

Schlussbericht

Förderkennzeichen 0315542E

nach Nr. 3.2 BNBest-BMBF 98

I. Kurze Darstellung zu AP 4.5: Qualitätsparameter und Inhaltsstoffe bei *Brassica*

1. Aufgabenstellung

Ziel ist es, im Bereich Gemüsefrischprodukte entsprechend der Verbraucherpräferenz termingerecht natürliche funktionelle Lebensmittel zu produzieren und Maßnahmen für ein abgestimmtes Kultur- und Nacherntemanagement in der Wertschöpfungskette zur Inhaltsstoffausbildung und -sicherung zu entwickeln.

Es sollen Modellversuche mit ausgewählten *Brassica*-Arten zu Einstrahlungs- und Temperatureffekten auf die Biosynthese von Sekundärmetaboliten durchgeführt werden. Durch die Applikation ausgewählter Lichtbereiche wird nach Identifizierung und Quantifizierung von Glucosinolaten und Flavonoiden mittels HPLC-MS bei *Brassica*-Gemüse in Abhängigkeit von klimatischen Einflussfaktoren deren Wirkmechanismen untersucht. Dazu sollen die in Brassicaceae ausgelösten biochemischen und molekularbiologischen Pflanzenprozesse aufgeklärt werden, mit Hauptaugenmerk auf die an der Synthese von Glucosinolaten sowie Flavonoiden beteiligten Gene. Mittels kurzfristiger Applikation von ausgewählten Wellenlängenbereichen in geringer Dosis soll geprüft werden ob, unter Ausnutzung der pflanzlichen Schutzreaktion bzw. durch Anregung spezifischer synthetisierender Enzyme eine Induktion des Sekundärstoffwechsels und damit auch des Glucosinolat- und Flavonoidmetabolismus ausgelöst werden kann.

Durch Folienmanagement und Netzapplikationen erfolgt eine gezielte Terminierung von ausgewählten *Brassica*-Kulturen. Hierzu werden verschiedene Folien und Netze zu unterschiedlichen Zeitpunkten und mit unterschiedlicher Applikationsdauer zur Steuerung der Einstrahlung und Temperatur unter Freilandbedingungen auf ihre Auswirkung auf Ertragsbeginn, Ertragsverlauf und -höhe sowie auf die Ausbildung der gesundheitsfördernden Sekundärmetabolite untersucht. Die theoretischen Grundlagen eines Entscheidungsunterstützungssystems für die Prognose der optimalen Applikationsdauer der Folien und Netze, welches die Produktionssicherheit im deutschen Gartenbau steigern soll, werden mit Hilfe der gewonnenen Daten erarbeitet.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Der Antragsteller verfügt über langjährige Erfahrungen zur Beeinflussung des pflanzlichen Sekundärmetabolismus, an verschiedenen *Brassica*-Arten und -Sorten (u. a. Brokkoli, Blumenkohl, Weißkohl, Radies, Pak Choi, Wasserrüben, afrikanischer Grünkohl), mit dem Ziel die Konzentrationen an protektiven sekundären Pflanzenstoffen zu optimieren. Methoden zur

Identifizierung und Quantifizierung von sekundären Pflanzenstoffen (Glucosinolate, Flavonoidglycoside, Carotinoide, Chlorophylle) mittels HPLC/MS_n sind entwickelt worden (Krumbein & Schonhof 2001; Rösch et al. 2004; Buchner et al. 2006; Zimmermann et al. 2007). Ein erstes Beratungssystem für die Nährstoffversorgung im Gemüsebau wurde bereits entwickelt (Fink et al. 2008, Fink et al. 2007), mit dem Schwerpunkt, das Nährstoffangebot so zu steuern, dass hohe Erträge und (äußere) Produktqualität mit großer Nährstoffeffizienz erreicht werden können. Einige Arbeiten betrafen auch die Auswirkungen von Witterung und pflanzenbaulichen Maßnahmen auf qualitätsbestimmende Inhaltsstoffe (Feller und Fink 2007, Feller und Fink 2004, Gutezeit und Fink 1999). 2010 wurden auf den Versuchsstandorten in Großbeeren und Golzow bereits erste Vorversuche mit umfangreicher Datenerhebung durchgeführt.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Es wurden von 2010 bis 2012 jeweils von März bis Mai die Kohlrabi Sorte Lech RZ (weiß) sowie Blauer Delikatess (blau) angebaut und mit Beginn der Sproßachsenverdickung die Applikation der Lichtbereiche grün (480-560 nm) und blau (420-480 nm) für jeweils 6 Stunden täglich bis zur Ernte durchgeführt. In 2011 bis 2013 wurde Brokkoli, Sorte Ironman jeweils von Mai bis Juli und von Juli bis September angebaut. Hier erfolgt mit Beginn der Kopfbildung die Applikation der ausgewählten Lichtbereiche 6 Stunden täglich bis zur Ernte (Abb.1). Zur kurzfristigen Applikation ausgewählter Wellenlängenbereiche zur Induktion von Sekundärmetaboliten in Keimlingen und in Brokkoliköpfen wurde eine Versuchsanordnung geschaffen, die unter streng kontrollierten Bedingungen die selektive Bestrahlung mit Licht verschiedener Wellenlängen ermöglicht (Abb.2). In den Monaten März bis Juni der Jahre 2011 und 2012 wurden an Versuchsstandorten des IGZ in Großbeeren und Golzow Feldver-



Abb.1: Modellversuch selektive Lichtapplikation im Freiland, Brokkoli



Abb.3: Datenmonitoring, Folienmanagement und Netzapplikationen

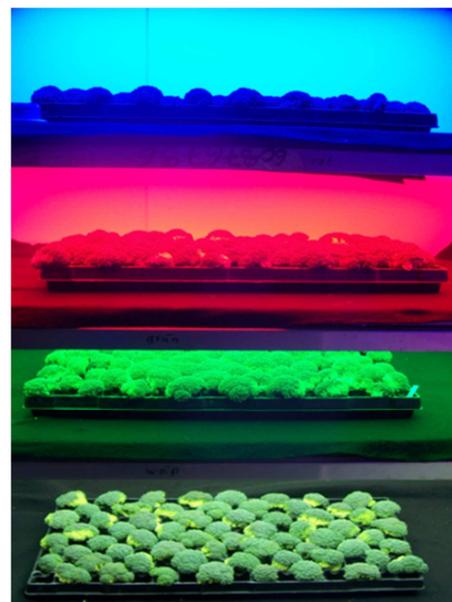


Abb.2: Modellversuch selektive Lichtapplikation mit LEDs, Induktion von Sekundärmetaboliten in der Nachernte bei Brokkoliröschen

suche mit umfangreichem Einsatz von Sensoren zur Erfassung des Mikroklimas unter den Folien und regelmäßigen Zwischenernten als Monitoring der Pflanzenentwicklung (Wachstum und Qualität) durchgeführt (Abb.3). Als Versuchsobjekt wurde die *Brassica*-Art Kohlrabi, auf Grund ihrer Bedeutung für den deutschen Gartenbau ausgewählt.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Glucosinolate und Flavonoide sind sekundäre Pflanzenstoffe, die in Gemüse weit verbreitet sind und zu den bioaktiven Substanzen gezählt werden. In epidemiologischen Studien wurden inverse Korrelationen zwischen der täglichen Zufuhr von Obst und Gemüse mit dem Auftreten von chronisch-degenerativen Erkrankungen des Menschen wie kardiovaskulären Erkrankungen und Krebs nachgewiesen (z.B. Boeing et al. 2012). Humanstudien belegen zudem, dass mit einer erhöhten Verzehrsmenge von glucosinolat- und flavonoidreichen Obst- und Gemüseprodukten gesundheitsfördernde Wirkungen auftreten können (z.B. Esfahani et al. 2011), daher wird u. a. ein Verzehr von Lebensmitteln mit erhöhten Gehalten an bioaktiven Substanzen empfohlen (z.B. Boing 2004).

Es ist bekannt, dass die Gehalte von erwünschten Inhaltsstoffen in Gemüse durch die Nährstoff- und Wasserversorgung beeinflusst werden können. So kann das Stickstoffangebot den Glucosinolatgehalt in Brassicaceen sowohl positiv als auch negativ beeinflussen (Zimmermann et al. 2007). Zudem zeigen Untersuchungen, dass nicht nur die Wasserversorgung, sondern auch Klimafaktoren die Glucosinolatkonzentration in *Brassica rapa* (Zhang et al. 2008), oder die Flavonoidkonzentration und -zusammensetzung in *Brassica oleracea* var. *sabellica* (Schmidt et al. 2010) beeinflussen.

Der Antragsteller hat ein Beratungssystem für die Nährstoffversorgung im Gemüsebau entwickelt (Fink et al. 2008). Die Prognose der optimalen Applikationsdauer von Folien und Netzen im Frühgemüseanbau im Freiland wird bislang mittels sehr einfacher empirischer Temperatursummen-Modelle realisiert, wobei die Tagesmaximaltemperaturen seit Pflanzung aufsummiert und sobald die Summe dieser Temperaturen eine bestimmte Schwelle erreicht hat, die Folien abgenommen werden. Dieser bisher etablierte Ansatz versagt regelmäßig bei Frühjahrs-Witterungen, die vom langjährigen Mittel abweichen, zuletzt geschah dies sehr deutlich im Jahr 2013.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Dienstleistungszentrum ländlicher Raum Rhein-Pfalz (DLR), wodurch weitere Feldversuche an einem dritten Standort (Schifferstadt), welche mit den Feldversuchen an den IGZ Standorten harmonisiert wurden, jedoch mit reduziertem technischem Aufwand, durchgeführt werden konnten. Die zusätzlich generierten Daten konnten in die Auswertung und zur weiteren Generalisierung der Versuchsergebnisse aufgenommen werden.

II. Eingehende Darstellung zu AP 4.5: Qualitätsparameter und Inhaltsstoffe bei *Brassica*

1. Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen

Ziele des Arbeitspaketes bei Antragstellung

- Steigerung der Gehalte an gesundheitsfördernden sekundären Pflanzenstoffen
- Untersuchung der biochemischen, molekularen und physiologischen Prozesse der Synthese sekundärer Pflanzenstoffe in Abhängigkeit von ökophysiologischen Einflussgrößen und technologischen Maßnahmen
- Entwicklung von Maßnahmen für ein abgestimmtes Kultur- und Nacherntemanagement in der Wertschöpfungskette zur Inhaltsstoffausbildung und -sicherung

Unter Aufklärung der biochemischen, molekularbiologischen und pflanzenphysiologischen Prozesse wird die Biosynthese der sekundären Pflanzenstoffe Glucosinolate und Flavonoide in Abhängigkeit von ökophysiologischen Einflussgrößen und technologischen Maßnahmen analysiert. Dazu wurden Modellversuche sowohl im Feldanbau (Abb.1) als auch mittels kurzfristiger Applikation unter streng kontrollierten Bedingungen im Klimaschrank (Abb.2) zu Einstrahlungseffekten auf die Biosynthese von Glucosinolaten (GS) in den ausgewählten *Brassica*-Arten Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) und Brokkoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) wie unter I.3. dargestellt, durchgeführt.

Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*):

Es konnten in Blättern und Sprossknollen beider Kohlrabi-Sorten 7 verschiedene GS identifiziert und quantifiziert werden. Die selektive Lichtapplikation hatte im Vergleich zu Kontrollen auf den GS-Gehalt in Blättern keinen Einfluss. Im ersten Anbau wurde gezeigt,

dass durch die selektive Lichtapplikation im Bereich grün und blau ein erhöhter Gehalt an gesundheitsfördernden sekundären Pflanzenstoffen, insbesondere der Methylsulfinylalkyl-Glucosinolate (GS), in den so behandelten Kohlrabiknollen erreicht werden konnte. Diese Erhöhung war im folgenden Anbauversuch leider nicht mehr signifikant ausgeprägt (Abb.4).

