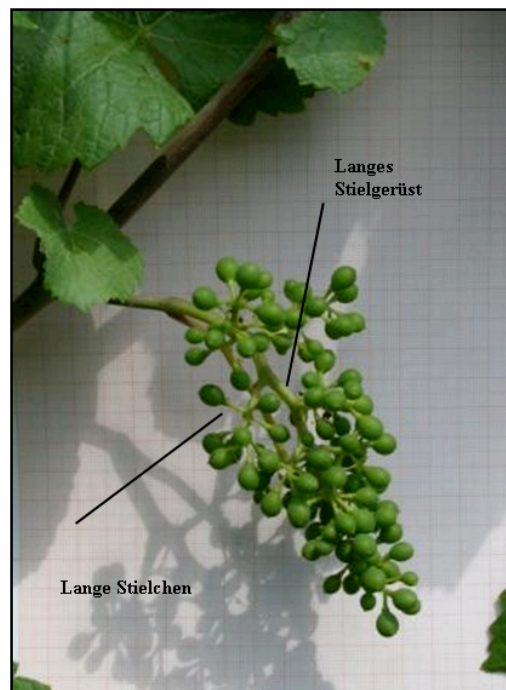


Abbildung 2: Lockerbeeriger Pinot noir (1-84 Gm) Foto: E. Schönhals

Aufreichtswachsend

Die Traubenform der aufreichtwachsenden Klone zeichnen sich durch einen geraden Wuchs aus. Normalerweise haben die Burgunder einen sehr hängenden Wuchs. Deshalb sind die aufreichtwachsenden Spätburgunderklone von großem wirtschaftlichem Interesse. In der Traubenzone werden keine Geiztriebe ausgebildet, dadurch ist der Botrytisbefall um 50% geringer als bei den kompakten Klonen (Porten 2004).

Kleinbeerig

Die kleinbeerigen Klone besitzen kleine und große Beeren im Wechsel. Diese Beeren haben einen geringen Durchmesser. Dadurch findet kein Abquetschen der Beeren statt. Eine gute Durchlüftung und ein gutes Abtrocknen der Trauben erfolgt. Durch diese Traubenform ist der Ertrag um 30 bis 50% niedriger als bei den kompakten und lockerbeerigen Klonen (Porten 2004). Eine einheitliche Durchfärbung der Beerenschale und eine gleichmäßige Reife der Trauben entsteht (Bleyer 2001). Durch die kleinen Beeren entsteht ein günstiges Fruchtfleisch-Schalenverhältnis. Aromatische, intensive Weine mit einer hohen Dichte mit hoher Farbtintensität entstehen. Hochwertige Weine im oberen Preissegment werden angestrebt.

2.2. *Botrytis Cinerea*

Der Pilz *Botryotinia fuckeliana* ist der Erreger der Graufäule. Er hat ein Wirtsspektrum von über 250 Pflanzenarten. Als Nebenfruchtform ist er unter dem Namen *Botrytis cinerea* bekannt. Der Erreger tritt in fast allen Kulturpflanzen als Wund- und Schwächeparasit auf (Agrios 1997). Weltweit ist er auf allen Sorten von *Vitis vinifera* beheimatet und löst bei vollreifen Weißweinsorten die Edelfäule aus, die verantwortlich für ein hochgradiges Lesegut ist. Jedoch ist der Befall bei Rotweinsorten unerwünscht. Bei feuchtwarmem Wetter führt die Infektion unreifer Trauben oft zur Sauerfäule. Der Pilz zählt zu den gefährlichsten Schaderregern im Weinbau (Achleitner 2008).

2.3 Entwicklung der Weinrebe

Der Reproduktionszyklus der Rebe dauert zwei Jahre. Die Formation der reproduktiven Organe in den Gehölzpflanzen wie der Weinrebe unterliegen deshalb zwei Temperaturklimata (Lebon et al. 2008). Die jährliche Vegetation der Rebe fängt mit dem Austrieb im Frühjahr an und endet im Herbst mit dem Blattfall. Die Dormanz von Herbst bis Frühling unterbricht das Wachstum und unterteilt es in zwei Wachstumsphasen (Carmona et al. 2008). Im ersten Jahr werden die undifferenzierten Primordien gebildet, die sich später zu Infloreszenzen oder einer Ranke entwickeln (Boss & Thomas 2002, Boss et al. 2003, Pratt 1971, Srinivasan & Mullins 1976, Alleweldt 1967). Das Ertragspotential für das Folgejahr wird während dieser Vegetationsperiode festgelegt. Die Infloreszenz- und Blütenanzahl in der Knospe wird während des Sommers bestimmt (Besis 1961, Carmona et al. 2008, Lebon et al. 2008, Mullins et al. 1992, Abb. 3). Die Entwicklung der Anlagen wird von den Umweltfaktoren, wie Licht und Temperatur, sowie den Wachstumsfaktoren oder Zuckerreserven in der Pflanze beeinflusst (Srinivasan & Mullins 1981). Die latente Knospe überwintert dormant (Pratt 1971). Im zweiten Jahr findet die Infloreszenz- und die Blütenentwicklung, der Fruchtansatz und die Beerenentwicklung statt (Alleweldt 1967, Lebon et al. 2008, Carmona et al. 2008, Abb. 3). Der Austrieb wird durch die Aktivitäten in der ruhenden Knospe im Frühjahr ausgelöst.

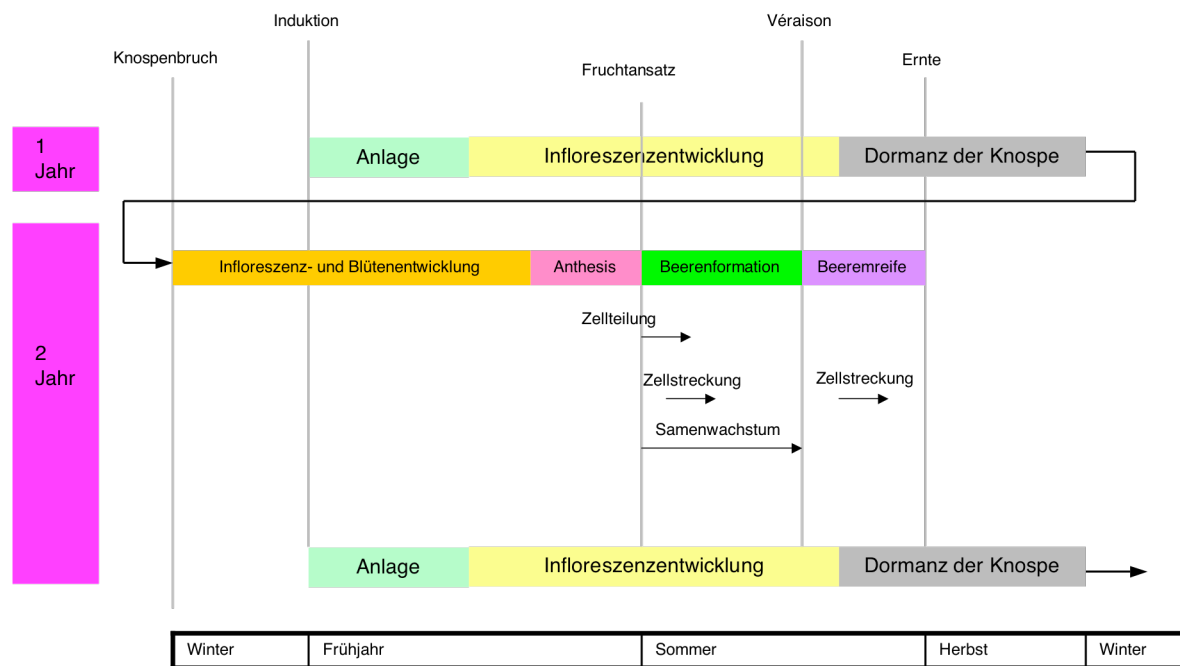


Abbildung 3: Idealisierte Darstellung des Reproduktionszyklus. Dieser zeigt die Blüten- und Beerenentwicklung. Das Anfangs und Endstadium der Phänologie und der Ernte ist abhängig von der Region, dem Klima, der Sorte und dem Weinbaumanagement. Die Véraison ist unter dem Begriff „Beerenformation“ und „Beeremreife“ zusammengefasst (nach Camona et al. 2008).

Die einzelnen Entwicklungsstadien der Rebe werden von Eichhorn & Lorenz 1977, 1994 im BBCH beschrieben. Diese gliedern sich in Austrieb, Blattentwicklung, Entwicklung der Blütenanlagen, der Blüte, der Fruchtentwicklung, der Fruchtreife und das Eintreten der Vegetationsruhe.

Ausgehend von der Blüte bis zur Reife dauert die Beerentwicklung 120 Tage (Coombe 1973). Das Beerenwachstum wird in drei Phasen unterteilt, die Wachstums, die Ruhe- und die Reifephase (Coombe 1973, Kennedy 2002). Die Beeren haben eine doppel-sigmoide Wachstumskurve. In der Wachstumsphase ist die Zellteilung und -streckung erhöht. Es findet ein Anstieg der organischen Säuren statt. In der Ruhephase wachsen die Beeren geringfügig. Die Säure wird langsam abgebaut und der Zucker wird in den Beeren akkumuliert. In der letzten Phase beginnen die Beeren zu reifen. Die Farbentwicklung und das Weichwerden der Beeren ist sortenspezifisch. Die Anthocyane nehmen bei roten Sorten in der Reifephase zu. Die Säuren, wie Apfelsäure und Weinsäure werden abgebaut und der Zuckergehalt in den Beeren nimmt in der Reifephase zu (Forneck 2011, Abb. 4).

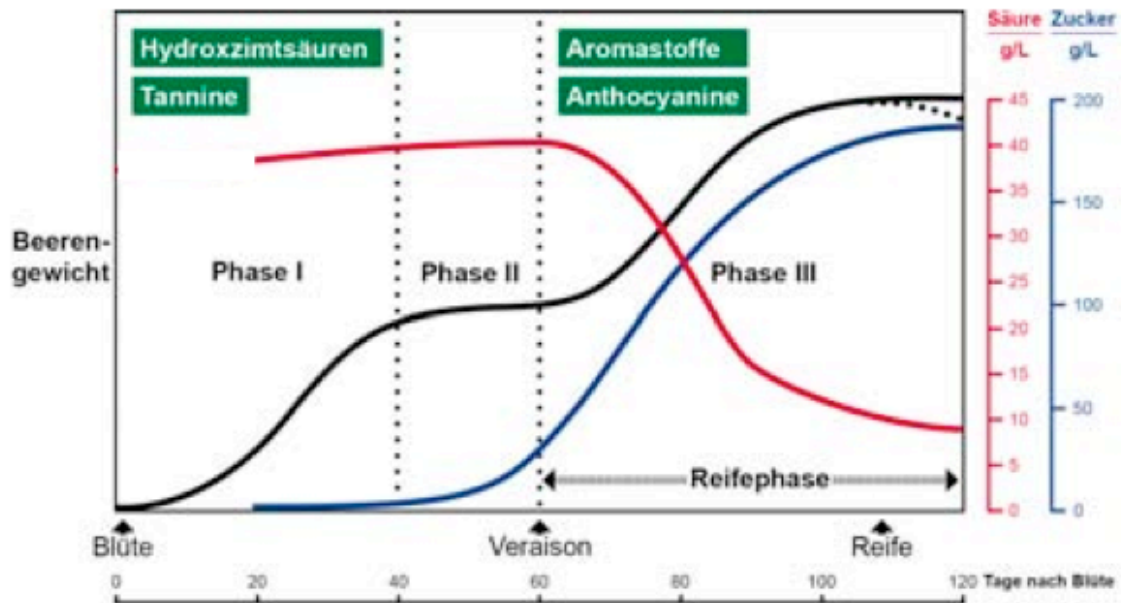


Abbildung 4: Entwicklungsverlauf des Beerenwachstums und der Beereninhaltsstoffe (Forneck 2011)

2.4 Lockerbeerigkeit durch Weinbaumanagement

Durch pflanzenbauliche Maßnahmen, wie die Regulierung der Ertragsmenge kann die Trauben- und Weinqualität erheblich verbessert werden, um konkurrenzfähige Weine zu produzieren, denn die Menge-Güte-Relation zeigt, dass das Mostgewicht, die Farbe und die Fruchtausprägung mit der Ertragsmenge korrelieren. Eine Reduzierung des Ertrages führt in den meisten Fällen zur Ausbildung einer lockeren Traube, zu gesundem Lesegut und einer Ernte zum idealen Reifezeitpunkt.

Lockerbeerigkeit kann durch Applikation von Bioregulatoren, Teilung der Gescheine, durch Fruchtausdünnung oder durch einen reduzierten Anschnitt erreicht werden. Ein reduzierter Anschnitt kann ertragsreduzierend wirken (Schwab 2004), doch garantiert er keine lockere Traubenstruktur (Götz 2010, Schulz et al. 2000). Die Teilung der Gescheine und die Ausdünnung der Traube bewirken eine lockere Traubemorphologie. Der Zeitpunkt der Ausdünnung und der Traubenteilung ist sortenspezifisch (Fox 1992, Schuhmann 1995, Schulz et al. 2000, Wahl 1993). Schwab (2004) zeigte, dass durch eine Trieb- und Gescheinsreduktion der Ertrag bei der Sorte Silvaner (25-30%) und Dornfelder (bis 76%) reduziert und das Mostgewicht um 12% erhöht werden konnte. Insbesondere der reifekorrelierende Faktor Prolin wird um 148% erhöht

(Schwab 2004). Der Arbeits- und Kostenaufwand ist bei dieser Methode am höchsten. Zum Einsatz der Fruchtausdünnung wird hauptsächlich Gibberellin verwendet. Schwab (2004) konnte bei der Sorte Silvaner und Müller-Thurgau eine starke Ertragsreduzierung und einen deutlichen Anstieg des Mostgewichtes erzielen. Weiter soll an dieser Stelle nicht auf den Einsatz von Gibberellin eingegangen werden.

2.5 Gibberellin

Gibberellin wurde 1926 vom japanischen Forscher Kurosawa als Phytotoxin in Reis entdeckt. Der phytopathogene Pilz *Gibberella fujikuroi* befällt Reispflanzen (*Oryza sativa*). Der Pilz schied eine große Menge des Stoffs aus, der ein verstärktes Längenwachstum bewirkt. Bis jetzt sind 136 verschiedene Gibberelline in höheren Pflanzen, Pilzen und Bakterien entdeckt worden (Sponsel & Hedden 2010). Nur wenige Gibberelline sind bioaktiv, die meisten sind Vorstufen oder inaktiv. In höheren Pflanzen kommen aktive und inaktive Gibberelline vor (Davies 1995, Hedden & Phillips 2000). Die aktiven Verbindungen sind GA₁, GA₃, GA₄ und GA₇. In *Vitis vinifera* wurden bei der Sorte Ribier bioaktive GAs wie GA₁ und GA₃ in Samen und Beeren identifiziert. Zudem wurden die inaktiven Formen GA₁₇, GA₁₉ und GA₂₀ und Abbauprodukte in Samen und Beeren entdeckt (Perez et al. 2000). In samenlosen Beeren wurde GA₁ als aktives Gibberellin und die inaktiven Formen GA₈, GA₁₇, GA₁₉ gefunden. Bei *Vitis vinifera* X *Vitis rupestris* wurden GA₄ und GA₉ in somatischen Embryos gefunden (Takeno et al. 1983). Gibberelline sind isoprene Verbindungen und gehören zu der Gruppe der Diterpenoide. Die Gibberelline bestehen aus einem tetrazyklischen Ringsystem, dem ent-Gibberellan. Es gibt die C₂₀-Gibberelline, die ein Kohlenstoffgerüst aus 20 C-Atomen besitzen oder die C₁₉-Gibberelline, die das 20-igste C-Atom während des Metabolismus verloren haben. (Hedden & Phillips 2000, Olszewski et al. 2002, Sponsel & Hedden 2004, 2010). Die C₁₉-Gibberelline beinhalten eine Hydroxylgruppe am 3β-C-Atom (GA₁, GA₃, GA₄, GA₇ und GA₃₂) oder ein ungesättigtes C3-Atom (GA₅) (Lange 1998). Gibberelline können Konjugate bilden und mit einem Glukosemolekül über eine Ester- oder Etherverbindung verbunden sein. Konjugate dienen zur dauerhaften oder zeitweiligen Inaktivierung von Gibberellinen (Davies 1995).

Gibberellin ist ein endogener Wachstumsregulator in höheren Pflanzen. Es ist in die Samenkeimung, in das Pflanzenwachstum, in die Ausbildung von Größe und Form der Blätter, in das Wachstum von Stielen und Wurzeln, in die Blüteninduktion und die Entwicklung, die Befruchtung und in das Fruchtwachstum involviert (Sponsel & Hedden 2010, Thomas & Hedden 2006).

Syntheseweg von Gibberellin

Das Geranylgeranyl Diphosphat (GGPP) wird im Cytosol von dem mevalonsäure - abhängigen Syntheseweg (Bick & Lange 2003, Davies 1995) oder über einen alternativen Weg aus Glycerinaldehyd 3-Phosphat und Pyruvat in den Chloroplasten synthetisiert. Bis heute ist kein Nachweis erbracht, dass Gibberelline Produkte aus Glycerinaldehyd und Pyruvat entstehen (Bick & Lange 2003, Hedden & Philips 2000). Im Detail soll auf die Bildung von GGPP nicht eingegangen werden. Der GA Biosyntheseweg findet in den Plastiden, im endoplasmatischen Retikulum und im Cytosol statt. Das GGPP wird in ent-Copalyl Diphosphat (CCP) katalysiert (Abb. 5), das zu ent-Kauren umgewandelt wird. Die Enzyme, die diesen Prozess katalysieren, sind ent-Copalyl Diphosphat Synthase (CPS) und ent-Kauren Synthase (KS). Sie sind für die Umwandlung in ein tetrazyklisches Ringsystem des ent-Gibberellin zuständig (Sun & Kamiya 1994, Helliwell et al. 2001b). Enzyme der zweiten Stufe sind P450 Monooxygenasen. Die ent-Kauren Oxidase (KO) und ent-Kaurensäure Oxidase (KAO) wirken als Katalysatoren. Die sequentielle Oxidation erfolgt über ent-Kurenol und ent-Kaurenal zu Kaurensäure, die in weiterer Folge über die ent-7 α -hydroxy-Kaurensäure zu GA₁₂ umgewandelt wird. In der dritten Stufe des Gibberellinsynthesewegs wird das C-20 Atom von GA₁₂ und GA₅₃ durch das Enzym GA 20-Oxidase (GA20ox) oxidiert und eliminiert, wodurch GA₉ and GA₂₀ resultieren. Durch die 3 β -Hydroxylation werden die aktiven Formen GA₁ bzw. GA₄ gebildet und von der GA 3 Oxidase (GA3ox) katalysiert. Die inaktiven Formen GA₈ und GA₃₄ werden von der GA 2 Oxidase (GA2ox, Abb. 5) durch 2 β -Hydroxylation gebildet. Die beiden Metabolismen laufen parallel. In den meisten Pflanzen ist das GA₁ das wichtigste, aktive GA im vegetativen Gewebe (Desgagne-Penix et al. 2005).

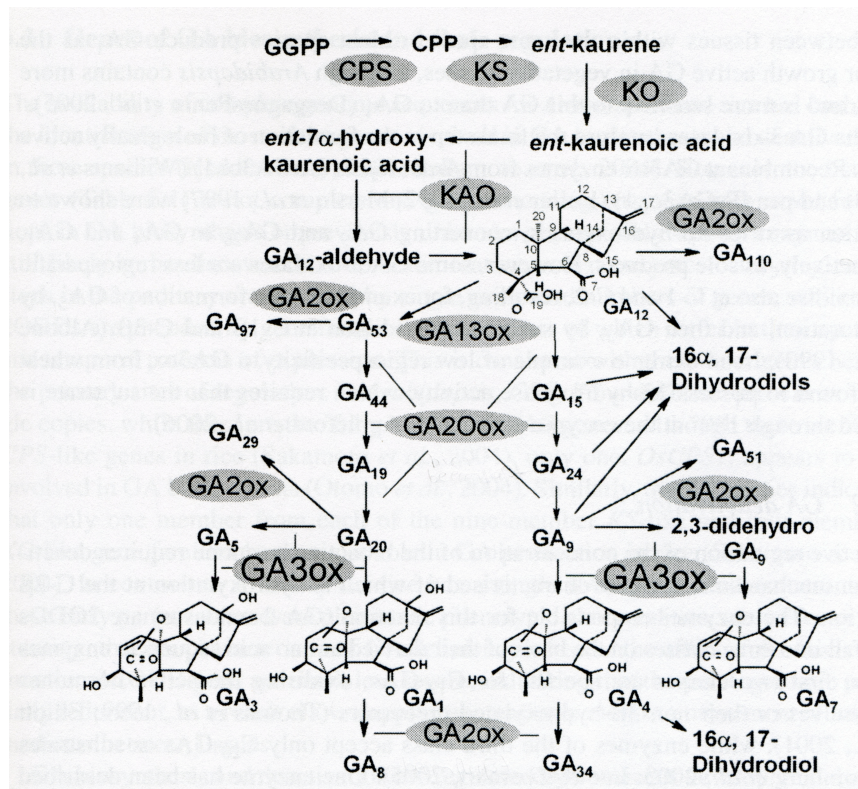


Abbildung 5: Gibberellinbiosynthese in höheren Pflanzen (Thomas & Hedden 2006, Plant Hormone Signaling, Annual Plant Reviews, 24, 147-184)

2.6 Lockerbeerigkeit durch eine Gibberellinapplikation

Die ersten Experimente einer Gibberellinbehandlung in *Vitis vinifera* wurden in den sechziger Jahren von Alleweldt und Weaver durchgeführt. Alleweldt (1959) hat herausgefunden, dass bei einer GA₃-Applikation eine Verrieselung der Gescheine bei samenhaltigen Sorten ausgelöst wird. Eine Erklärung geht davon aus, dass die Behandlung das Wachstum der Stielchen und des Stielgerüsts fördert, wodurch eine lockere Traubenstruktur entsteht. Die Beeren haben keinen Kontakt zueinander (Abb. 7). Die zweite Möglichkeit ist, dass die Applikation von Gibberellin während der Blüte zu einem reduzierten Fruchtansatz führt und die Anzahl der Beeren pro Geschein reduziert und eine Verrieselung ausgelöst wird (Abb. 6, 7, 8).



Abbildung 6: Kompakter Pinot noir (18 Gm) Anthesis (BBCH 65) Foto: P. Hoffmann



Abbildung 7: Kompakter Pinot noir Klon (18 Gm) ohne GA₃-Behandlung Foto: E. Schönhals

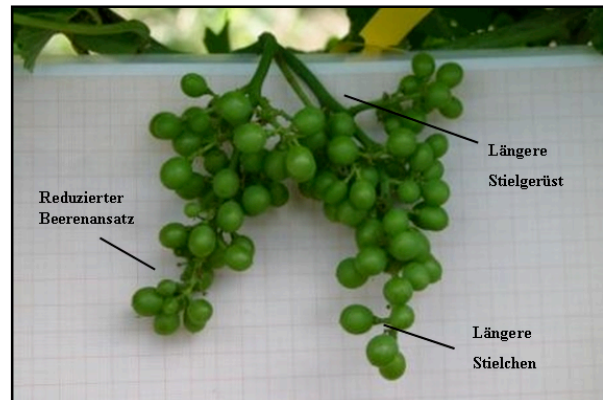


Abbildung 8: Kompakter Pinot noir Klon (18 Gm) mit einer GA₃-Behandlung Foto: E. Schönhals

Weitere Forschungen untersuchten den Einfluss einer Gibberellinbehandlung während der verschiedenen Entwicklungsstadien, des Applikationszeitpunktes, der Einsatzmenge und deren sortenspezifische Auswirkungen (Abu-Zahr 2010, Ben-Tal 1990, Considine & Coombe 1972, Petgen 2003, Ritter 2003, 2004, Rives & Pouget 1959, Weaver & McCune 1959 a, b, c, 1962, Weaver & McCune & Hale 1962, Zhang et al. 2008, Zoffoli et al. 2009).

Einfluss des Zeitpunkts der Gibberellinapplikation auf die Traubenarchitektur

Drei Arten der GA₃-Behandlung (vor, während und nach der Anthesis) sind untersucht worden. Jede wirkt sich unterschiedlich auf die Traubenstruktur aus (Considine & Coombe 1972). Die Applikation vor und während der Blüte führt zu längeren Stielen und einem größeren Stielgerüst (Alleweldt 1959, Roper & Williams 1989). Nach der Blüte kommt es zu einem reduzierten Beerenansatz und einem erhöhten Beerenengewicht (Dokoozlian et al. 2001, Halbrooks et al. 1988, Mavrikios et al. 1977, Peacock 1997, Williams & Ayars 2005). Bei der Sorte Zinfandel konnte eine Reduktion der Samen und Beeren nachgewiesen werden (Miele et al. 1978, Weaver & Pool 1971). Pérez et al. (2000) beobachtete, dass bei der Behandlung nach der Blüte das Beerenwachstum und die Gewichtszunahme der Beeren so hoch wie zu keinem anderen Applikationszeitpunkt ist.

Auswirkung einer GA₃-Behandlung

Die Applikation von Gibberellin erlangt immer mehr an Bedeutung, da sie die Weinqualität steigert, indem sie eine lockere Traubenstruktur auslöst (Abu-Zahra 2010, Lu et al. 1995) und die Infektion von *Botrytis c.* zwischen 40 bis 74 % reduziert (Rivera & Mavriche 1978). Eine GA₃-Applikation bewirkt einen Anstieg des Zuckergehalts in den Beeren, der zu einer besseren Traubenqualität führt.

Einflüsse, die auf die Effektivität der GA₃-Applikation wirken

Die Effektivität der Behandlung hängt von den Wetterbedingungen (Wind, Temperatur, relative Luftfeuchtigkeit) ab, die eine unterschiedlich stark ausgebildete lockere Traubenarchitektur pro Geschein, Klon und Weinberg hervorrufen können (Schulz, persönliche Mitteilung). Die klimatischen Bedingungen haben einen großen Einfluss auf die Entwicklung der Infloreszenzen und beeinflussen den Zeitpunkt der Applikation (Shavruko et al. 2003, Carmona et al. 2008). Es ist zu beachten, dass die Gescheine an einem Rebstock nicht den gleichen Verrieselungsgrad aufweisen. Das dritte Geschein erreicht die Blüte später als das Erste (Rühl, persönliche Mitteilung). Basale Gescheine neigen stärker zu einer natürlichen Verrieselung (Schulz, persönliche Mitteilung). Am ersten Geschein des Rebstockes wird nach einer GA₃-

Applikation eine höhere Reduzierung des Fruchtansatzes als bei den anderen auslöst.

Folgewirkung einer GA₃-Applikation

Die Reaktion auf die Applikation ist sortenspezifisch. Pinot noir scheint weniger anfällig für Folgewirkungen zu sein. Bisher ist keine Reduktion der Infloreszenzen im Folgejahr zu beobachten war (Kast et al. 2005). Im Jahr nach einer GA₃-Behandlung kann die Anzahl der Blüten pro Geschein und Knospen pro Rebstock reduziert sein. Jawanda et al. (1974) und Collins & Rawnsley (2005) stellten bei einer hohen Gibberellinapplikation eine Reduktion der Knospenanzahl im Folgejahr fest. Alleweldt (1961) hat herausgefunden, dass eine GA₃-Applikation den Austrieb unterdrückt und die Ausbildung der hermaphroditen Blüten beeinflusst. Durch die Behandlung wird der Fruchtansatz reduziert, der sich auf die Pollenentwicklung auswirkt (Weaver & McCune 1962). Die Entwicklung der Samenanlage wird beeinflusst (Smirnova & Perpelitsyna 1995). Fox (1993) fand heraus, dass die Pollinationsrate mit der Anzahl der Beeren und Beerengröße korreliert. Considine & Coombe 1974, Ito 1969, Weaver 1960 bestätigten diese Forschungsergebnisse, da bei Ihnen eine GA₃-Behandlung zu kleineren Beeren mit weniger Samen führt.

Hypothesen zur Entstehung der Lockerbeerigkeit

Bisher konnte die Wirkungsart und der -ort nicht identifiziert werden. Eine Hypothese ist, dass die Applikation zu einem Abwurf der Beeren durch das Verhärten und Verdicken der Stielchen führen kann (Pérez et al. 1998). Fidan et al. (1981) beobachtete, dass der Abwurf von Beeren mit der Ansammlung von Cellulose und der Lignifikation zusammenhängt. Die Vermehrung sekundärer Xylemzellen und die verstärkte Lignifikation führen zum Verhärten des Stielgerüsts und der Stielchen (Nakamura & Hori 1985). Weitere histologische Veränderungen in den Stielchen zeigen eine erhöhte Anzahl von Zellen in der Cortex, im Xylem und im Mark (Botti & Cooper 1994). Diese Theorie würde allerdings nur die Reduktion der Beeren erklären, aber nicht das Wachstum der Stielchen und der Infloreszenzen.

Eine andere Hypothese besagt, dass das Wachstum der Stielchen und des Traubengerüsts durch Peroxidase gesteuert wird. Pérez (1998) bemerkte eine hohe Aktivität

in den Stielchen von Thompson seedless nach einer GA₃-Applikation nach der Anthesis und fand eine Korrelation zwischen dem Stielchenwachstum und der Peroxidaseaktivität. Auch die Reduktion der Beerenzahl soll durch die Peroxidase-Aktivität beeinflusst sein, indem sie die Verdickung und Verhärtung der Stielchen induziert (Pérez 2000).

Genetisch konnte nachgewiesen werden, dass Gibberellin (GA) bei der Blütenentwicklung der Rebe eine Rolle spielt (Boss et al. 2002). Die Größe und Morphologie der Infloreszenzen wird durch das *VvGAI1* Gens beeinflusst (Boss et al. 2003). Zhang et al. (2008) stellten fest, dass in den Infloreszenzen nach einer Gibberellinapplikation das *VAP1* Gen exprimiert wird, das für Blüteninduktion bei Reben notwendig ist (Carmona et al. 2007) und von dem Hormon Gibberellin reguliert wird (Zhang et al. 2008). Ähnliches gilt für das Gen *VvTFL1* (Yao et al. 2010). Interessant ist, dass eine GA₃-Behandlung keine verstärkte Expression der GA Biosynthesegene bewirkt (Pérez et al. 2009). Das GA20ox Gen sowie die 13-OH Hydrolyse des Gibberellinstoffwechsels (Abb. 3) werden in Infloreszenzen von Tafeltrauben während der Anthesis bis zur anfänglichen Beerenentwicklung exprimiert. Am stärksten zum Zeitpunkt des Fruchtansatzes (Pérez et al. 2009).

2.7 Auxin

Das Pflanzenhormon Auxin wurde im 19. Jahrhundert als Signal entdeckt, das in Graskoleoptilen Wachstum bewirkt (Darwin & Darwin 1881, Slovin 1999). Ungefähr 50 Jahre später wurde die Substanz isoliert (Went 1928) und der entdeckte „Wuchsstoff“ bekam den Namen Auxin. Auxin ist eine Indol-3-Essigsäure (IAA). Später kam die Cholodny-Went Theorie auf, die besagt, dass Auxine in die Wachstumsprozesse der Pflanzen involviert sind (Firn et al. 2000, Went 1974).

Die freie, aktive Indol-3-Essigsäure (IAA) ist seit 1933 bekannt, aber ihr Stoffwechsel ist bis heute unklar. Forschungsstudien zeigen, dass die IAA-Biosynthese zwei getrennte Wege hat (Woodward & Bartel 2005). IAA ist involviert in das Pflanzenwachstum, in die Entwicklung von Embryonen (Ribnicky et al. 2002), in die Fruchtreife (Cohen 1996) und in die Alterung (Quirino et al. 1999). Die IAA-Biosynthese ist haupt-

sächlich in jungen Blättern und in sich entwickelnden Samen zu finden (Davies 2004, Normanly et al 1995).

IAA entsteht aus Tryptophan (tryptophan-abhängiger Stoffwechsel) oder aus dessen Vorstufenprodukten (tryptophan-unabhängiger Stoffwechsel). Zusätzlich gibt es Trp-unabhängige Stoffwechsel (Indolyl-3-Benztraubensäure, Tryptamin und den Indol-3-Acetaldoxime). Der häufigste Trp-unabhängige Stoffwechsel ist der Indol-3-Benztraubensäure (IPA), indem durch die Deaminierung des Tryptophans (IPA) und durch die Decarboxylierung von Indol-3-Acetaldehyd IAA entsteht. Am häufigsten kommt IAA als Konjugat mit Aminosäuren, Zuckern oder Peptiden in Pflanzen und pflanzlichen Geweben vor (Cohen & Bandurski 1982, Slovin et al. 1999, Normanly et al. 2010). Die Synthese der Konjugate und Abbauprodukte bilden Indolyl-3-Buttersäure (IBA), wodurch freies IAA entsteht (Bartel et al. 2001, Normanly et al. 2004).

Auxintransport

Für Auxin bestehen zwei Haupttransportwege: 1. Ein schneller im Phloem. 2. Ein polarer, langsamer Transportweg (PAT) im Gewebe (Morris et al 2004). Der Phloemtransport ist in die hochspezifischen Veränderungen in den Pflanzen, die durch Auxin ausgelöst werden, involviert (Morris et al. 2004). Im Phloem werden inaktives und aktives IAA nach dem Prinzip „source und sink“ transportiert (Ljung et al. 2001). Dabei werden im Vergleich zum polaren Auxintransportweg lange Strecken zurück gelegt (Cambridge & Morris 1996). Der Transport geschieht vermutlich durch Carrier (Morris et al. 2004). Der polare Auxin-Transport findet von Zelle zu Zelle statt und transportiert freies IAA in genau der entgegengesetzten Richtung (Friml & Palme 2002). Auxin wird akropetal und basipetal transportiert (Davies et al. 1972, 1976, Rashotte et al. 2000, Scott & Wilkins 1968, Tsurumi et al. 1978) und scheint mit dem Transport der Assimilate und den inaktiven Auxin-Konjugaten assoziiert zu sein. (Nowacki & Bandurski 1980). Im polaren Auxin Transport (PAT) wird IAA durch einen Carrier Mechanismus und durch Diffusion transportiert (Rubery & Sheldrake 1974, Delbarre et al. 1996). Lange wurde vermutet, dass dies durch die Asymmetrie der Lokalisation des Efflux-Transporters geschieht (Swarup et al. 2001). Eine weitere Hypothese basiert auf spezifischen Transportern (Goldsmith 1977), die von Lomax et al. 1985 und Benning 1986 nachgewiesen wurden. Andere Untersuchungen ergaben,

dass der PAT wenigstens durch zwei Transportsysteme, die Auxin einführen (*AUX* Transporter) und ausführen (*PIN* Transporter), geschieht. Im Detail wird der polare Auxin Transport durch das chemi-osmotische Modell erklärt. Das undissoziierte Auxin kann aus dem sauren Apoplasten über einen Auxin-Vermittler oder direkt durch die Membran aufgenommen werden (Lomax et al. 1995, Swarup et al. 2003). Im basischen Cytosol dissoziiert Auxin und kann über den Aufnahmeweg nicht zurück in die Zelle gelangen. Die treibende Kraft ist der gewebespezifische, elektrochemische Gradient H^+ , der Auxin im Apoplasten protoniert (Lomax et al. 1995, Swarup et al. 2004). Durch den H^+ -Gradienten wird die Diffusion von IAA erhöht. Dadurch ist die Auxinkonzentration im apikalen Gewebe hoch. Die *AUX1* Familie ist verantwortlich für diese Aktivität (Lomax et al. 1985, Swarup et al. 2001, Swarup et al. 2004) und ist mit den pflanzlichen Aminosäuren-Permeasen verwandt. Die *AUX* Proteine wurden in der Wurzel an der oberen Membran der Protophloemzellen und das *AtPIN1* an der unteren Plasmamembran gefunden (Swarup et al. 2001). Im neutralen Cytoplasma liegt IAA als Anion vor, wodurch es lipid unlöslich ist. IAA^- kann die Zelle über den polaren Efflux-Komplex, der durch das *PIN* Protein gesteuert wird, wieder verlassen (Friml 2002, 2003). In Arabidopsis sind mindestens 14 *AtPIN1* verwandte Gene zu finden (Swarup et al. 2001). *PIN* Proteine sind für den basipetalen IAA Transport in den Triebspitzen und für den akropetalen Transport in die Wurzeln notwendig (Blilou et al. 2005, Gälweiler et al. 1998). Der IAA Transport durch *PIN* konnte bisher nicht demonstriert werden (Blakeslee et al. 2005). Die Regulation des Auxin Efflux-Komplexes hängt von der Auxinpolarität ab und nicht von der Regulation des zellulären Auxins. Weitere Theorien besagen, dass zusätzlich mit dem *PIN* Protein andere Proteine interagieren, die hier nicht weiter erläutert werden sollen.

Interaktion von Auxin-Gibberellin im Pflanzenwachstum

Viele verschiedene Theorien sind in der Vergangenheit über die Interaktion der Hormone Gibberellin und Auxin sowie ihrer Rolle beim Wachstum diskutiert worden (Brian & Hemming 1958, Law & Davies 1990, Kurashi & Muir 1962, van Huizen et al. 1997). Kende (1997) fand heraus, dass Gibberellin und Auxin unterschiedliche Prozesse im Stielwachstum regulieren. Sauter et al. (1993) stellte fest, dass das Wachstum im meristematischen Gewebe und in jungen Zellen durch GA ausgelöst wird. GA induziertes Wachstum braucht die Anwesenheit von meristematischem Gewebe und

bewirkt keine Zelldehnung und -streckung, sondern eine Zellteilung (Sauter & Kende 1992). Auxin besitzt die Fähigkeit das Wachstum von Zellen auszulösen, die ihr Wachstum schon beendet haben (Bergfeld et al. 1988, Jacobs 1997). Ross & O'Neill (2001) zeigten, dass Auxin, Indol-3-Essigsäure (IAA), die GA Biosynthese in Erbsen reguliert, die das bioaktive GA₁ bildet und die Streckung von Erbsenstielchen veranlasst (Ross et al. 2000). Der Schritt von GA₂₀ zu GA₂₉ und von GA₁ zu GA₈ kann durch IAA gehemmt werden (Ross & O'Neill 2001). Das Enzym des *LE* Gens, das GA₂₀ zu GA₁ katalysiert, ist in Erbsen detektiert worden (Ross & O'Neill 2001). Es ist ein Auxin "early response Gen" (Abel et al. 1996, Guilfoyle et al. 1998). In vitro wurde nachgewiesen, dass das Enzym dieses Gens, den Schritt der Biosynthese von GA₂₀ zu GA₂₉ und GA₁ zu GA₈ deaktiviert (Ross & O'Neil 2001). *LE* reguliert das Auxin und dieses wiederum das PsGA20ox1 Gen der GA-Biosynthese (Ross & O'Neil 2001). In Erbsenschoten reguliert das aktive Auxin (4-Chloroindol-3-Essigsäure) den Biosyntheseschritt zur Bildung des GA₂₀ (van Huizen et al. 1997). Wolbang et al. (2001) demonstrierten, dass bei Tabak die GA₂₀-Oxidation durch IAA stark gefördert wird, wobei dies in Erbsen nicht bestätigt werden konnte (Ross et al. 2000). Ross et al. (2002) stellten fest, dass Umwelteinflüsse auf Auxin wirken können, die den GA₁ Level beeinflussen. Collett et al. (2000) konnten keine Interaktionen von Auxin und Gibberellin bei Arabidopsis Hypokotylen entdecken. In diesem Fall wirkte Auxin hemmend auf deren Wachstum (Collett et al. 2000) und GA wirkt auf ihre Morphologie (Gendreau et al 1997). In den Internodien von Erbsen bewirkt GA das Zellwachstum und beeinflusst die Zellanzahl (Reid et al. 1983). Nicht nur Auxin kann auf Gibberellin wirken, denn eine GA Applikation erhöht den IAA Level in Pflanzen (Law & Hamilton 1984) und in isolierten Stielchen (Barratt & Davies 1997). Ross (2002) stellte fest, dass die GA₁ Behandlung das Wachstum fördert, aber nicht den IAA Level erhöht (Ross et al. 2002).

Zellelongation durch Auxin

Auxin bewirkt Zellelongation bei Koleoptilen und in Stielen, indem einer oder mehrere zellulären Wachstumsparameter verändert werden (Cleland 2010). In diesen Vorgang sind Zellwand lockernde Faktoren, wie das H⁺, involviert (Cleland 2010). Um diese Zellelongation hervorrufen zu können, bindet sich Auxin an einen Rezeptor in der Plasmamembran oder in der Zelle (Cleland 2010). Durch die H⁺ATPase werden

die Protonen über die Plasmamembrane in die Zelle oder in den Apoplasten transportiert (Rayle & Cleland 1970, Hager et al. 1971, Rayle 1973, Rayle & Cleland 1977, Cleland et al. 1991). Die Zellwand verliert ihre Spannung und das Wasserpotential in der Zelle sinkt. Eine zusätzliche Wasseraufnahme in der Zelle und Vakuole wird ausgelöst. Der entstandene Druck veranlasst eine Zellelongation. Durch den niedrigen pH-Wert werden Expansine aktiviert. Expansin bindet an die Cellulosemikrofibrillen und zerstört die Wasserstoffbrücken zwischen Cellulose und Hemicellulosepolymeren, die die Zellwand umgeben (Abb. 9, McQueen-Mason & Cosgrove 1999, Neumetzler & Pauly 2007). Die Endonuklease zerschneidet die Glycane in kurze Segmente. Die Xyloglucan Endonuklease verbindet diese Segmente zu langen oder kurzen Stücken (Abb. 9).

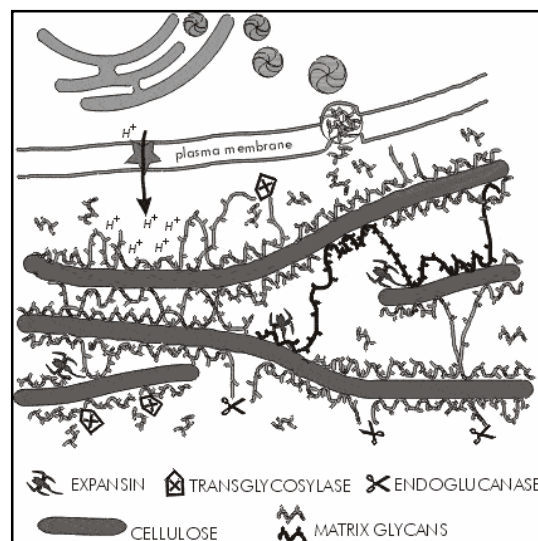


Abbildung 9: Extension der Zellwand Sampredo & Cosgrove 2005 Genome Biol. 6 (12), 242.

2.8 Expansin

Expansinstruktur

Das Protein Expansin besteht aus zwei Domänen (I und II). Das Peptid am Ende des N Terminal ist in den ER/Golgi Stoffwechsel involviert (Abb. 10, Shcherban et al. 1995) und verwandt mit der Endoglucanase-Familie 45 (GH45). Weiterhin enthält die Domäne I konservative Aminosäuren wie die Cystinsäure, die involviert ist in die Bildung von Disulfidbindungen (Abb. 10, Li et al. 2002, Sampredo & Cosgrove 2005). Die Domäne II ist verwandt mit der Pollen-Allergen Gruppe 2 (Li et al. 2003) und be-

sitzt vier konservative Tryptophansäuren (Li et al. 2002). Diese wurden in der Zellulasebindungsdomäne von einigen Zellulasen gefunden (Gilkes et al. 1991).

