

HeiNO (Heidelbeeren No Off-Types) – ein neues BMEL/ BLE-Verbundprojekt zur Ursachenfindung der Off-Types

Prof. Dr. Traud Winkelmann^{1,*}, Annina Marxen^{1,*}, Alfred-Peter Entrop^{2,*}, Felix Koschnick^{3,*}, Dr. Wulf Menzel^{4,*}, Dr. Uwe Drüge^{5,*}, Dr. Stefan Ehrentraut^{5,*}, Dr. Karsten Klopp^{6,*}

¹ Leibniz Universität Hannover, ² Obstbauversuchsring des Alten Landes, ³ Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Versuchsstation Beerenobst Langförden, ⁴ Leibniz- Institut DSMZ, ⁵ Fachhochschule Erfurt, ⁶ ESTEBURG Obstbauzentrum Jork

Hintergrund

Historie der Schadsymptome „Off-Types“

Beginnend in der Saison 2015 wurden Unregelmäßigkeiten in den Behangdichten in einzelnen norddeutschen Heidelbeeranlagen festgestellt. Auffallend war, dass diese Pflanzen alle aus der Pflanzsaison 2012/13 stammten. Besonders betroffen war die Hauptsorte 'Duke'. Jedem betroffenen Anbauer fiel auf, dass der Wuchshabitus (**Abb. 1**) verändert war.

Diese abweichenden Pflanzen, im Folgenden Off-Types genannt, bildeten wenige bis gar keine Blüten und somit wenig bis gar keinen Ertrag. Dieses Erscheinungsbild, Wuchsveränderung gekoppelt mit verminderten Erträgen, setzte sich in allen betroffenen Anlagen bis zum heutigen Tag fort. Als erkennbar wurde, dass diese Anlagen niemals gesicherte, hohe Erträge erbringen würden, wurden etliche Anlagen zeitnah gerodet.

Vom Jahr 2017 an wurden in den beiden anderen wichtigen Sorten 'Draper' und 'Liberty' ebenfalls sortenuntypische Off-Types und daraus resultierende ertragslose oder -reduzierte Anlagen beobachtet und dokumentiert. Gleichzeitig stellte sich heraus, dass die den Habitus betreffenden Symptome sortenspezifisch waren.

Sortenspezifische Symptome der Off-Types

In der Sorte 'Duke', als wichtigste Frühsorte, waren es der breit ausladende Wuchs, verkürzte Internodien, kleinere Beeren und das unvollständige Ablösen der Blütenblätter, was zur Verunreinigung des Ernteguts beiträgt (ENTROP & KOSCHNICK, 2019) (**Abb. 2**).

Häufig stehen Off-Type-Pflanzen neben ertragreichen („True-to-type“)

Pflanzen aus gleicher Anlieferung und Sorte (**Abb. 3**).

Die Sorte 'Draper', als mittelspäte Sorte, reagiert mit dünnem Gerüstholz, rötlichen Blättern und unzähligen Bleistiftminen-dünnen Bodentrieben.

Die Sorte 'Liberty', als Spätsorte, entwickelt sehr dünnes filigranes Frucht-

holz. Die Umfärbung und Abreife sind deutlich verzögert, mit verminderter Fruchtgröße, geringen Erträgen und schlechten Qualitäten.

Erkennbar sind befallene Anlagen durch die frühzeitig im Jahr einsetzende Herbstverfärbung mit rasch vergilbenden Blättern, egal, welche der



Abb. 1: Gedrungener und gespreizter Wuchs in 'Duke', der nicht sortentypisch ist.

(Foto: Alfred-Peter Entrop)



Abb. 2: Kleine Früchte, unvollständiges Ablösen der Blütenblätter auf den Früchten mit zusätzlicher Infektion durch Botrytis

(Foto: Alfred-Peter Entrop)

*traud.winkelmann@zier.uni-hannover.de; marx@baum.uni-hannover.de; alfred-p.entrop@esteburg.de; felix.koschnick@lwk-niedersachsen.de; wulf.menzel@dsmz.de; uwe.druege@fh-erfurt.de; stefan.ehrentraut@fh-erfurt.de, karsten.klopp@lwk-niedersachsen.de

drei Sorten beschrieben wird. Alle Off-Type Pflanzen zeigen deutliche verringerte Erträge oder weisen nur sporadische Erträge auf.