Brokkoli (*Brassica oleracea* var. *italica*):

Es konnten in Blättern 6 und in Köpfen 8 verschiedene GS quantifiziert werden. Die selektive Lichtapplikation hatte im Vergleich zu Kontrollen auf den GS-Gehalt in Blättern wenig Einfluss, jedoch war der Gehalt und das Profil der GS in Brokkoliköpfen insbesondere des frühen Anbaus signifikant beeinflusst. Neben einer generellen Erhöhung des Gesamtgehaltes an GS ist hier die höchste Steigerung bei 4-Methylsulfinylbutyl-GS bei selektiver Lichtapplikation in den Bereichen grün und blau zu finden. Die Ergebnisse zeigen, dass prinzipiell

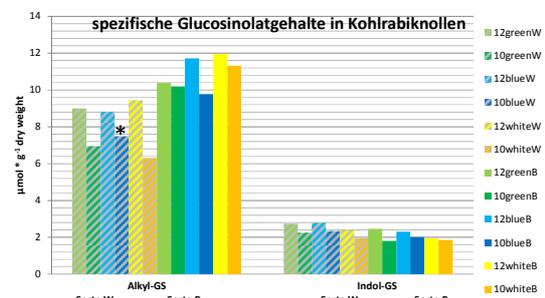
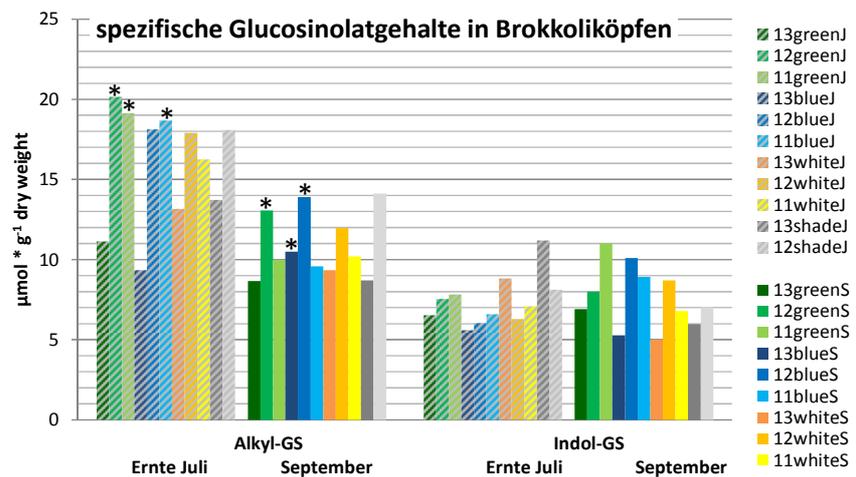


Abb.4: spezifischer Glucosinolatgehalt in Kohlrabiknollen
*, signifikante Erhöhung zur entsprechenden Kontrolle

durch selektive Lichtapplikationen veränderte Gehalte an gesundheitsfördernden sekundären Pflanzenstoffen erreicht werden können. Dies ist jedoch sehr stark durch die Klimabedingungen im Anbauzeitraum beeinflusst und führt dazu, dass die ausgeprägte Variation der Glucosinolatgehalte in den verschiedenen Anbaujahren und in den jeweils zwei Anbauzeiträumen die Erhöhung der gesundheitsfördernden Sekundärmetabolite überlagern (Abb.5). Festzuhalten bleibt jedoch, dass in diesen Modellversuchen durch selektive Lichtapplikation eine Steigerung der gesundheitlich relevanten sekundären

Pflanzenstoffe möglich ist.

Abb. 5: Zusammenstellung aller Glucosinolatgehalte in Brokkoliköpfen in den Modellversuchen über drei Jahre, getrennt nach Alkyl-Glucosinolaten und Indol-Glucosinolaten. *, signifikante Erhöhung zur entsprechenden Kontrolle.



Parallel wurde der Chlorophyll- und Carotinoidgehalt der Blätter von AP 4.6 Nachweisverfahren zur Prozesskontrolle bei Brassica analysiert, und Brokkoliköpfe der verschiedenen Lichtbehandlungen in AP 4.7 Daten- und Prozessmanagement bei Brassica spezifischen Nacherntebehandlungen unterzogen. Beide Analyseverfahren lieferten keine signifikanten Unterschiede.

Wie die biochemischen Analysen konzentrieren sich auch die molekularen Untersuchungen auf den GS- und Flavonoidstoffwechsel. Viele molekulare Grundlagen sind bereits aus dem *Brassicaceae*-Modellsystem *Arabidopsis thaliana* bekannt. Mittels umfassender Datenbankrecherchen (TAIR, The Arabidopsis Information Resource; MBGP, Multinational Brassica Genome Project) konnten Oligonukleotide entwickelt werden, die zur Amplifikation von cDNA-Fragmenten aus verschiedenen *Brassica* Gemüse-Spezies und folglich zur Expressionsanalyse benutzt werden können. Aus dem GS-Stoffwechsel können spezifische Amplifikate für zwei Methylthioalkylmalatsynthasen (2 Isoformen MAM1 und eine MAM3), sowie für zwei Cytochrome P450 Monooxygenasen zur Umwandlung der entsprechenden Aminosäuren in das korrespondierende Aldoxim (CYP79F1 und CYP79B2) und für zwei Thioalkyl Flavin Monooxygenasen ($\text{FMO}_{\text{GS-OX2}}$ und $\text{FMO}_{\text{GS-OX5}}$) zur Synthese der gesundheitlich relevanten Methylsulfanylalkyl-GS nachgewiesen werden. Aus der Flavonoidbiosynthese kann über quantitative realtime RT-PCR spezifisch eine Flavanon 3-Hydroxylase (TT6) sowie eine Flavonoid 3'-Hydroxylase (TT7) in ihrer Expression untersucht werden. Neben nur geringen Unterschieden in der Expression der untersuchten Gene in den Brokkoliköpfen des jeweils

frühen Anbauzeitraums (Ernte Juli) ist im jeweils 2. Zeitraum (Ernte September) eine erhöhte Expression der Gene *BoFMO2* und *BoFMO5* bei selektiver Lichtapplikation in den Bereichen grün und blau zu messen (Abb.6). Die Expression von *BoMAM3* und *BoTT7* war in allen Ansätzen unterhalb der Detektionsgrenze. Die gefundenen Unterschiede in der relativen Expression relevanter Gene aus dem Glucosinolat- und Flavonoidstoffwechsel unterstützen die gemessenen veränderten Metabolitgehalte, wobei auch hier festzuhalten bleibt, dass die ausgeprägte Variation der relativen Expressionen in den verschiedenen Anbaujahren und Anbauzeiträumen die signifikanten Veränderungen durch die selektiven Lichtapplikationen überlagern.

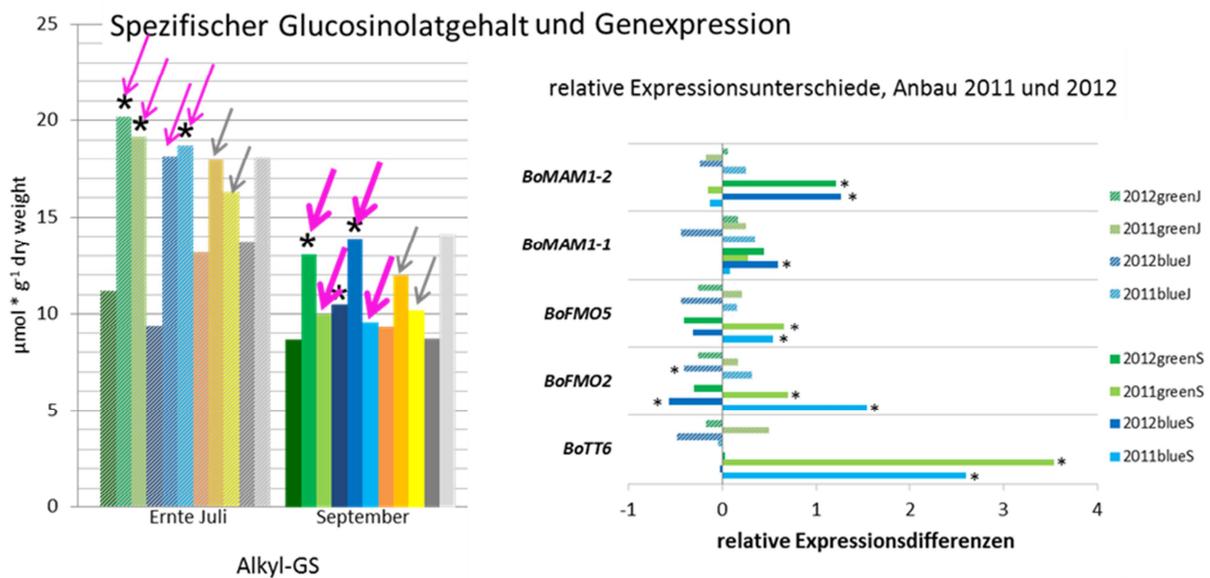


Abb.6: Zusammenstellung Alkyl-Glucosinolatgehalte in Brokkoliköpfen und relative Expressionsunterschiede. Pinkfarbene Pfeile zeigen die Proben der dargestellten relativen Expressionen bezogen auf die jeweilige Kontrolle, markiert mit grauen Pfeilen. *, signifikante Erhöhung zur entsprechenden Kontrolle.

Die Induktion des Sekundärstoffwechsels mit besonderer Berücksichtigung des Glucosinolat- und Flavonoidmetabolismus wurde mittels kurzfristiger Applikation von ausgewählten Wellenlängenbereichen in Keimlingen und in Brokkoliköpfen mit der eigens dafür geschaffenen Versuchsanordnung geprüft (Abb.2). In Modellversuchen mit Keimlingen der ausgewählter *Brassica*-Sorten (*Brassica oleracea* var. *gongylodes* Lech RZ (weiß), sowie Blauer Delikatess (blau); *Brassica oleracea* var. *italica* Ironman) konnte gezeigt werden, dass die selektive Applikation von Licht definierter Wellenlänge Einfluss auf den Gehalt und die Zusammensetzung von Glucosinolaten und Flavonoiden hat (Abb.7). Diese Effekte waren abhängig von der eingestrahelten Wellenlänge, aber auch von der verwendeten Sorte. So wurde in allen untersuchten Sprossen durch Blaulichtapplikation eine Verringerung des Gehaltes an Indol-GS erreicht, und die Gehalte an den Flavonoiden Quercetin und Kämpferol wurden durch die Applikation von grünem und blauem Licht in allen untersuchten Sprossen deutlich gesteigert. Veränderte Profile an sekundären Pflanzenstoffen waren zudem abhängig von der verwen-

deten Sorte und dem Entwicklungszustand des Pflanzenmaterials. Signifikante Unterschiede in der relativen Expression relevanter Gene aus dem Glucosinolat- und Flavonoidstoffwechsel waren in diesem Versuchsansatz nach 4 Tagen mit jeweils 6 h selektiver Belichtung bei 12 h Gesamtbelichtung nicht mehr nachweisbar.