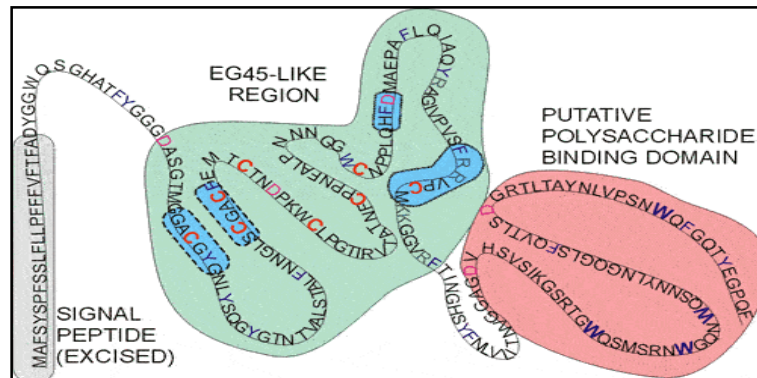


Abbildung 10: Darstellung des Proteins Expansin (Cosgrove 1997, the Plant Cell 9,1031-1041)

Expansine bestehen aus zwei Hauptklassen, den α and β -Expansinen (Cosgrove 1997, Kende et al. 2004), die beide die Zellelongation bewirken. Sie agieren auf unterschiedliche Weise auf die Polysaccharide in der Zellwand (Cho & Cosgrove 2004) und stimmen zu 25 % in ihrer Sequenz überein (McQueen-Mason et al. 2007). Zwei weitere verwandte Familien, wie die Expansin-like (*EXPL*) und Expansin-related (*EXPR*) wurden entdeckt (Cho & Cosgrove 2004). Von diesen beiden Gruppen ist bisher nur die Sequenz und deren Expression bekannt (Cho and Cosgrove 2004). Innerhalb einer Klasse können die Expansine einen Sequenzunterschied von 20 % - 40 % haben, in *Arabidopsis* zwischen 52 % - 99 % (Li et al. 2002). Erstmals entdeckte McQueen-Mason et al. (1992) die α -Expansine in Gurkenhypokotylsegmenten. Die Expansinreaktion hat ein pH-Optimum zwischen 4,5 und 5 (McQueen-Mason et al. 1992, Li et al. 1993, Taiz 1994).

Wachstumsregulation durch Hormone und Expansin

Die Lockerung der Zellwand geschieht bei Expansin unter denselben Bedingungen wie bei Auxin (Cho & Cosgrove 2004). Beide Effekte (Auxin, Expansin) stimulieren die Zellextension, sind aber nicht additiv (Cho & Cosgrove 2010). Cleland (2004) meint, dass die von Expansin ausgelöste Lockerung der Zellwand nur im Zusammenhang mit Auxin und dem Zellwachstumsfaktor H^+ möglich ist (Cleland 2004). Wie beim Säurewachstum könnte Auxin die Aktivität der Plasmamembran- H^+ -ATPase erhöhen und durch diese Ansäuerung Expansine in ein saures pH-Optimum bringen.

Eine erhöhte Transkriptionsmenge der Plasmamembran- H^+ -ATPase wurde nach einer Auxingabe in Mais nachgewiesen (Frias et al. 1996). Hutchinson et al. (1999) und Reinhardt et al. (2000) zeigten, dass Auxin eine Rolle bei der Genaktivierung der Expansine spielt. Andere Studien fanden in den Promotorregionen verschiedener Expansingene „Auxin Responsive Elements“ (AuxRes), die eine Auxin induzierte Transkription auslösen. In den Gurken-Hypocotylsegmenten löst Auxin die Expression von Expansin aus (Shieh et al. 1997). In Tomaten wurde das Expansin kodierende *LeExp2* gefunden, das in der elongierenden Zone des Hypocotyls transkribiert (Catalá et al. 2000) und im Promotorbereich wurden zwei *AuxREs* Gene entdeckt (Caderas 2000). Es konnte gezeigt werden, dass exogenes Auxin die *LeExp2*-Transkription in den Hypocotylsegmenten stimuliert (Catalá et al. 2000). Cleland (2004) postulierte, dass zusätzlich zu dem Protein Expansin die Pflanzenhormone Auxin, Brassinolid und Gibberellin eine Rolle bei der Zellstreckung spielen. Die meisten Untersuchungen zur Extension der Zellwand und des Wasserpotentials beruhen auf Auxin induziertem Wachstum (Srivastava 2007). Gibberellin bewirkt eine stärkere Elongation als Auxin. Doch die Untersuchungen über den Einfluss von Gibberellin sind bisher gering und die von Brassinolid im Anfangsstadium (Srivastava 2007). Es konnten verschiedene Phytohormone gefunden werden, die im Zusammenhang mit Expansin eine Zellstreckung bewirken (Lee et al. 2001). Der Effekt von GA auf das Wachstum der Pflanzenorgane oder Segmente ist eindeutig. In den Internodien von Reis löst GA die Expression von 9 Genen aus: Fünf α -Expansin, vier β -Expansin und einem Expansin-like aus, die das Wachstum in Reisstielen regulieren (Cho et al. 1997, Kende et al. 1998). Lee & Kende (2001) zeigten, dass eine Gibberellinbehandlung die Elongation von Reisinternodien bewirkt, indem die Gene *OsEXPB 3,6,11,12* induziert wurden. In Reis fanden sich α -Expansin Gene, die von Auxin (Catalá et al. 2000, Hutchinson et al. 1999), von Gibberellin (Cho et al. 1997, Lee et al. 2001), von Cytokin (O'Malley et al. 2000, Wrobel et al. 2001) und Ethylen reguliert werden (Kim et al. 2000, Vriezen et al. 2000). Diese Phytohormone können direkt oder indirekt in den Prozess der Zellwandelongation einwirken (Nishitani & Vissenberg 2007).

Vorkommen von Expansin

Expansin kommt in den meisten Pflanzen, wie in Angiospermen, Gymnospermen, Farnen und Bryophyta vor (Schipper et al. 2002, Richard et al. 2005 Cho & Cosgrove 2010).

Die Expression von Expansin konnte in einer großen Anzahl von Geweben nachgewiesen werden, wie in den Wachstumsregionen von Mais und Sojabohnen (Hutchinson et al. 1999, Lee et al. 2003, Zhang & Hasenstein 2000), in wachsenden Internodien von Weizen und Reis (Cho & Kende 1997, Lee & Kende 2001), bei der Saatgutkeimung, in der Fruchtreife (Catalá et al. 2000, Chen et al. 2001, Rose et al. 2000) und bei wachsenden Baumwollfasern (Harmer et al. 2002, Orford & Timmis 1998). Überall, wo eine Auflockerung der Zellwand auftritt, spielen Expansine eine Rolle. Sie bewirken jedoch keine Hydrolyse oder Proteolyse (McQueen-Mason et al. 1992, McQueen-Mason & Cosgrove, 1995) und zu einer Transglycosylierung von Xyloglucanen scheinen sie nicht fähig zu sein (McQueen-Mason 1993). Eine Überexpression des Expansingens (*ATEXPP10*) führt zu längeren Blattstielen und größeren Zellen (Cho & Cosgrove 2000). In Tabak bewirkt die Expression die Ausbildung von größeren, buschigen Pflanzen (Lee et al. 2003). Bei Tomaten bewirkt sie ein gestauchtes Wachstum (Rochange et al. 2001) und eine Veränderung der Fruchtgröße (Brummel et al. 1999). Die Expression des *OsExp4* Gen löst bei Reis ein gekrümmtes Wachstum aus, doch bei einer extrem starken Expression bildet es größere Pflanzen aus (Cho et al. 2003). Zenoni et al. (2004) berichtet von einem verkleinerten Blütenblatt und einer Veränderung der Morphologie. In der Maisblüte veranlasst das Gen *Zea m1* die Streckung des Stigmas und der Stielchen (Cosgrove 1997).

Expansin in *Vitis Vinifera*

Das erste Expansin in *Vitis vinifera* ist ein EST, das in den Gescheinen der morphologischen Stadien vor, während und nach der Blüte gefunden wurde (Goes Da Silva et al. 2003). Die komplette Sequenz dieses Gens wurde von Ishirmaru et al. (2003) entdeckt und ist das *Vlexp1* Gen, das in der Blüte, in den Blättern und in den Trieben, in der frühen Wachstumsphase, in dem Beerenwachstum und während der Zellteilung der Beeren exprimiert wird (Ishirmaru et al. 2007). Das *Vlexp2* Gen wird zu den gleichen Zeitpunkten wie *Vlexp1* in der Wurzel und in den Kernen, *Vlexp3* Gen vor

und während der Beerenreife exprimiert (Ishimaru et al. 2007). Schlosser et al. (2008) detektierte das *EXP 1,2,3* und *EXPL* in Beeren während der Wachstumsphase I zu II und II zu III. Die Funktion von *EXP3* und *EXPL* ordnete Schlosser et al. (2008) der Zellwandverdickung, der Zellwandlockerung und Elongation zu. Terrier et al. (2005) identifizierte das Expansin *RT082C12*. Dieses wird durch Hormon Cytokinin induziert, die Gene *RT084G09* und *RT081G07*, hingegen durch Gibberellin Responsive Proteine und durch das Jasmin Signalprotein.

2.9 Molekulare Marker

Durch den Einsatz molekularer Marker können die Sorten und Klone von *Vitis vinifera* charakterisiert werden. Drei Arten von Markern kommen bei *Vitis vinifera* zum Einsatz: 1. die Proteine (Allozyme), 2. die DNA Sequenz bedingten Polymorphismen wie restriction fragment length polymorphisms (RFLP), random amplified polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphisms (AFLPs), sequence specific amplification polymorphisms (SSAP), single nucleotide polymorphisms (SNPs) und 3. DNA Wiederholungssequenzvariationen wie die simple sequence repeat (SSR). Der Einsatz anderer Markersysteme zur Unterscheidung klonaler Variationen ist ineffizient (Forneck 2005). Erste Unterschiede von klonaler Variation wurden mit SSR Markern identifiziert (Silvestroni et al. 1997). Weitere klonale Unterschiede wurden mit AFLP Markern detektiert (Blaich et al. 2008, Cervera et al. 2000, Cervera et al. 2002, Moncada et al. 2005). Die Wahl des Markers hängt von der Laborausstattung, dem Forschungsziel und den zu Verfügung stehenden finanziellen Mitteln ab.

Single Nukleotid Polymorphisms

Ein single nucleotide polymorphism (SNP) ist die kleinste genetische Variation im Erbgut von Individuen innerhalb einer Spezies (Rafalski 2002). Im Genom sind SNPs die häufigste Art von genetischen Variationen (Brookes et al. 1999, Cho et al. 1999). Sie treten als biallele Variation zwischen Individuen in Genen (Promotor, Exon oder Intron) oder zwischen Genen auf (Edwards et al. 2007, Rafalski 2002). SNPs sind stabil

und verändern sich nicht signifikant von Generation zu Generation (Lopez et al. 2005). Im Genom sind die Mutationen nicht randomisiert verteilt, weil sie abhängig von der Umgebung der Nukleotidbasen und der Methylierung der DNA sind (Edwards et al. 2007). SNPs kommen in kodierenden und nicht kodierenden Regionen des Genoms vor. Die meisten SNPs sind in der nicht kodierenden DNA Region lokalisiert und haben keinen Einfluss auf den Phänotyp der Individuen (Syvänen 2001). Die kodierende Region besitzt eine geringe Rekombinationsrate und hat eine geringere Polymorphismenrate (Rafalski & Mongante 2004).

SNPs dienen als große Ressource für molekulare Marker. Sie kommen bei der Detektion von Kopplungsgruppen und Geno-/Phänotypen Kopplungen und zur Bestimmung der genetischen Diversität zum Einsatz (Rafalski 2002, Edwards et al. 2007, Varshney et al. 2007). In Spezies, deren Individuen heterozygot am genetischen Locus sind, gibt es zwei identische Kopien, die unterschiedlich bei einem SNP sein müssen. Das Erbgut jeder Variante muss direkt in den Nachkommen gemessen werden (Edwards et al. 2007).

In vielen Pflanzen, wie Mais (Ching et al. 2002) Reis, Arabidopsis (Schmid et al. 2003, Yu et al. 2005) und Weizen (Wolters et al. 2000) sind SNPs identifiziert worden. Wolters et al. (2000) hat ein SNP pro 20 bp bei Weizen und Bhatramakki et al. (2001) ein SNP pro 70 bp bei Mais gemessen. Troggio et al. (2007) zeigte, dass SNPs hervorragend für den Einsatz der Marker gestützten Selektion bei *Vitis vinifera* genutzt werden können. This et al. (2007) identifizierten einen SNP, der mit dem Merkmal Rebenfarbe gekoppelt ist und in der Promotorregion, im Exon liegt. Dong et al. (2010) identifizierte in *Vitis vinifera* alle 23 bp ein SNP und alle 286 bp ein InDel. Salmaso et al. (2004) identifizierte in der kodierenden Region ein SNP pro 23,1 bp und in der nicht kodierenden Region ein SNP pro 17,6 bp.

SNP – Genotyping Methode

Die erste Methode zur Detektion von SNP genotyping war die Analyse von Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP, Botstein 1980), die zur Kartierung in Pflanzen-Spezies entwickelt wurde (Keim et al. 1990). Dieses Verfahren ist technisch begrenzt und sehr arbeitsintensiv (Edwards et al. 2007). Deswegen wurden weitere molekulare Markermethoden entwickelt, wie die Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS, Konieczny & Ausubel 1993). Syvänen (2001) und Kwok (2001)

publizierten einen Überblick, in dem unterschiedliche Detektionstechniken zur Identifikation von SNPs erläutert werden, wie die Allele-Specific Oligonucleotide (AOS) Hybridisierung, die Oligonucleotide Ligation Assay (OLA), die Single Nucleotide Primer Extension, die Enzym cleavage Methode, direktes Sequenzieren und die Allelspezifische PCR. SNPs wurden in Pflanzen, in vitro, in silicon oder durch indirekte Methoden identifiziert (Edwards et al. 2007). Der Genomscan und candidat gene approach sind die zwei am häufigsten eingesetzten Strategien zur Identifizierung von SNPs (Edwards et al. 2007). Die Wahl der genotyping Methode ist abhängig vom Fokus der Forschung und den zur Verfügung stehenden Möglichkeiten. Im Moment werden die meisten SNPs aus der expressed sequence tags (EST) Datenbank bestimmt (Weising 2005). Diese Datenbank ist eine gute Quelle und wurde zum Beispiel bei Zuckerrüben (Schneider et al. 2001), Mais (Ching et al. 2002, Batley et al. 2003), Reis (Nasu et al. 2002) und Sojabohnen (Zhu et al. 2003) eingesetzt. Diese SNPs aus der EST Datenbank liegen in exprimierenden Genen, die für agrarwissenschaftliche Merkmale interessant sein könnten. Doch die Sequenzanalyse kann durch die Anwesenheit von Multigenfamilien und vorhandenen großen Introns beeinflusst werden (Edwards & Mogg 2001). Deswegen müssen andere Methoden zur Detektion in den Genotypen eingesetzt werden. Der kürzeste Weg zur Identifizierung von SNP Polymorphismen ist die direkte Sequenzierung (Edwards & Mogg 2001). Zu beachten ist, dass dabei Sequenzleerstellen auftreten können. Diese erhöhen in vielen Pflanzen die Anzahl von SNPs. Zudem sind viele Pflanzen heterozygot oder polyploid, wodurch bei direktem Sequenzieren homologe oder homeologe loci auftreten können. Der Basenunterschied wird entdeckt, aber nicht der exakte Basenaustausch bestimmt. Dies tritt bei Polymorphismen auf, die auf einer Insertion oder Deletion beruhen. Aus diesem Grund ist es wichtig, dass PCR Fragmente kloniert werden, bevor direkt sequenziert wird (Edwards & Mogg 2001).

3. Material & Methoden

3.1 Genetisch bedingte Lockerbeerigkeit

Pflanzenmaterial

Ein Primertest wurde an 40 verschiedenen Genotypen durchgeführt (Vaclavicek 2004). Im Rahmen der Arbeit wurden 14 Pinot noir Klone getestet. Sie wurden unterteilt in kompakte (5), lockere (8), kleinbeerige (1) und phänotypisch instabile Traubenstruktur (Frank 105 S, Tabelle 1). Sieben Pinot Farbmутanten, wie Pinot gris (1) und Pinot blanc (4) wurden untersucht. Zusätzlich sind Pinot Meunier (4), Riesling (1), Roter Traminer (1), Weißer Gutedel (1), Chardonnay (1), Cardinal (1) und Chenin blanc (1) als nicht Pinot noir Klone getestet worden (Tabelle 1).

Tabelle 1 Bezeichnung und Herkunft der verwendeten Klone

Genotypen	Züchtungsinstitut	Mutation	Phänotyp	Referenz
Pinot noir ¹ 18 Gm ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	Keine	Kompakt	Bleyer 2001
Pinot noir ¹ 20 Gm ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	Keine	Kompakt	Bleyer 2001
Pinot noir ¹ 113 ²	INRA Colmar, Frankreich ⁴	Keine	Kompakt	
Pinot noir ¹ 777 ²	INRA Colmar, Frankreich ⁴	Keine	Kompakt	
Pinot noir ¹ 105 S Frank ²	Rebschule Frank, Deutschland	Keine	Locker oder Kompakt	
Pinot noir ¹ 20-13 Gm ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	219-222bp: 4 bp deletion; 231 bp: C/T SNP	Kleinbeerig, Locker	Linder et al. 1999
Pinot noir ¹ We M1 ²	SLVA Weinsberg, Deutschland ⁵	219-222bp: 4 bp deletion 231 bp: C/T SNP	Locker	Bleyer 2001
Pinot noir ¹ We M848 ²	SLVA Weinsberg, Deutschland ⁵	219-222bp: 4 bp deletion 231 bp: C/T SNP	Locker	Bleyer 2001
Pinot noir ¹ M242 ²	SLVA Weinsberg, Deutschland ⁵	219-222bp: 4 bp deletion 231 bp: C/T SNP	Locker	Bleyer 2001
Pinot noir ¹ 1-44 Gm ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	219-222bp: 4 bp deletion 231 bp: C/T SNP	Locker	Linder et al. 1999
Pinot noir ¹ 1-84 Gm ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	219-222bp: 4 bp deletion 231 bp: C/T SNP	Locker	Linder et al. 1999
Pinot noir ¹ Fr 13 L ²	WI Freiburg, Deutschland ⁶	219-222bp: 4 bp deletion 231 bp: C/T SNP	Locker	Bleyer 2001
Pinot noir ¹ 1-1 Gm ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	219-222bp: 4 bp deletion 231 bp: C/T SNP	Locker	Linder et al. 1999
Pinot noir ¹ Fr 52-68 ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	Keine	Kompakt	Bleyer 2001
Pinot blanc ¹ 3009 ²	INRA Colmar, Frankreich ⁴	Keine	Unbekannt.	
Pinot blanc ¹ 3189 ²	INRA Colmar, Frankreich ⁴	Keine	Unbekannt	
Pinot blanc ¹ 3027 ²	INRA Colmar, Frankreich ⁴	Keine	Unbekannt	
Pinot blanc ¹ 2-53 ²	Unkown	Keine	Unbekannt	
P. meunier ¹ We 805 ²	SLVA Weinsberg, Deutschland ⁵	Keine	Kompakt	Bleyer 2001
P. meunier ¹ We 808 ²	SLVA Weinsberg, Deutschland ⁵	Keine	Kompakt	Bleyer 2001
P. meunier ¹ WVWL 23 ²	SLVA Weinsberg, Deutschland ⁵	Keine	Kompakt	Bleyer 2001
P. meunier ¹ 3079 ²	INRA Colmar, Frankreich ⁴	Keine		Unbekant
Pinot gris ¹ 3014 ²	INRA Colmar Frankreich ⁴	Keine		Unbekant
Weißer Gu- tedel ¹ Fr 35-37 ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	231 bp: indel C C/T transion 217 bp	Locker	Ambrosi et al. 1998
Chardonnay ¹ 1 Gm ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	219-222bp: 4 bp deletion 231 bp: C/T SNP	Kompakt Länges Stiel- gerüst und Stielchen	Rühl pers. Mitteilung. 2007
Riesling ¹ 64-177 Gm ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	Keine	Kompakt	Ambrosi et al. 1998
Roter Trami- ner ¹ 11 Gm ²	FA Geisenheim, Deutschland ³	Keine	Kompakt	Ambrosi et al. 1998
CheninBlanc ¹ I 4:5-6 ²	UC Davis, USA ⁷	Keine	Kompakt	Ambrosi et al. 1998
Cardinal ¹ VII 1:13-14 ²	UC Davis, USA ⁷	231 bp: indel C	Locker	Ambrosi et al. 1998

¹ Sorte, ² Klon, ³ Forschungsanstalt Geisenheim, Deutschland, ⁴ Institut national de la recherche agronomique, ⁵ Staatliche Lehr- und Versuchsanstalt Weinsberg, ⁶ Staatliches Weinbauinstitut Freiburg

DNA Extraktion

Die DNA Extraktion von jungen Blättern erfolgte mit Hilfe des DNeasy-Plant Mini kits (Qiagen Hilden) oder wurde von Kollegen extrahiert zur Verfügung gestellt:

- Circa 0.1 g eines Rebblattes in einem Eppendorfgefäß stecken und mit flüssigem Stickstoff schockgefrieren.
- Das gefrorene Gewebe zu feinem Pulver zermahlen.
- 400 µl des Puffers AP1 und 4 µl der RNase Stammlösung (100 mg/ml) hinzufügen.
- Die Lösung 10 min bei 65 °C inkubieren und währenddessen 2 bis 3 - mal invertieren.
- 130 µl des Puffers AP2 hinzugeben, invertieren und 5 min auf Eis inkubieren.
- Die Suspension durch 5 minütiges Zentrifugieren bei 14000 rpm (Biofuge[®]stratos, Heraeus, Hanau) in zwei Phasen trennen.
- Die wässrige Phase in eine Qiashreddersäule (Quiagen, Hilden) setzen und für 2 min bei 14000 rpm (Biofuge[®]stratos, Heraeus, Hanau) zentrifugieren.
- Den Durchfluss von ca. 450 µl mit einer Pipette in ein neues 2 ml Reaktionsgefäß geben und das Pellet dabei unberührt lassen.
- Das 1,5 - fache Volumen (ca. 675 µl) des Puffers AP3 dazugeben und die Lösung mit der Pipette mischen.
- Anschließend 650 µl des Lysats in eine neue Qiashreddersäule (Quiagen, Hilden) geben und 1 min bei 8000 g (Biofuge[®]stratos, Heraeus, Hanau) zentrifugieren.
- Den Durchfluss verwerfen und den Arbeitsschritt mit dem restlichen Lysat wiederholen.
- Das Säulchen auf ein neues Reaktionsgefäß (Quiagen, Hilden) setzen und 500 µl des Puffers AW hinzufügen.
- Für 1 min bei 14000 rpm (Biofuge[®]stratos, Heraeus, Hanau) zentrifugieren und anschließend den Durchfluss verwerfen.

- Das Reaktionsgefäß aufheben und im nächsten Schritt 500 µl Puffer AW hinzupipettieren. Dann für 2 min bei 14000 rpm zentrifugieren (Biofuge®stratos, Heraeus, Hanau).
- Das Reaktionsgefäß und den Durchfluss verwerfen.
- Das Säulchen auf ein neues 1,5 ml Gefäß setzen und 50 µl des auf 65 °C erwärmten Puffer AE dazugeben und 5 min bei Raumtemperatur inkubieren.
- Anschließend die Probe 1 min bei 14000 rpm (Biofuge®stratos, Heraeus, Hanau) zentrifugieren. Den letzten Arbeitsschritt wiederholen.
- Lagerung im Gefrierschrank bei -20 °C.

EST Resource und PCR Primer Design

Mutationen aus den EST Datenbanken liegen in exprimierten Genen, die Auswirkungen auf den Phänotypen haben können (Weising 2005). Deswegen wurde der “EST Flower Bloom” (CF 207762, Da Silva *et al.* 2003) in dem Primertest verwendet (Vaclavicek 2004). Ein Sequenzunterschied zwischen locker und kompakten Pinot noir Klonen wurde mit dem Primer ExpFI1 (Tabelle 2) basiert auf den “EST Flower Bloom” (CF 207762, Da Silva *et al.* 2003) entdeckt (Vaclavicek 2004). Basierend auf diesen Untersuchungen wurde der spezifische Primer ExpFI2 (Tabelle 2), mit Primer3 Software (Rozen & Skaletsky 2000) entwickelt. Der Primer weist eine hohe Spezifität zu der EST Sequenz (CF 207762, Da Silva *et al.* 2003) auf. Er besitzt hohen GC Gehalt, und dadurch kann eine hohe Annealing Temperatur bei der PCR verwendet werden. Die Stabilität des Primers und die Spezifität des Amplifikationsprodukts ist garantiert. Bei der Entwicklung eines Primers für die MAS zur Identifikation von lockeren und kompakten Klonen wurden CAPS, SCAR und Genotyping Primer entwickelt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Primersequenz, Annealing Temperatur und Funktion

Primer-name	Sequenzen	Annealing Temperatur	Funktion
ExpFL1	5'-ATTGAGCCAGAGCCCGATTAC-3' 5'-AGCTGGTGATGTTTCATGCTG-3'	50 °C	Detektion der Mutation, Klonierung
ExpFL2	5'GGCCTCAAGAATGGTCTCTGAATA'3 5'CCACCAGTAATGGCCACA'3	55 °C	Spezifischer Primer zur Mutation, direkte Sequenzierung und IRD700 markiert für den Restriktionsverdau CAPS Marker
SNP1	Fam 5'AAAAGCCCTTCCTTTTCTTTT'3 5'CCACCAGTAATGGCCACA'3	53 °C	SNP genotyping ohne 4 bp Deletion
SNP2	Hex 5'CCCTTCCTCCCTTTTCTTTT'3 5'CCACCAGTAATGGCCACA'3	53 °C	SNP genotyping: mit 4 bp Deletion
Del1	5'GGCCTCAAGAATGGTCTCTGAARA'3IRD700 5'ATATACTGTTGTCCTTGGGGGTCAGTC'3	58 °C	SCAR Primer, genetische Kartierung

Kontrolle der Extrahierten DNA

Eine molekularbiologische Methode zur qualitativen und quantitativen Analyse der extrahierten DNA ist die Agarose-Gelelektrophorese. Auf dem 1 % - igen Agarosegel werden 4,5 µl DNA-Probe und 1,5 µl Ladepuffer (5x) aufgetragen. Die Gelelektrophorese läuft bei 120 V ca. 45 min. Anschließend wird das Gel 5 min mit Ethidiumbromid angefärbt und die DNA unter UV-Licht sichtbar gemacht. Bei guter Qualität sind gleich lange, scharfe Banden vorhanden.

1x TBE-Puffer:	100 mM Tris-Acetat 100 mM Borsäure 2 mM EDTA
Agarosegel:	1 g Agarose 100 ml 1x TBE-Puffer
5x Probenpuffer:	50 % Saccharose, 50 mM EDTA 0,05 % Bromphenolblau 0,05% XyleneCyanol
Ethidiumbromidlösung:	30 µl Ethidiumbromid 300 ml TBE-Puffer
Leiter:	100 bp (MassRuler™ DNA Ladder, Fermentas, St. Léon-Rot)

Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Spezielle Abschnitte innerhalb des Genoms können durch eine PCR um ein vielfaches amplifiziert werden. Das Enzym (*Taq*-Polymerase) verlängert und vermehrt mit der Hilfe von Nukleotiden (dNTPs), kurzen Oligonukleotidsequenzen (Primer) ausgewählte DNA-Sequenzen. Wichtige Kriterien für die Primerwahl sind die Größe der zu erwartenden PCR-Amplifikation, der GC-Gehalt und die Länge des Primers. Die DNA-Konzentration beeinflusst die Qualität der PCR. Ideale PCR-Bedingungen sind anhand einer Auswahl an Proben eingestellt worden. Der Primer ExpFI1 (Tabelle 1), der den genetischen Unterschied zwischen locker und kompakt detektiert (Vaclavicek 2004), besitzt keine gute Qualität. Die PCR-Produkte sind nicht stabil, obwohl er mit verschiedenen Primerannealingtemperaturen, variierten Mg Konzentrationen und verschiedenen *Taq*-Polymerasen getestet wurde. In dieser Arbeit ist der Primer ExpFI2 entwickelt worden, der einen höheren GC-Gehalt hat und mit einer höheren Annealingtemperatur in der PCR eingesetzt werden kann.

Entwicklung des EXPFL2 Markers

Die PCR ist auf ein Volumen von 10 μ l ausgelegt und enthält 10 pM von jedem Primer (VBC-Biotech Services GmbH, Wien), 0,2 dNTPs, 0,25 U *Taq* polymerase Fermentas (High Fidelity *Taq*, Fermentas, St Leon Rot), 1 μ l 10 x PCR Puffer, 1,5 mM $MgCl_2$ (High Fidelity PCR Enzyme Mix, Fermentas, St Leon Rot) und 1 μ l DNA.

Folgendes PCR Programm wurde im Mastercycler (Eppendorf, Hamburg) eingesetzt:

1. Standarddenaturierung	94 °C	1 min
2. Denaturierung	94 °C	30 sec
3. Annealing	55 °C	45 sec
4. Primer Elongation	72 °C	45 sec
5. Abschließende Elongation	72 °C	10 min

Der erste und fünfte Schritt findet einmalig zu Beginn bzw. am Ende des Programms statt. Die Zyklen 2 bis 4 werden 29 mal wiederholt.

Die Amplifikationsprodukte der PCR wurden auf einem 2 %- igen TAE-Agarosegel aufgetrennt (Abb. 9). Vier μl der PCR Reaktion wurde mit 2 μl Ladepuffer (5x) in die Taschen des Gels pipetiert. Auf das Gel wurde eine Leiter (100 bp) aufgetragen (GeneRuler™, Fermentas, St. Léon-Rot). Die Laufbedingungen waren 1,5 Stunden bei 120 V in 1 X TAE Puffer. Anschließend wurde das Gel mit Ethidiumbromid angefärbt (Abb. 9).

1x TAE-Puffer:	40 mM Tris-Acetat (pH 7,9) 2 mM EDTA mit Eisessig auf pH 8,0 einstellen
Agarosegel:	2 g Agarose 100 ml 1x TBE-Puffer
5x Probenpuffer:	50 % Saccharose, 50 mM EDTA 0,05 % Bromphenolblau 0,05 % XyleneCyanol
Leiter:	100 bp (Generuler™, Fermentas, St. Léon-Rot)

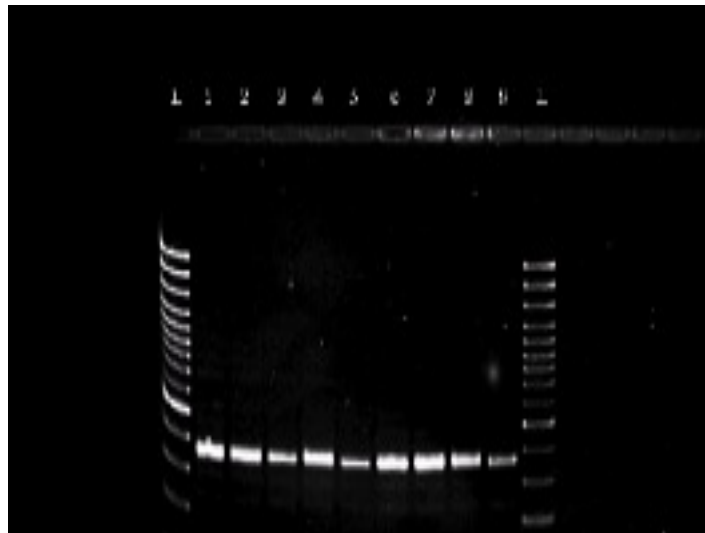


Abbildung 11: PCR Amplifikationsprodukte des Markers ExpFI2. L Leiter (100 bp), 1. We M 848, 2. We M 242, 3. 1-1 Gm, 4. Fr 13 L, 5. 18 Gm, 6. 20 Gm, 7. 2-53, 8. WVWL33, 9. 1-84 Gm, Leiter (100 bp)

Extraktion und Reinigung der Amplifizierten Fragmente aus einem Agarosegel

Die interessanten PCR-Amplifikationsprodukte wurden auf zwei unterschiedliche Vorgehensweisen für die Sequenzierung vorbereitet. Die Fragmente wurden auf einem UV-Detektor mit Hilfe eines Skalpell aus einem TAE-Agarosegel ausgeschnitten und mit einem Perfectprep®Gel Cleanup Kit (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)

aufgereinigt. Der zweite Weg der Reinigung des PCR Produkts für die Sequenzierung wird mit dem Kit ExoSapIT® (USB Amersham, München) durchgeführt.

Die DNA-Extraktion aus Agaroseblöcken:

- Die ausgeschnittenen Produkte wiegen und in ein 2 ml Röhrchen (Maximum von 400 mg) geben.
- Das Dreifache des Volumens des ausgeschnittenen Fragments an Binding Puffer dazugeben (1 mg des Gewichtes entspricht 1 µl vom Volumen, Eppendorf, Hamburg).
- Die Suspension für 10 min bei 50 °C in einem Eppendorf - Heizblock inkubieren. Alle 2 bis 3 min vortexen und anschließend bei 1000 g (Galaxy 14D VWR) zentrifugieren.
- Das einfache Volumen des Fragments an Isopropanol zum aufgelösten Fragment geben.
- Die Lösung mischen und inkubieren.
- Das Spin Säulchen (Eppendorf, Hamburg) auf ein 2 ml Eppendorfgefäß setzen.
- 800 µl der Lösung auf das Säulchen geben und bei 10000 g (Galaxy 14D VWR) für 1 min zentrifugieren.
- Den Durchfluss verwerfen und mit der restlichen Lösung den vorherigen Vorgang wiederholen.
- 750 µl Wash Puffer (Eppendorf, Hamburg) auf das Spin Säulchen geben und 1 min bei 10000 g (Galaxy 14D VWR, Wien) zentrifugieren.
- Den Durchfluss verwerfen, das Spin Säulchen wieder auf das Röhrchen setzen und bei 10000 g für 1 min (Galaxy 14D VWR, Wien) zentrifugieren.
- Das Spin Säulchen auf ein neues 2 ml Röhrchen setzen, 30 µl Elution Buffer (Eppendorf, Hamburg) hinzugeben und bei 1000 g für 1 min (Galaxy 14D VWR) zentrifugieren.
- Die aufgereinigte DNA bei -20 °C im Gefrierschrank lagern.

Die extrahierte DNA aus den Gelblöcken wurde zur Überprüfung auf ein Agarosegel aufgetragen. Bereits 3 µl DNA mit 1 µl Ladepuffer sind ausreichend, um sichtbare

Banden zu erhalten. Somit ist eine gute Qualität und Quantität der vorliegenden DNA für die Sequenzierung gewährleistet.

PCR Aufreinigung

Die amplifizierten PCR Produkte (zwei Replikationen pro Probe) wurden mit ExoSapIT® (USB Amersham, München) für das Sequenzieren aufgereinigt:

11 µl von dem PCR Produkt

0,75 µl ExoSapIT®

1,25 µl H₂O

werden vermischt und bei 37 °C für 40 min und bei 85 °C für 15 min inkubiert.

Sequenzierung

Die Sequenzierung bestimmt die Abfolge von Nukleotiden eines DNA-Abschnittes. Sie bietet die Möglichkeit, Basenpaarveränderungen zwischen den lockeren und kompakten Klonen zu identifizieren.

Die amplifizierten DNA-Fragmente (Tabelle 1) wurden in beiden Richtungen (3' und in 5') bei der University of Chicago, Cancer Center (USA) analysiert und mit der BioEdit Software ausgewertet (Hall 1999).

Die Entwicklung des SCAR Markers (Del1)

Zur Unterscheidung der lockeren und kompakten Rebklone wurde ein sequence characterized amplified region (SCAR) Marker (Del1, Tabelle 2) entwickelt. Das PCR Produkt des Markers sollte bei 162 bp für lockerbeerige und bei 166 bp für kompakte Klone ein Fragment aufweisen. Der SCAR Primer wurde mit der Software Primer3 Version 4.0 (Rozen & Skaletsky 2000, Abb. 12) entwickelt.

5'ATTCAGCCAGAGCCGATTACAATGACCTTACAAGCAAAATTTTCAAAATAAAGCAAATTA CAACTCAGATACTAGTGGCGGGTGGTAAAAGACCACCTCTGCCATGAAAAAG GGCCTCAA GAATAAGGGTCTCTGAATA GGGTACCCCTACCCCTACAAGGCCACATTGACAAATGCAAA TTTAAATGATCAGGGCTATTTCAAAAAAGGCCCTTCCT CGCTTTTCTTTTCTTTACCCAA GAAAAGGGCAA GA CTGACCCCAAGGACAACAGTATAT CCTCTAACAAGCTAAATTGGCC ATACTAATTCCTAACTTAGTATATATATATGATTTATCACCTAGCAAACCTATAGGTATT ATAGGAGTAGGAGCTCCAAAGCGTTTAGCGAACTGTGCTCCACTGAAGGTCTGGCCAAA GGACCAGTGAGCGGGACACAATTGTAGGAGACAATAGTGTGGCCATTACTGGTGGTGACC TTGAATGAGAGGCTCTGTCCATTAAGATAGGTGTTGCTCTGCCAGTTTGGCCCCAGTTC CTGGACATAGACTGCCAGCCAGTCCTTGACCC'3	bp 1- 60 61 - 120 121 - 180 181 - 240 241 - 300 301 - 360 361 - 420 421 - 480 481 - 540 541 - 571
--	---

Abbildung 12: SCAR Markerentwicklung. Die detektierte Sequenz zeigt grün markiert die Mutation für lockerbeerige Klone (4 bp Deletion und C/T SNP). Der forward Primer ist rot und der reverse Primer blau markiert. Die Produktgröße für Kompakt beträgt 166 bp und die für Locker 161 bp

PCR für die Entwicklung des SCAR Markers

Das Volumen der PCR ist auf 20 μ l ausgelegt, das aus 10 pM des IRDye-700 markierten (VBC-Biotech Services GmbH, Wien) und des unmarkierten Primers (VBC-Biotech Services GmbH, Wien), 0,2 mM dNTPs, 0,5 U *Taq* polymerase (High Fidelity, Fermentas, St Leon), 2 μ l 10 x PCR Puffer, 1,5 mM MgCl₂ (High Fidelity PCR Enzyme Mix, Fermentas, St Leon Rot) und 2 μ l template DNA besteht.

Folgendes PCR Programm wurde im Mastercylers (Eppendorf, Hamburg) eingesetzt:

1. Standarddenaturierung	94 °C	1 min
2. Denaturierung	94 °C	30 sec
3. Annealing	58 °C	45 sec
4. Primer Elongation	72 °C	45 sec
5. Abschließende Elongation	72 °C	10 min

Der erste und fünfte Schritt findet einmalig zu Beginn bzw. am Ende des Programms statt. Die Zyklen 2 bis 4 werden 29-mal wiederholt.

Zur Amplifikation wurde die PCR mit dem Licor-Ladepuffer 1:50 verdünnt und 1 μ l dieser Lösung wurde auf ein 8 % - iges PAGE Gel (19:1 Acrylamide/Bisacrylamide, 6,2 M Urea, 1 x TBE) an einem Li-Cor 4300 DNA Analyzer (Li-Cor, Nebraska, Bad Homburg) aufgetragen und mit der SAGA^{MX} Generation 2 AFLP version 3.3 Software (Li-Cor Biosciences, Bad Homburg) visualisiert. Die Laufbedingungen waren 40 W, 40 mA und 45 °C für 200 min. Das Amplifikationsprodukt zeigt eine Doppelbande, die einen 4 bp Unterschied aufweist. Zur Bestätigung des Ergebnisses wurde dieser Versuch in vierfacher Wiederholung durchgeführt.

Li-Cor Polyacrylamidgel (8 %) 12,6 Urea

3 ml 10 x Li-Cor TBE

8 ml Acrylamid (30%)

20 μ l TEMED

200 μ l Ammoniumpersulfat-Lösung (10 %)

Li-Cor Polyacrylamidgel (12 %) 12,6 Urea

3 ml 10 x Li-Cor TBE
12 ml Acrylamid (30%)
20 µl TEMED
200 µl Ammoniumpersulfat-Lösung (10 %)

Li-Cor 10 x TBE

107,8 g Tris
55 g Borsäure
7,4 g EDTA
Wasser war bis zu 1000 ml Lösung aufgefüllt

Leiter

50 -700 bp (Li-Cor Biosciences, Bad Homburg)

Ladepuffer

(Li-Cor Biosciences, Bad Homburg)

Laufpuffer

120 ml 1x TBE

Herstellung und Aufreinigung von Page Gelen (Polyacrylamidgel)

Eine kurze und eine lange Glasplatte werden gründlich mit Ethanol (70 %) gereinigt. Die Glasplatten werden durch den Spacer (0,75 mm) getrennt. Vorsichtig wird die Gelflüssigkeit zwischen die Glasplatten gespritzt und ein Kamm mit Zähnen eingesetzt. Beim Gießen sollten keine Luftblasen entstehen, da diese den geraden Lauf der DNA verhindern. Nachdem das Gel polymerisiert ist, können die Glasplatten in die Elektrophoresekammer eingespannt werden. Der TBE-Laufpuffer wird in die Behälter eingefüllt und die Elektroden angeschlossen. Der Kamm wird entfernt und ein 15 minütiger Vorlauf wird durchgeführt. Die Taschen werden gründlich gereinigt, damit ein gerader Lauf garantiert ist und das Überlaufen der Proben verhindert wird. Die PCR Produkte wurden mit dem Licor-Ladepuffer (Li-Cor Biosciences, Bad Homburg) versetzt, 5 min bei 96 °C denaturiert und sofort auf Eis abgekühlt. In jede Tasche wurde 1 µl Probenlösung pipettiert.

Visualisierung und Ausschneiden von Fragmenten

Die PCR wurde mehrmals wiederholt, und jede Probe wurde in sieben nebeneinander liegende Taschen auf ein 12 % iges PAGE 19:1 (Acrylamid/Bisacrylamid, 6,2 M urea and 1 x TBE) aufgetragen, an dem Li-Cor 4300 DNA Analyzer aufgetrennt und mit der SAGA^{MX} Generation 2 AFLP Version 3.3 Software (Li-Cor Biosciences, Bad Homburg) visualisiert. Die Platte wurde aus dem Li-Cor genommen und vorsichtig

getrennt, so dass das Gel auf einer Platte unbeschädigt blieb. Auf die Glasplatte wurde ein Folienraster gelegt und zusammen auf das Odyssey Infrared Imaging System Scanner (Li-Cor, Biosciences, Bad Homburg) gelegt. Die „interessanten“ Amplifikationsprodukte wurden auf der Rasterfolie markiert. Anschließend wurden die Fragmente mit Hilfe eines Skalpels aus dem Gel geschnitten.

Extraktion und Reinigung der amplifizierten Fragmente aus einem Polyacrylamidgel

Die aus dem Polyacrylamidgel ausgeschnittenen Amplifikationen wurden mit dem E.Z.N.A.[®] Poly-Gel DNA Extraktions Kit (Omega Bio-Tek, Doraville, USA) aufgereinigt:

- Das Gelstück auf einen sterilen Objektträger legen und mit einem zweiten sterilen Objektträger zerquetschen.
- Daraufhin das Gel in ein steriles Röhrchen füllen und 250 μ l Elution Puffer (Omega Bio-Tek, Doraville, USA) dazugeben.
- Das Fragment für 4 Stunden bei 65 °C im Puffer inkubieren.
- Danach das Gelstück und den Puffer auf einen grünen Poly-Gel Filter (Omega Bio-Tek, Doraville, USA), der auf einem sterilen 1,5 ml Röhrchen sitzt, geben und bei Raumtemperatur für 10 min bei 10000 g (Galaxy 14D VWR, Wien) zentrifugieren.
- Zu dem Eluat das 4,5 - bis 5 - fache des HB Puffers (Omega Bio-Tek, Doraville, USA) und 5 -10 μ g tRNA dazugeben.
- Ein blaues HiBind[®] DNA Röhrchen (Omega Bio-Tek, Doraville, USA) in ein steriles 2 ml Röhrchen stecken und 750 μ l von der Lösung hinein pipetieren und für 1 min bei Raumtemperatur bei 10000 g (Galaxy 14D VWR, Wien) zentrifugieren.
- Den Durchlauf verwerfen und die restliche Lösung auf das HiBind Röhrchen geben und zentrifugieren. Den Durchlauf erneut verwerfen.
- Auf das blaue Röhrchen wird 750 μ l DNA Wash Puffer (Omega Bio-Tek, Doraville, USA) gegeben und bei Raumtemperatur für 1 min bei 10000 g (Galaxy 14D VWR, Wien) zentrifugiert.
- Den Durchlauf verwerfen und das Röhrchen erneut für 2 min bei 10000 g (Ga-

laxy 14D VWR, Wien) zentrifugieren.