Vorgenommene Neu- und Ersatzpflanzungen nach dem Roden der Off-Type-Pflanzen erwiesen sich oft oder zumindest in Teilen der Pflanzen auch als von der Off-Type-Problematik betroffen. Auch bei neuen Sorten können Off-Types auftreten. Deren veränderte Sorteneigenschaften müssen allerdings noch beobachtet und beschrieben werden. Neu auftretende Phänomene, wie z.B. die herabgesetzte Holzfrosthärte, sind bisher noch nicht eindeutig zuzuordnen.

Anbauer oder Versuchsansteller können derzeit nicht oder nur schwer absehen, welche Qualität das Pflanzmaterial hat, das die Heidelbeerbaumschulen liefern können. Die Baumschulen selbst hängen von ihren Zulieferern ab, was die Rückverfolgung und Ursachenforschung erschwert.

Für das Beerenobst fehlte bis vor Kurzem ein EU-weit einheitliches System zur Zertifizierung und dem stufenweisen Aufbau von Vermehrungsmaterial. Diese Lücke wurde 2014 durch die entsprechende Vermarktungsrichtlinie „Grundlagen der Zertifizierung“ geschlossen. Die nationale Umsetzung erfolgte in Deutschland am 21.11.2018 mit der Änderung der Anbaumaterialverordnung (AGOZV = Verordnung über das Inverkehrbringen von Anbaumaterial von Gemüse-, Obst- und Zierpflanzenarten). In der AGOZV wurden die folgenden EU-Richtlinien (RL) umgesetzt: RL 2008/90/EG zum Inverkehrbringen von Vermehrungsmaterial und Pflanzen von Obstarten zur Fruchterzeugung, RL 2014/98/EU zu Anforderungen an Gattungen und Arten, Anforderungen an Versorger, amtliche Prüfungen, RL 2014/97/EU zur Registrierung von Versorgern und Sortenverzeichnissen, RL 2014/96/EU, zuletzt geändert durch 2019/1813/EU, zu Anforderungen an Etikettierung, Plombierung und Verpackung (WILMER *et al.*, 2020).

Bisher wird nur das Jungpflanzenmaterial als Standardmaterial bzw. CAC-Material (Conformitas Agraria Communitatis) produziert und gehandelt. Die Mindestanforderungen beinhalten lediglich die Sortenecht-



Abb. 3: Unterschiedliches Ertragsverhalten aus gleichen Anlieferungen. Links Off-Type. Rechts guter Behang. (Foto: Alfred-Peter Entrop)

heit und das äußerliche Freisein von Krankheiten. Jedoch fragt bisher kein Anbauer nach Pflanzen, die nach der (AGOZV) produziert worden sind. Somit gibt es seitens der betroffenen Baumschulen und Vermehrer keine unmittelbare Notwendigkeit das Anzucht- und Verkaufsverhalten zu verändern. Es ist z.Zt. in Europa nur eine Baumschule in Frankreich bekannt, die nach der neuen Richtlinie „RL 2008/90/EG zum Inverkehrbringen von Vermehrungsmaterial und Pflanzen von Obstarten zur Fruchterzeugung“ produziert und entsprechend überprüft wird.

Auswirkungen für den Heidelbeeranbau

- Betroffene Anlagen/Anlagenteile sollten nach Absicherung unverzüglich gerodet und nachgepflanzt werden. Es entstehen so doppelte Pflanzen- und hohe Folgekosten (Rodung, Substrat, Mulch, ...) zusätzlich zu den schwer bewertbaren Ertragsausfällen.
- Das Ersetzen der Pflanzen durch sortenechtes Material ist z.Zt. nicht zweifelsfrei umsetzbar.
- Das Hauptargument für die Empfehlung zur raschen Rodung und dem Ersatz mit sortenechtem Material liegt darin, die ertragslose Zeit zu verringern. Zu bedenken ist, dass die Heidelbeere unter optimalen Bedingungen erst nach dem achten Standjahr mit dem Vollertrag beginnt.

- Vorhandene Lieferverträge können nicht eingehalten werden.
- Unzureichende Auslastung vorhandener Sortier- und Kühlanlagen, Maschinen und weiterer Infrastruktur. Es fehlen Einnahmen für investiertes Kapital und die Verzinsung.