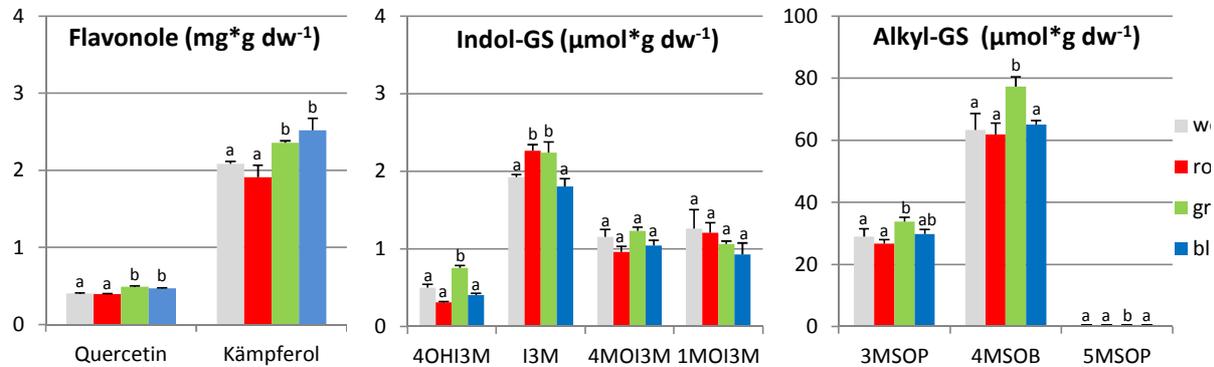


Abb.7: Gehalt an Flavonol Aglykonen und Indol- und Alkyl-Glucosinolaten (GS) in Brokkolisprossen nach selektiver Lichtapplikation im LED-Klimaschrank. Hauptflavonole: Quercetin, Kämpferol; Indol-GS: 4OH13M 4-Hydroxyindol-3ylmethyl-, I3M Indol-3ylmethyl-, 4MOI3M 4-Methoxyindol-3ylmethyl-, 1MOI3M 1-Methoxyindol-3ylmethyl-; Alkyl-GS: 3MSOP 3-Methylsulfinylpropyl-, 4MSOB 4-Methylsulfinylbutyl-, 5MSOP 5-Methylsulfinylpentyl-. Farben kennzeichnen die Bestrahlungsfarbe; verschiedene Buchstaben bezeichnen signifikante Unterschiede (Tukey-HSD-Test)

Zur Untersuchung selektiver Lichtapplikationen auf das Profil der Sekundärmetabolite in der Nachernte wurden Röschen von Brokkolipflanzen aus dem Feldanbau (Abb.1) unmittelbar nach der Ernte für 12h der selektiven Lichtapplikation unterzogen (Abb.2). Dabei zeigte sich, dass insbesondere bei längeren Adaptationszeiten von 6 und 12 Stunden der Gesamtgehalt an GS insbesondere nach der Applikation von Blaulicht aber auch von Grünlicht deutlich reduzierter war im Vergleich zur Weißlichtapplikation. Besonders deutlich war eine signifikante Reduktion des Gehaltes an Indol-GS unter diesen Bedingungen festzustellen. Durch die selektive Lichtapplikation in der Nachernte war folglich keine Steigerung der gesundheitsrelevanten Sekundärmetabolite möglich.

Zur gezielten Terminierung ausgewählter *Brassica*-Kulturen wurden an zwei Standorten Feldversuche zum Folienmanagement durchgeführt (Abb.3). Die Anlage der Versuche erfolgte ab dem 16. März 2011 in Großbeeren und in Golzow. Dabei handelt es sich um zweifaktorielle Versuche mit den Prüffaktoren (A) Pflanztermin (erster Termin 17.03.2011 in Großbeeren bzw. 25.03.2011 in Golzow und zweiter Termin jeweils zwei Wochen später) und (B) Abdeckung (ohne, mit Vlies, Doppelabdeckung [sowohl mit Vlies als auch mit PE-Lochfolie mit 500 Loch m⁻²], vier Abnahmetermine für die PE-Folie). Jede der 14 Faktorstufenkombinationen wurde in zwei Wiederholungen angelegt. Zusätzlich wurden je Pflanztermin sechs Messparzellen mitgeführt (jeweils mit den Abdeckungen „ohne“, „Vlies“ und „Doppelabdeckung“), welche mit Sensortechnik ausgestattet waren. Erfasste Parameter: Lufttemperatur und Luftfeuchtigkeit in 10 cm Höhe, Bodentemperatur in 5 und 15 cm Tiefe, volumet-

rischer Wassergehalt in 0 bis 30 cm Tiefe, CO₂-Gaskonzentration (nicht am Standort Golzow) sowie die unter der Bedeckung auf der Bodenoberfläche auftreffende Globalstrahlung. Außerdem wurde direkt neben den Messparzellen in 40 cm Höhe die horizontale Windgeschwindigkeit, die Lufttemperatur, die Luftfeuchtigkeit und die Globalstrahlung erfasst. In der Regel liegen die Messwerte in einer zeitlichen Auflösung von zehn Minuten vor. Weiterhin wurden in jeweils vier der übrigen Parzellen Temperatursensoren in 10 cm Höhe verbaut. Neben den „Klimadaten“ wurden „Pflanzendaten“ mit Hilfe von regelmäßigen Zwischenernten erhoben. Die Messparzellen wurden nicht beerntet. Es wurden an jeweils 12 Pflanzen (je nach Entwicklungsgrad der Pflanzen) beim Kohlrabi die Merkmale Frischmasse und Trockensubstanzgehalt (jeweils getrennt für die Knolle und die Blätter), Durchmesser der Knolle, Blattanzahl, Länge des längsten Blattes, Blattfläche und der Durchmesser des Strunkansatzes bestimmt sowie die Merkmale Laubmasse, Rotfärbung der Knolle und Knollenform bonitiert. Als dritte Datenquelle wurden die „Wetterdaten“ von Wetterstationen auf den Versuchsfeldern in Großbeeren und Golzow im Versuchszeitraum erfasst. Die Plausibilitätsprüfung, Übertragung und Zusammenfassung aller Daten in eine gemeinsame Datenbank für die weitere Verarbeitung war anspruchsvoll.

In Großbeeren wurde ein methodischer Feldversuch im Juli und August 2011 durchgeführt, um zu klären, ob es Möglichkeiten gibt, die Erfassung der Blattfläche von Kohlrabi zu rationalisieren. Es wurden drei Möglichkeiten der Erfassung verglichen: (1) Die direkte Erfassung durch Einscannen der Blätter (Blattflächenmessgerät LI-3100 (Li-Cor)) und die Berechnung der Blattfläche mit der Software Fiji. (2) Die indirekte Erfassung mit dem Gerät LAI-2200 (Li-Cor), welches auf Basis der Lücken im Blätterdach den Blattflächenindex (LAI; Blattfläche je Bodenfläche) mit der Software FV2200 berechnet. (3) Die indirekte Erfassung mittels digitaler Fotografie des Bestandes (Zenit-Winkel 0° und 57,5°) und Ableiten des LAI aus dem Anteil des sichtbaren Bodens mit der Software CAN-EYE (Abb.8).



Abb.8: Digitale Fotografie von 15 Kohlrabipflanzen aus einem Zenit-Winkel von 57,5° und das verarbeitete Bild zur Trennung von Pflanzen und Untergrund

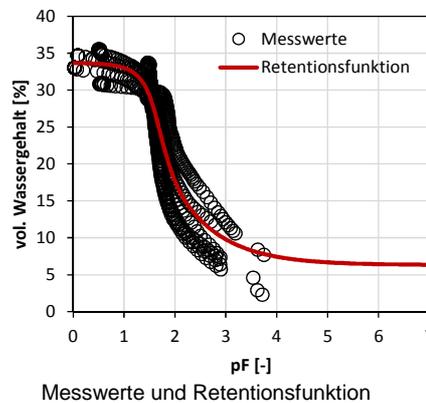
Bei allen Methoden wurden neben der halben Blattspalten-Oberfläche auch die halben Oberflächen der Blattstiele und Knollen berücksichtigt. Die Messungen erfolgten zweimal wöchentlich. Die drei Methoden wurden parallel an den gleichen 15 Pflanzen geprüft. Ausgehend von den Ergebnissen der Methode (1) als Referenz konnten die Messwerte der Methoden (2) und (3) über lineare Regressionsansätze mit Bestimmtheitsmaßen von >0,95 und

>0,97 bei den optimalen Protokollen und Berechnungsvarianten bzw. Zenit-Winkeln den wahren LAI sehr gut vorhersagen. In den folgenden Feldversuchen wurde die einfache, schnelle und kostengünstig zu realisierende Methode (3) zur Anwendung gebracht.

Die Versuche wurden an beiden Standorten 2012 wiederholt, wobei auf einen zweiten Pflanztermin verzichtet wurde und die dadurch kleiner gewordenen Versuche intensiver erfasst wurden. Die Abnahmestrategie der Folien basierte auf der Methode der Temperatursummen (Summe der täglichen maximalen Temperatur-Stundenmittelwerte in 2 m Höhe), wodurch die Versuche flexibler gestaltet wurden. An beiden Standorten wurden zusätzlich die Wärmeleitfähigkeit (in Abhängigkeit vom Bodenwassergehalt), die Retentionseigenschaften und die ungesättigte Wasserleitfähigkeit des Bodens in drei Tiefen (7,5 cm; 22,5 cm; 37,5 cm) erfasst (Abb.9) und für die spätere Prognosemodellentwicklung parametrisiert (nach den Modellen von van Genuchten [bimodal] und Mualem).



Hyprop-Messkopf auf Waage



Messwerte und Retentionsfunktion

Abb.9: Bestimmung der ungesättigten Wasserleitfähigkeit und der Retentionseigenschaften des Bodens zur Parametrisierung für die Entwicklung von Prognosemodellen.

Am Standort Großbeeren wurde weiterhin die Photosyntheseleistung der Kohlrabipflanzen mittels LICOR-6400-Systemen (Li-Cor) gemessen, sowie die Reflektions- und Transmissionsseigenschaften der Kohlrabiblätter im Wellenlängenbereich von 380-1850nm mit einem V-670-System (Jasco) erfasst. Es wurden zusätzliche Sensoren verbaut, um die Luftbewegung unter der Abdeckung zu messen.

Auch 2013 wurden an beiden Standorten erneut Feldversuche geplant und alle notwendigen Vorbereitungen für die Pflanzung Mitte März getroffen. Da bis in die zweite Aprilwoche Bodenfrostherrschaft herrschte, konnten die Jungpflanzen nicht mehr rechtzeitig gepflanzt werden und eine Durchführung des Versuches ab Mitte April erschien wegen des hohen Sonnenstandes und der zu erwartenden kurzen Auflagezeiten der Abdeckungen nicht sinnvoll. Aus diesem Grund konnten erste Parametrisierungen einiger Teilmodelle des Gesamtmodelles, welches das Mikroklima unter der Abdeckung beschreibt, nur mit den Daten aus 2011 und 2012 vorgenommen werden. So konnten die Stomataleitfähigkeit der Kohlrabiblätter mit dem Modell nach Ball-Berry-Leuning (Abb.10), die thermische Leitfähigkeit des Bodens mit dem Modell nach Johansen (Abb.11) und der volumetrische Wassergehalt des Bodens mit dem Modell

nach van Genuchten (bimodal; Abb.12) bereits erfolgreich modelliert werden. Außerdem wurden die Messdaten zu den Transmissions- und Reflexionseigenschaften der Blätter und der Abdeckungen zusammengefasst, verarbeitet und ausgewertet.

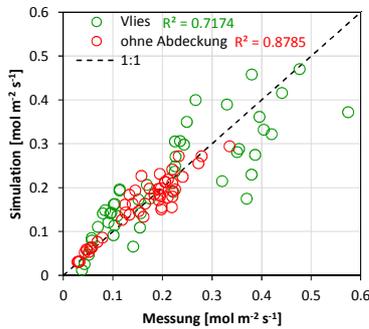


Abb.10: Messung und Simulation der Stomataleitfähigkeit. Kohlrabiblätter ohne Abdeckung und unter Vlies.

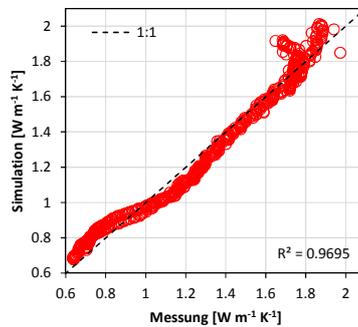


Abb.11: Messung und Simulation der thermischen Leitfähigkeit des Bodens (Großbeeren, 7.5cm Bodentiefe).

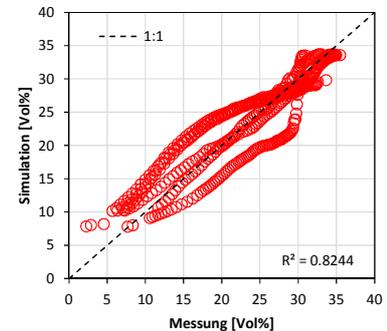


Abb.12: Messung und Simulation des volumetrischen Wassergehaltes des Bodens (Großbeeren, 7.5cm Tiefe).