- Das blaue Röhrchen auf ein neues, steriles 1,5 ml Röhrchen setzen und 50 μ l steriles dH₂O auf das HiBind-Röhrchen geben und 1 min bei 10000 g (Galaxy 14D VWR, Wien) zentrifugieren.
- Die DNA bei – 20 °C im Gefrierschrank lagern.

Die extrahierte DNA wird, wie im Abschnitt Extraktion und Reinigung von amplifizierten Fragmenten aus einem Agarosegel, überprüft.

PCR der extrahierten DNA für die Sequenzierung

Für die PCR wurden 4 μ l der extrahierten Amplifikationsprodukte und ein unmarkiertes Primerpaar, Del1, eingesetzt (Tabelle 2). Alle anderen PCR Bedingungen sind, wie im Abschnitt, „PCR für die Entwicklung des SCAR Marker“ aufgeführt, unverändert. Die PCR wurde auf einem TBE-Agarosegel aufgetrennt und unter den selben Bedingungen, wie im Abschnitt „PCR für die Entwicklung des SCAR Marker“ beschrieben, durchgeführt. Nach der Kontrolle wurde die PCR mit ExoSapIT (USB Amersham, Uppsala, Schweden), wie zuvor beschrieben, ausgeführt und in 5' und 3' Richtung sequenziert (University of Chicago Cancer Centre, USA). Die Sequenzierungen wurden mit der Software BioEdit (Hall 1999) ausgewertet.

Die Entwicklung des Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) Markers

Das PCR Produkt des Markers ExpFI2 wurde hergestellt wie zuvor beschrieben. Anschließend wurde das PCR Produkt mit der Restriktionsendonuclease, *Sma*I, (Fermentas, St Léon Rot, Deutschland) geschnitten. Das Restriktionsenzym schneidet die detektierte Sequenz, die die Mutation der lockerbeerigen Genotypen aufweist, einmal. (Abb. 13).

5'attcagccagagccgattacaatgaccttacaagcaaaattttcaaaataaagcaaattacaactcagatactag	bp
3'taagtcgggtcgcgctaagtgtactggaatgttcgttttaaagttttatttcgtttaatgttgagtctatgatc	1 - 75
5'tggcgggtggtaaaagaccacctctgccatgaaaaagggcctcaagaataagggtctctgaatagggtacccta	76 - 150
3'accgcccaccattttctggtgagacggtaacttttcgaggtcttattccagagacttatcccatgggat	151- 225
5'cccctacaaggccacattgacaaatgcaaatttaaatgatacagggtatttcaaaaaagcccttcctcctttt	
3'gggatgttcgggtgtaactgtttacgtttaaatttaactagtcaggataaagtttttcgggaaggaggaaaa	226 - 300
5'ctttttttaccaagaaaagggaagactgaccccaaggacaacagtatatcctctaacaagctaattggcc	
3'gaaaagaaatgggttcctttccggtctgactgggggttcctgtgtcatataggagattgttcgatttaaccgg	
5'atactaattcctaaacttagtatatatatgatttatcacctagcaaaactataggattataggagtaggagct	301 -375
3'tatgattaaggatttgaatcatatatataactaaatagtgatcgtttgatatccataatacctcatcctcga	
5'ccaaagcgttttagcgaactgtgtccactgaagggtcggccaaaggaccagtgcgggacacaattgtaggag	376 - 450
3'ggtttcgcaaactcgtttgacacgaggtgacttccagaccggttctggtcactcgcctgtgttaacatcctc	
5'acaatagtgtggccattactggtggtgaccttgaatgagaggctgttcattaaagatagggtgtgtctgccag	451 - 525
3'tgttatcacacggtaatgaccactgaacttactctccgagacaggttaattctatccacaacgagacggtc	
5'tttggcccagttcctggacatagactgcagccagtccttgacc'3	526 to 572
3'aaaaccggggtaaggacctgtatctgacggtcggtcaggaactggg'5	

Abbildung 13: CAPS Markerentwicklung. Identifizierte Sequenz in Webcutter 2.0 (Heiman 1997). Die rot markierten Basenpaare sind die Schnittstelle der Restriktionsenzyme, grün die Mutation und blau der Primer ExpFI2.

Ausgeschlossen wurde, dass das Enzym *Sml* das Rebengenom an einer anderen Stelle im Genom schneidet und dadurch falsche Amplifikationsprodukte auf dem Gel erzeugt. Denn zuerst wurde das PCR Produkt hergestellt und anschließend mit *Sml* geschnitten.

Der Verdau war auf ein Volumen von 19 μ l ausgelegt:

- 10 μ l jeder Probe
- 50 mM Tris-HCL (pH 7,5)
- 10 mM $MgCl_2$,
- 100 mM NaCl
- 0,1 mg/ml BSA
- 10 U *Sml*

Diese Lösung wurde 2 Stunden bei 30 °C und 20 min bei 65 °C inkubiert. Die für den Verdau eingesetzten Chemikalien sind von Fermentas, St Léon Rot.

Anschließend wurde die verdaute PCR mit dem Licor-Ladepuffer 1:10 verdünnt und 1 μ l der Verdünnung auf das Polyacrylamidgel aufgetragen. Der Verdau wurde auf einem 12 % PAGE Gel (19:1 Acrylamid/Bisacrylamid, 6,2 M Urea, 1 x TBE) an einem Li-Cor 4300 DNA Analyzer (Li-Cor, Biosciences, USA) amplifiziert. Die Laufbedingungen waren 40 W, 40 mA, 40 °C für 200 Minuten. Visualisiert wurden die Amplifikationsprodukte mit der SAGA^{MX} Generation 2 AFLP Version 3.3 Software (Li-Cor, Nebraska, USA). Ausgeschnitten, aufgereinigt und sequenziert wurden die

Amplifikationsprodukte, wie bei der Entwicklung des SCAR Markers (Del1) beschrieben.

Sequenzierung und Analyse des Expansingen gekoppelten Locus

Ein nblast (Nukleotid Basic Local Alignment Search Tool) wurde mit der identifizierten Sequenz in der NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) durchgeführt um identische oder ähnliche Sequenzen zu finden, die vielleicht mit einem Gen gekoppelt sind. Die identifizierte Sequenz ist Teil des *Vitis vinifera* Genoms (Vitis Genome Project, Velasco et al. 2007, Jaillon et al. 2007, NCBI 01-2008) und stimmt mit dem Abschnitt AM482589 überein (Velasco et al. 2007, Jaillon et al. 2007, NCBI 01-2008). Die Sequenz ist ein Teil des Expansin Gens *Vlexp-1* (Ishimaru et al. 2003, 2007, NCBI 01-2008). Anschließend wurde ein tblast x in der NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) durchgeführt, um eine Übereinstimmung mit einem Protein aufzudecken. Die Position der Sequenz und die Identifizierung benachbarter Gene wurde mit der Datenbank softberry (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml>) herausgefunden. Hierfür wurde die Sequenz AM482589 analysiert. Der EST (Goes Da Silva, CF207762), auf dem unsere Sequenz basiert, wurde in Spider (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) auf Exon oder Introns untersucht. Um einen detaillierten Überblick zu bekommen, wurde die Sequenz AB10442 (Ishimaru et al. 2003, 2007, NCBI 01-2008) auf Exon und Introns untersucht.

SNP Genotyping

Mit dem CodeRed™ SNP Genotyping Kit können bekannte Substitutionen und Deletionen/Insertionen detektiert werden. Es basiert auf der SNaPIT™ Technologie, die auf einem Allel spezifischen Verdau basiert (Abb. 14).

Bei der PCR werden die normalen dNTPs (dGTP, dATP und dCTP) dazugegeben. Doch zusätzlich werden dUTP eingesetzt, die die dTTP während der PCR ersetzen. Der Diagnostik Primer (Fluoreszenz markiert) verbindet sich mit dem ersten dUTP und, je nachdem, welches Allel vorhanden ist, unterscheidet er sich in der Länge. Der Verdau des PCR Produktes findet mit dem Enzym Uracil-DNA-Glycosylase (UDG) statt. Das Enzym schneidet die PCR Produkte an der ersten Uracilbase. Die Verdauprodukte sind fluoreszenzmarkierte DNA Fragmente, die sich in der Größe je

nach anwesendem Allel unterscheiden.

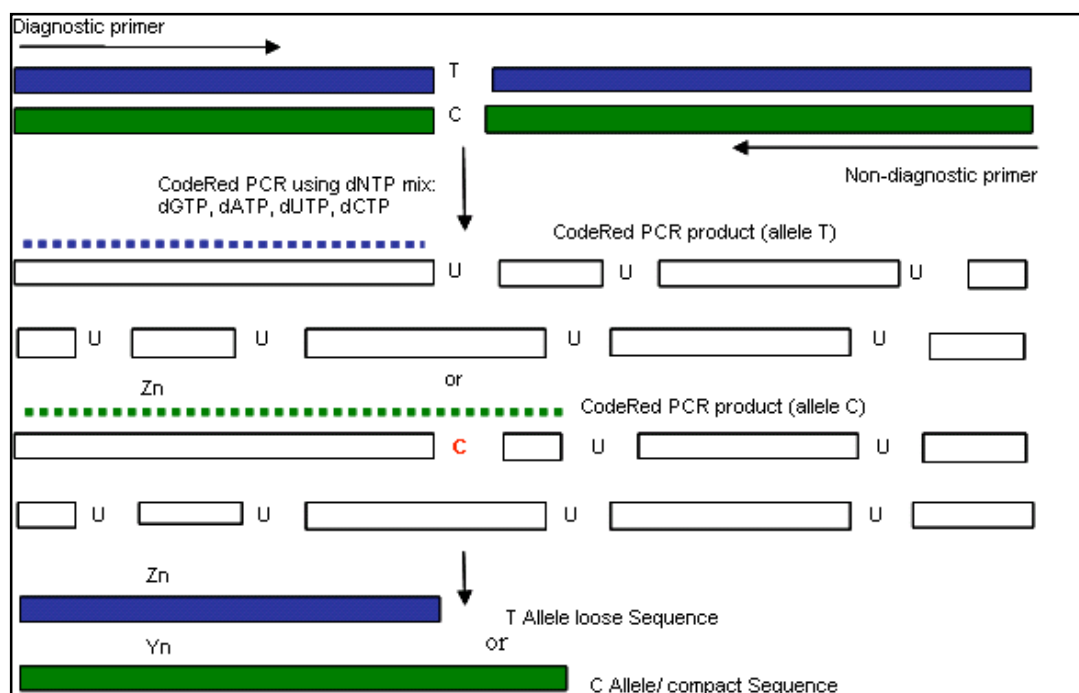


Abbildung 14: : CodRed™ SNP Genotyping Kit (Hoffmann et al. 2009)

Zur Detektion der C/T Mutation (Kompakt C, Locker T) wurden die Primer SNP1 und SNP2 (Tabelle 1, 2) (Fermentas, St. Léon-Rot) entwickelt. Der Primer SNP1 ist spezifisch für die Sequenz der kompakten Trauben, die keine 4 bp Deletion besitzen. Der Primer SNP2 ist spezifisch für die Sequenz der lockerbeerigen Trauben, die eine 4 bp Deletion aufweisen.

Die Reaktion der PCR ist auf ein Volumen von 20 μ l ausgelegt. Diese beinhaltet 10 pM jedes Primers (VBC-Biotech Services GmbH, Wien), 0,2 mM GAUC Mischung (CodeRed™ SNP Genotyping Kit, Fermentas St. Léon-Rot), 0,5 U Taq polymerase (Invitrogen, Karlsruhe), 20 mM Tris-HCL (pH 8,4), 50 mM KCl, 3 mM MgCl₂ und 1 μ l Template DNA.

Folgendes PCR Programm wurde im Mastercycler (Eppendorf, Hamburg) eingesetzt:

1. Standarddenaturierung	94 °C	3 min
2. Denaturierung	94 °C	20 sec
3. Annealing	53 °C	20 sec
4. Primer Elongation	72 °C	40 sec
5. Abschließende Elongation	72 °C	5 min

Der erste und fünfte Schritt findet einmalig zu Beginn bzw. am Ende des Programms statt. Die Zyklen 2 bis 4 werden 36 mal wiederholt.

Auf einem 1 %-tigen Agarosegel wurde das PCR Produkt an einer Gelelektrophorese aufgetrennt, um die Funktionstätigkeit der PCR zu kontrollieren. Die Laufbedingungen waren 120 V für 45 min.

Herstellung der SNP Genotyping Reaktion:

- 3,5 µl des PCR Produkts und 1 µl Exol (CodeREd™ SNP Genotyping Kit) invertieren und bei 37 °C für 30 min und 15 min bei 80°C inkubieren.
- 1 µl Uracil-DNA Glycosylase Enzym (CodeREd™ SNP Genotyping Kit) zu 10 µl der Reaktion hinzugeben, mischen und für 30 min bei 37 °C inkubieren.
- Anschließend 2 µl Cleavage Agent (CodeREd™ SNP Genotyping Kit) dazugegeben und 15 min bei 95 °C inkubieren.
- Die Proben 1:5 verdünnen, indem 2 µl Reaktion und 8 µl Rox Ladepuffer (CodeREd™ SNP Genotyping Kit) gemischt werden.
- Die Verdünnung auf einem Abi Prism 3100 Genetic Analyzer auftrennen und mit der Software® Genotyper 3.7 (Applied Biosystems, Forster City, USA) analysieren.

3.2 Feldexperiment 2006

Experimenteller Feldversuchaufbau

Der Freilandversuch wurde an zwei Orten (Geisenheim, Institut für Rebenzüchtung und Heppenheim Rebschule Antes) durchgeführt. An jedem Ort wurde der Versuch an zwei Weinstockreihen mit den Pinot noir Klonen (18 Gm und 1-84 Gm) erfasst. Je Klon wurden 3 bis 4 Infloreszenzen mit Gibberellin behandelt und unbehandelt (Kontrolle) ausgewertet, die randomisiert in der Reihe verteilt waren (SAS 9.2 ®SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Soweit wie möglich wurden die Rebstöcke am Anfang und Ende der Reihe aus dem Experiment ausgeschlossen (Abb. 15,16,17). In Geisenheim konnte bei dem Klon 18 Gm aufgrund der geringen Anzahl vorhandener Rebstöcke auf diese Pflanzen nicht verzichtet werden.

Auf die behandelten Infloreszenzen wurde zur Anthesis (BBCH 65) 20 mg/l GA₃ in Wasser gelöst, appliziert. Die Applikation wurde mit einer Sprühflasche per Hand auf die Gescheine ausgebracht, bis diese tropfnass waren. Um die GA₃ Wirkung nicht zu beeinträchtigen, wurde kein Netzmittel eingesetzt (Wünsche, persönliche Mitteilung). Ein identisches BBCH Stadium der Infloreszenzen an beiden Standorten war nicht möglich. An einem Standort variierte das BBCH Stadium gering (Tabelle 3). In Heppenheim wurde am 15. Juli 2006 von 5:45 Uhr bis 8:30 Uhr die Applikation von GA₃ durchgeführt, in Geisenheim am 16. Juli 2006 von 5:00 Uhr bis 6:30 Uhr (Abb. 32, 33, Anhang). Die Effektivität der GA₃-Applikation ist bei einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit und in den frühen Morgenstunden am höchsten (Schulz, persönliche Mitteilung).

Während der GA₃-Behandlung betrug die Temperatur 16,3 °C - 16,4 °C und die relative Luftfeuchtigkeit 77 % - 79 % am Standort Geisenheim und in Heppenheim war die Temperatur 20,7 °C - 24,6 °C und die relative Luftfeuchtigkeit 61 % - 69 % (Abb. 32, 33). Die Temperatur während der Applikation war am Standort Heppenheim um 4,3 °C - 8,3 °C höher als am Standort Geisenheim. Die Windgeschwindigkeit lag in Geisenheim bei 5,1 - 5,3 m/s und in Heppenheim bei 0,2 - 0,3 m/s (Deutscher Wetterdienst 2006). Am Tag der Behandlung gab es um 17:30 Uhr einen Niederschlag von 0,1 mm am Standort Heppenheim (Abb. 33).

Pflanzenmaterial

Die hormonellen und phänologischen Untersuchungen wurden an 120 Rebstöcken der Klone 1-84 Gm (lockerbeerig) und 18 Gm (kompakt) durchgeführt. Am Standort Heppenheim sind die Reben des Klons 1-84 Gm, Pflanzjahr 1998, auf sandigem Lehm und die des Klons 18 Gm, Pflanzjahr 1986/87, auf Lehm gepflanzt. In Geisenheim wurden die Reben beider Klone, Pflanzjahr 1995, auf Lehm-Lösboden angepflanzt. In Geisenheim wurde Vorstufenmaterial und in Heppenheim zertifiziertes Pflanzgut verwendet. Die Edelreiser beider Standorte stammen von der Forschungsanstalt Geisenheim und sind auf die Unterlage cv. *Börner* gepfropft. Allgemeine Weinbauarbeiten, Pflanzenschutz und die Ausbringung von Düngemitteln wurde an beiden Standorten durchgeführt.

Feldplan

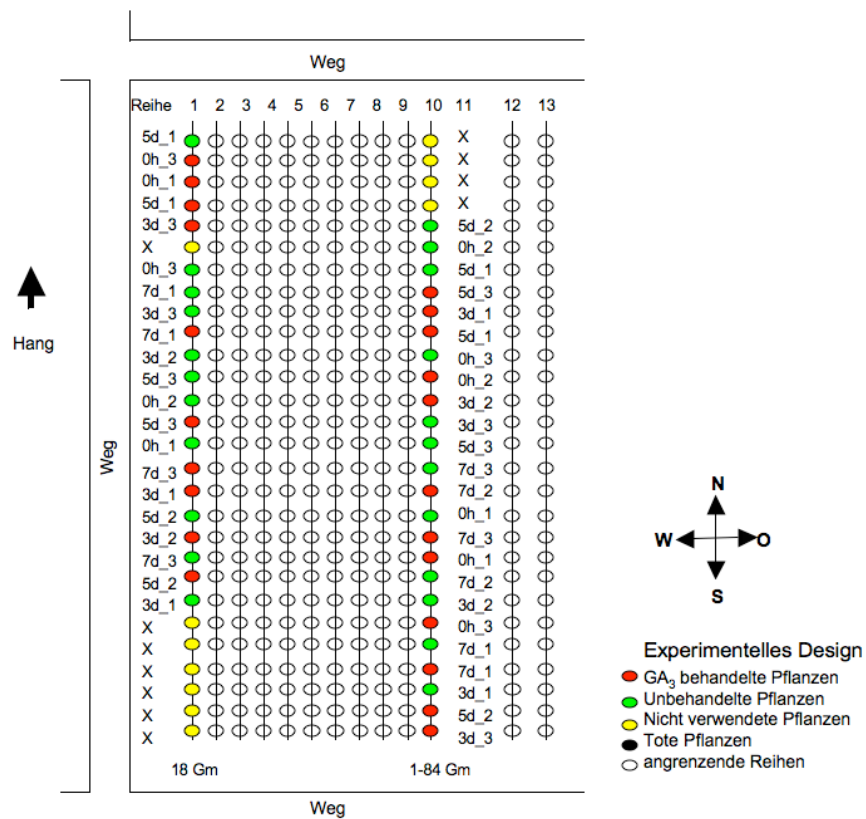


Abbildung 15: Feldversuch am Standort Geisenheim. Zahlen neben den Pflanzen: Zeitpunkt der Probenahme für die Hormonanalyse und die Wiederholung (h = Stunden; d = Tage nach der Gibberellinapplikation; _1-3 = Wiederholung)

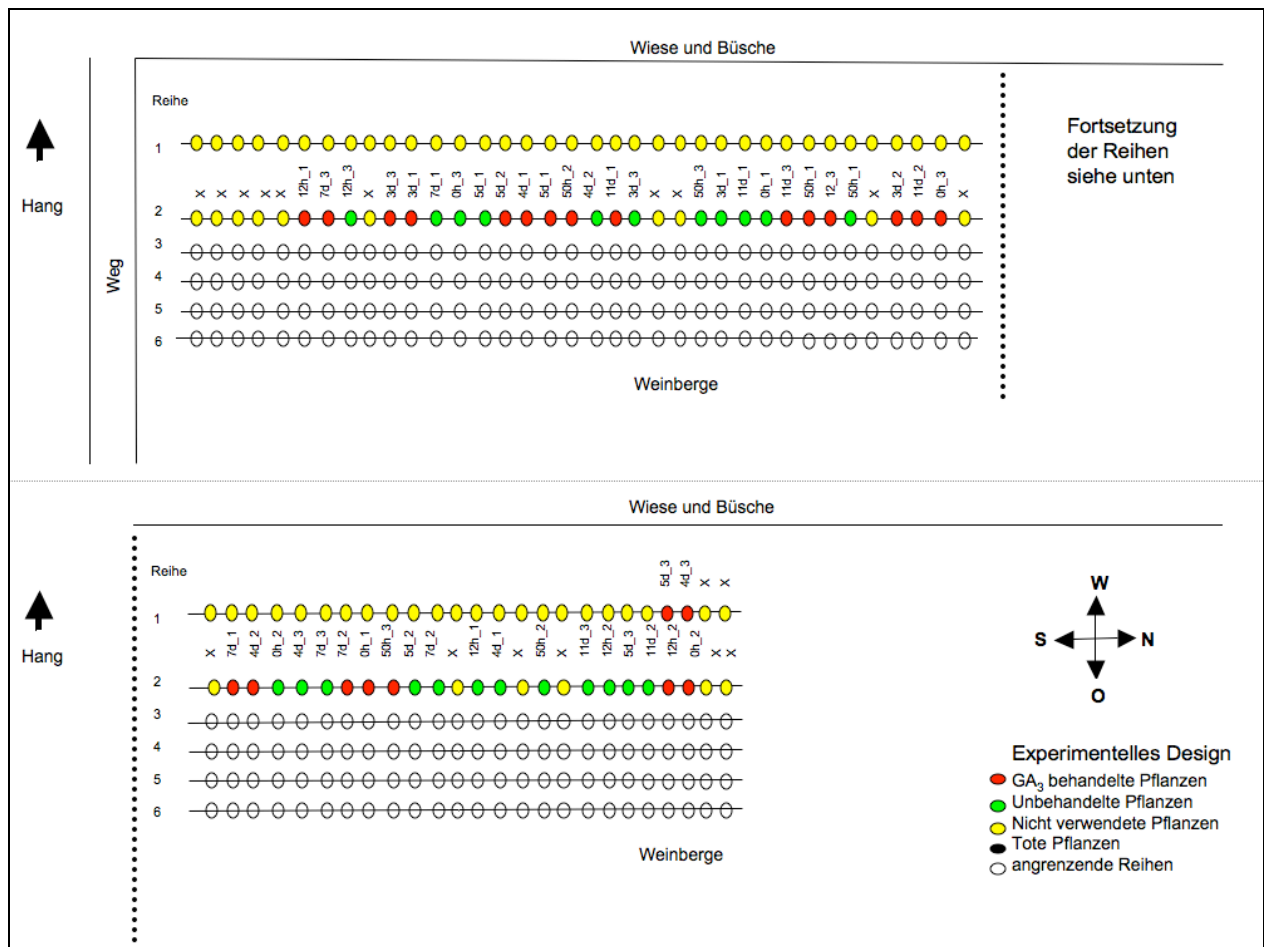


Abbildung 16: Feldversuch am Standort Heppenheim Klon 1-84 Gm. Zahlen neben den Pflanzen: Zeitpunkt der Probenahme für die Hormonanalyse und die Wiederholung (h = Stunden; d = Tage nach der Gibberellinapplikation; _1-3 = Wiederholung)

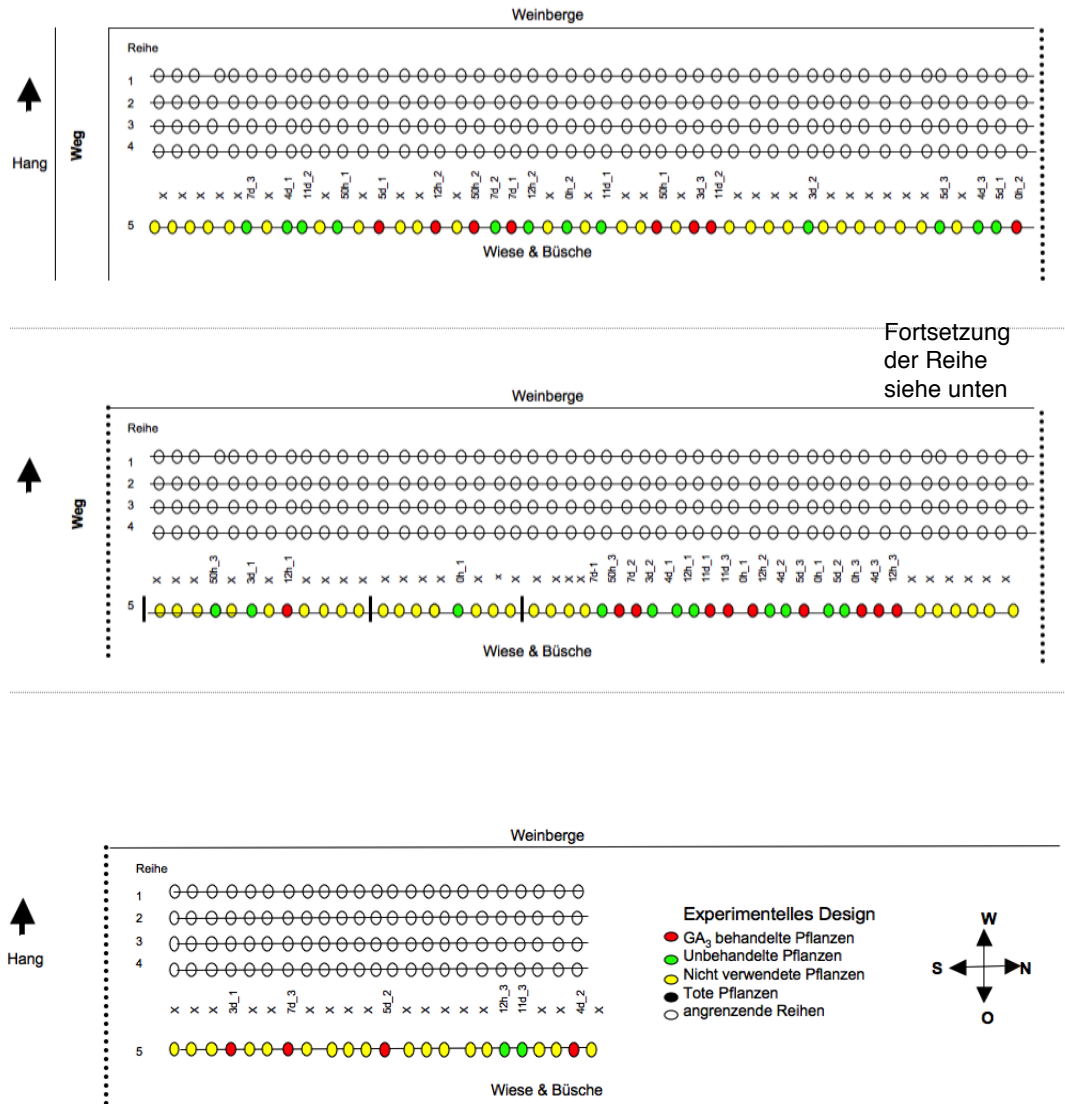


Abbildung 17: Feldversuch am Standort Heppenheim Klon 18 Gm. Zahlen neben den Pflanzen: Zeitpunkt der Probenahme für die Hormonanalyse und die Wiederholung (h = Stunden; d = Tage nach der Gibberellinapplikation; _1-3 = Wiederholung)

3.3 Hormonanalysen

Aufgrund bisheriger Versuchsergebnisse wurden pro Ort die Proben vor der Behandlung und zu vier späteren Terminen genommen (Bangerth, persönliche Mitteilung, Tabelle 3). Zusätzlich wurde am Standort Heppenheim 12 und 50 Stunden, vier und elf Tage nach der GA₃-Applikation Proben genommen (Bangerth, persönliche Mitteilung, Tabelle 3). Es wurde das zweite Geschein, ausgehend von der Triebspitze gesammelt, um ein ähnliches Entwicklungsstadium der Gescheine garantieren zu können (Rühl, persönliche Mitteilung). Pro Versuchsvariante wurden drei Proben je Termin analysiert um eine fundierte statistische Auswertung zu erhalten (Wünsche & Hegele, persönliche Mitteilung). Zuerst wurden die Proben des Klons 18 Gm und anschließend die des Klones 1-84 Gm gesammelt. Die Infloreszenz wurde mit einer Schere abgeschnitten und in Alufolie eingepackt. Sofort wurden die Proben in flüssigem Stickstoff schockgefroren, auf Trockeneis transportiert und bei -30 °C lichtgeschützt gelagert.

Tabelle 3: Überblick über die Versuchsdurchführung, den Entwicklungszustand und die klimatischen Bedingungen.

Standort	Probenahme				Klimabedingungen		
	Termin	Zeitpunkt nach der GA ₃ Behandlung	Datum der Probenahme	Probenahme Uhrzeit	Klon	BCH Stadium	Temperatur [°C] Tagesmitteltemperatur am Tag vor der Probenahme [°C]
Geisenheim	1	0 h	16.6.2006	5:00 - 6:30	18 Gm	65	16,38
					1-84 Gm	63-65	24,26
	2	3 d	19.6.2006	6:30 - 7:15	18 Gm	69	19,67
					1-84 Gm	65-69	22,01
	3	5 d	21.6.2006	11:00 - 12:20	18 Gm	71-73	24,58
					1-84 Gm	69-73	20,96
	4	7 d	23.6.2006	7:40 - 8:45	18 Gm	73	15,53
					1-84 Gm	73	18,00
Heppenheim	1	0 h	15.6.2006	5:45 - 8:00	18 Gm	65	21,82
					1-84 Gm	63-65	26,04
	2	12 h	15.6.2006	18:30 - 20:00	18 Gm	65	24,63
					1-84 Gm	63-65	26,04
	3	50 h	17.6.2006	8:45 - 10:30	18 Gm	67	19,26
					1-84 Gm	65-68	20,17
	4	3 d	18.6.2006	8:30 - 10:05	18 Gm	71	23,50
					1-84 Gm	65-69	19,23
	5	4 d	19.6.2006	11:45 - 13:10	18 Gm	65-69	29,04
					1-84 Gm	69-71	23,72
	6	5 d	20.6.2006	13:40 - 15:05	18 Gm	71	24,50
					1-84 Gm	71-73	23,16
	7	7 d	22.6.2006	9:25 - 10:55	18 Gm	73	18,65
					1-84 Gm	71-73	22,75
	8	11 d	26.6.2006	11:35 - 14:00	18 Gm	73	23,40
					1-84 Gm	73	24,66

Klimatischen Bedingungen beruhen auf den Angaben des Deutschen Wetterdienstes (2006)

Lyophilisation

Die gefrorenen Proben wurden 5 Tage lang gefriergetrocknet. Bis zum vierten Tag wurde die Temperatur, ausgehend von -20 °C, täglich um 10 °C erhöht. Am vierten Tag wurde die Temperatur auf 25 °C erhöht. Die gefriergetrockneten Proben wurden bis zur weiteren Verwendung bei -30 °C gelagert.

Extraktion

Die gefriergetrockneten Proben (300g) wurden in flüssigem Stickstoff gemörsert und homogenisiert. Die Probe wurde für 16 Stunden mit 50 ml kaltem Methanol (80%) bei 4 °C extrahiert. Der Extrakt wurde durch ein G4-Glasfilter (max. Porengröße von 10-16 µm, Schott, Mainz) filtriert. Anschließend wurde das Methanol beseitigt und das Extrakt unter Vakuum bei 40 °C in einem Evaporator getrocknet und in einem Ultraschallbad dreimal in 4 ml 0,01 M Ammoniumacetat (pH 7,5) gelöst. Über Nacht wurde der Extrakt bei -20 °C gefroren. Der Extrakt wurde in warmem Wasser erwärmt und bei 4 °C mit 22.000 rpm (Suprafuge 22, Heraeus Sepatech) für 25 min zentrifugiert. Der Überstand wurde bis zur weiteren Analyse dunkel gestellt und das Pellet verworfen. Er wurde durch ein Säulensystem filtriert, das aus einem Polyvinylpyrrolidon-Säulchen (PVP, Sigma-Aldrich GmbH, Deisenhofen), einem DEAE-Sephadex-Säulchen A-25 (Pharmacia, Freiburg) und einem C₁₈ SEP-PAK-Säulchen (Waters, Eschborn) besteht. Die detaillierte Aufbereitung des Säulensystems ist nach Bertling & Bangerth (1995) durchgeführt worden. Danach wurde der Überstand in die PVP-Säule eingefüllt und dreimal mit 10 ml Essigsäure (pH 7,5) eluiert. Die PVP-Säulchen binden die phenolischen Verbindungen. Die Hormone (ABA, IAA, GAs) sind an das anionische DEAE-Sephadex-Säulchen gebunden. Der Filter wurde ersetzt und zum zweiten Mal aufbereitet. GAs wurden von der Sephadex-Säule in die SEP-PAK-Säule mit 15 ml 0,74 M Essigsäure eluiert. Daraufhin wurde der Filter erneut ersetzt, aufbereitet und IAA wurde von der Sephadex-Säule in die SEP-PAK-Säule mit 10 ml 2,0 M Essigsäure eluiert. Danach wurde das Säulchen mit 4 ml 0,1 M Essigsäure gewaschen. Aus dem Sep-Pak-Säulchen wird mit 4 ml Methanol (40%) IAA und mit 4 ml Methanol (65%) GA eluiert. Über Nacht wurde das Aliquot unter Vakuum mit dem Kondensator verdampft. Der Hormongehalt der Infloreszenzen wurde mit der RIA-Methode analysiert. Steiner (2007) entwickelte die RIA-Methode für die

Untersuchung an Infloreszenzen. Sie bestimmte für das Hormon Auxin ein Aliquot von 1 ml. Bei dem Hormon GA wurde für die unbehandelten Pflanzen ein Aliquot von 0,2 ml bestimmt (Steiner 2007). Für die GA₃ behandelten Proben wurde anstelle von 4 ml mit 6 ml Methanol (65%) das GA aus dem Sep-Pack-Säulchen eluiert (Steiner 2007) um ein Aliquot von 1 µl zur weiteren Bestimmung einsetzen zu können (Steiner 2007).

Quantifizierung von IAA und GA

Mit Hilfe von Polyklonalen Antikörpern wurde die quantitative Analyse der freien IAA und GAs durch das Radioimmunoassays (RIA) bestimmt (Jiménez et al. 2001). Die verwendeten Antikörper wurden gegenüber freien IAA und GA₃ gebildet. Nach Weiler (1980, 1981) wurde die Antikörper hergestellt und die Quantifizierung nach Bohner & Bangerth (1988) durchgeführt. Die RIA-Methode beruht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Eine konstante Menge eines radioaktiv markierten Antigens (3H-IAA) für IAA und (GA₁) für GA konkurriert mit einer unbekannten Menge des natürlichen Hormons (IAA, GA) um eine definierte Anzahl von Bindungsstellen spezifischer Antikörper in der Probe (Bangerth, persönliche Mitteilung, Steiner 2007). Ausgehend von der im Antigen-Antikörperkomplex gebundenen Radioaktivität kann anhand einer Eichkurve auf die Hormonkonzentration der Probe geschlossen werden. Die durchschnittliche Wiederfindungsrate von freien IAA liegt bei 40% - 70% und höher als 89% für GA. Die Kreuzreaktion von GA₃ Antikörpern mit GA₁ und GA₂₀ ist ca. 90% (Bertling & Bangerth 1995), daher werden die drei Gibberelline im folgenden Text als GAs bezeichnet.

Aufbereitung der Proben durch RIA – Analyse

Das Radioimmunoassay wurde nach dem Protokoll von Bangerth & Bohner (1988) durchgeführt. Die Fraktion von freien IAA und GA ist methyliert mit 50 µl Diazomethan pro Aliquot für 30 min. Anschließend werden 250 µl RIA-Puffer (0,76 g KH₂PO₄, 1,45 g K₂HPO₄, 17,33 g NaCl in 2 ml destillierten Wasser gelöst) dazugegeben.

Das Pellet wurde in 50 µl Serum (1 bovin-serum: 10 RIA-Puffer (v7v)), im Tracer (Methanol) und dem Antikörper (B₀-Konzentration ist die Hälfte zu T-Konzentration) unter Schütteln gelöst.

Zur Kontrolle wurde der Tracer (T), Tracer + Serum (N = nicht spezifisch gebunden) und Tracer + Serum + Antikörper (B_0 = max. Bindung) in dreifacher Wiederholung untersucht. Die B_0 und N Probe werden wie die anderen Proben gehandhabt.

Die Proben wurden geschüttelt und für 30 min inkubiert. Die Lösung wurde mit 750 µl kaltem $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ (90%) gefällt. Die Proben wurden für 30 min inkubiert und für 40 min bei 20 °C und 4000 rpm (Megafuge 1.0 R, Heraeus Instruments, Hanau) zentrifugiert. Der wässrige Überstand wurde verworfen. Das ausgefällte Protein wurde mit 750 µl kaltem $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ (50%) versetzt und für 30 min bei 4000 rpm (Megafuge 1.0 R, Heraeus Instruments, Hanau) zentrifugiert. Das Pellet wurde in 200 µl destilliertem Wasser gelöst und 2 ml Quickzint 2000 (Zinsser Analytic, Frankfurt a. M.) dazugegeben. Die Radioaktivität wurde im flüssigen Liquid-Scintillator-Counter PW4700 (Philips, Eindhoven) gemessen. Die Hormonkonzentration wurde anhand der gemessenen Radioaktivität im Vergleich zur Eichkurve des Nuclear Interace Program (1982/1993) bestimmt. Die erhaltenen Werte wurden anhand eines Mittelwertes von drei Wiederholungen bestimmt.

3.4 Morphologische Untersuchungen

Das experimentelle Design des Versuchs ist vorab beschrieben (Abb. 15, 16, 17). Am Ort Geisenheim werden die behandelten und unbehandelten Pflanzen 0_1 Stunden, 3_1, 5_1 und 7_1 Tage (Tabelle 4, Abb. 13) und in Heppenheim die behandelten und unbehandelten Rebstöcke 0_1 Stunden, 3_1, 11_1 Tage (Abb. 16, 17) verwendet.

1. Erhebung der Infloreszenz- und Stielchenlänge

Pro Pflanze wurden 3 Infloreszenzen sowie 5 Stielchen pro Infloreszenz gemessen. Außerdem wurden die Messungen vor der Behandlung und zu vier späteren Terminen wiederholt (Tabelle 4). Bei der Bonitur wurden die Infloreszenzen mit einem Lineal von der Spitze bis zum ersten Internodium gemessen. Die Stielchen wurden mit einer Schieblehre vermessen.

2. Herbstausswertung (Zeitpunkt der Ernte)

Pro Rebstock wurden 3 oder 4 Trauben geerntet und zur Auswertung der Herbstdaten verwendet.

2.1 Beerenanzahl und Beerengewicht

Bei der Ernte wurde die Beerenanzahl der bonitierten Infloreszenzen gezählt und die Beeren pro Traube gewogen.

2.2 Traubengewicht

Zum Zeitpunkt der Ernte wurde die ganze Traube (Beeren, Stiel, Stielgerüst) gewogen.

2.3 Stielgerüslänge, Traubenlänge und Stiellänge

Die Traubenlänge (Beeren und Stielgerüst), Stiellänge und Stielgerüslänge (ohne Beeren) wurde mit einem Lineal bestimmt.

Tabelle 4: Pflanzenmaterial und Entwicklungsstadium

Standort	Bonitur				
	Datum	bonitierte Pflanzen (wh)		Klon	BBCH Stadium
		Behandelt	unbehandelt		
Geisenheim	15.06.2006	0h_1	0h_1	1-84 Gm	63 – 65
	21.06.2006	3d_1	3d_1		69 – 71
	28.06.2006	5d_1	5d_1		71 - 75
	04.07.2006	7d_1	7d_1		73
	13.07.2006				77
	15.06.2006	0h_1	0h_1	18 Gm	65
	21.06.2006	3d_1	3d_1		71
	28.06.2006	5d_1	5d_1		73 - 75
	04.07.2006	7d_1	7d_1		75 - 77
	13.07.2006				79 - Traubenschluss
Heppenheim	14.06.2006			1-84 Gm	63 - 65
	20.06.2006	50h_1	50h_1		71 - 73
	26.06.2006	4d_1	4d_1		73
	03.07.2006	11d_1	11d_1		75+
	10.07.2006				77
	14.06.2006			18 Gm	65
	20.06.2006	50h_1	50h_1		71
	26.06.2006	4d_1	4d_1		73
	03.07.2006	11d_1	11d_1		77
	10.07.2006				77 - 79

3.5 Statistische Auswertung

Die Auswertung erfolgte mit den SAS-Prozeduren PROC MIXED und PROC REG (SAS 9.2 ©SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Signifikanztests der festen Effekte wurden mit dem F-Test durchgeführt, wobei zur Bestimmung der Freiheitsgrade die Methode nach Kenward-Roger (1997) verwendet wurde. Bei dem Modell für die Infloreszenz und Stielchenlänge wurde der erste Termin als Kovariable verwendet, zwischen den folgenden Messungen wurde eine Autokorrelation der Restfehler angenommen, obwohl die zeitlichen Messabstände nicht ganz äquidistant waren. Andere räumliche Korrelationsstrukturen führten nach dem AIC-Wert (Akaike 1974) zu schlechteren Modellanpassungen. Paarweise Vergleiche wurden bei signifikantem F-Test mit einem einfachen T-Test durchgeführt. Bei nicht gegebener Varianzhomogenität wurden die Daten vorab logarithmiert, um Varianzhomogenität zu erhalten. Zur Illustration der Daten wurden die Mittelwerte zurück transformiert.

Modell in der Syntax nach Patterson (1997):

Hormonanalysen:

t + beh + t*beh

Herbstdatenauswertung:

beh + g + g*beh + o + g*o : o*beh + g*o*beh + w*g*o*beh

Stielchenlänge:

o + t + beh*t + beh + g*beh*t + beh*g + g*beh*t + g + g*t + anfang + t*o + g*o + beh*g*o + beh*o : t*beh + g*t + g*t*beh + t*pfl*beh*g*o + t*pfl*beh*g*o*geschein + t*stielchen*pfl*beh*g*o*geschein

Gescheinlänge:

o + t + beh*t + beh + g*beh*t + beh*g + g*beh*t + g + g*t + anfang + t*o + g*o + beh*g*o + beh*o : t*beh + g*t + g*t*beh + t*pfl*beh*g*o + t*pfl*beh*g*o*geschein

4. Ergebnisse

4.1 Genetische Analyse

Eine Transition (C/T SNP) und/oder eine Deletion

Vierzehn Pinot noir Klone (locker und kompakt) wurden mit dem Marker ExpFI2 getestet (Tabelle 1). Abbildung 18 zeigt einen Ausschnitt aus dem Sequenzabgleich bei dem Unterschiede zwischen lockerbeerigen und den kompakten Klonen gefunden wurden. Alle lockerbeerigen Pinot noir Klone zeigten eine C/T Transition (231 bp) und eine 4 bp Deletion bei 219 bis 222 bp. (Abb. 18, Anhang Abb. 31). Anstelle der Deletion weisen die kompakten Pinot noir, gris, blanc und meunier Klone eine Insertion mit der Sequenz „CCCT“ auf und bei 231 bp eine Cytosinbase (Abb. 18, Anhang Abb. 32). Zusätzlich zu den Pinot ssp. Klonen zeigt der kleinbeerige Klon 20-13 Gm und der Chardonnay Klon 1 Gm die 4 bp Deletion und C/T Transition (Anhang Abb. 32). Der Klon 105 S hingegen besitzt die Insertion und die Cytosinbase (Anhang Abb. 32). Phänotypisch zeigt dieser Klon jahresabhängig eine lockere oder kompakte Traubenarchitektur (mündliche Mitteilung Forneck). Andere untersuchten Sorten, wie die Tafeltrauben *V. vinifera* cv. Cardinal und Weißer Gutedel besitzen bei 219-222 bp die Insertion „CCCT“ und anstelle der C/T Transition bei 231 bp eine 1 bp Deletion (Anhang Abb. 32). Zusätzlich weist die Sorte Weißer Gutedel eine C/T Transition bei 236 bp auf (Anhang Abb. 32). Zur Kontrolle der Ergebnisse sind die Klone mindestens zweimal analysiert worden.