Projektidee und beteiligte Partner

Ziel des Projektes ist es, die Voraussetzungen dafür zu schaffen, dass Off-Type-freies und nach AGOZV zertifiziertes Pflanzmaterial erhältlich ist.

Die Tatsache, dass die Heidelbeerbetriebe massive wirtschaftliche Schäden durch Off-Type-Jungpflanzen erleiden, begründete die Idee zu dem Projekt HeiNO, dessen wesentliches Ziel aus dem vollen Projekttitle hervorgeht: Sicherung von qualitativ hochwertigem, gesundem Heidelbeervermehrungsgut durch Identifizierung der Ursache der „Off-Types“. Die Projektpartner haben drei mögliche Ursachen postuliert, von denen zwei mit der In-vitro-Vermehrung zusammenhängen. Diese kann nämlich zu Akkumulationen von Phytohormonen und synthetischen Wachstumsregulatoren sowie zu epigenetischen Veränderungen führen. Epigenetische Veränderungen betreffen nicht die Abfolge der Basen des Erbmaterials, sondern dessen „Verpackung“ und führen dazu, dass bestimmte Gene aktiviert und andere stillgelegt werden.

Die dritte mögliche Ursache von Off-Types könnten Virusinfektionen sein. Daraus resultieren die folgenden vier Projektziele.

- Identifizierung der Ursachen für die Off-Types bei Heidelbeeren
- Entwicklung von Markern für eine frühzeitige Erkennung von Off-Types in Vermehrungsmaterial
- Entwicklung von Empfehlungen für eine gute Vermehrungspraxis für Heidelbeeren
- Etablierung von Protokollen für die Detektion der wirtschaftlich wichtigsten Viren in Heidelbeeren

Zur Bearbeitung dieser Zielstellung hat sich ein Konsortium aus Partnern in vier Einrichtungen gebildet. Der Impuls zur Antragsplanung ging von den Partnern am ESTEBURG Obstbauzentrum Jork aus (Dr. Karsten Klopp, Felix Koschnick, Alfred-Peter Entrop und Tilman Keller). Die Projektkoordination hat die Leibniz Universität Hannover (LUH; Prof. Dr. Traud Winkelmann, Annina Marxen) übernommen, die ihre Expertise in Fragen der In-vitro-Vermehrung und Analysen der Genexpression einbringt. Die Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (Leibniz Institut DSMZ; Dr. Wulf Menzel) wird die auftretenden Viren untersuchen, während zwei Arbeitsgruppen der Forschungsstelle für gartenbauliche Kulturpflanzen der Fachhochschule Erfurt (FHE; Dr. Uwe Drüge, Dr. Stefan Ehrentraut) die Analysen von Phytohormonen und epigenetischen Mustern vornehmen werden.

Viren als Verursacher von Off-Types?

Bei Wuchsveränderungen von Pflanzen stellt sich auch häufig die berechnigte Frage nach phytopathogenen Viren als Verursacher oder zumindest einer möglichen Beteiligung dieser an dem Phänomen. An Heidelbeeren ist in der Literatur rund ein Dutzend Viren beschrieben, die meist ursprünglich in Nordamerika gefunden wurden (MARTIN *et al.*, 2012). Die mit diesen Viren assoziierten Symptome sind dabei recht vielfältig und reichen von vollständig asymptomatischen, also latenten, Infektionen bis hin zum Absterben der Pflanze. Einzelne dieser Viren konnten bereits in Europa nachgewiesen werden, so zum Beispiel das durch Blatt-

läuse übertragene *Blueberry scorch virus* (BIScV, Gattung *Carlavirus*), welches ursprünglich in den 1970er Jahren in den USA auftrat und in Europa erstmals 2005 in Norditalien gefunden wurde (CIUFFO *et al.* 2005). Des Weiteren wurde die schon über 60 Jahre in den USA bekannte Mosaik-Krankheit der Heidelbeere, die durch das *Blueberry mosaic virus* (BIMaV, Gattung *Ophiovirus*) ausgelöst wird, erstmals 2015 in Europa in Slovenien nachgewiesen (THEKKE-VEETIL *et al.*, 2015). Dieses durch den pilzlichen Erreger der Gattung *Olpidium* übertragene Virus wurde kürzlich auch in Voruntersuchungen an verschiedenen Standorten in Deutschland (Abb. 4) nachgewiesen (MENZEL *et al.*, 2021). Auch wenn

aus Nordamerika bereits umfassendere Untersuchungen zur Verbreitung der Heidelbeervirosen vorliegen, ist die Datenlage dazu in Europa sehr begrenzt und für Deutschland praktisch nicht vorhanden. Die virologischen Arbeiten im Rahmen dieses Projektes sollen eine verlässliche Datenbasis schaffen und eine mögliche Beteiligung von Viren an der Problematik der Off-Types aufklären.