Weiterhin konnte mittels Laborversuchen ein neu erarbeiteter bimodaler logistischer Ansatz mit Erfolg zur Modellierung des Reflexionskoeffizienten der Bodenoberfläche in Abhängigkeit vom volumetrischen Wassergehalt des Bodens entwickelt werden (Abb.13). Für die Wellenlängenbereiche der photosynthetisch aktiven Strahlung (400-700 nm) und der Nahinfrarotstrahlung (701-2200 nm) erreicht das Modell Korrelationskoeffizienten von jeweils über 0.93 und 0.77 für Boden aus Großbeeren und Golzow. Im Gegensatz zu älteren Arbeiten in der Literatur wurde ein Abfallen des Reflexionskoeffizienten nahe der Feldkapazität und ein konstanter Reflexionskoeffizient ab dem Austrocknen der Bodenoberfläche beobachtet und im Modellansatz berücksichtigt, wobei die betrachteten Bodenproben 5 cm mächtig waren und weitgehend störungsfrei geborgen wurden.

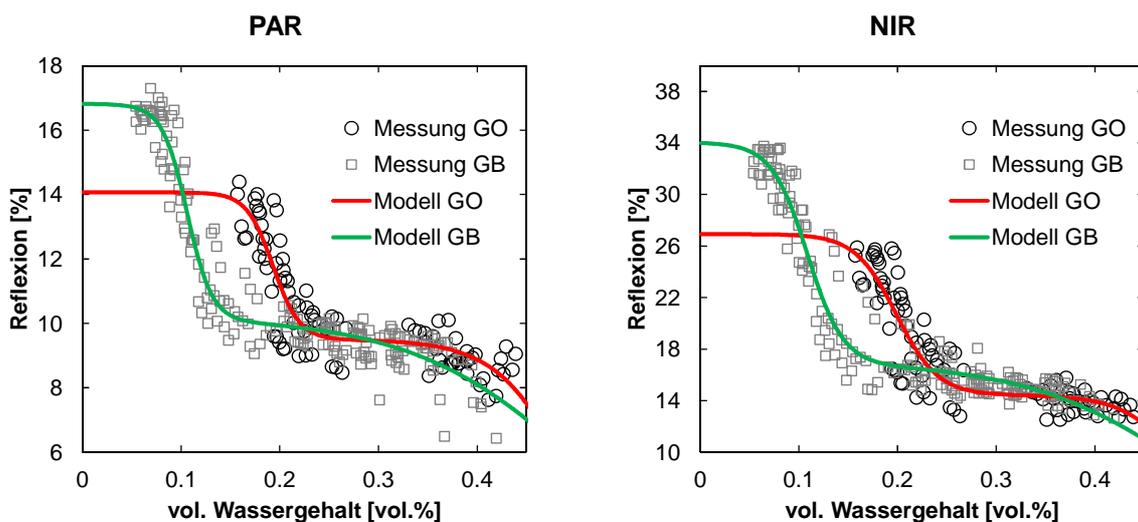


Abb.13: Reflexionskoeffizient der Bodenoberfläche in Abhängigkeit vom volumetrischen Wassergehalt für zwei Standorte (GB = Großbeeren, GO = Golzow) und zwei Wellenlängenbereiche (links: PAR = 400-700 nm, rechts: NIR = 701-2200 nm)

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die wichtigsten Positionen sind die Personalkosten (Titel 812) zur Finanzierung von zwei wissenschaftlich Beschäftigten sowie für sonstige allgemeine Verwaltungsaufgaben (Titel 843) insbesondere zur Durchführung der Pflanzenanalysen. Die entsprechenden Beleglisten wurden Ihnen im September 2014 zugestellt.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Glucosinolate und Flavonoide sind sekundäre Pflanzenstoffe, denen in Obst- und Gemüseprodukten gesundheitsfördernde Wirkungen zugeschrieben werden. Die Gehalte dieser erwünschten Inhaltstoffe werden nicht nur von der Nährstoff- und Wasserversorgung beeinflusst, sondern sie sind auch von ökophysiologischen Einflüssen wie Licht und Temperatur abhängig. Die durchgeführten Modellversuche durch Applikation ausgewählter Lichtbereiche sollten sowohl im praxisnahen Feldversuch als auch mittels kurzfristiger Applikation unter streng kontrollierten Bedingungen im Klimaschrank erstmals zeigen, ob und inwieweit die Biosynthese der Sekundärmetabolite unter Ausnutzung der pflanzlichen Schutzreaktion bzw. durch Anregung spezifischer synthetisierender Enzyme beeinflusst wird. Nach Identifizierung und Quantifizierung von Glucosinolaten und Flavonoiden mittels HPLC-MS, wurde die Aufklärung der molekularbiologischen Prozesse mit Hauptaugenmerk auf die an der Synthese von Glucosinolaten sowie Flavonoiden beteiligten Gene der ausgewählten *Brassica*-Gemüsearten erstmals im Detail analysiert.

Die Simulation von mikroklimatischen Prozessen unter Folien und Netzen setzt eine Modellbildung und eine geeignete Parametrisierung des verwendeten Modell-Ansatzes voraus. Dies und die anschließende Validierung des gefundenen Ansatzes kann nur geleistet werden, wenn genügend Messdaten verfügbar sind. Da in der Literatur bislang keine ausreichend detaillierten Datensätze publiziert wurden, waren die durchgeführten Feldversuche hinsichtlich Anzahl und Umfang unumgänglich, um die Fragestellung nach den Grundsätzen der guten wissenschaftlichen Praxis bearbeiten zu können.

4. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die Analysen können dazu beitragen, Empfehlungen zu Maßnahmen für ein abgestimmtes Kultur- und Nacherntemanagement in der Wertschöpfungskette zur Inhaltsstoffausbildung und –sicherung der Praxis zur Verfügung zu stellen. Unsere Ergebnisse tragen dazu bei, dem Erwerbsgartenbau ein onlinebasiertes Entscheidungsunterstützungssystem für die Ermittlung der optimalen Applikationsdauer von Folien und Netzen zur Verfügung zu stellen, um die Produktionssicherheit im deutschen Gartenbau zu verbessern.

5. Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Dem ZE sind keine Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen bekannt geworden.

6. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Die Ergebnisse des methodischen Feldversuches wurden in einer wissenschaftlichen Fachzeitschrift veröffentlicht: Sandmann, M, Graefe, J & Feller, C (2013) Optical methods for the non-destructive estimation of leaf area index in kohlrabi and lettuce. Scientia Horticulturae, 156, 113-120.

Die Ergebnisse des methodischen Feldversuches wurden auf der Tagung der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft (DGG) am 28.02.2013 in Bonn als Vortrag „Optische Methoden für eine zerstörungsfreie Messung der Blattfläche von Kohlrabi- und Kopfsalat-Beständen“ kommuniziert und das Poster „Messung hydraulischer und thermischer Eigenschaften gartenbaulich genutzter Böden“ in der Sektion Technik präsentiert.

Auf der Internationalen Grünen Woche 2014 hat sich der AgroClustEr WeGa mit diesem AP 4.5 „Qualitätsparameter und Inhaltsstoffe bei Kohlgemüse“ einer breiten interessierten Öffentlichkeit präsentiert.

Die biochemischen und molekularbiologischen Ergebnisse aus den Modellversuchen mit kurzfristiger Applikation von ausgewählten Wellenlängenbereichen in geringer Dosis zur Induktion des Sekundärstoffwechsels bei *Brassica*-Sprossen werden derzeit zur Veröffentlichung in einem Grundlagen-orientierten Publikationsorgan aufgearbeitet.

Die Ergebnisse der über drei Jahre laufenden Feldversuche mit Applikation ausgewählter Lichtbereiche in Brokkoli werden derzeit zur Veröffentlichung aufgearbeitet.

Ein Fachartikel zum Strahlungshaushalt eines Kohlrabibestandes unter Folien und Netzen mit dem Titel „Shortwave radiation transfer through a plant canopy covered by single and double layers of plastic“ ist bei der Fachzeitschrift „Agricultural and Forest Meteorology“ eingereicht worden.

III. Erfolgskontrollbericht zu AP 4.5: Qualitätsparameter und Inhaltsstoffe bei *Brassica*

1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen

Die termingesteuerte Inhaltsstoffverbesserung durch Steigerung der antikanzerogenen Glucosinolate und antioxidativ wirksamen Flavonoide kann zu einer Verbesserung der Gesundheit der Gesamtbevölkerung beitragen. Das erarbeitete mikroklimatische Modell kann durch eine Verwendung als onlinebasiertes Entscheidungsunterstützungssystem einen elementaren Beitrag zu den förderpolitischen Zielen der Steigerung der Produktionssicherheit durch

eine Verringerung des Risikos von Qualitätsmängeln und zur Effizienzsteigerung durch die optimale Ausnutzung des Produktionsmittels „Folien und Netze“ im deutschen Gemüsebau leisten.

2. Wissenschaftlich-technisches Ergebnis des Vorhabens, erreichte Nebenergebnisse und gesammelte wesentliche Erfahrungen

Mit Hilfe der verschiedenen Modellversuche wurde gezeigt, dass durch selektive Lichtapplikation eine Steigerung gesundheitlich relevanter sekundärer Pflanzenstoffe in *Brassica*-Gemüse möglich ist. Durch selektive Lichtapplikation ausgelöste biochemische und molekularbiologische Pflanzenprozesse wurden aufgeklärt mit Fokus auf die gesamte Biosynthese von Glucosinolaten und Teilaspekte der Biosynthese von Flavonoiden.

Die theoretischen Grundlagen eines Entscheidungsunterstützungssystems für die Prognose der optimalen Applikationsdauer der Folien und Netze, welches die Produktionssicherheit im deutschen Gartenbau steigern soll, wurden mit Hilfe der gewonnenen Daten in Form mikroklimatischer Teilmodelle (u.a. thermische und hydraulische Leitfähigkeit des Bodens, Blattflächenentwicklung, Stomataleitfähigkeit, Strahlungshaushalt) in Abhängigkeit von der Abdeckung erarbeitet, welche verknüpft zu einem Gesamtmodell und unter Berücksichtigung von Wetterprognosen die gewünschte Prognose ermöglichen wird.

3. Fortschreibung des Verwertungsplans

- Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte, die vom ZE oder von am Vorhaben Beteiligten gemacht oder in Anspruch genommen wurden, sowie deren standortbezogene Verwertung (Lizenzen u. a.) und erkennbare weitere Verwertungsmöglichkeiten

Es sind keine Erfindungen oder Schutzrechtsanmeldungen erteilt oder geplant.

- Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) – z. B. auch funktionale/wirtschaftliche Vorteile gegenüber Konkurrenzlösungen, Nutzen für verschiedene Anwendergruppen/-industrien am Standort Deutschland, Umsetzungs- und Transferstrategien (Angaben, soweit die Art des Vorhabens dies zulässt)

Ergebnisse unserer Modellversuche zeigen, dass gesundheitlich relevante Pflanzeninhaltsstoffe wie Glucosinolate und Flavonoide durch Kulturmaßnahmen zur selektiven Lichtapplikation positiv beeinflusst werden können. Die Entwicklung von Handlungsempfehlungen zur Steuerung der Qualität von *Brassica*-Terminkulturen unter Produktionsbedingungen, die direkt vom Gemüseproduzenten genutzt werden können, ist daraus noch nicht unmittelbar abzuleiten. Eine produktionsrelevante Umsetzung sollte durch den Einsatz farbiger Mulche und Vliese unter Produktionsbedingungen in mehreren aufeinanderfolgenden Jahren getestet werden.

Unsere Ergebnisse können genutzt werden um dem deutschen Erwerbsgartenbau ein onlinebasiertes Unterstützungssystem für die Ermittlung der optimalen Applikationsdauer von Folien und Netzen im Frühgemüsebau im Freiland zur Verfügung zu stellen. Die Übertragung der Ergebnisse in ein onlinebasiertes Entscheidungssystem ist die nächste notwendige Phase für die Nutzbarmachung der Projektergebnisse für den deutschen Gartenbau. Unsere Ergebnisse werden so in Zukunft dazu beitragen, die Produktionssicherheit des deutschen Gartenbaus zu verbessern und Gemüsefrischprodukte mit gesundheitlichem Zusatznutzen termingerecht zu produzieren.

- Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeit-horizont) – u. a. wie die geplanten Ergebnisse in anderer Weise (z. B. für öffentliche Aufgaben, Datenbanken, Netzwerke, Transferstellen etc.) genutzt werden können. Dabei ist auch eine etwaige Zusammenarbeit mit anderen Einrichtungen, Firmen, Netzwerken, Forschungsstellen u. a. einzubeziehen

Das onlinebasierte Entscheidungsunterstützungssystem für die Ermittlung der optimalen Applikationsdauer von Folien und Netzen im Frühgemüsebau im Freiland kann auf den Seiten des DLR Rheinpfalz realisiert werden, welche bereits Entscheidungsunterstützungssysteme diverser anderer Produktionssysteme des deutschen Gartenbaus etabliert hat.

- Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der Ergebnisse

Die Übertragung der Ergebnisse in ein onlinebasiertes Entscheidungsunterstützungssystem für die Ermittlung der optimalen Applikationsdauer von Folien und Netzen im Frühgemüsebau im Freiland ist die nächste notwendige Phase für die Nutzbarmachung der Projektergebnisse für den deutschen Gartenbau.

4. Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Keine

5. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer

Die Ergebnisse werden über Vorträge und Publikationen möglichen Nutzern zugänglich gemacht.

6. Einhaltung der Kosten- und Zeitplanung

Kosten- und Zeitplanung wurden eingehalten.

IV. Kurzfassung zu AP 4.5: Qualitätsparameter und Inhaltsstoffe bei *Brassica*

Die Synthese sekundärer Pflanzenstoffe in Abhängigkeit von ökophysiologischen Einflussgrößen und technologischen Maßnahmen wurde analysiert, sowie die Erstellung eines Sys-

tems zur Prognose der optimalen Applikationsdauer von Abdeckungen erarbeitet. In Modellversuchen mit den Brassica-Gemüsen konnte gezeigt werden, dass die Applikation der Lichtbereiche grün und blau sich verstärkend auf die Synthese von Glucosinolate und Flavonoiden auswirken kann. Korrespondierende Genexpressionsstudien bestätigen dies. Verschiedene Folien und Netze wurden zur Steuerung der Einstrahlung und Temperatur unter Freilandbedingungen auf ihre Auswirkung auf Ertragsgrößen und Ausbildung von Sekundärmetaboliten untersucht. Mit den vorhandenen Daten wurden bereits Teilmodelle des mikroklimatischen Gesamtmodells parametrisiert.

Großbeeren, 17.12.2014

A handwritten signature in blue ink that reads "M. Schreiner". The signature is written in a cursive style and is placed on a light blue rectangular background.

Prof. M. Schreiner

(Verantwortlicher AP 4.5,

Sprecher Teilprojekt Terminproduktion – Qualitätsparameter und Inhaltsstoffe bei *Brassica*)

I. Kurze Darstellung zu AP 5.2: Molekularphysiologie der Kühltoleranz bei *Petunia* u.a.

1. Aufgabenstellung

Die stark terminorientierte Zierpflanzenproduktion unter Glas in Deutschland findet zu einem großen Anteil im Winterhalbjahr statt und ist durch knapper und teurer werdende Energieressourcen gefährdet. Um zukünftig eine ökonomisch und ökologisch sinnvolle Zierpflanzenproduktion zu gewährleisten, sollen bessere Voraussetzungen für eine kühlere Kulturführung unter Nutzung kühltoleranter Sorten geschaffen werden. Da über die Kühltoleranz der wichtigen Zierpflanzen derzeit nur wenige Kenntnisse vorliegen, sollen molekulare und physiologische Grundlagen der genetisch bedingten Kühltoleranz zweier wichtiger Zierpflanzenarten (Petunie, Poinsettie) untersucht werden. Es sollen temperatursensitive Bereiche des Kohlenhydrat- und Phytohormonhaushaltes sowie bei Petunie Kühle-responsive Gene identifiziert und nach einem Sortenscreening die mit unterschiedlichen Toleranzeigenschaften korrelierenden Reaktionsmuster charakterisiert werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Ausgangsbasis sind Ergebnisse von Untersuchungen an anderen Pflanzenarten. So zeigen thermophile Pflanzen häufig bereits bei 10-12 °C Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels (Hällgren and Öquist 1990). Die Kühleexposition verursacht eine Verschiebung der Relationen zwischen Kohlenhydratsynthese, -transport und -verbrauch, die zu einer Kohlenhydratakkumulation in Blättern führt und damit durch Rückkopplungsmechanismen, z.B. über eine reduzierte Saccharosesynthese oder Endprodukthemmung durch Stärke die Photosynthese hemmen kann (Hurry et al. 2000; Zeeman et al. 2007). Die vielfältigen Funktionen von Kohlenhydraten in Pflanzen legen nahe, dass bei der Kühltoleranz der Anpassungsfähigkeit des Kohlenhydrathaushaltes eine große Bedeutung zukommt. Vergleichende Untersuchungen an Pflanzenarten, Mutanten sowie transgenen Linien deuten darauf hin, dass eine funktionsfähige Photosynthese und Saccharosesynthese sowie Mobilisierung und Transport von Zuckern unter Kühle wichtige Faktoren für die Kältetoleranz sind (Hurry et al. 2000, Strand et al. 2003). Kältestress beeinflusst in hohem Maße den Phytohormonhaushalt, wobei die einzelnen Hormone in enger Wechselwirkung zueinander stehen (Gazzarini and McCourt 2003). Mittels Microarray kann die unter der akuten Stresssituation stattfindende Expression potentiell relevanter Gene analysiert werden, um die molekulargenetischen Hintergründe der Anpassung an niedrige Temperaturen bzw. unterschiedlichen Toleranz von Genotypen zu untersuchen (Lee et al. 2005). Der Antragsteller verfügt über umfangreiche methodische Erfahrung auf dem Gebiet der Stress- und Entwicklungsphysiologie von Zierpflanzen mit den Schwerpunkten Kohlenhydrathaushalt und Phytohormone, Stress-induzierte Blattseneszenz und Adventivwurzelbildung, u.a. unter Betrachtung der Einflussgrößen Genotyp, Temperatur

(Kühle). Die Petunie ist als neues Modellsystem zur Untersuchung biochemischer und molekulargenetischer Prozesse etabliert. (Literaturliste siehe 4.)

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Zunächst sollten Testsysteme zur Beurteilung der Kühltoleranz hinsichtlich geeigneter Temperaturen und Boniturgrößen etabliert und Sorten auf Ihre Toleranzeigenschaften geprüft werden. Unter optimierten Testbedingungen werden die Reaktion der Phänotypen auf kühle Temperaturen geprüft und Genotypen identifiziert, die sich in ihrer Kühltoleranz unterscheiden. Unter zwei Temperaturregimen (normal, kühl) wird jeweils eine empfindliche Sorte analysiert, anschließend je zwei unterschiedlich Kühle-tolerante Sorten auf unterschiedliche Reaktionsmuster unter Kühlestress untersucht. Es werden Wachstum und Entwicklung erfasst, und zu verschiedenen Terminen nach Temperaturdifferenzierung die Gehalte der Phytohormone Indol-3-essigsäure (IAA), Abscisinsäure (ABA) und Jasmonsäure (JA) mittels Gaschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie, (GC-MS/MS) analysiert, die Kohlenhydrate Glucose (Glc), Fructose (Fru), Saccharose (Suc) und Stärke mittels enzymatischer Methoden gemessen sowie die schnelle Kinetik der Chlorophyll a Fluoreszenz (Koop. mit AP 5.4) erfasst. Das Transkriptom der Petunienarten soll mittels Microarray und Real time PCR untersucht werden.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Arbeit knüpfte an Ergebnissen von Untersuchungen zum Einfluss von Kältestress auf andere Pflanzenarten an:

Hällgren JE and Öquist G (1990) In: Asher RG (Ed.) Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms, pp. 265-293. Wiley-Liss., Inc., pp. 265-293. / Hurry V, et al. (2000). The Plant Journal 24: 383-396 / Leegood RC and Edwards GE (1996). In: Baker NR (ed.) Photosynthesis and Environment, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp.191-211. / Strand A, et al. (2003) Plant Cell Environ 26: 523-535 / Lee BH, et al. (2005) Plant Cell 17: 3155-3175. / Gazzarini and McCourt (2003) Ann Bot. 91: 605-612.

Eine weitere Basis bildeten umfangreiche Kenntnisse des Zuwendungsempfängers (ZE) auf dem Gebiet der Regulation der Blattseneszenz und der Wurzelentwicklung von Stecklingen unter Stresseinfluss und der besondere Rolle der endogenen Kohlenhydrat und Phytohormone in diesem Zusammenhang. Die benötigten Methoden einschließlich eines Petunien-Mikroarray sind im Labor des ZE gut etabliert:

Kadner R and Druège U (2004). Plant Growth Regulation 43:187-196. / Druège U, et al. (2004). Annals of Botany 94:831-842 / Druège U, and Kadner R (2008). Postharvest Biology and Technology 47: 126-135. / Ahkami AH, et al. (2009) New Phytologist 181: 613-625 /

Klopotek Y et al. (2010). J. Plant Physiol. 167: 547-554 / Breuillin F, et al. (2010). The Plant Journal : For Cell and Molecular Biology, 64(6), 1002–17.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Hochschule Weihenstephan-Triesdorf Institut für Gartenbau, AP 5.1: Fr. Dr. Amberger, unterstützte die Untersuchungen durch Gaswechselformen an Petunie. Fa. Klemm u. Sohn: stellte Know-how über geeignete Sorten und Kulturbedingungen bereit. Bis zum Aufbau eines eigenen Petunien-Mutterpflanzenbestandes am IGZ Anfang 2013 wurden Petunien- und Poinsettien-Jungpflanzen geliefert. Leibniz Universität Hannover (AP 5.3, AP 5.4): Während der gesamten Projektlaufzeit bestand eine enge Kooperation mit den beiden APs. Die Sortenscreenings und die Auswahl geeigneter Sorten erfolgten unter enger Absprache. Das IGZ stellte außerdem AP 5.4 seine methodische Plattform bezüglich Kohlenhydrat- und Phytohormonanalytik zur Verfügung. Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau (LVG) Hannover-Ahlem (AP 5.5): Die Bearbeiter des Arbeitspaketes 5.5 der LVG Ahlem fungierten als Berater für Detail- und Spezialwissen bezüglich der allgemeinen Kulturführung, der Entwicklung des Testsystems sowie bei der Sortenauswahl bei Petunie und Poinsettie. Leibniz Universität Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz (jetzt AP 5.6): Der Pflanzenvirologe Prof. Dr. Maiss fungierte als Berater und Methodengeber nach dem ersten konkreten Verdacht auf Virusbefall in der Sorte 'Fantasy Blue'. Dank seiner Hilfe konnte der Calibrachoa Mottle Virus (CbMV) als ursächlich für die beobachtete Symptomatik identifiziert und ein Nachweisverfahren entwickelt und angewendet werden.

II. **Eingehende Darstellung zu AP 5.2: Molekularphysiologie der Kühletoleranz bei *Petunia* u.a.**

Der ZE weist hiermit ausdrücklich darauf hin, sämtliche im Bericht enthaltenen Ergebnisse vertraulich zu behandeln, da es sich dabei um unveröffentlichte Ergebnisse handelt!

1. Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen

Ziele des Arbeitspaketes bei Antragstellung

- Identifizierung von unterschiedlich kühletoleranten Sorten bei Petunie und Poinsettie
- Charakterisierung temperatursensitiver Bereiche des Kohlenhydrat- und Phytohormonhaushaltes (Petunie, Poinsettie) sowie kühlereponsiver Gene (Petunie)
- Charakterisierung von mit unterschiedlichen Toleranzeigenschaften korrelierenden Reaktionsmustern

Teilaufgabe 1: Sortenauswahl, Optimierung der Testbedingungen

Geeignete Sorten, Temperaturbedingungen und Boniturgößen wurden in Absprache mit den Partnern des VP5, insb. AP5.3/5.4, der Firma Klemm und der LVG Ahlem, festgelegt.