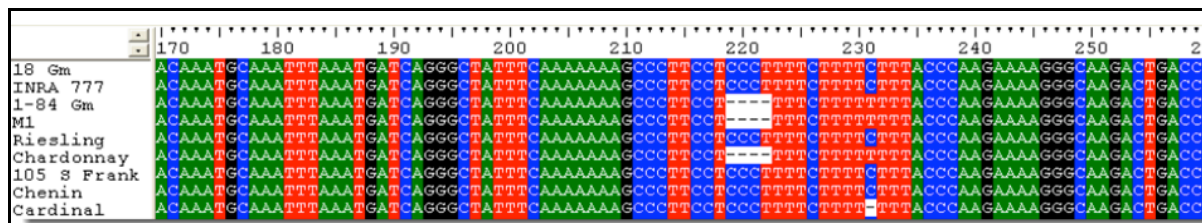


Abbildung 18: Ausschnitt aus dem Sequenzabgleich des Markers ExpFI2. Sequenzunterschiede bei den lockerbeerigen und der kompakten Klonen.

Entwicklung des CAPS und des SCAR Markers für die SNP/Indel Detektion

Der SNP/indel Marker ExpFI2 (Tabelle 2) identifiziert anhand einer PCR und einer Sequenzierung die C/T Transition (231 bp) und eine 4 bp Deletion (219 bis 222 bp) für lockerbeerige Phänotypen im Vergleich zu den kompakten Phänotypen. Für den Einsatz in der Züchtung sollte ein Marker zur Differenzierung von locker und kompakt anhand einer PCR entwickelt werden.

Zur Entwicklung eines C/T SNP Markers wurde das CodeRed™ SNP Genotyping Kit (Fermentas, St Léon Rot, Deutschland) an einer Auswahl von Klonen (We M 848, We M 242, 1-1 Gm, Fr 13 L, 18 Gm, 20 Gm, 2-53, WVWL33, Abb.19) eingesetzt. Zur Detektion der Sequenz mit der 4 bp Deletion wurde der Marker SNP2 und zur Identifikation der Sequenz ohne Deletion der Marker SNP1 eingesetzt (Tabelle 2, Abb.19). Der Marker SNP2 zeigte einen Peak bei 22 bp (T "Allel", Abb. 19) für den lockerbeerigen Phänotypen und der Marker SNP1 identifiziert einen Peak bei 25 bp (C "Allel", Abb. 17) für den kompakten Phänotypen. Der Rest der Peaks sind Fehlinformationen (Primer dimer), die von dem Abi Prism detektiert wurden (Abb.19).

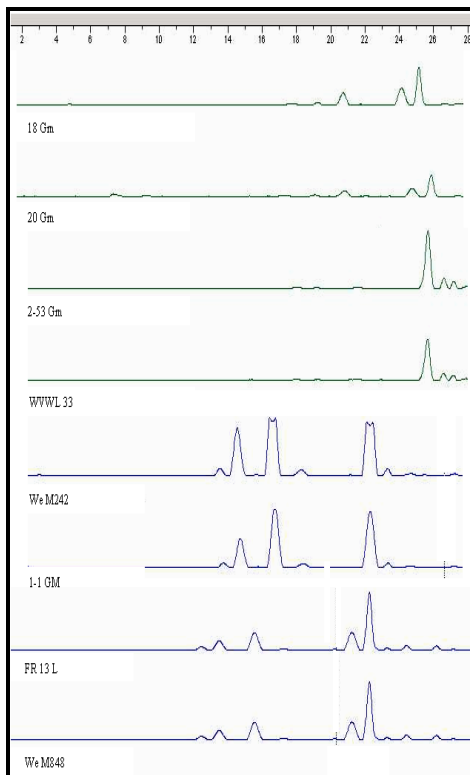


Abbildung 19: Detektion von SNP spezifischen DNA Fragmenten mit dem SNP Marker 1 für kompakte (Peak 22 bp) und mit dem SNP2 Marker für lockerbeerige Phänotypen (Peak 25 bp) mit dem Abi-Prism. Lockerbeerige Klone (We M848; We M242, 1-1 Gm; Fr 13 L), kompakten Klone (18 Gm; 20Gm; 2-53; WVWL 33)

Der Einsatz von SNP Markern erfordert Informationen über die Mutation. Dem entsprechend wird der Marker SNP1 oder SNP2 eingesetzt. Um diese Prozedur und den Einsatz des teuren Equipment zu vermeiden, ist der CAPS Marker entwickelt worden. Der CAPS Marker besteht aus dem ExpFI2 Marker, den das Restriktionsenzym (*SmiI*) schneidet. Für lockerbeerige Klone sollte ein Fragment bei 283 bp und für kompakte Klone bei 287 bp auftreten. Ein SCAR Marker (Del1) wurde konstruiert, der ein Fragment für lockerbeerige Klone bei 162 bp und ein Fragment für kompakte Klone bei 166 bp aufweist. Doch beide Marker amplifizieren beide PCR Fragmente. Somit kann mit dem Einsatz von einem SCAR und einem CAPS Marker nicht zwischen locker und kompakt unterschieden werden.

Heterozygotes Merkmal

Der SCAR Marker (Del1) sollte ein Fragment für lockerbeerige Klone bei 162 bp und ein Fragment für kompakte Klone bei 166 bp amplifizieren. Bei allen untersuchten Pinot noir Genotypen (Abb. 20) sind zwei Fragmente (162 bp, 166 bp) identifiziert, was auf ein heterozygotes Merkmal schließen lässt (Abb. 20).

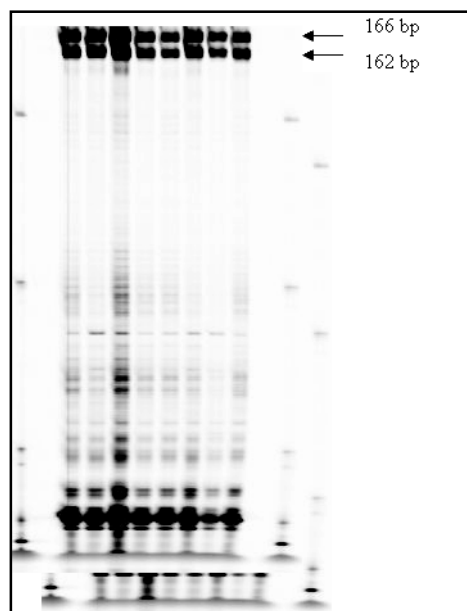
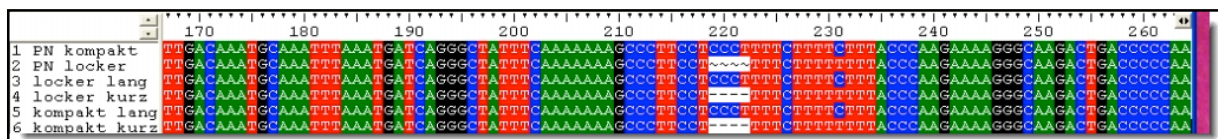


Abbildung 20: Nachweis von jeweils zwei Amplifikationsfragmenten (166bp, 162 bp) bei den lockeren und den kompakten Klonen mit dem SCAR Marker Del1. Die Gelelektrophorese Auftrennung zeigt ein Fragment bei 162 bp für den lockerbeerigen und ein Fragment bei 166 bp für den kompakten Phänotypen. Die ersten drei Klone sind lockerbeerig (M1, 1-84 Gm, 1-44 Gm, M242) und die folgenden kompakt (18 Gm, 20 Gm, INRA 777, WVWL 33).

Ergebnisse

Ebenso zeigte der CAPS (ExpFI2) Marker ein Fragment bei 283 bp für lockerbeerige Klone und ein PCR Produkt bei 287 bp für die kompakten Klone. In allen analysierten Pinot noir Klonen sind zwei Fragmente amplifiziert worden (283 bp, 287 bp). Die sequenzierten Amplifikationsprodukte beider Marker (SCAR, CAPS) stimmen mit der lockerbeerigen Sequenz bei 283 bp, 162 bp und mit der kompakten Sequenz bei 287 bp und 166 bp überein (Abb. 21).

Abbildung 21: Ausschnitt aus der Kontrollsequenz des Markers ExpFI2 mit der Sequenz des SCAR Markers Del1. Der lockere und kompakte Klon zeigte zwei Fragmente. Das kürzere Amplifikationsprodukt zeigt die Mutation, der lockerbeerigen Klone (4 bp indel, C/T Transition). Das



längere amplifizierte Produkt entspricht den kompakten Klonen. Die Sequenzen 3 bis 6 sind die sequenzierten amplifizierten Produkte, die Sequenzen 1 und 2 die Kontrollsequenzen.

Im nächsten Schritt ist der SCAR Marker (Del1) nach Colmar geschickt worden und an einer Pinot noir Population getestet und kartiert worden. Der Locus für Lockerbeerigkeit liegt 10 cM entfernt von dem Marker VVlb09 (Pelsy, persönliche Mitteilung.), der auf der Koppelungsgruppe 17 liegt (Doligez 2006, Pelsy, persönliche Mitteilung).

Expansin-Gen gekoppelter Polymorphismus

Ein Sequenzabgleich wurde mit dem SNP/InDel Sequenzabschnitt in der NCBI durchgeführt. Diese zeigte eine 100 % - ige Übereinstimmung mit der Sequenz AM482589 des Pinot noir Klons ENTAV 115 (NCBI 1-2008, Tabelle 5). Zu 98 % stimmt diese mit der Sequenz AB104442 überein (NCBI 1-2008, Tabelle 5). Der Mutationsabschnitt läßt sich dem Expansin-Gen, *Vlexp-1*, das zur Gruppe der α -Expansine gehört, zuordnen.

Weitere in silico Analysen zeigten, dass die Mutation in einem Exon liegt. Das Exon geht von 30 bp bis 609 bp. Um das Ende des Exons zu finden, wurde die Sequenz AB104442, die 1245 bp lang ist, für weitere in silico Analysen verwendet. Durch einen Sequenzabgleich von AM482589 und AB10442 in Spider (NCBI) konnte das Ende des Exons, sowie drei weitere Exons detektiert werden (Abb. 22).

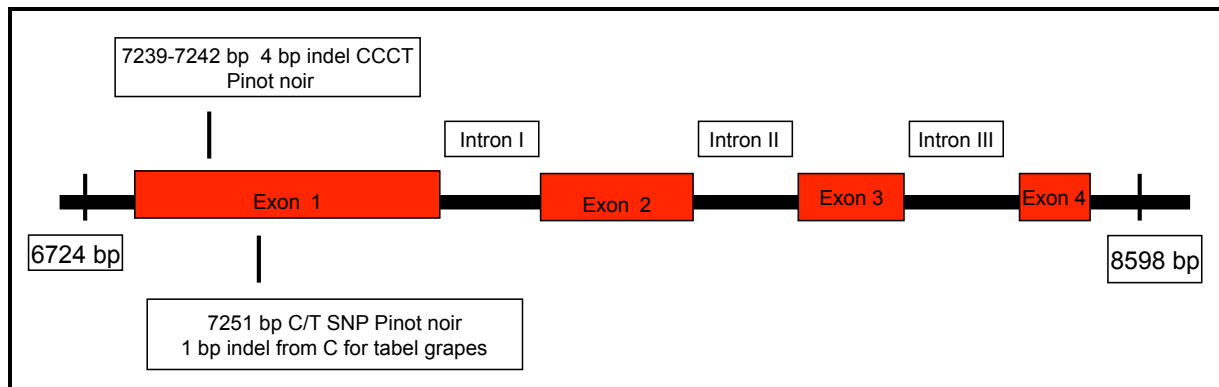


Abbildung 22: Exon/Intron Darstellung. (Spider NCBI 01-2008)

Tabelle: 5 Exon Position auf der Sequenz AM482589 und der mRNA Ebene (Spider NCBI 01-2008).

Exon	Sequenz bp	mRNA bp	Länge bp	Identität
Exon 1	6724-7513	1-789	789	99,2 %
Exon 2	7877-8186	790-1099	310	99,7 %
Exon 3	8298-8423	1100-1225	126	100 %
Exon 4	8541-8598	1226-1283	58	100 %

Sieben Gene sind in der Sequenz AM482589 (Velasco et al. 2007, Abb. 23) gefunden worden, sowie Vier Exons und Introns gefunden worden (Spider 6-2007, Abb. 21). Die Poly A und TSS (Transcription start site) sind identifiziert worden (softberry 6-2007). Das zweite Gen ist das Expansin-Gen *VLexp-1* (Abb. 22, 6112bp - 8610 bp, 6-2007 softberry, Abb. 23).

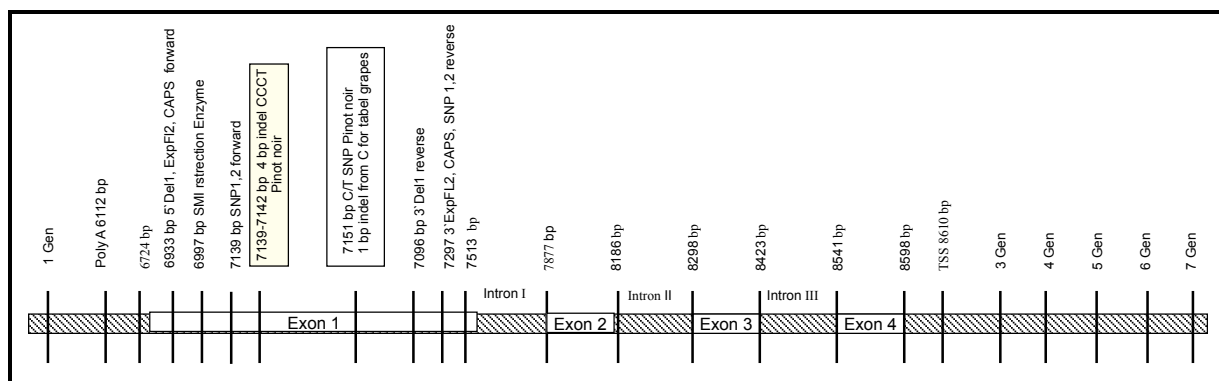


Abbildung 23: Bestimmung des Expansin-Gen Vlexp-1 wurden insilico Analysen der Sequenz AM48259 Vitis vinifera Klon ENTAV 115 (6-2007 softberry) durchgeführt.

4.2 Hormonanalyse

Um den Einfluss und die Beziehung der Hormone Auxin und Gibberellin auf die Entstehung der Lockerbeerigkeit festzustellen wurde mit der RIA-Methode die Hormonkonzentration in den Infloreszenzen im Versuchszeitraum gemessen. Ein Zusammenhang der Hormonkonzentration in den Infloreszenzen und der Ausbildung der Traubenmorphologie konnte aufgezeigt werden. Gibberellin hat keinen Einfluss auf die Ausbildung der lockeren Trauben des Klons 1-84 Gm, doch eine GA₃-Applikation erhöht den Gibberellin Gehalt. Auxin wird durch eine Gibberellinapplikation im Klon 18 Gm erhöht und ist bei dem Klon 1-84 Gm ohne Gibberellinbehandlung erhöht. Ein hoher Auxingehalt bewirkt eine lockere Traubenstruktur.

4.2.1 Auxinanalyse

Auswirkung der GA₃-Applikation auf die Auxinkonzentration in den Gescheinen des Kompakten Klons 18 GM.

Der Klon 18 Gm zeigt signifikante Unterschiede im Auxingehalt in der Behandlung, in der Zeit und in der Wechselwirkung t x beh an beiden Standorten (Tabelle 6). Die Behandlung hat einen Einfluss auf den Auxingehalt der Infloreszenzen. Denn die Gescheine des behandelten Klons 18 Gm (Geisenheim 8,92 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 7,55 ng/g Trockengewicht) haben eine signifikant höhere Auxinkonzentration als die der unbehandelten Variante (Geisenheim 7,79 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 5,73 ng/g Trockengewicht, Tabelle 6).

Tabelle 6: Varianzanalyse der Auxinkonzentrationen (IAA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen (2006)

	Standort							
	Geisenheim				Heppenheim			
	1-84 Gm		18 Gm		1-84 Gm		18 Gm	
	F	P	F	P	F	P	F	P
Zeit (t)	115,99	***	12,31	**	17,49	***	11,38	**
Behandlung (beh)	0,07	0,79 ^{ns}	5,85	*	21,82	***	23,47	***
t x beh	11,91	***	8,91	**	21,7	***	36,0	***

* < 0,05 signifikant; ** < 0,01 hochsignifikant; *** < 0,001 höchstsignifikant; n.s. nicht signifikant

Anhand der zusätzlichen Zeitpunkte am Standort Heppenheim (12 Stunden, 50 Stunden, 4 Tage und 11 Tage nach der Applikation) konnten differenzierte Aussagen über den Verlauf der Auxinkonzentration getroffen werden (Abb. 24). Bei den behandelten Infloreszenzen tritt das Maximum des IAA Gehalts früher (am dritten Tag nach der Anthesis, Tabellen 6 und 7) als bei den unbehandelten Infloreszenzen (am vierten Tag nach der Anthesis, Tabelle 6 und 7, Abb. 24) auf. Der signifikante Anstieg des behandelten Klon 18 Gm erfolgt 50 Stunden nach der Gibberellinbehandlung (Abb. 24). Bei dem unbehandelten Wildtyp erfolgt der signifikante Anstieg drei Tage nach der Behandlung. Die unbehandelten und behandelten Infloreszenzen weisen eine signifikante Verringerung des Auxinlevels am siebten Tag nach der Applikation (Abb. 24, Tabelle 7) auf. Die Auxinkonzentration ist bei der behandelten Variante länger erhöht. Der behandelte Klon 18 Gm hat fünf und der unbehandelte zwei Tage lang eine hohe Auxinkonzentration (Abb. 24). Am Standort Geisenheim ist der IAA Ausgangsgehalt sowie drei Tage nach der Behandlung bei beiden Versuchsvarianten höher als in Heppenheim. Der Unterschied an den beiden Standorten kann auf Temperatureinflüssen beruhen. Die unbehandelte Variante hat einen signifikanten Anstieg vom ersten (0 Stunden, Anthesis) zum dritten Termin (drei Tage nach der Applikation, Tabelle 7). Dieser Anstieg bleibt bis fünf Tage nach der Behandlung erhalten. Sieben Tagen nach der Applikation findet ein signifikanter Abstieg der Auxinkonzentration bei beiden Versuchsvarianten (behandelt, unbehandelt) statt, der dem Zeitpunkt elf Tage nach der Applikation in Heppenheim entspricht. Die zeitliche Verzögerung beruht auf den unterschiedlichen klimatischen Bedingungen beider Standorte (Anhang Abb. 32, 33).

Tabelle 7: Mittelwerte des Auxinkonzentration (IAA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen des Klon 18 Gm

Zeitpunkt nach der GA ₃ - Behandlung	Standort					
	Geisenheim			Heppenheim		
	18 Gm	18 Gm unbehandelt	18 Gm behandelt	18 Gm	18 Gm unbehandelt	18 Gm behandelt
0 Stunden	10,36 ^a	10,36 ^{ac}	10,36 ^{ac}	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a
3. Tag	9,51 ^{ac}	12,21 ^c	6,82 ^{bd}	8,74 ^b	6,77 ^{bd}	10,71 ^c
5. Tag	8,28 ^c	7,67 ^{ad}	8,91 ^{ad}	7,42 ^{bc}	8,85 ^b	6,00 ^d
7. Tag	5,34 ^d	5,615 ^b	5,07 ^b	5,81 ^{ac}	3,04 ^a	8,58 ^b

Gleiche Buchstaben innerhalb der einzelnen Gruppe (Geisenheim: 18 Gm, 18 Gm unbehandelt, 18 behandelt und Heppenheim 18 Gm, 18 Gm unbehandelt, 18 behandelt) sind nicht signifikant verschieden ($\alpha = 0,05$, T-Test). Die Signifikanzen sind mit Buchstaben dargestellt. Die Gruppen werden nicht miteinander verglichen. Die erste Gruppe je Standort (18 Gm) spiegelt den Einfluss des Zeitpunktes auf den IAA in den Infloreszenzen wieder. Die anderen beiden Gruppen behandelt und unbehandelte je Standort zeigen den Einfluss der Behandlung.

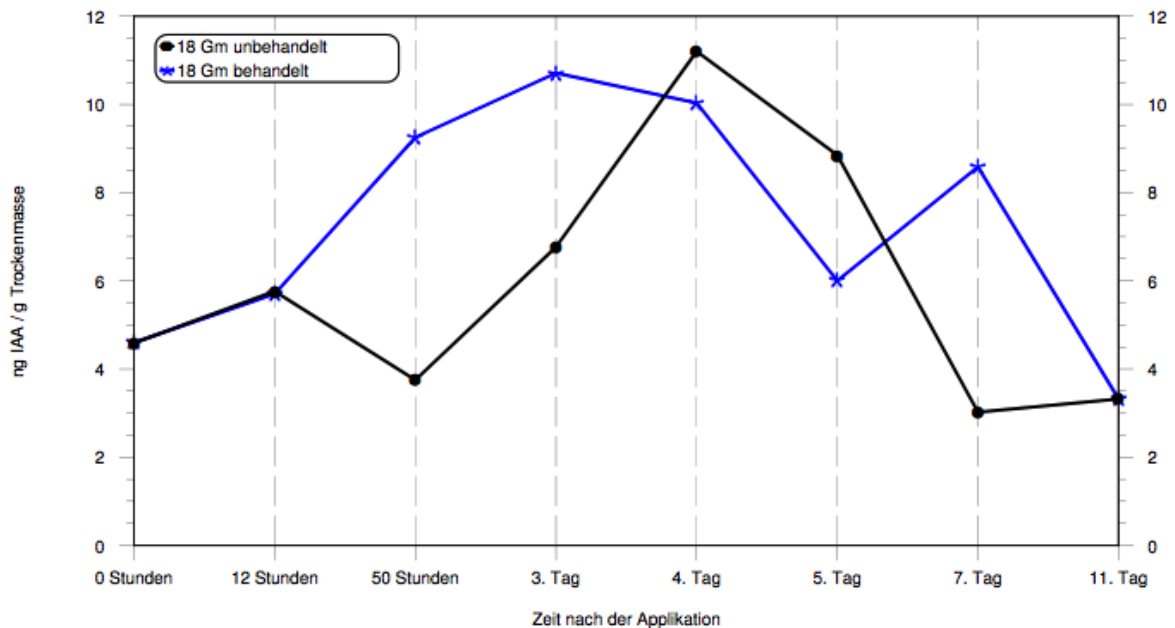


Abbildung 24: Auxingehalt in den Infloreszenzen des Klons 18 Gm am Standort Heppenheim

Einfluss der Auxinkonzentration auf der Traubenarchitektur des Klons 1-84 GM

Der Klon 1-84 Gm zeigt signifikante Unterschiede in der Zeit und der Wechselwirkung $t \times \text{beh}$ an beiden Standorten. Am Standort Heppenheim ist die Behandlung signifikant verschieden (Tabelle 6). Die Infloreszenzen des behandelten Klons 1-84 Gm (7,83 ng/g Trockengewicht) haben einen signifikant höheren Auxingehalt als die unbehandelte Variante (5,75 ng/g Trockengewicht). In Geisenheim konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden, doch die Mittelwerte der behandelten Variante (8,9 ng/g Trockengewicht) zeigten einen höheren Auxingehalt als die unbehandelte Variante (7,34 ng/g Trockengewicht), was dem Ergebnis vom Standort Heppenheim entspricht. Das Maximum des behandelten Klons liegt bei 11,2 ng/g Trockengewicht in Geisenheim und in Heppenheim bei 11,33 ng/g Trockengewicht fünf Tage nach der Behandlung (Tabelle 8).

Die unbehandelten Infloreszenzen haben ihr Maximum an Tag drei und fünf (Geisenheim 9,67 – 9,23 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 7,04 - 6,89 ng/g Trockengewicht). Die differenzierte Zeittafel fehlt und somit die genauere Differenzierung. In Heppenheim haben die Proben einen geringeren Ausgangsgehalt (0 Stunden, 4,71 ng/g Trockengewicht) an Auxin als in Geisenheim (9,235 ng/g Trockengewicht, Tabelle 7). Dies kann durch andere klimatische Bedingungen entstanden sein (Anhang

Abb. 32-35). Ausgehend von dieser Annahme, steigt das IAA signifikant vom status quo zum dritten und dann zum fünften Tag nach der Behandlung und hat einen signifikanten Abfall am fünften Tag zum siebten Tag nach der Applikation (Tabelle 8). In Geisenheim steigt der Auxinlevel aufgrund des hohen Anfangswertes erst am fünften Tag nach der Applikation signifikant an und fällt signifikant am fünften zum siebten Tage nach der Behandlung wie in Heppenheim (Tabelle 8) ab.

Tabelle 8: Mittelwerte der Auxinkonzentration (IAA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen des Klons 1-84 Gm

Zeitpunkt nach der GA ₃ -Behandlung	Standort					
	Geisenheim			Heppenheim		
	1-84 Gm	1-84 Gm unbehandelt	1-84 Gm behandelt	1-84 Gm	1-84 Gm unbehandelt	1-84 Gm behandelt
0 Stunden	9,24 ^a	9,24 ^a	9,24 ^a	4,71 ^a	4,71 ^a	4,71 ^a
3. Tag	9,12 ^a	9,67 ^a	8,57 ^b	8,87 ^b	7,04 ^c	10,71 ^b
5. Tag	10,22 ^b	9,23 ^a	11,20 ^c	5,72 ^a	6,89 ^c	4,57 ^a
7. Tag	4,60 ^c	5,15 ^b	4,06 ^d	7,37 ^{bc}	4,15 ^a	11,33 ^b

Gleiche Buchstaben innerhalb der einzelnen Gruppe (Geisenheim: 1-84 Gm, 1-84 Gm unbehandelt, 1-84 behandelt und Heppenheim 1-84 Gm, 1-84 Gm unbehandelt, 1-84 behandelt) sind nicht signifikant verschieden ($\alpha = 0,05$, T-Test). Die Signifikanzen sind mit Buchstaben dargestellt. Die Gruppen werden nicht miteinander verglichen. Die erste Gruppe je Standort (1-84 Gm) spiegelt den Einfluss des Zeitpunktes auf den IAA in den Infloreszenzen wieder. Die anderen beiden Gruppen behandelt und unbehandelte je Standort zeigen den Einfluss der Behandlung.

Vergleich der Auxinkonzentration in den Infloreszenzen des behandelten Wildtypes (18 GM, Kompakt) gegenüber des genetisch Lockerbeerigen Klons (1-84 GM Locker).

Aufgrund des Versuchsmodells kann keine statistische Aussage des Kloneffekts getroffen werden, da beide Standorte getrennt ausgewertet wurden. Die Mittelwerte der beiden Klone in den verschiedenen Versuchsvarianten können verglichen und zur Auswertung herangezogen werden (Piepho, mündliche Mitteilung). Vergleicht man die Mittelwerte der beiden Klone ist festzustellen, dass der Klon 1-84 Gm behandelt, die höchste Auxinkonzentration aufweist (Geisenheim 8,32 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 7,83 ng/g Trockengewicht). Die Auxinkonzentration der unbehandelten Infloreszenzen des Klons 1-84 Gm (Geisenheim 7,83 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 7,62 ng/g Trockengewicht) entspricht denen des behandelten Klons 18 Gm (Geisenheim 7,5 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 7,48 ng/g Trockengewicht). Die unbehandelten Infloreszenzen des Klons 18 Gm zeigen die kleinste Auxinkonzentration (Geisenheim 5,7 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 5,82 ng/g Trockengewicht).

Einfluss des Zeitpunkts der Probenahme auf den Auxingehalt

Der Zeitpunkt der Probennahme hat einen signifikanten Einfluss auf den Auxingehalt in den Gescheinen der Klonen. (Tabelle 6). Dieser Einfluss konnte an beiden Standorten (Geisenheim und Heppenheim) nachgewiesen werden (Tabelle 6). Der Klon 18 Gm hat an beiden Standorten vom Status quo zum dritten Tag nach der Applikation einen signifikanten Anstieg des Auxingehaltes, und dieser bleibt bis zum fünften Tag nach der Applikation und sinkt signifikant bis zum siebten Tag nach der Applikation ab. (Tabelle 7, Abb. 26). Der Klon 1-84 Gm zeigt in Geisenheim aufgrund des hohen Ausgangsgehaltes an IAA einen signifikanten Anstieg vom dritten bis zum fünften Tag und einen signifikanten Abfall des Auxingehaltes vom fünften zum siebten Tage nach der Applikation (Tabelle 8). In Heppenheim findet ein signifikanter Anstieg des IAA vom Status quo zu Tag drei nach der Applikation statt und bleibt bis zum fünften Tage nach der Behandlung hoch und sinkt signifikant vom fünften zum siebten Tage nach der Applikation ab (Tabelle 8).

4.2.2 Gibberellinanalyse

Reaktion der Gibberellinsäure in den Infloreszenzen des Wildtyps nach der GA₃-Applikation

Die Gibberellinkonzentration in den Infloreszenzen ist an beiden Standorten signifikant verschieden für die Zeit und die GA₃-Behandlung (Tabelle 9). In Heppenheim ist die Wechselwirkung $t \times \text{beh}$ ebenfalls signifikant. In Geisenheim konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden (Tabelle 9). Die behandelten Infloreszenzen (Geisenheim 362,84 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 3067,32 ng/g Trockengewicht) des Klons 18 Gm zeigten eine signifikant höhere Gibberellinkonzentration als die der unbehandelten (Geisenheim 112,99 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 77,02 ng/g Trockengewicht).

Tabelle 9: Varianzanalyse des Gibberellin Gehalts (GA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen

	Standort							
	Geisenheim				Heppenheim			
	1-84 Gm		18 Gm		1-84 Gm		18 Gm	
	F	p	F	p	F	p	F	p
Zeit	27,23	***	4,35	**	16,69	***	56,74	***
Behandlung	1364,8	***	2014,53	***	1903,59	***	632,24	***
Zeit*Behandlung	0,21	0,81 ^{ns}	0,65	0,54 ^{ns}	33,54	***	33,36	***

* < 0,05 signifikant; ** < 0,01 hochsignifikant; *** < 0,001 höchstsignifikant; n.s. nicht signifikant
F und p Werte beziehen sich auf log-transformierte Daten

Durch die zusätzlichen Termine in Heppenheim konnte ein präziser Verlauf der Gibberellinkonzentration dokumentiert werden. Das Maximum des Gibberellin Gehalts in den behandelten Infloreszenzen liegt am dritten Tage nach der Applikation (Heppenheim bei 9523,32 ng/g Trockengewicht, Geisenheim bei 13133,71 ng/g Trockengewicht, Tabelle 10, Abb. 25). An beiden Standorten steigt das Gibberellin vom ersten Termin (BBCH 65) zum dritten (Tag nach der Anthesis) signifikant an (Tabelle 10). Am dritten Tag nach der Applikation beginnt die Gibberellinkonzentration der Gescheine bis zum siebten Tag nach der Behandlung an beiden Standorten zu sinken (Tabelle 10). Bei den unbehandelten Infloreszenzen ist der Anstieg minimal. Ein signifikanter Anstieg erfolgt nach 50 Stunden und bleibt bis zum vierten Tag nach der Anthesis. Anschließend erfolgt ein signifikanter Abstieg (Abb. 25).

Tabelle 10: Mittelwerte der Gibberellinkonzentration (GA ng/g Trockengewicht) in den Gescheinen des Klon 18 Gm

Zeitpunkt nach der GA ₃ -Behandlung	Standort					
	Geisenheim			Heppenheim		
	Zeit 18 Gm	18 Gm unbehandelt	18 Gm behandelt	Zeit 18 Gm	18 Gm unbehandelt	18 Gm behandelt
0 Stunden	142,90 ^a	142,90 ^a	142,90 ^a	77,54 ^a	77,54 ^a	79,10 ^a
3. Tag	1194,38 ^b	108,62 ^{ab}	13133,71 ^c	994,45 ^b	63,81 ^a	9523,32 ^b
5. Tag	1139,10 ^b	117,22 ^{ab}	11069,80 ^{cd}	569,82 ^c	90,42 ^a	8474,80 ^c
7. Tag	864,71 ^c	89,57 ^b	8347,31 ^d	96,24 ^a	62,56 ^a	3591,06 ^d

Gleiche Buchstaben innerhalb der einzelnen Gruppe (Geisenheim: 18 Gm, 18 Gm unbehandelt, 18 behandelt und Heppenheim 18 Gm, 18 Gm unbehandelt, 18 behandelt) sind nicht signifikant verschieden ($\alpha = 0,05$, T-Test). Die Signifikanzen sind mit Buchstaben dargestellt. Die Gruppen werden nicht miteinander verglichen. Die erste Gruppe je Standort (18 Gm) spiegelt den Einfluss des Zeitpunktes auf den IAA in den Infloreszenzen wieder. Die anderen beiden Gruppen behandelt und unbehandelt je Standort zeigen den Einfluss der Behandlung.

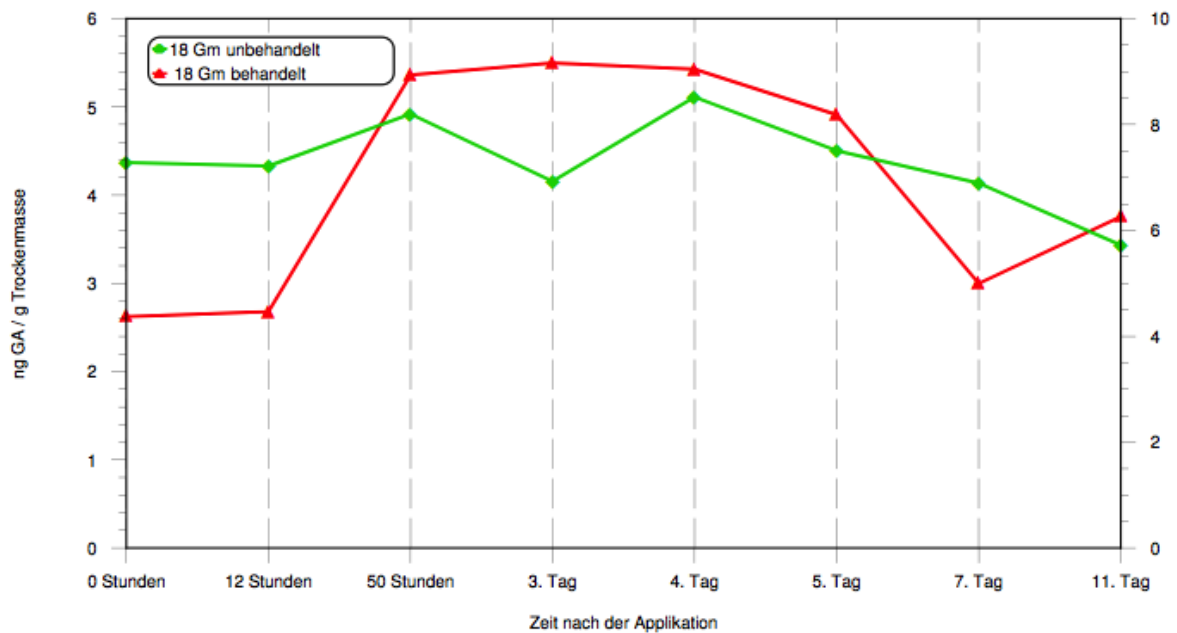


Abbildung 25: Gibberellinkonzentration in den Infloreszenzen des Klon 18 Gm am Standort Heppenheim.

Einfluss der GA₃-Behandlung auf die Gibberellinkonzentration in den Infloreszenzen des genetisch Lockerbeerigen Klon

Die Zeit und die Behandlung sind bei dem Klon 1-84 Gm an beiden Standorten signifikant (Tabelle 11). Die Wechselwirkung ist am Standort Heppenheim signifikant (Tabelle 11). Die behandelten Infloreszenzen (Geisenheim 3188,67 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 3067,32 ng/g Trockengewicht) haben einen signifikant höheren Gibberellengehalt als die unbehandelten (Geisenheim 104,00 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 77,02 ng/g Trockengewicht). Das Maximum der behandelten Variante liegt in Geisenheim bei 15625,60 ng/g Trockengewicht und in Heppenheim bei 30428,12 ng/g Trockengewicht am dritten Tag nach der Applikation (Tabelle 9). Vom Ausgangswert beginnend bis zum dritten Tag nach der Behandlung erfolgt an beiden Standorten ein signifikanter Anstieg der Gibberellinkonzentration in den Gescheinen (Tabelle 11). In Heppenheim haben die Proben, wie bei dem Klon 18 Gm näher beschrieben, einen niedrigen Ausgangsgehalt von Gibberellin (86,20 ng/g Trockengewicht) als in Geisenheim (137,68 ng/g Trockengewicht). In Betracht dieses Fehlers findet kein Gibberellinanstieg bei der unbehandelten Variante statt (Tabelle 11).

Tabelle 11: Mittelwerte der Gibberellinkonzentration (GA ng/g Trockengewicht) in den Infloreszenzen des Klons 1-84 Gm

Zeitpunkt nach der GA ₃ - Behandlung	Standort					
	Geisenheim			Heppenheim		
	Zeit 1-84 Gm	1-84 Gm unbehandelt	1-84 Gm behandelt	Zeit 1-84Gm	1-84 Gm unbehandelt	1-84 Gm behandelt
0 Stunden	137,68 ^a	137,68 ^a	137,68 ^a	86,20 ^a	86,20 ^a	86,20 ^a
3. Tag	1734,27 ^b	192,48 ^b	15625,6 ^e	1376,80 ^b	62,31 ^a	30428,12 ^b
5. Tag	550,25 ^c	55,65 ^c	5440,62 ^f	674,80 ^c	89,20 ^a	5091 ^c
7. Tag	837,02 ^d	92,07 ^d	7609,66 ^{gf}	696,89 ^c	73,26 ^a	6628,12 ^d

Gleiche Buchstaben innerhalb der einzelnen Gruppe (Geisenheim: 1-84 Gm, 1-84 Gm unbehandelt, 1-84 behandelt und Heppenheim 1-84 Gm, 1-84 Gm unbehandelt, 1-84) sind nicht signifikant verschieden ($\alpha = 0,05$, T-Test). Die Signifikanzen sind mit Buchstaben dargestellt. Die Gruppen werden nicht miteinander verglichen. Die erste Gruppe je Standort (18 Gm) spiegelt den Einfluss des Zeitpunktes auf den GA in den Infloreszenzen wieder. Die anderen beiden Gruppen behandelt und unbehandelte je Standort zeigen den Einfluss der Behandlung.

Vergleich der Gibberellinkonzentration der Infloreszenzen von dem behandelten Wildtyp (18 GM, Kompakt) gegenüber den genetisch Lockerbeerigen Klon (1-84 GM Locker).

Bei diesem Versuchsaufbau kann, wie im Abschnitt der Auxine, kein statistischer Vergleich zwischen den Klonen durchgeführt werden. Ein Mittelwertvergleich wie im Auxinteil wird durchgeführt. Aufgrund dieses Vergleichs ist festzustellen, dass die Gibberellinkonzentration keinen Einfluss auf die Lockerbeerigkeit des Klons 1-84 Gm hat. Die Gibberellinkonzentration der unbehandelten Infloreszenzen des Klons 18 Gm (Geisenheim 114, 58 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 73,58 ng/g Trockengewicht) und des Klons 1-84 Gm (Geisenheim 71,35 ng/g Trockengewicht, Heppenheim 77,74 ng/g Trockengewicht) unterscheidet sich nicht. Am Standort Heppenheim ist der Gibberellengehalt der behandelten Gescheine des Klons 1-84 Gm (10558,36 ng/g Trockengewicht) wesentlich höher als der des Klons 18 Gm (5417,07 ng/g Trockengewicht). In Geisenheim unterscheiden sich die behandelten Infloreszenzen des Klons 18 Gm (8173,43 ng/g Trockengewicht) und 1-84 Gm (7203,39 ng/g Trockengewicht) nicht.

Einfluss des Zeitpunkts der Probenahme auf die Gibberellinkonzentration

Der Probennahmezeitpunkt hat einen signifikanten Einfluss auf die Gibberellinkonzentration in den Gescheinen der beiden Klone (Tabelle 10). Vom Ausgangszeitpunkt (0 Stunden nach der Applikation) bis zum dritten Tage nach der Behandlung findet ein signifikanter Anstieg der Gibberellinkonzentration in den Infloreszenzen der bei-

den Klone statt (Tabelle 10, 11). Im detailliertem Untersuchungszeitraum in Heppenheim ist festzustellen, dass der eigentliche Anstieg nach 50 Stunden bei dem Klon 18 Gm stattfindet (Abb. 25). Der Gibberellengehalt sinkt bei dem Klon 18 Gm vom fünften zum siebten Tag nach der Applikation (Tabelle 10). Bei dem Klon 1-84 Gm tritt dieser Abfall vom dritten zum fünften Tagen nach der Behandlung ein (Tabelle 11).

Interagieren die beiden Hormone (IAA und GA) in den Klonen (18 GM und 1-84 GM) miteinander ?

Statistisch wurde keine Abhängigkeit der beiden Hormone (Gibberellin und Auxin) nachgewiesen, obwohl graphisch ein Zusammenhang von Auxin und Gibberellin zu erkennen ist (Abb. 26). Dies könnte auf variable Daten zurückgeführt werden. Die GA₃-Applikation bewirkt nicht die Lockerbeerigkeit des Klons 1-84 Gm. Der Auxingehalt ist mit und ohne GA₃-Behandlung bis zum siebten Tag nach der Applikation an beiden Standorten hoch. Eine GA₃-Behandlung erhöht den Auxingehalt. Die lockere Traubenmorphologie des behandelten Klons 18 Gm beruht auf der Gibberellinbehandlung. Im ausführlichen Zeitraster in Heppenheim steigt bei dem behandelten Klon 18 Gm der Gibberellengehalt in den Stielgerüsten 50 Stunden nach der Applikation zeitgleich mit dem Anstieg der IAA Konzentration (Abb. 26). Bis zum siebten Tag nach der Applikation ist die Gibberellinkonzentration konstant hoch und beginnt dann abzunehmen (Abb. 26). Der Auxingehalt ist in demselben Zeitraum hoch bzw. höher und fällt mit dem Gibberellin ab. Am Standort Geisenheim kann dies nicht bestätigt werden, da hier die zusätzlichen Zeitpunkte fehlen. Bei der unbehandelten Variante ist definitiv keine Korrelation zu sehen. Der Gibberellengehalt bleibt bei der unbehandelten Variante konstant niedriger (Abb. 26). Der Auxingehalt steigt vom dritten bis zum fünften Tag nach der Applikation an. Festzustellen ist, dass eine Gibberellinapplikation die Gibberellinkonzentration beider Klone erhöht und einen früheren und längeren Anstieg der Auxinkonzentration bewirkt.

