

## Wirksamkeitsprüfung von Pflanzenstärkungsmitteln zum Aufbau einer *Verticillium*-Toleranz ausgewählter Klone/Sorten der Gattung *Acer* und *Hippophae* (VertEXillium)

<b>Zuwendungsempfänger</b>	<b>Humboldt- Universität zu Berlin</b>
<b>Projektkoordination</b>	<b>Prof. Dr. Susanne Huyskens-Keil</b> Lentzeallee 55-57 14195 Berlin
<b>Mitglieder der Operationellen Gruppe</b>	<b>Humboldt-Universität zu Berlin</b> <b>Baumschulen Nauen GmbH</b> <b>Friedersdorfer Baumschulen Müller und Twisselmann GbR</b>
<b>Projektlaufzeit:</b>	25.06.2021– 31.12.2024
<b>Budget</b>	821.273,64 €
<b>Datum:</b>	31.03.2025
<b>Autor</b>	Antje Schüttig



## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Kurzfassung in deutscher Sprache.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Kurzfassung in englischer Sprache.....</b>	<b>1</b>
<b>3</b>	<b>Situation zu Projektbeginn .....</b>	<b>2</b>
3.1	Ausgangssituation .....	2
3.2	Aufgabenstellung und Ziele des Vorhabens.....	3
<b>4</b>	<b>Projektverlauf .....</b>	<b>4</b>
<b>5</b>	<b>Projektergebnisse .....</b>	<b>10</b>
5.1	<i>Ergebnisse.....</i>	10
5.2	Schlussfolgerungen der Ergebnisse .....	32
5.3	Beitrag der Ergebnisse zu förderpolitischen EIP-Zielen .....	35
5.4	Nutzen der Ergebnisse für die Praxis.....	36
5.5	Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen.....	37
5.6	Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit und weiterführende Fragestellungen.....	38
<b>6</b>	<b>Zusammenarbeit der operationellen Gruppe .....</b>	<b>38</b>
<b>7</b>	<b>Kommunikations- und Disseminationskonzept .....</b>	<b>39</b>
<b>8</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>41</b>
8.1	Verwendung der Zuwendung.....	41
8.2	Nutzung des Innovationsdienstleisters (IDL).....	41
8.3	Nachweis der Veröffentlichungen .....	42
8.4	Practice abstracts .....	43
8.5	Textvorlagen für ein Praxisblatt.....	43

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b>	<b>akklimatisierte Jungpflanzen von Acer rubrum `Somerset´ .....</b>	<b>10</b>
<b>Abb. 2:</b>	<b>links: spontane Bewurzelung bei `Leikora´, rechts: spontane Bewurzelung bei `Sirola´ .....</b>	<b>11</b>
<b>Abb. 3:</b>	<b>links: in vitro-Explantat von Acer campestre `Barbarossa´, rechts: russische Sorte (HP1) in vitro aus dem EIP-Projekt „MoPlaSa“ .....</b>	<b>12</b>
<b>Abb. 4:</b>	<b>Behandlungsvarianten der in vitro-Sprosse mit dem Pflanzenstärkungsmittel Microbial Blend ProGrow 385 (Hersteller: PROGRESS Agrar Handelsgesellschaft GmbH); (a): Acer; „Wurzel getaucht“; (b) Acer; „Spross getaucht“ (c): Hippophae „Basal getaucht“; (d): Hippophae „Spross getaucht“ .....</b>	<b>13</b>

Abb. 5: Besiedelung des Wurzelbereichs bei Acer mit Antagonisten des Pflanzenstärkungsmittels Microbial Blend ProGrow 385 (Hersteller: PROGRESS Agrar Handelsgesellschaft GmbH) .....	14
Abb. 6: Entnahme von Bodenproben und Wurzelproben für die Bestimmung des Verticillium dahliae und Isolation des Pilzes für die gezielte Kulturführung .....	16
Abb. 7: Verschiedene morphologische Strukturen der Verticillium dahliae-Isolate .....	17
Abb. 8: Kultivierung der Verticillium dahliae-Isolate in Sand Maismehl-Gemisch.....	18
Abb. 9: links: Zugabe des Nährmediums, versetzt mit Pflanzenstärkungsmittel (PStM); rechts: Aufbau der TIS-Versuchsvarianten zur Untersuchung des Verticillium dahliae in Kombination mit dem PStM bei Acer .	19
Abb. 10: links: Verticillium aus Inokulum+PStM, rechts: V. aus Inokulum .....	19
Abb. 11: links: V. gespült aus Petrischale+PStM; rechts: V. gespült aus Petrischale.....	19
Abb. 12: links: V. gestochen aus Petrischale+PStM; rechts: V. gestochen aus Petrischale .....	19
Abb. 13: Kontrolle, ohne Behandlung.....	20
Abb. 14: Akklimatisation der einzelnen Versuchsvarianten der mit Verticillium und Pflanzenstärkungsmittel versetzten Pflanzen .....	20
Abb. 15: links: Behandlung der Variante "Wurzel tauchen" bei Sanddorn, rechts: Acer mit substratgereinigten Wurzeln vor der Behandlung .....	22
Abb. 16: Darstellung des Versuches: Einbringen eines Verticillium-Isolats ins Substrat der PStM-vorbehandelten Pflanzen .....	24
Abb. 17: Pflanzung des Feldversuches bei der Baumschule Nauen .....	25
Abb. 18: Bonitur des Feldversuches in der Baumschule Nauen .....	26
Abb. 19: typischer Verticillium-Befall an Sanddorn im Feldversuch der Baumschule Nauen .....	26
Abb. 20: Bonitur der 4 Sanddornsorten hinsichtlich des Gesundheitszustandes.....	26
Abb. 21: Einfluss der Vorbehandlung der Versuchsfläche mit Kardox auf die Pflanzenhöhe der einzelnen Sanddornsorten .....	27
Abb. 22: Sortenvergleich für Sanddorn innerhalb der Vorbehandlung der Versuchsfläche mit Kardox .....	28
Abb. 23: Einfluss der Vorbehandlung der Versuchsfläche mit Kardox auf die Pflanzenhöhe der Acer-Klone ...	29
Abb. 24: Sortenvergleich bei Acer innerhalb der Vorbehandlung der Versuchsfläche mit Kardox .....	29
Abb. 25: Einfluss der Behandlungsvariante auf den einzelnen Acer-Klon, unabhängig der Betrachtung der Flächenvorbehandlung mit Kardox .....	30

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Zeitplan des Projektes VertEXillium von 2021 bis 2024 für die 7 Arbeitspakete .....	4
Tab. 2: Übersicht der verwendeten Isolate für die Versuche nach Herkunft und Bezeichnung .....	16
Tab. 3: Versuchsvarianten der Behandlungen während der TIS-Kultur.....	18
Tab. 4: Auswertung der durch Verticillium abgestorbenen Versuchspflanzen zum Versuchsende 2024 .....	21
Tab. 5: Aufbau des Versuches: Einbringen eines Verticillium-Isolats ins Substrat der PStM-vorbehandelten Pflanzen .....	24

## 1 Kurzfassung in deutscher Sprache

Im Projekt wurden verschiedene Sorten und Klone der Gattungen *Acer* (Ahorn) und *Hippophae* (Sanddorn) auf ihre Toleranz gegenüber dem bodenbürtigen Pilz *Verticillium dahliae* untersucht, der erhebliche wirtschaftliche Schäden innerhalb der Baumschulproduktion und am Endstandort in der Allee verursacht. Auch das aktuelle "Sanddornsterben" in Mecklenburg-Vorpommern, welches sowohl Kulturflächen als auch Naturstandorte betrifft, untermauert nochmals den Handlungsbedarf. Die Infektion über die Wurzel führt zu qualitativen Schäden bis zum frühzeitigen Absterben der Pflanzen. Es wurden Versuche zur Wirksamkeit von Pflanzenstärkungsmitteln durchgeführt, wobei der Fokus auf verschiedenen Behandlungsvarianten lag. In der *in vitro*-Anzucht wurden die Pflanzen mit dem Pflanzenstärkungsmittel vorkonditioniert, während in der Jungpflanzenproduktion verschiedene Applikationsverfahren zum Einsatz kamen. Zusätzlich wurde im Feldversuch die Wirkung einer vorbehandelten Fläche zur Desinfektion des Bodens mit Kardox untersucht, um umfassende Erkenntnisse für den Endstandort zu gewinnen. Der Einsatz von Pflanzenstärkungsmitteln bestätigte die Wirksamkeit antagonistisch wirkender Mikroorganismen *in vitro*. In Feldversuchen zeigte sich eine tendenziell höhere, jedoch nicht signifikante Wuchsleistung. Dagegen wirkte sich die Flächenvorbehandlung mit Kardox signifikant positiv auf das Wachstum aus. Weitere Aussagen zur *Verticillium*-Toleranz sind nach der Fruchtbildung zu erwarten, da die Pflanzen in dieser Phase stärker beansprucht werden.

## 2 Kurzfassung in englischer Sprache

In the project, various cultivars and clones of the genera *Acer* (maple) and *Hippophae* (sea buckthorn) were evaluated for their tolerance to the soil-borne fungus *Verticillium dahliae*, which causes significant economic damage in nursery production and at the final planting sites, such as avenues. The current "sea buckthorn dieback" in Mecklenburg-Western Pomerania, affecting both cultivated areas and natural habitats, further underscores the need for action. Infections lead to qualitative damage, up to the premature death of plants. Trials were conducted to assess the efficacy of plant strengtheners, focusing on various treatment variants. During *in vitro* cultivation, plants were preconditioned with the plant strengthener, while different application methods were employed during young plant production. In addition, the field trial examined the effect of soil disinfection through pre-treatment with Kardox in order to gain comprehensive insights for the final cultivation site. The application of plant strengtheners confirmed the efficacy of antagonistic microorganisms under *in vitro* conditions. In field trials, plant growth tended to be higher, although the

differences were not statistically significant. In contrast, the soil pre-treatment with Kardox had a significant positive effect on plant growth. Further conclusions regarding *Verticillium* tolerance are expected after fruit development, as the plants experience greater physiological stress during this stage.

### 3 Situation zu Projektbeginn

#### 3.1 Ausgangssituation

Das geplante Vorhaben zielt darauf ab, heimische Sorten und Klone der Gattungen *Acer* (Ahorn) und *Hippophae* (Sanddorn) zu identifizieren, die eine möglichst hohe Toleranz gegenüber dem bodenbürtigen Pilz *Verticillium dahliae* aufweisen. Dieser Erreger verursacht die sogenannte *Verticillium*-Welke, eine gefährliche Gefäßkrankung, die über 400 Pflanzenarten betrifft und insbesondere in der Baumschulpraxis große Probleme bereitet. Die Krankheit führt zu erheblichen wirtschaftlichen Schäden, da befallene Gehölze hohe Ausfälle verursachen und aufwendige Sanierungsmaßnahmen erfordern.

Die Baumschulwirtschaft leidet besonders unter *Verticillium*, da die Infektion die Anzucht von Gehölzen wie Ahorn und Sanddorn erschwert. Eine Kontamination des Bodens kann zu langfristigen Problemen führen, die hohe Kosten verursachen und sogar rechtliche Auseinandersetzungen nach sich ziehen. Auch in Forstwirtschaft und Agroforstsystemen stellt die Erkrankung ein ernstzunehmendes Risiko dar, da infizierte Bäume nicht nur wirtschaftlichen Schaden verursachen, sondern auch als Infektionsquelle für benachbarte Pflanzen dienen. Auch in urbanen Pflanzungen sind die Auswirkungen gravierend: Bäume, die aufgrund eines Befalls mit *Verticillium*-Welke absterben, müssen mit hohem finanziellem und logistischem Aufwand ersetzt werden. Die Ursachen des Befalls sind dabei oft schwer nachzuweisen, was eine langfristige Problematik für Stadtplaner und Landschaftsgärtner darstellt. Neben *Acer* ist auch *Hippophae rhamnoides* (Sanddorn) besonders betroffen. Insbesondere in Mecklenburg-Vorpommern wurde in den letzten Jahren ein vermehrtes „Sanddornsterben“ beobachtet, das sowohl Kulturflächen als auch natürliche Vorkommen betrifft. Die Züchtung und Anzucht von Sanddorn ist durch viele offene Fragen gekennzeichnet, sodass eine hohe Krankheitsanfälligkeit die wirtschaftliche Nutzung zusätzlich erschwert.

Da es derzeit keine wirksamen kurativen Maßnahmen gegen *Verticillium* gibt, sind präventive Strategien von großer Bedeutung. Dazu gehören:

- die Züchtung und Auswahl von resistenten oder toleranten Sorten,
- die Vermeidung von hoch anfälligen Vorkulturen, auf der Produktionsfläche
- die Nutzung biologischer Kontrollmechanismen wie antagonistische Mikroorganismen,
- alternative Methoden zur Reduzierung des Infektionspotenzials im Boden.

### 3.2 Aufgabenstellung und Ziele des Vorhabens

Durch gezielte Untersuchungen sollen widerstandsfähige Ahornklone- und Sanddornsorten identifiziert werden, die langfristig eine nachhaltige Lösung für Baumschulen sowie auch der Forstwirtschaft und Stadtbegrünung bieten. Auch für Obstbaumschulen ist die Forschung von hoher Relevanz, da sich durch die Ergebnisse auch neue Möglichkeiten für den Plantagenanbau eröffnen.

Da die direkte Bekämpfung derzeit nicht möglich ist und resistente Sorten nicht bekannt sind, zielen die Untersuchungen darauf ab, die Toleranz dieser Gehölze gegenüber *Verticillium dahliae* durch den Einsatz von Pflanzenstärkungsmitteln und somit wurzelschützenden Mikroorganismen zu erhöhen.

Das Projekt verfolgte mehrere Ziele:

- *Auswahl geeigneter Pflanzen:* Es sollten 8 bis 10 Sorten/Klone der Gattung *Acer* und 3 bis 5 der Gattung *Hippophae* untersucht werden, um potenziell tolerantere Varianten gegenüber der *Verticillium*-Welke zu identifizieren.
- *Maßnahmen zur Reduktion des Befalldrucks:* Da keine kurativen Bekämpfungsstrategien existieren, wurde der Einsatz von Pflanzenstärkungsmitteln in verschiedenen Entwicklungsstadien der Bäume als präventive Maßnahme betrachtet, um die Widerstandsfähigkeit gegenüber *Verticillium dahliae* zu erhöhen.
- *Vermehrung wurzelechter Pflanzen:* Um die genetische Einheitlichkeit und die Weitergabe toleranter Eigenschaften sicherzustellen, sollen *in vitro*-Kulturtechniken zur Erzeugung wurzelechter Pflanzen entwickelt und mit konventionellen Veredelungsmethoden verglichen werden.
- *Informationsvermittlung an Praxis und Abnehmer:* Es besteht ein Mangel an Wissen über die Risiken und Langzeitfolgen der Verwendung von *Verticillium*-anfälligen Gehölzen. Daher ist eine gezielte Informationsvermittlung an Baumschulen, Kommunen und andere Abnehmer erforderlich, um das Bewusstsein für die Problematik zu schärfen und fundierte Entscheidungen zu ermöglichen.

Die Ergebnisse des Vorhabens tragen zur Entwicklung effektiver, umweltgerechter Anbau- und Nutzungsverfahren bei und unterstützt die Anpassung der Baumschulproduktion an die Herausforderungen des Klimawandels.

## 4 Projektverlauf

Tab. 1: Zeitplan des Projektes VertEXillium von 2021 bis 2024 für die 7 Arbeitspakete

Arbeitspakete (AP)	2021				2022				2023				2024			
	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV		
AP 1																
AP 2																
AP 3																
AP 4																
AP 5																
AP 6																
AP 7																

#### *AP 1: Auswahl der Sorten/Klone aus den Gehölgattungen Acer und Hippophae*

In den vergangenen Jahren haben klimatische Extreme zu einer erheblichen Reduktion der verfügbaren Saatgutressourcen für die Anzucht von Unterlagen in der Baumschulbranche geführt. Dies hat direkte Auswirkungen auf die Veredelung von Sorten und Klone. Infolgedessen gewinnt die vegetative Vermehrung durch *in vitro*-Kultur zunehmend an Bedeutung, da hierbei Pflanzen auf eigener Wurzel produziert werden können.

Diese Entwicklung ist insbesondere für die Gattung *Acer* von Relevanz, da *Hippophae* konventionell über Stecklinge bzw. Steckholz vermehrt wird. Im ersten Versuchsjahr 2020/2021 erfolgte die erste Auswahl geeigneter Sorten und Klone in enger Zusammenarbeit mit den Praxisbetrieben. In den Folgejahren kamen weitere Pflanzen hinzu. Der Fokus der Auswahl für die Untersuchungen lag bei *Acer* auf Pflanzen des Standardsortiments für Straßen- und Alleebäume sowie bei *Hippophae* auf Hochleistungs- bzw. Kultursorten im deutschen Anbau. Durch die interdisziplinäre Vernetzung mit weiteren Versuchsgruppen konnten in den darauffolgenden Projektjahren zusätzliche Sanddornklone identifiziert und in die Untersuchungen einbezogen werden.

