



Abschlussbericht

Mikroklee in der Baumschulwirtschaft zur Reduktion respektive Vermeidung von Herbiziden und Stickstoffdüngung

im Rahmen der Europäischen Innovationspartnerschaft (EIP)



Dipl. Biol. Elke Haase, piccoplant Mikrovermehrungen GmbH

29.04.2025

Abschlussbericht Projekt:

„Mikroklee in der Baumschulwirtschaft zur Reduktion respektive Vermeidung von Herbiziden und Stickstoffdüngung“

1. Kurzdarstellung	1
1.1 Ausgangssituation und Bedarf.....	1
1.2 Projektziel und konkrete Aufgabenstellung.....	1
1.3 Mitglieder OG.....	3
1.4 Projektgebiet.....	7
1.5 Projektlaufzeit und Dauer.....	7
1.6 Budget (Gesamtvolumen und Fördervolumen)	7
1.7 Ablauf des Verfahrens.....	7
1.8 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	8
2. Eingehende Darstellung	10
2.1 Verwendung der Zuwendung.....	10
2.1.1 Gegenüberstellung der geplanten und der tatsächlich durchgeführten und abgeschlossenen Teilschritte.....	10
2.1.2 Darstellung der wichtigsten finanziellen Positionen.....	11
2.2 Detaillierte Erläuterung der Situation zu Projektbeginn.....	12
2.2.1 Ausgangssituation.....	12
2.2.2 Projektaufgabenstellung.....	16
2.3 Ergebnisse der OG in Bezug auf.....	18
2.3.1 Gestaltung der Zusammenarbeit im Einzelnen.....	18
2.3.2 Besonderer Mehrwert bei der Durchführung des Projektes als OG.....	18
2.3.3 Weitere Zusammenarbeit der Mitglieder der OG nach Abschluss des geförderten Projektes.....	18

2.4	Ergebnisse des Innovationsberichtes.....	19
2.4.1	Zielerreichung.....	19
2.4.2	Abweichungen zwischen Planung und Ergebnis.....	19
2.4.3	Projektverlauf.....	20-42
2.4.4	Beitrag des Ergebnisses zu förderpolitischen EIP-Themen.....	42
2.4.5	Nebenergebnisse.....	43
2.4.6	Arbeiten die zu keinem Ergebnis geführt haben.....	43
2.4.7	Mögliche weitere Verwendung von Investitionsgütern.....	43
2.5	Nutzen der Ergebnisse für die Praxis.....	43
2.6	Geplante Verwertung und Nutzung der Ergebnisse.....	43
2.7	Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit.....	44
2.8	Kommunikations- und Disseminationskonzept.....	44

1. Kurzdarstellung

1.1 Ausgangssituation und Bedarf

Ein Großteil der Ammerländer Baumschulproduktion findet auf geschlossenen Containerflächen statt. Kultursubstrate in Baumschulen setzen sich in erster Linie aus Weiß- und Schwarztorf zusammen, mit zunehmender Tendenz zum Einsatz von Torfersatzstoffen. Ziel ist es, Torf als Kultursubstrat gänzlich zu ersetzen. Die meisten Torfersatzstoffe sind durch bakterielle Umsetzung stark stickstoffzehrend. Für optimales Pflanzenwachstum muss daher vermehrt mit Stickstoff nachgedüngt werden. Gleichzeitig werden zur Bekämpfung von Wildkräutern vermehrt Herbizide eingesetzt, deren Verwendung zum einen mit hohen Auflagen verbunden ist, zum anderen auf zunehmende Akzeptanzprobleme in der Öffentlichkeit stößt. Eine mechanische Alternative besteht im Abstreuen der Baumschulcontainer mit Rindenmulch oder vergleichbaren Substanzen. Dies führt jedoch wiederum zu einer vermehrten Stickstoffzehrung durch bakterielle Umsetzung und hilft auch nicht gänzlich gegen Befall durch Wildkräuter.

Die Aussaat von Mikroklee (*Trifolium*) als Bodendecker in Baumschulcontainern stellt eine ökologische Alternative dar. Durch die Symbiose mit Stickstofffixierenden Bakterien kann Stickstoff aus der Luft im Boden fixiert werden, das Mikroklima und die Wasserführung im Boden verbessert, sowie Wildkräuter unterdrückt werden.

1.2 Projektziel und konkrete Aufgabenstellung

Mit der Verwendung von Mikroklee in Baumschulcontainern, soll die Stickstoffdüngung minimiert und der Einsatz von Herbiziden gänzlich vermieden werden. Durch die Symbiose zwischen speziellen Knöllchenbakterien (*Rhizobium leguminosarum biovar trifolii*) und dem Mikroklee (*Trifolium repens*), soll Stickstoff aus der Luft im Boden fixiert und der Containerpflanze als Ergänzungsdüngung zur Verfügung gestellt werden. Neben der Stickstoffversorgung der Containerpflanzen wird außerdem der Einfluss des Mikroklees auf die Wasserversorgung der Containerpflanzen untersucht. Saatgut und Rhizobien sollen durch Verkapselung sowohl geschützt, als auch die Keim- und Lagerfähigkeit verbessert werden.

Verschiedene Bedeckungs-Varianten sollen im Projekt miteinander verglichen werden (**Arbeitspaket 1**). Hierbei geht es um den Vergleich von Containerpflanzen (Flieder, Rhododendron, Obstgehölze) ohne Bodendeckung, mit üblicher Mulch-Bedeckung und einer Bedeckung mit Klee. Neben Weißklee werden auch verschiedene Mikrokleesorten wie Pipolina oder Euromics miteinander verglichen.

Von besonderer Bedeutung ist die Ansiedlung von Rhizobien an das Wurzelsystem des Mikroklees, um eine Stickstofffixierung aus der Luft zu gewährleisten. Darauf aufbauend soll die Stickstoff- und Phosphatversorgung der Containerpflanzen untersucht werden (**Arbeitspaket 2**). Auch der Nährstoffgehalt des Bodens soll abschließend untersucht werden.

Ein weiterer Aufgabenbereich ist die Untersuchung der Wasserversorgung der Containerpflanzen (**Arbeitspaket 3**). Durch kontinuierliche Messungen der Bodenfeuchtigkeit im Baumschulcontainer soll vor allem die Fähigkeit von Mikroklee untersucht werden, Wasser im Boden zu halten. Hierbei werden auch die verschiedenen Bedeckungsvarianten miteinander verglichen. Eine verbesserte Wasserhaltefähigkeit im Substrat bietet einen zusätzlichen Schutz vor Hitze und verringert möglicherweise den allgemeinen Wasserverbrauch in Baumschulen. Neben Messungen der Bodenfeuchtigkeit, werden auch Messungen der Temperaturen im Container durchgeführt.

Für den Aufbau einer genügend großen Rhizobien-Population in der Rhizosphäre, müssen die Bakterien physikalisch geschützt und über einen mittleren Zeitraum (6 - 12 Monate), mit Nährstoffen versorgt werden. Hierfür sollen die Rhizobien mit geeigneten Formulierungsmethoden, zusammen mit dem Mikroklee-Saatgut, verkapselt werden (**Arbeitspaket 4**).

Abschließend muss ein Vermarktungskonzept entwickelt werden, um die Akzeptanz von Mikroklee als Untersaat in Baumschulcontainern zu fördern (**Arbeitspaket 5**).

1.3 Mitglieder der OG

1) Piccoplant Mikrovermehrungen GmbH



Piccoplant Mikrovermehrungen GmbH ist ein Biotechnologie-Unternehmen, das vor 30 Jahren als Spin-Off aus der Universität Oldenburg durch die Diplom-Biologin Elke Haase gegründet wurde.

Heute ist das Unternehmen in der in vitro-Massenvermehrung von ornamentalen Ziergehölzen, Biomassepflanzen, pharmazeutischen Pflanzen, sowie ausgesuchten Nussgehölzen tätig.

Im Laufe der Jahre wurde das Labor mit den Unterglasflächen für die Jungpflanzenkultur um eine Baumschule erweitert, so dass die Firma heute ein Gesamtareal von 15 Hektar brutto bewirtschaftet.

1.) Ökologische Aspekte haben in der Firmenphilosophie immer eine große Rolle gespielt. So wurde die Firma mit naturnahen Wällen umgeben, das Wasser wird recycelt und durch Schwimmwasserpflanzen gereinigt. Seit 30 Jahren realisiert Piccoplant Mikrovermehrungen den Ausgleich von Ökonomie und Ökologie – also „Bioökologie“

2.) Die Kunden bestehen einerseits aus Baumschulen, die die Weiterkultur der produzierten Pflanzen übernehmen, andererseits aus Exklusivvermehrung für Züchter, aber auch für die Belieferung von Baumärkten und größere Ketten. Circa 50 Prozent der Pflanzen gehen in den Export.

3.) Piccoplant hat 42 Mitarbeiter und ist anerkannter Integrationsbetrieb mit 12 schwerbehinderten Mitarbeitern, einem Frauenanteil von 62% und 7 Personen mit Migrationshintergrund. Auch in der Forschung und Entwicklung sind wir tätig – zum Beispiel in der ökologischen und ertragsoptimierten Anzucht von Heidelbeeren. Im Bereich der pharmazeutischen Biotechnologie hat Piccoplant die Erlaubnis der BfArm mit CBD-Cannabis in Forschung und Entwicklung zu arbeiten.

4.) Seit 14 Jahren besteht außerdem ein eCommerce-Shop mit angegliederter Ausbildung, um das hochwertige Fliedersortiment und seine genetische Vielfalt (heute über 600 Sorten) einem breiten Publikum näher zu bringen.

2.) Biotech Consulting Nord - Prof. Dr. Uwe Englisch

Prof. Dr. Englisch ist Biochemiker und war bis vor kurzem Direktor des „Centrum für Industrielle Biotechnologie (CIB)“ von Universität und Technischer Hochschule Lübeck. Er ist Professor für Biotechnologie (Naturstoffchemie). Er hat in diesem Bereich eine große Anzahl von Veröffentlichungen und Drittmittel-Projekten mit der chemischen, pharmazeutischen und Lebensmittel-Industrie aufzuweisen.

Herr Prof. Dr. Englisch wird das beantragte Projekt mit seiner Expertise in der Chemie und industriellen Anwendung von Polysacchariden einbringen. Hier steht die Verkapselung von Wirkstoffen und Bakterien mit Hydrogelen im Mittelpunkt. Diese umfasst sowohl die chemisch-analytische Charakterisierung der Polymere als auch die Verkapselungsstrategie mit den Bakterien. Als Hydrogele sollen zunächst kommerzielle Polysaccharide wie Alginat und Chitosan untersucht werden.

Zudem müssen verschiedene Konzentrationen an Nährstoffen, Wasser und Schutzstoffen in den Kapseln eingestellt werden, um die stabile Lebensfähigkeit der verkapselten Rhizobien über mehr als 6 Monate zu gewährleisten.

Nach Verkapselung der Bakterien ist für die Formulierung die Eignung gängiger Trocknungsverfahren (Gefriertrocknung, Vakuumtrocknung, Sprühtrocknung, Wirbelschichttrocknung) zur Lagerung und Ausbringung zu untersuchen. Ein wichtiger praktischer Aspekt bei der Nutzung dieser Verfahren ist die Reduktion des auftretenden Trockenstresses der Bakterien durch spezifische Schutzstoffe.