Ergebnisse Petunie: 14 Sorten zeigten 2010 in kühlbaren Gewächshauskabinen (GWH) eine differenzierte Kühlreaktion des vegetativen Wachstums (12,8 °C; 16,0 °C). Dies zeigte, dass die angewendeten Temperaturen offenbar geeignet sind, um die Kühletoleranz der Petunie zu bewerten und der untersuchte Sortenpool eine Variabilität in der Kühletoleranz aufweist. Ergebnisse Poinsettie: In kühlbaren GWH-Kabinen zeigten 5 Sorten über 75 Tage eine differenzierte Reaktion des vegetativen Wachstums und der Brakteenentwicklung auf die kühle Temperatur (14,3 °C; 17,2 °C). Die angewendete Temperaturdifferenz stellte sich somit als geeignet dar, um die Variabilität der Kühletoleranz des untersuchten Sortenpools aufzuzeigen.

Teilaufgabe 2: Sortenscreening Petunie

Die Auswertung der Screenings (IGZ: GWH in 2010, 2011; LUH (AP5.3): KK) zeigte deutliche Diskrepanzen der Kühletoleranz einzelner Sorten zwischen den Versuchen. Als Ursache wurde eine bei den verschiedenen Sorten unterschiedlich stark ausgeprägte Umweltstabilität der Kühletoleranz vermutet. Um optimale Voraussetzungen für eine jahreszeitlich unabhängig stabile und reproduzierbare Kühlreaktion zu gewährleisten, wurde das Testsystem auf Klimakammern (KK) umgestellt. Dies erforderte zusätzliche Versuche zur Optimierung der Bedingungen, bei denen auch die Temperaturen nachjustiert wurden (warm 16,0 °C; kühl 12,0 °C; 2 K Tag-/Nachtdifferenz). Bei mehreren GWH- und KK- Screenings wurden die Frisch- und Trockenmasse, Sprosszahl, Länge des Hauptsprosses und Blatentwicklung am Hauptspross bonitiert. Die Frisch- und Trockenmasseentwicklung stellte sich als zuverlässigster, am besten reproduzierbarer Parameter heraus. 4 Sorten wurden als reproduzierbar Kühle-sensitiv (SwSu_WE: 'Sweet Sunshine White Evolution', SwSu_Will: 'Sweet Sunshine Williams' = 'Williams') bzw. Kühle-tolerant (UB: 'Ultra Blue', FB: 'Fantasy Blue') definiert. Abbildung 1 vergleicht den GWH-Versuch 2011 mit einem KK-Versuch 2012. Es sind jeweils die relativen Frisch- und Trockenmassen gegeneinander aufgetragen. 'Williams' wurde als sensitive Standardsorte ausgewählt, 'Ultra Blue' als tolerante.

Teilaufgabe 3: Petunie-Standardsorte: Genexpression, Kohlenhydrate, Phytohormone

Da Kühlestress auf verschiedene Gewebe unterschiedlichen Einfluss nehmen kann, wurden folgende Organe der Kühle-sensitiven Standardsorte 'Williams' beprobt: junge ausdifferenzierte Blätter als Kohlenhydrat-Source, Sprossapices als Sink und die jüngsten definierbaren Internodien als Streckungszone des Sprosses (nur Phytohormone). Beim Kohlenhydratstoffwechsel zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen warmer und kühler Kulturführung: Die Exposition gegenüber Kühlestress führte bereits nach einem Tag zu einer Erhöhung der Zucker- und Stärkegehalte in Source-Blättern und Apex.

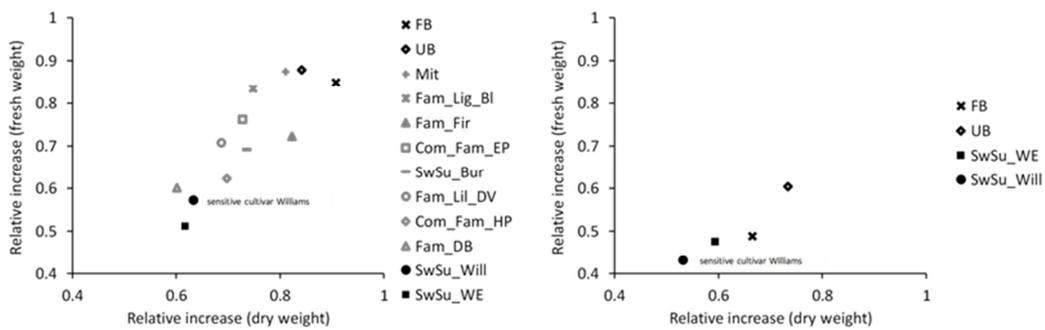


Abb.1. Frisch- und Trockenmasse: Relative Zuwächse.

(A) GWH (Sommer 2011, n=24); (B) KK (Sommer 2012; n=12). (Datenpunkte sind Mittelwerte).

Jedoch kehrte sich nach 3 Wochen im Apex die Situation um: Bei warmer Kulturführung stiegen die Konzentrationen von Glucose und Fructose über das Niveau der kühlen Kultur an. Dies könnte eine relative Kohlenhydratunterversorgung im Sinkgewebe nach längerer kühler Kultur anzeigen. Analysen der Aktivitäten der vakuolären, cytosolischen und Zellwand-Invertase als Schlüsselenzyme des Saccharosestoffwechsels zeigten keine eindeutige Reaktion. Nur die Aktivität der Zellwandinvertase war in einem von zwei Versuchen sowohl im Source- als auch im Sinkgewebe durch die sub-optimale Temperatur reduziert.

Die Ergebnisse der Hormonanalysen deuten darauf hin, dass auch die Homöostasen von ABA und IAA Kühle-sensitive Größen darstellen, die möglicherweise bei der Wachstumsreaktion auf Kühlestress involviert sind (Abb. 2). Sowohl nach kurzer (bis Tag 2) als auch nach längerer Einwirkung (ab Tag 14) kühler Temperaturen waren die ABA- & IAA-Konzentrationen in den Apices im Vergleich zur warmen Kultur niedriger. In der dazwischen liegenden Phase waren die Werte bei kühler Temperatur entweder erhöht (ABA, Abb. 2a) oder ähnlich wie bei warmer Kultur bzw. vor der Temperaturdifferenzierung (IAA, (Abb. 2 b)). Die Arrayanalyse zeigt eine gewebespezifische und zeitlich abhängige Regulation der Transkription in Reaktion auf den Kühlestress. Erste statistische Auswertungen der Genexpression im Apex zeigen die höchste Anzahl induzierter Gene an Tag 3, wobei der überwiegende Anteil dieser Gene zu keinem anderen Termin induziert sind. An Tag 7 sind deutlich weniger Gene induziert, sehr viele andere Gene sind nur an Tag 21 induziert. Die betroffenen Stoffwechselwege werden zur Zeit mittels MapMan visualisiert und auf Einzelsequenz-Niveau nach vielversprechenden Kandidatengenen gesucht, die eine Erklärung für den veränderten Stoffwechsel bieten könnten. Dabei zeigt sich, dass zahlreiche die Stoffwechselvorgänge wie z.B. die Proteindegradation kontrollierende, aber auch für Stressreaktionen wichtige Gene in ihrer Expression betroffen sind.

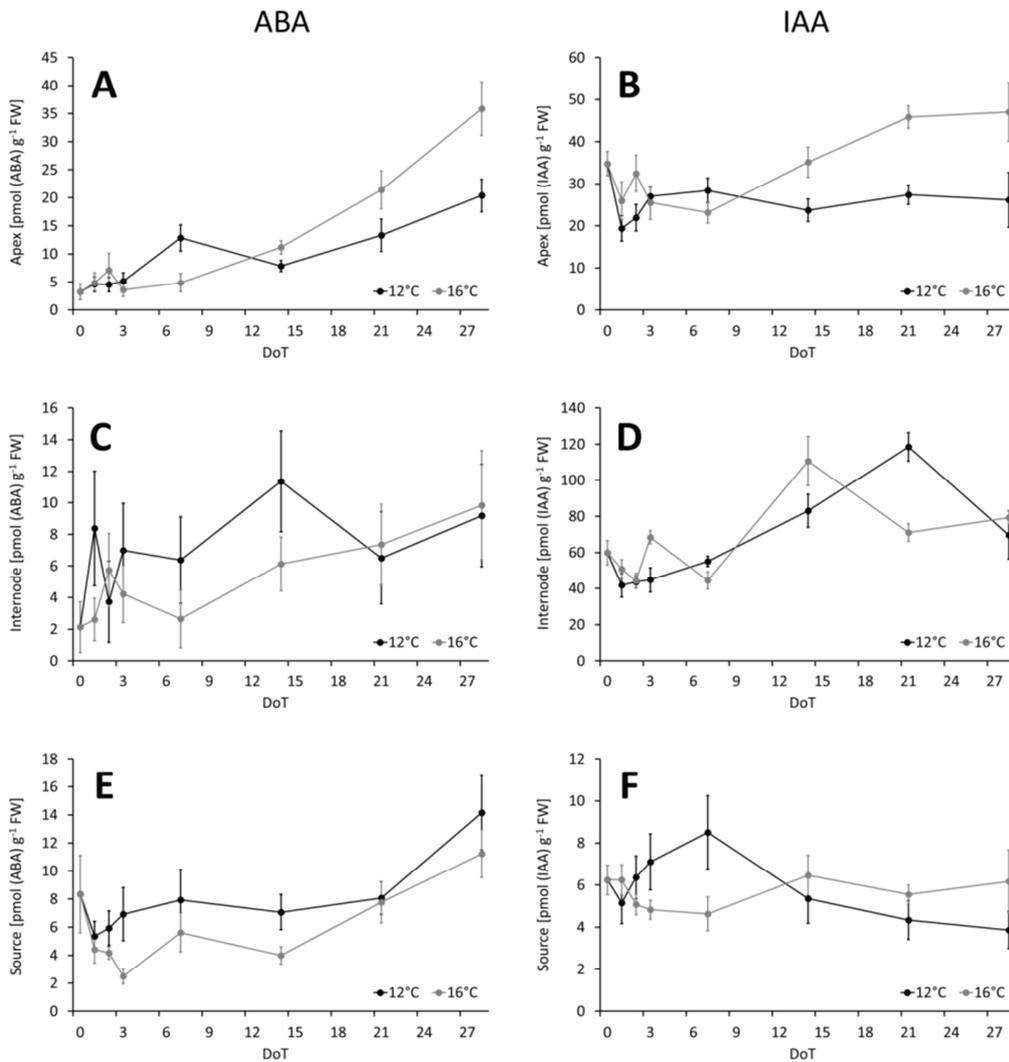


Abb. 2 Phytohormonkonzentrationen: ABA and IAA.

(A) Apex, ABA; (B) Apex, IAA; (C) Internodium, ABA; (D) Internodium, IAA; (E) Source-Blatt, ABA; (F) Source-Blatt, IAA; DoT = days after differentiation of temperature. (n=10; Datenpunkte sind Mittelwerte +/- SE).

Die Ergebnisse deuten insgesamt auf drei Phasen der Kühlreaktion der Kühle-sensitiven Sorte 'Williams' hin: Nach einer frühen Destabilisierung während der ersten Tage kommt es nach ca. 1 Woche zu einer Restabilisierung, die durch eine partielle Annäherung an die physiologische Ausgangssituation gekennzeichnet ist. Die nachfolgende längere Kultur unter Kühle führt offenbar zu einem nachhaltigen Erschöpfungszustand, gekennzeichnet durch ein Ungleichgewicht zwischen Kohlenhydratsource und Sink sowie eine relative Verarmung an ABA und IAA im Apex in Kombination mit einer deutlich veränderten Genexpression im Vergleich zu den früheren Phasen.