Somit konnten über den Projektzeitraum insgesamt 8 Klone der Gattung *Acer* und 22 Sanddornsorten/Klone in die Untersuchungen einbezogen werden.

#### *AP 2: In vitro-Kultur*

Im Rahmen des Projekts lag der Fokus auf den Gattungen *Acer* und *Hippophae*, mit dem Ziel, wurzelechte Pflanzen aus verschiedenen Klone für die *in vitro*-Kultur zu etablieren. Während des Projektzeitraums konnten für beide Gattungen erfolgreich Pflanzen kultiviert werden. Von Frühjahr bis teilweise in den Herbst der Jahre 2021 bis 2024 wurden umfangreiche Untersuchungen zur Etablierung der Kulturen durchgeführt. Jeder Klon wurde mindestens zweimal, maximal jedoch zehnmal, in die *in vitro*-Kultur überführt. Die Anzahl der Versuche hing sowohl von der Verfügbarkeit des Ausgangsmaterials als auch von der Relevanz der jeweiligen Gattung ab. Für *Hippophae* zeigte sich, dass die, parallel durchgeführte, konventionelle Vermehrung über Stecklinge sehr effizient ist, sodass ausreichend wurzelechtes Ausgangsmaterial, für die *in vitro*-Versuche zur Verfügung stand. Während des Projektverlaufs wurden insgesamt 29 Klone erfolgreich in die *in vitro*-Kultur überführt. Allerdings traten während der Phase der Hochvermehrung wiederholt Verluste auf, da sich einige Pflanzen nicht an die spezifischen Kulturbedingungen anpassen konnten. Bei 11 Klone (5 *Acer* und 6 *Hippophae*) gelang eine stabile *in vitro*-Kultur. Diese Pflanzen durchliefen den gesamten Prozess bis zur Akklimatisierung im Gewächshaus. Eine der größten Herausforderungen bestand in der Sicherstellung der Oberflächensterilität der Pflanzen, da Kontaminationen die langfristige Kultivierung erheblich erschwerten.

*(2a) Überführen dieser Gehölze in die in vitro-Kultur; Etablierung*

Mit Beginn der in-vitro-Etablierung im Jahr 2021 wurden im ersten Projektjahr fünf *Acer*- und drei *Hippophae*-Sorten schrittweise desinfiziert und zur Hochvermehrung angeregt. Die Mutterpflanzen wurden als Jungpflanzen in Containern von Baumschulen an die Humboldt-Universität (HU) überführt und dort im Gewächshaus zum Austrieb gebracht. Zusätzlich standen aus dem vorangegangenen EIP-Projekt T4S bereits *in vitro*-Pflanzen von *Acer davidii* 'Rosalie' zur Verfügung. Diese Pflanzen wurden mit Projektbeginn weiter vermehrt, in den Wintermonaten 2021/22 bewurzelt und anschließend im Gewächshaus akklimatisiert. Im Projektjahr 2021/22 wurden folgende Pflanzen erfolgreich in die *in vitro*-Kultur überführt:

- *Acer campestre* 'Huibers Elegant'
- *Acer saccharinum* 'Pyramidale'
- *Acer rubrum* 'Somerset'
- *Hippophae rhamnoides*: 'Sirola', 'Askola' und 'Habego'

Um eine kontinuierliche *in vitro*-Etablierung für mehr Ausgangsmaterial der *in vitro* und *in vivo*-Versuche zu gewährleisten, wurden ab 2022 Triebe dieser Pflanzen geschnitten. Diese Triebe befanden sich im Knospenstadium und wurden im Labor in Wassergläser gestellt, um den Austrieb zu fördern.

Ab dem Jahr 2023 wurden weitere *Acer* sowie eine weitere *Sanddorn*sorte in die *in vitro*-Kultur überführt:

- *Acer campestre*: 'Elsrijk', 'Barbarossa'
- *Acer griseum*
- *Hippophae rhamnoides*: 'Leikora'.

Zusätzlich wurden weitere sechs alpine *Sanddorn*typen und 2 Sorten russischer Herkunft in das Projekt mit aufgenommen. Diese Pflanzen wurden aus einem Mutterpflanzenquartier der Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern (LFA) in Gülzow selektiert und durch den Projektpartner Friedersdorfer Baumschulen mittels Stecklings- /Steckholzvermehrung vermehrt. Die daraus entstandenen Jungpflanzen dienten als Ausgangsmaterial für die *in vitro*-Etablierung im Jahr 2023:

- *Alp 1, Alp 2, Alp 4, Alp 6, Alp 11, Alp 14*
- 'Trofimovskaja', 'Gibrid Pertsika'.

Im Sommer 2023 wurden zudem weitere Pflanzen aus dem EIP-Projekt „MoPlaSa“ in die *in vitro*-Kultur aufgenommen, wobei es sich vorrangig um russische Herkünfte handelte. Aufgrund des schlechten Gesundheitszustands wurden folgende Sorten in zwei Etablierungsversuchen ausgewählt:

- *Hippophae rhamnoides*: 'Gnom', 'Essel', '125-90-3', 'Rosinka', 'Etna', 'Altaiskaja', 'Chuyskaya', 'Elisaveta', 'Avgustina', 'Klavdia'.

Diese Maßnahmen dienten der Sicherung und nachhaltigen Vermehrung wertvoller Pflanzengenotypen und konnten somit in die Untersuchungen eingebunden werden.

*(2b) Testung der Kulturverfahren in vitro; Vermehrung, Bewurzelung, Akklimation*

Die *in vitro*-Kulturverfahren konnten erfolgreich an die spezifischen Anforderungen der einzelnen Pflanzengattungen angepasst werden. Dabei kamen verschiedene Nährmedien zum Einsatz, darunter das Medium nach Murashige und Skoog (1962) (nachfolgend als MS-Medium bezeichnet) sowie das Woody Plant Medium nach Lloyd und McCown (1980) (WPM-Medium). Diese Nährmedien wurden je nach Versuchsansatz modifiziert, indem sie mit unterschiedlichen Hormonvarianten ergänzt wurden, um die Vermehrung und Sprossstreckung zu fördern (*BAP* als Cytokinin) oder die Wurzelbildung zu induzieren (*NES* und *IES* als Auxine). Zudem wurden Aktivkohlemedien (zur Reduktion phenolischer Ausscheidungen) sowie Antibiotikamedien (zur Bekämpfung endogener Bakterien) eingesetzt. Die Testung dieser verschiedenen Nährmedien erfolgte im Rahmen mehrerer Graduierungsarbeiten, durch Studenten der HU Berlin, wodurch umfassende Untersuchungen durchgeführt werden konnten. Dies ermöglichte die Entwicklung genotypabhängiger Kulturprotokolle.

Trotz der erzielten Erfolge traten während des *in vitro*-Wachstums der Pflanzen verschiedene Herausforderungen auf. Bestimmte Genotypen (z. B. *Acer campestre* oder die russischen Sorten des Sanddorns) zeigten Wachstumsstörungen oder starben nach etwa sechs Monaten ab. Ein wesentlicher Grund dafür waren endogene Verunreinigungen durch Bakterien, die trotz der Zugabe von Antibiotika in das Nährmedium nicht vollständig eliminiert werden konnten.

Die Versuche der Bewurzelung mit den neu in Kultur gebrachten *Acer* und *Hippophae* starteten ab 2023 und fand gestaffelt über die gesamte Projektlaufzeit statt. Die Pflanzen standen über einen Zeitraum von drei bis fünf Wochen auf einem mit Auxinen angereicherten Nährmedium. Während viele *Acer*-Klone erfolgreich Wurzeln *in vitro* bildeten, beeinflusste die Zugabe von Auxinen sowohl die weitere Wurzelentwicklung als auch die Sprossachsenstreckung während der Akklimationsphase im Gewächshaus positiv. Im Gegensatz dazu zeigten zahlreiche *Hippophae*-Sorten nur eine geringe Wurzelbildungsrate im *in-vitro*-Kulturmedium und entwickelten auch während der Weiterkultur im Gewächshaus kaum Wurzeln. Dadurch war die Akklimationsrate bei diesen Sanddornsorten unzureichend. Ein gut ausgebildetes Wurzelsystem war jedoch eine entscheidende Voraussetzung für die erfolgreiche Applikation von Pflanzenstärkungsmitteln *in vivo*. Somit wurde im Verlauf des Projekts für die Containerversuche ausschließlich konventionell erzeugte Sanddornpflanzen verwendet. Dadurch war ein direkter Vergleich zwischen den untersuchten Gattungen im Rahmen von Arbeitspaket 3 nicht möglich.

### *(2c) Erhaltungslinie der Klone in vitro*

Bei jedem Klon wurden einige Pflanzen in Rückstellgläsern zur Sicherheit extra kultiviert, damit mögliche Kontaminationen im Versuchsablauf nicht zum Komplettausfall der bereits *in vitro* befindlichen Kultur führen können. Die Pflanzen wurden durch das regelmäßige Umsetzen über den gesamten Versuchszeitraum gepflegt und bei Bedarf auch in die Versuche integriert. Nach dem Projektende stehen die *Acer* auch weiterhin wurzelecht zur Verfügung, da die Baumschulen hier einen neuen Bedarf sehen (AP1).

### *AP 3: Testung der Pflanzenstärkungsmittel während der Akklimatisationsphase*

Im Frühjahr 2023 wurden *in vitro* bewurzelte Sprosse von *Acer* in Multitopfpaletten zur Akklimatisierung gesetzt, jedoch starben die Versuchspflanzen sukzessive ab. Dies könnte entweder auf eine hohe *Verticillium*-Belastung im genutzten Lehmboden aus der Baumschule Nauen oder auf die ungeeignete Bodenbeschaffenheit zurückzuführen sein, da die kleinen Pflanzen in diesem Wachstumsstadium ein höheres Porenvolumen für ein gesundes Wurzelsystem benötigen. Im zweiten Versuch wurden Substratmischungen aus dem belasteten Lehmboden und Stecklingssubstrat verwendet, wobei die Nachweisbarkeit des *Verticillium* bei undefinierter Konzentration eine Herausforderung darstellten. Somit sollte in Folgeversuchen Stecklingssubstrat mit einer definierten Menge an zuvor isolierten Sporen verwendet werden, wobei die Isolierung des *Verticillium*-Stamms „BS Nauen“ zahlreiche Testungen bis zum Sommer 2024 erforderte. Die Isolierung dieses Stammes war so nicht im ursprünglichen Projektantrag vorgesehen, stellt jedoch einen wichtigen Aspekt für die Untersuchung der Wirksamkeit des Pflanzenstärkungsmittels in den Gewächshaus- und Containerversuchen als auch im Freilandversuch dar. Einige Protokolle fanden gemäß Literaturrecherche Anwendung, die jedoch nicht zum Erfolg der Isolation des *Verticillium* Stamm „BS Nauen“ führten. Kaufbare Isolate stammen entweder aus Gartenrettich oder Baldrian, die beide keine Gehölzkulturen darstellen.

### *AP 4: Gefäßuntersuchungen der Jungpflanzen in der Baumschule*

Die Containerversuche begannen zeitgleich mit dem Feldversuch in der Baumschule Nauen in 2023. Dieser erste Versuch: (1) Behandlung der Pflanzen mit belastetem Substrat aus der Baumschule wurde im Vergleich zum Feldversuch angelegt und erstreckte sich über den gesamten Projektzeitraum. In einem weiteren Containerversuch wurde die (2) Behandlung der Pflanzen mit Pflanzenstärkungsmittel zur Vorkonditionierung in der Vegetationsperiode 2024 untersucht. Hierbei anschließend gibt es einen weiteren Containerversuch über den Projektzeitraum hinaus: (3) Zugabe definierte Sporendichte von *Verticillium dahliae*-Isolat aus Sanddorn zu den vorkonditionierten Jungpflanzen.

#### (4a) Applikation der Pflanzenstärkungsmittel an Jungpflanzen im Container

Im Rahmen des Arbeitspaketes wurden unterschiedliche Applikationsverfahren für das Pflanzenstärkungsmittel evaluiert. Gemäß den Herstellerangaben erfolgte die Anwendung des Mittels primär durch Gießen. Zur Optimierung wurden umfassende Tests durchgeführt, die sowohl die Praktikabilität als auch die Effizienz verschiedener Ausbringungsmengen und -methoden analysierten.

#### (4b) Bonitur und Prüfung der Pflanzen auf *Verticillium*

Die Bewertung des *Verticillium*-Befalls erfolgte zunächst durch visuelle Bonitur auf Blattverfärbungen, Welkeerscheinungen sowie Verbräunungen an Stängeln und Leitgefäßen nach dem Schnitt betroffener Zweige. Phytopathologische Analysen wurden durch Entnahme infizierter Pflanzenteile durchgeführt, die auf Pilzselektionsmedien kultiviert und anschließend mikroskopisch auf das Vorhandensein von *Verticillium dahliae* untersucht wurden. Der molekulare Nachweis mittels Real-Time PCR wurde vom assoziierten Partner LELF durchgeführt.

#### AP 5: Entwicklung von Überführungsverfahren von *in vitro*-Pflanzen in die Baumschulpraxis

Mit dem vorzeitigen Maßnahmebeginn wurden die Arbeiten in der Baumschule Nauen zur Flächenvorbereitung der Freiland-Versuchsflächen aufgenommen. Zunächst erfolgte die Ausbringung von Kardox auf der Baumschulfläche. Im Frühjahr 2022, nach der Unkrautbekämpfung, wurden Pflanzfurchen für *Hippophae* und Pflanzlöcher für *Acer* vorbereitet, da diese beiden Gattungen unterschiedliche Anforderungen an die Pflanzgrößen stellen. Für die Feldversuche wurden von den Praxispartnern Pflanzen auf konventionellem Weg vermehrt: *Acer* durch Veredelung (PP BS Nauen) und *Hippophae* durch Stecklings- bzw. Steckholzvermehrung (PP Friedersdorfer Baumschulen). Somit stand zu Versuchsbeginn ausreichend Versuchsmaterial zur Verfügung. Die Versuchsfläche wurde in 5 m x 5 m große Versuchsblöcke unterteilt. Innerhalb dieser Blöcke wurden nach gleichem Entnahmeschema insgesamt 10 Einstiche mit dem Pürckhauer durchgeführt. Diese Proben wurden im Labor (Pflanzenschutzamt Berlin und Pflanzenschutzdienst LELF) auf den *Verticillium*-Befallsgrad untersucht. Da *Verticillium* clusterartig auftritt, wurde dies in der wissenschaftlichen Untersuchung berücksichtigt. Vor Beginn des Projektes hatte der Pflanzenschutzdienst LELF bereits eine Beprobung durchgeführt und einen *Verticillium*-Befall auf der Versuchsfläche festgestellt. Laut Protokoll werden 21 Einstiche pro Hektar vorgenommen und als Mischprobe untersucht. Mit der zusätzlichen Beprobung der einzelnen Versuchsblöcke sollte eine genauere Einschätzung der Bodenverhältnisse möglich sein. Die Pflanzung begann im Herbst 2022 und endete im Frühjahr 2023. Die Anwendung des Pflanzenstärkungsmittels wurde über die gesamte Projektlaufzeit hinweg

durchgeführt, innerhalb der Vegetationsperiode 2023 und 2024, und erfolgte monatlich durch das Ausbringen mittels Gießkanne.

#### *AP 6: Kommunikations- und Verbreitungskonzept*

Während der Projektlaufzeit wurden verschiedene Kommunikationskanäle genutzt. Es fanden zwei Jahrestreffen des PINK-nets statt (Netzwerk pflanzliche in vitro Kulturen). Die Webseite des Projekts wurde unter der Domain „www.vertexillium.de“ während der Projektlaufzeit online gestellt. Zudem wurden die Projektergebnisse auf der Fachtagung „Aktionstag Pflanzenschutz“ und der Internationalen Pflanzenmesse (IPM) in Essen präsentiert, was zu einem intensiven Austausch und einer breiten Aufmerksamkeit für die *Verticillium*-Problematik führte. Auch ein Fernsehbeitrag beim rbb und die Teilnahme an der Langen Nacht der Wissenschaften informierte die Öffentlichkeit.

## 5 Projektergebnisse

### 5.1 Ergebnisse

#### 5.1.1 *In vitro*-Versuche

Für die Gattung *Acer* konnten zunächst etablierte Kulturprotokolle aus dem EIP-Projekt: Trees4Streets (T4S) genutzt werden. Eine erfolgreiche Anpassung dieser Protokolle an die im Projekt VertEXillium neu aufgenommenen Genotypen wurde erfolgreich durchgeführt, so dass die Pflanzen in die *in vitro*-Kultur aufgenommen werden konnten. In folgender Abbildung 1 ist beispielhaft eine Jungpflanze von *Acer rubrum* ‘Somerset’ zu sehen. Diese wurzelechten Pflanzen waren drei Monate alt und Bestandteil der Gewächshausuntersuchungen mit den Pflanzenstärkungsmitteln (Abb. 1).