Unsachgemäße In-vitro-Vermehrung als Ursache der Off-Types?

In-vitro-Vermehrung und somaklonale Variation

Die In-vitro-Vermehrung erlaubt es, auf kleinem Raum unter weitgehend



Abb. 4: Heidelbeertrieb mit für das Blaubeer- Mosaikvirus (BIMaV) typischen Symptomen (Foto: Dr. Wulf Menzel)



Abb. 5: In-vitro-Sprosse der Sorte 'Liberty' zu Beginn und zum Ende einer Kulturpassage (Fotos: Annina Marxen)

kontrollierten Bedingungen eine große Anzahl von identischen Kopien einer Pflanze zu erzeugen. Sie wurde in den letzten Jahrzehnten auch für die kommerzielle Multiplikation von Heidelbeer-Elitesorten genutzt (DEBNATH & GHOSH, 2022). Die Sprossvermehrung aus Achselknospen (Abb. 5) ist einer der gängigsten Wege, da die Wahrscheinlichkeit einer (epi)genetischen Veränderung, die der sogenannten somaklonalen Variation zugrunde liegen kann, gering ist (DEBNATH & GHOSH, 2022 zitieren DEBNATH, 2018). Allerdings ist die Gefahr für Abweicher unter anderem abhängig von der Art und Konzentration der eingesetzten pflanzlichen Wachstumsregulatoren und der Dauer der In-vitro-Vermehrung. Neben der axillaren Sprossvermehrung können sehr effizient neue Sprosse aber auch durch De-novo-Regeneration von Adventivsprossen entstehen, entweder direkt oder indirekt aus Kallus (DEBNATH & GHOSH, 2022), für die ein deutlich erhöhtes Risiko für somaklonale Variation besteht. Somaklonale Variation ist seit 1981 ein Begriff, der Pflanzenvarianten beschreibt, die aus jeder Form von In-vitro-Kultur stammen (HEINZ & MEE, 1969 zitiert von KRISHNA *et al.*, 2016). Somaklonale Variation entsteht durch genetische und epigenetische Veränderungen, die vor allem durch Stress bei den Differenzierungsprozessen unter den künstlichen Bedingungen während der In-vitro-Kultur hervorgerufen werden (KAEPPLER *et al.*, 2000). Somaklonale Variation kann ein schwerwiegendes Problem in In-vitro-Vermehrungsprogrammen werden, bei denen es essentiell ist, typgerechtes Pflanzenmaterial zu erzeugen (KRISHNA *et al.*, 2016). Dies ist bei der Heidelbeer vermehrung der Fall.

Eine Vermutung ist, dass es sich bei den Off-Types um somaklonale Varianten handelt, die während der In-vitro-Vermehrung entstanden sind. Durch die anfängliche Unbekanntheit von Off-Types und die Schwierigkeit Off-Types am Mikrosteckling oder im jungen Pflanzenalter zu erkennen, wurden diese nicht aussortiert und gelangten in die Baumschulen und Heidelbeerplantagen.

Hormon(nach)wirkungen

In der kommerziellen In-vitro-Vermehrung werden Phytohormone

bzw. chemisch synthetisierte Wachstumsregulatoren eingesetzt. Dabei haben Cytokinine eine besondere Bedeutung für die Axillarsprossbildung, Kallusbildung und Adventivsprossregeneration. In Abhängigkeit des Vermehrungsverfahrens werden dabei Cytokinine in unterschiedlichen Konzentrationen und unterschiedlicher Qualität über unterschiedliche Zeiträume eingesetzt (DEBNATH, 2007; MEINERS *et al.* 2007, CAPPELETTI *et al.* 2016).