Ziel ist es schließlich, eine stabile Formulierung zu finden, die neben den stabil verkapselten Rhizobien auch Saatgut von Mikroklee enthält, sodass ein entsprechendes Granulat zur Applikation kommen kann.

3.) Carl von Ossietzky-Universität Oldenburg - Institut für Biologie und Umweltwissenschaften (IBU) – Arbeitsgruppe Biodiversität und Evolution der Pflanzen - Prof. Dr. Dirk Albach



Die Arbeitsgruppe Biodiversität und Evolution der Pflanzen und der Botanische Garten (Leitung Prof. Dr. Dirk Albach) am Institut für Biologie und Umweltwissenschaften (IBU) der Carl von Ossietzky-Universität in Oldenburg beschäftigen sich mit der Bedeutung innerartlicher Vielfalt auf die Evolution und die Überlebensfähigkeit von Pflanzenarten. Diese Fragen werden mit Hilfe von Untersuchungen des Phänotyps aber vor allem auch DNA-basierte Analysen des Genoms und des Transkriptoms sowie endophytischer Mikroorganismen, d.h. Pilze und Bakterien, die innerhalb der Pflanzen, analysiert. Dabei treten immer wieder angewandte Aspekte der Pflanzenzüchtung auf, z.B. die Bedeutung der genetischen Diversität für den Ertrag in der Landwirtschaft. Die Arbeitsgruppe ist in mehreren nationalen und internationalen Forschungsvorhaben in diesem Bereich aktiv. So waren die Mitarbeiter unter anderem an Projekten zur Evolution antibiotischer Inhaltsstoffe von Rhododendron oder zur Züchtung schädlingsresistenter Apfelsorten beteiligt. Der Botanische Garten verfügt neben 3,7 ha Schauflächen über 1,5 ha Versuchsflächen sowie in der Arbeitsgruppe über moderne Labore mit allen notwendigen Geräten für das Projekt. Die Arbeitsgruppe beschäftigt sich momentan in dem von der EU (Interreg V A-Programm) geförderten Projekt BEESPOKE mit dem Einsatz von Klee-Arten und Sortenvielfalt in der Landwirtschaft. Ziel des Projektes ist es den Ertrag im Grünland zu erhalten, das Grünland trockenheits-resistenter zu machen und das Blüten-Angebot für die Insektenvielfalt zu erhöhen. Die Expertise soll in diesem Projekt auf den Gartenbau übertragen und erweitert werden.

4.) Baumschulberatungsring Weser-Ems e.V.



Seit der Gründung am 18.12.1956 steht der Baumschulberatungsring Weser-Ems e.V. seinen Mitgliedern beratend zur Seite. Nach den anfänglich 23 Mitgliedsbetrieben sind heute über 200 Betriebe als Vollmitglied im Verein vertreten. Etwa weitere 100 Betriebe nutzen die Möglichkeit einer korrespondierenden bzw. überregionalen Mitgliedschaft mit eingeschränkten Leistungen.

Die Leistung für seine Mitglieder umfasst:

- Düngungsberatung (Auswertung von Boden- und Substratanalysen)
- Pflanzenschutzberatung (aktuelle Informationen zu notwendigen Maßnahmen, Zulassungssituation von Pflanzenschutzmaßnahmen, Beantragung einzelbetrieblicher Ausnahmen (nach §22/2 PflSchG durch Sammelanträge)).
- Beratung zu Gartenbautechnik, Beregnung, EDV-Anwendungen, Hilfestellung bei der Planung von Betriebserweiterungen, Umstellung, Neuanlage, Versuchskonzepte.
- Vertretung von Interessen des Berufstandes gegenüber Behörden und Öffentlichkeit, Durchführung von Fortbildungsveranstaltungen, Studienreisen, Untersuchungen bei der LUFA.
- Deutschlandweite und internationale Vernetzung, um Informationen und Projektergebnisse auch über regionale Grenzen hinaus publik machen zu können (z.B. Durchführung von Studienreisen ins In- und Ausland).

1.8 Zusammenfassung der Ergebnisse

Mikroklee in Baumschulcontainern kann zu einem ressourcenschonendem Nährstoff- und Pflanzenschutzmanagement beitragen. Der erhöhte Stickstoffanteil in den Blättern der Pflanzen mit Mikroklee als Begleiter zeigt die positive Wirkung der biologischen Stickstofffixierung durch Rhizobien. Da Rindenmulch durch bakterielle Umsetzung stark Stickstoffzehrend ist, könnte der alternative Einsatz von Mikroklee dazu beitragen die Stickstoffdüngung zu verringern. Im Vergleich zu Containern ohne Abdeckung, kann der Klee auch dazu beitragen, den Befall durch Wildkräuter zu reduzieren, wodurch der Einsatz von Herbiziden vermieden werden kann. Durch Verunreinigung des Saatguts traten allerdings noch einzelne Wildkräuter neben dem Mikroklee auf. Der Einfluss des Mikroklees auf die Wasserversorgung im Container lässt sich durch die vorhandenen Messungen und dem starken Dauerregen im Versuchszeitraum, schwer beurteilen. Die Bodenfeuchtigkeit war hier in Containern mit Rindenmulch tendenziell höher, als in Containern mit Mikroklee. Die Ansiedlung von Rhizobien an den Kleewurzeln war bei Versuchen zur Verkapselung problematisch. Die hergestellten Granulate wiesen keine ausreichende Lagerstabilität auf und die Lebensfähigkeit der Rhizobien konnte nicht signifikant erhöht werden. Weitere Versuche sind notwendig.

Summary of results

Microclover in nursery containers can contribute to resource-conserving nutrient and plant protection management. The increased nitrogen content in the leaves of plants with microclover as a companion shows the positive effect of biological nitrogen fixation by rhizobia. As bark mulch has a high nitrogen consumption due to bacterial conversion, the alternative use of microclover could help to reduce nitrogen fertilisation. Compared to containers without a cover, the clover can also help to reduce weed infestation, which means that the use of herbicides can be avoided. However, due to the contamination of the seed, individual wild weeds appeared alongside the microclover. The influence of the microclover on the water balance in the container is difficult to assess based on the available measurements and the heavy continuous rainfall during the trial period. The soil moisture in the containers with bark mulch tended to be higher than in the containers with microclover. The colonisation of the clover roots with rhizobia was problematic in the encapsulation trials. The granules produced did not exhibit sufficient storage stability and the viability of the rhizobia could not be significantly increased. Further trials are necessary.

2. Eingehende Darstellung

2.1 Verwendung der Zuwendung

2.1.1 Gegenüberstellung der in der Planung und der tatsächlich durchgeführten und abgeschlossenen Teilschritte

Alle Arbeiten im Projekt wurden wie geplant durchgeführt und abgeschlossen. Die Gegenüberstellung der geplanten und durchgeführten Arbeitspakete ist in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Tabellarische Gegenüberstellung der geplanten und der durchgeführten Arbeiten

Nr.	Arbeitspaket	OG-Mitglied	Umsetzung ja/nein
1	Bedeckungs-Varianten	PP, UO, BBR	ja
2	Stickstoff- und Phosphat-Versorgung	PP, UO, BTN, BBR	ja
3	Wasserversorgung	PP, UO	ja
4	Verkapselung von Rhizobien mit geeigneten Formulierungsmethoden	PP, BTN	ja
5	Vermarktungskonzept	PP, BBR	ja

PP = piccoplant

UO = Universität Oldenburg

BTN = Biotech Consulting Nord

BBR = Baumschulberatungsring

2.1.2 Darstellung der wichtigsten finanziellen Positionen

Die Auflistung der einzelnen Ausgaben und der zahlenmäßige Nachweis der Kosten des Projekts erfolgte mittels verbindlicher Beleglisten. Die finanziellen Positionen zur Umsetzung des Projektes sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Aufstellung der finanziellen Positionen /Ausgaben der Zusammenarbeit

Ausgaben der Zusammenarbeit (1 – 6. Mittelabruf)	Eur
Personalausgaben	91.127,60 €
Verwaltungspauschale	13.255,97 €
Summe	<u>104.383,57 €</u>
Ausgaben piccoplant Mikrovermehrungen GmbH	
Personalausgaben	<u>153.740,64 €</u>
Ausgaben Carl von Ossietzky-Universität Oldenburg	
Personalausgaben	<u>86.976,82 €</u>
Ausgaben Biotechnology Consult Nord	
Personalausgaben	75.467,16 €
Reisekosten	3.136,32 €
Summe	<u>78.603,48 €</u>
Ausgaben Baumschulberatungsring	
Personalausgaben	2.160 €
Reisekosten	81 €
Summe	<u>2.241 €</u>
Gesamt	425.945,51 €

2.2 Detaillierte Erläuterung der Situation zu Projektbeginn

2.2.1 Ausgangssituation

Ein Großteil der Ammerländer Baumschulproduktionen (ca. 40 km²) findet auf geschlossenen Containerflächen statt. Die Kultursubstrate setzen sich in erster Linie aus Weißtorf und Schwarztorf zusammen, allerdings wird zunehmend auch mit Torfersatzstoffen gearbeitet – Ziel ist, den Torf gänzlich zu ersetzen.

Fast alle Torfersatzstoffe sind durch bakterielle Umsetzung stark stickstoffzehrend. Um ein gutes Pflanzenwachstum zu erreichen, muss vermehrt mit Stickstoff nachgedüngt werden. Entweder durch Slow-Release-Dünger, welche unter Umständen eine Kunststoffhülle besitzen oder durch Direktapplikation, welche eine starke Auswaschung zur Folge hat.

Gleichzeitig müssen vermehrt Herbizide eingesetzt werden, um aggressiven und teils invasiven Wildkräutern zu begegnen. Wildkräuter wie zum Beispiel:

- Weidenröschen (*Epilobium*)
- Lebermoos
- Kreuzkraut (*Senecio*)
- Springkraut (*Cardamine*)
- Horn-Sauerklee (*Oxalis*)
- Weide (*Salix*)
- Pappel (*Populus*)
- Löwenzahn (*Taraxacum*)

Die meisten Herbizide, die eingesetzt werden, sind dabei umweltschädlich und stehen immer weniger zur Verfügung:

- Mogeton (mittlerweile verboten)
- Roundup (Glyphosat)
- Finalsan (Pelargonsäure)
- Flexidor (Isoxaben)

- Fusilade (Fluazitop)
- Lontrel (Clopyralid)
- Select (Clethodim)
- Stomp (Pendimethalin)
- Vorox (Flumioxazin)

Der Einsatz von Herbiziden ist mit hohen Auflagen verbunden und stößt auf wachsende Akzeptanzprobleme in der Öffentlichkeit.

Die mechanische Alternative besteht im Abstreuen mit Rindenmulch oder ähnlichen Substanzen, was wiederum zu einer vermehrten Stickstoffzehrung durch bakterielle Umsetzung führt und auch nicht vollständig gegen Wildkräuter wirkt.