Abb. 1: akklimatisierte Jungpflanzen von *Acer rubrum* ‘Somerset’

Im Fall von *Hippophae* zeigten sich vielversprechende Ergebnisse unter Verwendung von WPM-Medien. Zudem wurden Untersuchungen zur Vermehrung mit unterschiedlichen Nährmedienzusammensetzungen durchgeführt, wobei sortenspezifische Unterschiede im Wuchsverhalten der Pflanzen festgestellt wurden. Insbesondere war eine ausgeprägte Vitrifikation bei einigen Sorten deutlich erkennbar (Abb. 3). Für die Sorte 'Habego' verlief die Vermehrung erfolgreich, so dass innerhalb eines halben Jahres genügend Pflanzen für die Methodenentwicklung generiert werden konnten. Die Bewurzelungsversuche mit verschiedenen Sanddornsorten führten jedoch zu keinen zufriedenstellenden Ergebnissen, da die Pflanzen *in vitro* kaum Wurzeln ausbildeten (Abb. 2).



Abb. 2: links: spontane Bewurzelung bei 'Leikora', rechts: spontane Bewurzelung bei 'Sirola'

Eine Optimierung dieses Prozesses erwies sich als nicht umsetzbar. Für die Überführung der Pflanzen in die Gewächshauskultur ist die Wurzelbildung *in vitro* jedoch nicht zwingend erforderlich. Durch die Zugabe von Auxin in das Nährmedium kann die Wurzelbildung induziert werden, wobei die Pflanzen alternativ auch erst in der Erdkultur im Gewächshaus Wurzeln ausbilden können. Dennoch konnte die Qualität der Pflanzen während der Akklimatisationsphase nicht mit derjenigen von konventionell über Stecklinge oder Steckholz vermehrten Pflanzen gleichgesetzt werden.

Im Verlauf des Projekts gewann die Bedeutung der Sanddornpflanzen durch interdisziplinäre Vernetzung mit der Projektgruppe "HippRham" erheblich an Relevanz. In diesem Zusammenhang wurden zusätzliche russische sowie alpine Sorten (insgesamt 10 Pflanzen) aus den Versuchsbeständen der Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern in Gülzow sowie EIP-Projekt: "MoPlaSa" (10 Klone) in die Untersuchungen aufgenommen. Diese Sorten wurden sowohl in die *in vitro*-Testungen als auch in die Containerversuche integriert, wobei letztere auf der vegetativen Vermehrung durch Steckholz basierten. Ziel war es, die selektierten, als zukünftig leistungsfähige bzw. bedeutend eingestuft Sorten in die Untersuchungen des VertEXillium-Projekts einzubeziehen. Die Ergebnisse zeigten jedoch, dass die etablierten Kulturprotokolle nicht uneingeschränkt auf diese neuen Genotypen übertragbar waren. Insbesondere traten erhebliche Probleme mit pilzlichen Kontaminationen auf, die eine erfolgreiche *in vitro*-Kultur

erschweren. Dies deutet auf die Notwendigkeit spezifischer Anpassungen der Desinfektions- und Kulturverfahren hin. Zudem stellte sich heraus, dass das verwendete Ausgangsmaterial bereits ein hohes Alter aufwies, was möglicherweise zu einer erhöhten Anfälligkeit für pathogene Kontaminationen und einer reduzierten Regenerationsfähigkeit der Explantate führte. Für die Optimierung der Etablierungsphase wurden ab 2023 weitere spezielle *in vitro*-Kulturtechniken mittels Meristempräparation angewandt. Somit sollte ermöglicht werden, auch die bisher schwer vermehrbaren *Acer*-Sorten zu etablieren und auch den Etablierungszeitraum in den Winter hinein auszuweiten. Die Technik der Meristempräparation ist mit einem hohen Arbeitsaufwand verbunden, da hierfür umfangreiche mikroskopische Arbeiten notwendig sind. Schließlich konnten für *Acer rubrum* 'Somerset' die Vermehrungsprotokolle erfolgreich angepasst werden, sodass im letzten Projektjahr 2024 und über diesen hinaus auch noch erfolgreichen Untersuchungen absolviert werden konnten. *Acer campestre*-Sorten 'Huibers Elegant', 'Elsrijk' und 'Barbarossa', sind in der *in vitro*-Kultur etabliert, deren Optimierung könnte allerdings noch weiter vorangetrieben werden.

Die Abb. 3 zeigt einen gut entwickelten Spross aus der Etablierung von *Acer campestre* 'Barbarossa' und aus der Vermehrungsphase von *Hippophae rhamnoides* den Klon HP 1 (russische Sorte).



Abb. 3: links: *in vitro*-Explantat von *Acer campestre* 'Barbarossa', rechts: russische Sorte (HP1) *in vitro* aus dem EIP-Projekt „MoPlaSa“

### 5.1.2 Gewächshausversuche

Eine zentrale Untersuchung dieses Arbeitspakets (AP 3) war die Vorkonditionierung der *in vitro* erzeugten Pflanzen mit dem zu testenden Pflanzenstärkungsmittel während der Akklimatisationsphase im Gewächshaus. Die Behandlungen zur Bekämpfung des bodenbürtigen Pilzes *Verticillium dahliae* erfolgten mit dem Pflanzenstärkungsmittel *Microbial Blend ProGrow 385* (Hersteller: PROGRESS Agrar Handelsgesellschaft GmbH).

Für die *in vitro*-Untersuchungen wurden die vier im Plantagenanbau genutzten *Hippophae*-Sorten 'Sirola', 'Habego', 'Leikora' und 'Askola' sowie Sorten russischer und alpiner Herkünfte und verschiedene Arten der Gattung *Acer*. Bereits während der Bewurzelungsphase wurde das Pflanzenstärkungsmittel in unterschiedlichen Varianten angewendet. In Abb. 4 sind die vier Behandlungsvarianten dargestellt: (a) „Wurzel getaucht“, (b und d) „Spross getaucht“, (c) „Basal getaucht“ und eine vierte Variante (nicht dargestellt), bei der das Pflanzenstärkungsmittel auf dem Nährmedium gegeben wurde. Nach der Behandlung kamen alle Pflanzen für neun Wochen zurück auf das Nährmedium, um das Wachstum der pilzlichen Antagonisten innerhalb der *in vitro*-Kultur zu beobachten und zu bewerten.

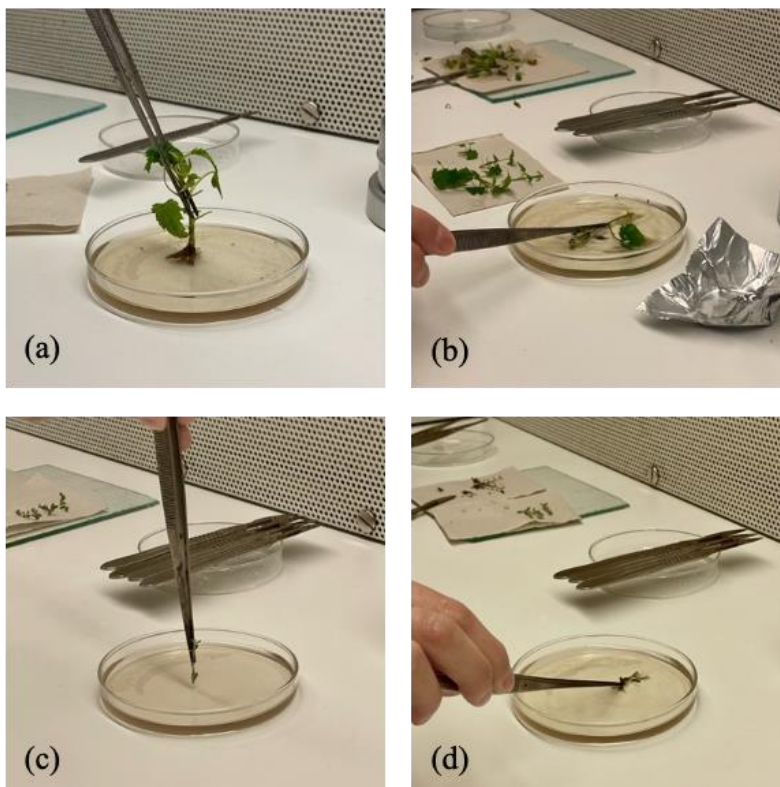


Abb. 4: Behandlungsvarianten der *in vitro*-Sprosse mit dem Pflanzenstärkungsmittel *Microbial Blend ProGrow 385* (Hersteller: PROGRESS Agrar Handelsgesellschaft GmbH); (a): *Acer*, „Wurzel getaucht“; (b) *Acer*, „Spross getaucht“ (c): *Hippophae* „Basal getaucht“; (d): *Hippophae* „Spross getaucht“

Dieser Versuch erbrachte den Nachweis, dass die gewählten Behandlungsmethoden geeignet sind, um die Wirksamkeit des Pflanzenstärkungsmittels aufzuzeigen. Zum einen zeigten die mit dem Pflanzenstärkungsmittel behandelten Sprosse, im Gegensatz zur Kontrollvariante, ein verstärktes Längenwachstum in allen Versuchsvarianten. Zum anderen konnte bei der Betrachtung der Auswertung hinsichtlich des Pilzwachstums, sowohl für die Gattung *Hippophae* als auch *Acer* die Besiedelung mit den Antagonisten im Wurzelraum in den verschiedenen Versuchsvarianten festgestellt werden (Abb. 5).



Abb. 5: Besiedelung des Wurzelbereichs bei Acer mit Antagonisten des Pflanzenstärkungsmittels *Microbial Blend ProGrow 385* (Hersteller: PROGRESS Agrar Handelsgesellschaft GmbH)

Im weiteren Verlauf ist es gelungen, die mit den Antagonisten besiedelten Acer-Pflanzen erfolgreich in das Gewächshaus zu überführen. Dahingegen konnten für die getesteten Sanddornsorten keine erfolgreichen Akklimatisationsraten im Gewächshaus erzielt werden, so dass das *in vitro*-Verfahren für *Hippophae* nicht empfehlenswert ist. Für die frühzeitige Applikation des Pflanzenstärkungsmittels bei Sanddornjungpflanzen wurden deshalb Stecklinge verwendet, die mit dem gleichen Versuchsvarianten behandelt wurden. Doch auch bei Stecklingen konnte die Bewurzelungsrate, auf Grund der zu heißen Kulturbedingungen in den Sommermonaten im Gewächshaus, als nicht zufriedenstellend gewertet werden. Die besten Ergebnisse zeigten somit die Sanddornpflanzen, die bereits durch Steckholz über die Wintermonate gewonnen wurden. Im Containerversuchen (AP 4) wurde dieses vorkonditionierte Pflanzenmaterial mit *Verticillium* belastetem Substrat behandelt.

Die vorkonditionierten *in vitro*-Pflanzen wurden im Gewächshaus während der Akklimatisationsphase in Multitopfpaletten überführt, die mit *Verticillium*-belastetem Substrat aus der Baumschule Nauen gefüllt waren. Dort wurden die Pflanzen bei 100 % relativer Luftfeuchtigkeit schrittweise an die *in vivo*-Bedingungen angepasst. Im Laufe der Vegetationsperiode sind diese jedoch abgestorben. Wahrscheinlich war der lehmige Sandboden für die aus der *in vitro*-Kultur stammenden Jungpflanzen zu schwer, sodass sie kein ausreichendes Wurzelsystem entwickeln konnten. Alternativ könnte auch eine hohe Konzentration an *Verticillium* im Boden eine Rolle gespielt haben. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Versuchsplanung angepasst. Anstelle des kontaminierten Substrats aus der Baumschule sollte für die weiteren Versuche Containersubstrat mit einer definierten Sporendichte des zuvor isolierten *Verticillium*s Stamm "BS Nauen" verwendet werden. Folglich wurde ein neuer Versuchsansatz entwickelt. Zunächst kamen jedoch Substratmischungen aus *Verticillium*-belastetem Lehm Boden und Stecklingssubstrat zum

Einsatz. Die notwendigen Tests zur Isolation und Vermehrung des Pilzes wurden von Studierenden sowie Mitarbeitern des Fachgebietes Phytomedizin an der HU Berlin begleitet. Dieser Prozess erwies sich als sehr aufwendig, insbesondere da die Isolierung von *Verticillium* aus dem Boden der Baumschule Nauen bis Projektende nicht erfolgreich war. In Kooperation mit dem Projekt "HippRham" [FKZ: 2220NR130] konnten zu Projektende *Verticillium*-Isolate des JKI (Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau in Dossenheim), die aus Sanddorn gewonnen wurden, verwendet werden. Für den wissenschaftlichen Vergleich wurde ein weiteres Isolat aus *Baldrian* (Stamm 63084) von der DSMZ (Leibniz-Institut, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH), bezogen. Der Vergleich dieser beiden Isolate erstreckt sich über den Projektzeitraum hinaus und wird in einer studentischen Gradierungsarbeit untersucht.

Diese methodische Anpassung war ursprünglich nicht im Projektantrag vorgesehen, erweist sich jedoch als entscheidend für eine fundierte Untersuchung der Wirksamkeit des Pflanzenstärkungsmittels in den Gewächshaus- und folglich wiederholend auch nochmal in den Containerversuchen.

#### ***Methodik zur Isolierung des Verticillium-Pilzes aus kontaminiertem Holz von Acer aus der Baumschule Nauen als definierte Zugabe zu Containersubstrat***

Beim Projektpartner Baumschulen Nauen wurden im Jahr 2023 erstmals Gehölz- und Wurzelproben mit ausgeprägten Symptomen wie Welkeerscheinungen und schwarzen Leitbahnen entnommen. Diese wurden zunächst an der HU Berlin aufbereitet und nach Hochvermehrung bzw. Isolierung zur Analyse auf *Verticillium dahliae* an das Labor des assoziierten Partners Pflanzenschutzdienst Brandenburg (LELF) übergeben. Dazu wurden die Gehölzquerschnitte desinfiziert und auf ein für Pilzvermehrung optimiertes Nährmedium überführt. Verschiedene Pilze wuchsen auf dem Medium und wurden mikroskopisch nach *Verticillium*-typischen Merkmalen bonitiert und vorsortiert. Alle *Verticillium*-ähnlichen Pilze wurden isoliert und in ein pilzspezifisches Flüssigmedium überführt.

Im Oktober 2023 wurden neun Proben zur Analyse an den Pflanzenschutzdienst Brandenburg (LELF) übergeben. Sechs dieser Proben wurden als *Arthrinium marii* identifiziert – eine Pilzart, die bisher in Deutschland nicht nachgewiesen wurde (bereits in Polen). Die anderen Proben waren *Neocucurbitaria acerina* und *Alternaria tenuissima/alternat*. Da kein *Verticillium dahliae* gefunden wurde, wurden weitere Gehölz- und Bodenproben aus dem Umfeld der befallenen Pflanzen entnommen und erneut untersucht (Abb. 10). Auch hier fiel das Ergebnis negativ aus, sodass möglicherweise zusätzliche Einflussfaktoren bzw. Wechselwirkungen für das Absterben der Gehölze verantwortlich sind, obwohl die Symptome typisch für eine *Verticillium*-Infektion waren.



Abb. 6: Entnahme von Bodenproben und Wurzelproben für die Bestimmung des *Verticillium dahliae* und Isolation des Pilzes für die gezielte Kulturführung

Da die Extraktion von *Verticillium dahliae* aus den Gehölzen der Baumschule Nauen nicht erfolgreich war, wurden für den weiteren Versuchsverlauf einer Masterarbeit externe Isolate bereitgestellt (Projekt "HippRham") bzw. über die DSMZ erworben. Durch eine Kooperation mit dem JKI konnten im November 2024 Isolate aus *Hippophae* (Sanddorn) aus Mecklenburg-Vorpommern zur Verfügung gestellt werden. Diese wurden zu weiterführenden Untersuchungen nach Projektende (Masterarbeit) extra hochvermehrt, sogar ein Extrakt aus der Kryokonservierung reaktiviert. Zusätzlich wurde im Dezember 2024 ein weiterer *Verticillium dahliae*-Stamm, isoliert aus *Valeriana officinalis* (Baldrian), von der DSMZ (Leibniz-Institut, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Stamm 63084) erworben (Tab. 2).

Tab. 2: Übersicht der verwendeten Isolate für die Versuche nach Herkunft und Bezeichnung

Herkunft	Isolat
JKI	Leikora-bewässert Re22Vd-2-1 PDA C3
JKI	Leikora-bewässert Re22-8-1 PDA B3
JKI	Re ISO Bot Ijn 5)V.d.-2-PEM A3
JKI	Re1 Leikora2 Vd 14 D5
JKI	Cryokultur (181)=Re1Leik2)Vd 14D
DSMZ	DSM 63084

Aus den erhaltenen Petrischalen wurde jedes Isolat in 10 Röhrcchen und zwei Petrischalen weiterkultiviert. Als Medium wurde Kartoffel Dextrose Agar (PDA) verwendet. Die Weiterkultivierung fand zunächst bei Raumtemperatur statt, nach einer Woche wurden die Röhrcchen bei 8 °C im Kühlschrank weitergelagert, während die Petrischalen bei Raumtemperatur verblieben. Im zwei Wochen Rhythmus wurden je Isolat 10 Petrischalen weitervermehrt (Abb. 7).



