

Förderung der Zusammenarbeit in der Land-, Forst- und Ernährungswirtschaft (LFE)
Förderrichtlinie des Thüringer Ministeriums für Infrastruktur und Landwirtschaft (TMIL)

Operationelle Gruppe DENDROTEC

Projekt: „Neue technologische Ansätze zur effektiven Vermehrung von Obst- und anderen Laubgehölzen in vitro“

FKZ: 2015 LFE 0014

Laufzeit: 01.04.2016 – 31.12.2018



Name des Projektes: DENDROTEC

Neue technologische Ansätze zur effektiven Vermehrung von Obst- und anderen Laubgehölzen in vitro

Kurzbeschreibung (Ziele) des Projektes:

- Steigerung der Vermehrungsrate durch Flüssigkultursysteme
- Optimierung des Kulturschritts „Elongation“ zur Vorbereitung auf Bewurzelung der Stecklinge
- Nutzung neuer Kulturtrays für Bewurzelung
- Erhöhung der Flexibilität der Produktion durch Lagerung bewurzelter Einheiten
- Optimierung des Flächenmanagements in der Akklimatisierung
- Entwicklung neuer Produkte für die Forstwirtschaft



Ein Projekt in Zusammenarbeit mit

- Staatsbetrieb Sachsenforst Pirna
- ThüringenForst Gotha
- Leibniz-Institut Gatersleben
- Leibniz-Universität Hannover
- TM Zierpflanzen GmbH Mühlhausen
- Arand Unternehmensberatung

Hier investieren Europa und der Freistaat Thüringen in die ländlichen Gebiete.

Zusammensetzung der Operationellen Gruppe

	Partner	Anschrift	Kontaktperson
1	Baumschulen Oberdorla GmbH	Burgstrasse 57, 99986 Vogtei, OT Oberdorla	Dr. Hardy Dembny Geschäftsführer
2	Arand Unternehmensberatungs- gesellschaft mbH	Felchtaer Landstrasse 22, 99974 Mühlhausen	Prof. Dr. sc. Erich Arand Geschäftsführer
3	TM Zierpflanzen GmbH	Industriestrasse 21, 99974 Mühlhausen	Mike Fischer Prokurist
4	Staatsbetrieb Sachsenforst, Kompetenzzentrum Wald und Forstwirtschaft	Bonnewitzer Strasse 34, 01796 Pirna, OT Graupa	FD Dr. Heino Wolf Leiter Referat 42
5	Thüringenforst AöR, Forstliches Forschungs- und Kompetenzzentrum	Jägerstrasse 1, 99867 Gotha	FD Corinna Geißler Leiterin FFK
6	Leibnizinstitut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung	Corrensstrasse 3, 06466 Seeland, OT Gatersleben	Prof. Dr. Gotthard Kunze Leiter AG Hefegenetik
7	Leibniz Universität Hannover, AG Gehölz- und Vermehrungs- physiologie	Herrenhäuser Strasse 2, 30419 Hannover	Prof. Dr. Traud Winkelmann Leiterin der AG

Mitglieder der OPG sind die Partner 1-3, Partner 4-7 arbeiteten insbesondere mit Partner 1 zusammen und/oder wurden von ihm beauftragt.

AP 1: Selektion neuer Klone forstwirtschaftlich interessanter Laubgehölze

Durch den Partner Sachsenforst wurde in 2017 erneut von 23 ausgelesenen Aspen- sowie 7 Vogelkirschklonen Material geworben und zur In-vitro-Kultur vorbereitet, da im Vorjahr nicht alle Klone erfolgreich bearbeitet werden konnten. Hinzu kamen 10 Vogelkirschkclone aus Mecklenburg-Vorpommern sowie je 6 Klone aus Thüringen und Hessen. Dieses Material wurde analog 2016 bearbeitet und zu 80% erfolgreich etabliert.