Die Steuerung der Pflanzenentwicklung unterliegt einem fein regulierten Gleichgewicht der Phytohormone untereinander, das mit der externen Zugabe von Phytohormonen in der In-vitro Kultur gestört wird und dem die Pflanze im Fall der Cytokinine durch deren Abbau oder Metabolisierung in physiologisch inaktive Formen, wie z.B. Konjugate mit Zuckern oder Aminosäuren, begegnet (CENTENO *et al.*, 2003, PLACKOVA *et al.* 2015). Bei Anwendung hoher Konzentrationen, langen Applikationszeiten oder Anwendung schwer abbaubarer Cytokinine besteht das Risiko, dass das hormonelle Gleichgewicht nachhaltig gestört wird. Durch die Akkumulation der zugeführten Cytokinine und deren Metabolite können auch endogene Cytokinine akkumulieren (AUER *et al.*, 1999, PLACKOVA *et al.*, 2015) und sich Gehalte und Wirkung anderer Phytohormone wie z.B. Auxine (MALA *et al.*, 2009) und Abscisinsäure (O'BRIEN & BENKOVA, 2013) verändern.

Bei anderen Pflanzenarten wurde die Akkumulation schwer abbaubarer Cytokininmetabolite bereits mit Problemen der Pflanzenentwicklung während der Ex-vitro-Phase in Verbindung gebracht (MALA *et al.*, 2009, WERBROUCK *et al.*, 1995). Somit können Störungen des Phytohormonhaushaltes Symptome auslösen, die für die Off-Type Pflanzen beschrieben sind. Der Metabolismus extern dosierter Phytohormone in der Kulturheidelbeere und dessen Beziehung zur Pflanzenentwicklung nach der In-vitro Kultur sind bisher nicht erforscht.

Epigenetische Veränderungen im Zusammenhang mit der In-vitro-Vermehrung

Pflanzen sind in der Lage, aus differenzierten Zellen, Geweben oder Organen neue Pflanzen zu regenerieren, wenn sie in vitro kultiviert werden. Hier werden differenzierte Zellen gezwungen, bereits festgelegte Entwicklungswege zu verlassen, und zwar durch Dedifferenzierung, gefolgt von der Neuausrichtung eines Entwicklungsprogramms zu einer neuen Tochterpflanze (MIGUEL & MARRUM, 2011). Da der Prozess die Differenzierung von Zellen reaktiviert, wird er normalerweise durch Pflanzenwachstumsregulatoren erleichtert. In *Arabidopsis*-Protoplasten wird der Erwerb der Regenerationsfähigkeit von einer Chromatin-Reorganisation in bestimmten Bereichen begleitet (AVIVI *et al.*, 2004), was die Beteiligung der Epigenetik an der Dedifferenzierung zeigt.

Epigenetische Änderungen während der In-vitro-Kultur und spätere Auswirkungen auf den Phänotyp sind z.B. von Ölpalmen bereits bekannt. So beschrieben ONG-ABDULLAH *et al.* (2015), dass in vitro vermehrte Ölpalmen veränderte epigenetische Muster am retroviralen Element (= Transposon) „karma“ zeigten, v.a. eine DNA-Hypermethylierung. Dies bezeichnet einen Verlust von Methylierung bestimmter Bereiche der DNA und geht mit der Aktivierung des „karma“ Transposons einher, was zu einem veränderten Genprodukt (Transkript) führt, das entscheidend für die Fruchtbildung ist (ONG-ABDULLAH *et al.*, 2015). Die Auswirkungen werden aber erst nach Jahren anhand fehlgebildeter Früchte und dramatisch reduzierter Erträge sichtbar.

Leider erschwert die hohe Variabilität der Daten in Bezug auf DNA-Methylierungsmuster die Vorhersage des späteren Auftretens von Auswirkungen wie z.B. somaklonale Variation (KRIZOVA *et al.*, 2009). Ein Einfluss der in der In-vitro-Kultur verwendeten Wachstumsregulatoren und der genutzten Vermehrungswege auf epigenetische Profile in Heidelbeeren ist bisher nicht erforscht.

Leider erschwert die hohe Variabilität der Daten in Bezug auf DNA-Methylierungsmuster die Vorhersage des späteren Auftretens von Auswirkungen wie z.B. somaklonale Variation (KRIZOVA *et al.*, 2009). Ein Einfluss der in der In-vitro-Kultur verwendeten Wachstumsregulatoren und der genutzten Vermehrungswege auf epigenetische Profile in Heidelbeeren ist bisher nicht erforscht.