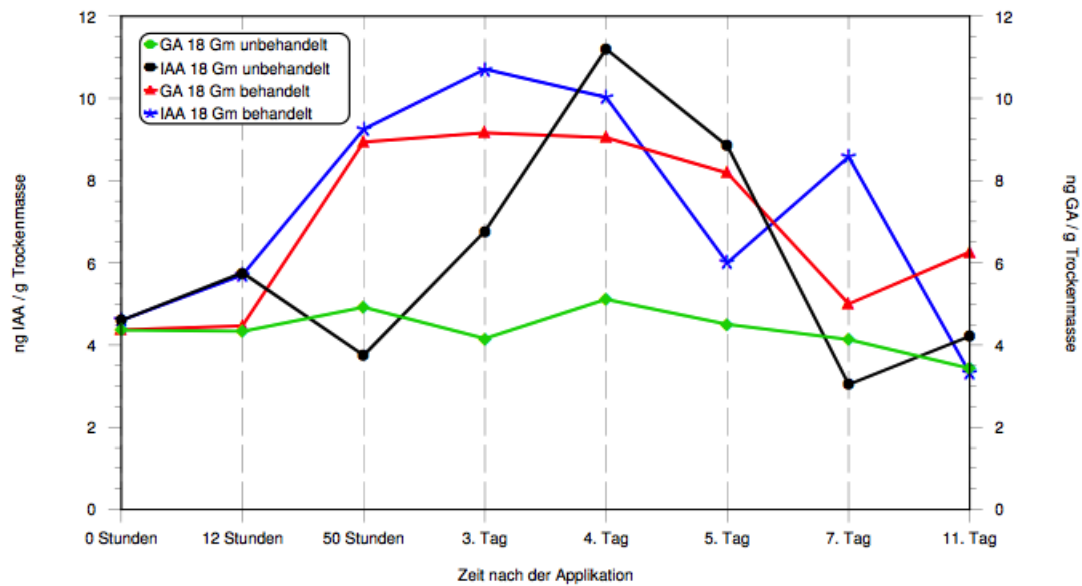


Abbildung 26: Beziehung zwischen Gibberellin und Auxin am Standort Heppenheim

4.3. Phänologische Daten

Morphologische Daten, die die Traubenarchitektur beeinflussen wie Infloreszenzlänge, Stielchenlänge, Traubenlänge, Stielgerüßlänge, Stiellänge, Verzweigung, Traubenvolumen, Beerenanzahl, Beerengewicht und Traubengewicht wurden an den beiden Klonen (18 Gm, 1-84 Gm) an beiden Standorten (Geisenheim, Heppenheim) erhoben. Die Auswirkung der Gibberellinbehandlung auf diese Merkmale sollten ermittelt werden und in einen Zusammenhang mit den Ergebnissen der Hormonanalyse und den genetischen Untersuchungen gesetzt werden.

Auswirkungen der GA₃-Behandlung auf die Entwicklung der Infloreszenzen während des Versuchszeitraums

Infloreszenzlänge

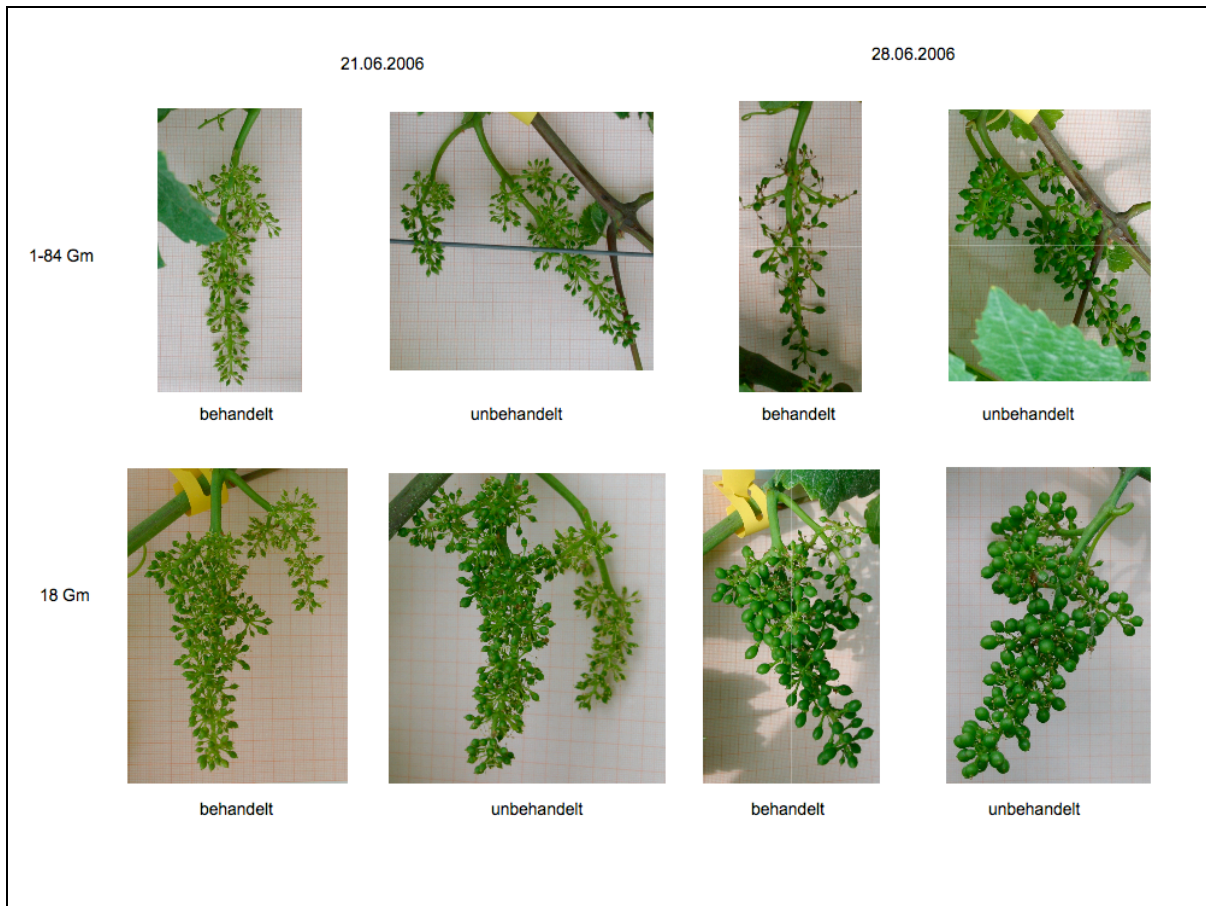


Abbildung 27: Infloreszenz- und Stielchenwachstum oben: Klon 1-84 Gm, unten: Klon 18 Gm. Die Infloreszenzen der beiden Klone werden zum Zeitpunkt 21.06 und 28.06 als Variante behandelt und unbehandelt dargestellt. Fotos: E. Schönhals

Die Länge der Gescheine ist signifikant beeinflusst durch die Art der Behandlung, die Zeit und den Klon (Tabelle 12). Die Wechselwirkung Behandlung x Zeit und Zeit x Klon sind signifikant. Die Kovariable „anfang“ ist signifikant und beeinflusst die Analyse. Dies bedeutet, dass die Anfangslänge einen Einfluss auf die Größe der Infloreszenzen hat.

Der lockerbeerige Klon 1-84 Gm (15,12 cm) bildet signifikant größere Gescheine als der kompakte Klon 18 Gm (13,85 cm) aus. Die Gibberellin behandelten Infloreszenzen (14,93 cm) sind signifikant größer als die unbehandelten Gescheine (14,04 cm).

Tabelle 12: Varianzanalyse der Infloreszenz- und Stielchenlänge (2006)

	Infloreszenzlänge [cm]		Stielchenlänge [mm]	
	F	p	F	p
Ort (o)	0,67	0,42	0,15	0,71
Zeit (t)	30,88	***	2,69	0,18
Behandlung (Beh)	9,26	**	33,64	***
Klon (g)	18,79	***	31,41	**
Beh x t	7,69	**	0,95	0,57
G x Beh	1,40	0,25	13,3	0,49
t x g	10,30	***	4,72	0,29
Beh x o	0,12	0,72	1,44	0,28
G x o	0,08	0,77	0,00	0,96
t x o	1,48	0,22	0,09	0,96
G x Beh x t	0,62	0,61	0,90	0,61
G x Beh x o	0,20	0,66	0,21	0,66
Anfang	192,80	***	5,96	*

p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001

F und p Werte beziehen sich auf log-transformierte Daten

Einfluss der Zeit auf die Entwicklung der Infloreszenzen

Die Zeit hat einen signifikanten Einfluss auf die Wachstumsgeschwindigkeit der Infloreszenz. Das Hauptwachstum findet vom Zeitpunkt des Versuchsstarts bis 12 Tage nach der Applikation statt. Die Messung am 20./21.06 ist signifikant verschieden zu allen anderen Beobachtungen. Ab dem 26./28.06 findet kein signifikantes Längenwachstum der Gescheine mehr statt (Tabelle 13), denn die Zeitpunkte drei (26./28.06) zu vier (03./04.7) zu fünf (10./13.07) und vier zu fünf unterscheiden sich nicht signifikant (Tabelle 13). Die Anfangslänge wird als Kovariable behandelt. Das Wachstum zwischen dem Messzeitpunkt vor und eine Woche nach der Applikation wird aufgrund der Kovariablen nicht betrachtet.

Tabelle 13: Länge der Infloreszenzen

Probennahmezeitpunkt			Infloreszenzlänge [cm]			
Geisenheim	Heppenheim	Zeit	t x g		t x beh	
			18 Gm	1-84 Gm	behandelt	unbehandelt
15.06.2006	14.06.2006	Kovariable	Kovariable	Kovariable	Kovariable	Kovariable
21.06.2006	20.06.2006	13,53 ^a	13,43 ^{ac}	13,63 ^{bc}	13,49 ^a	13,57 ^a
28.06.2006	26.06.2006	14,78 ^b	13,97 ^b	15,60 ^d	15,35 ^b	14,22 ^c
04.07.2006	03.07.2006	14,83 ^b	14,00 ^b	15,65 ^d	15,43 ^b	14,22 ^c
13.07.2006	10.07.2007	14,80 ^b	13,99 ^b	15,61 ^d	15,46 ^b	14,14 ^c

Gleiche Buchstaben innerhalb der einzelnen Gruppe (Zeit, t x g 18 Gm, t x g 1-84 Gm, t x beh behandelt, t x beh unbehandelt) sind nicht signifikant verschieden ($\alpha = 0,05$, T-Test). Die Gruppen sind nicht miteinander verglichen. Die Signifikanzen sind mit Buchstaben dargestellt. Die Gruppen werden nicht miteinander verglichen. Die erste Gruppe Zeit spiegelt den Einfluss des Zeitpunktes auf den Länge in den Infloreszenzen wieder. Die Gruppen t x g zeigt den Einfluss des Klons und die Gruppe t x beh den Einfluss der Behandlung wieder.

Eine detaillierte Aufschlüsselung der Wechselwirkung t x g und t x beh zeigt, dass die Klone (18 Gm, 1-84 Gm) und die Behandlung (behandelt, unbehandelt) einen signifi-

Ergebnisse

kanten Einfluss auf das Wachstum in Bezug auf den Zeitpunkt der Probenahme aufweisen (Tabelle 13). Die weitere differenzierte Auftrennung des Versuchs, der Wechselwirkung Klon x Behandlung x Zeit, die nicht signifikant ist, zeigt im Mittelwertvergleich der einzelnen Versuchskombinationen (18 Gm beh, 18 Gm unbeh, 1-84 Gm beh, 1-84 Gm unbeh), dass das Hauptwachstum vom 20./21.06 bis zu dem 26./28.06 stattfindet (Tabelle 13). Das stärkste Längenwachstum der Infloreszenz besitzt der lockerbeerige Klon 1-84 Gm behandelt (Tabelle 14). Die Gescheine des unbehandelten Klons 1-84 Gm und behandelten Klons 18 Gm haben die gleiche Wachstumsintensität (Tabelle 14). Der unbehandelte Klon 18 Gm hat kein Infloreszenzwachstum (Tabelle 14).

Tabelle 14: Vergleich der Mittelwerte der Wechselwirkung beh x t x g

Probennahmezeitpunkt		Infloreszenzlänge [cm]			
Geisenheim	Heppenheim	18 Gm		1-84 Gm	
		behandelt	unbehandelt	behandelt	Unbehandelt
15.06.2006	14.06.2006	Kovariabel	Kovariabel	Kovariabel	Kovariabel
21.06.2006	20.06.2006	13,34	13,53	13,65	13,61
28.06.2006	26.06.2006	14,30	13,63	16,41	14,80
04.07.2006	03.07.2006	14,40	13,60	16,46	14,85
13.07.2006	10.07.2007	14,46	13,53	16,46	14,75

Der Standort, sowie die Wechselwirkungen im Zusammenhang mit dem Ort (Beh x o, g x o, t x o, g x Beh x o) sind nicht signifikant. Der Ort hat keinen Einfluss auf das Wachstum der Gescheine.

Stielchenwachstum

Die Wahl des Klons (18 Gm, 1-84 Gm) und die Behandlung (behandelt, unbehandelt) beeinflussen signifikant das Wachstum der Stielchen (Tabelle 12). Die Kovariabel „anfang“ ist signifikant. Die Anfangslänge der Stielchen hat einen Einfluss auf die weitere Längenentwicklung. Die behandelten Stielchen (6,79 mm) sind signifikant länger als die unbehandelten Stielchen (5,71 mm). Der Klon 1-84 Gm (6,79 mm) besitzt signifikant längere Stielchen als der Klon 18 Gm (5,71 mm).

Die Zeit und der Ort und die Wechselwirkungen (Beh x t, t x g, Beh x o, g x o, t x o, g x Beh x t, g x Beh x o, g x beh) haben keinen Einfluss auf das Wachstum der Stielchen.

Einfluss der Zeit auf das Wachstum der Stielchen

Die Zeit ist nicht signifikant (Tabelle 12). Doch ein stetiges Wachstum ist bei beiden Klonen festzustellen. Der Klon 1-84 Gm behandelt besitzt das stärkste Wachstum (8,42 mm) und der behandelte Klon 18 Gm (6,53 mm) und der unbehandelte Klon 1-84 Gm (6,48 mm) zeigen ein identisches Verhalten in der Längenentwicklung der Stielchen (Tabelle 15, Abb. 28).

Tabelle 15: Mittelwerte der einzelnen Versuchsvarianten und der Zeit

Probenahmezeitpunkt		Stielchenlänge [mm]				
Geisenheim	Heppenheim	Zeit	t x g x beh			
			18 Gm behandelt	18 Gm unbehandelt	1-84 Gm behandelt	1-84 Gm Unbehandelt
15.06.2006	14.06.2006	Kovariabel	Kovariabel	Kovariabel	Kovariabel	Kovariabel
21.06.2006	20.06.2006	4,60	4,77	4,21	4,98	4,47
28.06.2006	26.06.2006	5,80	5,83	4,91	6,98	5,69
04.07.2006	03.07.2006	6,16	6,09	5,25	7,29	6,16
13.07.2006	10.07.2007	6,70	6,53	5,64	8,42	6,48

Wachstumsverlauf der Stielchen

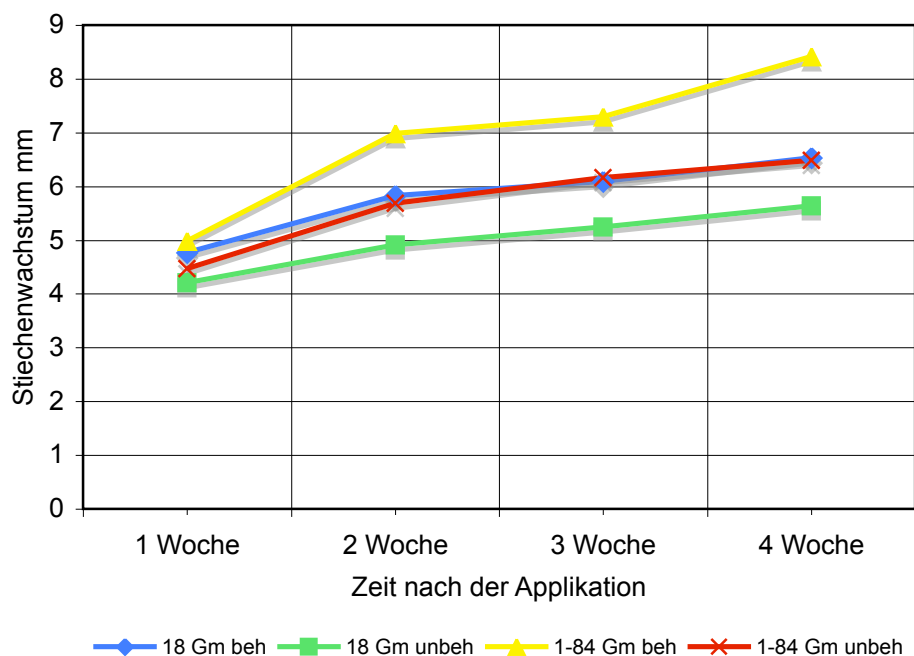


Abbildung 28: Wachstumsverlauf der Stielchen. Der Klon 1-84 Gm behandelt zeigt das stärkste Stielchenwachstum.

Korrelieren die Wachstumsphasen der Stielchen und der Gescheine?

Die bivariate Korrelation ist nicht signifikant. Es konnte kein Zusammenhang des Längenwachstums der Stielchen und der Gescheine aufgezeigt werden. Die Wachstumsphase der Gescheine unterscheidet sich von der Wachstumsentwicklung der Stielchen. Die Streckung der Stielchen erfolgt kontinuierlich (Abb. 31). Die Infloreszenzen haben einen Wachstumsschritt bis zum 26/28.06 (Tabelle 13). Bei den Gescheinen und den Stielchen konnte gezeigt werden, dass der Klon 1-84 Gm behandelt die größten Stielchen und Infloreszenzen ausbildet und der Klon 18 Gm behandelt und der Klon 1-84 Gm unbehandelt, dieselbe Größenentwicklung aufzeigen.

Einfluss des Klons auf die Merkmalsausbildung und die daraus resultierende Architektur

Die Beerenanzahl, die Traubenlänge, die Stielgerüslänge und die Stiellänge zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen dem lockerbeerigen Klon (1-84 Gm) und dem kompakten Klon (18 Gm). Der Klon 1-84 Gm besitzt eine geringe Beerenanzahl, eine längere Traube, ein größeres Stielgerüst und einen längeren Stiel (Tabelle 16). Anhand des Mittelwertvergleichs ist zu sehen, dass das Trauben- und Beerengewicht bei dem Klon 1-84 Gm geringer als bei dem Klon 18 Gm ist, auch wenn diese nicht signifikant sind (Tabelle 16). Die Ausbildung einer lockeren Traubenstruktur des Klons 1-84 Gm gegenüber dem Klon 18 Gm entsteht aufgrund der Merkmalsausbildung (Tabelle 15, 16).

Tabelle 16: Varianzanalyse der Merkmale Beerengewicht, Beerenanzahl, Traubengewicht, Traubenlänge, Traubenvolumen, Stielgerüslänge, Stiellänge und Verzweigung (Herbst 2006)

	Beeren- gewicht	Beeren- anzahl	Trauben- gewicht	Trauben- länge	Trauben- volumen	Stielge- rüslänge	Stiel- länge	Verzwei- gung
Behandlung (beh)	**	***	0,42	0,056	0,53	0,52	0,60	0,33
Klon (g)	0,64	**	0,14	***	0,44	**	**	0,40
Ort (o)	0,18	0,79	0,48	0,98	0,69	0,61	0,85	0,76
o x g	0,47	**	0,81	0,34	0,57	0,47	0,85	0,13
beh x g	0,55	0,27	0,12	0,87	0,65	0,40	0,93	0,36

p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001

F und P Wert von Traubenlänge und Beerenanzahl sind log – transformiert

Einfluss der Gibberellinbehandlung auf die Merkmalsausbildung und die daraus entstehende Traubenstruktur

Das Beerengewicht und die Beerenanzahl zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den behandelten und unbehandelten Gescheinen (Tabelle 16). Die Gibberellinbehandlung bewirkt eine Reduktion der Beerenanzahl und des Beerengewichts. Der Mittelwertvergleich der nicht signifikanten Merkmale zeigt, dass die Traubenlänge und das Traubengewicht durch die Behandlung beeinflusst werden. Die behandelten Gescheine bilden längere Trauben mit einem geringeren Gewicht aus (Tabelle 16). Daraus ergibt sich eine lockere Traubenstruktur des behandelten Klons 18 Gm.

Wie wirkt sich die Versuchsvariante auf die Merkmalsausbildung aus?

Der Mittelwertvergleich zeigt, dass die Trauben-, die Stielgerüst- und die Stiellänge bei dem behandelten Klon 1-84 Gm am längsten sind, gefolgt von dem unbehandelten Klon 1-84 Gm, dem behandelten Klon 18 Gm und dem unbehandelten Klon 18 Gm (Tabelle 17). Die geringste Beerenanzahl weist der Klon 1-84 Gm behandelt auf. Der behandelte Klon 18 Gm, der unbehandelte Klon 1-84 Gm und Klon 18 Gm unbehandelt reihen sich auf (Tabelle 17). Bei dem Beerengewicht sind die beiden behandelten Varianten (Klon 18 Gm, 1-84 Gm) gleich und zeigen das geringste Gewicht. Die Varianten 1-84 Gm behandelt und 18 Gm unbehandelt folgen. Bei dem Traubengewicht hat die behandelte Variante des Klones 1-84 Gm das geringste Gewicht und die Varianten 18 Gm behandelt und 1-84 Gm unbehandelt sind gleich. Die Variante 18 Gm unbehandelt hat das größte Traubengewicht. Es wird deutlich, wie die lockere Traubenstruktur des Klons 1-84 Gm zustande kommt und diese durch die Behandlung noch gefördert wird. Durch die Gibberellinbehandlung ist der Klon 18 Gm in der Lage, eine lockere Struktur der Traube auszubilden. Dies ist anhand der bonitierten Merkmale zu erkennen (Abb. 27, 28).

Ergebnisse

Tabelle 17: Mittelwertvergleich der Klone, der Behandlung und Wechselwirkung beh x g

Merkmal	Klon		Behandlung		Versuchsvarianten			
	18 Gm	1-84 Gm	beh	unbeh	18 Gm beh	18 Gm unbeh	1-84 Gm beh	1-84 Gm unbeh
Traubenlänge [cm]	15,64 ^a	17,67 ^b	17,17	16,14	16,19	15,08	18,14	17,20
Traubengewicht [g]	225,57	200,43	199,20	226,80	209,79	241,35	188,61	212,25
Stielgerüslänge [cm]	14,37 ^a	16,46 ^b	15,60	15,24	14,32	14,43	16,88	16,04
Stiellänge [cm]	1,86 ^a	2,90 ^b	2,52	2,24	1,92	1,72	3,05	2,74
Beerengewicht [g]	205,79	199,33	177,19 ^a	227,93 ^b	176,22	232,35	178,35	220,51
Beerenzahl	174,69 ^a	137,48 ^b	122,18 ^a	196,56 ^b	133,12	229,23	112,15	168,54

Wirkt sich die Versuchsvariante auf den Krankheitsbefall von *Botrytis cinerea* aus ?

Der Klon 1-84 Gm (1-84 Gm beh 0,42%; 1-84 Gm unbeh 1,46%) zeigt einen wesentlich niedrigeren Befall als der Klon 18 Gm. Die Gibberellinbehandlung bewirkt eine Reduktion des Befalls beim Klon 18 Gm (18 beh 10,41%; 18 unbeh 30,61%).

5. Diskussion

Detektion einer genetischen Mutation, die zwischen lockeren und kompakten Klonen differenziert.

Pinot noir Klone und andere Sorten mit einer lockeren und kompakten Traubenmorphologie können mit dem spezifischen Marker ExpFI2 durch Sequenzierung des Amplifikationsproduktes genetisch unterschieden werden. Der Pinot noir Klon 105 S Frank zeigt wechselnd eine lockere oder kompakte Traubenstruktur (Forneck, persönliche Mitteilung, Bleyer 2001). Genetische Untersuchungen ergaben, dass dieser Klon keine Mutation in der Sequenz aufzeigt (Abb. 18, Anhang Abb. 31) und somit nicht durch die Mutation beeinflusst sein kann. Die wechselnde Traubenmorphologie muss durch einen anderen Einfluss ausgelöst werden. Die Heterozygotie des Merkmals könnte dafür verantwortlich sein. Ob Stress, Umwelteinflüsse, veränderte Hormonkonzentrationen von Auxin und Gibberellin oder Expansin verantwortlich ist, bleibt bisher ungeklärt. Die Traubenstruktur der Sorte Chardonnay ist phänotypisch als kompakt beschrieben (Ambrois et al. 1998). Der untersuchte Chardonnay Klon (1 Gm) ist phänotypisch kompakt, doch dessen Genotyp zeigt die mutierte Region des lockerbeerigen Geno- und Phänotypen (Abb. 29). Im Vergleich zu den anderen Chardonnay Klonen besitzt er ein größeres Stielgerüst und längere Stielchen (Rühl, persönl. Mitteilung). Der Klon 1 Gm bildet jedoch sehr große Beeren aus, woraus sich die kompakte Traubenarchitektur ergibt (Rühl, persönl. Mitteilung). Dieser Klon zeigt, dass nicht nur das Wachstum des Stielgerüsts und der Stielchen für die Traubenstruktur verantwortlich ist, sondern auch die Größe der Beeren. Bisher kommt das große Stielgerüst und die längeren Stielchen bei Chardonnay Klonen selten vor. Andere Sorten, wie Riesling, Roter Traminer und Chenin (Tabelle 1), die eine kompakte Traubenstruktur haben, weisen die Sequenzabfolge der kompakten Pinot noir Klone auf. Die Tafeltrauben Cardinal und Weißer Gutedel haben eine 1 bp Deletion (231 bp). Die 1 bp Deletion bei 231 bp ist im EST von CF 207762 (Goes Da Silva et al. 2003) in der Sorte Cardinal zuvor detektiert worden und bestätigt unsere Versuchsergebnisse. Die Sorte Weißer Gutedel zeigt eine zusätzliche C/T Transition bei 237 Basenpaaren. Die mutierte Region in *Vitis* Sorten variiert zwischen den Sorten, ist aber gekoppelt mit dem Merkmal der Traubenarchitektur. Die Tafeltrauben weisen

eine sehr lockere Traubenstruktur mit extrem langen Stielchen und Stielgerüst auf. Die Edelreben (*Vitis vinifera ssp. sativa*) und die Tafeltrauben (*Vitis vinifera subsp. Vinifera Linné*) gehören einer anderen Sorte an. Daher könnte der Unterschied in der mutierten Region begründet liegen. Zu beachten ist, dass alle getesteten lockeren Phänotypen eine Mutation im Exon des Expansingens zeigen.

CAPS und SCAR Marker für die Marker – gestützte – Selektion (MAS)

Ziel war es, einen Marker zu entwickeln, der anhand der Mutation locker und kompakte Trauben differenziert und der MAS zur Verfügung gestellt werden kann, da mit dieser Methode Gene detektiert werden können, deren Funktion mit einem Merkmal gekoppelt ist (Myles et al. 2011, Nienhuis et al. 1987, Paterson et al. 1988, Young & Tanksley 1989). Deswegen wurde der SCAR (Del1) und der CAPS (ExpFI2) Marker entwickelt und an der Sorte *V. vinifera* cv. Pinot noir und an weiteren Sorten getestet. Doch diese Marker sind für die MAS nicht nutzbar, da sich die Klone nicht durch eine Gelelektrophorese unterscheiden lassen. Denn beide Marker detektieren zwei Amplifikationsprodukte (Abb. 18) anstelle eines für locker und eines für kompakt. Diese weisen einen 4 bp Unterschied auf und befinden sich exakt an der Stelle des zu erwartenden PCR Produktes für locker und kompakt. Aufgrund des Amplifikationsprodukts der beiden Marker können wir davon ausgehen, dass das Merkmal Traubenarchitektur heterozygot ist.

Um das Untersuchungsergebnis bestätigen zu können und experimentelle Fehler auszuschließen, wurden die Experimente mehrmals wiederholt und an verschiedenen lockeren und kompakten Pinot noir Klonen getestet (Abb. 22). Zudem sind mit dem SCAR und CAPS Markern zwei unterschiedliche Methoden und zwei unterschiedliche experimentelle Techniken benutzt worden, die beide zu demselben Ergebnis führen. Um ausschließen zu können, dass andere Fragmente vom Rebengenom identifiziert und sequenziert wurden, ist zuerst eine PCR mit dem spezifischen Marker ExpFI2 durchgeführt worden. Dieses PCR Produkt wurde für die nächste PCR mit dem SCAR Marker und für den Verdau mit dem Restriktionsenzym *SmiI* eingesetzt. Das Restriktionsenzym schneidet das PCR Produkt des Markers ExpFI2 einmal. Somit wird vermieden, dass andere geschnittene Fragmente auftreten und amplifiziert werden. Zur weiteren Bestätigung der Heterozygotie wurden die Amplifi-

kationsprodukte der Marker sequenziert. Eins der sequenzierten Produkte zeigt die Mutation und das andere besitzt keine Mutation (Abb. 22). Zur Bestätigung der Sequenzierung wurde das detektierte Fragment in 3' und 5' Richtung sequenziert und in zweifacher Wiederholung an zwei lockeren und kompakten Klonen durchgeführt. Deren identifiziertes Fragment stammt aus zwei verschiedenen PCR Ansätzen, um Fehler in diesem Arbeitsschritt zu vermeiden.

Heterozygotes Merkmal Traubenmorphologie

Der Locus für Lockerbeerigkeit bei Pinot noir ist heterozygot (Abb. 29). Denn ein Allel zeigt die 4 bp Deletion und den SNP (Abb. 19). Das andere Allel besitzt diese Mutation nicht (Abb. 29). Ein weiteres wichtiges Merkmal, die Beerenfarbe, ist ebenfalls heterozygot (This et al. 2007, Walker et al. 2006, Yakushiji et al. 2006). Da *V. vinifera* hermaphrodit ist und ungeschlechtlich vermehrt wird, besitzt sie einen hohen Grad an Heterozygotie und Heterogenität. Doch innerhalb einer Sorte sind sie homogen und phänotypische Veränderungen können nur durch Mutationen entstehen (Myles et al. 2011, Veloasco et al. 2007). Die hohe Anzahl von Chromosomen (38) bewirkt eine hohe Polyploidie (Veloasco et al. 2007). Deswegen weist das Rebgenom eine hohe Anzahl an Deletionen, Insertionen und Inversionen oder andere Arten von Mutationen auf, die die zwei homologen Chromosomenpaare unterscheiden (Zharkikh et al. 2008).

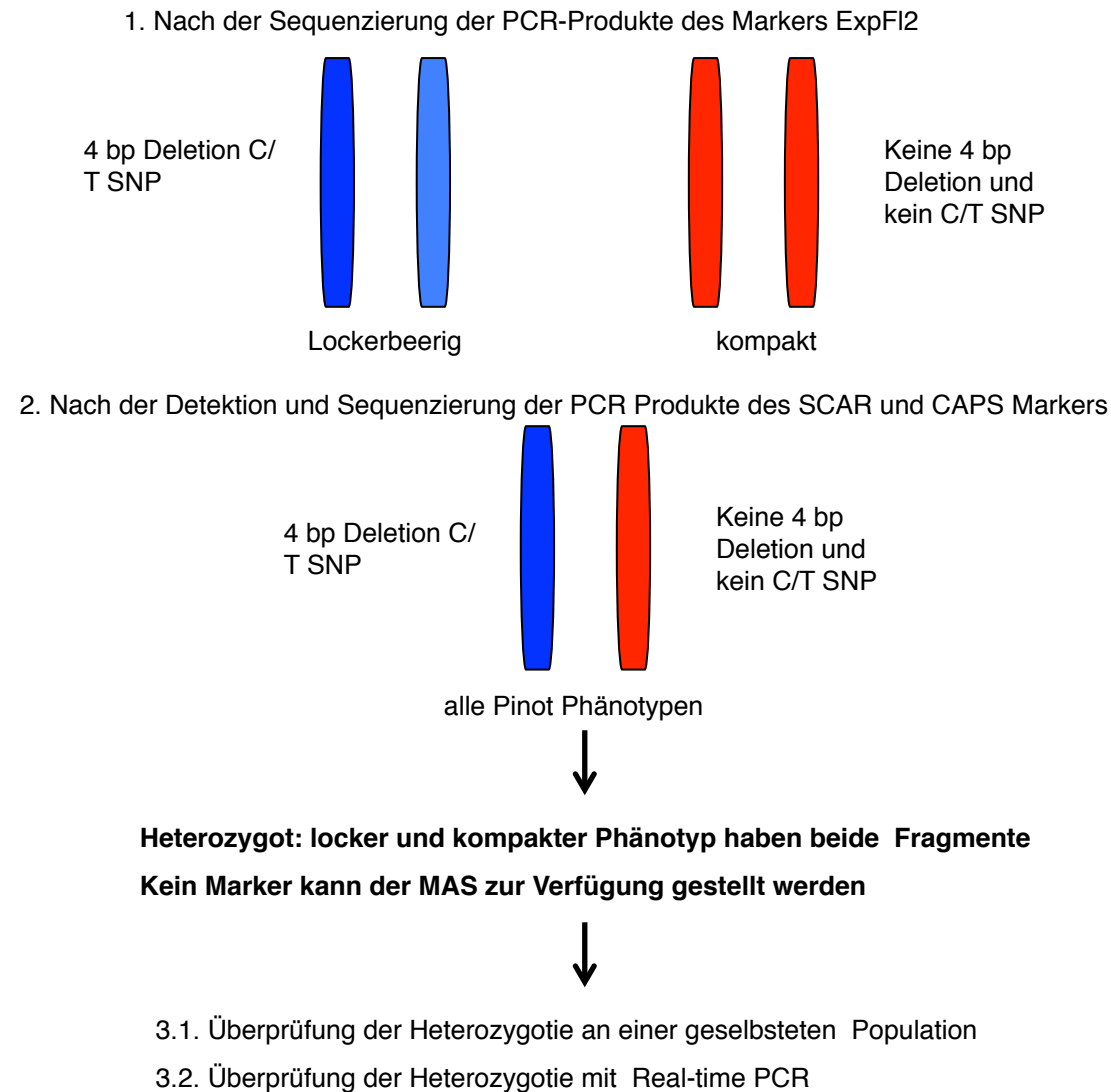


Abbildung 29: Identifikation des heterozygoten Merkmals Traubenmorphologie

Fehlermöglichkeiten bei der Sequenzierung

Einzige Fehlerquelle bei der Detektion der mutierten Sequenz für Lockerbeerigkeit könnte das Sequenzierungsergebnis sein, da die Art der direkten Sequenzierung aus labortechnischen und finanziellen Gründen gewählt wurde. Es ist die meist verwendete Methode zur Identifizierung von SNPs (Edwards & Mogg 2001). Bei der direkten Sequenzierung sind 5% der Genomsequenz falsch zusammengesetzt oder gehen verloren. Ein Problem bei der direkten Sequenzierung sind die Sequenzierungsfehler, die zu Fehlinformationen führen können und züchterisch über mehrere Generationen verfolgt werden (Edwards & Mogg 2001). Bei Pflanzen die heterozygot sind oder einen höheren Polyploidie haben, können bei der direkten Sequenzierung des PCR-Produkts multiple PCR-Produkte von einem homologen Locus detektiert werden. Zu-

dem kann eine Basenpaarveränderung zwar identifiziert werden. Die veränderte Base kann aber nicht bestimmt werden (Edwards & Mogg 2001). Die hohe Anzahl von Fehlinformationen in der Basenpaarabfolge führen zu einer hohen Anzahl an Insertionen und Deletionen (Zharkikh et al. 2008). Deshalb empfehlen Edwards & Mogg (2001) zu klonieren, da besonders bei Insertionen oder Deletionen in der Sequenz, wie in unserem Fall, die direkte Sequenzierung zu Fehlinformationen führen kann. Doch die Sequenz, die durch das direkte Sequenzieren detektiert wurde, stimmt mit der Referenzsequenz (Vaclavicek 2004) überein, die kloniert wurde. Der 1 bp indel bei Cardinal (Abb. 19) für den es keine Referenzsequenz gibt, wurde ebenfalls von Goes Da Silva (2003) identifiziert. Trotzdem sollte beachtet werden, dass der Sequenzunterschied heterozygot ist und bisher kein PCR - Marker entwickelt werden konnte. Bei der Differenzierung von locker und kompakt mit dem Marker FLExp2 ist vermutlich nur ein Allel jeweils detektiert worden, da bei dem SCAR und CAPS Marker zwei PCR - Produkte mit beiden Sequenzierungsabfolgen identifiziert wurden (Abb.29).

Die Auswirkung des Hormongehaltes auf die Ausbildung einer lockeren oder kompakten Traubenarchitektur.

Das Hormon Gibberellin löst die Lockerbeerigkeit des Klon 1-84 Gm nicht aus (Tabelle 18, 19, 32). Denn der unbehandelte, lockerbeerige Klon 1-84 Gm zeigt zu den untersuchten Terminen keinen erhöhten Gibberellengehalt (Tabelle 10) gegenüber dem unbehandelten, kompakten Klon 18 Gm (Tabelle 10, 11). Bisher gibt es keine weiteren Untersuchungen über den Gibberellengehalt und deren Auswirkungen an unbehandelten Infloreszenzen bei *Vitis vinifera*. Doch das Hormon Auxin ist involviert in die Ausbildung der Lockerbeerigkeit des Klons 1-84 Gm, da dieser Klon einen höheren Auxingehalt als der kompakte Klon 18 Gm zu den untersuchten Zeitpunkten besitzt (Tabelle 7, 8). Eine veränderte Basenpaarabfolge im Expasingen und ein hoher IAA Gehalt im Klon 1-84 Gm sprechen für ein Auxin-Expansin induziertes Wachstum. Bekannt ist, dass Auxin das Wachstum der Stiele und Stielchen reguliert (Cleland 2010, Davies 2004) und in die Blütenformation bei *Arabidopsis* (Jones et al. 2005) und *Nicotiana tabacum* (Smulders et al. 1998), *Hyacinthus orientalis* (Lu et al. 1999, 2000) involviert ist. Bei Gehölzpflanzen stimuliert IAA die Xylementwicklung

und die Aktivität des Cambiums (Digby & Wareing 1966, Aloni 2004). In den Stielen veranlasst der basipetale IAA Transport die Entwicklung des vaskulären Gewebes (Aloni 2004, Koizumi et al. 2000).

Die Wirkung einer Gibberellinapplikation auf die Traubenmorphologie der Klone 18 und 1-84 Gm

Die GA₃ – Behandlung ruft eine lockere Traubenmorphologie bei dem Klon 18 Gm hervor, indem längere Gescheine und Stielchen ausgebildet werden. Bei dem Klon 1-84 Gm wirkt sie als „Verstärker.“ Die Behandlung bildet eine extrem lockerbeerige Traube aus (Abb. 25, 26). In vielen Freilandversuchen konnte durch eine Gibberellinbehandlung eine lockere Traubenstruktur ausgebildet werden (Alleweldt 1959, Considine 1970, Considine 1972, Weaver 1960). Bekannt ist, dass Gibberellin das Stielchen- und Infloreszenzwachstum durch eine erhöhte Zellteilung und Zelldehnung stimuliert (Alleweldt 1959, Sun 2010). Coombe (1960), Harris (1968), Numan et al. (2001), Ojeda et al. (1999), Perez et al. (2000), Sachs & Weaver (1968) und Staudt et al. (1986) zeigten, dass die Zellteilung und -streckung während der ersten beiden Wochen nach der Anthesis am stärksten ist. Untersuchungsergebnisse zu GA₃ behandelten Infloreszenzen bestätigen die Ergebnisse (Tabelle 18).

Tabelle 18: Vergleich der Zeitpunkte des GA₃-Anstieges oder der Zellteilung/-dehnung nach einer GA₃-Applikation

Sorte oder Kultur	Zeitraum	GA Anstieg/ Zellteilung/-dehnung	Autor
<i>V. vinifera</i> Klon 18 Gm unbeh.	Kein Anstieg	Keine GA ₃ -App.	Hoffmann, Steiner
<i>V. vinifera</i> Klon 18 Gm beh.	nach 50 h - 5 Tage n. der Anthesis	GA Anstieg	Hoffmann, Steiner
<i>V. vinifera</i> Klon 1-84 Gm unbeh.	Kein Anstieg	Keine GA ₃ -App.	Hoffmann, Steiner
<i>V. vinifera</i> Klon 1-84 Gm beh.	Nach 3 – 5 Tagen n. der Anthesis	GA Anstieg	Hoffmann, Steiner
<i>V. vinifera</i> Emperor	Kurz vor bis 10 Tage n. der Anthesis	GA Anstieg	Coombe 1959
<i>V. vinifera</i> Sultanina	Kurz vor bis kurz nach der Anthesis	GA Anstieg	Coombe 1959
<i>V. vinifera</i> Black Corinth	6 Tage bis 15 Tage nach der Anthesis	GA Anstieg	Coombe 1959
Aprikosen	Während der Fruchtentwicklung hoch, danach niedrig	GA Anstieg	Jackson & Coombe 1966
Kürbis	Bis 4 Tage nach der Anthesis	Zellteilung/-dehnung	Yu et al. 2001
Erbsen	Bis 2 Tage nach der Anthesis	Zellteilung/-dehnung	Ozga et al. 2002

In beiden Klonen steigt die Gibberellin- und die Auxinkonzentration in den Infloreszenzen nach einer GA₃ – Applikation an. Nicht nur das Hormon Gibberellin, sondern

auch Auxin kann auf die Traubenentwicklung wirken. Festzustellen ist, dass der Auxinverlauf des Klons 18 Gm dem Klon 1-84 Gm angepasst wird (Abb. 22). Ob Gibberellin bei dem behandelten Klon das Infloreszenz- und Stielchenwachstum auslöst oder eine Gibberellin – Interaktion auftritt, bleibt momentan ungeklärt. Iwahori et al. (1968) finden einerseits einen deutlichen Anstieg von Gibberellin nach der Befruchtung und andererseits, dass eine Gibberellinapplikation die Auxin - und GA - Aktivität in Beeren steigert. Eine Interaktion konnte statistisch nicht nachgewiesen werden (Abb. 28). Doch die Tendenz, dass eine GA – Behandlung den Auxingehalt im kompakten Klon beeinflusst, ist deutlich zu sehen (Abb. 26). Coombe (1959) vermutet, dass es eine Interaktion der Hormone (Gibberellin und Auxin) während des Wachstums der Beeren gibt. Yang et al. (1996) und Doerner (2007) stellten fest, dass Auxin für das Zellwachstum und Gibberellin für die Zellteilung verantwortlich sind und diese Prozesse voneinander abhängig sind. Während der Fruchtentwicklung interagieren bei *Arabidopsis* und *Vitis* beide Hormone miteinander (Ozga & Reinecke 2003, Weaver et al. 1962, Weaver & Sachs 1968). Bei Tomaten wirkt IAA und GA additiv (Serrini et al. 2007). Dieser Effekt könnte verantwortlich sein für eine verstärkt locker ausgebildete Traube bei dem Klon 1-84 Gm behandelt, denn der Gibberellin Gehalt und der Auxingehalt sind hoch. Bei Erbsen wird das Wachstum der Stielchen und des Parthenokarp von beiden Hormonen reguliert (Phillips et al. 1959, Sastry & Muir 1963, Law & Hamilton 1984, Ikeda et al. 1999, Vivian-Smith & Koltunow 1999). Thomas & Hedden (2006) fanden heraus, dass die Gewebeelongation durch die Menge der Auxinkonzentration gesteuert wird. Der Auxingehalt wird von dem Hormon Gibberellin beeinflusst, das als „long distance Signal“ agiert (Brian & Hemming 1958, Barratt & Davies 1997, Thomas & Hedden 2006). Entsprechend unseren Ergebnissen beobachteten Coombe (1959) und Nitsch et al. (1968), dass der Auxingehalt von einer niedrigen zu einer hohen Konzentration während und kurz nach der Blüte ansteigt und sortenspezifisch variiert. In Tabak werden Auxin ähnliche Verbindungen von der Basis zum Ovar 13 bis 20 h und in den Stielchen 60 bis 65 h nach der Blüte transportiert (Ozga & Reinecke 2003). Bei unbefruchteten Tomaten zeigten Sastry & Muir (1963), dass eine GA₃-Applikation den Auxingehalt 28 Stunden nach der Blüte erhöht und GA die Auxinbiosynthese stimuliert.