Etablierungsergebnisse:

Im Berichtszeitraum wurden bei Aspen 894 Explantate präpariert und bei Vogelkirsche 838 Explantate. Während für Aspen als Kulturmedium ein mit Agar (6,5g/L) verfestigtes MS-Medium mit 0,1 ppm IES, 0,5 ppm m-Topolin, 0,5 ppm 2iP und 3% Saccharose verwendet wurde, erfolgte die Subkultur der Vogelkirschen auf einem Kulturmedium nach Quoirin & Lepoivre mit 0,05 ppm IBS, 0,75 ppm BAP und 1,0 ppm Gibberellinsäure. Für Aspen wurde dieses Standardmedium über alle Subkulturen beibehalten. Für die Vogelkirschen wurde

zusätzlich ein Medium nach Driver & Kuniyuki getestet, dass mit einer Reduzierung des Saccharosegehalts auf 2% eine bessere Vermehrung erlaubt.

Insgesamt wurden in den Jahren 2017 und 2018 42 Vogelkirschkclone und 38 Aspenklone neu in Kultur gebracht.

AP 2: Einführung eines Elongationsschrittes in den Vermehrungsprozess

Um die Qualität der Stecklinge für die Bewurzelung zu erhöhen wurden die positiven Erfahrungen bei der Sorte GiSelA® 5 konsequent auf weitere Klone übertragen. Dabei war neben der Reduzierung der Cytokinin-Konzentration von 0,75 -1,0 ppm auf 0,2 ppm und Addition eines schwächer wirkenden Cytokinins (2iP, 1ppm) die Reduzierung des Zuckerkonzentration von 3% auf 2% entscheidend. Allerdings setzt die Einführung des Elongationsschrittes eine längerfristige relativ starre Produktionsplanung voraus: Stecklinge, die auf Elongationsmedium kultiviert wurden, können erst über 2 Subkulturen wieder in den „normalen“ Vermehrungsprozess integriert werden, d.h. die Flexibilität für zusätzliche Mengen in kurzer Zeit geht verloren. 2017 entwickelte sich eine starke Nachfrage nach der Sorte GiSelA® 12, die bei der Planung 2016 nicht absehbar war. So waren bereits Anfang 2017 alle Vermehrungskulturen auf Elongationsmedium. Erst über 4 Subkulturen mit steigender Vermehrungsrate (1,025 -> 1,57 -> 1,91 -> 2,57) konnte ein neuer Vermehrungsbestand aufgebaut werden.

Für alle Massenkulturen (Obstunterlagen außer Apfel) ergaben sich unterschiedliche Zusammensetzungen der Elongationsmedien auf Basis MS oder QL. Neu wird aktuell auch das Medium DKW (s.o.) getestet, das in seiner Nährstoffzusammensetzung zwischen beiden vorgenannten Medien angesiedelt ist.

AP 3: Integration von Flüssigkultursystemen in die Vermehrung

Komplette Flüssigkultursysteme (Bioreaktoren) wurden weiterhin nur für Stachelbeeren genutzt. Durch den starken Einfluss von Endophyten in den Pflaumenunterlagen (bes. Wavit®) und dem damit verbundenen Selektionsprozess wurde bei diesen Kulturen nur das 2-Phasensystem (Überschichtung eines Festmediums mit Flüssigmedium) angewandt. Untersuchungen zur Zugabe von Antibiotika (Carbenicillin/Cefotaxim-Mix) durch Studenten der Leibniz-Universität Hannover zeigten die prinzipielle Verträglichkeit bis zu einer Konzentration von 600 mg/L Carbenicillin auf, allerdings konnte damit auch keine vollständige Verdrängung der Endophyten erreicht werden. Gleichzeitig sank die Vermehrungsrate von 2,07 auf 1,45 bzw. 1,27 auf 0,96 bei der Bewurzelung. Eine Charge von knapp 4000 Stecklingen auf Vermehrungsmedium musste komplett verworfen werden.

Aus diesem Grund wurden alle Vermehrungskulturen nach 10 Tagen einem Check auf sichtbare Endophyten unterzogen und nur „optisch saubere“ Kulturen erhielten eine Zugabe von 10 mL Flüssigmedium (10+10-Regel). Damit war gewährleistet, dass nur qualitativ hochwertige Stecklinge zur Bewurzelung verwendet wurden, nachdem eine Charge von weiteren 6000 schwach bewurzelten Pflänzchen nach dem Pikieren nahezu komplett ausfiel(Foto).