Geplante Arbeiten

Die Partner im Projekt HeiNO werden ihre Arbeiten an zentralem, gemeinsam genutzten Probenmaterial durchführen, das aus zwei Teilen besteht. Den ersten Teil bilden sortenechte gesunde Pflanzen und Off-Type-Pflanzen

aus zwei am Projekt beteiligten Betrieben, einem natürlichen Standort und einem „nachgemachten“ Standort. Unter dem Begriff nachgemachter Standort sei folgendes verstanden: Die Bedingungen des natürlichen Standortes für Heidelbeeren, wie der niedrige Boden-pH-Wert, der hohe Humusgehalt, die Nährstoffarmut sowie die sehr gute Durchlüftung und Wasserführung, wie sie Hochmoorstandorte und moorige Geestböden bieten, werden an einem anderen ackerbaulich oder anders landwirtschaftlich genutzten Standort ohne diese natürlichen Voraussetzungen mit entsprechenden Boden- bzw. Substratzuschlagsstoffen nachempfunden. Die Pflanzen werden von diesen Betrieben entnommen und in Langförden auf der Versuchsstation Beerenobst Langförden der LWK Niedersachsen aufgepflanzt und erhalten. Sie stehen den Projektpartnern so für die Projektlaufzeit und notwendige Anschlussarbeiten als „Zentrales Probenmaterial I“ (ZMP I) zur Verfügung. Proben von diesen Pflanzen werden im Hinblick auf ihren Virusstatus, ihre Genexpressionsmuster, ihr Phytohormonprofil und ihre Epigenetik hin vergleichend untersucht.

Der zweite Teil des zentralen Probenmaterials wird im Rahmen des Projekts erzeugt: Um die In-vitro-Kultur als Ursache für die Off-Types zu untersuchen, werden neue Sprosskulturen der Sorten 'Duke' und 'Liberty' angelegt. Als Material für deren Etablierung dienen Pflanzen, welche vorher nur bzw. hauptsächlich über Stecklinge vermehrt wurden und somit sortenecht sind. Diese werden in einer schonenden In-vitro-Vermehrung nur über axillare Sprossvermehrung und unter möglichst sparsamen Einsatz von gut abbaubaren Wachstumsregulatoren aufgebaut und erhalten. Zusätzlich wird in zwei weiteren Ansätzen versucht, gezielt Off-Types zu induzieren. Dies soll zum einen über den Vermehrungsweg der Adventivsprossregeneration aus Kallus und zum anderen über die Verwendung von hohen Konzentrationen an Cytokinen, einer Gruppe von Pflanzenwachstumsregulatoren, die die Sprossbildung fördern, erfolgen. Dieses Material wird als „Zentrales Probenmaterial II“ (ZMP II) auf die Versuchsstation und die beiden ange-

schlossenen Praxisbetriebe überführt, aufgepflanzt und denselben Analysen zugeführt wie oben für den ersten Teil beschrieben. In einem Folgeprojekt sollen diese Pflanzen anhand der Parameter der Obstbaulichen Leistungsprüfung bis zum Vollertrag (ca. 8 Jahre) beurteilt und bewertet und weiter untersucht werden. Durch die drei Standorte können die in „HeiNO“ erarbeiteten Ergebnisse auf einem natürlichen und einem nachgemachten Standort und in modernen Anbausystemen auf der Versuchsstation Beerenobst Langförden durch die Projektpartner abgesichert und bestätigt werden.

Die virologischen Arbeiten beinhalten auch eine allgemeine Untersuchung von offensichtlich erkrankten Heidelbeerpflanzen, um erstmals umfassende Informationen über die in Deutschland auftretenden Virose zu erhalten. Dies soll auch ausgewilderte und heimische verwandte Arten der Kulturheidelbeere einschließen, um mögliche natürliche Virusreservoirs zu identifizieren.

In diesem Zusammenhang ist auch nach vorheriger Kontaktaufnahme mit Herrn Dr. Wulf Menzel (wulf.menzel@dsmz.de) die Einsendung von virusverdächtigen Proben erwünscht, um die Untersuchungen durch derartige Praxisproben auf eine möglichst breite Basis stellen zu können.