Standorteffekte wirken auf den Hormongehalt (Gibberellin und Auxin)

Die statistische Auswertung der beiden Standorte wurde getrennt durchgeführt, da diese aufgrund unterschiedlicher Umwelteinflüsse zu keinem vergleichbaren Versuchsergebnis führen konnten (Piepho, persönliche Mitteilung). Die Tagestemperatur variierte in Heppenheim zwischen 19 °C und 26 °C und in Geisenheim von 18 °C und 22,9 °C (Anhang Abb. 33, 34). Die Tagesglobalstrahlung ist in Heppenheim während des Versuchszeitraumes um 1761,5 W/m² höher. Die Temperatur beeinflusst die Infloreszenzentwicklung (Buttrose & Hale 1973, Srinivasan & Mullin 1980a,) Unterschiedliche Entwicklungsstadien können verschiedene Hormonkonzentrationen in der Analyse hervorrufen. Die Gescheine der beiden Standorte können daher zu den verschiedenen Zeitpunkten der Probenahme unterschiedlich entwickelt sein oder Umwelteinflüssen, wie Temperaturen etc. ausgesetzt sein. Ebenso kann der physiologische Zustand der Pflanze beeinflusst sein, der sich auf den Hormonhaushalt auswirkt. In unserem Versuch wurde der Einfluss verschiedener Entwicklungsstadien der Infloreszenzen reduziert, indem immer das Geschein der zweiten Insertion untersucht wurde (Rühl, persönliche Mitteilung). Die Blütendetermination wird im Vorjahr angelegt (Carmona et al. 2008). Nicht nur das Versuchsjahr, sondern das Vorjahr hat Einfluss auf den Hormongehalt. Weitere Einflüsse auf die Entwicklung der Infloreszenzen können die Nährstoffversorgung und die Wasserversorgung darstellen (Luckert 1976, Capari et al. 1998). Zu dem Zeitpunkt der Probenahme 0 Stunden nach der Applikation sind die IAA Werte in Heppenheim gegenüber Geisenheim sehr gering. Die Reben in Heppenheim waren am Tag vor der Applikation besonders hohen Temperaturen ausgesetzt (26 °C mittlere Tagestemperatur in Heppenheim gegenüber 23 °C in Geisenheim). Die Temperatur beeinflusst den Auxinmetabolismus in Pflanzen (Iwahori 1968). Tomatenpflanzen, die drei Tage nach der Anthesis einer Temperatur von 40 °C ausgesetzt waren, zeigten niedrige Auxinkonzentrationen in den folgenden Tagen.

Morphologische Datenerhebung

Anhand der morphologischen Untersuchungen kann die lockere Traubenarchitektur nachgewiesen werden. Der Klon 1-84 Gm hat längere Infloreszenzen, Stielchen,

Stielgerüste, Stiele, Trauben und eine geringere Beerenanzahl, ein geringeres Beerengewicht und Traubengewicht als der Klon 18 Gm (Tabelle 12, 13, 14, Abb. 31).

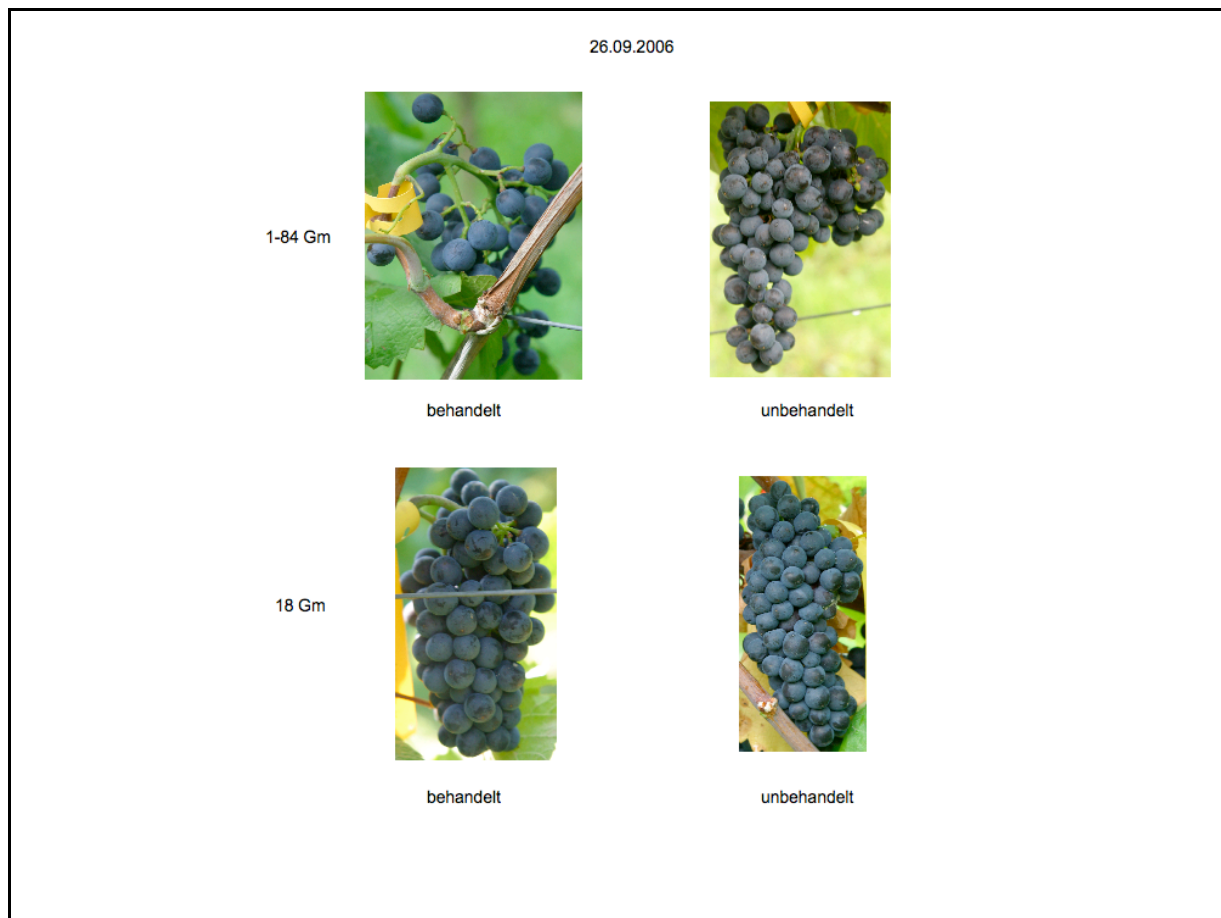


Abbildung 30: Phänotypische Auswirkungen auf die Traubenarchitektur der Klone 18 Gm und 1-84 Gm. Oben: 1-84 Gm locker, rechts: behandelt; links: unbehandelt; unten: 18 Gm kompakt, rechts: behandelt; links: unbehandelt (Fotos: E. Schönhals)

Alphart et al. 2007 konnte diese Ergebnisse im Vorversuch an verschiedenen lockeren und kompakten Pinot noir Klonen bestätigen. Die Behandlung verstärkt das Wachstum der Infloreszenzen, der Stielchen, der Stielgerüste, des Stiels und der Traubenlänge bei beiden Klonen und die Reduktion des Beerengewichts, Traubengewichts und der Beerenanzahl (Tabelle 13 -17). Alleweldt (1959), Considine & Coombe (1972), Rives & Pouget (1959), Weaver & McCune (1959 a, b, c, 1962), und Zhang et al. (2008) beschreiben ein Wachstum der Infloreszenzen und Stielchen nach einer Gibberellinbehandlung. Das geringe Beerengewicht, Traubengewicht und die geringe Beerenanzahl wurden von Alleweldt (1959), Ben-Tal (1990), Considine & Coombe (1972), Ritter (2003), Weaver & McCune & Hale, (1962), festgestellt. Weaver (1978) und Considine & Coombe (1972) haben nachgewiesen, dass die ver-

ringerte Beerenanzahl das Traubengewicht und das Beerengewicht reduzieren. Die Größe der Infloreszenzen und der Stielchen des unbehandelten Klons 1-84 Gm und des behandelten Klons 18 Gm sind gleich groß. Nicht nur das Wachstum der Infloreszenzen und der Stielchen ist identisch, sondern auch der Hormonverlauf. Die Wachstumsphase der Infloreszenzen endet am 26./28.06.2006 bei allen Versuchsvarianten und stagniert dann (Tabelle 17). Doch die Wachstumsintensität hängt vom Klon und seiner Behandlung ab (Tabelle 17). Die Ergebnisse von Shavrukov et al. (2004) zeigen, dass das Infloreszenzwachstum kurz nach der Anthesis stagniert. Bei den Stielchen ist das Wachstum kontinuierlich, auch wenn keine Signifikanzen, im Bezug auf den Zeitpunkt der Probenahme nachgewiesen werden konnten (Tabelle 13, Abb. 28).

Test auf Reproduzierbarkeit der Daten

1. Experimentelles Design

Die Datenreproduktion ist auf Grund des Versuchsaufbaus gewährleistet. Der Feldversuch war so ausgelegt, dass die Ergebnisse mehrmals wiederholt und verglichen werden konnten. Die einzelnen Versuchsvarianten sind in dreifacher Wiederholung durchgeführt (Wünsche, persönliche Mitteilung) und gesammelt worden (Abb. 13-15, 24-26). Um den Einfluss der Umweltbedingungen zu verringern, wurde der Versuch an zwei Standorten angelegt. An jeder Versuchspflanze wurde nur eine Probe genommen, weil während der Probenahme Verletzung entstehen können, die den Hormonhaushalt der Rebe beeinflussen können. Eine später erneute Probenahme an derselben Pflanze kann zu fehlerhaften Hormonwerten führen (Rühl, persönliche Mitteilung). Der Versuch wurde mit SAS 9.1 randomisiert (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), um die Versuchsvarianten zufällig anzuordnen. Der identische, genetische Hintergrund der Anlage wurde gesichert, da an beiden Standorten die gleichen Edelreiser und dieselbe Unterlagen verwendet wurden. Eine Abweichung im Alter der Rebanlagen konnte nicht ausgeschlossen werden. Physiologische Unterschiede der beiden Anlagen (Geisenheim, Heppenheim) sind aus diesem Grund nicht zu vermeiden. Die Verwendung von einheitlichem Versuchsmaterial, wie Edelreiser und Unterlagen, sind ein wichtiger Aspekt. Um gleiche Behandlungsbedingungen zu garantieren, wurde an den beiden Standorten der Zeitpunkt der GA₃-Applikation in den Mor-

genstunden durchgeführt (Tabelle 3). Der Tag der Behandlung unterscheidet sich an den beiden Standorten, denn die Behandlung richtet sich nach dem BBCH Stadium der Gescheine (Tabelle 3). Die Wetterbedingungen beeinflussen das Versuchsergebnis. Somit kann das Wachstum an den Standorten variieren (Tabelle 3, Abb. 27, 28). Fehler bei der Probennahme wurden ausgeschlossen, indem die Proben nach der gleichen Vorgehensweise genommen wurden.

2. Versuchsdurchführung

Der Versuch verschafft einen guten Überblick bei Pinot noir über die hormonellen und morphologischen Veränderungen der Gescheine zum Zeitpunkt der Blüte (BBCH 65) bis zum Fruchtausatz. Obwohl der Versuch nicht über mehrere Jahre durchgeführt wurde, konnten die Ergebnisse bis auf die Auswirkungen der klimatisch unterschiedlichen Bedingungen an den beiden Standorten (Tabelle 7-11, Abb. 15-17) bestätigt werden. Um die Ergebnisse zu verfestigen, sollte der Versuch in zwei oder drei aufeinander folgenden Jahren wiederholt werden. Eine zukünftig großflächigere Versuchsplanung ist empfehlenswert, da aufgrund von klimatischen Bedingungen die Hormondaten für jeden Standort getrennt ausgewertet werden mussten. Es konnte kein statistisch abgesicherter Klonvergleich durchgeführt werden. Die zur Verfügung stehenden Pflanzen jedes Klons standen in einer Reihe, da auf eine schon bestehende Rebanlage zurück gegriffen wurde. Eine versuchsbezogene Anpflanzung nimmt einen zu langen Zeitraum in Anspruch. Bekanntlich bildet die Rebe erst im zweiten oder dritten Jahr Blüten aus. Einen Überblick über die Auswirkung der Gibberellinapplikation auf die beiden Klone konnte trotz nicht korrekter statistischer Absicherung anhand eines Mittelwertvergleiches durchgeführt werden (Tabelle 10, 11 Piepho, persönliche Mitteilung).

3. Kontrolle der RIA – Analyse

Zur Absicherung der Ergebnisse der RIA-Analyse wurden biologische und methodische Kontrollen eingesetzt. Die dreifache Wiederholung der Versuchsvarianten ist die biologische Kontrolle (Wünsche, persönliche Mitteilung). Jede dieser Wiederholungen wurde separat analysiert. Einige Wiederholungen weisen unterschiedliche Ergebnisse bei der Analyse auf, die ein zweites Mal analysiert wurden (Steiner 2007). Diese können durch physiologische Unterschiede der einzelnen Pflanzen entstehen,

da die Proben an unterschiedlichen Pflanzen genommen wurden. Verschiedene Entwicklungsstadien der Gescheine können der Grund für die abweichenden Ergebnisse der Standorte sein. An derselben Pflanze können die Entwicklungsstadien der Gescheine variieren (Rühl, persönliche Mitteilung). Jedes Entwicklungsstadium hat einen unterschiedlichen Hormongehalt. Die Abweichungen der Messungen können außerdem auf methodischen Problemen beruhen, da die Wiederholungen nicht in der gleichen Extraktion herausgelöst wurden (Steiner 2007). Ein Grund für Abweichungen zwischen den beiden Wiederholungen kann durch stark unterschiedlich gemörserte Proben entstehen, deren Gescheine nicht komplett homogenisiert wurden (Hegele, persönliche Mitteilung, Steiner 2007).

Die dreifache Messwiederholung der RIA-Analyse ist die methodische Kontrolle. Jede zu untersuchende Probe wird dreimal analysiert, und aus den drei Messergebnissen wird ein Mittelwert gebildet. Messungen, die außerhalb der Eichkurve lagen, unterschiedliche Einsatzmengen des Aliquots und der Trockenmasse aufwiesen, wurden nicht in die Auswertung einbezogen.

4. Hormonuntersuchung

Mit der von uns verwendeten RIA-Methode kann Gibberellin als Kombination von GA₃, GA₁₇ und GA₂₀ analysiert werden. Die Methode erlaubt nicht die Differenzierung der einzelnen Gibberellinmengen und bietet nicht die Möglichkeit, die einzelnen Gibberelline in den Gescheinen einem Versuchszeitpunkt zuzuordnen. Das Gibberellin GA₂₀ steht an Schlüsselstellen im Gibberellinkreislauf und entscheidet über inaktive oder aktive Gibberelline und wirkt auf das Gen *PsGA20ox1* (Ross & O'Neill 2001), was von Interesse hinsichtlich der Lockerbeerigkeit sein könnte. Somit kann keine Aussage über die inaktive und aktive Menge von Gibberellin getroffen werden, sowie deren Auswirkung auf das Wachstum der Gescheine und Stielchen. Bekannt ist, dass diese Hormone in *V. vinifera* L. vorkommen (Perez et al. 2000) und in das Pflanzenwachstum involviert sind.

Bis heute sind Hormonuntersuchungen schwer durchzuführen, da geringe Mengen an Substanzen während der Analyse eingesetzt werden, wodurch Versuchsfehler entstehen können (Ljung et al. 2001). Es gibt drei unterschiedliche Methoden zur Untersuchung von Hormonen wie das physio-chemische Assay, das Immunoassay und

das Bioassay. In unserem Fall wurde das Immunoassay verwendet, das zwar unspezifisch, aber eine sehr wirksame Methode ist (Öpik & Rolfe 2005).

6. Ausblick

Die durchgeführten molekularen Untersuchungen zeigten, dass das Merkmal für Lockerbeerigkeit heterozygot ist. Daher kann momentan kein Marker, der locker und kompakte Klone differenziert, der MAS zur Verfügung gestellt werden. Die Heterozygotie sollte durch eine zusätzliche Methode wie der real time PCR nochmals nachgewiesen werden, um mehrere Methoden zu haben, die dieses Ergebnis absichern. Die Auswirkung der Heterozygotie auf die Ausbildung des lockeren oder des kompakten Phänotypen sollte aufgedeckt werden. Festzustellen ist, dass die Lockerbeerigkeit nicht alleine auf der Mutation im *Vlexp1* Gen zurückzuführen ist, sondern ein komplexes Konstrukt ist. Auf der mRNA Ebene sollte die Expression des Expansingens *Vlexp1* zu den unterschiedlichen Versuchszeitpunkten sowie in den verschiedenen Versuchsvarianten nachgewiesen werden, um weitere Aufschlüsse über die Funktion des Gens zu erhalten. Dadurch ist es möglich, den Expressionszeitpunkt herauszufinden. Die Erkenntnisse aus den hormonellen Untersuchungen sollten als Grundlage für weitere Untersuchungen dienen. Die GC-MS Methode zur spezifischen Hormonuntersuchung sollte angewandt werden, um einen Aufschluss über den Einfluss der Hormone und deren involvierten Gene auf die Lockerbeerigkeit zu geben. Die Expression von Auxin oder Gibberellin sollte genetisch nachgewiesen werden. Eine Immunolokalisation und spezifischere Hormonuntersuchungen könnten einen weiteren Aufschluss über die einzelnen Hormonkonzentrationen zu den unterschiedlichen Versuchszeitpunkten in den einzelnen Versuchsvarianten geben. Ein weiteres Ziel sollte sein, den Mechanismus der induzierten Lockerbeerigkeit aufzudecken. Als Endziel sollte die Expression des *Vlexp1* Gens reguliert werden, so dass dieses Gen an - und ausgeschaltet werden kann und dadurch die Lockerbeerigkeit gesteuert werden kann. Kompakte Klone können durch eine Transformation eine lockere Traube ausbilden.

7. Zusammenfassung

Im Weinbau ist die Traubenarchitektur von großer Bedeutung, da diese Auswirkungen auf die Qualität der Trauben hat. Kompakte Trauben neigen stärker zu einer *B. cinerea* Infektion, die ertragsreduzierend wirkt (Vail et al. 1998, Vail et al. 1991). Eine lockere Traube hat längere Stielchen und eine längeres Stielgerüst (Alleweldt 1959). Aus diesem Grund ist der Anbau von lockerbeerigen Klonen im Weinbau von großem Interesse. Lockerbeerigkeit kann durch die Applikation von Phytohormonen, Teilung der Gescheine, durch Fruchtausdünnung oder einen reduzierten Anschnitt entstehen. Bei der induzierten Lockerbeerigkeit bilden die kompakten Klone längere Stielchen und Gescheine aus und der Beerenansatz ist reduziert (Alleweldt 1959). Aus den kompakten Klonen wurden lockere Klone selektioniert.

Im Laufe dieser Arbeit ist es anhand der Sequenzierungsprodukte des Markers FLExp2 gelungen, locker und kompakte Klone zu differenzieren. Die lockeren Klone zeigen eine 4 bp Deletion bei 219-222 bp und eine C/T Transition 231 bp gegenüber den kompakten Klonen. Zusätzlich wurde der Marker an den Sorten Riesling, Roter Traminer, Chardonnay, Chenin blanc, Cardinal und Weißer Gutedel getestet. Bei den lockerbeerigen Tafeltrauben tritt anstelle der Transition eine Deletion auf. Zudem zeigt die Sorte Weißer Gutedel eine C/T Transition bei 217 bp. Das Ergebnis wurde verifiziert, indem 30 Klone in beide Richtungen in zweifacher Wiederholung sequenziert wurden. Bei der Entwicklung des CAPS und SCAR Marker konnte nachgewiesen werden, dass das Merkmal Traubenarchitektur heterozygot ist. Beide Marker zeigen zwei Fragmente, die einen 4 bp Unterschied aufweisen. Die Amplifikationsprodukte zeigen die Indel/SNP Mutation der lockeren und die „CTTT“ Mutation der kompakten Klone. Der CAPS Marker hat die Fragmente bei 283 bp und bei 287 bp und der SCAR Marker bei 162 bp und bei 166 bp. Aufgrund der Heterozygotie kann bisher kein Marker der MAS zur Verfügung gestellt werden. In silico Analysen zeigen, dass die Mutation für eine lockere Traubenarchitektur im Exon des *Vlexp1* Gens liegt.

Teilweise konnte die Rolle der Hormonkonzentration in den Infloreszenzen in Bezug auf die Traubenmorphologie entschlüsselt werden und erste Grundbausteine für weitere Untersuchungen gelegt werden. Die Infloreszenzen des genetisch lockeren

Klons 1-84 Gm zeigten keinen erhöhten Gibberellin Gehalt. Daraus kann geschlossen werden, dass Gibberellin keinen Einfluss auf die Ausbildung einer genetisch bedingten lockeren Traube hat. Doch die Auxinkonzentration steigt früher an und ist länger erhöht gegenüber den Infloreszenzen des kompakten Klons 18 Gm. Durch eine Gibberellinapplikation werden der Gibberellin Gehalt und Auxin Gehalt des Klons 1-84 Gm erhöht und eine noch stärkere lockere Traube ausgebildet. Die Applikation löst bei dem Klon 18 Gm eine lockere Traube aus. Der Gibberellin und Auxin Gehalt steigt an. Gibberellin bewirkt eine längere und höhere Auxinkonzentration bei dem Klon 18 Gm. Ungeklärt bleibt, wie die Gibberellinbehandlung die induzierte Lockerbeerigkeit auslöst, oder ob eine Gibberellin Auxin Interaktion oder Auxin alleine die Zellexension bewirkt. Ebenso bleibt offen, ob Expansin zusammen mit Gibberellin oder mit Auxin oder mit einer Gibberellin Auxin Interaktion eine lockere Traube ausbildet.

Die Stielchen und Infloreszenzen der behandelten und unbehandelten Klone wurden vor und wöchentlich bis zu vier Wochen nach der GA₃-Applikation gemessen. Dabei wurde festgestellt, dass das Wachstum der Gescheine drei Wochen nach der Anthese endet, und dass der Stielchen kontinuierlich steigt. Bei dem lockeren Klon 1-84 Gm ist das Wachstum der Gescheine und Stielchen signifikant größer als bei dem kompakten Klon 18 Gm. Durch die Gibberellinbehandlung ist die Wachstumsintensität des Klons 1-84 Gm unbehandelt und des Klons 18 Gm behandelt identisch. Eine Gibberellinbehandlung bewirkt ein signifikantes stärkeres Wachstum der Gescheine und Stielchen. Der behandelte lockere Klon bildet die größten Stielchen aus und der unbehandelte Klon 18 Gm die kleinsten. Aufgrund dieses Wachstumsverhaltens der Klone entsteht eine lockere Traubenarchitektur.

8. Summary

In viticulture, the architecture of the grape cluster affects the quality of the grapes. Compact grape clusters are more prone to *B. cinerea* infection, which reduces yield (Vail et al. 1998, Vail et al. 1991). Loose clusters have longer pedicel and rachis structures (Alleweldt 1959) and are less susceptible to *B. cinerea*. For this reason, the cultivation of clones with the loose cluster trait is of great interest. Loose clusters can result from the application of phytohormones, the spacing of the flower clusters, the thinning of fruit, or a reduced pruning. These treatments reduce berry set and promote pedicle elongation when applied to clones with compact clusters (Alleweldt 1959). Genetically based loose clustered grape phenotypes occur among grapevine cultivars.

In this study we are able to differentiate between loose and compact clones using the marker F1Exp2 on the basis of sequence data. The loose cluster clones show a 4 bp deletion at 219-222 bp and a C/T transition at 231 bp, unlike the compact cluster clones. In all tested Pinot ssp. clones, the sequence correlated to the phenotype. The marker was tested on other varieties such as Riesling, Gewurztraminer, Chardonnay, Chenin blanc, Cardinal and White Chasselas. The phenotypes were again consistent with the sequence. In the case of loose clustered table grapes, a deletion occurs instead of the transition at 231 bp. Additionally, the variety White Gutedel demonstrated a C/T transition at 217 bp. These results were confirmed by sequencing 30 clones (loose and compact clusters) in two repetitions in both directions. Both markers showed two fragments with a four bp difference. The amplification products are a In-del/SNP mutation for loose cluster and a „CTTT“ mutation for compact cluster grapes. The CAPS and the SCAR marker identified that the trait of bunch architecture is heterozygous. The sequence of the amplification products was distinct for loose and compact cluster types. The SCAR marker shows two amplification products at 162 bp and 166 bp and the CAPS marker at 283 bp and 287 bp. The heterozygosity didn't produce a molecular marker for the MAS.

In silico, analysis shows that the identified locus is in the Exon in the *Vlexp1* gene. This gene is an expansin gene which is responsible for cell elongation (McQueen-Mason 1992).

A part of the role which the hormones play in grape Morphology was analyzed in this study. The inflorescences of the genetically loose clustered clone 1-84 Gm did not show increased gibberellin concentration, indicating that gibberellin does not have a influence on the genetic based loose clone (1-84 Gm). However, the auxin concentration in inflorescences of loose cluster clones increases earlier and remains high longer than in those of the compact cluster clone 18 Gm. After a treatment with gibberellin, the clone 1-84 Gm exhibited increased concentration of both gibberellin and auxin and formed even looser clusters. Similarly, the same treatment applied to the compact clone 18 Gm resulted in looser clusters and increased concentration of gibberellin and auxin with a higher concentration of auxin for a longer period of time. It remains unclear precisely how the gibberellin treatment induces looser clusters. It may be that there is an interaction between gibberellin and auxin or that the auxin alone causes the cell extension. It remains an open question whether expansin together with gibberellin or auxin is responsible for the development of loose clusters, or if it is caused by a gibberellin auxin interaction. The growth pattern of the stalks and inflorescences were identified in order to put these results in context with the results of the hormone and genetic analysis. The stalks and inflorescences of the treated and untreated clones were measured weekly before GA3-application and continued four weeks after application. The growth of the flower clusters ended three weeks after anthesis while the stalks grew continuously. In the loose cluster clone 1-84 Gm, the growth of stalks and flower clusters was significantly larger than in the compact cluster clone 18 Gm. The growth behavior of the clone 18 Gm when treated with gibberellin was identical to the clone 1-84 Gm without gibberellin treatment. Gibberellin treatment caused a significant increase in the growth of the stalk and flower clusters. The treated loose cluster clones formed the largest stalks while the untreated compact cluster clone 18 Gm the smallest. Such clone growth behavior results in loose cluster architecture.

9. Anhang

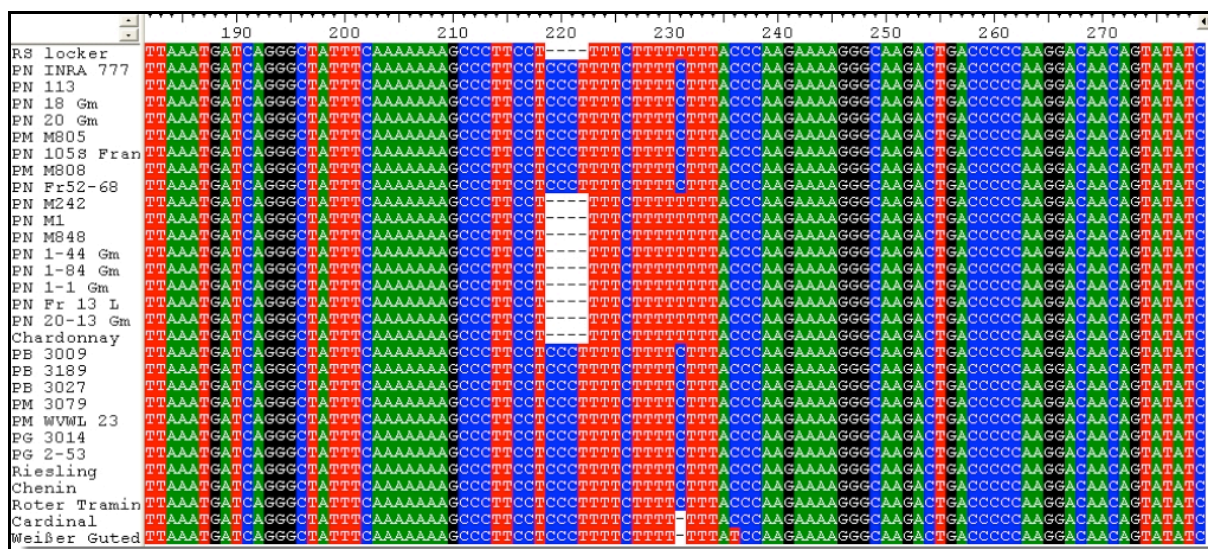


Abbildung 31: Ausschnitt aus dem Sequenzabgleich des Markers ExpF12. Sequenzunterschiede bei den lockerbeerigen und der kompakten Klonen. RS Referenzsequenz (Vaclavicek 2004), PN Pinot noir, PM Pinot meunier, PG Pinot Gris, PB Pinot blanc.

Tabelle 19: Summe der Tagesglobalstrahlung (W/m^2) für den Monat Juni 2006

Standort	Geisenheim	Heppenheim	Differenz
	391097,2	394535,6	3438,4

Tabelle 20: Summe der Tagesglobalstrahlung (W/m^2) für den Versuchszeitraum 15.06.-26.06.2006

Standort	Geisenheim	Heppenheim	Differenz
	152293,4	154054,9	1761,5

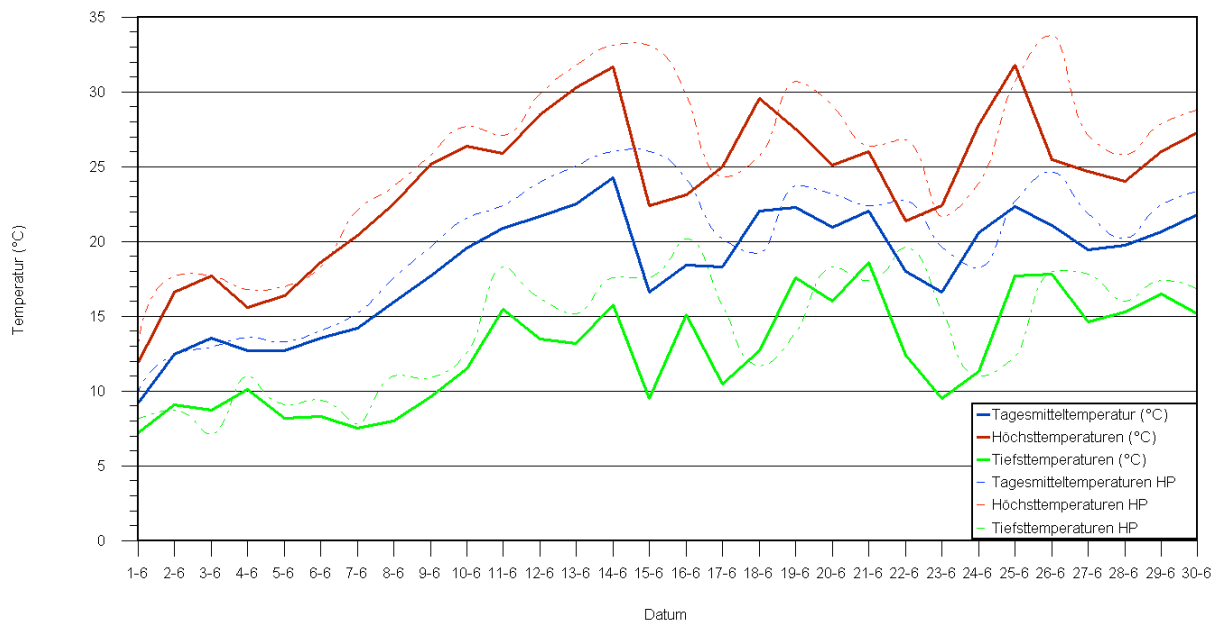


Abbildung 32: Temperaturverlauf Juni 2006; gestrichelte Farblinien: Standort Heppenheim ; nicht gestrichelte Linien: Standort Geisenheim

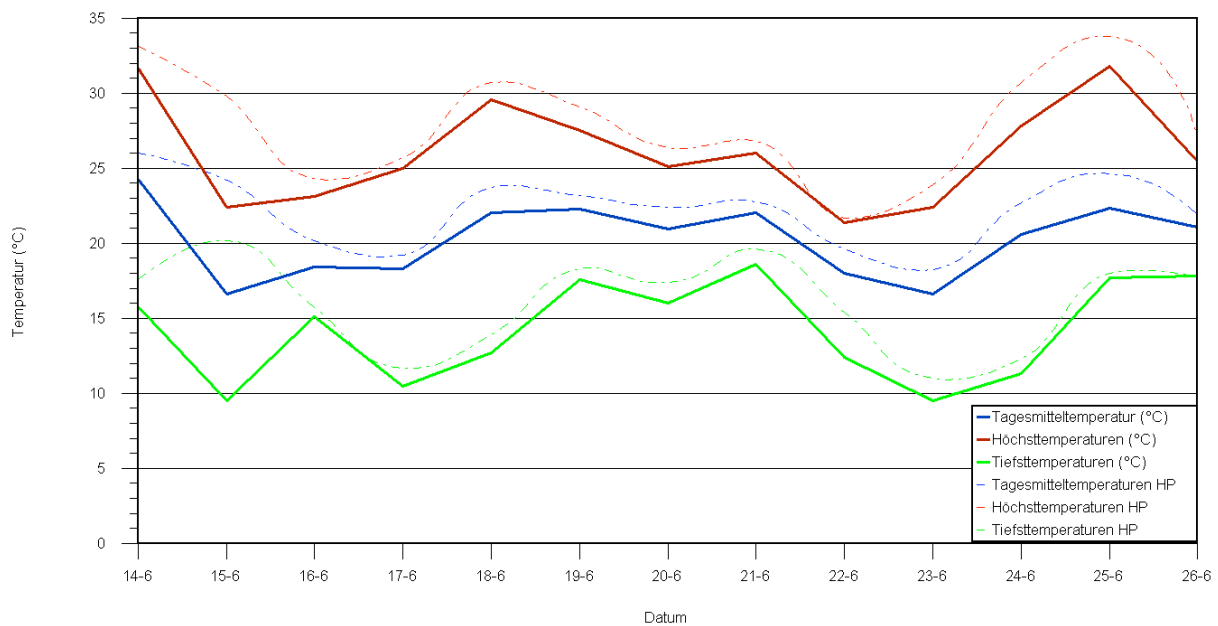


Abbildung 33: Temperaturverlauf während des Versuchszeitraumes 2006: gestrichelte Farblinien: Standort Heppenheim; nicht gestrichelte Linien: Standort Geisenheim

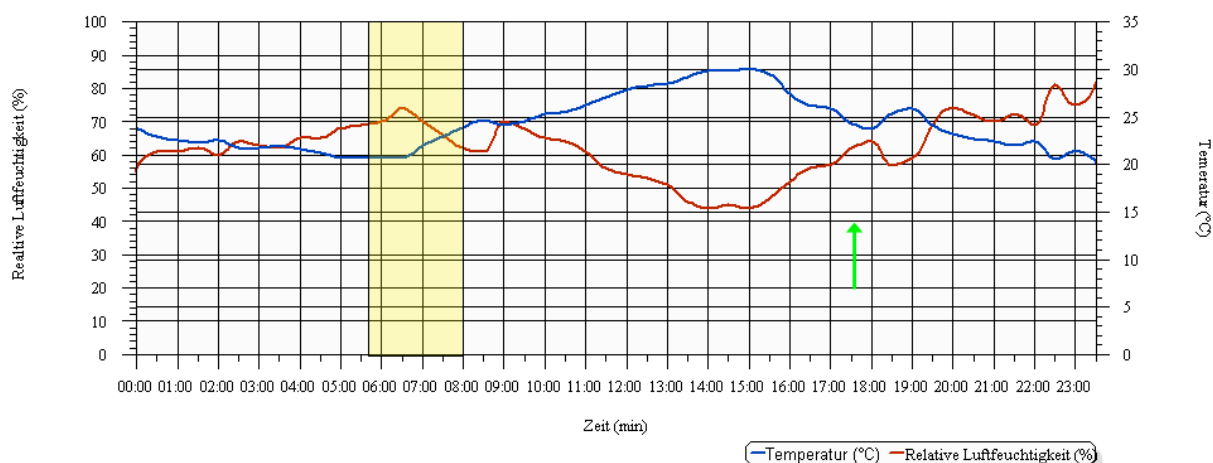


Abbildung 34: Standort Heppenheim

Umweltbedingungen am Tag der GA₃-Behandlung (relative Luftfeuchtigkeit, Temperatur und Niederschlag um 17:30 Uhr von 0,1mm Deutscher Wetterdienst 2006).

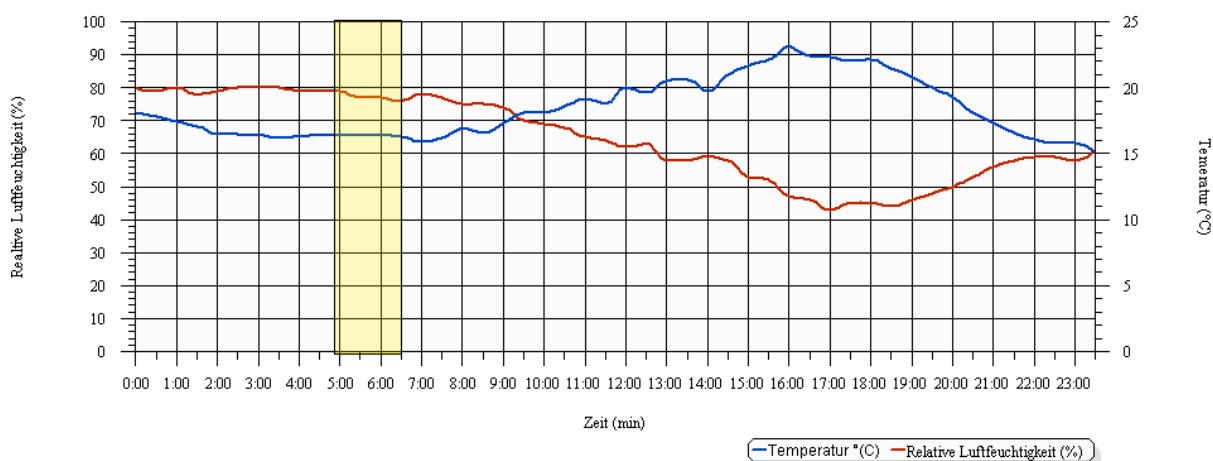


Abbildung 35: Standort Geisenheim

Umweltbedingungen am Tag der GA₃-Behandlung (relative Luftfeuchtigkeit, Temperatur Deutscher Wetterdienst 2006)

10. Referenzen

- Abel, S., Theologis, A., (1996). Early genes and auxin action. *Plant Physiol* 111, 9-17.
- Abu-Zahra, T.R., (2010) Berry size of Thompson seedless as influenced by the application of gibberellic acid and cane gridling. *Pak. J. Bot.* 42(3), 1755-1760.
- Achleitner, D. (2008) Untersuchungen zur lateralen Infektion von Weintrauben durch *Botrytis cinerea*. Dissertation, Boku Wien
- Agrios, G.N. (1997) *Plant pathology*. 5. Auflage, Academic Press, London 1997.
- Alleweldt, G., (1961). Hemmung der Blütenbildung von *Vitis rupestris* durch Gibberellin. *Die Naturwissenschaften* 19, 628-629.
- Alleweldt, G., (1967) Physiologie der Rebe. *Vitis* 6, 63-81.
- Alleweldt, G., (1960). Austriebshemmung und -förderung der Winterknospen von Reben durch Gibberellinsäure und Rendite. *Die Wein-Wissenschaft* 1.
- Alleweldt, G., (1959). Förderung des Infloreszenzwachstums der Reben durch Gibberellinsäure. *Vitis* 2, 71-78.
- Alphart, F., Gschweicher, B., Schneider, F., (2007). Bioregulative Wirkung von Gibberellin auf die Rebenblüte und die Konsequenz für die Lockerbeerigkeit. Effekte chemischer Ausdünnungsmittel auf Blüte und Frucht. Replays durchgeführter Ausdünnungsversuche in Österreich und Deutschland. Bakkulaureatsarbeit, Universität für Bodenkultur.
- Ambrosi, H., Dettweiler-Münch, E., Rühl, E.H., Schmid, J., Schumann, F. (1998). *Farbatlas Rebsorten*. 300 Sorten und ihre Weine. (2 Auflage) Eugen Ulmer Verlag.
- Aloni, R., (2004). The induction of vascular tissue by auxin. In Davies PJ (Hrsg.), *Plant hormones. Biosynthesis signal transduction, action!* (2. Auflage) (Seite 471-492) Dordrecht, Niederlande: Kluwer Academic Publisher.
- Akaike, H., (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Autom. Control* AC- 19, 716-723.
- Appelford, N.E.J., Evans, D.J., Lenton, J.P., Gaskin, P., Croker, S.J., Devos, K., Phillips, A.L. & Hedden P., (2006). Function and transcript analysis of gibberellin-biosynthetic enzymes in wheat. *Planta* 233, 568-582.
- Aradhya, M.K., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.M., Walker, M.A., Meredith, C.P., Simon, C. (2003). Genetic structure and differentiation in cultivated grape *Vitis vinifera*. *Genetical Research* 81 (3), 179-192.
- Baker, E.L., (1982). Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In Culter DF, Alvin KL und Priece CE (Hrsg.), *The Plant Cuticle*. Linnean Soc. Symposium Series 10, 139-165, London, Academic Press.
- Bangerth, F., (2000). Abscission and the thinning of young fruit and their regulation by plant hormones and bioregulators. *Plant Growth Regulation* 31, 43-59.
- Barratt, N.M., Davies, P.J., (1997). Development changes in the gibberellin-induced growth response in stem segments of light-grown pea genotypes. *Plant Growth Regul* 21, 127-134.
- Bartel, B., LeClere, S., Magidin, M., Zolman, B.K. (2001). Inputs to the active indole-3-acetic acid pool: De Novo Synthesis, Conjugate Hydrolysis, and Indole-3-Butyric Acid β -Oxidation. *Journal of Plant Growth Regulation* 20, 198-216.

- Batley, J., Barker, G., O'Sullivan, H., Edwards, K.J. & Edwards, D., (2003). Mining for Single Nucleotide Polymorphisms and Insertions/Deletions in Maize Expressed Sequence Tag Data. *Plant Physiology* 132, 84-91.
- Becker M., (2004) Geschichtliche und aktuelle Betrachtungen einer Farbmutation am Beispiel der Burgunderfamilie. Bachelorarbeit, Universität Hohenheim, Fachgebiet Weinbau-Biotechnologie.
- Becker, H., (1993) Pflanzenzüchtung. Stuttgart, Eugen Ulmer Verlag.
- Becker, J., Vos, P., Kuiper, M., Salamini, F., Heun, M., (1995). Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. *Mol Gen Gent* 249, 65-73.
- Benning, C., (1986). Evidence supporting a model of voltage-dependent uptake of auxin into cucurbita-pepo vesicles. *Planta* 169, 288-237.
- Ben-Tal, Y., (1990). Effect of Gibberellin treatments on ripening and berry drop from Thompson Seedless Grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 41 (2), 142-146.
- Bergfeld R, Speth V and Schopfer P (1988) Reorientation of microfibrils and microtubules in the outer epidermal wall of maize coleoptiles during auxin-mediated growth. *Bot. Acta* 101, 57-67.
- Berting, I., Bangerth, F., (1995). Changes in hormonal pattern of the new growth of *Sclerocarya birrea* after rejuvenation treatment with GA₃ and „Heading Black“. *Gartenbauwissenschaften* 60 (3), 119-122.
- Bessis, R., (1961). Détermination hivernale anticipée de la richesse en fleurs et du rendement maximum en fruits d'un vignoble. *C.R. hebd. Acad. Agr. France* 47, 617-622.
- Bhatramakki, D., & Rafalski, A., (2001). Discovery and application of single nucleotide polymorphism markers in plants. In Henry R.J. (Hrsg.), *Plant Genotyping the DNA Fingerprinting of Plants*. (Seite 179-191), Oxon, UK., CABI Publishing.
- Blaich, R., Konradi, J., Rühl, E., Forneck, A., (2008). Assessing genetic variation among Pino noir (*Vitis vinifera* L.) clones with AFLP markers. *Am. J. Enol. Viti-cult.* 58 (4), 526-529.
- Blaich, R., Stein, U. & Wind, R., (1984). Perforationen in der Cuticula von Weinreben als morphologischer Faktor der Botrytisresistenz. *Vitis* 23, 242-256.
- Blakeslee, J., Peer, W.A. & Murphy, A.S., (2005). Auxin transport. *Curr. Opin. Plant Biology* 8 (5), 494-500.
- Blázquez, M.A. & León, J., (2006). Plant Hormone Signaling: Reproductive development. *Annu. Plant Rev.* 24, 2933-29310.
- Bleyer, K., (2001) Klonzüchtung beim Blauen Spätburgunder. *Rebe & Wein* Nr 11, 22-26.
- Blilou, I., Xu, J., Wildwater, M., Willemsen, V., Paponov, I., Friml, J., Heidstra, R., Aida, M., Palme, K., Scheres, B., (2005). The *PIN* auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in Arabidopsis roots. *Nature* 433, 39-44.
- Biemelt, S., Tschiersch, H. & Sonnewald, U., (2004). Impact of altered gibberellin metabolism on biomass accumulation, lignin biosynthesis, and photosynthesis in transgenic tobacco plants. *Plant Physiol.* 135, 254-265.
- Bohner, J., Bangerth, F., (1988). Effect of fruit set sequence and defoliation on cell number, cell size and hormone levels of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill.) within a truss. *Plant Growth Regulation* 7, 141-155.
- Botti, C. & Cooper, T., (1994). Histological changes in pedicel of grape cultivar Thompson Seedless as related to GA₃ treatments. *Wein-Wissenschaft, Wiesbaden* 49, 110-113.