Eine ökologische Alternative bestünde in der Aussaat von Mikroklee, der nicht nur Stickstoff aus der Luft im Boden fixieren kann, sondern auch, sobald er dicht angewachsen ist, zur Verbesserung des Mikroklimas führt, die Wasserführung verbessert und die wichtigsten Wildkräuter unterdrückt.

Eine mögliche Alternative zur Nutzung anorganischer Ammonium-Dünger ist der gezielte Einsatz von organischen Stickstoff-Systemen, wie sie insbesondere die Bodenmikroorganismen darstellen. Mikroorganismen werden schon heute als nachhaltiger Ersatz in Modellprojekten der Landwirtschaft untersucht.

Ein klassisches Beispiel ist die Stickstoff-Fixierung von Rhizobien in Gemeinschaft mit Leguminosen (z. B. Mikroklee). Diese Symbiose kann den Einsatz von anorganischen Ammonium-Düngern signifikant verringern oder gar vermeiden, wenn eine ausreichende Anzahl an Bakterien die Wurzeln der Leguminosen besiedelt.

In der Praxis wird aber oft eine erfolgreiche Beimpfung der Pflanzen mit Bakterien dadurch verhindert, dass z. B. Rhizobien sehr empfindlich gegenüber schädlichen Umwelteinflüssen sind, es zu einer Verdrängung durch andere, besser angepasste Bakterien oder zu einer Auswaschung der Rhizobien kommt. Schließlich weisen bisherige Granulate in der Anwendung nur eine geringe Lagerstabilität auf.

Um diesen negativen Aspekten entgegenzuwirken, ist die Entwicklung schützender Formulierungen für die Rhizobien von Vorteil. Dies umfasst sowohl die Bereitstellung

spezifischer Bakterien, als auch deren anschließende Verkapselung in einer Matrix aus Biopolymeren (z.B. Alginate oder andere Polysaccharide). Dieses System muss zudem eine ausreichende Wasserspeicherung und Nährstoffversorgung während der Lagerung gewährleisten. Schließlich soll das Rhizobien-Verkapselungssystem noch sehr feines Saatgut von Mikroklee (1000 Korngewicht = 0,5 g) aufnehmen, um ein für die Ausbringung optimales Granulatsystem zu erhalten.

Der Einsatz von Grünuntersaaten bei Topfpflanzen – Fokus auf Klee zur Stickstoffbindung

Die Integration von Grünuntersaaten in die Topfpflanzenproduktion gewinnt zunehmend an Bedeutung – sowohl im Zierpflanzenbau als auch bei der Kultur von Gehölzen und Stauden. Dabei handelt es sich um die gezielte Ansaat von niedrig wachsenden Pflanzenarten auf der Substratoberfläche von Containern oder Töpfen. Diese Maßnahme verfolgt mehrere ökologische und ökonomische Ziele: die Unterdrückung von Unkraut, die Reduktion der Substrataustrocknung, die Förderung der Bodenstruktur und -biologie sowie – bei entsprechender Pflanzenwahl – die Verbesserung der Stickstoffversorgung durch biologische Fixierung. Besonders im Fokus steht dabei die Verwendung von Kleearten, die sich durch ihre Fähigkeit zur Symbiose mit stickstofffixierenden Rhizobienbakterien auszeichnen.

Vorteile von Grünuntersaaten

Grünuntersaaten bieten eine Reihe an Vorteilen für die Kulturführung. Durch die geschlossene Pflanzendecke wird das Auflaufen von Unkräutern deutlich erschwert, was den Einsatz von Herbiziden oder mechanischen Maßnahmen reduziert. Gleichzeitig verringert die Begrünung die direkte Sonneneinstrahlung auf das Substrat, was die Verdunstung mindert und den Wasserbedarf der Topfpflanze senken kann – ein Vorteil insbesondere in heißen und trockenen Phasen. Zusätzlich schützt die Untersaat das Substrat vor Verschlammung und Erosion bei starkem Regen oder beim Gießen.

Ein weiterer bedeutender Aspekt ist der ökologische Mehrwert: Die Begrünung kann Mikroorganismen, Insekten und anderen Nützlingen Lebensraum und Nahrung bieten, was sich positiv auf das System Containerkultur auswirken kann. Besonders bei

langfristig kultivierten Gehölzen oder Stauden kann sich die Untersaat stabil etablieren und das Mikroklima in der Topfumgebung nachhaltig verbessern.

Klee als optimale Untersaat

Unter den möglichen Arten für die Grünuntersaat hat sich Klee (Gattung *Trifolium*), insbesondere Weißklee (*Trifolium repens*), als besonders vorteilhaft erwiesen. Weißklee ist niedrig wachsend, trittverträglich, schnittverträglich und besitzt eine hohe Anpassungsfähigkeit an verschiedene Klimabedingungen. Der entscheidende Vorteil gegenüber anderen Untersaatpflanzen ist jedoch seine Fähigkeit zur biologischen Stickstofffixierung.

In Symbiose mit Knöllchenbakterien aus der Gattung *Rhizobium* ist Klee in der Lage, molekularen Stickstoff aus der Luft zu binden und pflanzenverfügbar umzuwandeln. Dieser Stickstoff kann entweder direkt von der Hauptpflanze genutzt werden (über Wurzelausscheidungen oder das Einbringen von abgestorbenem Blattmaterial ins Substrat) oder nach dem Rückschnitt bzw. Absterben der Untersaatpflanze freigesetzt werden. Somit kann Weißklee die Stickstoffversorgung der Hauptpflanze unterstützen und gleichzeitig den Düngeraufwand reduzieren – ein nicht zu unterschätzender ökonomischer Vorteil in Zeiten steigender Rohstoffkosten.

Zudem kann Weißklee durch seine dichte Belaubung und flache Wuchsform Unkraut effektiv unterdrücken, ohne die Hauptpflanze durch übermäßige Beschattung zu beeinträchtigen. Auch der Wurzeldruck bleibt bei richtiger Pflege gering, sodass die Konkurrenz um Wasser und Nährstoffe kontrollierbar bleibt.

Praktische Umsetzung und Herausforderungen

Die Aussaat von Klee erfolgt idealerweise in das fertig getopfte Substrat, entweder direkt nach der Hauptpflanzenkultur oder einige Wochen später, sobald die Jungpflanze stabil etabliert ist. Wichtig ist eine gleichmäßige Verteilung und ein guter Bodenschluss der Samen, ggf. unterstützt durch leichtes Andrücken.

Herausforderungen bestehen vor allem in der Kulturführung: Ein zu üppiger Wuchs der Untersaat kann in Konkurrenz zur Hauptpflanze treten, insbesondere bei Nährstoff- oder Wassermangel. Ein regelmäßiger Rückschnitt oder eine mechanische

Eindämmung der Kleevegetation könnte hier Abhilfe schaffen, ist aber momentan in den Betrieben schwer umsetzbar.

Auch die Wahl der richtigen Kleeart ist entscheidend: Während Weißklee für größere Töpfe oder Kübel geeignet ist, kann in kleineren Gefäßen Zwergweißklee eine bessere Option darstellen. Dabei wäre es wichtig in Zukunft das Sortenspektrum noch weiter zu betrachten, um weitere geeignete Zwergklone zu finden, bzw. diese auch gezielt zu züchten.

2.2.2 Projektaufgabenstellung

Im Rahmen des Projektes wird der ökologische Nutzen von Mikroklee als Bodendecker in Baumschulcontainern untersucht. Zur Aufgabenstellung gehören die Auswahl geeigneter Mikroklee-Sorten, ihr Einfluss auf die Stickstoff- und Phosphatversorgung der Containerpflanzen und die Wasserversorgung der Containerpflanzen.

Die Untersuchung der Symbiose zwischen Stickstofffixierenden Mikroorganismen (*Rhizobia*) und dem Klee ist für das Projekt von besonderer Bedeutung. Diese Rhizobien, auch Knöllchenbakterien genannt, bilden zusammen mit dem Wurzelsystem des Klees eine symbiotische Beziehung und sind in der Lage Stickstoff aus der Luft zu fixieren, der von der Containerpflanze als Zusatzdüngung genutzt werden kann. Hierfür werden verschiedene Rhizobien-Impfmittel und Reinkulturen verwendet und ihre Fähigkeit, sich an den Wurzeln des Klees anzusiedeln, untersucht.

Der Einfluss von Mikroklee auf die Nährstoff- und Wasserversorgung der Containerpflanzen, sowie die Fähigkeit des Klees, den Befall durch Wildkräuter zu minimieren, wird an unterschiedlichen Kulturen getestet. Zu diesen gehören neben Flieder und Rhododendron, auch Obstgehölze wie Feigen, Maulbeeren oder Heidelbeeren. Außerdem wird der Einfluss des pH-Wertes im Substrat auf die Keimfähigkeit der Kleesamen untersucht. PH-Werte um 5,5 sind optimal, bei sauren Böden ist die Rate der Stickstofffixierung durch Rhizobien eingeschränkt. Rhododendron und Heidelbeeren benötigen für ein gutes Wachstum einen pH-Wert um die 4,5. Im Vergleich zur Bedeckung mit Mikroklee werden in Versuchen auch Container mit Rindenmulch und ohne Bedeckung getestet.

Herkömmliche Methoden zur Rhizobienimpfung haben den Nachteil, dass sich tendenziell nicht ausreichend Bakterien an den Wurzeln ansiedeln können. Es kann zu Auswaschungen kommen oder Rhizobien konkurrieren mit anderen, bereits vorhandenen Mikroorganismen in der Rhizosphäre. Um unter diesen Bedingungen eine ausreichend große Rhizobienpopulation aufbauen zu können, müssen die Rhizobien physikalisch geschützt und für eine längere Lagerungsdauer mit Nährstoffen versorgt werden. Hierfür werden die Rhizobien mit geeigneten Formulierungsmethoden verkapselt. Ein solches System stellen z.B. Hydrogele (Polysaccharide) dar, die eine hohe Wasserbindungskapazität aufweisen. Mit ihrer Hilfe kann gewährleistet werden, dass genügend Bakterien im Boden (Rhizosphäre) überleben.

Für diesen Schritt müssen zunächst geeignete Stämme oder eine optimale Mischung von Rhizobien gefunden werden, die den gewünschten Effekt am Mikroklee auslösen können. *Rhizobium leguminosarum biovar trifolii* gehört zu diesen Bakterienstämmen, die eine Symbiose mit den Wurzeln des Klees (*Trifolium*) eingehen und Stickstoff-fixierende Knöllchen bilden.

Der nächste Schritt ist die Entwicklung eines optimalen Verkapselungsmaterials (Hydrogel), das neben der Bindung von Bakterien, Wasser und Nährstoffen, auch deren Freisetzung unter Rhizosphäre-Bedingungen ermöglicht. Das optimale Verkapselungsverfahren für die Kleeimpfung soll im Verlauf des Projektes erarbeitet werden.

Abschließend muss die Akzeptanz für Mikroklee als ökologischer Bodendecker in der Öffentlichkeit gestärkt werden. Mit Erläuterungen und bildlichen Darstellungen, sollen Verbraucher und Zwischenhandel überzeugt werden, eine Pflanze mitzukaufen, die oft als „scheinbares Unkraut“ wahrgenommen wird. Neben einer Reduzierung der Stickstoffdüngung und der Vermeidung des Einsatzes von Herbiziden, dient der Klee auch als insektenfreundliche Bienenweide und bindet zusätzlich klimaschädliches CO₂, was besonders für Kunden mit ökologischem Bewusstsein interessant sein könnte.

2.3 Ergebnisse der OG in Bezug auf

2.3.1 Gestaltung der Zusammenarbeit im Einzelnen

Die Zusammenarbeit zwischen allen OG-Mitgliedern lief gut. Versuche mit der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg wurden zusammen koordiniert und durchgeführt. Im Rahmen des Projektes wurde außerdem eine Bachelorarbeit von einer Studentin der Uni Oldenburg von piccoplant betreut. Die Studentin wurde für das Projekt in das Arbeiten mit pflanzlichen Gewebekulturen eingearbeitet und konnte selbstständig Versuche im Labor und Gewächshaus zum Thema Mikroklee durchführen. Prof. Dr. Englischs Expertise in der Chemie und der industriellen Anwendung von Polysacchariden war von besonderem Wert für das gesamte Projekt.

2.3.2 Besonderer Mehrwert bei der Durchführung des Projektes als OG

Die Entwicklung von praxistauglichen und innovativen Entwicklungen auf Grundlage wissenschaftlicher Erkenntnisse bietet für die OG-Mitglieder grundsätzlich einen besonderen Mehrwert. Das interdisziplinäre Vorgehen bei der Durchführung der Projekte ist hierbei für eine Lösung komplexer und nachhaltiger Probleme der heutigen Zeit essenziell. Unterschiedliche Themen aus Biotechnologie, Biochemie, Pflanzenbau und Agrarwirtschaft waren Bestandteil der Arbeit innerhalb des Projektes.

Hervorzuheben sind auch technische Aspekte der Informationstechnologie, die von der Universität Oldenburg eingebracht worden sind. Hierzu zählt insbesondere die Integration von Sensorik zur Durchführung von Messungen der Bodenfeuchtigkeit und Temperatur in Baumschulcontainern. Ein weiterer Mehrwert bei der Durchführung des Projektes ist auch die Betreuung von Studenten durch piccoplant, die ihrerseits auch von praktischen Erfahrungen im Betrieb profitieren.

2.3.3 Weitere Zusammenarbeit der Mitglieder der OG nach Abschluss des geförderten Projektes

Die piccoplant Mikrovermehrungen GmbH arbeitet seit ihrer Gründung eng mit der Universität Oldenburg zusammen. Durch einen regelmäßigen Austausch ist eine

weitere Zusammenarbeit in gemeinsamen Projekten gewährleistet. Die Biotech Consulting Nord bleibt für die Mitglieder der OG auch nach Abschluss des Projektes ein wichtiger Partner.

2.4 Ergebnisse des Innovationsberichtes

2.4.1 Zielerreichung

Eine Reduktion der Stickstoffdüngung und Vermeidung von Herbiziden konnte durch den Einsatz von Mikroklee in Baumschulcontainern, erreicht werden. Das Wachstum von Wildkräutern konnte durch den Mikroklee unterdrückt werden. Der Einsatz von Herbiziden ist daher praktisch nicht mehr nötig. Die Ansiedlung von Rhizobien an den Wurzeln des Mikroklees kann die Stickstoffversorgung der Containerpflanzen tendenziell verbessern. Durch das Abstreuen von Rindenmulch im Container kommt es zu einer vermehrten Stickstoffzehrung durch bakterielle Umsetzung. Die Verwendung von Mikroklee als Bodendecker stellt daher eine nachhaltige Alternative dar, um die Stickstoffdüngung generell zu reduzieren.

Die Zielerreichung im Projekt war nicht optimal. Ansiedlung und Schutz von Rhizobien müssen weiter untersucht und verbessert werden, um die Menge an Stickstoff im Boden zu erhöhen, der aus der Luft fixiert wird.

2.4.2 Abweichungen zwischen Planung und Ergebnis

Für die Untersuchung zur Wasserversorgung (Arbeitspaket 3) waren ursprünglich Versuche mit Tröpfchenbewässerung im Gewächshaus geplant, da die Quantifizierung des Wasserverbrauchs bei offenen Systemen, aufgrund der Unregelmäßigkeit von Regen, schwierig ist. Messungen der Bodenfeuchtigkeit wurden dann nur im Freiland durchgeführt. Für einige Monate des Versuchszeitraums war eine mögliche Wasserhaltekapazität des Mikroklees, aufgrund von starkem Dauerregen, schwer zu beurteilen.

Für eine C:N-Analyse der Stickstoffversorgung wurden Blattproben gesammelt und getrocknet. Das C/N-Verhältnis (Kohlenstoff(C)/Stickstoff(N)-Verhältnis) ist ein zusätzlicher Indikator der Verfügbarkeit von Stickstoff für Pflanzen. Diese Arbeiten

konnten krankheitsbedingt nicht durchgeführt werden. Die Stickstoffversorgung wurde daher über den Stickstoffbilanzindex (NBI) bewertet.

Eine effektive Besiedlung der Kleewurzeln durch die Rhizobien hat sich in den Versuchen zur Verkapselung als problematisch erwiesen. Die hergestellten und verwendeten Granulate und Impfmittel wiesen in der Anwendung zudem keine ausreichende Lagerstabilität auf. Die Lebensfähigkeit der Rhizobienstämme konnte auch nicht signifikant erhöht werden.

2.4.3 Projektverlauf

Arbeitspaket 1. Bedeckungs-Varianten

Zu Beginn des Projektes wurden im Gewächshaus die unterschiedlichen Bedeckungsvarianten an Containern ohne Kulturpflanze getestet. Neben gewöhnlichen Weißklee (*Trifolium repens*) wurden die zwei Mikroklee-Sorten Pipolina und Euromic verwendet. Diese sind vom Bundessortenamt in der beschreibenden Sortenliste „Futtergräser“ für die niedrige Begrünung anerkannt und zugelassen. Die im Mittelmeerraum verbreitete Serradella (*Ornithopus sativus*) wurde zusätzlich für Versuche verwendet. Ähnlich wie der Klee, kann sie ebenfalls eine Symbiose mit Stickstoff-fixierenden Bakterien eingehen.

Damit der Klee nicht von Beginn der Aussaat mit Wildkräutern konkurriert, sollte er möglichst schnell keimen und dicht wachsen. Wie das Saatgut zu applizieren ist und welche Keimrate die unterschiedlichen Sorten aufweisen, wurde hier untersucht. Um die Wahrscheinlichkeit von Wildkräuterbefall von vornherein zu minimieren, wurden auch Container verwendet, die neben der Klee-Saat auch Rindenmulch enthielten.

Neben Versuchen zur Keimrate, wurden auch schon erste Versuche zur Saatgutinfektion durchgeführt. Hierfür wurden die zwei Rhizobien Flüssigimpfmittel Rhizofix® RF-45 (enthält den Stamm *Rhizobium leguminosarum*) und Radicin® verwendet und an den Mikroklee Sorten Pipolina und Euromic getestet (Abbildung 1).

Für die Saatgutimpfung wurden für 3 Liter Container jeweils 400 mg Saatgut verwendet. Die Rhizobien-Impfmittel wurden in unterschiedlichen Konzentrationen vor

Aussaat zum Saatgut gegeben: 1 ml Impfmittel unverdünnt, 500, 100 und 10 μ l auf jeweils 1 ml Leitungswasser und Mikroklee ohne Impfmittel. Als weitere Applikationsmethode wurden 10 ml Impfmittel mit 90 ml Wasser gemischt und mit einer Sprühflasche gleichmäßig auf dem Saatgut verteilt. Die Anfangs verwendeten geringen Mengen richten sich nach den Herstellerangaben zur Aufwandmenge.



Abbildung 1: Saatgutinfektion der zwei Mikrokleesorten *Pipolina* und *Euromic*

Die Samen keimten bereits nach wenigen Tagen. Es wurde regelmäßig überprüft, ob die Ansiedlung der Rhizobien an den Wurzeln der beiden Kleesorten erfolgreich war.



Abbildung 2: Keimung der Sorte *Pipolina* mit 10 μ l *Radicin*®

Außerdem wurden für erste Tests unter Produktionsbedingungen, verschiedene Pflanzenarten (Feigen, Maulbeeren, Stachelbeeren, Himbeeren, Aprikosen, Haselnuss, Walnuss, Kiwi, Kirschen, Apfelbeeren, Quitten und Ginkgo) zusammen mit Mikroklee und Rhizobien-Impfmittel unter Beigabe von Sand und Rindenmulch in 3 L Containern getopft (Abbildung 3).



Abbildung 3: Einsatz von Mikroklee unter Produktionsbedingungen an verschiedenen Obstgehölzen



Abbildung 4: *Ficus carica* "Yellow Giant" mit Mikroklee *Pipolina*



Abbildung 5: Versuche mit Mikroklee und Serradella an Rhododendron Hybriden

Die Rhizobien bilden an den Wurzeln des Klees kleine Knöllchen, in denen der Stickstoff fixiert wird. Diese Knöllchenbildung oder Nodulation konnte bei den meisten Ansätzen beobachtet werden. Die Ansiedlung war daher tendenziell erfolgreich. Aufgrund der zu Beginn verwendeten geringen Aufwandsmengen an Impfmittel, war die Anzahl der Knöllchen zunächst begrenzt. Die allgemeine Vitalität und das Wachstum der Feigen, Maulbeeren, Wildaprikosen, Strauchkirschen, Apfelbeeren war gut. Bei Walnuss, Haselnuss und Himbeere hingegen schlecht. Bei den schlecht gewachsenen Walnüssen waren die Knöllchen an den Kleewurzeln auffällig groß.

Die Container mit den Pflanzen waren überwiegend vollständig mit Klee bedeckt. Eine Ausnahme stellte hier die Palmatafeige (*Ficus palmata*) dar. Diese Pflanze wächst relativ schnell und bekommt in kurzer Zeit große Blätter. Der Schatten dieser Blätter könnte das Wachstum des Klees negativ beeinflusst haben. Außerdem konnten bei älteren Flieder- und Heidelbeerkulturen weniger Samen keimen, da das Substrat nicht ausreichend aufgelockert werden konnte.

Als Beispiel für Container-Pflanzen mit niedrigen pH-Wert Anforderungen wurden noch Heidelbeeren der Sorte „Goldtraube“ in die Versuche mit aufgenommen (Abbildung 6). Das Topfsubstrat entspricht dem bevorzugten pH-Wert der Heidelbeeren von 4,5.



Abbildung 6: *Vaccinium corymbosum* "Goldtraube" mit Mikroklee und Radicin

Das Wachstum war bei beiden Kleesorten schwächer als in Substraten mit höheren pH-Werten. Die Sorte Pipolina ist hier kaum noch gewachsen. Eine Nodulation war aber auch hier sichtbar.

Bei den ersten Versuchen mit unterschiedlichen Konzentrationen der Rhizobien-Impfmittel Radicin® und Rhizofix® mit den beiden Kleesorten (ohne Pflanzen) waren erst bei einer Konzentration von 10 ml/100ml Knöllchen an den Bakterien sichtbar. Weitere Versuche mit höheren Konzentrationen wurden, mit deutlich besseren Ergebnissen durchgeführt (Abbildung 7 & 8).



Abbildung 7 und 8: Knöllchenbildung nach Erhöhung der Impfmittelkonzentration

Zwischen dem Klee sind auch diverse Wildkräuter gewachsen (Abbildung 9). Bei den Ansätzen ohne Kulturpflanzen konnte man dies besonders gut beobachten. Saatgut der beiden Mikroklee Sorten wurde für in vitro-Kulturen sterilisiert und auf Nährmedium gelegt. Neben dem Klee sind hier auch einzelne Gräser gewachsen, was eine Verunreinigung bestätigt hat.



Abbildung 9: Beikräuter zwischen reinen Kleeansätzen

Die Ansiedlung von Rhizobien an den Wurzeln des Mikroklees wurde im Rahmen einer Bachelorarbeit auch im Labor untersucht. Für diese Zwecke wurde eine Reinkultur von *Rhizobium leguminosarum* vom Leibniz-Institut DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) angelegt. Kulturen der beiden Mikroklee-Sorten Pipolina und Euromic wurden in vitro vermehrt (Abbildung 10) und mit den Rhizobien angeimpft. Die mögliche Nodulation wurde hierbei auch an reinen Wurzelkulturen untersucht (Abbildung 11). Eine Ansiedlung und Knöllchenbildung durch Rhizobien konnte hierbei allerdings nicht beobachtet werden.



Abbildung 10: In vitro-Kultur von Mikroklee



Abbildung 11: Wurzelkultur von Mikroklee

Arbeitspaket 2 (Stickstoff- und Phosphat-Versorgung) und Arbeitspaket 3 (Wasserversorgung) wurden parallel bearbeitet. Drei Varianten der Bedeckung wurden hierfür auf den Freiflächen von *piccoplant* an Flieder als Tiefwurzler und Rhododendron als Flachwurzler erprobt. Insgesamt wurden 96 Pflanzen in 7-Liter-Containern für die Freilandversuche verwendet, davon 48 Flieder (*syringa vulgaris*) der Sorte "Amethyst" und 48 Rhododendron Hybride der Sorte "Catawbiense Grandiflorum". Von diesen 48 Pflanzen wurden jeweils 12 Pflanzen ohne Abdeckung, 12 Pflanzen mit einer herkömmlichen Rindenmulch-Bedeckung, 12 Pflanzen mit der Mikroklee-Sorte "Euromic" und 12 Pflanzen mit der Mikroklee-Sorte "Pipolina", untersucht. Die Hälfte dieser Pflanzen war jeweils mit Sensoren ausgestattet, welche kontinuierlich, über einen längeren Zeitraum, Bodenfeuchtigkeit und Temperatur gemessen haben (Abbildung 12). Die Pflanzen wurden vor den Versuchen umgetopft und die Sensoren beim umtopfen mit in die Container integriert. Die beiden Mikrokleesorten wurden jeweils mit Rhizobien angeimpft. Bodenproben wurden vor den Versuchen auf ihren Nährstoffgehalt untersucht. Der Versuchsaufbau mit der Anzahl der Versuchspflanzen ist nochmal in Tabelle 1 dargestellt. Abbildung 13 und 14 zeigen jeweils den Versuchsaufbau für die beiden Kulturen Rhododendron und Flieder.

Der Effekt von Mikroklee auf die Bodenfeuchtigkeit wird an den Flieder- und Rhododendronkulturen getestet. Zum Vergleich wird die Bodenfeuchtigkeit in Containern ohne Bodenabdeckung, sowie in Containern mit Rindenmulch, gemessen. Die Bodenfeuchte sollte in den Containern mit Mikroklee langsamer abnehmen als in Containern ohne Bodenabdeckung. Neben der Messung der Bodenfeuchtigkeit und Temperatur, wird auch der Einfluss des Klees auf das Wachstum von Beikräutern evaluiert.

Eine mögliche Verbesserung des Mikroklimas durch den Klee soll durch die zusätzliche Messung der Temperatur untersucht werden. Durch die zunehmende Hitze und Trockenheit in den Sommermonaten, kann der Klee möglicherweise dazu beitragen, Kulturpflanzen besser zu schützen und den Wasserverbrauch zu reduzieren.



Abbildung 12: Versuchsaufbau zur Bedeckung von Containerpflanzen



Abbildung 13: Rhododendron mit "GBox" und Sensoren zur Messung der Bodenfeuchtigkeit



Abbildung 14: Flieger mit "GBox" und Sensoren zur Messung der Bodenfeuchtigkeit

Tabelle 4: Varianten der Bedeckung und Anzahl der Versuchspflanzen pro Sorte (Rhododendron und Flieder)

	Ohne Abdeckung	Rindenmulch	Mikroklee "Pipolina"	Mikroklee "Euromic"
Sensor für Bodenfeuchte und Temperatur	6	6	6	6
Ohne Sensor	6	6	6	6

Sensoren zur Messung der Bodenfeuchtigkeit und Temperatur

In Vorversuchen wurden verschiedene Sensoren getestet, die für die Messungen über einen längeren Zeitraum geeignet sind. Für die Messung der Bodenfeuchtigkeit werden SMT100 Sensoren der Firma Truebner verwendet (Abbildung 15). Diese können die Bodenfeuchte mit einer Genauigkeit von einem Prozent messen. In den Containern befinden sich jeweils zwei Sensoren: Einer etwa 5 cm über dem Boden des Containers und einer etwa 10 cm unter der Erdoberfläche. Neben der Bodenfeuchtigkeit messen die Sensoren auch die Temperatur im Boden.



Abbildung 15: SMT100 Sensor (Truebner) zur Messung der Bodenfeuchtigkeit und Temperatur

Über eine sogenannte "GBox" (Abbildung 16) werden die Messwerte stündlich per WLAN an die Auswertungsplattform Guerilla Sensing geschickt. Dort sind auch Messwertdiagramme verfügbar.



Abbildung 16: GBox mit Verbindung zu SMT100 Sensor

Diese GBoxen sind Sensorknoten, an denen die Messwerte für Bodenfeuchtigkeit über mehrere Sensoren zusammenlaufen. Sie sind zudem gegen Wettereinflüsse und Bewässerung geschützt.

Allgemein funktioniert das System zur Messung der Bodenfeuchtigkeit und Temperatur gut. Kleinere Störungen in der Hardware konnten schnell behoben werden.

Zwischenergebnisse

Die Ansiedlung von Rhizobien an den Wurzeln der Versuchspflanzen im Freiland war erfolgreich. An den Wurzeln der Pflanzen konnte man die Knöllchen der stickstofffixierenden Bakterien sehen (Siehe Abbildung 17). Neben weißen Knöllchen wurden auch rosafarbene Knöllchen identifiziert, was auf eine aktive Stickstofffixierung hindeutet.



Abbildung 17: Knöllchen der Stickstofffixierenden Rhizobien

Im Juni, Juli und August 2024 wurde ein optisches Blattmessgerät von Dualex (Force A, Orsay-Cedex, Frankreich) verwendet, um den Stickstoffbilanzindex (NBI = Nitrogen Balance Index) als Indikator für den Stickstoffgehalt zu messen. Er ist definiert als das Verhältnis zwischen dem Chlorophyll- und dem Flavonoidgehalt der Blätter. Die Messungen wurden auf beiden Seiten der Mittelrippe an sechs Blättern (drei jungen und drei älteren) pro Pflanze vorgenommen. Starke Ausreißer, die auf Messfehler hindeuten, wurden ausgelassen. Außerdem wurden Blattproben gesammelt (Juni 2024), getrocknet und für die C:N-Analyse pulverisiert.

In Abbildung 18 sind die Ergebnisse für alle Versuchspflanzen dargestellt. Die Abbildungen 19 und 20 zeigen die Ergebnisse der Messungen für die jeweiligen Kulturen (Flieder und Rhododendron).

Im Durchschnitt war der Chlorophyllgehalt der Blattproben bei beiden Versuchskulturen etwas höher für die Ansätze mit Mikroklee. Beim Flieder hatten die Pflanzen, die mit der Mikroklee-Sorte ‚Euromic‘ angebaut wurden, einen signifikant höheren Blatt-NBI als alle anderen Behandlungen ($p < 0,001$). Bei Rhododendron war der Blatt-NBI bei beiden Mikroklee-Sorten signifikant höher als bei den Behandlungen mit offenem Boden und Rindenmulch ($p < 0,001$).

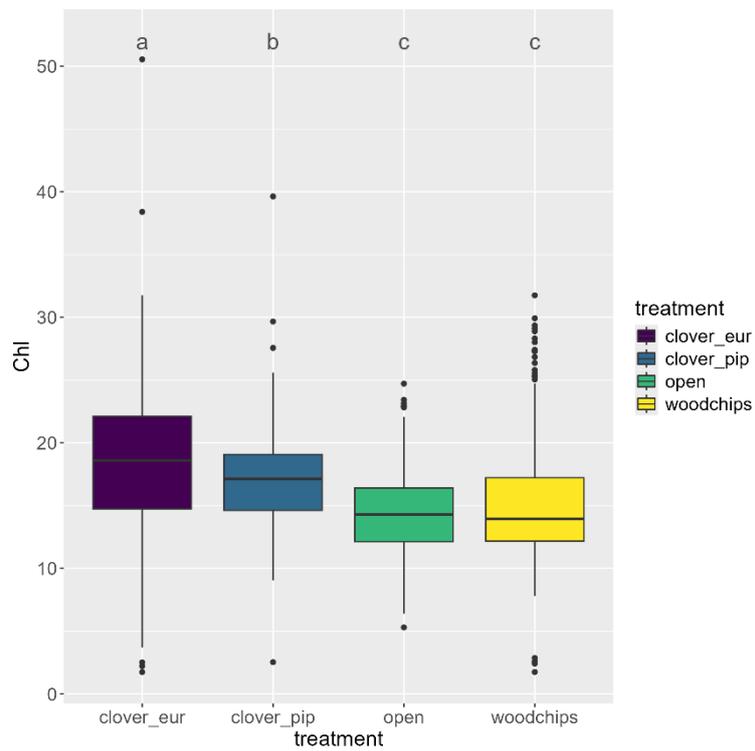


Abbildung 18.: Chlorophyllgehalt aller Versuchspflanzen

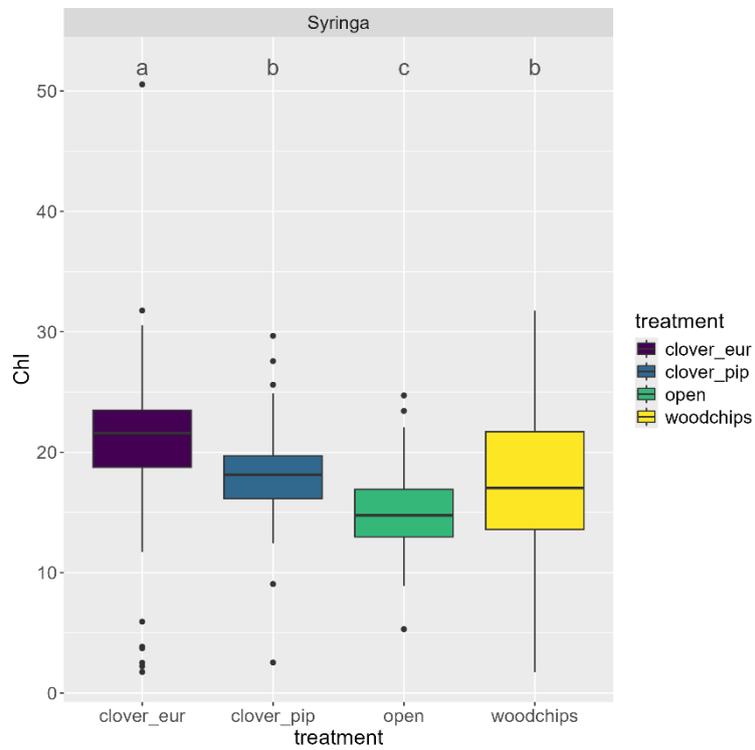


Abbildung 19.: Chlorophyllgehalt von Flieder

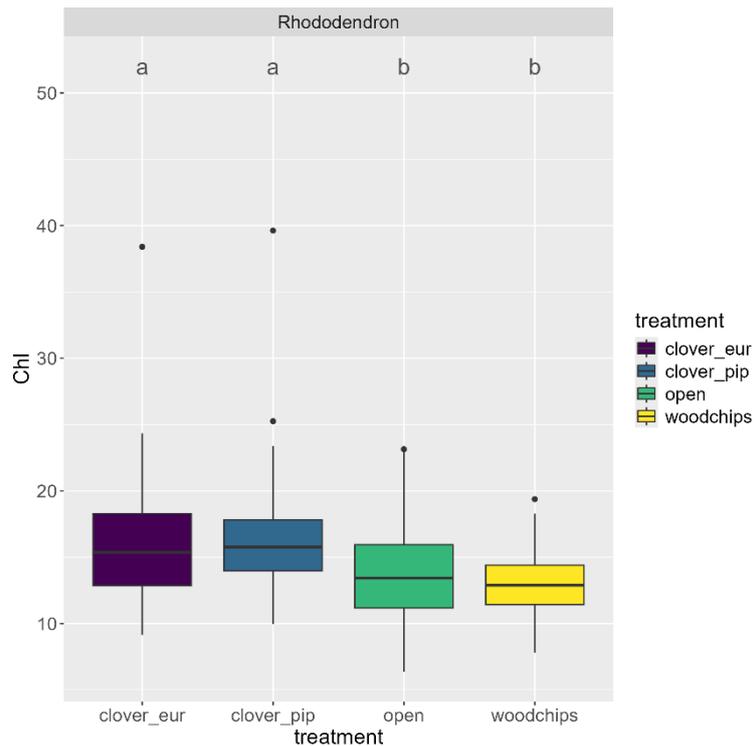


Abbildung 20: Chlorophyllgehalt von Rhododendron

Erläuterung zu Abbildung 18-20:

Clover_eur: Mikroklee Sorte „Euromic“

Clover_pip: Mikroklee Sorte „Pipolina“

Open: Ohne Bodendeckung

Woodchips: Rindenmulch

Der erhöhte Stickstoffgehalt in den Blättern der Pflanzen, die mit Mikroklee gewachsen sind, zeigt die positive Wirkung der biologischen Stickstofffixierung auf die Pflanzen. Die Rate des Stickstoffs, der von Leguminosen auf umliegende Pflanzen übertragen wird, kann stark variieren und hängt unter anderem von der Nähe zwischen den Wurzeln beider Pflanzen ab.

Abbildung 21 zeigt einen Flieder (Sorte „Amethyst“) mit Mikroklee im Mai 2024. Die Flieder sind vital und zeigten ein gutes Wachstum. Auffällig ist hier, dass der Mikroklee deutlich kleiner gewachsen ist, als im Gewächshaus. Während der Kleeblüte konnten auch bestäubende Insekten beobachtet werden.

Bei den Rhododendren wurden zu Beginn der Versuche Nährstoffdefizite festgestellt, daher wurde hier zweimal mit Flüssigdünger gedüngt. Die Pflanzen haben sich im Verlauf der Versuche dann gut entwickelt.



Abbildung 21.: Flieder mit Mikroklee (Mai 2024)

In Abbildung 22 und 23 ist der durchschnittliche Wassergehalt im Topf pro Tag jeweils für Flieder und Rhododendron abgebildet. Gemessen wird die Feuchtigkeit mit Sensoren jeweils am Boden (bottom) und im oberen Bereich des Topfes (top). Durch die Berechnung sind die Werte relativ ähnlich in allen Ansätzen und tendenziell bei Rindenmulch am höchsten. Dies wird auch über längere Messungen (Abbildung 24 und 25) deutlich. Die Messung der Feuchtigkeit und Temperatur läuft über die Sensorik automatisch.

Ungenauigkeiten bei den Sensormessungen können auftreten, da die elektrischen Eigenschaften des Bodens innerhalb eines Containers variieren können und der Wassergehalt nur als Durchschnittswert pro Container berechnet werden kann, während Unterschiede aufgrund lokaler Ungleichheiten, z. B. zwischen dem oberen und unteren Teil des Containers, auftreten können. Inwiefern der Mikroklee einen Einfluss auf die Wasserversorgung im Container hatte, lässt sich durch den starken Dauerregen im Versuchszeitraum schwer beurteilen. Versuche mit Tröpfchenbewässerung im Gewächshaus wurden nicht durchgeführt.

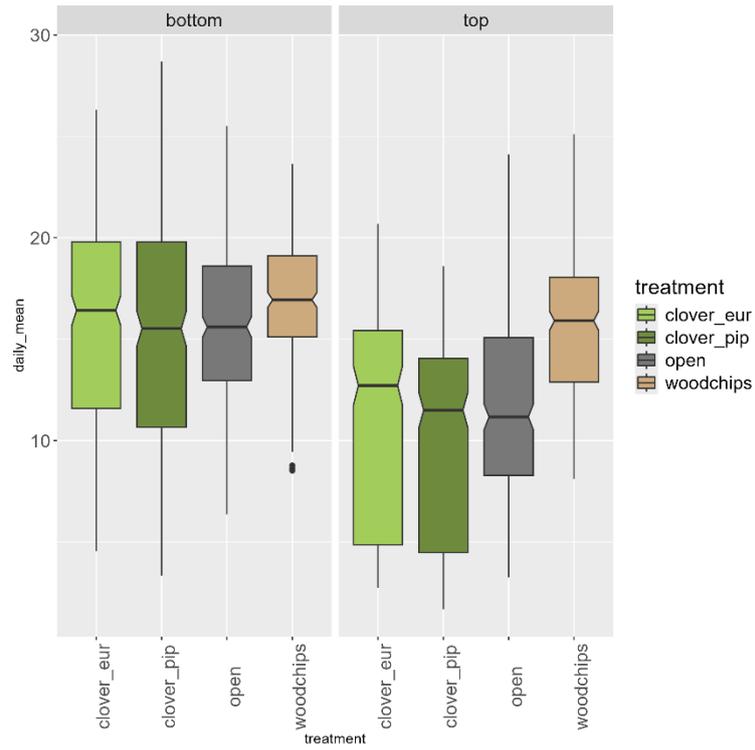


Abbildung 22.: Durchschnittlicher Wassergehalt pro Tag (Flieder)

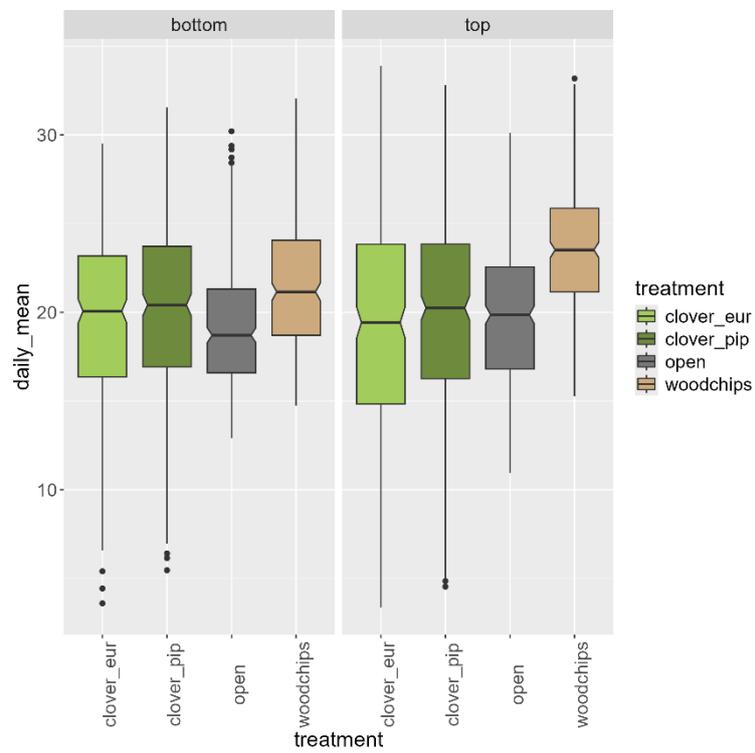


Abbildung 23: Durchschnittlicher Wassergehalt pro Tag (Rhododendron)

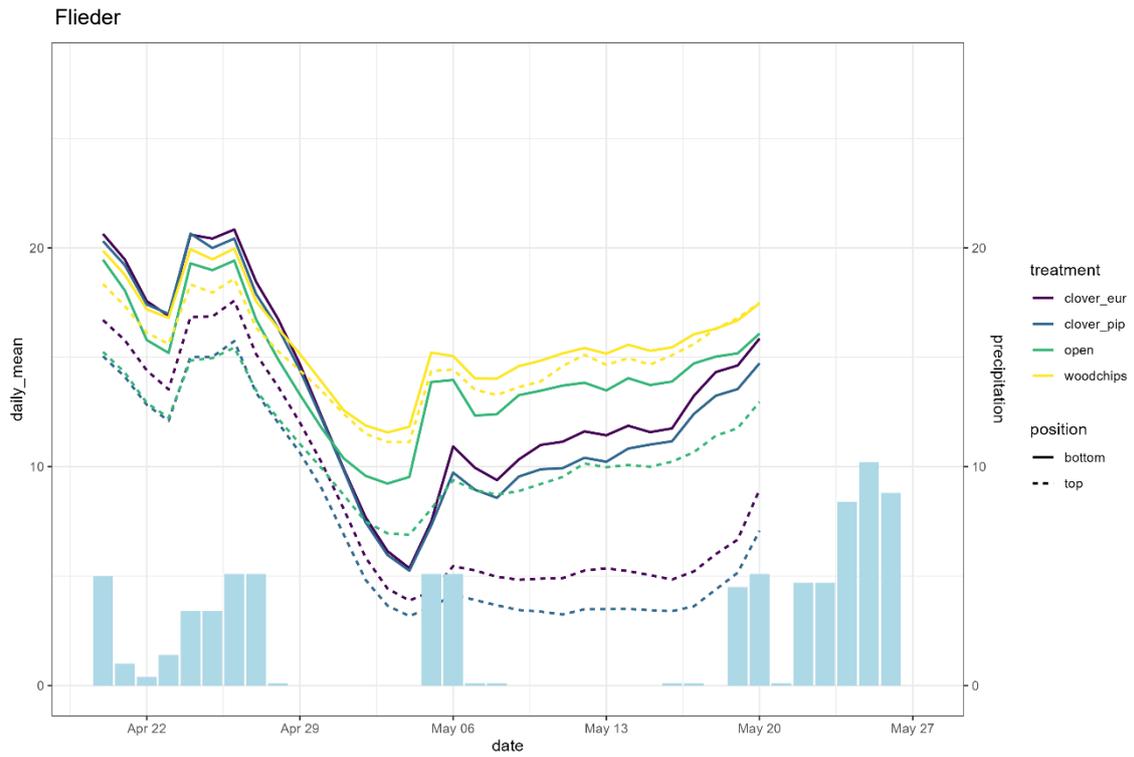


Abbildung 24: Messung der Bodenfeuchtigkeit (Flieder)

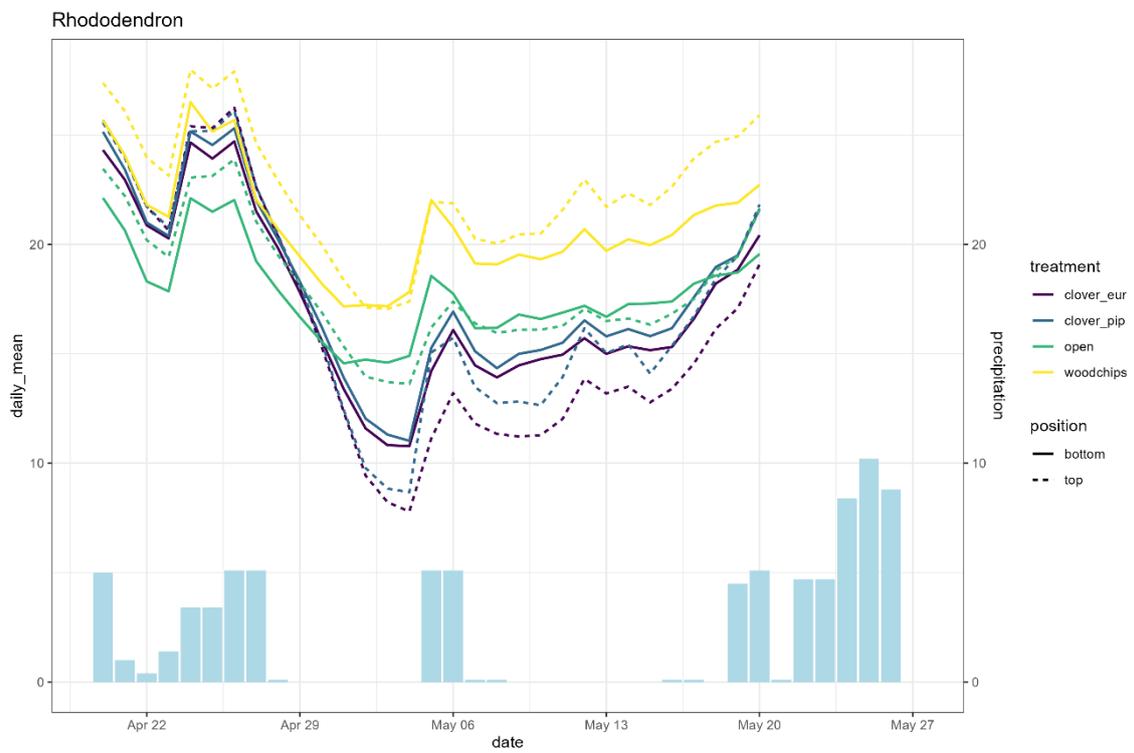


Abbildung 25: Messung der Bodenfeuchtigkeit (Rhododendron)

Die Unterdrückung von Wildkräutern ist ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Verwendung von Mikroklee als Bodendecker. Wie zu erwarten, ist das Wachstum von Wildkräutern in Containern ohne Bodendeckung am höchsten (Abbildung 26). In den Containern mit Rindenmulch konnten am wenigsten Wildkräuter beobachtet werden. Insbesondere beim Flieder war bei den Ansätzen mit Mikroklee weniger Wildkräuter, im Vergleich zu Containern ohne Bodendeckung, zu beobachten. Auf relativ sauren Böden, wie einem Substrat für Rhododendron, wächst der Klee tendenziell schlechter, als auf einem Substrat mit einem höheren pH-Wert, wodurch wieder mehr Raum für Wildkräuter zur Verfügung steht.

In den Töpfen traten häufig verschiedene Wildkräuterarten auf, z. B. *Epilobium spec.*, *Sagina procumbens* L. und *Agrostis capillaris* L. Gelegentlich tauchten auch holzige Arten wie *Betula pendula* Roth. und *Quercus robur* L. auf.

Eine Wildkräuterart, *Agrostis stolonifera* L., trat ausschließlich in Töpfen mit Klee auf. Dies deutet auf eine Verunreinigung durch Saatgut hin, was bereits in den in vitro-Versuchen nachgewiesen wurde.

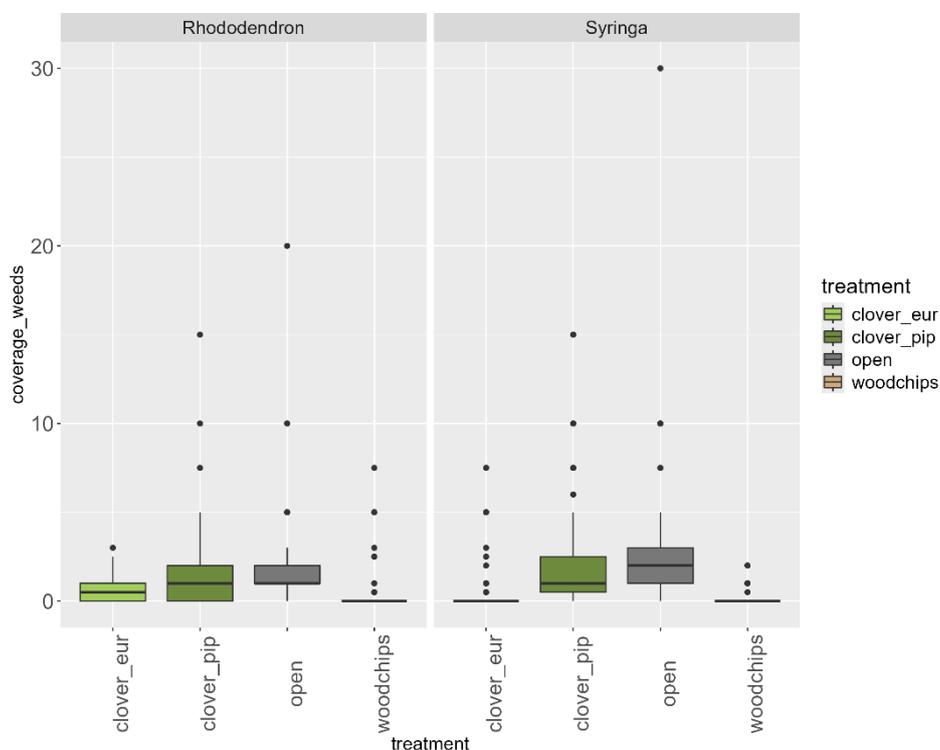


Abbildung 26.: Effekt von Mikroklee auf das Wachstum von Wildkräutern

Die Biomasse der Sträucher wurde durch die verschiedenen Bedeckungsvarianten nicht beeinflusst. Der Mikroklee scheint nicht in einem Maße mit der Kulturpflanze zu konkurrieren, dass er einen negativen Einfluss verursacht. Im Gegensatz dazu wird die Verteilung der Ressourcen auf ober- und unterirdische Biomasse durch das Vorhandensein von Mikroklee erheblich beeinflusst, was sich in einem niedrigeren Wurzel-Spross-Verhältnis ausdrückt. Dies ist ein üblicher Effekt, wenn die Verfügbarkeit von Nährstoffen, insbesondere von Stickstoff, zunimmt, da weniger Wurzeln für die Nährstoffaufnahme erforderlich sind.

Arbeitspaket 4. Verkapselung von Rhizobien mit geeigneten Formulierungsmethoden

Im Juni 2023 wurde mit Vorversuchen zur Verkapselung der Rhizobien begonnen. Ziel war es, schädliche Umwelteinflüsse, eine Verdrängung durch andere, besser angepasste Bakterien oder eine Auswaschung zu verhindern, indem die Bakterien in eine schützende Formulierung (Verkapselung) eingebettet werden. Die essentielle Besiedlung der Pflanzenwurzeln durch Rhizobien hat sich in bisherigen Verkapselungsversuchen anderer Arbeitsgruppen als problematisch erwiesen. Bisherige Granulate und Impfmittel wiesen in der Anwendung zudem nur eine geringe Lagerstabilität auf.

Die Verkapselung von Rhizobien („Plant Growth Promoting Rhizobia“, PGPR) für landwirtschaftliche Anwendungen zielt darauf ab, einen vorübergehenden physikalischen und chemischen Schutz vor widrigen Umweltbedingungen (Hitze, Dürre, Salinität etc.) zu erzielen und so eine bessere Stabilität der Bakterien im Boden und an der Wurzel zu bieten. So soll auch die Wechselwirkung mit der Pflanze zu optimieren.

Die praktische Umsetzung umfasste Auswahl und Anzucht spezifischer Rhizobium leguminosarum - Stämme (Gerónimo Cardozo et al. 2019), die in Vorversuchen eine positive Wechselwirkung mit Mikroklee zeigten. Zudem wurden Biopolymere (Hydrogele) wie z.B. Alginate, Chitosan sowie anderen nichttoxische und biologisch abbaubare Makromoleküle ausgewählt. Es wurden z. B. mit Alginaten und Chitosanen in Konzentrationen von 1 - 5 % (w/w) Alginat- und Chitosankapseln, hergestellt. Grundlage ist ein ionischer (Alginat ist anionisch, Chitosan kationisch geladen) Gelierungsprozess. Anschließend wurden die Kapseln bis zu 5 Monate bei 4 °C

gelagert. Die Alginatmatrix zeigte nach einer Lagerung von 3 Monaten eine Wechselwirkung der Bakterien mit dem Klee, und eine Freisetzung von Zellen aus der Alginatmatrix. Die notwendige Zellzahl erreichte einen Wert von 10⁹ CFU per bead pro Pflanze. Allerdings nahm die Lebensfähigkeit bei mehreren Rhizobienstämmen nach 5 Monaten Lagerung ab, was sowohl auf eine fehlende mechanische Stabilität als auch eine suboptimale Wasserhaltungskapazität mit einigen Hydrogelen hindeutet. Die Lagerungsstabilität sollte durch eine zweite Beschichtung weiter untersucht werden.

Neben der Lagerstabilität der *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* Kapseln soll das Saatgut auch keimfähiger und für die Stickstoff-Fixierung optimiert werden. Die Anwendung verkapselter Systeme soll nach Freisetzung der Rhizobien ein ökologisches Nährstoff- und Pflanzenschutzmanagement sowie eine erhöhte Wasserhaltekapazität ermöglichen. Erste Ergebnisse dieses Experiments deuten an, dass die immobilisierten Rhizobien-Kügelchen die Wurzellänge und Biomasse nach 20 Wachstumstagen erhöhen.

Literatur

„Selection of Competitive and Efficient Rhizobia Strains for White Clover,“ Gerónimo Cardozo et al. (2019), *Frontiers in Microbiology* 10, 768.

Die effektive Besiedlung der Pflanzenwurzeln durch Rhizobien hat sich in den Verkapselung-Versuchen als problematisch erwiesen. Die hergestellten und verwendeten Granulate und Impfmittel wiesen in der Anwendung zudem keine ausreichende Langzeit-Lagerstabilität auf. Die Lebensfähigkeit der Rhizobienstämme konnte auch nicht signifikant erhöht werden (3-4 Monate). Die trotz doppelter Verkapselung mit beiden Hydrogelen suboptimale mechanische Stabilität trotz doppelter Verkapselung scheint an der nicht ausreichenden Wechselwirkung zwischen Rhizobien und Polysacchariden zu liegen. Mit der niedrigen Wechselwirkung hat auch die nicht ausreichende Wasserhaltungskapazität der Hydrogele zu tun. Insgesamt ist die ionische Wechselwirkung mit Chitosan aber signifikant höher als mit Alginaten. Die Untersuchungen zur Freisetzung der Rhizobien aus den Kapseln, die ein ökologisches Nährstoffmanagement sowie eine erhöhte Wasserhaltekapazität ermöglichen sollen, wurden mit Änderung des pH-Werte (pH 5 - 8) durchgeführt. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied.

Arbeitspaket 5: Vermarktungskonzept

Neben Flieder und Rhododendron wurden Obstgehölze wie Feige, Maulbeere, Johannisbeere, Apfel und Kirsche mit Mikroklees als Untersaat getopft. Die Pflanzen sollen im eigenen Onlineshop zum Verkauf angeboten und der Nutzen von Mikroklees in Baumschulcontainer dargestellt werden.



Bewertung zum Einsatz in der Baumschulpraxis (Baumschulberatungsdienst)

Aktuell nutzen Baumschulbetriebe zur Substratabdeckung vorwiegend verschiedene Mulchabdeckmaterialien. Mittlerweile ist die Ausbringung bei Töpfen bis ca. 10 Liter maschinell möglich.

Die befragten Betriebsinhaber waren bei der Verwendung von Mikroklee skeptisch. Sie befürchten, dass die Ausbringung der Saat nicht leicht zu automatisieren ist. Hier gibt es also in Zukunft noch Versuchs-, und Forschungsbedarf.

Weitere Vorbehalte sind

- Fehlende Akzeptanz bei den Abnehmern (Großhändler)
- Nährstoffkonkurrenz
- Momentabgenutzte Klone wachsen noch zu hoch
- Nachträgliche Verunkrautung durch Gras
- Evtl. Schwierigkeiten beim Pflanzenschutz durch verstärktem Bienenflug
- Schwierigkeiten bei der Nachdüngung der Kulturpflanzen

Akzeptanz beim Gartencenter (Abnehmer):

Grundsätzlich wird eine Begrünung von Endverbrauchern für gut befürwortet. Jedoch dürfe das Produkt dadurch nicht viel teurer werden. Zusätzlich befürchtet man erhöhte Werbe-, bzw. Informationskosten, um das Produkt entsprechend für den Kunden interessant zu machen. Oftmals wurde auch bei den Abnehmern die Höhe des Kleeaufwuchses als noch zu hoch empfunden.

Beurteilung:

Das Thema „Untersaat“ ist grundsätzlich bei den Abnehmern der Gehölze platzierbar, da positiv besetzt (z.B. verringerter Herbizideinsatz).

Die Herausforderungen liegen in der richtigen Sortenwahl (Klonauswahl), sowie in der notwendigen automatisierten Ausbringung der Saat auf den Töpfen. Besonders bei Topfgrößen unter 10 Liter wird das ein Hauptthema sein. Bei Solitärpflanzen wird eine Begrünung der Topfoberfläche eher möglich sein und auch eher in der Praxis Akzeptanz finden. Hier spielt die Aufwuchsgröße der Kleesorte eine nicht ganz so große Rolle. Allerdings wird bei Solitärpflanzen der Zuflug von Fremdsaaten, sowie die Stabilität und Freisetzung verkapselter Bakterien ein nicht unerhebliches Problem darstellen.

Das Projekt „Mikroklee“ hat gezeigt, dass Klee großes Potential für eine Begrünung der Substratoberfläche hat. Die Suche nach kompakt wachsenden Sorten (Züchtung), ist ein wichtiger Punkt für weitere Forschungsprojekte. Ebenso muss weiter versucht werden, einen möglichst effektiven Bakterienstamm und eine stabile Verkapselung zu finden. Sobald hier Erfolge zu verzeichnen sind, halten wir eine größer angelegte Umfrage im Gartencenterbereich (Abnehmer) für sinnvoll. Ebenso kann parallel an der automatisierten Ausbringung der Saat an der Topfmaschine gearbeitet werden

2.4.4 Beitrag des Ergebnisses zu förderpolitischen EIP-Themen

Die im Rahmen unserer Operationellen Gruppe (OG) durchgeführten gemeinsamen Entwicklungen sollen zu einer schnellen und zielgerichteten Umsetzung der agrarwissenschaftlichen Forschungsergebnisse von Universität, piccoplant und BiotechNord führen. Durch die Firma piccoplant als Partner ist sichergestellt, dass die landwirtschaftliche Praxis im Rahmen der Innovationsprozesse aktiv mitgestaltet wird. Die durchgeführten Experimente mit Aufgabenstellungen aus der Praxis und die entwickelten Innovationen sind als anwendungsorientierte Lösungen der Schwerpunkt des Projektes.

2.4.5 Nebenergebnisse

Es sind keine Nebenergebnisse, weder Prozesse noch Produkte als anwendungsorientierte Lösungen festgestellt worden.

2.4.6 Arbeiten die zu keinem Ergebnis geführt haben

Die doppelte Verkapselung ergab bezüglich der Freisetzung der Bakterien über den pH-Wert keine befriedigenden Ergebnisse.

2.4.7 Mögliche weitere Verwendung von Investitionsgütern

Es sind keine Investitionsgüter im Rahmen des Projektes beschafft wurden.

2.5 Nutzen der Ergebnisse für die Praxis

Es ergab sich eine signifikante Verringerung der Wildkräuter ohne Herbizideinsatz.

Durch die Verdunstung der Kleeoberfläche kam es zu einer leichten Senkung der Temperatur.

Der Einsatz von Dünger konnte deutlich verringert werden.

2.6 Geplante Verwertung und Nutzung der Ergebnisse

Die Wirkung des Mikroklees ist eindeutig positiv zu beurteilen. Einziger Nachteil könnte sein, dass sowohl Großhändler als auch Endverbraucher den Klee als Unkraut betrachten. Dies hat zur Folge, dass große Händler eher skeptisch sind, da das Produkt zu sehr erklärungsbedürftig ist. Da wir gleichzeitig ökologisch orientierte Endverbraucher sehen, zeigt eine große Akzeptanz sowohl für den ökologischen Produktionsprozess als auch im eigenen Garten (Bodendecker oder Etablierung einer Bienenweide).

Diese Eigenschaften können aber im firmeneigenen Webshop klar erläutert werden. Diese Erläuterungen und einen Ausblick auf das Kaufverhalten könnten so analysiert werden.

2.7 Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit

Aufgrund der bisherigen Ergebnisse sollen folgende Aspekte nach Abschluss des Projektes wissenschaftlich untersucht werden:

- Zeitpunkt der Applikation der Bakterien
- Art der Verkapselung
- Weitere Arten an Rhizobakterien
- Weitere Polysaccharide zur Verkapselung (einfach/doppelt)
- Freisetzung der Bakterien
- Weitere Rhizobien für die Verkapselung
- Verstärkte N-Fixierung und Freisetzung
- Im Rahmen der wirtschaftlichen Anschlussfähigkeit soll der Einsatz von Leguminosen weiter etabliert werden. Dies soll sowohl für die Befestigung von Randbereichen (statt Bodenversiegelung) als auch für die Produktion von Containergehölzen dienen.

2.8 Kommunikations- und Disseminationskonzept

Für das Projekt wurde eine eigene Webseite erstellt (www.mikroklee.com) und über die Webseite von piccoplant zusätzlich über das Projekt informiert. Die Universität Oldenburg hat zudem einen Artikel über die sensorischen Aspekte der Bodenfeuchtemessung veröffentlicht (*Detecting effects on soil moisture with Guerilla Sensing*). Die Versuche in diesem Artikel wurden im Rahmen des Projektes im Arbeitspaket 3. Wasserversorgung durchgeführt. Ein weiterer Artikel über Mikroklee ist in Arbeit. Im Rahmen des EIP-Agri Netzwerks wurde auch ein Poster veröffentlicht. (NML 2024, Hannover)

Vermeidung von Herbiziden und chemischer Stickstoffdüngung:



Mikroklee in der Baumschulwirtschaft

Becker A., Albach D., Englisch, U. und Haase. E.
Piccoplant GmbH und Universität Oldenburg



Einführung

Zur Bekämpfung von Wildkräutern kommen synthetische Herbizide zum Einsatz, was mit hohen Auflagen der Behörden und fehlender Akzeptanz in der Öffentlichkeit einher geht. Der alternative Einsatz von Rindenmulch als Bodenabdecker führt jedoch wiederum zu einer vermehrten Stickstoffzehrung durch bakterielle Umsetzung.



Symbiose Klee mit Rhizobakterien

Klee geht wie andere Leguminosen auch eine Symbiose mit Bakterien (Rhizobien) ein, die sich in Knöllchen an den Wurzeln ansiedeln. Diese Rhizobien können Stickstoff aus der Luft fixieren und im Klee zur Verfügung stellen.

Durch Zerfall der Knöllchen wird der Stickstoff wiederum dem Boden zugeführt.



Ökologischer Nutzen und Ziele

- Verdrängung von Wildkräutern
- Reduktion der chemischen Stickstoffdüngung
- Bindung von Stickstoff aus der Luft durch Knöllchenbakterien
- Verbesserung der Bodenfeuchtigkeit und des Mikroklimas
- Zusätzliche Kleebiomasse führt zu einem positiven Effekt auf die Treibhausgasbilanz.

Resultate

Die Applikation von Mikroklee und dessen Auswirkung auf das Stickstoffregime und die Wasserführung werden im Rahmen des Projektes untersucht. Als großer Vorteil der Bodenabdeckung zeigt sich, dass signifikant weniger Wasser aus dem Boden verdunstet. Die Bodenabdeckung von Containern durch verschiedene Kleearten könnte die Bereitstellung von Stickstoff, die Unterdrückung von Unkraut, und die Bodenfeuchtigkeit verbessern. Aktuell wird in einem Langzeitversuch die Auswirkung von Mikroklee auf die Bodenfeuchtigkeit untersucht. Zudem werden verschiedene Verkapselungen mit Biopolymeren untersucht.