Die Einflüsse der In-vitro-Kulturführung auf die Expression von Genen, das Phytohormonprofil und epigenetische Marker werden statistisch geprüft und unter Einbeziehung der nachgewiesenen Viren werden Korrelationen der Parameter untereinander und zu der Off-Type Symptomatik ermittelt. Aus den ermittelten Daten sollen Kriterien abgeleitet werden, anhand derer man das mögliche spätere Auftreten von Off-Types bereits vor der Anpflanzung vorhersagen kann. Die Bestimmung dieser diagnostischen Marker soll mit in die Anbaumaterialverordnung (AGOZV) aufgenommen werden.

Wenn die Arbeiten im Projekt HeiNO Indizien für die Ursachen der Off-Types liefern, muss sich ein Folge-

projekt anschließen, in dem zum einen das erzeugte Pflanzenmaterial in eine obstbauliche Prüfung eingeht. Zudem sollen die ökonomischen Auswirkungen unterschiedlicher Strategien zur Vermeidung von Off-Types bei der Vermehrung und dem Anbau von Kulturheidelbeeren analysiert werden (Dr. Hella Kehlenbeck, JKI). Schließlich sollen Kosten und Nutzen von Strategien zur Vermeidung von Off-Types ermittelt und Richtlinien für die Beschreibung von Zertifizierungsklassen im Rahmen der AGOZV erstellt werden. Dies bedeutet auch, dass für die gefundenen relevanten Viren routinetechnische diagnostische Protokolle entwickelt und entsprechend eine verpflichtende Testung in der AGOZV verankert werden muss, um den Qualitätsstandard bezüglich Virusfreiheit im Anbaumaterial langfristig gewährleisten zu können.

Danksagung

Die Autoren danken der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung als Projektträger und dem Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft für die Förderung und den zwei aktiv beteiligten Praxisbetrieben für die Bereitstellung von Pflanzenmaterial und Pflege und Betreuung der aufgepflanzten Versuchspartzen (ZMP II).

Literatur

- AUER, C.A., MOTYKA, V., BREZINOVA, A. & KAMINEK, M. (1999). Endogenous cytokinin accumulation and cytokinin oxidase activity during shoot organogenesis of *Petunia hybrida*. *Physiologia Plantarum* **105**: 141-147.
- AVIVI, Y., MORAD, V., BEN-MEIR, H., ZHAO, J., KASHKUSH, K. & TZFIRA, T. (2004). Reorganization of specific chromosomal domains and activation of silent genes in plant cells acquiring pluripotentiality. In: *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*: **230**: 12-22. DOI: 10.1002/dvdy.20006.
- CAPPELLETTI, R., SABADINI, S. & MEZZETTI, B. (2016). The use of TDZ for the efficient in vitro regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae* **207**: 117-124.