- Boss, P.K., Buckeridge, E.J., Poole, A., Thomas, M.R., (2003). New insights into grapevine flowering. *Functional Plant Biology* 30, 593-606.
- Boss, P.K., Sensi, E., Davies, H.C., Thomas, M.R., (2002). Cloning and characterisation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) MADS-box genes expressed during inflorescence and berry development. *Plant Science* 162, 887-895.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32, 314-331.
- Bowers, J.E., Dangl, G.S., Vignani, R., Meredith, C.P., (1999). Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome* 39, 628 - 633.
- Brian, P.W., Hemming, H.G., (1958). Complementary action of gibberellic acid and auxin in pea internode extension. *Ann Bot* 22, 1-17.
- Brookes, A.J., (1999). The essence of SNPs. *Gene* 234, 177- 186.
- Brummell, D.H., Harpster, M.H., Civello, P.M., Palys, J.M., Bennett, A.B., Dunsmuir, P., (1999b). Modification of expansin protein abundance in tomato fruit alters softening and cell wall polymer metabolism during ripening. *The Plant Cell* 11, 2203-2216.
- Buchanan, C.D., Lim, S.Y., Salzman, R.A., Kagiampakis, L., Morishige, D.T., Weers, B.D., Klein, R.R., Pratt, L.H., Cordonnier-Pratt, M.M., Klein, P.E., Mullet, J.E., (2005). Sorghum bicolor's transcriptome response to dehydration, high salinity and ABA. *Plant Mol. Biol.* 58, 699-720.
- Bustan A, Erner Y, Goldschmidt EE (1995) Interactions between developing *Citrus* fruit and their supportive vascular system. *Annals of Botany* 76, 657-666.
- Buttrose, M.S. & Hale, C.R., (1973). Effect of temperature on development of grapevine inflorescence after bud burst. *Am. J. of Enol. and Vitic.* 24, 14-16.
- Caderas, D., Muster, M., Vogler, H., Mandel, T., Rose, J.K.C., McQueen-Mason, S. & Kuhlemeier, C., (2000). Limited Correlation between Expansin Gene Expression and Elongation Growth Rate. *Plant Physiol.* 123, 1399-1413.
- Cambridge, A.P. & Morris, D.A., (1996). Transfer of exogenous auxin from the phloem to the polar auxin transport pathway in pea (*Pisum sativum*) *Planta* 199, 583-588.
- Candolfi-Vasconcelos M.C., Candolfi M.P., Koblet W. (1990). Yield, fruit quality, bud fertility and starch reserves of the wood as a function of leaf removal in *Vitis vinifera* L. evidence of compensation and stress recovering. *Vitis* 29, 199-221.
- Capari, H.W., Land, A. & Alpach, P., (1998). Effects of grifling and leaf removal on fruit set and vegetative growth in grape. *Am. J. of Enol. and Vitic.* 49, 359-366.
- Carmona, M.J., Chaib, J., Martinez-Zapater, J.M. & Thomas, M., (2008). A molecular genetic perspective of reproductive development in grapevine. *Journal of Experimental Botany* 59(10), 2579-2596.
- Carmona, M.J., Cubas, P., Calonje, M., Martinez-Zapater, J.M., (2007). Flower transition in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Can. J. Bot.* 85, 700–711.
- Catalá, C., Rose, J.K.C., Bennett, A.B., (2000). Auxin-regulated genes encoding cell wall modifying proteins are expressed during early tomato fruit growth. *Plant Physiol* 122, 527-534.
- Cervera, M.T., Cabezas, J.A., Sanches-Eschibano, E., Cenis, J.L. & Martinez-Zapater, J.M., (2000). Characterization of genetic variation within table grape varieties (*Vitis vinifera* L.) based on AFLP markers. *Vitis* 39, 109-114.

- Cervera, M.T., Cabezas, J.A., Martinez de Toda, F., & Martinez-Zapater, J.M., (1998) Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources. A case study with assessments from Rioja (Spain). *Theor. Appl. Genet.* 97, 51-59.
- Cervera MT, Cabezas JM, Rodrigues-Torres I, Chavez J, Cabello F and Martinez-Zapater (2002) Varietal diversity within grapevine accessions of cv. Tempranillo. *Vitis* 41, 33-36.
- Chen F., Dahal P. und Bradford K.J., (2001) Two tomato Expansin genes show divergent expression and localization in embryos during seed development and germination. *Plant Physiol.* 137 (3), 928-938.
- Ching, A., Cardwell, K., Jung M., Dolan, M., Smith, O.S., Tingey, S., Morgante, M. & Rafalski, A., (2002). SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *BMC Genetics* 3, 19.
- Cho, H.T., Cosgrove, D.J., (2010). Expansin as Agents in Hormone Action. In Davies, D.J. (Hrsg.), *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction Action!* (3. Auflage) (S. 262-281) Springer Verlag.
- Cho, H.T., Cosgrove, D.J., (2010). Expansins as Agents in Hormone Action. In Davies, D.J. (Hrsg.), *Plant Hormones. Biosynthesis, Signal Transduction, Action* (3. Auflage) (S. 262-281), Springer Verlag.
- Cho, H.T., Cosgrove, D.J., (2004). Expansins as agents of hormone action. In Davies, P.J. (Hrsg.), (2. Auflage), (S. 262-281), *Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action!* Dordrecht, Niederlande Kluwer Academic Publishers.
- Cho, D., Lee, Y., Cho, H.T., & Kende, H., (2003). Regulation of expansin gene expression affects growth and development in transgenic rice plants. *Plant Cell* 15, 1386–1398.
- Cho, H.T., Cosgrove, D.J., (2000). Altered expression of expansin modulates leaf growth and pedicel abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 9783-9788.
- Cho R.J., Mindrinos M., Richards DR., Sapolsky RJ, Anderson M., Drenkard E., Dewdney J., Reuber TL., Stammers M., Felderspiel N., Theologides A., Yang WH, Hubbell E., Au M., Chung EY., Lashkary D., Lemieux B., Dean C., Lipshutz R.J., Ausubel F.M., Davis R.W. And Öfner P.J., (1999) Genome-wide mapping with biallelic markers in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genet.* 23, 203-207.
- Cho, H.T., Kende, H., (1997). Expression of expansin genes is correlated with growth in deepwater rice. *Plant Cell* 9, 1661-1671.
- Cho, H.T., Kende, H., (1997). Expansin and internodal growth of deepwater rice. *Plant Physiol* 113, 1145-1151.
- Clegg, M.T., Durbin, M.I., (2000). Flower color variation: A model for the experimental study of evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 7016-7023.
- Cleland, R.E., (2010). The final action of hormones: Biosynthesis, signal transduction, action ! Springer, 204-220.
- Cleland, R.E., (2004). Auxin and cell elongation. In: Davies PJ (Hrsg.) *Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action!*. (2. Auflage), (S. 204-220), Dordrecht, Niederlande, Kluwer Academic Publishers.
- Cleland, R.E., (1991). The outer epidermis of Avena and maize coleoptiles is not a unique growth. *Planta* 186, 75-80

- Coles, J.P., Phillips, A.L., Croker, S.J., Garcia-Lepe, R., Lewis, M.J. & Hedden, P., (1999). Modification of gibberellin production and plant development in *Arabidopsis* by sense and antisense expression of gibberellin 20 oxidase genes. *Plant J.* 17, 547-556.
- Collett, C.E., Harberd, N.P., & Leyser, O., (2000). Hormonal interaction in the control of *Arabidopsis* hypocotyl elongation. *Plant Physiol.* 126, 553-561.
- Cohen, J. & Bandurski, R., (1982). Chemistry and physiology of the bound auxin. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33, 403-430.
- Cohen, J. (1996). In vitro tomato fruit cultures demonstrate a role for indole-3-acetic acid in regulation fruit ripening. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 121, 520-524.
- Collins, C. und Rawnsley, B., (2005). Vine balance: the key to reducing Primary Bud Necrosis in Shiraz, The Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker. Annual Technical Issue 497a, 13-17.
- Considine, J.A., Coombe, T., (1974). The interaction of gibberellic acid and 2-(chloroethyl)trimethyl ammonium chloride on fruit cluster development in *Vitis vinifera* L. *Vitis* 11, 108-123.
- Considine, J.A., Coombe, B.G., (1972). The interaction of gibberellic acid and 2-(chloroethyl) trimethyl ammonium chloride on fruit cluster development in *Vitis vinifera* L. *Vitis* 11, 108-123.
- Considine, J.A., (1970) Aspects of the hormonal physiology of fruit development in *Vitis vinifera* L. M. Ag. Sc. Thesis, Uni. Adelaide.
- Coombe, B.G., (1973). "The regulation of set and development of the grape berry." *Acta Horti.* 34, 261-273.
- Coombe, B.G., (1960). Relationship of growth and development to changes in sugar, auxins and gibberellins in fruit of seeded and seedless varieties of *Vitis vinifera*. *Plant Physiol.* 35, 241-250.
- Coombe, B.G., (1959). Relationship of growth and development to changes in sugars, auxins and gibberellins in fruit of seeded and seedless Varieties of *Vitis Vinifera*. *Plant Physiol.* 35, 241-250.
- Cosgrove DJ (1997). Relaxation in high-stress environment. The molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement. *The Plant cell* 9, 1031-1041.
- Cosgrove, D.J., (1998). Cell wall loosening by Expansin. *Plant Physiol* 118, 333-339.
- Cosgrove, D.J., (2000). Expansive growth of plant cell walls. *Plant Physiol Biochem* 38, 109-735
- Cosgrove, D.J., Li, L.C., Cho, H.T., Hoffmann-Benning, S., Moore, R.C., Blecker, D., (2002). Group I allergens of grass pollen as cell wall- loosening agents. *Proc Natl Acad Sci USA* 94, 6559-6564.
- Cosgrove, D.J., <http://www.bio.psu.edu/expansins/Mechanism.htm> (Zugriff 11.6.2007)
- Cost, G.K., Boeke, J.D., (1998). Targeting of human retrotransposon integration is directed by the specificity of the L1 endonuclease for regions of unusual DNA structure. *Biochemistry* 22, 18081-18093.
- Curits, I.S., Hanada, A., Yamaguchi, S., Kamiya, Y., (2005). Modification of plant architecture through the expression of GA 2-oxidase under the control of an estrogen inducible promoter in *Arabidopsis thaliana* L. *Plante* 222 (6), 957-67.
- Darwin, C. & Darwin, F., (1881). The power of movement in plants. Darwins gesammelte Werke, Bd. 13, Stuttgart, Germany, Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.

- Davies, P.J., (2004). The Plant Hormones: Their nature, occurrence and functions. In: Davies, P.J., Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action! (S. 1-15), Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- Davies, P. J. (1995) The plant hormones: Their nature, occurrence, and functions. In Davies, P.J (Hrsg.), Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology (S. 13-38), Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- Davies, P.J., Diri, J.A., Tarbox, A.W., (1976). The movement and physiological effect of indol-acetic acid following point applications to the root tips of *Zea mays*. *Physiol. Plant* 36, 333-337.
- Davies, P.J., Mitchell, E.K., (1972). Transport of indole acetic acid in intact roots of *Phaseolus coccineus*. *Planta* 105, 139-154.
- Delbarre, A., Muller, P., Imhoff, V. & Guern, J., (1996). Comparison of mechanisms controlling uptake and accumulation of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, naphthalene-1-acetic acid, and indole-3-acetic acid in suspension-cultured tobacco cells. *Planta* 198, 495-646.
- Desgagne-Penix, I., Ekanunkul, S., Coles, J.P., Phillips, A.L., Hedden, P. & Sponsel V.M., (2005). The auxin transport inhibitor response 3(tir3) allele of BIG and auxin transport inhibitors affect the gibberellin status of *Arabidopsis*. *Plant J.* 41, 231-242.
- Dewitte, W., Van Onckelen, H., (2001). Probing the distribution of plant hormones by immunocytochemistry. *Plant Growth Regulation* 33, 67-74.
- Digby, I., Wareing, P.E., (1966). The effect of applied growth hormones in cambial division and the differentiation of the cambial derivatives. *Ann. Bot. (Lond)* 30, 539-548.
- Doerner, P., (2007), Signals and Mechanisms in the Control of Plant growth. In Bögre, L. & Beemster, G. (Hrsg.), *Plant Cell Monograph* 10, (Seite 1-23), Springer Verlag.
- Dokoozlian, N.K., (2001). Gibberellic Acid applied at bloom reduces fruit set and improves size of "Crimson seedless" table grapes. *Hort. Science.* 36 (4), 706-709.
- Dong, Q.H., Cao, X., Yang, G., Yu, A.P., Nicholas, K.K., Wang, C. & Fang, J.G., (2010) Discovery and characterization of SNPs in *Vitis vinifera* and genetic assessment of some grapevine cultivars. *Scientia Horticulturae* 125, 233-238.
- Doolittle, W.F., Sapienza, C., (1980). Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution. *Nature* 284, 601-603.
- Dooner, H.K., Martinez-Ferez, I.M., (1997). Recombination occurs uniformly within the *bronze* gene, a meiotic recombination hotspot in the maize genome. *Plant Cell*.
- Dry, P.R. & Gregor, G.R., (1988). Grapevine Varieties. In Coombe, B.G. & Dry, P.R. (Hrsg.) *Viticulture* 1. Vol. Resources. *Winetitles*, (S. 119-138), Adelaide.
- Edwards, D., Forster, J.W., Chagné, D & Batley, J., (2007) What are SNPs? In Oraguzie, N.C., Rikkerink, E.H.A., Gardiner, S.E. & De Silva, H.N. (Hrsg.), *Association mapping in Plants*, (Seite 41-52), New York, Springer.
- Edwards, K.J. & Mogg, R., (2001). Plant genotyping by analysis of single nucleotide polymorphisms. In Henry, R.J. (Hrsg.) *Plant Genotyping: The DNA fingerprinting of plants.*, (S. 1-13), Wallingford, CABI Publishing.
- Eichhorn K.W., Lorenz D.H., (1977) Phänologische Entwicklungsstadien der Rebe. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 29, 119-120

- Else, M.A., Stankiewicz-Davies, A.P., Crisp, C.M. & Atkinson, C.J., (2004). The role of polar auxin transport through pedicels of *Prunus avium* L. in relation to fruit development and retention. *Journal of Experimental Botany* 55 (405), 2099-2109.
- Espinoza, A., Contreras, D., Orellana, M., Pérez, R., Aguirre, C., Castro, A., Riquelme, A., Fichet, T., Pinot, M. & Hinrichson, P., (2006). Modulation of table grape (*Vitis vinifera* L.) aquaporin genes expression during berry development by gibberellic acid. International Conference on Grape Genetics and Breeding, 2-6 July 2006, Udine, Italy.
- Fernandez L., Torregrosa L., Segura V., Bouquet A., Martinez-Zapater J.M., (2010) Transposon-induced gene activation as a mechanism generating cluster shape somatic variation in grapevine. *The Plant Journal* 61 (4), 545-557.
- Fidan Y., Celik, S. & Tramer, M.S., (1981) *Vignevin* (Bologna), 8, 35.
- Friml, J., (2003). Auxin transport-shaping the plant. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6,7-12.
- Friml, J., Palme, K., (2002). Polar auxin transport-old questions and new concepts? *Plant Mol. Biol.* 49, 273-284.
- Firn, R.D., Wagstaff, C. & Digby, J., (2000). The use of mutants to probe models of gravitropism *J. Exp. Bot.* 51, 1323-1340.
- Forneck, A., (2005) Plant breeding: Clonality - A concept for stability and variability during vegetative propagation. *Progress in Botany.* 66, 164-183.
- Fox, R., (1993). Kernzahlen und Beerengewicht ein Beitrag zur Verbesserung der Ernteschätzung? *Rebe & Wein* 46, 260-261.
- Frank, R., (2001). Spätburgunder Klone – Untersuchungen zur Beerenstruktur. *Der Deutsche Weinbau* 9, 22-24.
- Frias, I., Caldeira, M.T., Perez-Castineira, J.R., Navarro-Avino, J.P., Culianez-Macia, F.A., Kuppinger, O., Stransky, H., Pages, M., Hager, A. & Serrano, R., (1996). A Major Isoform of the Maize Plasma Membrane H⁺-ATPase: Characterization and Induction by Auxin in Coleoptiles. *Plant Cell* 8, 1533 - 1544.
- Fry, S.C., (1989). Cellulases, hemicelluloses and auxin-stimulated growth: a possible relationship. *Physiol. Plant* 75, 532-536.
- Fujioka, S., Yamane, H., Spray, C.R., Katsumi, M., Phinney, B.O., Gaskin P., MacMillan, J., Takahashi, N., (1990). Gibberellin A₃ is biosynthesised from gibberellin A₂₀ via gibberellin A₅ in shoots of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 94, 127-131.
- Gälweiler, L., Guan, C., Müller, A., Wisman, E., Mendgen, K., Yephremov, A. & Palme, K., (1998). Regulation of polar auxin transport by *AtPIN1* in *Arabidopsis* vascular tissues. *Science* 282, 2226-2230.
- Gendreau, E., Traas, J., Desnos, T., Grandjean, O., Caboche, M., Hofte, H., (1997). Cellular basis of hypocotyl growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 114, 295–305.
- Gilkes, N.R., Henrissat, B., Kilbun, D.G., Miller, Warren, R.C & Warren, R.A.J., (1991). Domains conservation, function, and enzyme families. *Microbiological Review*, 55 (2), 303-315.
- Goes Da Silva, F., Iandolino, A., Lim, H., Baek J., Leslie, A., Xu, J., Jones, K., Cook, D., (2003). Expressed sequence tags from *Vitis vinifera* „Cabernet sauvignon“ berries at various development stages. *Plant Physiol.* 139 (2), 574–597.
- Goes Da Silva, F., Iandolino, A., Lim, H., Baek, J., Leslie, A., Xu, J., Jones, K., Cook, D., (2003) .Expressed sequence tags from *Vitis vinifera* „Cabernet sauvignon“ berries at various development stages.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=CF207762>.

- Goldsmith, M.H.M., (1977). The polar transport of auxin. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 28, 439-478
- Gómez-Cadenas, A., Mehouchi, J., Tadeo, F.R., Primo-Millo, E. & Talon, M., (2000). Hormon regulation of fruitlet abscission induced by carbohydrate shortage in Citrus. *Planta* 210, 636-643.
- Götz G. (2010) Das volle Potenzial nutzen – weinbauliche Maßnahmen zur Qualitätssteigerung beim Dornfelder. www.dlr-rheinpfalz.rlp.de/Internet/.../Vortrag_Goetz_WBT2010.pdf.
- Gruber, J., Bangerth, F., (1990). Diffusible IAA and dominance phenomena in fruits of apples and tomato. *Physiologia plantarum* 79, 354-358.
- Guilfoyle, T., Hagen, G., Ulmasov, T., Murfett, J., (1998). How does auxin turn on genes? *Plant Physiol* 118, 431-347.
- Ha M.A., Apperley D.C., Jarvis M.C., (1997) Molecular rigidity in dry and hydrated onion cell walls. *Plant Physiol.* 115, 593–598.
- Hagen, G., Guilfoyle, T.J., Gray, W.M., (2004). Auxin signal transduction. In: Davies, P.J., (Hrsg.) *Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action!*. (2. Auflage) (S. 282-303) Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- Hager A., Menzel, H., & Krauss, A., (1971). Versuche und Hypothese zur Primärwirkung des Auxins beim Streckungswachstum. *Planta* 100, 47-75.
- Halbrooks, M.C., Mortensen, J.A., (1988). Effects of gibberellic acid on berry and seed development in Orlando Seedless grape. *Hort. Science* 23, 409.
- Hall, T., (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/N. *Nucleic Acids Symposium Series* 41, 95-98.
- Harmer, S.E., Orford, S.J., Timmis, J.N., (2002). Characterisation of six alpha-expansin genes in *Gossypium hirsutum* (upland cotton). *Mol. Genomics* 268, 1-9.
- Harris, J.M., Kriedemann, P.E. & Possingham, J.V., (1968). Anatomical aspects of grape berry development. *Vitis* 7, 106-119.
- Hayashi, T., (1989). Xyloglucans in the Primary Cell Wall. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 139-168.
- Heath, M.C., (1984). Defense mechanisms of plants against fungal pathogens. In Roberts, D.W., Aist, J.R., (Hrsg.) *Infection process of fungi. A Conference Report*, New York, Rockefeller Foundation.
- Hedden, P. & Phillips, A.L., (2000). Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends Sci.* 5, 523-530.
- Heinman, M., (1997). Webcutter 2.0 <http://www.firstmarket.com/cutter/cut2.html>.
- Helliwell, C.A., Sullivan, J.A., Mould, R.M., Gray, J.C., Peacock, W.J. & Dennis, E.S., (2001b). A plasmid envelope location of *Arabidopsis ent*-kaurene oxidase links the plastid and endoplasmic reticulum steps of the gibberellin biosynthesis pathway. *Plant J.* 28, 201-208.
- Hill G.F., Stellwaag-Kittler F. und Landcake P. (1981) Resistance of grapes in different developmental stages to *Botrytis cinerea*. *Phytopathologische Zeitschrift* 102, 328-338.
- Hinds, D.A., Kloek, A.P., Jen, M., Chen, X. & Frazer, K.A., (2006). Common deletions and SNPs are in linkage disequilibrium in the human genome. *Nat. Genet.* 38, 82-85.

- Hocquigny, S., Pelsey, F., Dumans, V., Kindt, S., Heloir, M.C., Merdinoglu, D., (2004). Diversification within grapevine cultivars goes through chimeric states. *Genome* 47,579-589.
- Hofäcker, W., (1999). Stand und Perspektiven der Klonzüchtung in Deutschland 14. OIV Weltkongress für Reben und Wein 5.-7.99, Mainz, Germany.
- Hoffmann, P., Vaclavicek, A., Blaich, R., Forneck, A., (2009), A SNP Marker can differentiate loose clustered Clones of "Pinot Noir". *Acta Horticulturae*, 827, 471-473.
- Hutchison, K.W., Singer, P.B., Mc Innis, S., Diaz-Sala, C., Greenwood, M.S., (1999). Expansins are conserved in conifers and expressed in hypocotyls in response to exogenous auxin. *Plant Physiol.* 120, 827-831.
- Ikeda, T., Yakushiji, H., Oda, M., Taji, A. & Imada, S., (1999). Growth dependence of ovaries of facultatively parthenocarpic eggplant *in vitro* on indole-3 acetic acid content. *Sci. Hort.* 79, 143-150.
- Isarelsson, M., Sundberg, B. & Moritz, T., (2005). Tissue-specific localization of gibberellins and expression of gibberellin-biosynthetic and signaling genes in wood-forming tissues in aspen. *The Plant J.* 44, 494-504.
- Ishmaru, M., Smith, D.L., Gross, K.C., Kobayashi, S., (2007). Expression of three expansin genes during development and maturation of Kyoho grape berries. *Journal of Plant Physiol.* 164 (12), 1675-1682.
- Ishimaru, M. & Kobayahi, S., (2003). Expression of Expansin genes is related grape berry softening
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=Nucleotide&list_uids=29421117&dopt=GenBank.
- Itoh, H., Ueguchi-Tanaka, M., Sentoku, N., Kitano, H., Matsuoka, M., Kobayashi, M. (2001). Cloning and functional analysis of two gibberellin 3 β -hydroxylase genes that are differently expressed during the growth of rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98,8909-8914.
- Itoh, H., Motomura, Y., Hatayama, T., (1969). Exogeneous gibberellin as responsible for seedless berry development of grapes, *Plant Physiol.* 43, 333-337.
- Iwahori, S., Weaver, R.J. & Pool, R.M. (1968). Gibberellin-like activity in berries of seeded and seedless Tokay grapes. *Plant Physiol.* 43, 333-337.
- Jackson, D.J. & Coombe, B.G., (1966). The growth of apricot fruit, I. Morphological changes during development and the effects of various tree factors. *Aust. J. Agric. Res.* 17, 465-477.
- Jacobs, T., (1997). Why do plant cells divide? *Plant Cell* 9, 1021-1029.
- Jaillon, O., Aury, J.M., Noel, B., Policriti, A., Clepet, C., Casagrande, A., Choisne, N., Aubourg, S., Vitulo, N., Jubin, C., Vezzi, A., Legeai, F., Hugueney, P., Dasilva, C., Horner, D., Mica, E., Jublot, D., Poulain, J., Bruyère, C., Billault, A., Segurens, B., Gouyvenoux, M., Ugarte, E., Cattonaro, F., Anthouard, V., Vico, V., Del Fabbro, C., Alaux, M., Di Gaspero, G., Dumas, V., Felice, N., Paillard, S., Juman, I., Moroldo, M., Scalabrin, S., Canaguier, A., Le Clainche, I., Malacrida, G., Durand, E., Pesole, G., Laucou, V., Chatelet, P., Merdinoglu, D., Delle-donne, M., Pezzotti, M., Lecharny, A., Scarpelli, C., Artiguenave, F., Pè, M.E., Valle, G., Morgante, M., Caboche, M., Adam-Blondon, A.F., Weissenbach, J., Quétier, F., Wincker, P. French-Italian Public Consortium for Grapevine Genome Characterization. (2007). The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* 449, 463-467.

- Jawanda J.S., Singh R., Pal R.N. (1974) Effect of growth regulators on floral bud drop, fruit characteristics and quality of "Thompson Seedless" grapes (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 13, 215-221.
- Jeong, S.T., Goto-Yamaomoto, N., Kobayashi, S. & Esaka, M. (2004). Effects of plant hormones and shading on accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. *Plant Sci.* 167, 247-252.
- Jiang, J., Nasuda, S., Dong, F., Scherrer, C.W., Woo, S.S., Wing, R.A., Gill, B.S., Ward, D.C., (1996). A conserved repetitive DNA element located in the centromeres of cereal chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 14210-14231.
- Jiménez V.M., Guevara E., Herrera J., Bangerth F. (2001) Endogenous hormone in habituated nucellar citrus callus during the initial stages of regeneration. *Plant Cell Reports* 20, 92-100.
- Jones, S.E., DeMeo, J.S., Davies, N.W., Noonan, S.E. & Ross, J.J. (2005). Stems of the *Arabidopsis pin1-1* mutant are not deficient in free indole-3-acetic acid. *Planta* 222 (3), 530-534.
- Jones, L., McQueen-Mason, S., (2004). A role for expansins in dehydration and rehydration of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *FEBS Lett* 559, 61-65.
- Kamiya, Y. & García-Martínez, J., (1999). Regulation of gibberellin biosynthesis by light. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2, 398-403.
- Kaneko, M., Itoh, H., Inukai, Y., Sakamoto, T., Ueguchi-Tenaka, M., Ashikari, M. & Matsuoka, M., (2003). Where do gibberellin biosynthesis and gibberellin signaling occur in rice plants? *Plant J.* 35, 104-115.
- Kast, W.K., Fox, R., Schiefer, H.C., (2005). Bio-Wachstumsregulatoren. Chancen und Risiken beim Einsatz im Weinbau. Infodienst der Landwirtschaftsverwaltung Baden-Württemberg. http://www.landwirtschaft-mlr.badenwuerttemberg.de/servle/PB/menu/1169238_11/index.html.
- Keegstra, K., Talmadge, K.W., Bauer, W.G., Albersheim, P., (1973). The Structure of Plant Cell Walls: III. A Model of the Walls of Suspension-cultured Sycamore Cells Based on the Interconnections of the Macromolecular Components. *Plant Physiol.* 51, 188-196.
- Keim, P., Diers, B.W., Olsen, T.C., Shoemaker, R.C., (1990), RFLP mapping in soybean: associated between marker loci and variation in quantitative traits. *Genetics* 126, 735-742.
- Keller, M., Viret, O. und Cole, P.M. (2003) Botrytis cinerea Infection in Grape Flowers: Defense Reaction, Latency, and Disease Expression. *Phytopathology* 93, 316-322.
- Kende, H., Bradford, K.J., Brummell, D.A., Cho, H.T., Cosgrove, D.J., Fleming, A.J., Gehring, C., Lee, Y., McQueen-Mason, S., Rose, K.J.C., Voesenek, L., (2004). Nomenclature for members of the expansin superfamily of genes and proteins. *Plant. Mol. Biol.* 55, 311-314.
- Kende, H., Van der Kaap, E., Cho, H.T., (1998). Deepwater rice: A model plant to study stem elongation. *Plant Physiol.* 118, 1105-1110.
- Kende, H. & Zeevaart, J.A.D., (1997). The five classical plant hormones. *The Plant Cell* 9, 1197-1210.
- Kennedy J., (2002). Understanding grape berry development. *Practical Winery Vineyard* Vol. 2002 Ausgabe August, 14-23.

- Kenward, M.G., Roger, J.H., (1997). Small sample inference for fixed effects from restricted maximum likelihood. *Biometrics* 53, 983-992.
- Kim, J.H., Cho, H.T., Kende, H., (2000). α -Expansins in the semiaquatic ferns *Marsilea quadrifolia* and *Regnellidium diphyllum*: evolutionary aspects and physiological role in rachis elongation. *Planta* 212, 85-92.
- King, R.W., Evans, L.T., (2003). Gibberellins and flowering of grasses and cereals: prizing open the lid of the „florigen“ black box. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54, 307-328.
- Kobayashi, M., Sakurai, A., Saka, H., Takahashi, N., (1991). Quantitative analysis of endogenous gibberellins in normal and dwarf cultivars of rice. *Plant Cell Physiol.* 30, 963-969.
- Koizumi, K., Sagiya, M., Fakuda, H., (2000). A series of novel formation of continuous vascular network: calling the auxin signal flow canalization hypothesis into question. *Development* 127, 3197-3204.
- Konieczny, A. & Ausubel, F.M., (1993). A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant J.* 4, 403-410.
- Konradi, J., Blaich, R., Forneck, A. (2007). Genetic variation among clones and sports of "Pinot noir" (*Vitis vinifera* L.). *Eur. J. Hort. Sci.*, 72 (6), 275–279.
- Korkas, E., Neranzis, E., Kourtidou-Tympa, P., Banilas, G., 1999, The effect of gibberellic acid application at different phenological growth stages on yield and quality parameter of Sultanina table grapes in Greece, *Wein-Wissenschaft* 54, 44-53.
- Kramer, E.M., (2004). *PIN* and *AUX/LAX* proteins: their role in auxin accumulation. *Trends Plant Sci.* 9, 578-582.
- Kurashi, S., Muir, R.M., (1962). Increase in diffusible auxin after treatment with gibberellin. *Science* 137, 760-761.
- Kutschera, U., (1994). The current status of the acid-growth hypothesis, *New Phytologist* 126 (4), 549-569.
- Kwok PY (2001) Methods for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2, 235–258.
- Lange, T., (1998). Molecular biology of gibberellin synthesis. *Planta* 204, 409–419.
- Law, D.M., Davies, P.J., (1990). Comparative indol-3-acetic acid levels in the slender pea and other pea phenotypes. *Plant Physiol.* 93, 1539-1543.
- Law, D.M. & Hamilton, R.H., (1984). Effects of Gibberellic acid on endogenous indole-3-acetic acid and indoleacetyl aspartic acid levels in a dwarf pea. *Plant Physiol* 75, 255-256.
- Lebon, G., Wojarowiez, G., Holzapfel, B., Fontaine, F., Vaillant-Gaveau, N., Clément, C., (2008)- Sugars and flowering in the grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Experimental Botany* 59 (10), 2565-257.
- Lee, Y., Dongus, C., Kende, H., (2001). Expansins: ever-expanding numbers and functions. *Current. Opin. In Plant Biol.* 4, 527-532.
- Lee, Y., Kende, H., (2001). Expression of beta-expansin is correlated with elongation of internodes in deepwater rice. *Plant Physiol* 127, 645-654.
- Lee, D.K., Ahn, J.H., Song, S.K., Choi, Y.D. & Lee, J.S., (2003). Expression of an Expansin Gene is Correlated with Root Elongation in Soybean. *Plant Physiol.* 131, 985-997.
- Levadoux, L., (1956). Les populations sauvages et cultivées de *Vitis vinifera* L. *Annales de l'Améloration des Plantes*.

- Arriola Plant 6, 59-118.
- Levy, A.A., Walbot, V., (1991). Molecular analysis of the loss of somatic instability in the bz2:mu1 allele in maize. Mol. Gen. Genet. 229, 147-151.
- Li, Z.C., Durachko, D. M. & Cosgrove, D. J. (1993): An oat coleoptile wall protein that induces wall extension in vitro and that is antigenically related to a similar protein from cucumber hypocotyls. Planta 191, 349-356.
- Li, Y., McQueen-Mason, S., (2003). Expansin and cell growth. Curr. Opin. Plant Biol. 6, 603-610.
- Li, Y., Darley, C.P., Ongaro, V., Fleming, A. Schipper, O., Baldauf, S.L., McQueen-Mason, S.J., (2002). Plant expansins are a complex multigene family with an ancient evolutionary origin. Plant Physiol. 128, 854-864.
- Lindblad-Toh, K., Wibchester E., Daly ML., Wang DG., Hirschhorn JN., Laviolette JP., Ardlie K., Reich DE., Robinson E., Sklar P., Shah N., Thomas D., Fan JB., Gigeras T., Warrington J., Patil N., Hudson TJ. & Lander ES., (2000) Large-scale discovery and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the mouse. Nature Genet. 24, 381-386.
- Ljung, K., Östin, A., Lioussanne, L. & Sandberg, G., (2001). Development regulation of indole-3-acetic acid turnover in Scots pine seedlings. Plant Physiol. 125, 464-475.
- Lodhi, M.A. & Reisch B.L., (1995). Nuclear DNA content of *Vitis* species, cultivars, and other genera of Vitaceae. Theor. Appl. Genet. 90, 11-16.
- Lomax, T.L., Muday, G.K. & Rubery, P.H., (1995). Auxin transport. In: Davies, P.J. (Hrsg.) Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology, (S. 509-530), Dordrecht, Kulwer.
- Lomax, T.L., Mehlhorn, R.J. & Briggs, W.R., (1985). Active auxin uptake by zucchini membrane vesicles: quantitation using ESR volume and $\Delta\phi$ determinations. Proc. Natl. Acad. Sci USA 82, 6541-6545.
- Lopez, C., Piégu, B., Cooke, R., Delseny M., Tohme J., Verdier, V., (2005) Using cDNA and genomic sequences as tools to develop SNP strategies in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Thero. Appl. Genet. 110, 425-431.
- Luckert, A., (1976). Untersuchung über den Beerenansatz der Rebe. Dissertation Universität Hohenheim.
- Lu, W.L., Bai, S.U., Zhang, X.S., (2000). The exogenous hormonal control of the development of regenerated flower buds of *Hyacinthus orientalis* Acta Bot. Sinica 42, 996-100.
- Lu, W.L., Bai, S.U., Zhang, X.S., (1999). Induction of continuous tepal differentiation from in vitro regenerated flower buds of *Hyacinthus orientalis*. Acta Bot. Sinica 42, 921-926.
- Lu, J., Lamikanra O & Leong S., (1995) Effects of gibberellic acid on muscadine grape production. Proc. Fla. State Hort. Soc. 108, 360-361.
- Mac Millan, J., (2002). Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi, and bacteria. J. Plant Growth Regul. 20, 387 - 442.
- Magneschi, L., Kudahettige, R.L., Alpi, A., Perada, P., (2009). Expansin gene expression and anoxic coleoptile elongation in rice cultivars. Journal of Plant Physiol. 166, 1576-1580.
- Malacarne, Coppola, G., Segala, C., Cartwright, D.A., Pindo, M., Stefanini, M., Mank, R., Moroldo, M., Morgante, M., Grando, M.S. & Velsaco, R., (2007). A Dense Single-Nucleotide Polymorphism-Based Genetic Linkage Map of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Anchoring Pinot Noir Bacterial Artificial Chromosome Contigs.

- Genetics 176, 2637-2650.
- Marois, J.J., Bledsoe, A.M., Bettiga, L.J., (1992). Bunch rots. In Bordelon, B., Grape pest management. (2. Auflage) (S. 64-70), Univ. Calif, Div, Agric, Nat. Resour. Publ. 3343
- Marois, J.J., Nelson, K.J., Morrison, C.J., Lile, L.S. & Bledsoe, A.M., (1986). The Influence of Berry Contact within Grape Clusters on the Development of *Botrytis cinerea* and Epicuticular Wax. Am. J. Enol. Vitic. 37 (4), 293-296.
- Mavrikios, C.H., (1977). Probleme der Anwendung von Gibberellin bei Tafeltrauben, Bull. OIV, 50, 243-252.
- McClellan, W.D. und Hewitt, W.B. (1973) Early Botrytis rot of grapes: Time of infection and latency of BC in *Vitis vinifera* L. Phytopathology 63, 1151-1157.
- McQueen-Mason, S., Le, N.T., Brockelhurst, D., (2007). Expansin, In Verbelen, J.P., Vissenberg, K. (Hrsg.), Plant Cell Monographs. The Expanding Cell, (S. 118-137), Springer Verlag Berlin.
- McQueen-Mason, S., Cosgrove, D.J., (1995). Expansin model of action on cell-walls-analysis of wall hydrolysis, stress-relaxation, and binding. Plant Physiol. 107, 87-100.
- McQueen-Mason, S., Try, S.C., Durchko, S.J. & Cosgrove, D.J., (1993) The relationship between xyloglucan endotransglycosylase and in-vitro cell wall extension in cucumber hypocotyls. Planta 190 (3), 327-331.
- McQueen-Mason, S., Durchko, S.J., Cosgrove, D.J., (1992). Two endogenous proteins that induce cell-wall extension in plants. Plant Cell 4, 1425-1433.
- Miele A, Weaver RJ, Johnson J (1978) Effect of potassium giberellate on fruit-set and development of Thompson Seedless and Zinfandel grapes. American Journal of Enology and Viticulture 29, 79-82.
- Moncada, X., Munoz, L., Herminia, C., Hinrichsen, P. & Merdinoglu, D., (2005). Clonal polymorphism in the red wine cultivars "Camenère" and "Cabernet Sauvignon". Acta Hort. 689, 513-519.
- Morris, D.A., Friml, J., Zazimalova, E. (2004). Auxin transport. In Davies, P.J., Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action! (2. Auflage), (S. 437-470), Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- Mullins, M.G., Bouquet, A. & Williams, L.E., (1992). Biology of grapevine (Cambridge University Press).
- Müller E., (2007) Entblätterung - Wirkungen, Chancen und Risiken. <http://www.dlr.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/0/6A680BC98956A3A2C1256FEA002BA143?OpenDocument>.
- Myles, S., Boyko, A.R., Owens, C.L., Brown, P.J., Grassi, F., Aradhya, M.K., Prins, B., Reynolds, A., Chia, J-M., Ware, D., Busramante, C.D. und Buckler, E.S., (2011) Genetic structure and domestication history of the grape. PNAS Vol. 108 Nr. 9, 3530-3535.
- Myles S., Pfeiffer J., Brown P.J., Ersoz E.S., Zhang Z., Costich D.E. & Buckler E.S. (2009) Association Mapping: Critical Considerations Shift from Gentoyping to Experimental Design. The Plant Cell Vol. 21, 2194-202.
- Nair, N.G. und Hilll, G.K. (1992) Bunch rot of grapes caused by *Botrytis cinerea*. In: Plant Diseases of International Importance, Diseases of Fruit Crops Vol. 3. (Hrsg. Kumar J., Chaube H.S., Singh U.S., Mukhopdhyay A. N.) Prentise-Hall Inc., New Jersey, USA.
- Nakamura, M. & Hori, Y., (1985). Postharvest Berry Drop of Seedless Berries Produced by GA Treatment in Grape Cultivar 'Kyoho' IV. Rachis Hardness and

- Phenol Production of Rachis in Vitro Following GA Application as Affected by the Addition of β -Nitrostyrene Derivatives. *Tohoku Journal of Agric. Research* 35 (2-4), 81-89.
- Nasu, S., Suzuki, J., Ohza, R., Hasegawa, K., Yui, R., Kitazawa, N., Monna, L., (2002). Search for and analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in rice (*Oryza sativa*, *Oryza rufipogon*) and establishment of SNP markers. *DNA Res.* 9, 163-171.
- Nienhuis, J., Helentjaris, T., Slocum, M., Ruggero, B., Schaefer, A., (1987). Restriction fragment length polymorphism analysis of loci associated with insect resistance in tomato. *Crop. Sci.* 27, 797-803.
- Nishitani, K., Vissenberg, K., (2007) Roles of the XTH Protein Family. In Verbelen, J.P., Vissenberg, K (Hrsg.), *The Expanding Cell*, Berlin, (S. 89-116) Springer Verlag.
- Nitsch, J.P.C., Pratt, C. & Shaulis, N.J., (1960). Natural growth substances in Concord and Concord seedless grapes in relation to berry development. *Am. Jour. Bot.* 47 (7), 566-576.
- Normanly, J., Slovin, J.P & Cohen, J.D., (2010). Auxin biosynthesis and metabolism. In Davies, P.J., *Plant hormones Biosynthesis, Signal Transduction, Action !* (3. Auflage), (S. 36-62), Springer.
- Normanly, J., Slovin, J.P., Cohen, J.D., (2004), *Auxin Biosynthesis and Metabolism*. In Davies, P.J., *Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action!* (2. Auflage), (S. 36-62). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- Normanly, J., Slovin, J.P., Cohen, J.D., (1995). Rethinking auxin biosynthesis and metabolism. *Plant Physiology* 107, 323-329.
- Nowacki, J. & Bandurski, R.S., (1980). Myo-inositol esters of indolic-3-acetic acid as seed auxin precursors of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 65, 422-427.
- Numan, K.J., Davies, C., Robinson, S.P., Fincher, G.B., (2001). Expression patterns of cell wall-modifying enzymes during grape berry development. *Planta* 214, 257-264.
- Obel, N., Neumetzler, L., Pauly, M., (2007). Hemicelluloses and cell expansion. In Verbelen, C., Vissenberg, K. (Hrsg.), *The expanding cell*, (S. 57-88), Springer.
- Ogawa, M., Hanada, A., Yamauchi, Y., Kuwahara, A., Kamiya, Y. & Yamaguchi, S., (2003). Gibberellin biosynthesis and response during Arabidopsis seed germination. *Plant Cell* 15, 1591–1604.
- Ojeda, H., Deloire, A., Carbonneau, A., Ageorges, A. & Romieu, C., (1999). Berry development of grapevines: relations between the growth of berries and their DNA content indicate cell multiplication and enlargement. *Vitis* 38, 145-150.
- Olszewski, N., Sun, T.P. & Gruber, F. (2002) Gibberellin signalling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell* 14, 61-80.
- O'Malley, R.C., Lynn, D.G., (2000). Expansin message regulation in parasitic angiosperms: marking time in development. *Plant Cell* 12, 1455-1465.
- Öpik, H., Rolfe, S.A., (2005), *The physiology of flowering plants*. (S. 191-194) Cambridge, UK, Cambridge University press.
- Orford, S.J., Timmis, J.N., (1998). Specific expression of an expansin gene during elongation of cotton fibres. *Biochem.* 1398, 342-346.
- Owens, C.L., (2003). SNP detection and genotyping in *Vitis*. *Proc. VIIIth IC on Grape*, *Acta Hort.* 603, 139-140.
- Ozga, J.A., Reinecke, D.M., (2003). Hormonal interaction in fruit development. *J. Plant Growth Regul.* 22, 73-81.