Spätere Pikiersätze (August / September) ergaben Überlebensraten von 82% bzw 90%. Allerdings musste bei dem Pikiersatz im September ein sehr geringer Zuwachs in Kauf genommen werden.



AP 4: Nutzung von Einzelpflanzentrays als Schnittstelle zur gärtnerischen Kultur

Die umfangreichsten Versuche wurden in diesem AP durchgeführt. Dazu wurde neben dem Vergleich von sterilen Trays mit Kulturmedium und Trays mit sterilem Erds substrat auch Versuche mit einer neuartigen Folienabdeckung bei Substrat trays durchgeführt sowie die Wirkung von LED-Leuchten der Fa. Philips, die speziell für den Einsatz in gärtnerischen Kulturen entwickelt wurden, getestet.



Medientrays (links) sind Trays mit 96 einzelnen Vertiefungen, in die jeweils 2 mL steriles Bewurzelungsmedium gefüllt werden. Substrat trays (rechts) sind kleine Multiplatten, die mit 126 sterilisierten Substratblöckchen bestückt sind (Anbieter ViViPak, Burgh-Hamsteede).



Während die Qualität der Bewurzelung in den Substrat trays schon in den Ergebnissen der Vorversuche des Jahres 2016 sichtbar war (Foto links), zeigten sich in den aktuellen Versuchen überraschende Ergebnisse.

Bewurzelte Pflanze aus Substrat trays nach 3 Wochen Kultur



LED-Beleuchtung der Fa. Philips (Deep Red/ Blue/Far Red, 29W je Modul) Installation von 3 Modulen je Regal vorn bzw. 2 Modulen je Regal – hinten)

- Das Verschließen der Substrat trays mit gelochter Folie (hot needle) zeigte eine gleich gute Bewurzelung wie das Verschließen mit laserperforierter Folie (36 row =

Standard) unter Standardbedingungen (Weißlicht, Langtag) im Klimaraum. Allerdings war zu beobachten, dass wegen des besseren Gasaustauschs der gelochten Folie bereits nach 3 Wochen ein leichtes Austrocknen der Trays zu beobachten war.

- Bei Nutzung der Philips-LED kam es in Trays, die mit laserperforierter Folie verschlossen waren, nach 2 Wochen zu deutlichen Aufhellungen der Blätter, bei gelochter Folie jedoch zu einer deutlichen Wachstumsbeschleunigung. Damit einher ging auch ein schnelleres Austrocknen der Trays. Dieses Problem konnte sehr gut durch Zugabe von Nährlösung (zuckerfrei) oder sterilem Wasser gelöst werden. Durch die Düngergabe kam es jedoch zu einer besseren und gleichmäßigeren Entwicklung (siehe Foto GiSelA® 3 aus KW 27).



Kirschenunterlagen in Substrattrays bewurzelt; nach 3 Wochen Zugabe von 200 mL Wasser je Tray (links – ohne FLM) bzw. 200 mL MS – Medium ohne Zucker (rechts - +FLM)

- Substrattrays mit gelochter Folie sind bereits während des Bewurzelungsphase weitgehend abgehärtet. Anfangs wurden diese Trays parallel zum „normalen“ Akklimatisierungsprozess im Überführungsgewächshaus der Baumschulen

Oberdorla aufgestellt und über einen Zeitraum von 2 Wochen an eine relative Luftfeuchte von 50-60% angepasst. Nachfolgend konnte beobachtet werden, dass 2-3 Tage Weiterkultur unter Vlies völlig ausreichend sind, so dass die Trays direkt an die TM Zierpflanzen geliefert werden können. Günstig erwies sich dafür eine Vorbehandlung der Trays durch Tauchen in einer Fungizid-Dünger-Lösung.