Abb. 7: Verschiedene morphologische Strukturen der *Verticillium dahliae*-Isolate

Nach einem Pathogenitätstest konnte der Effekt der Wirksamkeit des Pflanzenstärkungsmittels bereits in der Petrischale nachgewiesen werden, so dass das definierte Überführen des *Verticilliums* zu den Versuchspflanzen durchgeführt werden konnte.

#### **Vorbereitung zur Überführung in das Substrat bzw. Pflanzen**

Um die Pflanzen *in vitro* innerhalb der TIS-Kultur sowie während der Akklimatisationsphase im Gewächshaus mit einem kultivierten *Verticillium*-Isolat (*Variante Leikora-bewässert*) in Kontakt zu bringen und die Wirkung des Pflanzenstärkungsmittels zu testen, wurden zwei Verfahren durchgeführt. Zum einen die Versetzung des Substrats mit dem Inokulum, zum anderen einem speziellen Gemisch aus Sand, Maismehl und Wasser (CMS/Cornmeal-sand mixture), im Verhältnis 9:2:1, auf welchem *Verticillium* zuvor für die Dauer von einem Monat kultiviert wurde. Das Gemisch wurde in Erlenmeyerkolben gefüllt, wobei drei verschiedene Größen (80 g, 200 g und 400 g Füllmenge) verwendet wurden. Daraufhin erfolgte eine zweifache Autoklavierung bei 121 °C für jeweils 1,5 Stunden Sterilisationszeit. Zwischen den beiden Sterilisierungen wurde das Gemisch über Nacht auf Raumtemperatur abgekühlt. Nach diesem Verfahren wurden in jeden Erlenmeyerkolben mehrere mit *Verticillium* überwachsene PDA Stücke mit einem jeweiligen Durchmesser von 0,5 cm hinzugefügt und für vier Wochen bei Raumtemperatur im Dunkeln kultiviert. Nach Abschluss der Kultivierungsdauer wurde das infizierte CMS homogenisiert und für drei Tage bei 33 °C inkubiert. Anschließend wurde das infizierte Gemisch mit Containersubstrat gemischt, um eine Konidiendichte von  $3 \times 10^7$  pro g Substrat zu erhalten und für die Gewächshausversuche (AP 4) weiterverwendet. In der folgenden Abb. 8 sind die Vorbereitungen und die Kultivierung der Isolate in dem sterilisiertem Sand-Maismehl-Gemisch für die Untersuchungen dargestellt.



Abb. 8: Kultivierung der *Verticillium dahliae*-Isolate in Sand Maismehl-Gemisch

Dies Sand-Mais-Gemisch diente als Grundlage zum Beimischen der akklimatisierten Jungpflanzen, um eine Infizierung der bereits mit Pflanzenstärkungsmittel vorkonditionierten Pflanzen aus dem Projektjahr 2024 erzeugten Containerpflanzen fortführen zu können (AP 4).

### TIS-Kultur

Für die Kultivierung der Pflanzen in der TIS-Kultur (Abb. 9) wurden diese in sieben verschiedenen Versuchsvarianten (Tab. 3) über einen Zeitraum von drei Wochen kultiviert.

Tab. 3: Versuchsvarianten der Behandlungen während der TIS-Kultur

Varianten	Ahorn (n=10)
Kontrolle	10
V. Inokulum+ PStM	9
V. Inokulum	3
V. gespült + PStM	4
V. gespült	6
V. gestochen +PStM	7
V. gestochen	8

Anschließend wurden die Pflanzen unter speziellen FOG-Bedingungen im Gewächshaus akklimatisiert. Dabei zeigte sich, dass die höchsten Überlebensraten für die Ahornpflanzen in der Variante mit dem *Verticillium*-Inokulum erzielt wurden, das zusätzlich mit einem Pflanzenstärkungsmittel angereichert war. Wie die Abb. 10 bis Abb. 13 zeigen, sind die Pflanzen von den Mikroorganismen des Pflanzenstärkungsmittels sehr überwachsen. Die endgültige Aussage zur Pflanzenstärkung kann nach einer erfolgreichen Akklimatisation und dem Weiterwachsen der Pflanzen getroffen werden (Abb. 14). Ein weiterer Versuch, in dem der Versuchsaufbau wiederholt wird, wird durch die Masterstudentin im Jahr 2025 fortgeführt. Hierbei wird eine Versuchsvariante hinzugefügt (definierter Sporendichte als Suspension) und die Kulturdauer *in vitro* auf maximal 2 Wochen reduziert. Somit lassen sich nach der Akklimatisation der Pflanzen im Gewächshaus genauere Aussagen zur Wirksamkeit treffen.



Abb. 9: links: Zugabe des Nährmediums, versetzt mit Pflanzenstärkungsmittel (PStM); rechts: Aufbau der TIS-Versuchsvarianten zur Untersuchung des *Verticillium dahliae* in Kombination mit dem PStM bei Acer

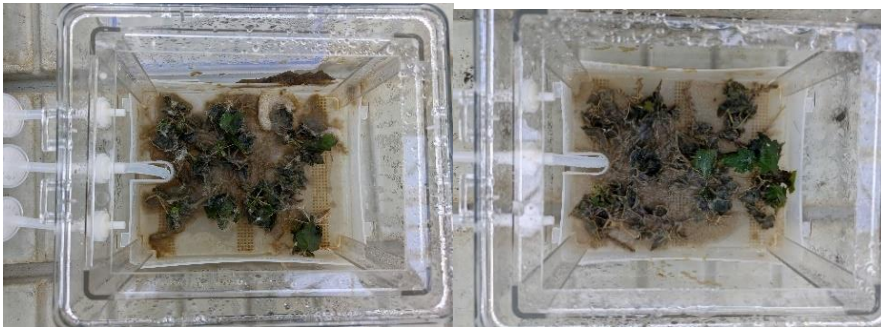


Abb. 10: links: *Verticillium* aus Inokulum+PStM, rechts: *V.* aus Inokulum

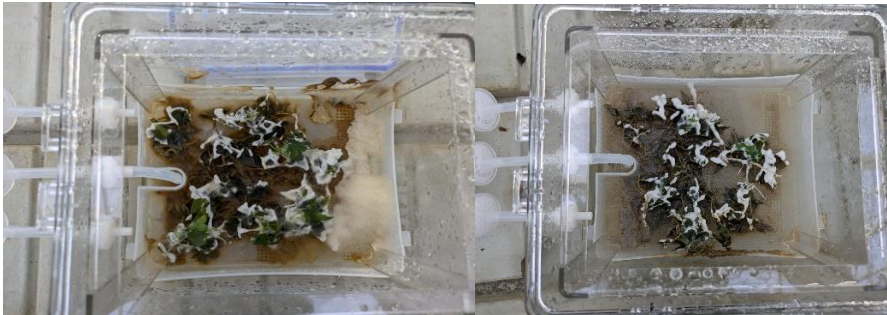


Abb. 11: links: *V.* gespült aus Petrischale+PStM; rechts: *V.* gespült aus Petrischale

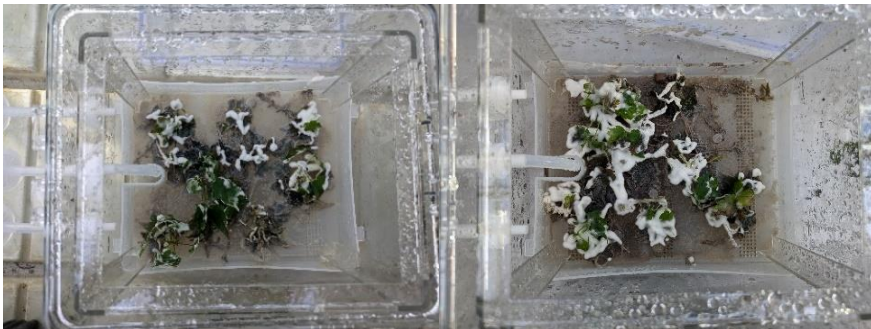


Abb. 12: links: *V.* gestochen aus Petrischale+PStM; rechts: *V.* gestochen aus Petrischale



Abb. 13: Kontrolle, ohne Behandlung



Abb. 14: Akklimatisation der einzelnen Versuchsvarianten der mit *Verticillium* und Pflanzenstärkungsmittel versetzten Pflanzen

### 5.1.3 Containerversuche

#### 1. Behandlung der Pflanzen mit belastetem Substrat aus der Baumschule über 2 Jahre

Im Frühjahr 2023 sind die Versuchspflanzen in die Container gepflanzt worden. Die 4 Sanddornsorten 'Sirola', 'Askola', 'Leikora', 'Habego' und *Acer davidii* 'Rosalie' wurden dabei untersucht. Der Stichprobenumfang je Sanddornsorte lag bei 8 und der für *Acer* bei 4 Pflanzen je Versuchsvariante.

Hierbei fand folgender Versuchsaufbau in 8 Versuchsvarianten statt.

Kontrolle:	V1: Containersubstrat
	V2: positiv getesteter Boden aus der BS-Nauen
	V3: Boden aus Versuchsfläche BS (ohne Kardoxvorbehandlung)
Desinfektion (Kardox):	V4: positiv getesteter Boden aus BS
PStM:	V5: Konzentration 1 (Herstellerangabe)
	V6: Konzentration 2 (doppelt konzentrierte Herstellerangabe)
Desinf. (Kardox) & PStM:	V7: Konzentration 1 (Herstellerangabe)
	V8: Konzentration 2 (doppelt konzentrierte Herstellerangabe)

Hierbei fanden 3 unterschiedliche Substrate Anwendung. Die Behandlung der Pflanzen bzw. des Substrates erfolgte in den entsprechenden Varianten mit dem Desinfektionsmittels Kardox und dem Pflanzenstärkungsmittel ProGrow 385 in zwei Konzentrationen und der 4-wöchigen Behandlung während der Vegetationsperiode 2023 und 2024.

In dem ersten Versuchsjahr fand eine Bonitur nach Vitalität statt. Hierbei zeigten sich jedoch keine Anzeichen auf *Verticillium*-Befall bei den Varianten. Auch mit erneutem Austrieb im

Frühjahr waren keine Verluste zu sehen. Innerhalb des zweiten Versuchsjahres jedoch kam es zu *Verticillium*-Befall (Tab. 4).

Tab. 4: Auswertung der durch *Verticillium* abgestorbenen Versuchspflanzen zum Versuchsende 2024

Versuchsvarianten			Acer	'Askola'	'Leikora'	'Habego'	'Sirola'
Kontrolle	V1	Containersubstrat	2	1	0	4	fehlt
	V2	verseuchter Boden	1	0	6	0	1
	V3	Feldsubstrat	0	4	0	0	0
Desinf. Kardox	V4	verseuchter Boden	0	3	0	3	1
PStM Konzentration 1	V5	verseuchter Boden	4	5	3	5	1
PStM Konzentration 2	V6	verseuchter Boden	2	1	2	5	2
Desinf. Kardox + PStM Konz. 1	V7	verseuchter Boden	1	4	0	1	2
Desinf. Kardox + PStM Konz. 2	V8	verseuchter Boden	2	4	3	5	3

Die Endbonitur nach zwei Versuchsjahren zeigte, dass keine signifikante Aussage zur Behandlung bzw. den Versuchsvarianten getroffen werden kann. Der *Verticillium*-Befall ist stark sortenabhängig (gelbe Markierungen in Tab. 4). Die Containerkultur, die im Freiland der HU Berlin durchgeführt wurde, führte über einen Zeitraum von zwei Jahren zu einem extremen Stresszustand der Pflanzen, da diese einen begrenzten Wurzelraum hatten. Dies war so initiiert, um schnellstmöglich Ergebnisse gewinnen zu können. Zudem stellt der zusätzliche Stressfaktor des Kaninchenverbisses auf der Freifläche im Jahr 2024 eine weitere Belastung dar. Eine optische Bonitur zur Erfassung von Symptomen des *Verticillium*-Befalls wurde im Jahr 2024 durchgeführt, um potenzielle Krankheitsauswirkungen zu evaluieren.

## 2. Behandlung der Pflanzen mit Pflanzenstärkungsmittel zur Vorkonditionierung

In diesem Versuch wurde der Einfluss des Pflanzenstärkungsmittels auf *Hippophae* Jungpflanzen und *Acer davidii* 'Rosalie' nach dem Umtopfen untersucht. Dazu wurden in vier Varianten folgende Behandlungen getestet:

- (1) „Wurzel getaucht“: die Jungpflanzen werden, vor dem wieder eintopfen, mit der Wurzel in das Pflanzenstärkungsmittel getaucht.
- (2) „Spross getaucht“: die Jungpflanzen werden als Ganzes, vor dem wieder eintopfen, mit Trieben und Blättern, in dem Stärkungsmittel gebadet.
- (3) „Gießen“: die Jungpflanzen werden erst mit dem Stärkungsmittel (100 ml) gegossen, wenn sie bereits umgetopft wurden.
- (4) Kontrolle: die Jungpflanzen erhielten weder vor noch nach dem Umtopfen eine Behandlung mit dem Pflanzenstärkungsmittel.

### Hippophae-Jungpflanzen

Insgesamt wurden 160 aus Stecklingen vermehrte Jungpflanzen der Sorten 'Leikora' und 'Askola' genutzt. Nach einer standardisierten Vorbereitung der Wurzeln wurden die Pflanzen in 15 × 15 cm große Töpfe mit Containersubstrat (Firma Klassmann-Deilmann GmbH) verpflanzt. Behandelte Pflanzen wurden entsprechend ihrer Versuchsgruppe

(1 - 4) mit dem Pflanzenstärkungsmittel appliziert. Die Bonitur im August 2024 bewertete die Vitalität anhand von Wuchshöhe, Triebanzahl und Blattqualität. Bei 'Leikora' zeigte die Variante „Wurzeltauchen“ die beste Vitalität, gefolgt von „Sprosstauchen“, während die Kontrolle und insbesondere „Gießen“ geringeres Wachstum aufwies. Bei 'Askola' erzielten „Gießen“ und „Sprosstauchen“ die besten Ergebnisse, während „Wurzeltauchen“ ebenfalls gute Vitalitätswerte aufwies und die Kontrolle die geringste Wuchsleistung zeigte. Die Ergebnisse zeigten sortenspezifische Unterschiede in der Reaktion auf die Behandlungsvarianten, jedoch definitiv eine positive Reaktion, innerhalb der Vegetationsperiode, auf das applizierte Pflanzenstärkungsmittel.

In der Baumschule (AP 5) beschränkte sich die Behandlung ausschließlich auf das monatliche Gießen mit dem Pflanzenstärkungsmittel, eine Vorbehandlung durch ein Tauchverfahren wurde nicht durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Container-Untersuchung legen jedoch nahe, dass sich eine solche Methode vorteilhaft auswirken würde. Daher wären weitere Untersuchungen erforderlich, um die optimale Applikationsmethode für verschiedene *Hippophae*-Sorten zu bestimmen.



Abb. 15: links: Behandlung der Variante "Wurzel tauchen" bei Sanddorn, rechts: Acer mit substratgereinigten Wurzeln vor der Behandlung

### Acer-Jungpflanzen

In diesem Versuch wurde untersucht, wie verschiedene Behandlungen mit ProGrow 385 in einem fortgeschrittenen Wachstumsstadium auf *Acer*-Jungpflanzen wirken, wenn bereits ein großes Wurzelsystem vorhanden ist. Dabei kamen die gleichen vier Behandlungsvarianten zum Einsatz. Der Versuchsstart erfolgte im Juni 2024 mit dem Umtopfen von runden 5 cm-Töpfen in größere 15 x 15 cm große eckige Töpfe. Dabei wurden die Wurzeln von Substratresten befreit, auf ca. 5 cm gestutzt und kurz abgespült (Abb. 15). Nach der Behandlung wurden alle Pflanzen in das spezielle Containersubstrat für Baumschulkulturen gesetzt, gewässert und in einem Folienzelt untergebracht. Ein zusätzliches Applizieren mit 100 ml des Pflanzenstärkungsmittels erfolgte bei der Variante (3) Gießen, nach drei sowie

nach sechs Wochen. Nach etwa einem Monat wurden die Pflanzen aus dem Folientunnel ins Freiland umgesetzt. Nach dem Umsetzen ins Freiland trieben die *Acer*-Jungpflanzen trotz äußeren Einflüssen, wie Kanninchenverbiss, erfolgreich neue Seitentriebe aus. Da bei neun von 16 Pflanzen der Haupttrieb verloren ging, wurde das Wachstum der neu gebildeten Seitentriebe als alternativer Indikator herangezogen.