Teilaufgabe 4: Sortenscreening Poinsettie

'Christmas Carol', 'Christmas Eve' und 'Happy Christmas' reagierten tolerant, 'Christmas Spirit' und 'Christmas Feelings' sensitiv auf die Kühle. Bezgl. der Brakteenflächen war die Sorte 'Christmas Spirit' über die verschiedenen Boniturtermine hinweg durchgehend am sensitivsten. 2013 wurde ein weiteres Screening mit der tolerante Sorte 'Christmas Carol' und den sensitiven Sorten 'Christmas Spirit' und 'Cortez Electric Fire' durchgeführt. Hier ent-

wickelten alle drei Sorten unter Einfluss der niedrigeren Temperatur geringere Brakteenzahlen, -durchmesser und -flächen. Allerdings zeigten sich nur geringe Unterschiede im Ausmaß der Kühlreaktion.

Teilaufgabe 5: Poinsettie-Standardsorte: Kohlenhydrate, Phytohormone

Zur Optimierung von Zeitpunkt und Ort der Probenahme wurde ein Vorversuch mit einer putativ sensitiven Sorte durchgeführt. Aufgrund des Mehraufwandes und der Verzögerungen in TA 2 & 3 wurde die Auswertung dieser Proben vorerst aufgeschoben und um die verlorene Zeit wieder einzuholen direkt mit Auswertung der Proben aus TA 7 fortgefahren.

Teilaufgabe 6: Pet.-Sortencharakterisierung: Genexpression, Kohlenhydrate, Phytohormone

Die Kohlenhydratgehalte zeigten deutliche Unterschiede zwischen den beiden kontrastierenden Sorten in Intensität und Zeitverlauf der Kühlreaktion. Die Fru-, Glc- und Suc-Konzentrationen im Source-Gewebe unterschieden sich unter optimalen Temperaturbedingungen wenig und verblieben auf weitgehend stabilem Niveau (Abb. 3 B, D). Unter Kühle waren die Konzentrationen in den Source-Blättern erhöht, dies war bei der sensitiven Sorte 'Williams' wesentlich stärker ausgeprägt als bei 'Ultra Blue' (Abb. 3 B). Im Apex stiegen die Hexosegehalte zu Beginn der Kühle-Exposition zunächst an, danach stellte sich unter Kühle aber eine relativ niedrigere Konzentration an Fru und Glc ein (Abb. 3 A). Bei 'Ultra Blue' (tolerant) fand dieser Wechsel früher statt als für 'Williams' (sensitiv). Des Weiteren wies 'Ultra Blue' im Apex besonders bei niedriger Temperatur höhere Saccharosegehalte auf als 'Williams'. Dies sind Hinweise darauf, dass eine höhere Toleranz gegenüber suboptimalen Temperaturen durch eine stabilere Kohlenhydrat-Homöostasis der Gesamtpflanze und eine bessere Versorgung des apikalen Meristems mit Kohlenhydraten begünstigt sein könnte. Weitere Untersuchungen zu den Aktivitäten der Invertasen, der Suc-Phosphat-Synthase und der Suc-Synthase nach Projektabschluss sollen Hinweise über mögliche enzymatische Limitierungen dieser unterschiedlichen Zuckerreaktionen liefern.

ABA zeigte keine sortenspezifische Kühlreaktion, dafür aber generelle Sortenunterschiede. V.a. im Apex lagen die Gehalte bei beiden Temperaturen in der toleranten Sorte etwa doppelt so hoch, wie in der sensitiven. Für IAA zeigten sich keine eindeutig unterschiedlichen Temperatureffekte zwischen den beiden Sorten. Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass ein generell höherer ABA-Gehalt, zusammen mit der stabileren Regulation der Kohlenhydrathomöostase für die höhere Kühletoleranz der Sorte 'Ultra Blue' mitverantwortlich sein könnte. Die Analyse der Genexpression der zwei Sorten, die Anfang 2015 abgeschlossen sein wird, soll das molekular-physiologische Sortenprofil komplettieren, so dass diese und weitere Prozesse steuernde Kandidatengene abgeleitet werden können.

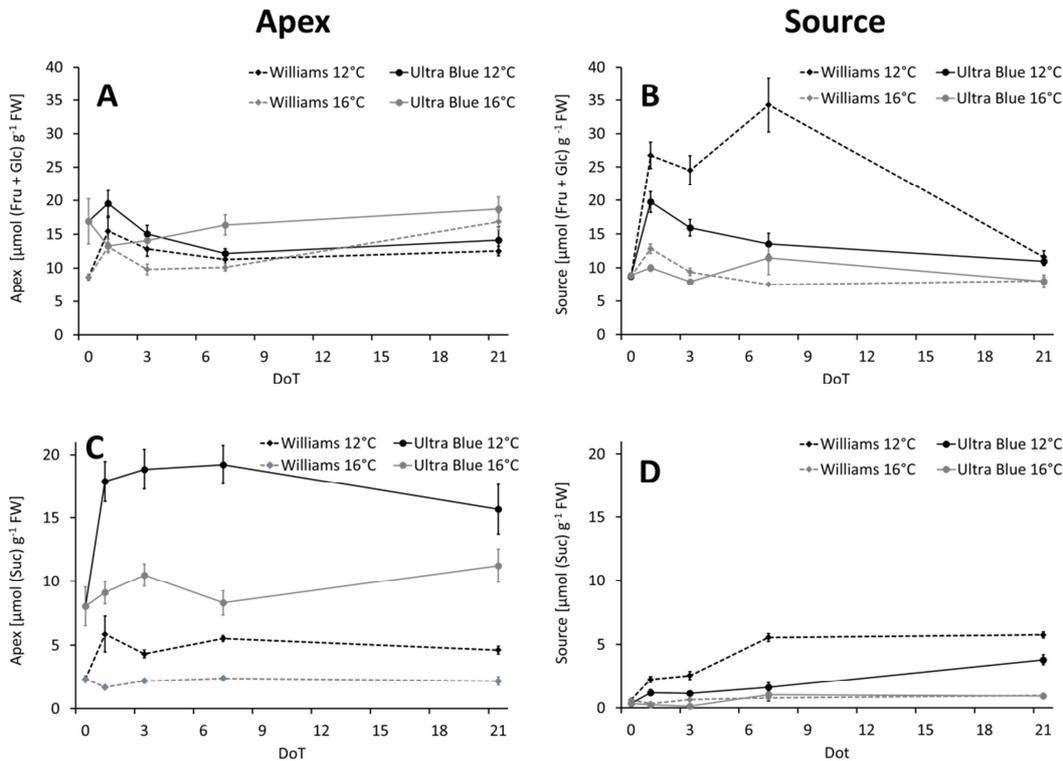


Abb. 3 Kohlenhydrate; Fructose+ Glucose (Fru+Glc), Saccharose (Suc).

(A) Apex, Fru + Glc; (B) Source-Blatt, Fru + Glc; (C) Apex, Sucrose; (D) Source, Sucrose; DoT = Tage nach Beginn der Temperaturdifferenzierung (n=10; Datenpunkte sind Mittelwerte +/- SE).

Teilaufgabe 7: Poinsettien-Sortencharakterisierung: Kohlenhydrate, Phytohormone

‘Christmas Spirit’ und ‘Electric Fire’ wurden als sensitive Sorten ausgewählt, kontrastierend dazu ‘Christmas Carol’ als tolerante. Beprobte wurden zu Versuchsbeginn definierte Source- und Sinkblätter. Die Hexosen zeigten in beiden sensitiven Sorten kaum Unterschiede, die Gehalte unter Einfluss der sub-optimalen Temperatur waren nur leicht erhöht. Die Gehalte der toleranten Sorte waren bei beiden Temperaturen etwa doppelt so hoch, auch hier waren die Gehalte in der kühlen Temperatur höher. Bei den Hexosegehalten im Apex zeigen sich Parallelen zu den Petunien-Ergebnissen. In ‘Electric Fire’ und ‘Christmas Carol’ stiegen die Gehalte der kühlen Variante zunächst stärker an, ab Tag 3 bzw. Tag 7 stiegen nur noch die Gehalte der warmen Variante weiter, während die der kühlen wieder sanken. Die Phytohormonkonzentrationen in den gewonnenen Proben sollen in Eigenfinanzierung durch das IGZ untersucht werden.

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Personal: 1 Doktorand, E13, 41 Monate (36 Monate geplant, kostenneutral verlängert), Verbrauchsmaterial

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die geleistete Arbeit entsprach im Wesentlichen den Planungen und war notwendig und angemessen. In TA 2 und 3 war eine wesentlich höhere Anzahl von Experimenten als ursprünglich geplant notwendig, da die instabile Reaktion einzelner Sorten, eine wiederholt mangelnde Jungpflanzenqualität und eine langwierige und zunächst nicht eindeutig identifi-

zierte Virusinfektion des Mutterpflanzenbestandes für die Jungpflanzenproduktion die Wiederholung von umfangreichen Experimenten erforderten. Da die Chlorophyllfluoreszenz (CF) in Versuchen zum Einfluss der arbuskulären Mykorrhiza (AP 5.4) keine Beziehung zur Trockenmassereduktion gezeigt hatte, wurde darauf verzichtet. Aufgrund der deutlichen Reaktionen des Zuckerstoffwechsels wurden Untersuchungen des Enzymstoffwechsels zusätzlich einbezogen. Durch eine kostenneutrale Projektverlängerung um 6 Monate konnte die Verzögerung in den nach folgenden Aufgaben zum Teil aufgefangen werden. Dennoch ist die Sortencharakterisierung der Petunie und der Poinsettie (TA 6 und TA 7) noch nicht vollständig abgeschlossen. Die geplanten Arbeiten werden vom Antragsteller in eigener Finanzierung zum vollständigen Abschluss geführt.

4. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die identifizierten kühetoleranten Sorten und die für diese Sorten als verträglich bewerteten niedrigen Testtemperaturen können direkt in der Praxis für die Produktion und für Züchtungsprogramme genutzt werden. Die Ergebnisse zur Molekularphysiologie schaffen eine bessere Wissensbasis über die mögliche genetische, hormonelle und metabolische Kontrolle der Kühletoleranz der Petunie und Poinsettie. Neben der Verwertung für eine Dissertation und Fachartikeln in internationalen wiss. Zeitschriften liefern diese Erkenntnisse kurzfristig neue Ansatzpunkte für weitere Forschungsprojekte und mittelfristig für eine züchterische Erhöhung der Kühletoleranz. Kandidatengene können kurzfristig genutzt werden, um potentiell Kühle-tolerante Sorten schneller zu identifizieren. Unter Nutzung der neuen Kenntnisse zur möglichen steuernden Rolle der Phytohormone und des Kohlenhydrathaushaltes kann gezielt getestet werden, ob Pflanzen durch pharmakologische Behandlungen (z.B. ABA-Applikation) oder durch gezielte Steuerung von Umweltfaktoren, die hierauf Einfluss nehmen, widerstandsfähiger gegen kühle Temperaturen gemacht werden können (Kühlestressanpassung).

Vor der intensiven Nutzung der Kandidatengene durch die Züchtung ist jedoch deren funktionale Rolle durch Modifizierung der Genexpression (über VIGS und/oder stabile Transformation) zu prüfen. Wird die vermutete Funktionalität der Kandidatengenen bestätigt, können 1) vorhandene Sorten und Linien gezielt bzgl. der Gene für Kühletoleranz gescreent werden. Die identifizierten Trägerlinien können in weitere Züchtungsprogramme einfließen. 2) Über transgene Ansätze können die Kandidatengene gezielt in andere Sorten implementiert werden. Dadurch stünden neue kühetolerante Linien zur Verfügung, die in Züchtung kühetoleranter Sorten einfließen können. Dies würde die Produktion bei niedrigeren Gewächshaus-temperaturen ermöglichen.

5. Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Sortenvergleiche zur Kühletoleranz von Petunie an der LUH im Rahmen des AP 5.3 weisen gleiche Sorten als kühletolerant aus wie in AP5.2. Aktuelle Forschungen des IGZ an Tomate zeigen übereinstimmend mit den aktuellen Ergebnissen, dass das Phytohormon Abscisinsäure offenbar eine protektive Rolle bei der Toleranz gegenüber sub-optimalen Temperaturen einnimmt (Ntatsi, G., et al. (2013). Sci. Hortic. (Amsterdam). 149, 28–38).

6. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Ergebnisse wurden auf nationalen Tagungen im Rahmen von 3 Postern und 5 Vorträgen vorgestellt. Die genutzten Plattformen waren: Arbeitskreis Zierpflanzenqualität (verschiedene Ausrichtungsorte); Sommertagung der Fachgruppe Jungpflanzen im ZVG-Erfurt; Jahrestagung der Zierpflanzenbauberater 2013, Kerpen; Leibniz Doktorandenforum der Sektion E, 04.-05.10.2011, Bremen; Jahrestagung der DGG und des BHGL 27.02.-02.03.2013, Bonn; PLANT 2030 Status Seminar 2014, 31.03.-02.04.2014, Potsdam.

Ergebnisse wurden in 3 Vorträgen auf internationalen Tagungen vorgestellt: Internationaler Kongress „12th World Petunia Days“, 18-21 März 2012, Erfurt; Internationaler Kongress „13th World Petunia Days“, 13.-16.09.2013, Nijmegen (NL); “International Horticultural Conference 2014“, 17.08.-22.08.2014, Brisbane (Australien).

Folgende WeGa-Publikationsplattformen wurden genutzt: 1. WeGa-Workshop, 21.-22.02.2011, Hannover; 3. WeGa-Workshop, 04.-05.09.2012, Berlin; BMBF-Zwischenevaluierung von WeGa an der Leibniz Universität Hannover, 21.02.-22.02.2013, Hannover; Vorträge auf WeGa-Doktorandentagen: 24.11.2011-Hannover; 05.-06.09.2012-Berlin; 02.-03.09.2013- Straubing; 07.-08.10.2014- Braunschweig.

Schriftliche Publikationen erfolgten im Rahmen von Abstracts (1 Deutschsprachig, 3 Englischsprachig) in Tagungsbänden sowie eines Artikels im ZVG Gartenbaureport 02/2013, 37-38 (gemeinsam mit den anderen Partnern des VP5).

Folgende internationale wissenschaftliche Publikationen sind für 2015 geplant:

Arbeitstitel „Transcriptome, carbohydrate and plant hormone analysis of *Petunia hybrida* reveals a complex disturbance of plant functional integrity in response to mild chilling stress“
Abstract accepted von: Frontiers of Plant Science, in prep.

Arbeitstitel “ Determination of tolerance of *Petunia* cultivars to sub-optimal temperatures: definition and parameters. Scientia Horticulturae, in prep.

Arbeitstitel “ “Carbohydrate/ plant hormone/transcriptome profiling - cold responsiveness of two contrasting *Petunia* genotypes”

III. Erfolgskontrollbericht zu AP 5.2: Molekularphysiologie der Kühletoleranz bei *Petunia* u.a.

1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen

Ein besseres Verständnis der molekularen und physiologischen Grundlagen, die bestimmten Sorten eine geringere Wachstumsdepression unter Einfluss sub-optimaler Temperaturen ermöglichen, kann mittel- bis langfristig von Züchtern und Produzenten eingesetzt werden, um gezielt tolerante Sorten zu züchten. Züchtungs- und Produktionsverfahren können dadurch optimiert werden, so dass die Produktionstemperatur bei gleich bleibender Produktionsdauer reduziert werden kann. Dies spart Heizenergie im Winterhalbjahr ein, steigert die Ressourceneffizienz und reduziert den Ausstoß von Treibhausgasen. Die Ergebnisse können somit zu einer wettbewerbsfähigen Zierpflanzenproduktion beitragen.

2. Wissenschaftlich-technisches Ergebnis des Vorhabens, erreichte Nebenergebnisse und gesammelte wesentliche Erfahrungen

Es wurde ein zuverlässiges Testsystem zur Evaluierung der Kühletoleranz bei sub-optimalen Temperaturen für Petunie und Poinsettie etabliert, mit dem Sorten mit kontrastierenden Kühle-Reaktionen identifiziert und putativ involvierte Kontrollprozesse und Kandidatengene charakterisiert werden sollten. Tolerante Sorten wurden identifiziert. Jedoch waren die Toleranzunterschiede bei dem getesteten Sortenpool schwächer als erwartet. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass ein stabiler Kohlenhydrathaushalt d.h. im Wesentlichen eine Ausgewogenheit der Source-sink Verhältnisse unter Kühleinfluss sowie ein höherer Gehalt an ABA zu einem besseren Wachstum unter moderatem Kühlestress beitragen können. Durch die weitere Analyse der Reaktionen des Transkriptoms der zwei kontrastierenden Petunienarten können Kandidatengene dieser und anderer Stoffwechselbereiche identifiziert werden.

3. Fortschreibung des Verwertungsplans

- Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte, die vom ZE oder von am Vorhaben Beteiligten gemacht oder in Anspruch genommen wurden, sowie deren standortbezogene Verwertung (Lizenzen u. a.) und erkennbare weitere Verwertungsmöglichkeiten

Es sind keine Erfindungen oder Schutzrechtsanmeldungen erteilt oder geplant.

- Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) – z. B. auch funktionale/wirtschaftliche Vorteile gegenüber Konkurrenzlösungen, Nutzen für verschiedene Anwendergruppen/-industrien am Standort Deutschland, Umsetzungs- und Transferstrategien (Angaben, soweit die Art des Vorhabens dies zulässt)

Zur Aufklärung der molekularen Grundlagen der Kühletoleranz von Zierpflanzen waren zunächst grundlagenorientierten Forschungsarbeiten nötig. Mit den hier beschriebenen Ergebnissen werden Hypothesen postuliert, welche Bedeutung veränderte Kohlenhydrat- bzw.

Phytohormonhomöostasen für die Kühletoleranz haben und welche Kandidatengene involviert sein könnten. Bevor die Ergebnisse in die Praxis übertragen werden können, bedarf es weiterer Forschung zur Absicherung dieser Hypothesen. Siehe auch Tabelle 1.

- Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) – u. a. wie die geplanten Ergebnisse in anderer Weise (z. B. für öffentliche Aufgaben, Datenbanken, Netzwerke, Transferstellen etc.) genutzt werden können. Dabei ist auch eine etwaige Zusammenarbeit mit anderen Einrichtungen, Firmen, Netzwerken, Forschungsstellen u. a. einzubeziehen

Die Ergebnisse dienen als Basis für mindestens 3 wissenschaftliche Veröffentlichungen und können für Folgeprojektanträge genutzt werden. Zwei der Veröffentlichungen sind in Zusammenarbeit mit der LUH (AP 5.3) und mit der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (AP 5.1) geplant. Die identifizierten kühletoleranten Sorten und für diese Sorten als verträglich ermittelten Temperaturen können direkt von Praxisbetrieben für die Produktion umgesetzt werden.

Tabelle 1: Tabellarischer Verwertungsplan

Verwertungsmöglichkeit bzw. Zwischenschritt	durchgeführt von	geschätzter Zeithorizont
Prüfung von Hormon-Applikationen (zunächst ABA) als Möglichkeit der Toleranzinduktion gegenüber Kühlestress	AG Drüge des IGZ, in Kooperation mit Dietmar Schwarz, IGZ (Tomate) und van Iersel, University of Georgia, USA, evtl. LUH und FH Erfurt (Masterarbeiten)	1- 3 Jahre nach Projektende, DAAD-Antrag wurde in 2014 gestellt, abgelehnt
Prüfung eines größeren Genotyp-Pools auf Kühletoleranz und Expression der Kandidatengene	AG Drüge, IGZ, in Zusammenarbeit mit Fa. Klemm und anderen Züchtern; AG Mibus, Geisenheim; Ray Warner, Michigan State University (Wildarten)	2 bis 4 Jahre nach Projektende, wenn Antragstellung erfolgreich
Funktionelle Prüfung von Kandidatengenen im Rahmen eines Anschlussprojektes: Knockout-Mutanten, transgene Ansätze	AG Drüge, IGZ in Zusammenarbeit mit Mibus, Geisenheim; Winkelmann, LUH	2 bis 7 Jahre nach Projektende, wenn Antragstellung erfolgreich
Ausstattung von Petunien mit den vielversprechendsten Kandidatengenen	AG Drüge, IGZ in Zusammenarbeit mit Fa. Klemm, Stuttgart, AG Mibus, Geisenheim; AG Winkelmann, LUH	Ab 5 Jahre nach Projektende, wenn Finanzierung gesichert

- Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der Ergebnisse

Vor einer intensiven Nutzung der Kandidatengene für die Züchtung muss in Anschlussprojekten deren Funktion in transgenen Ansätzen (Überexpression oder knock-out) oder mit Hilfe von Knockout-Mutanten geprüft werden. Die Bedeutung der Pflanzenhormone wie z.B. ABA sollte durch pharmakologische Ansätze in Folgeprojekten geprüft werden. Bestätigt sich die Funktion der Kandidatengene, können sie für die Züchtung genutzt werden. Bestätigt

sich die positive Rolle von ABA, könnte ABA direkt zur Erhöhung der Kühletoleranz appliziert werden. Andererseits kann ABA als Marker für das Genotyp-Screening verwendet werden. Im Rahmen eines weiteren Forschungsprojektes sollte dann geprüft werden, ob ABA-Spiegel in den Pflanzen durch gezielte Stressapplikation erhöht werden kann und sich das positiv auf die Kühletoleranz auswirkt. Siehe Tabelle 1

4. Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Keine

5. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer

Die Ergebnisse werden über Vorträge und Publikationen möglichen Nutzern zugänglich gemacht.

6. Einhaltung der Kosten- und Zeitplanung

Da die ursprüngliche Zeitplanung aufgrund von durch den ZE nicht zu verantwortenden Ursachen zum Teil nicht eingehalten werden konnte (Begründung siehe auch II, 3) wurde ein Antrag auf kostenneutrale Verlängerung bis 06/2014 gestellt, der genehmigt wurde. Verzögerungen in TA 2/3 beruhten auf 1.) der anfangs nicht absehbaren Umweltvariabilität und Komplexität der Kühlreaktion verschiedener Petuniensorten, 2.) Problemen bei Jungpflanzenlieferungen durch den Praxispartner, 3.) dem Auffinden einer latent in den Pflanzen zumindest der Sorte 'Fantasy Blue' vorhandenen Virusinfektion und 4.) dem daher notwendigen Aufbau eines eigenen Mutterpflanzenbestandes am Standort IGZ Erfurt. Momentan noch laufende Untersuchungen und Auswertungen sollen bis Mitte 2015 abgeschlossen sein. Die zusätzlichen Kosten hierfür werden vom IGZ getragen.

IV. Kurzfassung zu AP 5.2: Molekularphysiologie der Kühletoleranz bei Petunia u.a.

Ein Testsystem zur Evaluierung der Kühlesensitivität von Petunien/Poinsettienarten wurde etabliert. In Petunie war die Kohlehydrathomöostase durch die Kühle gestört, in der sensitiven Sorte stärker und nachhaltiger. Die Hormone Abscisinsäure (ABA), Indol-3-essigsäure und Jasmonsäure zeigten keine deutlichen Unterschiede bzgl. ihrer Stressreaktion. ABA war mit deutlich höheren Konzentrationen in der toleranten Sorte sortenspezifisch reguliert. Die Ergebnisse stützen die Hypothese, dass höhere ABA-Gehalte sowie eine stabile Kohlenstoff-Homöostase eine höhere Kühletoleranz fördern. Die Expressionsanalyse des Sortenvergleichs soll in Kohlenhydrat/Hormonhaushalt und weiteren relevanten Prozessen involvierte Kandidatengene identifizieren.

Erfurt, 17.12.2014

A handwritten signature in blue ink, reading "Uwe Drüge". The signature is written in a cursive style with a large, stylized 'U' and 'D'.

Dr. Uwe Drüge
(Verantwortlicher AP 5.2,
Sprecher Teilprojekt Pflanzliche Kühletoleranz)