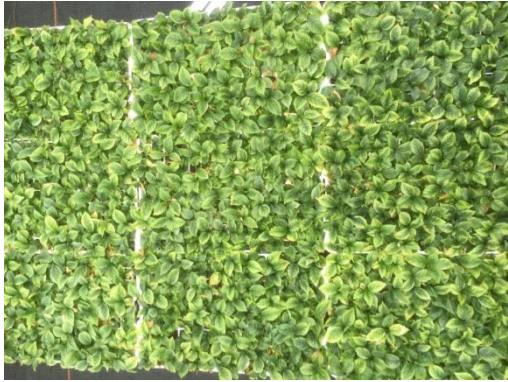
Kirschenunterlagen (GiSelA® 5) nach 2 Wochen Akklimatisierung mit deutlichem Durchtrieb als Folge der Düngergabe nach Öffnen der Kulturschalen

AP 5: Lagerung bewurzelter Stecklinge

Nach den Ergebnissen des Vorjahres, bei den sich herausstellte, dass Substrattrays im Dunkeln nicht lagerfähig waren, wurde die Bewurzelung anfangs (ab Dezember 2016 bis Mitte März 2017) nur in Medientrays (96well) durchgeführt. Diese Bewurzelungskulturen konnten im Dunkeln sehr gut eingelagert werden (+2°C). Auch hier ergaben sich Unterschiede in der Lagerdauer: Während GiSelA® 5 schon nach 18 Wochen Qualitätseinbußen zeigte (Akklimatisierungsrate sank auf 65%) war mit GiSelA® 6 eine Akklimatisierungsrate von 85% auch noch nach 25 Wochen erreicht worden (pikiert Ende Juni).

Substrattrays wurden ausschließlich unter Langtagsbedingungen im Licht gelagert. Mit Qualitätseinbußen (Reduzierung der Akklimatisierungsrate: GiSelA® 5 nur 70%, GiSelA® 6 nur 83%) war eine Lagerung über 27 Wochen unter Leuchtstoffröhren möglich.

Auf Grund der Arbeitsspitzen im Frühjahr wurde mit der Bewurzelung in Substrattrays in Woche 10 begonnen, die bis zum Pikieren in Woche 26 gelagert wurden. Bei GiSelA® 5 hatte diese Lagerdauer beim Pikieren nur einen geringen Einfluss auf die Ausbeute (über 90%) anders jedoch bei GiSelA® 13 (Foto links) mit nur 79%. Vor allem in der Weiter-



kultur zeigten sich deutliche Wachstumsverzögerungen (Foto rechts).

AP 6: Verbesserung und Steuerung der Wachstumsbedingungen

Die Überführung und Weiterkultur der Kirschunterlagen im Sommer im Gewächshaus der TM Zierpflanzen GmbH hat sich bewährt.



Pikierfähige Kirschunterlagen (GiSelA® 5) vorbereitet für den Transport zu TM Zierpflanzen (7500 Pflanzen einfach per PKW zu transportieren)

2017 war das Sortierergebnis nur für einen ersten Satz Kirschunterlagen sehr gut (Pikieren Ende Juni / Anfang Juli), ein späterer Satz Anfang August erreichte dies bedingt durch die ungünstigen Witterungsbedingungen (reduzierte Sonnenscheindauer im August/September) nicht. Arbeitswirtschaftlich war die Nutzung dieser Gewächshäuser auch ein Erfolg, konnten die Unterlagen aus dem ersten Satz zur Abhärtung bereits Ende September auf eine Freifläche geräumt werden. Dazu wurde das moderne Transportsystem der TM Zierpflanzen mit Elektrokarren und CC-Containern genutzt. Auf der Freifläche ergaben sich bessere Möglichkeiten zur Sortierung der Unterlagen (Platz) im Vergleich zu den Bedingungen zwischen den Rolltischen im Gewächshaus. Durch das frühzeitige Abhärten der Unterlagen war es möglich, diese Arbeiten bereits Anfang November und damit vor Start der intensiven Vermehrungsphase im Labor durchzuführen.



Entwicklung der Pflanzen im Gewächshaus der TM Zierpflanzen (1. Satz, GiSelA® 5, Stand Anfang Juli).

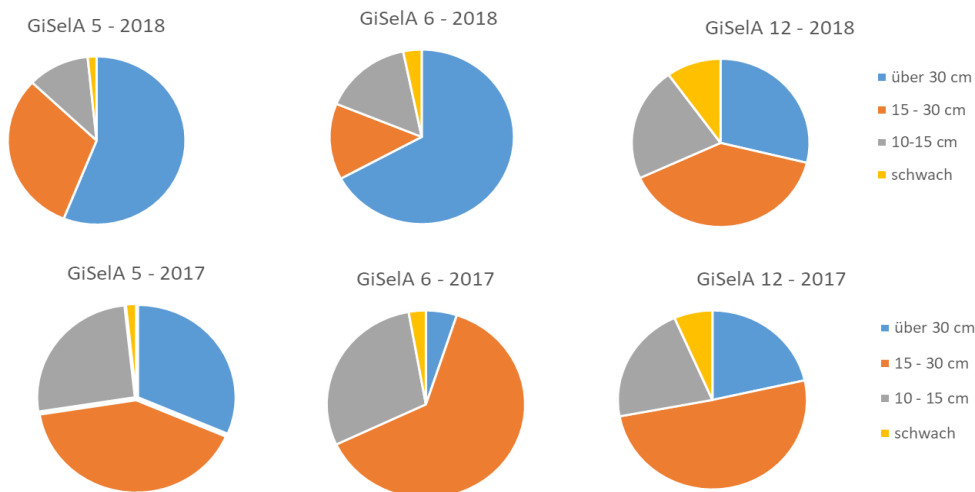


Abhärtung der Pflanzen im Freiland, Laubfall (Stand: Anfang November)

Dieser neue technologische Ablauf ermöglicht eine größere Anzahl von Pflanzen zu kräftigen Jungpflanzen zu kultivieren.

Damit sind zusätzliche Maßnahmen zur Stärkung der Jungpflanzen (Mykorrhiza) nicht notwendig und haben keinen Effekt gebracht.

Verbesserung der Qualität



Erhöhung der Ausbeute größerer Ware

Verteilung der Größen und Qualitäten bei GiSela-Jungpflanzen Ernte 2018 im Vergleich zum Vorjahr

Erhöhung der Effektivität

Die Nutzung von Einzelpflanzentrays führt trotz eines zusätzlichen Transferschrittes (Induktion der Bewurzelung auf einem Auxin-haltigen Nährmedium) zu einer deutlichen Steigerung der Effektivität. Für Medientrays ergibt sich eine Steigerung von 8%, bedingt durch den weiterhin schwierigen Pikiervorgang. Zudem müssen diese Pflanzen weiterhin unter speziellen Klimabedingungen abgehärtet werden.

Für Substratrays ergibt sich eine Steigerung der Arbeitsproduktivität von 22%, bedingt durch den erheblich leichteren Transfer in die Anzuchtplatte. Zudem ist die Möglichkeit der Nutzung eines Pikierroboters gegeben.

Mittels des beim Partner TM Zierpflanzen GmbH vorhandenen Pikierroboters wurde die Nutzung der in Substratrays bewurzelten Pflanzen für einen mechanisierten Transfer demonstriert. Die spezielle Bauart des vorhandenen Geräts erlaubt allerdings keinen Transfer in entsprechende Anzuchtplatten sondern nur in Einzeltöpfe. Dies ist für die Weiterkultur nicht praktikabel.

Die Umstellung der Technologie von einem parallelen Ablauf von Vermehrung und Bewurzelung unter Lagerung bewurzelter Pflanzen hin zu einer Abfolge von Vermehrung einschließlich Vorbereitung der Stecklinge zur Bewurzelung (Elongationsschritt) und Lagerung der Vermehrungskulturen sowie eines nachfolgenden kompakten Blocks von Bewurzelungsarbeiten konnte nur deshalb so erfolgreich bewältigt werden, weil der Anteil der Arbeiten im Gewächshaus von 25% der Gesamtarbeitszeit auf 19% gesenkt werden konnte. Die phasenoptimierte Laborarbeit führte durch den besseren Trainings- und Geöhnungseffekt bei gleichzeitig besserer Qualität der zu bearbeitenden Kulturen zu einer Erhöhung der spezifischen Arbeitsleistung von 17% in der Vermehrungsphase und 12 % beim Schneiden der Stecklinge für die Bewurzelung.

Ein zusätzlicher Aspekt der Nutzung der Substrattrays in Verbindung mit der Weiterkultur bei TM Zierpflanzen ergibt sich aus dem erheblich geringeren Transportaufwand zwischen dem Gewächshaus der Baumschulen Oberdorla GmbH und dem der TM Zierpflanzen GmbH. So ist für den Transport von 100.000 akklimatisierten Pflanzen ca. 4 Fahrten (Transporter plus Anhänger) notwendig, während 100.000 Pflänzchen in Trays (ca. 850 Trays – 93% Ausbeute) mit einer Fahrt ohne Anhänger transportierbar sind.

Anlage von Pflanzungen

Bei den Partnern Staatsbetrieb Sachsenforst und Thüringenforst wurden in den Jahren 2017 und 2019 im Rahmen des Projekts erzeugten Vogelkirschen und Aspen Pflanzungen zur Klonprüfung angelegt.

Nach Maßgabe der Forstpflanzenvermehrungsgesetzes (FoVG) ist es notwendig, dass vegetativ (klonal) erzeugte Forstpflanzen einer Prüfung unterzogen werden müssen und nur als Klonmischungen der Kategorie geprüft in Verkehr gebracht werden dürfen. Dazu werden an verschiedenen Standorten Klonprüfungen nach einem speziellen randomisierten Design angelegt.

Pflanzung des FFK Gotha des Thüringenforst im FoA Bad Salzungen, Revier Vitzeroda, Ansicht im August 2017 (Foto: M. Klein, FFK Gotha)





Cunewalde Reihe 4 Platz 10 – April 2019
gepflanzt April 2017



Rochlitz Reihe 1 Platz 2 – April 2019
gepflanzt April 2017



Lichtenstein Reihe 7 Platz 27 – April 2019
gepflanzt April 2017

Stand der Entwicklung der Vogelkirschversuchsanlage im Frühjahr 2019 (Fotos M. Klein, FFK Gotha)

Verwertung der Ergebnisse

Mit der erfolgreichen Durchführung des Projektes wurden zukunftsweisende Grundlagen für den langfristigen Erhalt des Geschäftszweiges Jungpflanzenproduktion von Gehölzen durch In-vitro-Vermehrung in der Baumschulen Oberdorla GmbH gelegt.

Der Ablauf der Arbeiten zur Vermehrung und Pflanzenproduktion bei Laubgehölzen wurde grundlegend verändert und es wurde gezeigt, dass neuartige Entwicklungen am Markt (Substrat trays) effektiv in die Technologie integriert werden konnten.

Die Effektivierung der Jungpflanzenproduktion führt zu einer Verbesserung der Konkurrenzsituation einheimischer Produzenten gegenüber ausländischen Wettbewerbern, da In-vitro-Vermehrung in hohem Maß handarbeitslastig ist und damit Personalkosten den größten Kostenfaktor bilden. Vor diesem Hintergrund sind Kostensteigerungen nur geringfügig am Markt durchsetzbar. Zudem verschärfen sich die Qualitätsanforderungen an Jungpflanzen mit dem Ziel, mit möglichst geringem Aufwand in der Weiterkultur optimale Kulturergebnisse zu erzielen.

In der Zusammenarbeit gärtnerischer Betriebe verschiedener Ausrichtung (Baumschule – Topfpflanzenproduktion) ergeben sich Synergieeffekte in der Auslastung vorhandener Produktionskapazitäten.

Mit der Etablierung der In-vitro-Vermehrung von forstwirtschaftlich interessanten Klonen wurden nicht nur Grundlagen für eine neue Produktlinie geschaffen, sondern Baumschulen Oberdorla GmbH hat sich als interessanter und verlässlicher Partner für die Forstpflanzenzüchtung und damit für die Forstwirtschaft in Mitteldeutschland und darüber hinaus etabliert. So hat Baumschulen Oberdorla GmbH in 2018 den Zuschlag für die Umsetzung eines wissenschaftlichen Protokolls zur In-vitro-Vermehrung von Hybridlärchenklonen in praxisrelevantem Maßstab erhalten. Damit wird nicht nur die Züchtungsarbeit in diesem Gebiet unterstützt, sondern es werden gleichzeitig Pflanzen für neue Formen der Wiederaufforstung von Kalamitätsflächen bereitgestellt.