Die Auswertung zeigte, dass das Pflanzenstärkungsmittel insgesamt einen positiven Einfluss auf das Wachstum hatte. Die Kontrollgruppe verzeichnete mit durchschnittlich 2,5 cm das geringste Seitentriebwachstum, während die behandelten Pflanzen deutlich bessere Werte erreichten. Die Variante „Gießen“ wies mit 6,9 cm das stärkste Wachstum auf, was darauf hindeutet, dass die wiederholte Anwendung des Stärkungsmittels nach 3 und 6 Wochen besonders förderlich war. „Wurzel getaucht“ erreichte mit 6,6 cm ebenfalls ein sehr gutes Ergebnis, nahezu gleichauf mit der besten Variante. Die Variante „Spross getaucht“ zeigte mit 4,73 cm ein solides Wachstum, blieb jedoch hinter den anderen Behandlungen zurück. Diese Ergebnisse bestätigen die Wirksamkeit des Pflanzenstärkungsmittels und liefern wertvolle Erkenntnisse zur optimalen Applikationsmethode, die in einer Kombination der Behandlungsvarianten liegen sollte.

#### **Einbringen eines *Verticillium*-Isolats ins Substrat der PStM-vorbehandelten Pflanzen**

Hierfür wurde das *Verticillium*-Isolat, gewonnen aus der Sanddornsorte 'Leikora' (2. Isolat der Tab. 2), verwendet. Dies hatte zum Versuchsbeginn 2025 die höchste Sporendichte. Die Tab. 5 zeigt den Versuchsaufbau mit verschiedenen Behandlungsarten an zwei Sanddornsorten: 'Askola', 'Leikora' und *Acer davidii* 'Rosalie'. Die Pflanzen wurden auf wie zuvor beschriebenen vorkonditioniert und in den vier Varianten behandelt: (1) durch Wurzel-Tauchen, (2) Spross-Tauchen, (3) Gießen oder eine (4) Kontrollgruppe ohne spezielle Behandlung. Die *Verticillium*-Kulturen wurden durch drei verschiedene Kulturen herangezogen: Sandmaismehl-Gemisch, Petrischale und Suspension, die dann jeweils als Versuchsvariante dem Substrat beigemischt wurden, so dass 5 Versuchsvarianten verglichen werden konnten (Tab. 5). Die Werte in der Tabelle 5 geben an, wie viele Töpfe für jede Kombination genutzt wurden sowie die Gesamtanzahl der Pflanzen pro Behandlung. Diese Werte ergeben sich aus den überlebenden Pflanzen des Pflanzenstärkungsversuches in 2024 (Auswertung in Tab. 4). Wie in Tab. 5 dargestellt, hatte 'Askola' die meisten lebenden Pflanzen (bis zu 20 in einer Behandlung) im Gegensatz zu 'Leikora' (meist 4–6). Bei *Acer* hatten alle Versuchspflanzen aus 2024 überlebt, so dass hier für jede Versuchsvariante 4 Pflanzen zur Verfügung standen.

Tab. 5: Aufbau des Versuches: Einbringen eines *Verticillium*-Isolats ins Substrat der PStM-vorbehandelten Pflanzen

	Band	gelb	orange	blau	rot	weiß	Gesamt	
	Behandlung PStM	Sand	Petrischale	Suspension normale K.	Suspension hohe K.	ohne Vert.	Töpfe	Pflanzen
Askola	Wurzel getaucht	2	2	2	3		9	17
	Spross getaucht	2	2	3	3		10	20
	Gießen	2	2	3	3		10	19
	Kontrolle	1	1	2	2	2	8	8
Leikora	Wurzel getaucht	1	1	2	2		6	6
	Spross getaucht	1	1	1	1		4	4
	Gießen	1	1	2	2		6	6
	Kontrolle	1	1	1	1	1	4	4
Acer	Wurzel getaucht	1	1	1	1		4	4
	Spross getaucht	1	1	1	1		4	4
	Gießen	1	1	1	1		4	4
	Kontrolle	1	1	1	1	1	4	4

In nachfolgender Abb. 16 ist der Versuchsaufbau im Gewächshaus dargestellt. Die unterschiedlich markierten Pflanzen zeigen die Versuchsvarianten. Parallel mit den gleichen Behandlungsvarianten wurde ebenso ein Versuch mit *in vitro*-Pflanzen im Fog aufgebaut, so dass für *Acer* Vergleiche gezogen werden können (Auswertung nach Projektende).



Abb. 16: Darstellung des Versuches: Einbringen eines *Verticillium*-Isolats ins Substrat der PStM-vorbehandelten Pflanzen

#### 5.1.4 Versuche in der Baumschule zur Simulation am Endstandort

Die Pflanzung des Feldversuches fand im November 22 statt. Hierbei standen zunächst die 4 Sorten des Sanddorns zur Verfügung. Die Versuchspflanzen für den *Acer* wurden im Frühjahr 23 gepflanzt. Auf dem ausgewählten Standort wurden 2 Versuchsreihen angelegt. Die erste Versuchsreihe umfasst eine Fläche, die nicht mit Kardox, dem Desinfektionsmittel, vorbehandelt wurde. Bei der zweiten Versuchsreihe erfolgte eine Flächenbehandlung mit Kardox, so dass ein Vergleich erfolgen kann. Innerhalb jeder Versuchsreihe ergab sich der gleiche Versuchsaufbau mit jeweils 16 Blöcken. Für *Acer* wurden 4 Klone (*Acer davidii* 'Rosalie', *Acer campestre* 'Elsrijk', *Acer campestre* 'Barbarossa', *Acer freemanii* 'Autumn Blaze') ausgewählt und für Sanddorn 4 Sorten ('Habego', 'Sirola', 'Leikora', 'Askola).

Es ergaben sich 4 Versuchsvarianten als Behandlungsmethoden für jede Gattung:

- (1) Desinfektion im Pflanzloch mit Kardox zur Pflanzung
- (2) Desinfektion im Pflanzloch mit Kardox zur Pflanzung + PStM
- (3) PStM
- (4) Kontrolle (ohne Behandlung)

Für beide Gattungen konnten je Klon 6 Pflanzen innerhalb eines Blockes randomisiert gepflanzt werden. Für den Sanddorn sind die Blöcke dreimal wiederholt angelegt worden, so dass sich ein Stichprobenumfang von 144 Pflanzen je Sorte ergab. Sanddorn und *Acer* sind in separaten Blöcken gepflanzt worden, da dies auf Grund der Pflanzengröße unterschiedliche Bodenvorbereitungen bedarf. Für den *Acer* (n= 96 je Klon) wurden Bohrlöcher benötigt und der Sanddorn konnte in gezogenen Furchen gepflanzt, die anschließend festgetreten wurden (Abb. 17). Die Pflanzung erfolgte in Zusammenarbeit mit den Mitarbeitern der HU Berlin und belief sich für den gesamten Feldversuch auf 960 Pflanzen.



Abb. 17: Pflanzung des Feldversuches bei der Baumschule Nauen

Im Jahr 2023 wurden Bodenproben auf *Verticillium* von einzelnen Blöcken vorgenommen. Dabei erfolgten innerhalb des 5 m x 5 m Blockes 10 Einstiche. Aus diesen wurde eine Mischprobe erstellt und nach Protokoll vom Pflanzenschutzamt Berlin auf *Verticillium dahliae* getestet. Hierbei hat sich bei keinem der untersuchten Blöcke ein positiver Befund ergeben, trotz Symptome an den Pflanzen, so dass die Beprobung nicht fortgeführt wurde. Weitere Beprobungen innerhalb der Baumschule (befallene Blutpflaume) ergaben einen positiven Befund auf *Verticillium*. Dieses Substrat wurde aus der Baumschule entnommen und für die Containerversuche verwendet (AP 4 und AP 5). In 2023 und 2024 wurden zum Ende der Vegetationsperiode die Bonitur zur Pflanzenqualität (4 Parameter (Abb. 20)) sowie der Wuchsleistung vorgenommen (Abb. 18). In Abb. 19 ist ein typischer *Verticillium*-Befall an Sanddorn zu sehen.



Abb. 18: Bonitur des Feldversuches in der Baumschule Nauen



Abb. 19: typischer Verticillium-Befall an Sanddorn im Feldversuch der Baumschule Nauen

### **Auswertung der 4 Sorten von Hippophae rhamnoides**

In der Abb. 20 ist die zusammenfassende Bonitur der vier Sanddornsorten im Jahr 2024 dargestellt.

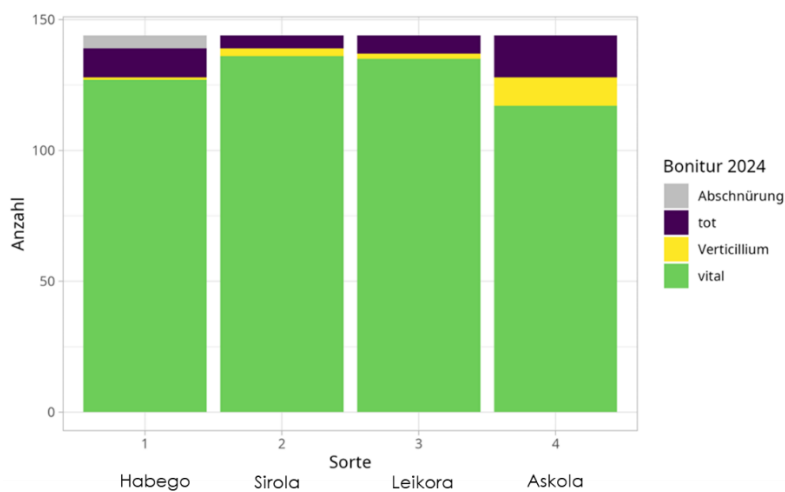


Abb. 20: Bonitur der 4 Sanddornsorten hinsichtlich des Gesundheitszustandes

Die Pflanzen wurden in vier Gesundheitszustände eingeteilt. Die meisten Pflanzen sind vital, was darauf hindeutet, dass die getesteten Sorten größtenteils gesund sind. Sorte 'Askola' hat den höchsten Anteil an *Verticillium*-infizierten sowie toten Pflanzen, so dass diese Sorte im Vergleich anfälliger für *Verticillium* ist. Statistisch gesehen gibt es aber keinen signifikanten Unterschied zwischen den Sorten hinsichtlich des *Verticillium*-Befalls. Die anderen 3 Sorten haben geringe, aber vorhandene Anteile an befallenen und toten Pflanzen. Auffällig ist, dass die Pflanzen der Sorte 'Askola' signifikant weniger vital sind als die der anderen Sorten. Die Abschnürung an den Stängeln war nur bei Sorte 'Habego' zu sehen. Diese scheint noch keinen großen Einfluss auf die Gesamtgesundheit zu haben, müsste aber im weiteren Verlauf beobachtet werden.

**Fazit:** *Verticillium* tritt über alle Sorten hinweg ähnlich häufig auf. Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Vorbehandlungen (Ausbringen des Kardox auf der Versuchsfläche) und den 4 Behandlungsvarianten (PStM). Das bedeutet, dass die Art der Behandlung keinen messbaren Einfluss auf den Gesundheitszustand der Pflanzen hatte.

### **Einfluss von Kardox als Vorbehandlung**

Im folgenden Diagramm wurde der Einfluss der Vorbehandlung (Kardoxausbringung auf der Versuchsfläche) für jede Sorte einzeln im Hinblick auf die Wuchshöhe untersucht (Abb. 21).

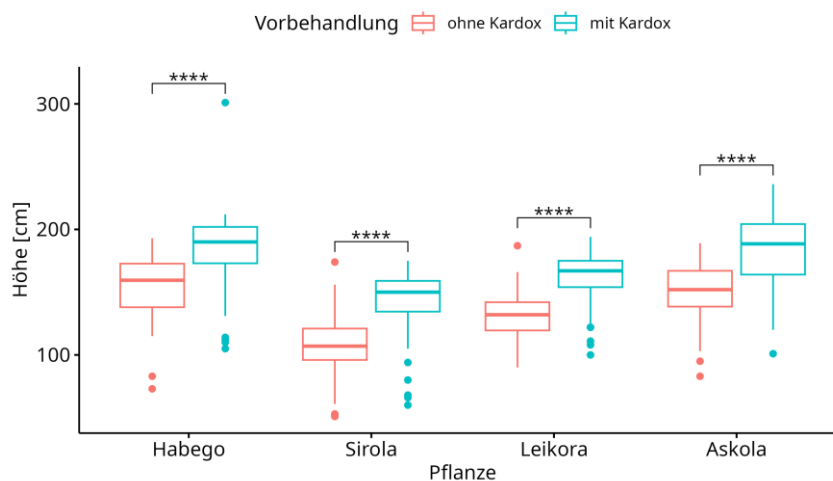


Abb. 21: Einfluss der Vorbehandlung der Versuchsfläche mit Kardox auf die Pflanzenhöhe der einzelnen Sanddornsorten

Hier konnte bei allen vier Sorten sehr hohe Signifikanzen festgestellt werden. Somit hat die Vorbehandlung mit Kardox einen signifikanten Einfluss auf die Wuchshöhe der Pflanzen, jedoch keinen Einfluss auf die Toleranz gegenüber *Verticillium*.

## Einfluss der Sorte innerhalb der Kardox-Vorbehandlung

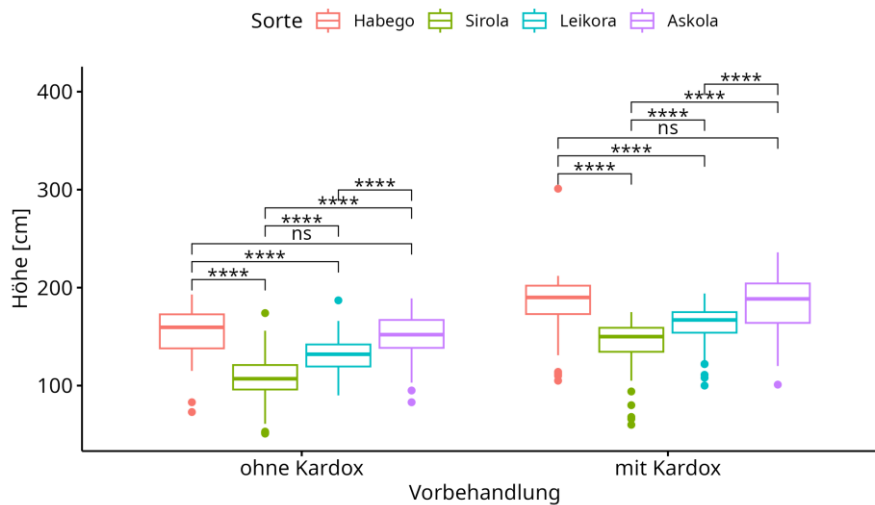


Abb. 22: Sortenvergleich für Sanddorn innerhalb der Vorbehandlung der Versuchsfläche mit Kardox

Der Sortenvergleich innerhalb der unterschiedlich vorbehandelten Flächen zeigt, dass sowohl bei der Kontrollfläche als auch bei der Vorbehandlung mit Kardox ein signifikanter Einfluss auf die Höhe der Pflanzen besteht, unabhängig von der Sorte. Auch die Sorte selbst hat einen signifikanten Einfluss auf die Pflanzenhöhe und das gilt für beide Vorbehandlungen. Die Signifikanz der Sortenunterschiede ist sowohl ohne Kardox als auch mit Kardox gegeben, außer zwischen den Sorten 1 ('Habego') und 4 ('Askola'). Es ist jedoch wichtig zu beachten, dass kein signifikanter Einfluss der Ausbringung des Pflanzenstärkungsmittels auf Pflanzenhöhe besteht (nicht dargestellt).

### Auswertung der 4 Acer-Klone

Für den Vergleich der *Acer* im Feldversuch findet nachfolgend die Auswertung statt. Hier wird jedoch darauf hingewiesen, dass die Flächenvorbereitung zur Pflanzung bei den beiden Vorbehandlungsvarianten mit Kardox und ohne Kardox sehr inhomogen war (extreme Bodenverdichtungen einzelner Versuchsblöcke). Der Boden der Kardoxfläche war bei 8 Versuchsblöcken (4 *Acer* und 4 *Hippophae*) sehr verdichtet, was sich im Laufe der Standjahre durch die unterschiedlichen Pflanzenqualitäten bei *Hippophae* (durch den Vergleich mit den Wiederholungsblöcken) schon visuell deutlich gezeigt hat. Bei *Hippophae* wurden die betroffenen Blöcke aus der Auswertung herausgenommen, um das Ergebnis nicht zu verfälschen. Beim *Acer* gab es jedoch keine Wiederholungsblöcke, so dass die folgenden Betrachtungen nicht so repräsentativ sind, möglicherweise die Ergebnisse der Behandlungen sogar verfälschen. Bei der Versuchsfläche mit Ahorn sind einige Pflanzen abgestorben. Da dies aber nur *Acer davidii* 'Rosalie' betraf und diese Pflanzen sehr klein waren und mit dem Unkrautdruck nicht zurechtkamen, fließt dies nicht in die Betrachtung der Vitalität mit ein.

## Einfluss von Kardox als Vorbehandlung der 4 verschiedenen Acer-Klone

In Abb. 23 wird der Einfluss der Vorbehandlung, der Kardoxausbringung auf der Versuchsfläche, für jeden einzelnen Ahorn-Klon in Bezug auf die Wuchshöhe analysiert.

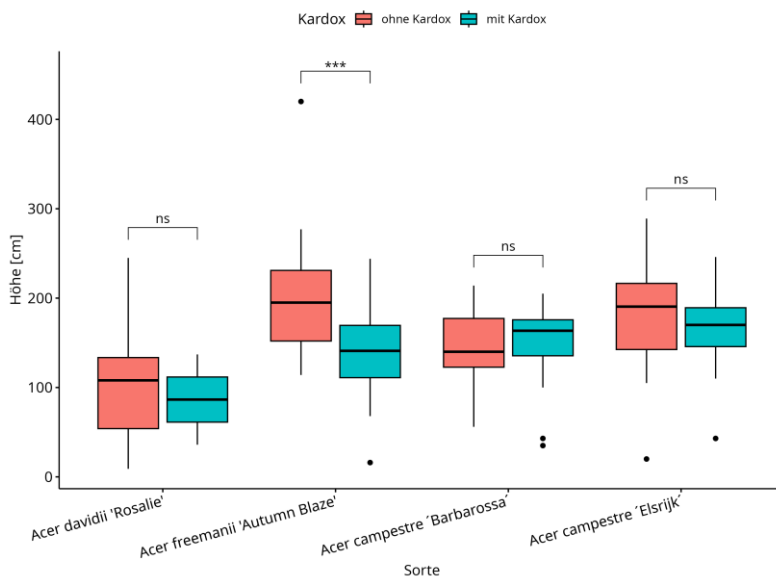


Abb. 23: Einfluss der Vorbehandlung der Versuchsfläche mit Kardox auf die Pflanzhöhe der Acer-Klone

Die Höhenverteilung der untersuchten Ahorn-Klone zeigt, dass die Flächenvorbehandlung mit Kardox, je nach Klon, unterschiedliche Effekte hat. Bei *Acer freemanii* 'Autumn Blaze' gab es als einzigste Sorte einen signifikanten Einfluss auf die Pflanzhöhe, wobei die Pflanzen auf der Fläche ohne Kardox-Vorbehandlung größer waren. Insgesamt deutet die Analyse darauf hin, dass die Bodenvorbehandlung mit Kardox keinen einheitlichen Wachstumsvorteil bietet und je nach Sorte sogar hemmend wirken kann. Zu Bedenken sei der erwähnte Einfluss der Bodenverdichtung bei der Kardox-Vorbehandlung auf die Pflanzenqualität.

## Einfluss der Sorte innerhalb der Kardox-Vorbehandlung

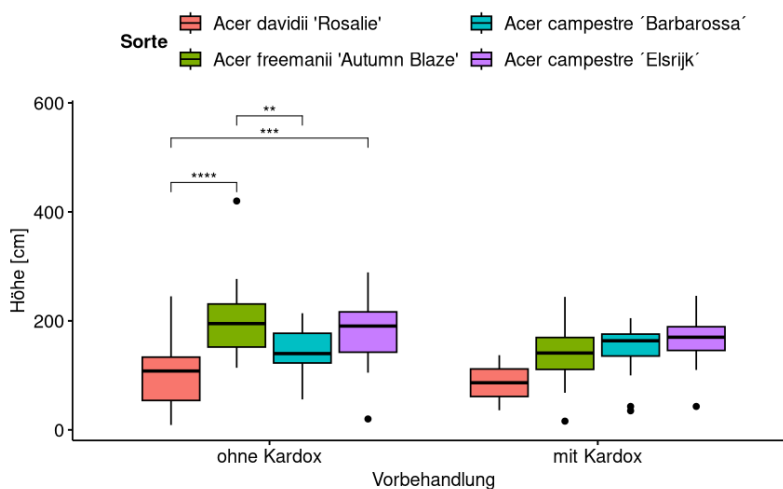


Abb. 24: Sortenvergleich bei Acer innerhalb der Vorbehandlung der Versuchsfläche mit Kardox

Wie Abb. 24 darstellt, sind ausschließlich auf der unbehandelten Fläche (ohne Kardox) signifikante Einflüsse auf die Pflanzenhöhe zu sehen. Es ist anzunehmen, dass dieser Einfluss auch auf den behandelten Flächen (mit Kardox) besteht; jedoch scheinen Ausreißer in den Daten diesen Effekt zu maskieren. Besonders auffällig ist das vergleichsweise geringe Wachstum von *Acer davidii* 'Rosalie'. Dies ist jedoch, wie schon erwähnt, auf die Schwierigkeiten der kleinen Ausgangspflanzen, ausschließlich dieses Klons zu Beginn des Versuches zurückzuführen, da diese mit Unkrautdruck und den extremen klimatischen Verhältnissen konfrontiert waren.

### Einfluss der Behandlungsvariante auf die Pflanzenhöhe, unabhängig der Betrachtung der Flächenvorbehandlung (Kardox)

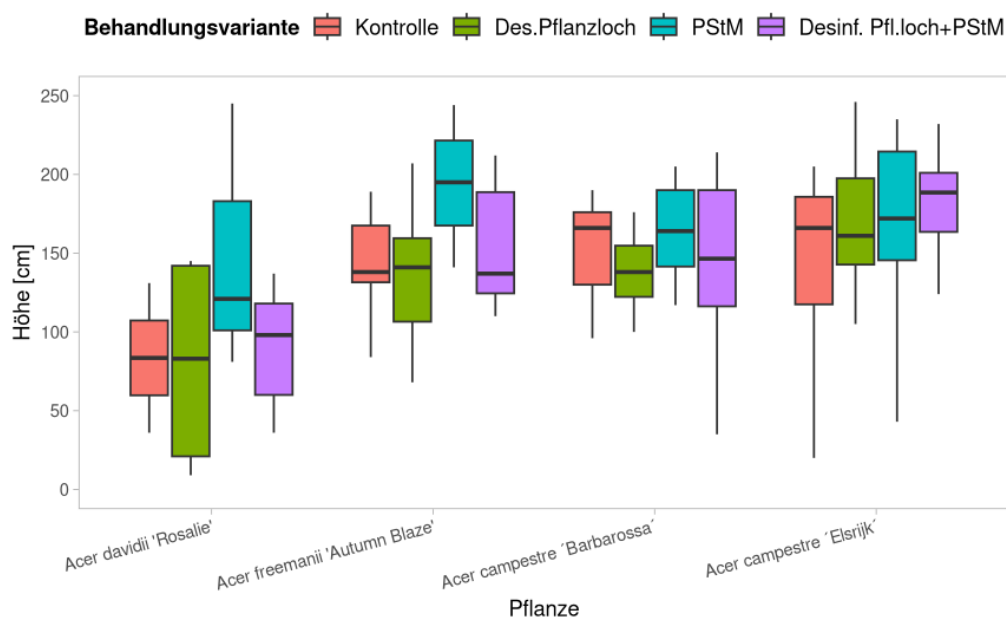


Abb. 25: Einfluss der Behandlungsvariante auf den einzelnen Acer-Klon, unabhängig der Betrachtung der Flächenvorbehandlung mit Kardox

In Abb. 25 ist die Betrachtung für jeden Klon einzeln vorgenommen worden. Es konnten bei keinem Klon (Ausnahme: *A. freemanii*) signifikante Einflüsse der Behandlungsvarianten festgestellt werden. *Acer davidii* 'Rosalie' zeigt eine starke Streuung in allen Behandlungen, jedoch sind tendenziell höhere Pflanzen bei der PStM-Anwendung zu sehen. Für *Acer freemanii* 'Autumn Blaze' konnten ebenso die höchsten Pflanzen mit dem PStM gemessen werden. Hier zeigte sich, als einzige Sorte, ein signifikanter Unterschied zwischen dem PStM und der Behandlungsvariante mit den geringsten Werten, der Desinfektion im Pflanzloch. Die Werte bei *Acer campestre* 'Barbarossa' ergaben keine klare Tendenz, da es ähnliche Mediane über alle Varianten gibt. Bei *Acer campestre* 'Elsrijk' zeigten sich leicht positive Effekte durch das PStM und der kombinierten Behandlung, der Desinfektion im Pflanzloch+PStM. Das PStM scheint bei allen untersuchten *Acer*-Sorten das Wachstum zu

fördern, während die Desinfektion im Pflanzloch allein keinen klaren Vorteil bietet. Die kombinierte Behandlung (Desinfektion im Pflanzloch+PStM) zeigt, je nach Sorte, unterschiedliche Effekte, sodass weitere Untersuchungen zur Wechselwirkung der Faktoren nötig sind.

### **5.1.5 Entwicklung von Überführungsverfahren von in vitro-Pflanzen in die Baumschulpraxis**

Durch diverse Versuche innerhalb des Projektvorhabens konnten die Überführung der Pflanzen in die Baumschulpraxis umfangreich getestet werden. Hierbei wurden sowohl die Herausforderungen der wissenschaftlichen Versuchsplanung und -durchführung als auch die praktischen Gegebenheiten in der Baumschulpraxis deutlich. Zu den Schwierigkeiten im Feldversuch zählen insbesondere der Pflanzabstand zwischen den unterschiedlichen Gattungen sowie die variierenden Pflanzengrößen. Dies erforderte eine Anpassung der Bedingungen, die auch gemischte Reihen umfasst. Auf Grund der wissenschaftlichen Blockanlage sind in jeder Reihe zunächst die Varianten des *Acer* gepflanzt und danach erfolgen die verschiedenen Blöcke der Sanddornsorten. Ein Nachteil dieser Vorgehensweise ist, dass die mechanische Bodenbearbeitung für den kleinen Sanddorn in der Baumschulpraxis erheblich erschwert wird, da die kleinen Jungpflanzen zu Beginn des Versuches durch eine maschinelle Bearbeitung leicht verletzt werden können. Jedoch benötigt gerade der Sanddorn in der Anfangsphase im ersten Standjahr keinerlei Unkrautdruck für die optimale Entwicklung. Zudem ist eine maschinelle Pflanzung der kleinen Sanddornpflanzen nicht möglich, da im betrieblichen Ablauf der Baumschule Nauen die Geräte für diese Pflanzengröße nicht gebraucht und somit nicht im Maschinenpark vorhanden sind. Die Bedingungen während des ersten Versuchsjahres sind für die Versuchspflanzen aufgrund des hohen Unkrautdrucks in der Baumschule nicht optimal vergleichbar. In der Vegetationsruhe 2023/24 wurde eine chemische Bekämpfung durch Winterspritzung durchgeführt. In dieser Phase ist keine Behandlung mit Pflanzenstärkungsmitteln erforderlich, sodass keine negativen Auswirkungen auf den Behandlungserfolg zu erwarten waren. In der kommenden Vegetationsperiode waren die Versuchspflanzen kräftig genug, um der maschinellen Unkrautbekämpfung standzuhalten. Im Zeitraum von Januar bis Juni 2024 konnte durch die Winterspritzung ein erheblicher Zuwachs der Pflanzen in dieser Vegetationsperiode verzeichnet werden. Das monatliche Ausbringen des Pflanzenstärkungsmittels wurde strategisch vor Regentagen durchgeführt, oder es wurde im Anschluss eine Bewässerung initiiert, um sicherzustellen, dass das Mittel den Wurzelraum erreicht.

## 5.2 Schlussfolgerungen der Ergebnisse

Entsprechend der Projektziele konnten in jedem Arbeitspaket gewinnbringende Ergebnisse erzielt werden. Die Nachweisbarkeit der Wirksamkeit des Pflanzenstärkungsmittels ist durch die *in vitro*-Kultur gegeben worden. Die Versuchspflanzen *in vivo* reagierten auf verschiedene Stressfaktoren, wie beispielsweise extreme klimatische Bedingungen während des Containerversuchs und Kaninchenverbiss, mit einem Wiederaustrieb. Für die Versuchspflanzen auf der Freilandfläche der Baumschule Nauen sind innerhalb der Projektjahre bereits Ausfälle zu verzeichnen. Nach dem Rückschnitt der Pflanzen im ersten Projektjahr trat bei einigen abgestorbenen Pflanzen über Wurzelausläufer ein Wiederaustrieb auf. Die Ausfälle waren jedoch sortenabhängig, sodass sich die Sanddornsorte 'Askola' als die empfindlichste Sorte im Versuch herausstellte. Als endgültige Bonitur sollte jedoch die Fruchtbildung der Sanddornpflanzen gewertet werden, da die Pflanzen hierbei auch eine Schwächung erfahren. Zudem kommt es durch die Ernteprozesse im Plantagenanbau ebenso zu Beeinträchtigungen der Vitalität der Sanddornpflanzen, was sich ebenso auf die Anfälligkeit mit Pathogenen wie *Verticillium* auswirkt. Im Feldversuch zeigten die Bonituren, dass das PStM das Wachstum aller getesteten *Acer*-Sorten fördert, während die alleinige Desinfektion im Pflanzloch keinen eindeutigen Vorteil bringt. Die Kombination aus Desinfektion und PStM hat je nach Sorte unterschiedliche Auswirkungen, weshalb weitere Forschungen zu den Wechselwirkungen dieser Faktoren erforderlich sind.

### 1. Komplex: *in vitro*-Kultur

Die *in vitro*-Kultur gewinnt zunehmend an Bedeutung als zusätzliches Verfahren zur Produktion von Pflanzen auf eigener Wurzel in der Baumschulpraxis. Im Rahmen des Projekts konnten sieben Klone der Gattung *Acer* sowie 22 Sanddornsorten/-klone untersucht werden. Die Kulturverfahren wurden spezifisch auf die jeweiligen Gattungen und deren Klone abgestimmt, wodurch entsprechende Kulturprotokolle entwickelt werden konnten. Gewinnbringend waren auch die Untersuchungen zur Vorkonditionierung mit dem PStM *in vitro* und während der Überführungsphase, der Akklimatisation im Gewächshaus. Für Sanddorn ist die Wurzelbildung innerhalb der Akklimatisationsphase nicht zufrieden stellend zu werten. Jedoch wurden innerhalb des Projektes keine weiterführenden Untersuchungen dazu gemacht, da Sanddorn über die Stecklings- / Steckholzvermehrung bereits wurzelecht zur Verfügung steht. Versuchshintergrund für dieses Projekt war hierbei der Gattungsvergleich zur Applikation der Pflanzenstärkungsmittel während der Akklimatisierungsphase im Gewächshaus.

## 2. Komplex: Applikation des Pflanzenstärkungsmittels

Die Applikation des PStMs fand in zahlreichen verschiedenen Testungen statt. Während der *in vitro*-Kultur konnten bereits Erfolge hinsichtlich der Wirksamkeit des PStMs in Bezug auf die Wachstumshöhe nachgewiesen werden. Die Pflanzen zeigten allgemein eine bessere Wuchsleistung als die Varianten der Kontrolle ohne PStM. Zudem wurden alternative Ausbringungsverfahren zur Herstellerangabe (Gießen) getestet. Die neu angewendeten Verfahren, wie das Basaltauchen und das vollständige Eintauchen des Sprosses, führten zur Vorkonditionierung der Pflanzen. Dadurch konnten die Antagonisten bereits während der Bewurzelung der Pflanzen *in vitro* andocken (Abb. 5). Diese Verfahren wurden auch während der Überführung ins Gewächshaus getestet, wobei sich ebenfalls der positive Einfluss der Behandlung zeigte. Die Applikation des PStMs verlief unkompliziert, da sich das Mittel sehr gut im Wasser lösen ließ. Während eines Containerversuchs wurden die Pflanzen über einen Zeitraum von zwei Jahren ausschließlich durch Gießen mit dem PStM behandelt und im mit *Verticillium* belasteten Substrat auf der Versuchsfläche der HU Berlin kultiviert. Um einen besseren Vergleich zu diesem Versuch zu ermöglichen, wurde ein weiterer Containerversuch durchgeführt. In diesem konnten die Pflanzen während einer Vegetationsperiode mit den vorgetesteten *in vitro*-Behandlungsvarianten vorkonditioniert werden, bevor das *Verticillium* verabreicht wurde. Dies sollte die unterschiedlichen Bedingungen der Pflanzen während der Produktion der Gehölze innerhalb der Baumschulpraxis simulieren, sodass ein (neues) Anwenderprotokoll bereitgestellt werden kann. Hierbei stellte bis zum Projektende die definierte Zugabe von *Verticillium* eine Problematik dar, wie nachfolgend diskutiert.

## 3. Komplex: Isolation des *Verticillium* Stamm „BS-Nauen“

Dieser Aufgabenbereich erschloss sich erst während der Untersuchungen im Projektverlauf. Zunächst waren die Versuche ausschließlich mit dem von *Verticillium* belasteten Substrat aus der Baumschule Nauen geplant. Mehrfache Bodenproben aus dem Blockversuch der Baumschule Nauen ergaben jedoch keine Positivprobe auf *Verticillium*. Diese Beprobungen wurden dann nicht fortgeführt, da es bereits im ersten Versuchsjahr trotzdem *Verticillium*-Symptome an den Pflanzen gab. Bei einer anderen Fläche innerhalb der Baumschule Nauen wurde eine Bodenprobe positiv getestet. Dieses Substrat wurde abtransportiert und anschließend für die Pflanzen des Containerversuchs (AP 4+ AP 5) verwendet. Im Verlaufe des Projektes wurden für die wissenschaftliche Vergleichbarkeit parallel Versuche aufgebaut. Hierfür sollte eine definierte Sporendichte im Substrat verwendet werden. Somit begann die Isolation der Sporen aus dem Stamm „BS Nauen“ laut verschiedenen wissenschaftlichen Protokollen. Dies war mit vielen Schwierigkeiten verbunden. Trotz dem Hinzuziehen von Wissenschaftlern aus dem Bereich der Phytomedizin der HU Berlin ist die

Isolation des Stammes aus der Baumschule Nauen nicht geglückt. Dies lässt vor allem die Frage zu, ob die beschriebenen Methoden nicht reproduzierbar waren oder *Verticillium* so extrem clusterartig vorkommt, dass es in wiederholten Probenahmen nicht enthalten war. Auch die Bodenuntersuchungen durch das Pflanzenschutzamt Berlin und dem LELF konnten in wiederholten Fällen viele andere Bodenpathogene identifizieren, nicht aber *Verticillium*, trotz Symptomen an den Pflanzen.

#### 4. Komplex: Bedingungen für die Versuchspflanzen im Freiland

##### *Containerversuche*

Die Pflanzen im Containerversuch wurden gezielt in kleine Töpfe gesetzt, um eine schnellere Induktion einer Stressphase zu erreichen, wodurch sie schneller Symptome eines Pathogenbefalls ausbilden sollten. Es wurde auch der schwere Boden, der auf *Verticillium* getestet wurde, aus der Baumschule Nauen verwendet. Die Jungpflanzen konnten in diesem Lehmboden jedoch gut wachsen. Dennoch wurde keine Einzeltopfbeprobung auf *Verticillium* durchgeführt, da dies mit einem erheblichen Analyseaufwand verbunden gewesen wäre und im Nachgang auch keine erfolgsversprechende Analyse möglich gewesen wäre. Im ersten Jahr des Containerversuchs erfolgte die Bewässerung automatisch, also maschinell. Dies führte dazu, dass die Pflanzen im Frühjahr bis Frühsommer extrem nass waren, weshalb im Folgejahr auf manuelle Bewässerung umgestellt wurde. Staunässe begünstigt jedoch die Ausbreitung von *Verticillium* in den Pflanzen, führt allerdings auch zum Absterben der (Fein-) Wurzeln. An den heißen Sommertagen erhitzen sich die Töpfe extrem, was ebenso zu Wurzelschäden und Schwächung der Pflanzen führte. Im zweiten Jahr kam hinzu, dass die Pflanzen auf der Versuchsfläche zusätzlich durch extremen Kaninchenverbiss geschwächt wurden. Möglicherweise hat dies insgesamt dazu beigetragen, dass die Pflanzen in den unterschiedlichen Behandlungsvarianten betroffen waren und kein einheitliches Versuchsergebnis im Hinblick auf die Behandlungsvarianten mit dem PStM der einzelnen Versuchspflanzen erkennbar war (vgl. Tab. 4).

##### *Freilandversuch*

Kulturprobleme innerhalb der Versuchsanlage in der Baumschule Nauen ergaben ein sehr unterschiedliches Wachstum der Pflanzen. Die unterschiedliche Flächenvorbehandlung, also Lockerung des Bodens vor Pflanzung, zeigte bei den Pflanzen der betroffenen Versuchsblöcke extreme Unterschiede in der Pflanzenhöhe der verschiedenen Sanddornsorten. Bei *Acer* sind dabei Ausfälle der *in vitro*-Pflanzen zu sehen, da diese Pflanzen im Vergleich viel kleiner waren und somit nicht das Wurzelsystem besaßen, welches mit dem verdichteten Boden in der Baumschulreihe zurechtkam.

Die nicht betroffenen Pflanzen, also deren Kultivierung optimale Verhältnisse aufwies, zeigten auf der Baumschulfläche in Nauen, im Vergleich zu den Pflanzen innerhalb der Produktion der Friedersdorfer Baumschulen, einen sehr guten Wuchs, was auf den Lehmanteil der Böden zurückzuführen ist. Somit zeigten sich, hingegen vieler Kulturempfehlungen Sanddorn auf sandigen Böden zu kultivieren, qualitativ bessere Pflanzen bei optimaleren Bodenarten/ -verhältnissen. Sehr bedeutend für das Anwachsen der Jungpflanzen war die Winterspritzung gegen Unkräuter. Hierbei zeigten sich extreme Unterschiede im Anwachsen und der Pflanzenhöhe im ersten Jahr, als diese Unkrautspritzung auf einem Versuchsteil nicht durchgeführt wurde.

Die Unkrautbehandlung hatte ebenso einen extremen Einfluss auf die Wirksamkeit des Pflanzenstärkungsmittels, da der Unkrautbesatz in der Reihe teilweise so hoch war, dass das Mittel der Gießbehandlung (fast) nicht in den Boden gelangen konnte. Eine Erhöhung des Ausbringungsturnus (zweimal monatlich) hätte jedoch den Versuchsaufbau in seiner Auswertung verfälscht.

### 5.3 Beitrag der Ergebnisse zu förderpolitischen EIP-Zielen

Das Vorhaben ordnet sich in das EIP-Leitthema *„Lösungsansätze zur Eindämmung des Klimawandels und Anpassung an seine Folgen durch gezielte Maßnahmen und verbesserte Bewirtschaftungsmethoden“* ein. Darüber hinaus werden entsprechend der EIP-Zielsetzung (Leitthema 1) *„Lösungsansätze zur Entwicklung effektiver, umweltgerechter und/oder ökologischer Anbau- und Nutzungsverfahren, Verbesserung der Produktivität der Pflanzenproduktion und des Gartenbaus über standortangepasste Sorten“* für den Produktionsbereich von Baumschulen entwickelt.

Die Verwendung von biologischen Hilfsstoffen stellt einen wichtigen Aspekt zum Klimaschutz sowie dem Bodenschutz und somit zur Verbesserung der Produktivität der Pflanzenproduktion dar. Mit dem Einsatz des Pflanzenstärkungsmittels konnte eine Wirksamkeit der Antagonisten *in vitro* nachgewiesen werden. Die Wuchsleistung der Pflanzen war in den Feldversuchen höher, wenn auch nicht signifikant. Jedoch konnte ein signifikanter Einfluss der Flächenvorbehandlung mit Kardox auf die Wuchsleistung nachgewiesen werden. Abzuwarten wäre die Bonitur nach Fruchtbildung, da die Pflanzen hierbei geschwächt werden und möglicherweise dann auch ein signifikanter Einfluss auf die *Verticillium*-Toleranz nachgewiesen werden kann.

## 5.4 Nutzen der Ergebnisse für die Praxis

Die *in vitro*-Kultur als Mittel zur wurzelechten Produktion von Gehölzen hat als alternative Vermehrungsmethode in der Baumschulbranche nun mehr Aufmerksamkeit erhalten als je zuvor. Der Einfluss klimatischer Extreme in den letzten Jahren hat die Saatgutverfügbarkeit der Gehölze negativ beeinflusst. Für die Vermehrung von *Acer* wird Saatgut benötigt, um die Unterlagenproduktion zu gewährleisten. Die Anzucht der Sämlinge erfordert zudem eine Produktionsdauer von zwei Jahren.

Vorteile der wurzelechten Produktion von *in vitro*-Gehölzen

- eine schnelle Massenvermehrung bei geringem Platzbedarf
- gesundes Pflanzenmaterial, ohne phytopathogene Kontaminationen durch die sterile *in vitro*-Kulturtechnik
- jahreszeitenunabhängiger Produktionsablauf
- keine Probleme hinsichtlich Dormanz und der Verfügbarkeit des Saatgutes
- keine Verwendung undefinierter Unterlagen
- keine Inkompatibilitätsprobleme durch Verzicht von Veredlungsverfahren
- positive Eigenschaften der selektierten Sorte bleiben vollständig erhalten, können sonst durch die Unterlage minimiert oder ausgeschlossen werden
- Nutzung des Rejuvenilisierungseffektes der Pflanzen (höhere Wüchsigkeit, späteres Blühen und Fruchten, längere Lebensdauer)
- höherer Feinwurzelanteil im Ballen, dadurch besseres Verpflanzen und Anwachsen am Endstandort, dadurch Einsparung von Ressourcen
- Möglichkeiten der Virusfreimachung

Die Vorbehandlung der Freilandflächen mit einer einmaligen Kardoxausbringung hat, nach Auswertung der Ergebnisse, einen signifikanten Einfluss auf die Wuchshöhe der Pflanzen, jedoch keinen Einfluss auf die Toleranz gegenüber *Verticillium*. Hierfür müsste aber noch die Fruchtentwicklung der Sanddornsorten abgewartet werden, da sich hierbei noch signifikante Unterschiede auswerten lassen könnten. Der unmittelbare Nutzen für die Baumschulpraxis wäre ein Anwenderprotokoll für die Ausbringungsvarianten zum einen für die Pflanzung innerhalb der Anzucht in der Baumschule sowie zum anderen für die Pflanzung am Endstandort in der Plantage für Sanddorn und der Alleestandort für *Acer*. Hierfür konnten innerhalb der Projektlaufzeit vielversprechende Ergebnisse erzielt werden, die aber in weiterführenden Untersuchungen optimiert werden müssten.

## 5.5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

Dieses Projekt beinhaltet eine Reihe von Teilzielen, die voneinander abhängig waren und auch aufeinander aufbauten. Wie die Darstellung der Ergebnisse bereits zeigte, sind die wesentlichen Ziele des Projektes erreicht worden.

### (1) Inkulturnahme der Gattungen *Acer* und *Hippophae* *in vitro*

Mittels *in vitro*-Techniken konnten wurzelechte Gehölze produziert werden und stehen der Baumschulpraxis zur Verfügung. Dazu wurden Methodenprotokolle erarbeitet.

### (2) Testung der Pflanzenvitalität bei *Verticillium*-belasteten Böden in der Baumschule

Innerhalb der Freilandversuches ist das *Verticillium* scheinbar zu clusterartig aufgetreten. Trotz negativer Blockbeprobungen trat ein *Verticillium*-Befall an den Pflanzen auf. Um die Empfindlichkeit und Genauigkeit der Analysen auf *Verticillium* zu erhöhen, müssten zukünftig Methodenanpassungen vorgenommen werden. Diese Anpassungen zielen darauf ab, die Nachweisgrenzen zu senken und die Zuverlässigkeit der Ergebnisse zu verbessern.

### (3) Einfluss des Ausbringungsverfahrens/ Behandlungsvarianten des PStMs für die verschiedenen Stadien innerhalb der Junpflanzenproduktion in der Baumschulpraxis

*In vitro*-Untersuchungen bestätigten, dass die Pflanzenstärkungsmittel positive Effekte auf das Wachstum und die Eindämmung von *Verticillium* hatten, was ebenfalls dem ursprünglichen Ziel entspricht. Die Ergebnisse des Feldversuches zeigen, dass die Vorbehandlungen mit Kardox zu einer signifikanten Erhöhung der Pflanzenhöhe führten. Die unterschiedlichen Gießanwendungen mit dem PStM konnten im Freilandversuch (noch) keine signifikante Zuordnung zeigen. Hier ist jedoch die Fruchtbildung bei Sanddorn abzuwarten. In den Containerversuchen, indem das PStM entsprechend dem Feldversuch appliziert wurde, sind ebenso keine Versuchsvarianten signifikant toleranter gegenüber *Verticillium* ausgewertet worden. Symptome traten in fast allen Varianten auf. Aufbauend darauf fanden Versuche mit vorkonditionierten Containerpflanzen statt, bei denen unterschiedliche Behandlungsvarianten mit dem PStM durchgeführt wurden. Hier wurde erst im Anschluss *Verticillium* (nach ca. 6 Monaten Kulturzeit mit dem PStM) in definierter Sporendichte zugegeben. Diese Ergebnisse sind erst nach Projektende auswertbar.

### (4) Untersuchung der Rhizosphäre

Der Nachweis der Besiedlung der Rhizosphäre durch Antagonisten konnte bisher nicht gemacht werden, da hierfür noch Versuche laufen bzw. auch eine Methodenanpassung zur Auswertung von *Verticillium* erfolgen müsste. Dieses Ziel wurde somit nur teilweise erreicht. Insgesamt zeigt die Gegenüberstellung, dass die meisten der ursprünglich geplanten Ziele durch großen Versuchsumfang bearbeitet wurden. Dennoch gibt es noch offene Punkte,

insbesondere hinsichtlich der Untersuchung der Rhizosphäre und der eindeutigen Auswertung von *Verticillium* im Boden und Pflanzen, die in zukünftigen Arbeiten weiterverfolgt werden müssten.

## 5.6 Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit und weiterführende Fragestellungen

Das Projektvorhaben sowie die damit verbundenen wissenschaftlichen Ergebnisse und insbesondere die bereits in der Baumschulpraxis erzeugten Gehölze zeigen signifikante Effekte der Behandlungen mit Kardox auf die Pflanzenhöhe. *In vitro*-Untersuchungen haben nachgewiesen, dass das Pflanzenstärkungsmittel positive Auswirkungen auf das Pflanzenwachstum und die Eindämmung von *Verticillium* hat. Der Nachweis, dass die Rhizosphäre der Gehölze durch die Besiedlung von Antagonisten aus dem Pflanzenstärkungsmittel (PStM) beeinflusst wird, sollte in weiteren Auswertungen der noch laufenden Untersuchungen erfolgen. Für die wissenschaftlichen Anschlussfähigkeiten ergeben sich u.a. folgende weiterführende Themenstellungen:

- Fortsetzung des Monitorings und der Pflanzenbehandlung mit PStM auf der Freilandfläche, v. a. bis zur Fruchtbildung bei Sanddorn
- Höheren Fokus auf die Flächenvorbehandlung mit Kardox setzen
- Weitere Anpassungen der Behandlungsvarianten in der Baumschulpraxis, da einmaliges Gießen des PStM (Herstellerangabe) nicht ausreicht
- Weiterentwicklung der Ausbringungsvarianten: positive Ergebnisse zeigten Containerversuche mit vorkonditionierten Pflanzen unterschiedlicher Behandlungsvarianten des PStMs
- Einfluss von Antagonisten, die aus dem PStM stammen, auf das Wurzelmilieu analysieren

## 6 Zusammenarbeit der operationellen Gruppe

Die regelmäßige Kommunikation diente dem Austausch von Informationen und war entscheidend für die Verknüpfung der Partner in der OG, wobei die HU Berlin für die *in vitro*-Laborproduktion und die wissenschaftliche Begleitung der Versuche verantwortlich war, während die Praxispartner für die Anzucht von Jungpflanzen und die Betreuung der Versuchsfläche im Freiland übernahmen. Einmal im Jahr fanden Projekttreffen mit allen Mitarbeitern der OG statt, in denen Themen, gemäß dem Arbeitsplan, und organisatorische Angelegenheiten besprochen wurden. Die Ergebnisse dieser Diskussionen wurden ausgewertet und in Protokollen dokumentiert, die allen Projektmitarbeitern zur Verfügung standen. Darüber hinaus trafen sich die Mitarbeiter der HU Berlin während der Vegetationsperiode mindestens einmal im Monat am Versuchsstandort der Baumschule Nauen, um die Pflanzenqualität zu besprechen und schnell Änderungen im Versuchsablauf abzustimmen. Zu den Projekttreffen stellte die wissenschaftliche Projektkoordination eine

Präsentation zusammen, die alle relevanten Untersuchungen und Ergebnisse des Projekts im Berichtszeitraum aufzeigte.

## 7 Kommunikations- und Disseminationskonzept

Das Forschungsvorhaben zielt auf die Entwicklung neuer Produktionsverfahren, indem die bestehende *Verticillium*-Toleranz durch eine effektive Schutzbesiedelung mit wurzelaktiven Mikroorganismen gesteigert werden soll. Dies impliziert die Anwendung neuer Methoden zur Vermehrung von Jungpflanzen in der Baumschulpraxis, die gegenüber Anwendern und ggf. auch Skeptikern erläutert werden mussten. Somit wurden begleitend zu den wissenschaftlichen und baumschulpraktischen Arbeiten Kommunikationsstrukturen und –maßnahmen zur Akzeptanzsteigerung bei betroffenen Interessensgruppen, Stakeholdern und Akteuren in Bezug auf die Produktion von *in vitro* erzeugten Gehölzen und der Verabreichung von Pflanzenstärkungsmittel während der Produktion und am Endstandort geschaffen.

Folgende Botschaften bzw. Themen umfassten das Projektvorhaben:

- Problemanalyse zur Situation von Gehölzen, die innerhalb der Baumschulproduktion infiziert werden → Notwendigkeiten von Anpassungsstrategien
- klassische Produktionswege zur Erzeugung von Gehölzen für die Verwendung im urbanen Bereich: „Warum sterben Gehölze während der Baumschulproduktion“
- Akzeptanz zur Erzeugung von Gehölz-Klonen über *in vitro*-Verfahren (Vor- und Nachteile, Erfahrungswissen aus der Obstproduktion)
- Funktionsweise von Toleranzen gegenüber Krankheitstoleranzen bei Gehölzen (genetische und physiologische Ebene) → Möglichkeiten und Grenzen
- Stressphasen besser tolerieren durch Verbesserung des Bodens und der Bodenumgebung, Pflanzenstärkung, natürlicher Dünger und ausreichende Wasserversorgung
- Wege der künstlichen Selektion von krankheitsangepassten Gehölzindividuen
- Organisation der Zusammenarbeit zwischen Akteuren der Gehölzforschung und Baumschulpraxis: Probleme, Sichtweise, Schwerpunkte, Akzeptanz
- Wege vom Labormaßstab in die Massenproduktion: Voraussetzungen, Probleme, Lösungswege

Während der Projektlaufzeit wurden diese Themen über verschiedene Kommunikationskanäle verbreitet. Innerhalb der Projektlaufzeit entwickelte sich ein Netzwerk mit Mitarbeitern aus wissenschaftlichen Einrichtungen Deutschlands mit Schwerpunkt pflanzlicher *in vitro*-Kulturen (PINK-net). Innerhalb zweier Jahrestreffen konnten zahlreiche Probleme (z. B. innerhalb der Kulturführung) besprochen werden und

der gegenseitige Austausch wurde sehr geschätzt. Die im Projekt zu erarbeitende Webseite war unter der Domain „www.vertexillum.de“ während der Projektlaufzeit online. Die Präsentation der Versuchsfläche bei der Baumschule Nauen während der Fachtagung „Aktionstag Pflanzenschutz“, an der ca. 50 Teilnehmer aus der Baumschulbranche teilnahmen, hat die Aufmerksamkeit auf die *Verticillium*-Problematik gelenkt, da diese mittlerweile für die gesamte Baumschulbranche von Relevanz ist. Weiterhin fand die Präsentation auf der Messe IPM (Internationalen Pflanzenmesse) in Essen im Januar 2023 durch persönliche Vorstellung des Projektes in Dialoggesprächen auf dem Messestand der HU Berlin und in 2024 durch eine Posterpräsentation statt. Ebenso positiv ist zu erwähnen, dass die Verknüpfung der Mitarbeiter des EIP-Projektes „MoPlaSa“ sowie des Projektes „HippRham“ zu extremen Fortschritten im eigenen Projekt geführt hat. Somit fand auch die Einladung an die HU Berlin zum Treffen der „Arbeitsgruppe Spezial-kultur/Veredlungsobst“ statt. Hier wurden die Projektergebnisse dargestellt und fachlich diskutiert. Eine gemeinsame Veröffentlichung durch die thematische Verknüpfung des Projektes „HippRham“ (FKZ: 2220NR130) „Erforschung der Ursachen des Sanddornsterbens und Entwicklung von Gegenmaßnahmen“ wurde in den Mitteilungen des Obstbauversuchsrings des Alten Landes e.V. am ESTEBURG Obstbauzentrum Jork (Mitt. OVR 79, 09/2024) herausgegeben. Abschließend zu nennen, wurden sowohl ein Vortrag als auch ein Poster zu den Projektergebnissen im Rahmen der Langen Nacht der Wissenschaften an der Humboldt-Universität zu Berlin am Standort Späth-Arboretum präsentiert. Ein Fernsehbeitrag beim rbb, in der Sendung „Der Tag“, wurde ebenfalls produziert, um die Projektergebnisse und deren Relevanz der Öffentlichkeit zu präsentieren.

## 8 Anhang

### 8.1 Verwendung der Zuwendung

Die in der Projektbeschreibung und im Arbeitsplan beschriebenen Projektziele wurden weitestgehend erreicht. Die dafür notwendigen Ressourcen wurden gemäß der Budgetplanung verwendet. Abweichungen sind nachfolgend beschrieben:

#### *Personalkosten:*

- Personal THV1: administrative Projektkoordination: - 36.469,36 €  
(Bewilligt: 51.057,13 €, verausgabt: 14.587,77 €)

Wegen der Langzeiterkrankung von Frau Roudani konnte die Stelle erst Anfang 2024 nachbesetzt werden.

- Personal THV2: restl. Personal: -89.351,64 €

Maßgeblich ist hier die Unterschreitung auf verspätete Einstellungen von Frau Schüttig, Frau Eckardt und Frau Müller zurückzuführen.

#### *Reisekosten:* -552,64 € (bewilligt: 1.700,00 €, verausgabt: 1.147,36 €)

Der Grund für die niedrigeren Reisekosten ist, dass bei der IPM in Essen im Jahr 2024 das Projektposter von Mitarbeitern der Humboldt-Universität Berlin vertreten wurde. Dadurch entfielen Reisekosten, die ursprünglich eingeplant waren.

#### *sonstige Sachausgaben:* -11.029,33 € (bewilligt: 12.254,38 €, verausgabt: 1.225,05 €)

Während des Projekts haben sich an der Humboldt-Universität mehrere Labore aufgelöst. Infolgedessen sind viele Chemikalien in den Bestand der Forschungsgruppe übergegangen. Zudem konnten auch in den Praxisbetrieben die betriebseigenen Ressourcen genutzt werden, wie Pflanzenschutzmittel etc. Diese effektive Nutzung vorhandener Ressourcen führt zu den Kosteneinsparungen.

Öffentlichkeitsarbeit: bewilligt: 200 €, keine Ausgaben

Das Drucken von Medien konnte kostenfrei über die HU Berlin erfolgen. Die Kosten der Webseite wurden durch die Koordination übernommen.

### 8.2 Nutzung des Innovationsdienstleisters (IDL)

Der Innovationsdienstleister unterstützte die Projektmitarbeiter von der Antragsstellung über die gesamte Projektlaufzeit bis hin zum Abschluss mit beratenden Dienstleistungen. Ein Vertreter des Innovationsdienstleisters war an den meisten Projektbesprechungen (interne

Projektmeetings und der Abschlussveranstaltung) beteiligt und spielte auch eine aktive Rolle bei der Organisation von Veranstaltungen, wie dem Aktionstag Pflanzenschutz, die auf eine baumschulinterne Öffentlichkeit abzielen.

### 8.3 Nachweis der Veröffentlichungen

#### Vortrag des Projektes mit (Zwischen-) Ergebnissen

- Mitgliederversammlung des Sanddorn e.V.
- Ministerium für Infrastruktur und Landesplanung
- Bund deutscher Baumschulen (BdB)
- Arbeitskreis deutscher *in vitro*-Kulturen (ADIVK)
- Netzwerk pflanzliche *in vitro*-Kulturen (PINK-net)
- Austauschveranstaltung Forst- und Gehölzprojekte in EIP-Agri
- AG Treffen Spezialkultur/Veredlungsobst
- Lange Nacht der Wissenschaften

#### Poster: „Warum sterben Gehölze während der Baumschulproduktion“

- Internationale Pflanzenmesse (IPM)
- AG Treffen Spezialkultur/Veredlungsobst
- Lange Nacht der Wissenschaften

#### Veröffentlichungen in Medien

- Mitteilungen des Obstbauversuchsrings des Alten Landes e.V. am ESTEBURG Obstbauzentrum Jork (Mitt. OVR 79, 09/2024)
- Fernsehbeitrag: rbb „DER TAG“
- rbb online
- Projektwebseite während der Projektlaufzeit: [www.vertexillium.de](http://www.vertexillium.de)

#### Studentische Graduierungsarbeiten

##### B. Sc.

- Optimierung der *in vitro*-Etablierung sowie Weiterentwicklung von Kulturprotokollen zur Vermehrung und Bewurzelung *in vitro* von *Hippophae rhamnoides* anhand ausgewählter Sorten (Marie Hennicke)
- Isolation und Identifikation von *Verticillium dahliae* und *in vitro*-Testung zur Wirksamkeitsprüfung eines Pflanzenstärkungsmittels bei *Acer* und *Hippophae* (Karoline Ziesecke)
- Prüfung von Pflanzenstärkungsmittel zur Steigerung der Toleranz von *Acer* und *Hippophae* gegen *Verticillium dahliae* (Louisa Jelkmann)
- *In vitro*-Etablierung und Vermehrung von *Hippophae rhamnoides* (Max Neuparth)

##### M. Sc.

- Einfluss eines Pflanzenstärkungsmittels auf die *Verticillium*-Toleranz von *Acer* und *Hippophae* - Untersuchungen an *Verticillium*-Isolaten (Daphne Helena Wald)

## 8.4 Practice abstracts

Innerhalb des Projektes wurden keine practice abstracts erstellt.

## 8.5 Textvorlagen für ein Praxisblatt

### **Wirksamkeitsprüfung von Pflanzenstärkungsmitteln zum Aufbau einer *Verticillium*-Toleranz ausgewählter Klone/Sorten der Gattung *Acer* und *Hippophae* (VertEXillium)**

#### **Zielsetzung**

Die *Verticillium*-Welke ist eine wirtschaftlich sehr bedeutende Pilzinfektion bei gärtnerischen Kulturen sowie Gehölzen. Sie stellt die Baumschulpraxis vor große Probleme in der Anzucht und der laufenden Produktion. Die Gattungen *Acer* und *Hippophae* sind sehr anfällig für diesen bodenbürtigen Pilz, welcher sich über die Leitbahnen in der Pflanze ausbreitet, zu Verstopfungen führt und somit für erheblich qualitative Schäden bis hin zum vollständigen Absterben der betroffenen Gehölze verantwortlich ist. Da in der gartenbaulichen Praxis keine wirksamen pflanzenschutztechnischen Maßnahmen gegen die *Verticillium*-Welke zur Verfügung stehen, sollte durch den Einsatz eines spezifischen Pflanzenstärkungsmittels mit erfolgreicher effektiver Schutzbesiedelung mit wurzelaktiven Mikroorganismen (z.B. durch den antagonistischen Pilz *Trichoderma*), eine *Verticillium*-Toleranz aufgebaut werden. Zusätzlich wurde ein Bodendesinfektionsmittel, als ergänzende Maßnahme für die Baumschulpraxis, auf seine Wirksamkeit gegen *Verticillium dahliae* im Freiland- und Containerversuch geprüft.

#### **Projektdurchführung**

Das für die Versuche benötigte Pflanzenmaterial der Gattungen *Acer* und *Hippophae* wurde durch zwei Anzuchtverfahren generiert. Die *in vitro*-Kultivierung ermöglicht Baumschulen die Vermehrung von Gehölzen auf eigener Wurzel, so dass homogenes Pflanzenmaterial auch ohne die xenovegetative Vermehrung erzeugt werden kann. Vergleichend dazu wird konventionell veredeltes Pflanzenmaterial untersucht, da hier genetisch unterschiedliche Unterlagen verwendet werden und dieses Vermehrungsverfahren in der Baumschulpraxis breite Anwendung findet. Bereits während der Akklimatisation der *in vitro* erzeugten Jungpflanzen und ebenso während der Pflanzung der Jungbäume wurde das Pflanzenstärkungsmittel sowie das Desinfektionsmittel in verschiedenen Varianten hinsichtlich Applikationstechnik und Behandlungsturnus eingebracht, so dass eine frühe Interaktion in der Rhizosphäre stattfinden kann.

## **Ergebnisse**

Innerhalb des Projektes VertEXillium konnten Beiträge zur *in vitro*-Kultivierung und der Vermehrbarkeit der zu betrachteten Gattungen erarbeitet werden. Es wurden 8 Klone der Gattung *Acer* und 22 Sorten/Klone von *Hippophae rhamnoides* intensiv untersucht. Dies stellt vor allem bei der, schwer durch konventionelle Methoden (Stecklingsvermehrung) vermehrbaren Gattung *Acer*, einen wertvollen Beitrag dar. Innerhalb der Produktion der Gehölze wird durch die nötige Bodenbearbeitung der Schaderreger auf der Produktionsfläche verbreitet. Die Verwendung von biologischen Hilfsstoffen stellt einen wichtigen Aspekt zum Klimaschutz sowie dem Bodenschutz und somit zur Verbesserung der Produktivität der Pflanzenproduktion dar. Mit dem Einsatz der Pflanzenstärkungsmittel konnte eine Wirksamkeit der Antagonisten *in vitro* nachgewiesen werden. Die Wuchsleistung der Pflanzen war in den Feldversuchen höher, wenn auch nicht signifikant. Jedoch konnte ein signifikanter Einfluss der Flächenvorbehandlung mit Kardox auf die Wuchsleistung nachgewiesen werden. Abzuwarten wäre die Bonitur nach Fruchtbildung, da die Pflanzen hierbei geschwächt werden und möglicherweise dann auch ein signifikanter Einfluss auf die *Verticillium*-Toleranz nachgewiesen werden kann.

## **Herausforderungen während der Umsetzung**

Die Witterung stellte immer wieder eine große Herausforderung beim Freilandversuch innerhalb des Projektverlaufs dar. Durch die anhaltende Trockenheit war die Ausbringung des Pflanzenstärkungsmittels teilweise sehr erschwert bzw. konnte keine gleichmäßige Ausbringung gewährleistet werden. Dieses Problem verstärkte sich durch den hohen Unkrautdruck innerhalb der Vegetationsperiode. Aufgrund der geringen Größe der Jungpflanzen konnte keine mechanische Bodenbearbeitung durchgeführt werden. Eine weitere große Herausforderung bestand in der Verfügbarkeit des *Verticillium dahliae*-Pilzes in definierter Menge für die verschiedenen Versuche. Es fanden mehrere Versuche zur Isolation des Schadpilzes, mit der Herkunft aus den Versuchspflanzen bei der Baumschule Nauen, statt. Da die Isolation aufgrund von Kontaminationen mit einer Vielzahl von anderen pilzlichen Organismen und das Fehlen eines, in Deutschland nicht zugelassenem, selektivem Fungizid, nicht gelang, musste zuerst auf ein Isolat aus Baldrian zurückgegriffen werden. Vor Projektende konnte noch ein Isolat aus Sanddorn genutzt werden, welches für die Versuche hochvermehrt und aufbereitet werden musste.

## **Empfehlungen für die Praxis**

Im Bereich der Pflanzenproduktion kann für die Gattung *Acer* die *in vitro*-Anzucht empfohlen werden, da durch diese Kulturtechnik sehr vitale und homogene Jungpflanzen, jahreszeitenunabhängig, produziert werden können. Somit kann ein zeitlicher Vorteil in der Anzucht, hinsichtlich der Produktionsdauer in der Baumschule erzielt werden. Weiterhin

wäre die Baumschulbranche nicht von der inhomogenen Verfügbarkeit von Sämlingsunterlagen sowie von immer mehr schwer verfügbaren spezialisierten Fachkräften für die Vermehrung über Veredlung, abhängig. Da die Vermehrung der Gattung Sanddorn problemlos über die konventionelle Stecklings-/ Steckholzvermehrung funktioniert und der Bewurzelungserfolg während der *in vitro*-Kultur ausblieb, kann für diese Gattung die *in vitro*-Vermehrung nicht empfohlen werden. Für den Endstandort, beispielsweise für Alleebäume an der Straße, ist es von großer Bedeutung für eine ausreichende Bewässerung zu sorgen, da der *Verticillium dahliae* bei Stresssituationen von Gehölzen eine bessere Möglichkeit hat, die Pflanzen zu infizieren. Eine Schutzbesiedlung mit wurzelaktiven Mikroorganismen, wie beispielsweise mit dem getesteten Pflanzenstärkungsmittel ProGrow 385 führt zu einer gesteigerten Wuchleistung. Für eine abschließende Empfehlung sind noch weitere Versuche nötig, jedoch konnte die Wirksamkeit durch *in vitro*-Tests bereits nachgewiesen werden. Das Desinfektionsmittel Kardox zeigte bei den Versuchen innerhalb des Projektes eine signifikante Wirkung auf die Wuchleistung und kann somit für die Praxis in der Baumschule und die Pflanzung am Endstandort empfohlen werden.

### **Koordination**

Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr. Susanne Huyskens-Keil

E-Mail: [susanne.huyskens@hu-berlin.de](mailto:susanne.huyskens@hu-berlin.de)

### **Projektbeteiligte**

Baumschulen Nauen GmbH

Friedersdorfer Baumschulen; Müller & Twisselmann GbR

Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften

Assoziierte Partner: Pflanzenschutzamt Berlin, Landesamt für Ländliche Entwicklung, Landwirtschaft und Flurerneuerung (LELF)

### **Projektlaufzeit**

25.06.2021 – 31.12.2024



Humboldt-Universität zu Berlin (Antje Schüttig)