- Ozga, J.A., Van Huizen, R., Reinecke, D.M., (2002). Hormone and seed-specific regulation of pea fruit growth. *Plant Physiol.* 128, 1379-1389.
- Palme, K. & Gälweiler, L., (1999). *PIN*-pointing the molecular basis of auxin transport. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2, 375-381.
- Paterson, A.H., Lander, E.S., Hewitt, J.D., Paterson, S., Lincoln, S.E., Tanksley, S.D., (1988). Resolution of qualitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map restriction fragment length polymorphisms. *Nature* 335, 721-726.
- Patterson, H.D., (1997). Analysis of series of variety trials. In *Statistical methods for plant variety evaluation*. Kempton RA und Fox PN Chapman & Hall 139-160.
- Peng, J., Harberd, N.P., (2002). The role of GA-mediated signalling in the control of seed germination. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 376-381.
- Peacock, B., (1997) Influence of GA₃ sizing sprays on ruby seedless. The University of California cooperative Extension, Tulare County.
<http://cetulare.ucdavis.edu/pubrape/otb897.htm>.
- Percival, D.C., Sullivan, J.A. & Fisher, K.H., (1993). Effect of cluster exposure, berry contact and cultivar membrane formation and occurrence of bunch rot (*Botrytis cinerea*) with 3 *Vitis vinifera* L. cultivars. *Vitis* 32, 87-97.
- Pérez, J.F., Viani, C., Retamales, J., (2000), Bioactive gibberellins in seeded and seedless grapes: Identification and changes in content during berry development. *Am. J. Enol. Vitic.* 51 (4), 315-318.
- Pérez, J.F., Gomez, M., (1998). Gibberellic acid stimulation of isoperoxidase from pedicel of grapes. *Phytochemistry* 48, 411-414.
- Pérez, R., Contreras, D., Espinoza, A., Aguirre, C., Reyes, F., Orellana, M., Riquelme, A., Fichet, T., Pinot, M. & Hinrichsen, P., (2009) Functional genomic analysis of table grape (*Vitis vinifera* L.) associated to gibberellic acid treatment. International Conference on Grape Genetics and Breeding, 2-6 July 2006, Udine, Italy.
- Petgen, M., (2004). Was bringen Gibberelline? *Das deutsche Weinmagazin* 3, 28-32.
- Petgen, M., (2003). Neue Wege in der Qualitätsregulierung der Rebe-Erfahrungen zum Gibberellin-Einsatz in der Pfalz., DLR Rheinpfalz, Abteilung Weinbau-Oenologie.
- Petgen M., Götz, G. (2003): Teilentblätterung 2003 – Mehr Nutzen oder Schaden? http://www.weinbaunet.at/cms/show_beitrag.php?ID=77
- Percival, D.C., Sullivan, J.A., & Fischer, K.H., (1993). Effect of cluster exposure, berry contact and cultivar on cuticular membrane formation and occurrence of bunch rot (*Botrytis cinerea*) with 3 *Vitis vinifera* L. cultivars. *Vitis* 32, 87-97.
- Pezzotti, M., Feron, R., Mariani, C., (2002). Pollination modulates expression of the PPAL gene, a pistil-specific beta-expansin. *Plant Mol Biol* 49, 187-197.
- Phillips, I.D., Vlitos, A.J., Culter, H., (1959). The influence of gibberellic acid upon the endogeneous growth substance of the Alaska pea. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 20, 111-120.
- Picoult-Newberg, L., Ideker, T.E., Pohl, M.G., Taylor, S.L., Donaldson, M.A., Nickerson, D.A. & Boyce-Jacino, M., (1999). Mining SNPs From EST Databases. *Genome Res.* 9, 167-174.
- Porten, M., (2004). Die Wahl des richtigen Spätburgunderklons. DLR. Neustadt. Fachinformationen. www.dlr.rlp.de.
- Porten, M., (2001). Die Spätburgunderklone – Klontypen. DLR. Neustadt. Fachinformationen. www.dlr.rlp.de.

- Pratt C. (1971) Reproductive anatomy in cultivated grapes-review. *American Journal of Enology and Viticulture* 25, 131-150.
- Pray, G., Delbarre, A., Marchant, A., Swarup, R., Napier, R., Perrot-Rechenmann, C., & Bennett, M.J., (2001). Novel auxin transport inhibitors phenocopy the auxin influx carrier mutation *aux1*. *Plant J.* 25, 399-406.
- Quirino, B., Normanly, J. & Amasino, R., (1999). Diverse range of gene activity during *Arabidopsis thaliana* leaf senescence includes pathogen-independent induction of defense-related genes. *Plant Mol. Biol.* 40, 267-278.
- Rafalski A., Morgante M., (2004) Corn and human: recombination and linkage disequilibrium in two genomes of similar size. *Trends Genet.* 20, 103-111.
- Rafalski A., (2002) Application of singel nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Plant Biology* 5, 94-100.
- Rashotte, A.M., Brady, S., Reed, R., Ante, S. & Muday, G.K., (2000). Basipetal auxin transport is required for gravitropism in roots of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 122, 481-490.
- Raven, J.A., (1975). Transport of indolacetic acid in plant cell in relation to pH and electrical potential gradients, and its significance for polar IAA transport. *New Phytol.* 74, 163-172.
- Ray, P.M., (1977). Auxin-binding sites of maize coleoptiles are localized on membranes of the endoplasmic reticulum. *Plant Physiol.* 59, 594-599.
- Rayle, D.L. & Cleland, R.F., (1992). The Acid Growth Theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiol.* 99, 1271-1274.
- Rayle, D.L., Cleland, R.E., (1977). Control of plant cell enlargement by hydrogen ions. *Curr Top Dev Biol* 11, 187-214.
- Rayle, D.L., (1973). Auxin-induced hydrogen-ion secretion in *Avena* coleoptiles and its implications. *Planta* 114, 63-73.
- Rayle, D., Cleland, R.E., (1970). Enhancement of wall loosening and elongation by acid solutions. *Plant Physiol* 46: 250-253.
- Regner F., Stadlbauer A., Eisenheld C., Kaserer H., (2000) Genetic relationships among Pinots and related cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.* 51, 1,7-14.
- Reid, J.B., Symons, G.M. & Ross, J.J., (2010). Regulation of Gibberellin and Brassinosteroid Biosynthesis by Genetic, Environmental and Hormonal Factors. In Davies, P.J., *Plant Hormones, Biosynthesis, Signal Transduction, Action!*, (3. Auflage), (S. 179 – 203), Springer.
- Reid, J.B., Murfet, I.P., Potts, W.C., (1983). Internode length in *Pisum*. Additional information on the relationship and action of loci *Le*, *La*, *Cry*, *Na* and *Lm*. *J. Exp Bot* 34, 349-364.
- Reinhardt, D., Mandel, T., Kuhlemeier, C., (2000). Auxin Regulates the Initiation and Radial Position of Plant Lateral Organs. *Plant Cell* 12, 507-518.
- Ribnicky, D., Cohen, J., Hu, W.S. & Cooke, T., (2002). An extraordinary auxin surge following fertilization in carrot: its significance for plant totipotency. *Planta* 214, 505-509.
- Richard, O., Paquet, N., Haudecoeur, E., Charrier, B., (2005). Organization and expression of the GSK3/Shaggy kinase gene family in the moss *Physcomitrella patens* suggest early gene multiplication in land plants and an ancestral response to osmotic stress. *Mol. Evol.* 61, 99-113.
- Richards, D.E., King, K.E., Ait-Ali, T., Harberd, N.P., (2001). How gibberellin regulates plant growth and development: a molecular genetic analysis of gibberellin signalling. *Am. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52, 67-88.

- Richards, E.J., Ausubel, F.M., (1988). Isolation of a higher eukaryotic telomere from *Arabidopsis thaliana*. Cell 53, 127-136.
- Ritter, R., (2003). Reaktion der Beereentwicklung auf den Einsatz eines Bioregulators bei Burgundersorten und Scheurebe. Diplomarbeit, Fachhochschule Geisenheim.
- Rivera, J.C. & Mavriche, E. (1978) Lutte contre le botrytis cinerea: Utilisation de la Gibberelline pour allonger les grappes de pinot gris a Mendoza (Argentine), Prog. Agric. Vitic. (Montpellier) 95 (1), 9-11.
- Rives, M. & Pouget, R. (1959) Action de la gibberelline sur la compacité de deux variétés de vigne. C.R. Hebd. Séances Acad. Agricult. France 45, 343-345.
- Rochange, S.F., Wenzel, C.L., and McQueen-Mason, S.J. (2001). Impaired growth in transgenic plants over-expressing an expansin isoform. Plant Mol. Biol. 46, 581-589.
- Roper, T.R. & Williams, L.E., (1989) Net CO₂ assimilation and carbohydrate partitioning of grapevine leaves in response to trunk girdling and Gibberellic acid application. Plant Physiology 89, 1136-1140.
- Rose, J.K.C., Cosgrove, D.J., Albersheim, P., Darvill, A.G., Bennett, A.B., (2000). Detection of expansin proteins and activity during tomato fruit ontogeny. Plant Physiol. 123,1583-1592.
- Ross, J.J., O'Neill, D.P., Wolbang, C.M., Symons, G.M. & Reid, J.B., (2002). Auxin-gibberellin interaction and their role in plant growth. J. Plant Growth Regul. 20,346-353.
- Ross, J.J. & O'Neill, D. (2001). New interactions between classical plant hormones. Trends in Plant Science Vol. 6 (1) 2-4.
- Ross, J.J., O'Neil, D.P., Smith, J.J., Huub, L., Kerckhoffs, J. & Elliott, R.C., (2000). Evidence that auxin promotes gibberellin A₁ biosynthesis in pea. The Plant Journal 6, 547-552.
- Ross, J.J., (1998). Effects of Auxin transport inhibitors on gibberellins in pea. J. Plant Growth Regul. 17, 141-146.
- Rozen, S., Skaletsky, H., (2000). Primer3 on the www for general users and for biologist programmers. In: Kawetz, S., Misener, S. (Hrsg.), Bioinformatics and Protocols. Methods in Molecular Biology. (S. 365-386), Totowa, Human Press.
- Rubery, P.H. & Sheldrake, A.R., (1974). Carrier-mediated auxin transport. Planta 118,101-121.
- Rühl, E.H., (1995). Klone für jede Lage. Das Deutsche Weinbaumagzin 23-25.
- Sachs, R.M. & Weaver, R.J., (1968). Gibberellin and auxin induced berry enlargement in *Vitis vinifera*. Hortic. Sci. 43, 185-194.
- Sail, M.A., Teviotdale B.L. und Savage S.D. (1981) Bunch rots, p. 51-56. In Grape pest management. Uni. Calif. Agr. Sci. Pub. Berkeley, Calif.
- Salmaso, M., Feas G., Segala C., Stefanini M., Salkhutdinov I., Zyprian E., Töpfer R., Grando MS. & Velasco R., (2004). Genome diversity and gene haplotypes in the grapevine (*Vitis vinifera* L.), as revealed by single nucleotide polymorphisms. Molecular Breeding 14, 385-395.
- Salisbury, B.A., Pungliya, M., Choi, J.Y., Jiang, R., Sun, X.J. & Stephens, J.C., (2003). SNP and haplotype variation in the human genome. Mutat. Res. 526, 53-61.
- Sampedro, J., Cosgrove, D.J., (2005). The expansin superfamily. Genome Biol. 6 (12), 242.1-242.11.

- Sastry, K.K.S., Muir, R.M., (1963). Gibberellin: effect on diffusible auxin in fruit development. *J. Plant Growth Regul.* 26, 211–221.
- Sauter, M, Seagull, R.W. & Kende, K., (1993). Internodal elongation and orientation of cellulose microfibrils and microtubules in deepwater rice. *Planta* 190, 354-362.
- Sauter, M. & Kende, H., (1992). Gibberellin-induced growth and regulation of the cell division cycle in deepwater rice. *Planta* 188, 362-368.
- Schlosser J., Olsson N., Weis M., Reid K., Peng F., Lund S. und Bowen P., (2008) Cellular expansion and gene expression in the developing grape *Vitis vinifera* L.. *Protoplasma* 232, (3-4) 255-265.
- Schipper, O., Schäfer, D., Reski, R., Fleming, A., (2002). Expansins in the *bryophyte Physcomitrella patens*. *Plant Mol. Biol.* 50, 789-802.
- Schmid, K.J., Sorensen, T.R., Stracke, R., Torjek, O., Altmann, T., Mitchell-Olds, T., Weisshaar, B., (2003). Large-scale identification and analysis of genome-wide single-nucleotide polymorphisms for mapping in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Res.* 13, 1250–1257.
- Schneider K, Weisshaar B, Borchardt DC, and Salamini F (2001) SNP frequency and allelic haplotype structure of *Beta vulgaris* expressed genes. *Mol. Breed.* 8, 63-74.
- Schöpfer, P., Liskay, A., Bechtolds, M., Frahy, G., Wagner, A., (2002). Evidence that hydroxyl radicals mediate auxin-induced extension growth. *Planta* 214, 821-828.
- Schöpfer, P., (2001). Hydroxyl radical-induced cell-wall loosening in vitro and in vivo: implications for the control of elongation growth. *Plant J.* 28, 679-688.
- Schlosser, J., Olsson, N., Weis, M., Reid, K., Peng, F., Lund, Bowen, P., (2008). Cellular expansion and gene expression in the developing grape (*Vitis vinifera* L.) *Protoplasma* 232, 255-265.
- Schwab A., Peternel M. und Greber E. (2004) Ertragsregulierung: Einfluss auf die Mostinhaltsstoffe und Weinbewertung. *Rebe & Wein* 6.
- Scott, T.K., Wilkins, M.B., (1968). Auxin transport in roots II. Polar flux of IAA in *Zea mays*. *Planta* 83, 232-334.
- Serrani, J.C., Fos, M., Ates, A., Garcia-Martinez, J.L., (2007). Effect of Gibberellin and Auxin on Parthenocarpic fruit growth induction in the cv. Micro-Tom of Tomato. *J. Plant Growth Regul.* 26, 211–221.
- Shavrukov, Y.N., Dry, I.B., Thomas, M.R., (2004). Inflorescence and bunch architecture development in *Vitis vinifera* L. *Austrian Journal of Grape and Wine Research* 10, 116-124.
- Shcherban, T.Y., Shi, J., Durachko, D.M., Guitlman, M.J., McQueen-Mason, S.J., Shieh, M., Cosgrove, D.J., (1995). Molecular cloning and sequence analysis of expansin - a highly conserved, multigene family of proteins that mediate cell-wall extension in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 9245-9249.
- Shieh, M., Shi, J., Cosgrove, D.J., (1997). Developmental, hormonal and light regulation of the transcript for the cell wall - loosening protein expansin. *Plant Physiol.* 114, 85.
- Silvestroni, O., Pietro, D.I., Intrieri, C., Vignani, R., Filippetti, I., Casino, D., Scali, C. & Cresti, M., (1997). Detection of genetic diversity among clones of cv. Fortana (*Vitis vinifera* L.) by microsatellite DNA polymorphism analysis. *Vitis* 36, 147-150.

- Sievers R., (2007) Wein in Burgund. Exkursion in Burgund. http://www.rolf-sievers.de/burgund/Burgund_Wein.pdf
- Slovin, J.P., Bandurski, R.S., Cohen, J.D., (1999). Auxin. In: Hooykaas, P.J.J., Hall, M.A., Libbenga, K.R. (Hrsg.). Biochemistry and molecular biology of plant hormones. (S. 115-140), Amsterdam, Elsevier Science Publishers.
- Smirnova, K.V. & Perepelitsyna, E.P., (1995). On the effect of gibberellin on seedless varieties of vine and their processing products. Fiziologiya Rast. 12, 306-312.
- Smithyman, R.P., Howell, G.S. & Miller, D.P., (1998) The use of competition for carbohydrates among vegetative and reproductive sinks to reduce fruit set and Botrytis bunch rot in Seyval blanc grapevines. Am. J. of Enology and Viticulture 49, 163-170.
- Smulders, M.J.M., Janssen, G.F.E., Croes, A.F., Barendse, G.W.M. & Wullems, G.J., (1998). Auxin Regulation of Flower Bud Formation in Tobacco Explants. J. exp. Bot. 39, 451–459.
- Sponsel, V.M. & Hedden, P., (2010). Gibberellin biosynthesis and interactivity. In Davies, P.J. (Hrsg.), Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action! (3. Auflage). (S. 63-94), Kluwer Academic Publisher.
- Sponsel, V.M. & Hedden, P., (2004). Gibberellin biosynthesis and interactivity. In Davies, P.J. (Hrsg.), Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action! (2. Auflage), (S. 63–94), Dordrecht, Kluwer Academic Publisher.
- Spray CR, Kobayashi M, Suzuki Y, Phinney BO, Gaskin P, MacMillan J (1996) *The dwarf-1 (d1) mutant of Zea mays blocks three steps in the gibberellin-biosynthetic pathway*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93,10515-10518.
- Srinivasan, C., Mullin, M.G., (1981a). Physiology of flowering in the grapevine: A review. American Journal of Enology and Viticulture 32, 47-63.
- Srinivasan, C., Mullin, M.G., (1980a). Flowering in *Vitis*: effects of genotype on cytokinin-induced conversion of tendrils into inflorescences. Vitis 19, 293-300.
- Srinivasan, C., Mullin, M.G., (1980b). Effects of Temperature and Growth Regulators on Formation of Anlagen, Tendrils and Inflorescences in *Vitis vinifera* L.. Annals. of Botany 45, 439-446.
- Srinivasan, C., Mullin, M.G., (1978). Control of flowering in the grapevine (*Vitis vinifera* L.) Plant Physiol. 61, 127-130.
- Srinivasan, C., Mullin, M.G., (1976). Reproductive anatomy of the grapevine (*Vitis vinifera* L.): origin and development of the anlage and its derivatives. Annals of Botany 40, 1079-1084.
- Srivastava LM, (2007) Plant growth and development. Hormones and Environment. Academic Press.
- Staudt, G., Schneider, A., Leidel, J., (1986). Phase of berry growth in *Vitis vinifera*. Journal of Hortic. Sci. 72, 705-712.
- Steiner, K., (2007). Challenging a Phenotype: Gibberellin-Induced Loose Clusters in Pinot noir A Study with Auxin. Diplomarbeit, Universität für Bodenkultur.
- Stewart, W.S., Hield, H.Z., Brannaman, B.L., (1952). Effects of 2,4-D and related substances on fruit drop, yield, size and quality of Valencia Oranges. Hilgardia 21, 301-329.
- Sun, T.P., (2010). Gibberellin signal transduction in Stem elongation & leaf growth. In Davies, P.J., Plant Hormones: Bioynthesis, Signal Transduction, Action! (3. Auflage), (S. 308-324), Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- Sun, T.P., Grubler, F., (2004). Molecular mechanism of gibberellin signalling in plants. Annu. Rev. Plant Biol. 55, 197-224

- Sun, T.P. & Kamiya, Y., (1994). The *Arabidopsis* *GA1* locus encodes the cyclase entkaurene synthetase A of gibberellin biosynthesis. *Plant Cell* 6, 1509-1518.
- Swarup, R., Kargul, J., Marchant, A., Zadik, D., Rahman, A., Mills, R., Yemm, A., May, S., Williams, L., Millner, P., Tsurumi, S., Moore, I., Napier, R., Kerr, I.D. & Malcolm J. Bennett, M.J., (2004). Structure-function analysis of the presumptive *Arabidopsis* auxin permease. *Plant Cell* 16, 3069-2073.
- Swarup, R., Bennett, M.J., (2003). Auxin transport: the fountain of life in plants? *Dev. Cell* 5, 824-826.
- Swarup, R., Friml, J., Marchant, A., Ljung, K., Sandberg, G., Palme, K. & Bennett, M.J., (2001). Localization of the auxin permease *AUX1* suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the *Arabidopsis* root apex. *Genes. Dev.* 15, 2648-2653.
- Syvänen, A.C., (2001). Accessing genetic variation genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 2, 930-942.
- Taiz, L., (1994). Expansins: Proteins that promote cell wall loosening in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 7387-7389.
- Talbott, L.D., Ray, P.M., (1992). Molecular Size and Separability Features of Pea Cell Wall Polysaccharides. Implications for Models of Primary Wall Structure. *Plant Physiol.* 98, 369-379.
- Takeno, K., Koshioka, M., Pharis, R.P., Rajasekaran, K. & Michael G. Mullins, M.G., (1983). Endogenous Gibberellin-Like Substances in Somatic Embryos of Grape (*Vitis vinifera* x *Vitis rupestris*) in Relation to Embryogenesis and the Chilling Requirement for Subsequent Development of Mature Embryos. *Plant Physiol.* 73, 803-808.
- Terrier, N., Glisant, D., Grimplet, J., Barrieu, F., Abbal, P., Couture, C., Ageorges, A., Atanassova, R., Léon, C., Rendaudin, J.P., Dédaldéchamp, F., Romieu, C., Delrot, S., Hamdi, S., (2005). Isogene specific oligo arrays reveal multifaceted changes in gene expression during grape berry (*Vitis vinifera* L.) development. *Planta* 222, 832-847.
- This, P., Lacombe, T., Cadle-Davidson, M., Owens, C., (2007). Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*. *Theor. App.Gent.* 14 (4), 723-730.
- This, P., Lacombe, T. and Thomas M.R. (2006) Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics* Vol. 22 No.9, 511-519.
- Thoma, K., (1993). Klone des Blauen Spätburgunder im Vergleich. *Deutsches Weinbau-Jahrbuch* 44, 49-61.
- Thoma, K., (1981). Baden und seine Burgunder. *Badischer Weinbauverband e.v. Rombach Verlag Freiburg* 68-82.
- Thomas, T.H., Wahreing, P.F. & Robinson, P.M., (1964). Chemistry and physiology of dormins in sycamore, action of the sycamore dormin as a gibberellin antagonist. *Nature* 205, 1269-1272.
- Thomas, S.G. & Hedden, P., (2006). Plant Hormone signaling: Gibberellin metabolism and signal transduction. *Annu. Plant Rev.* 24, 147-184.
- Troggio, M., Malacarne, G., Vezzulli, S., Salmaso, M. & Velasco, R., (2008). Comparison on different methods for SNP detection in grapevine. *Vitis* 47 (1), 21-30.
- Troggio, M., Malacarne, G., Coppola, G., Segala, C., Cartwright, D.A., Pindo, M., Stefanini, M., Mank, R., Moroldo, M., Morgante, M., Grando, M.S. und Velasco, R., (2007) A dense single-nucleotide polymorphism-based genetic linkage

- map of grapevine (*Vitis vinifera* L.) anchoring Pinot noir bacterial artificial chromosome contigs. *Genetics* 176, 2637-2650.
- Tsurumi, C., Ohwaki, Y., (1978). Transport of ¹⁴C labelled IAA in *Vicia* root segments. *Plant Cell Physiol.* 19, 1195-1206.
- Uozu, S., Tanaka-Ueguchi, M., Kitano, H., Hattori, K., Matusuoka, M., (2000). Characterization of XET-related genes in rice. *Plant Physiol.* 122, 853-859.
- Vaclavicek, A., (2004). Differenzierung von Burgunderklonen (*Vitis vinifera* cv. Burgunder) auf der Basis von SNP-Markern und Unterschieden im Methylierungsmuster. Diplomarbeit Universität Hohenheim.
- Van Huizen, R., Ozga, A., Reinecke, D.M., (1997). Seed and hormonal regulation of gibberellin 20-oxidase expression in pea pericarp. *Plant Physiol.* 115, 123-128.
- Van Noorden, G.E., Ross, J.J., Reid, J.B., Rolfe, B.G. & Mathesius, U., (2006). Defective long-distance auxin transport regulation in the medicago truncatula super numeric nodules Mutant. *Plant Physiol.* 140, 1494-1506.
- Vail, M.E., Wolpert, J.A., Gubler, W.D., Rademacher, M.R., (1998). Effect of cluster tightness on Botrytis bunch rot in six Chardonnay clones. *Plant Disease* 82 (1), 107-109.
- Vail, M.E., Marois, J.J., (1991). Grape cluster architecture and the susceptibility of berries of Botrytis cinerea. *Phytopathology* 81, 188-191.
- Van Kan, J.A.L. (2005): Infection Strategies of Botrytis cinerea. Proc. VIIIth Post-harvest Phys. Ornamentais. Eds N. Marrisen et al., Acta Hort. (669), ISHS 2005.
- Varshney, R.K., Beier, E.U., Khlestkina, E.E.K., Kota, E.K., Korzum, E.V., Graner, E.A., Börner, E.A., (2007). Single nucleotide polymorphisms in rye (*Secale cereale* L.) discovery, frequency, and applications for genome mapping and diversity studies. *Theor. Appl. Genet.* 114, 1105-1116.
- Velasco, R., Zharkikh, A., Troggio, M., Cartwright, D.A., Cestaro, A., Pruss, D., Pindo, M., FitzGerald, L.M., Vezzulli, S., Reid, J., Malacarne, G., Iliev, D., Coppola, G., Wardell, B., Micheletti, D., Macalma, T., Facci, M., Mitchell, J.T., Perazzolli, M., Eldredge, G., Gatto, P., Oyzerski, R., Moretto, M., Gutin, N., Stefanini, M., Chen, Y., Segala, C., Davenport, C., Demattè, L., Mraz, A., Battilana, J., Stormo, K., Costa, F., Tao, Q., Si-Ammour, A., Harkins, T., Lackey, A., Perbost, C., Taillon, B., Stella, A., Solovyev, V., Fawcett, J.A., Sterck, L., Vandepoele, K., Grando, S.M., Toppo, S., Moser, C., Lanchbury, J., Bogden, R., Skolnick, M., Sgaramella, V., Bhatnagar, S.K., Fontana, P., Gutin, A., Van de Peer, Y., Salamini, F., Viola, R., (2007). A High Quality Draft Consensus Sequence of the Genome of a Heterozygous Grapevine Variety. *PloS One.* 2,12, e1326.
- Vezulli, S., Troggio, M., Coppola, G., Jermakow, A., Cartwright, D., Zharkikh, A., Stefanin, M., Grando, M.S., Viola, R., Adam-Blondon, A.F., Thomas, M., This, P., Velasco, R. (2008) A reference intergrated map for cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) from three crosses, based on 283 SSR and 501 SNP-based markers. *Thero. Appl. Genet.* 117, 499-511
- Viala, P., Velmorel, V., (1902). Ampélographie. Vol IV. Masson, Paris.
- Viret, O., Keller, M., Jaudzems, V.G. und Cole, P.M. (2004): Botrytis cinerea Infection of Grape Flowers: Light and Electron Microscopical Studies of Infection Sites. *Phytopathology* 94, 850-857.
- Vivian-Smith, A. & Koltunow, A.W., (1999). Genetic analysis of growth-regulator-induced parthenocarp in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 114, 779-788.

- Vriezen, W.H., De Graaf, B., Mariani, C., Voesenek, L.A.C.J., (2000). Submergence induces expansin gene expression in flooding-tolerant *Rumex palustris* and not in flooding-intolerant *R. acetosa*. *Planta* 210, 956-963.
- Walker, A., Lee, E., Robinson, A.P., (2006). Two new grape cultivars, bud sports of Cabernet Sauvignon bearing pale-coloured berries, are the result of deletion of two regulatory genes of the berry colour locus. *Plant Mol. Biol.* 62, 623-635.
- Weaver, R.J., (1960). Toxicity of gibberellin to seedless and seeded varieties of *Vitis vinifera*. *Nature* 187, 1135-1136.
- Weaver, R.J., (1978). Effect of time of application of potassium gibberellate on cluster development of Zinfandel grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 29(2), 79-82.
- Weaver, R.J., Pool, R.M., (1971). Thinning Tokay and Zinfandel grapes by bloom sprays of gibberellin. *J. Amer. Soc. Hort. Science* 96, 820-822.
- Weaver, R.J., Shindy, W., Kliewer, M.W., (1969). Growth regulator induced movement of photosynthetic products into fruits of "Black Corinth" grapes. *Plant Physiol.* 44, 183-188.
- Weaver, R.J. & Sachs, R.M., (1968). Hormonal-induced fruit set and berry enlargement in *Vitis vinifera*. In Wightman, F. & Setterfield, G. (Hrsg.), *Physiology and biochemistry of plant growth substances*. Ottawa, Runge Press.
- Weaver, R.J., McCune, S.B., & Hale, C.R., (1962). Effect of plant regulators on set and berry development in certain seedless and seeded varieties of *Vitis vinifera* L. *Vitis* 3, 84-96.
- Weaver, R.J. & McCune, S.B., (1959a). Response of certain varieties of *Vitis vinifera* to gibberellin. *Hilgardia* 28, 297-350.
- Weaver, R.J. & McCune, S.B., (1959b). Effect of gibberellin on seeded *Vitis vinifera*, and its translocation within the vine *Hilgardia* 28, 625-645.
- Weaver, R.J. & McCune, S.B., (1959c). Effect of gibberellin on seedless *Vitis vinifera* *Hilgardia* 29, 247-275.
- Weiler, E.W., (1981) Radiomimmunoassay for pmol-quantities for use with highly stable ^{125}J and ^3H -IAA derivatives as radiotracers. *Planta* 153, 319-325.
- Weiler, E.W., (1980) Radiomimmunoassay for differential and direct analysis of free and conjugated abscisic acid in plant extracts. *Planta* 148, 262-272.
- Weising, K., Nybom H., Wolf K., Kahl G., (2005) DNA fingerprinting in plants. *Methods, and Applications*. (2. Auflage), (S. 301-309), CRC Press, Boca Raton, FL.
- Went, F.W., (1974). Reflection and speculation. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25, 1-26.
- Went, F.W., (1928). *Wuchstoff und Wachstum*. *Recueil Trav. Bot. Neerl.* 25, 1-116.
- Williams, L.E. & Ayars, J.E. (2005) Water use of Thompson seedless grapevines as affected by the application of Gibberellin acid (GA_3) and trunk girdling – Practices to increase berry size. *Agriculture and Forest Meteorology*, 129, 85-94.
- Wohlband, C.M., Ross, J.J., (2001). Auxin promotes gibberellin biosynthesis in decapitated tobacco plants. *Planta* 214, 153-157.
- Woodward, A. & Bartel, B., (2005). Auxin: regulation, action and interaction. *Ann. Bot.* 95, 707-735.
- Wolters, P., Powell, P., Lagudah, E., Snape, E., Henderson, K., (2000). Nucleotide diversity at homologous loci in wheat, In *Plant and Animal Genome Conference*, 9-12 January 2000, San Diego, USA.
- Wrobel, R.L., Yoder, J.L., (2001). Differential RNA expression of α -expansin gene family members in the parasitic angiosperm *Triphysaria versicolor* (Scrophulariaceae) *Gene* 266, 85-93.

- Wu, Y., Thorne, E.T., Sharp, R.E. & Cosgrove, D.J., (2001). Modification of Expansin Transcript Levels in the Maize Primary Root at Low Water Potentials. *Plant Physiol.* 126, 1471-1479.
- Xu, W., Campbell, P., Vargheese, A.V., Braam, J., (1996). The Arabidopsis XET-related gene family: environmental and hormonal regulation of expression. *Plant J.* 9, 879-889.
- Yakushiji, H., Kobayashi, S., Goto-Yamamoto, Jeong, S.T., Sueta, T., Mitani, N. & Azuma, A., (2006). A skin color mutation of grapevine, from black-skinned Pinot noir to white-skinned Pinot blanc, is caused by deletion of the functional VvmybA1 allele. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70 (6),1506-1508.
- Yang L, Zheng B, Mao C, Qi X, Liu F and Wu P (2004) Analysis of transcripts that are differentially expressed in three sectors of the rice root system under water deficit. *Molecular Genetics and Genomics* 272 (4), 433-442 .
- Yang, T., Davies, P.J. & Reid, J., (1996). Genetic dissection of the relative roles of auxin and gibberellin in the regulation of stem elongation in intact light grown peas. *Plant Physiol.* 110, 1029-1034.
- Yao, A., Yang, Y., Liao, K., Zhang, L. & Hu, J., (2010). The expression of *VFL* and *VvTFL1* genes in relation to the effects of gibberellins in different organs of „Xiangfei“ grapevine. *African Journal of Biotechnology* 9, 2748-2755.
- Young, L.D., Tanksley, S.D., (1989). RFLP analysis of size of chromosomal segments retained around the *Tm-2* locus of tomato during backcross breeding. *Theor. Appl. Genet.* 77, 353-359.
- Yu, J., Wang, J., Lin, W., Li, S., Li, H., Zhou, J., Ni, P., Dong, W., Hu, S., Zeng, C., Zhang, J., Zhang, Y., Li, R., Xu, Z., Li, S., Li, X., Zheng, H., Cong, L., Lin, L., Yin, J., Geng, J., Li, G., Shi, J., Liu, J., Lv, H., Li, J., Wang, J., Deng, Y., Ran, L., Shi, X., Wang, X., Wu, Q., Li, C., Ren, X., Wang, J., Wang, X., Li, D., Liu, D., Zhang, X., Ji, Z., Zhao, W., Sun, Y., Zhang, Z., Bao, J., Han, Y., Dong, L., Ji, J., Chen, P., Wu, S., Liu, J., Xiao, Y., Bu, D., Tan, J., Yang, L., Ye, C., Zhang, J., Xu, J., Zhou, Y., Yu, Y., Zhang, B., Zhuang, S., Wei, H., Liu, B., Lei, M., Yu, H., Li, Y., Xu, H., Wei, S., He, X., Fang, L., Zhang, Z., Zhang, Y., Huang, X., Su, Z., Tong, W., Li, J., Tong, Z., Li, S., Ye, J., Wang, L., Fang, L., Lei, T., Chen, C., Chen, H., Xu, Z., Li, H., Huang, H., Zhang, F., Xu, H., Li, N., Zhao, C., Li, S., Dong, L., Huang, Y., Li, L., Xi, Y., Qi, Q., Li, W., Zhang, B., Hu, W., Zhang, Y., Tian, X., Jiao, Y., Liang, X., Jin, J., Gao, L., Zheng, W., Hao, B., Liu, S., Wang, W., Yuan, L., Cao, M., McDermott, J., Samudrala, R., Wang, J., Wong, G.K., Yang, H., (2005). The genomes of *Oryza sativa*: a history of duplications. *PLoS Biol*3:e38.
- Yu, J.Q., Li, Y., Quian, Y.R. & Zhu, Z.J., (2001). Cell division and cell enlargement in fruit of *Lagenaria leucantha* as influenced by pollination and plant growth substances. *Plant Growth Regul.* 33 (2), 117-122.
- Zenoni, S., Reale, L., Torielli, G.B. Lanfaloni, L., Porceddu, A., Ferrarini, A., Moretti, C., Zamboni, A, Speghini, A., Francesco Ferranti, F. & Mario Pezzotti, M., (2004) Downregulation of the *Petunia hybrida* α - gene *PhEXP1* reduces the amount of crystalline cellulose in cell walls and leads to phenotypic changes in petal limbs. *Plant Cell*, 16, 295–308.
- Zhang, S., Yao, A., Bai, H., Ren, J., Jia, W., Zhang, L., Hu, J., (2008). The *VAP1* gene expression in relation to GAs effect on tendrils, buds and flowers development in “Xiangfei” grapevine. *Scientia Horticulturae* 117, 225–230.
- Zhang, N. und Hasenstein, K. H., (2000): Distribution of Expansins in Gravitropism-

- ding Maize Roots. Plant Cell Physiol. 41 (12), 1305-1312.
- Zharkikh A., Troggio M., Pruss D., Cestaro A., Eldridge G., Pindo M., Mitchell J.T., Vezzulli S., Bhatnagar S., Fontana P., Viola R., Gutin A., Salamini F., Skolnick M., Velasco R., (2008) Sequencing and assembly of highly heterozygous genome of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir: Problems and solution. Journal of Biotechnology 136, 38-43.
- Zhu, Y.L., Song, Q.J., Hyten, D.L., Van Tassel, C.P., Matukumalli, L.K., Grimm, D.R., Hyatt, S.M., Fickus, E.W., Young, N.D., Cregan, P.B., (2003) Single nucleotide polymorphisms in soybean. Genetics 163, 1123-1134.
- Zoffoli, J.P., Latorre B.A., Naranjo P., (2009) Preharvest application of growth regulators and their effect on postharvest quality of table grapes during cold storage. Postharvest Biology and Technology 51, 183-192.

Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. R. Blaich möchte ich mich für die Annahme als Doktorandin in seinem Institut und vor allem für das mir große entgegengebrachte Vertrauen, diese Arbeit zu einem gutem Ende zu führen, herzlichst bedanken, sowie für die ergiebige Korrektur des Manuskriptes.

Frau Prof. Dr. A. Forneck, Institut für Garten, Obst und Weinbau, Universität für Bodenkultur Wien danke ich für das Überlassen des Themas, der Motivation diese Herausforderung anzunehmen, der zur Verfügungstellung eines Arbeits-, Labor- und Gewächshausplatzes. Ein großes Dankeschön für die stetige Betreuung meiner Arbeit, für die Einbringung hervorragender Fachkenntnisse, ihrer Diskussionsfreudigkeit und ihrem Interesse an dem Forschungsthema. Ein großes Dankeschön für die herzliche Aufnahmen und die Möglichkeit eine neue Stadt und Kultur kennen zu lernen.

Bei den Kollegen im Verbundprojekt möchte ich mich für die hervorragende Zusammenarbeit herzlichst bedanken:

Herrn Prof. Dr. E. Rühl, Forschungsanstalt Geisenheim möchte ich für die herzliche Aufnahme in seinem Institut, für die exzellente Betreuung und die Einbringung seiner hervorragenden Fachkenntnisse, für den Aufbau, die Organisation, und die Umsetzung des Freilandversuches herzlich danken sowie für die zur Verfügungstellung der Laborräume, Fahrzeuge und die Hilfe seiner Fachkräfte.

Bei Frau Elske Schönhals bedanke ich mich für die Hilfe bei den Freilandversuchen, für die gute Arbeitsatmosphäre und die fotografische Dokumentation.

Herrn Prof. Dr. R. Töpfer danke ich für die herzliche Aufnahme und die gute Arbeitsatmosphäre der Kooperationspartner des Institutes für Rebenzüchtung Geilweilerhof. Frau Prof. Dr. E. Zyprian für die Möglichkeit in Ihrer Arbeitsgruppe neue Methoden und Techniken kennen zu lernen und zu entwickeln. Insbesondere der guten Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Achim Schmitt.

Herrn Prof. Dr. Wünsche, Herrn Dr. Hegele und Herrn Prof. Dr. Bangerth, Institut für Sonderkulturen und Produktionsphysiologie, Universität Hohenheim gilt ein großer Dank für die Unterstützung und die Einbringung Ihrer Fachkenntnisse bei der Planung des Freilandversuches, der Analyse der Hormone und der Auswertung der Daten. Besonders bedanken möchte ich für die Bereitstellung eines Laborarbeitsplatzes.

Bei Herrn Dipl. Ing. Model und Herrn Kaltenberger möchte ich mich für die gute Kooperation mit der Versuchsstation für Obst und Weinbau, der Universität für Bodenkultur, Wien, sowie dem Interesse an den Versuchen danken. Die Pflanzen im Gewächshaus wurden von den Gärtnern der Versuchsstation hervorragend betreut.

Herrn Dr. Dieringer Institut für Universität für Bodenkultur danke ich für die Hilfe der Durchführung der SNP Genotyping Methode, seiner Diskussionsfreudigkeit und dem Einbringen seiner Fachkenntnisse bei der Auswertung der Ergebnisse

Bei der Diplomandin Katharina Steiner möchte ich für die gute Teamarbeit sowie die Einführung in die österreichische Kultur bedanken. Insbesondere dass Katharina keine Mühe gescheut hat, für die Versuche nach Budapest, nach Geisenheim und Hohenheim zu gehen um Ihre Daten zu erheben und auszuwerten zu können.

Den Bakkalaureatsstudenten Florian Alphart, Bernhard Gwscheider und Franz Schneider möchte ich für Ihre Teamarbeit, die viel Freude gemacht hat danken. Ihre Diskussionsfreudigkeit und das Einbringen Ihrer Fachkenntnisse in das Projekt, der Hilfe bei der Betreuung des Versuches im Gewächshaus.

Dem Studenten Franz Schneider danke ich für die Erhebung der morphologischen Daten in Geisenheim.

Bei Frau Dipl. Ing. Sonja Havarda möchte ich mich für die unterstützenden Laborarbeiten bedanken.

Ich danke allen Kollegen des Institutes für Garten, Obst und Weinbau der Universität für Bodenkultur, Wien.

Bei Jens Möhring, Institut 340, Universität Hohenheim, bedanke ich mich für die hervorragende statistische Betreuung.

Bei Herrn Antes möchte ich für die zu Verfügungstellung seiner Rebstöcke und das Interesse an dem Freilandversuch danken.

Bei Herrn Frank, bei Frau Pelsy (Colmar), bei Herrn Walker (USA) und Herrn Rühl (FA Geisenheim) möchte mich für die Bereitstellung von DNA und Pflanzenmaterial bedanken.

Bei Frau Dr. Pelsy möchte ich mich für das Interesse an meinem Forschungsthema, der Bereitschaft der Kartierung des Markers Del1 und den Test auf Heterozygotie an der geselbsteten Population danken.

Bei der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung möchte ich mich für die dreijährige finanzielle Unterstützung bedanken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinem Ehemann Achim Hoffmann, der den Umzug nach Wien auf sich nahm und sein Studium dadurch riskierte, auf Wochenenden verzichtete, meine Aufenthalte an anderen Instituten ertragen hat und mich immer wieder neu motiviert hat diese Arbeit zu beenden, die Betreuung der Kinder am Abend, Wochenende und im Urlaub übernahm.

Ein großen Dank an meine Kinder Paulo, Sem und Matti, die auf vieles verzichten mussten, damit diese Arbeit fertig gestellt werden konnte.

Meiner Familie möchte ich danken, besonders meinen Eltern und Schwiegereltern, die mich während des Zusammenschreibens tatkräftig unterstützt haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Petra Gisela Hoffmann
02.05.1979
geboren in Mainz
verheiratet
3 Kinder (6 Jahre, 4 Jahre und 1 Jahr)

Schule und Studium

1985-1989	Grundschule Alzey
1989-1995	Realschule Alzey
1995-1998	Staatliches Aufbaugymnasium Alzey Abschluss: Abitur
1998-2003	Studium der Agrarbiologie Universität Hohenheim
06/2002-12/2002	Gastwissenschaftler am Department of Crop Sciences, University of Illinois, USA

Praktika

07/1998-09/1999	Landwirtschaftliches Praktikum Farm Hanks, USA, Dighton, Kansas
12/07/1999-08/10/1999	Landwirtschaftliches Praktikum Weinbaubetrieb Schowalter, Kapellen-Drusweiler
07/2000-08/2000	Praktikum am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof

Promotion

2005-heute	Institut für Kulturpflanzenwissenschaften, FG Produktqualität für Sonderkulturen, Universität Hohenheim
05/2005-04/2007	Gastwissenschaftler am Institut für Garten-, Obst- und Weinbau, Universität für Bodenkultur, Wien
07/2006 – 08/2006	Gastwissenschaftler, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Rebenzüchtung, Geilweilerhof
06/2006	Gastwissenschaftler an der Forschungsanstalt Geisenheim, Institut für Rebenzüchtung und Rebveredlung, Geisenheim,

Berufserfahrung

10/2000-10/2001	Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Kulturpflanzenwissenschaften, FG Produktqualität für Sonderkulturen, Universität Hohenheim
06/2002-12/2002	Wissenschaftliche Tätigkeit am Department of Crop Sciences, Plant Breeding, University of Illinois, USA
05/2004-10/2004	Wissenschaftliche Tätigkeit Institut für Kulturpflanzenwissenschaften, FG Produktqualität für Sonderkulturen, Universität Hohenheim
05/2005-09/2008	Wissenschaftlicher Angestellter Institut für Kulturpflanzenwissenschaften, FG Produktqualität für Sonderkulturen, Universität Hohenheim