- CENTENO, M.L., RODRIGUEZ, A., FEITOC, I., SANCHEZ-TAMES, R. & FERNANDEZ, B. (2003). Uptake and metabolism of N6-benzyladenine and 1-naphthaleneacetic acid and dynamics of indole-3-acetic acid and cytokinins in two callus lines of *Actinidia deliciosa* differing in growth and shoot organogenesis. *Physiologia Plantarum* **118**: 579-588.
- CIUFFO, M., PETTITI, D., GALLO, S., MASENGA, V. & TURINA, M. (2005). First report of Blueberry scorch virus in Europe. *Plant Pathology* **54**: 565-565.
- DEBNATH, S.C. (2007). Propagation of *Vaccinium* in vitro. *International Journal of Fruit Science* **6**: 47-71.
- DEBNATH, S.C. (2018). Thidiazuron in Micropropagation of Small Fruits. In: Ahmad N und Faisal M (Hg.): *Thidiazuron: From Urea Derivative to Plant Growth Regulator*. Singapore: Springer Singapore, 139-158.
- DEBNATH, S.C. & GHOSH, A. (2022). Phenotypic variation and epigenetic insight into tissue culture berry crops. *Frontiers in Plant Science* **13**: 1042726. DOI: 10.3389/fpls.2022.1042726.
- ENTROP, A.P. & KOSCHNICK, F. (2019). Off-Type in Heidelbeeren. Probleme, Lösungsansätze, Versuchsarbeiten. *Mitteilungen des Obstbauversuchsrings des Alten Landes* **74**: 346-353.
- HEINZ, D.J. & MEE, G.W.P. (1969). Plant Differentiation from Callus Tissue of *Saccharum* Species 1. *Crop Science* **9**: 346-348. DOI: 10.2135/cropsci1969.0011183X000900030030x.
- KAEPLER, S.M., KAEPLER, H.F. & RHEE, Y. (2000). Epigenetic aspects of somaclonal variation in plants. *Plant Molecular Biology* **43**: 179-188. DOI: 10.1023/a:1006423110134.
- KRISHNA, H., ALIZADEH, M., SINGH, D., SINGH, U., CHAUHAN, N., EFTEKHARI, M. & SADH, R.K. (2016). Somaclonal variations and their applications in horticultural crops improvement. *3 Biotech* **6**: 54. DOI: 10.1007/s13205-016-0389-7.
- KRIZOVA, K., FOJTOVA, M., DEPICKER, A. & KOVARIK, A. (2009). Cell culture-induced gradual and frequent epigenetic reprogramming of invertedly repeated tobacco transgene epialleles. *Plant Physiology* **149**: 1493-1504. DOI: 10.1104/pp.108.133165.
- MALA, J., MACHOVA, P., CVRCKOVA, H., KARADY, M., NOVAK, O., MIKULIK, J., HAUSEROVA, E., GREPLOVA, J., STRNAD, M. & DOLEZAL, K. (2009). Micropropagation of Wild Service Tree (*Sorbus torminalis* L. Crantz): The Regulative Role of Different Aromatic Cytokinins During Organogenesis. *J. Plant Growth Regulation* **28**: 341-348.
- MARTIN, R.R., POLASHOCK, J.J., TZANETAKIS, I.E. (2012). New and Emerging Viruses of Blueberry and Cranberry. *Viruses* **4**: 2831-2852.
- MEINERS, J., SCHWAB, M. & SZANKOWSKI, I. (2007). Efficient in vitro regeneration systems for *Vaccinium* species. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **89**: 169-176.
- MENZEL, W., KNIERIM, D., MARGARIA, P., WINTER, S., ENTROP, A.P., STREMER, P. & HEUPEL, M. (2021). First report of Blueberry mosaic associated virus associated with mosaic symptoms of blueberry in Germany. *New Disease Reports* **44**: e12051.
- MIGUEL, C. & MARUM, L. (2011). An epigenetic view of plant cells cultured in vitro: somaclonal variation and beyond. *Journal of Experimental Botany* **62**: 3713-3725. DOI: 10.1093/jxb/err155.
- O'BRIAN, J.A. & BENKOVA, E. (2013). Cytokinin cross-talking during biotic and biotic stress responses. *Frontiers in Plant Science* **4**: 451. doi: 10.3389/fpls.2013.00451.
- ONG-ABDULLAH, M., ORDWAY, J. M., JIANG, N., OOI, S.E., KOK, S.Y. & SARPAN, N. (2015). Loss of Karma transposon methylation underlies the mantled somaclonal variant of oil palm. *Nature* **525**: 533-537. DOI: 10.1038/nature15365.
- PLACKOVA, L., HRDLICKA, J., SMYKALOVA, I., CVECKOVA, M., NOVAK, O., GRIGA, M. & DOLEZAL, K. (2015). Cytokinin profiling of long-term in vitro pea (*Pisum sativum* L.) shoot cultures. *Plant Growth Regulation* **77**: 125-132.
- THEKKE-VEETIL, T., POLACHOCK, J.J., MARN, M.V., PLESKO, I.M., SCHILDER, A.C., KELLER, K.E., MARTIN, R.R. & TZANETAKIS, I.E. (2015). Population structure of blueberry mosaic associated virus: Evidence of reassortment in geographically distinct isolates. *Virus Res.* **201**: 79-84.
- WERBROUCK, S.P.O., VANDERJEUGT, B., DEWITTE, W., PRINSEN, E., VANONCKELEN, H.A. & DEBERGH, P.C. (1995). The metabolism of benzyladenine in *Spathiphyllum floribundum* Schott-Petite in relation to acclimatization problems. *Plant Cell Reports* **14**: 662-665.
- WILLMER, C., MONIEN, S. & NITSCH, S. (2020). Zertifizierung: Jungpflanzenqualität jetzt auch im Beerenobst klar geregelt. *Mitteilungen des Obstbauversuchsrings des Alten Landes* **75**: 400-404. 



Gefördert durch



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft



Bundesanstalt für
Landwirtschaft und Ernährung

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages