Schlussbericht

zum Verbundvorhaben

Thema:

Züchtung, Anbau und Verwertung von Russischem Löwenzahn (*Taraxacum koksaghyz*) – Weiterentwicklung der Wildpflanze zum nachwachsenden Industrierohstoff (TAKOWIND II)

Zuwendungsempfänger:

ESKUSA GmbH
Bogener Str. 24, 94365 Parkstetten

Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Institut für Biologie und Biotechnologie der Pflanzen (IBBP)
Schlossplatz 8, 48143 Münster

Julius Kühn Institut
Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftliche Kulturen (ZL)
Rudolf-Schick Platz 3a, 18109 Groß Lüsewitz

Julius Kühn Institut
Institut für die Sicherheit Biotechnologischer Verfahren bei Pflanzen (SB)
Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

Hortilab (Hortilab)
Plinderheide 57, 48291 Telgte

Continental Reifen Deutschland GmbH (Continental)
Vahrenwalder Straße 9, 30165 Hannover

Universität Regensburg
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie (IPTC)
Universitätsstr. 31, 93040 Regensburg

Synthomer Deutschland GmbH (Synthomer)
Werrastraße 10, 45768 Marl

Autor: Dr. rer. hort. Fred Eickmeyer

Förderkennzeichen: **22024015, 22008916, 22009116, 22009216, 22009416, 22009516, 22009616 und 22009716**

Laufzeit: **01.10.2016** bis **31.01.2020**

Datum der Erstellung: **08.04.2021**

Gefördert durch:

Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft

aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger des BMEL für das Förderprogramm Nachwachsende Rohstoffe unterstützt. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Inhaltsverzeichnis

I. Ziele 2
1. Aufgabenstellung 4
2. Stand der Technik 6
3. Zusammenarbeit mit anderen Stellen 11
II. Ergebnisse 12
1. Erzielte Ergebnisse 12
Arbeitspaket 1: Züchtung 12
Arbeitspaket 2: Züchtungsmethodik 27
Arbeitspaket 3: Agronomie und Pilotanbau 43
Arbeitspaket 4: Rohstoffverarbeitung und Produktcharakterisierung 65
2. Verwertung 76
Beitrag zu den förderpolitischen Zielen 78
Wirtschaftliche Erfolgsaussichten 78
Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten 79
Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit 79
3. Erkenntnisse von Dritten 81
4. Veröffentlichungen 81
III. Anhang - Kurzdarstellung der Teilvorhaben 83
Teilvorhaben 1: Züchtung (FKZ 22024015) 83
Teilvorhaben 2: Fortpflanzungs-Mechanismen bei Taraxakum koksaghyz (FKZ 22008916) 86
Teilvorhaben 3: Optimierung agronomischer Maßnahmen und Monitoring des invasiven Potentials beim Anbau von Russischem Löwenzahn (FKZ 22009116) 88
Teilvorhaben 4: Entwicklung molekularer Marker und genetische Kartierung relevanter Merkmale für innovative Züchtungsstrategien (FKZ 22009216) 90
Teilvorhaben 6: Vermehrung und Polyploidisierung (FKZ 22009416) 92
Teilvorhaben 7: Analyse von Kautschukproben und -mischungen sowie des Alterungsverhaltens (FKZ 22009516) 94
Teilvorhaben 8: Lagerung, Extraktion und Aufkonzentration der Rohlatices (FKZ 22009616) 95
Teilvorhaben 9: TKS Latex als Industrierohstoff (FKZ 22009716) 97

Schlussbericht

I. Ziele

Naturkautschuk ist ein ausgesprochen elastisches Biopolymer, das in mannigfaltigen Produkten des täglichen Lebens eine Anwendung findet. Der globale Markt für Naturkautschuk besaß im Jahr 2019 ein Volumen von 15,2 Mio. Tonnen. Für das Jahr 2027 wird ein Marktwert von rund 38 Milliarden US$ prognostiziert. Diese Mengen und Preise stellen die Grundlage für einen Markt von mehreren hundert Milliarden US$ für Kautschukprodukte dar, mit Reifen als Haupterzeugnis.

Bis 2025 wird ein Bedarf von 20,1 Mio. Tonnen pro Jahr prognostiziert; 70% davon gehen in die Reifenindustrie. Die restlichen 30 % werden zu verschiedensten Artikeln verarbeitet (z.B. Haushalt, Automobil, Medizintechnik). Bisher konnten die exzellenten technischen Eigenschaften des Naturkautschuks von erölbasierten Synthesekautschuken nicht erreicht werden.

Die wichtigste Quelle für Naturkautschuk und -latex ist der Kautschukbaum *Hevea brasiliensis* mit Erträgen von 500 bis 1500 kg pro Hektar. Dieser Baum wächst nur in einem engen geographischen Gürtel um den Äquator und seine Kultivierung erfordert hohe Niederschlagsmengen und hohe Temperaturen. Die bis 2024 zusätzlich benötigten Anbauflächen von *Hevea brasiliensis* werden auf 4,3 – 8,5 Millionen ha geschätzt [1]. Sie liegen in Gebieten mit derzeit überwiegend tropischem Regenwald in Südostasien und Südwestchina, allesamt Gebiete mit einer großen und daher unbedingt schützenswerten biologischen Diversität. Angesichts des stark steigenden Bedarfs an Naturkautschuk und –latex sprechen geologische, klimatische, ökologische und politische Gründe dringend dafür, schnellstmöglich eine nachhaltige Alternative zu *H. brasiliensis* zu entwickeln.

Weltweit werden dazu im Wesentlichen zwei Pflanzenarten erforscht: Die Guayule (*Parthenium argentatum*) und der Russische Löwenzahn (*Taraxacum koksaghyz*). Diese beiden Arten produzieren Kautschuk mit vergleichbaren Eigenschaften zum *H. brasiliensis* Pendant [2;3].

T. koksaghyz wurde bereits zwischen den beiden Weltkriegen intensiv als mögliche Kautschukquelle erforscht [4] und Erträge von bis zu 500 kg ha^{-1} per annum wurden berichtet. Gegenwärtig ist diese Art als alternative Kautschukquelle national und international wieder in den Fokus der Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten gerückt.

Während in den USA das PENRA-Konsortium (http://oardc.osu.edu/penra/) die gesamte Wertschöpfungskette bearbeitet, fanden/finden vergleichende Arbeiten in Europa in den EU-Projekten EU-PEARLS (www.eu-pearls.eu) und DRIVE-4-EU (www.drive4eu.eu) statt. Über Aktivitäten aus China und Kasachstan wird von unseren russischen Projektpartnern berichtet. In Deutschland wurden in den letzten Jahren enorme Fortschritte in den nationalen Projekten TARULIN (BMBF/PTJ/FKZ0315971X) und TAKOWIND (BMEL/FNR/FKZ22011111 ff. und FKZ22002112) sowie im Industrieprojekt RUBIN zur Entwicklung des Russischen Löwenzahns erzielt. Im Projekt EVITA (BMBF/PTJ/FKZ031A285X) wurde eine umfangreiche Genbank-Kollektion von *T. koksaghyz* des Vavilov-Institutes der Pflanzenindustrie in St. Petersburg charakterisiert. Die genannten Projekte ergänzten sich geradezu ideal und zeigten sehr deutliche Synergieeffekte.

Trotz der – im Vergleich zu den oben genannten konkurrienden Konsortien – erst sehr kurzen Zusammenarbeit der nationalen Partner ist an fast allen Punkten der Wertschöpfungskette ein Vorsprung erreicht worden, den es zu sichern und auszubauen galt. Die Antragsteller wollten auf dem Erreichten aufbauend weiter prozess- und produktentwicklungsorientiert zusammenarbeiten und die Wertschöpfungskette erfolgreich weiterentwickeln. Dazu sollte die Züchtung beschleunigt und intensiviert und die resultierenden Pflanzen der direkten Nutzung zugeführt werden. Die erklärten Ziele der Projektpartner sind die Kommerzialisierung des Anbaus und die Verwertung der Rohstoffe aus

Russischem Löwenzahn in großem Maßstab. Zum zügigen Erreichen dieser Ziele bedurfte es jedoch weiterer großer Anstrengungen, die im berichteten Vorhaben in folgenden 4 Arbeitspaketen weitergeführt bzw. begonnen wurden:

- Züchtung (Ertragssteigerung durch Homozygotisierung, Polyploidisierung, Beschleunigung durch Winterzwischenvermehrung)
- Züchtungsmethodik (Genetik und molekulare Werkzeuge, DNA-Marker)
- Agronomie und Pilotanbau (Aussaat bis Rohstoffkonservierung, Monitoring)
- Rohstoffverarbeitung und Produktcharakterisierung (Kautschuk, Latex)

Ein Unterauftrag an Praxislandwirte beinhaltete die Wurzelproduktion von *T. koksaghyz* zur anschließenden Extraktion von Flüssiglatex.

1. Aufgabenstellung

Die Aufgabenstellung umfasste mehrere Arbeitsgebiete entlang der Wertschöpfungskette.

- Erforschung zuchtmethodischer Grundlagen
- Weiterentwicklung, Validierung und Nutzung angewandter Zuchtmethodik
- Weiterentwicklung und Beschleunigung eines Zuchtschemas
- Optimierung des Praxisanbaus
- Beurteilung einer potenziellen Invasivität neuen Zuchtmaterials
- Beurteilung der Kautschuk-Qualitätseigenschaften
- Beurteilung der Verfahrenskette der Flüssiglatexextraktion

Diese Arbeitsgebiete wurden von den 8 Verbundpartnern in ihren Teilvorhaben in den nachfolgend genannten vier übergeordneten Arbeitspaketen (workpackages = WP 1-4) mit zugeordneten Aufgaben (tasks = T1 bis X) bearbeitet. In Klammern sind die verantwortlichen Partner hinter den tasks angegeben:

WP1 – Züchtung

T1 Erhöhung des Kautschukertrages (ESKUSA)

T2 Kombination der Merkmale hoher Kautschukgehalt und Vernalisationsbedürfnis (ESKUSA)

T3 Beschleunigung der Züchtung durch Winterzwischengenerationen (ESKUSA)

T4 Polyploidisierung (HORTILAB, WWU, ESKUSA)

T5 In-vitro Vermehrung und Klonerhaltung (HORTILAB)

T6 Kreuzung von Elitelinien mit Inzuchtlinien und selbstkompatiblen *Taraxacum* spec. (WWU, ESKUSA, JKIZL)

T7 Integration der Ergebnisse aus Zuchtmethodik, Agronomie, Verwertung in Zuchtmaterial und Zuchtschema - Koordination (ESKUSA)

WP2 – Züchtungsmethodik

T1 Inzuchtlinien und Kompatibilitätsmechanismus (WWU, JKIZL)

T1.1 Erzeugung von T. koksaghyz Inzuchtlinien **(WWU, JKIZL)**

T1.2 Auffinden diploider selbstkompatibler Taraxacum spec. **(WWU)**

T1.3 Analyse des Inkompatibilitätsmechanismus **(WWU)**

T2 Merkmalsorientierte Genetische Kartierung und Molekulare Markerentwicklung (JKIZL)

T2.1 Ermittlung des Kautschukgehaltes innerhalb einer spaltenden F1-Kartierungspopulation **(JKIZL, JKISB, ESKUSA)**

T2.2 QTL-Analyse aus gewonnenen Felddaten zum Kautschukgehalt **(JKIZL)**

T2.3 Erfassung von Mehltautoleranz innerhalb einer Kartierungspopulation **(JKIZL, ESKUSA)**

WP3 - Agronomie und Pilotanbau

T1 Verbesserung/Sicherung des Feldaufganges nach Direktsaat (JKISB, ESKUSA)

T2 Anbauversuche zu Düngung, Aussaat- und Erntezeitpunkt (JKISB)

T3 Monitoring Invasives Potenzial (JKISB, JKIZL)

T4 Betreuung des Praxisanbaus (ESKUSA)

WP4 - Rohstoffverarbeitung und Produktcharakterisierung

T1 Beurteilung neues Zuchtmaterial (CONTI)

T1.1 Beurteilung der Kautschukqualitäten aus weiterentwickeltem Zuchtmaterial **(CONTI)**

T1.2 Beurteilung der Kautschukmischungen aus weiterentwickeltem Zuchtmaterial **(CONTI)**

T2 Analyse Alterungsverhalten Tks-Kautschuk (CONTI)

T2.1 Charakterisierung der Kautschukproben vor Alterung **(CONTI)**

T2.2 Einfluss im Aufarbeitungsprozess **(CONTI)**

T2.3 Alterungsverhalten von Kautschukmischungen **(CONTI)**

T2.4 Alterungsverhalten im Produkt **(CONTI)**

T3 Verfahrenskette Latexextraktion (IPTC, Synthomer)

T3.1 Behandlung/Lagerung der Frischwurzeln zur erntezeit-unabhängigen Latexgewinnung **(IPTC, Synthomer)**

T3.2 Lagerung der Rohlatices **(IPTC)**

T3.3 Ammoniakfreie Extraktion **(IPTC, Synthomer)**

T3.4 Aufkonzentration Technik und Upscaling **(IPTC, Synthomer)**

T3.5 Durchführung von Handschuhtauchversuchen / Demonstrator **(Synthomer)**

T3.6 Entwurf für industrielles Upscaling inkl. ökonomischer Betrachtung **(IPTC, Synthomer)**

Ablauf des Projektes

Die halbjährlichen TAKOWIND Projekttreffen wurden während der Laufzeiten dieser Projekte gemeinsam mit den Partnern der Konsortien TARULIN und EVITA durchgeführt. So konnten die Abgrenzungen zwischen den Projekten eingehalten, Schnittstellen zwischen den Projekten besser ausgemacht und Material- und Informationsflüsse gezielter organisiert, genutzt und gesteuert werden. Die Zusammenarbeit zwischen den Projektpartnern und die Verzahnung der Aktivitäten verlief sehr gut und entsprach den Erwartungen an das Projekt.

Die Erforschung von Grundlagen, die Methodenentwicklung und das Zuchtprogramm verliefen parallel. Es erfolgte ein ständiger Informationsaustauch zwischen den Partnern. Neu entwickelte Methoden wurden z.T. während der Projektlaufzeit schon in das Zuchtprogramm integriert. Generierte Erkenntnisse wurden laufend in das Design des Zuchtprogrammes und die Kreuzungsplanung übernommen und - sofern geeignet - sofort in die landwirtschaftliche Praxis umgesetzt.

Die Umsetzung der Projektergebnisse soll eine wissensbasierte und effiziente Züchtung zur schnellen Sortenentwicklung im internationalen Wettbewerb durch zügige Selektion wichtiger Eigenschaften unter Nutzung biotechnologischer Verfahren maßgeblich fördern.

2. Stand der Technik

Im Rahmen der Forschungsprojekte EU-PEARLS (www.eu-pearls.eu) und PENRA in den USA (http://oardc.osu.edu/penra/) sind die wesentlichen Grundlagen zur Funktion der Kautschukbiosynthese in *T. koksaghyz* erarbeitet worden, und erste Schritte zur Selektion auf hohe Kautschukgehalte wurden initiiert. In einem vorbereitenden Projekt „Entwicklung von kaukasischem Löwenzahn (*Taraxacum koksaghyz*) als nachwachsender Industrierohstoff mit Mehrfachnutzung – Vorbereitende Arbeiten in Züchtung und Analytik“ (FKZ: FNR 22011111 ff.) wurden diese Grundlagen aufgegriffen, und es wurde mit der Umsetzung und Nutzbarmachung in einem nationalen Zuchtprogramm zur Entwicklung geographisch, klimatisch und agronomisch angepasster Sorten begonnen.

Aufgrund der Integration der gesamten Wertschöpfungskette sind nach eigener Einschätzung die Arbeiten des berichtenden Konsortiums weltweit führend, haben sie doch nicht zuletzt mit der Entwicklung von Prototypen für Hochleistungsprodukte bereits internationale Maßstäbe gesetzt. Die in den Projekten TAKOWIND und TARULIN bereits erreichten, wesentlichen Ergebnisse waren:

Es konnten mittels genomischer und proteomischer Ansätze die entscheidenden Stoffwechselschritte der Kautschukbiosynthese in *Taraxacum koksaghyz* aufgeklärt und Pflanzen mit agronomisch und wirtschaftlich wichtigen Mutationsallelen erzeugt und identifiziert werden (WWU / IME / MPI-PZ). Ferner wurden schlagkräftige Analyseverfahren zur Kautschuk- und Inulinbestimmung in kleinsten Wurzelmengen bis zur Serienreife entwickelt (numares/lifespin). Populationen zur Erzeugung genetischer Karten konnten aufgebaut und bearbeitet werden (JKI-ZL/ESKUSA). Gewebekulturtechniken zur Erhaltung, Vermehrung und Chromosomenverdoppelung wurden etabliert (Hortilab) und der Kautschukgehalt in einzelnen Familien gegenüber dem Wildmaterial mehr als verdoppelt (ESKUSA). Verschiedene Formen interspezifischer Hybriden wurden durch Kreuzung mit *T. officinale* erzeugt, die ein deutlich höheres Wurzelertragspotenzial versprechen, als dies bei reinem *T. koksaghyz* möglich ist (ESKUSA). Außerdem wurden polyploide Pflanzen erzeugt (Hortilab), die bereits in der älteren Literatur als ertragsfähiger beschrieben wurden. Hinsichtlich des Anbaus wurden Erkenntnisse zur Düngung, Pflanzenschutz, Bestandesdichte, Aussaatzeitpunkt, Aussaatstärke und Erntezeitpunkt gesammelt (JKI-SB). Es konnte eine Saatguterntemaschine entwickelt werden, welche die Ernte von größeren Saatgutmengen ermöglicht, welche wiederum eine Direktsaat anstelle einer Jungpflanzenvorkultur und Pflanzung erlauben (Gäubodenkräuter). Erste Produktionsflächen in Praxisbetrieben konnten etabliert werden und aus den Beständen ausreichende Mengen Wurzelmaterials gewonnen werden (ESKUSA/Gäubodenkräuter), um Prozessierungsschritte zur Kautschuk-, Latex- und Inulingewinnung (FhG, Uni Stuttgart) durchzuführen und zu variieren. Schließlich wurden nach der Verarbeitung die ersten Reifen mit einem Laufstreifen, der als einzigen Kautschuk Löwenzahnkautschuk enthält, umfassend getestet und der Öffentlichkeit präsentiert (Continental), und flüssiger Latex diente zur Herstellung erster Handschuhmuster (Synthomer). Die erzeugten Inulinqualitäten (Fructose-Kettenlängen) sind höher als die vom Chicoree (*Cichorium intybus*) (Südzucker).

Im Projekt TAKOROD wurde zwischenzeitlich mit der Entwicklung einer schlagkräftigen Erntemaschine begonnen. Beteiligt daran sind die Firmen Continental und Holmer (Zuckerrübenroder) sowie die Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft – Institut für Landtechnik.

Verwendete Fachliteratur sowie benutzte Informations- und Dokumentationsdienste

ESKUSA

- Kleinhenz M (2010): Taraxacum koksaghyz as a sustainable source of rubber and inulin: development of biological feedstocks and root processing and rubber quality validation. Vortrag auf der Tagung „Future of natural rubber“ des Projektes EU-PEARLS, Oktober 2010, Montpellier.
- Poddubnaja-Arnoldi V (1939a): The development of pollen and embryo-sac in interspecific hybrids of Taraxacum. C.r. Acad. Sci. U.R.S.S. 24, 374. (zitiert bei Richards (1970)
- Poddubnaja-Arnoldi V (1939a): Embryogenesis in remote hybridization in the genus Taraxacum. C.r. Acad. Sci. U.R.S.S. 24, 382. (zitiert bei Richards (1970)
- Post JJ, van Deenen N, Fricke J, Kowalski N, Wurbs D, Schaller H, Eisenreich W, Huber C, Twyman RM, Prüfer D, Schulze Gronover C (2012): Laticifer specific cis-prenyltransferase

silencing affects the rubber, triterpene and inulin content of Taraxacum brevicorniculatum. Plant Physiology 158:1406-1417.

- Tas ICQ, Van Dijk PJ (1999): Crosses between sexual and apomictic dandelions (Taraxacum). I.The inheritance of apomixis. Hereditiy 83, 704-714.
- Ulmann M (1951): Wertvolle Kautschukpflanzen des gemäßigten Klimas – dargestellt auf Grund sowjetischer Forschungsarbeiten. Akademie-Verlag Berlin
- Van Dijk PJ, Tas ICQ, Falque M, Bakx-Schotman T (1999): Crosses between sexual and apomictic dandelions (Taraxacum). II.The breakdown of apomixis. Hereditiy 83, 715-721.
- Richards AJ (1970): Hybridization in Taraxacum. New Phytol. 69, 1103-1121.

WWU

- Epping J, van Deenen N, Niephaus E, Stolze A, Fricke J, Huber C, Eisenreich W, Twyman RM, Prüfer D and Schulze Gronover C (2015): A rubber transferase activator is necessary for natural rubber biosynthesis in dandelion. Nature Plants, Advance Online Publication. DOI: 10.1038/nplants.2015.48

- Stolze A, Wanke A, van Deenen N, Geyer R, Prüfer D and Schulze Gronover C (2016) Development of rubber-enriched dandelion varieties by metabolic engineering of the inulin pathway. Plant Biotechnology Journal doi: 10.1111/pbi.12672

Für die Literaturrecherche zur Analyse des Selbstinkompatibilitätsmechanismus wurden alle zugänglichen Literatur-Datenbanken wöchentlich mittels PubCrawler auf Einträge zu den Schlagwörtern »Asteraceae«, »Taraxacum«, »Self-Incompatibility«, »Pollen« und Kombinationen daraus durchsucht. Angeführt wird hier eine Auswahl der für das Arbeitspaket 2 verwendeten Literatur:

- Allen, Alexandra M.; Thorogood, Christopher J.; Hegarty, Matthew J.; Lexer, Christian; Hiscock, Simon J. (2011): Pollen-pistil interactions and self-incompatibility in the Asteraceae. New insights from studies of Senecio squalidus (Oxford ragwort). In Annals of botany 108 (4), pp. 687–698. DOI: 10.1093/aob/mcr147.

- Broderick, Shaun R.; Wijeratne, Saranga; Wijeratn, Asela J.; Chapin, Laura J.; Meulia, Tea; Jones, Michelle L. (2014): RNA-sequencing reveals early, dynamic transcriptome changes in the corollas of pollinated petunias. In BMC plant biology 14, p. 307. DOI: 10.1186/s12870-014-0307-2.

- Burrows, Benjamin; McCubbin, Andrew (2018): Examination of S-Locus Regulated Differential Expression in Primula vulgaris Floral Development. In Plants (Basel, Switzerland) 7 (2). DOI: 10.3390/plants7020038.

- Ezura, Kentaro; Ji-Seong, Kim; Mori, Kazuki; Suzuki, Yutaka; Kuhara, Satoru; Ariizumi, Tohru; Ezura, Hiroshi (2017): Genome-wide identification of pistil-specific genes expressed during fruit set initiation in tomato (Solanum lycopersicum). In PloS one 12 (7), e0180003. DOI: 10.1371/journal.pone.0180003.

- Hiscock, S. (2000): Self-incompatibility in Senecio squalidus L. (Asteraceae). In Annals of botany 85, pp. 181–190. DOI: 10.1006/anbo.1999.1058.

- Hiscock, Simon J.; Doughty, James; Dickinson, Hugh G. (1995): Synthesis and phosphorylation of pollen proteins during the pollen-stigma interaction in self-compatible Brassica napus L. and self-incompatible Brassica oleracea L. In Sexual plant reproduction 8 (6), pp. 345–353. DOI: 10.1007/BF00243202.

- Hiscock, Simon J.; Hoedemaekers, Karin; Friedman, William E.; Dickinson, Hugh G. (2002): The Stigma Surface and Pollen-Stigma Interactions in Senecio squalidus L. (Asteraceae) following Cross (Compatible) and Self (Incompatible) Pollinations. In International Journal of Plant Sciences 163 (1), pp. 1–16. DOI: 10.1086/324530.

- Hiscock, Simon J.; McInnis, Stephanie M. (2003): Pollen recognition and rejection during the sporophytic self-incompatibility response. Brassica and beyond. In Trends in plant science 8 (12), pp. 606–613. DOI: 10.1016/j.tplants.2003.10.007.

JKI

Für die Annotation von Transkriptsequenzen zu Proteindatenbanken wurden folgende öffentlich zugängliche Portale genutzt:

- NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST): Christiam Camacho et al. (2009). BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics. 15;10:421. http://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-10-421
- UniProt: The UniProt Consortium UniProt: a hub for protein information Nucleic Acids Res. 43: D204-D212 (2015)

Für die bioinformatische Auswertung und Bearbeitung von Sequenzdaten wurde die JKI-interne Instanz der Web-Plattform Galaxy genutzt:

- Blankenberg D, Von Kuster G, Coraor N, Ananda G, Lazarus R, Mangan M, Nekrutenko A, Taylor J. "Galaxy: a web-based genome analysis tool for experimentalists". Current Protocols in Molecular Biology. 2010 Jan; Chapter 19:Unit

Außerdem wurde folgende Fachliteratur verwendet:

- Applied Biosystems. (2009). A Guide to High Resolution Melting (HRM) Analysis Heterozygote Temperature (C) Hom - wild type Hom - varia, (C).
- Blears, M., & Grandis, S. De. (1998). Amplified fragment length polymorphism (AFLP): a review of the procedure and its applications. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology,21(3),99–114. Retrieved from http://link.springer.com/article/10.1038/sj.jim.2900537
- Carvalho, A. (2014). SNP discovery in pea : A powerful tool for academic research and breeding
- Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B., & Pang, E. C. K. (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. Euphytica, 142(1-2), 169–196. http://doi.org/10.1007/s10681-005-1681-5
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. PLoS ONE, 6(5), 1–10. http://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379
- Esfahani, S. T., Shiran, B., & Balali, G. (2009). AFLP markers for the assessment of genetic diversity in european and North American potato varieties cultivated in Iran. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 9, 75–86.
- Etter, P. D., Bassham, S., Hohenlohe, P. a, Johnson, E. a, & Cresko, W. a. (2011). Molecular Methods for Evolutionary Genetics. Molecular Methods for Evolutionary Genetics, Methods in Molecular Biology, Vol. 772, 772(6), 157–178. http://doi.org/10.1007/978-1-61779-228-1
- Grattapaglia, D., & Sederoff, R. (1994). Genetic linkage maps of Eucalyptus grandis and Eucalyptus urophylla using a pseudo-testcross: Mapping strategy and RAPD markers. Genetics, 137(4), 1121–1137. http://doi.org/10.1007/s11033-010-0612-2
- Jansen, J. (2005). Construction of linkage maps in full-sib families of diploid outbreeding species by minimizing the number of recombinations in hidden inheritance vectors. Genetics, 170(4), 2013–2025. http://doi.org/10.1534/genetics.105.041822
- Leggett, R. M., & MacLean, D. (2014). Reference-free SNP detection: dealing with the data deluge. BMC Genomics, 15(Suppl 4), S10. http://doi.org/10.1186/1471-2164-15-S4-S10
- Ma, X. F., Jensen, E., Alexandrov, N., Troukhan, M., Zhang, L., Thomas-Jones, S., … Flavell, R. (2012). High resolution genetic mapping by genome sequencing reveals genome duplication and tetraploid genetic structure of the diploid miscanthus sinensis. PLoS ONE, 7(3). http://doi.org/10.1371/journal.pone.0033821

- Meyer, M., & Kircher, M. (2010). Illumina sequencing library preparation for highly multiplexed target capture and sequencing. Cold Spring Harbor Protocols, 5(6). http://doi.org/10.1101/pdb.prot5448
- Ritter, E., Gebhardt, C., & Salamini, F. (1990). Estimation of recombination frequencies and construction of RFLP linkage maps in plants from crosses between heterozygous parents. Genetics, 125(3), 645–654.
- Van Ooijen, J. W. (2006). JoinMap ® 4. JoinMap, (July), Software for the calculation of genetic linkage maps
- Vuylsteke, M., Peleman, J. D., & van Eijk, M. J. T. (2007). AFLP technology for DNA fingerprinting. Nature Protocols, 2(6), 1387–1398. http://doi.org/10.1038/nprot.2007.175
- Wendler, N., Mascher, M., Nöh, C., Himmelbach, A., Scholz, U., Ruge-Wehling, B., & Stein, N. (2014). Unlocking the secondary gene-pool of barley with next-generation sequencing. Plant Biotechnology Journal, 12(8), 1122–1131. http://doi.org/10.1111/pbi.12219
- Wu, R., Ma, C.-X., Painter, I., & Zeng, Z.-B. (2002). Simultaneous Maximum Likelihood Estimation of Linkage and Linkage Phases in Outcrossing Species. Theoretical Population Biology, 61(3), 349–363. http://doi.org/10.1006/tpbi.2002.1577

Hortilab

- Furuno T. et al. (1993): Triterpenoid Constituents of Tissue Cultures and Regenerated Organs of Taraxacum officinale. Plant Tissue Culture Letters, 10 (3), 275-280
- Lin B., Wei X.: Tissue Culture of Taraxacum koksaghyz Rodin, 1 Rubber Research Institute, CATAS, Danzhou, Hainan 571737; 2 College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou, Hainan 570228
- Mahesh A., Jeyachandran R.: Regeneration of Taraxacum officinale through nodal explants.
- Chen H. et al. (2005): Establishment and optimization of the regeneration system for common dandelion (Taraxacum officinale Weber). Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao; 2005 Mar; 21(2):244-9.
- Greplova M., Polzerova H., Domkarova J. (2011): Procedure of in vitro mitotic polyploidization (in Solanum genus). Potato Research Institute/Havlickuv, Czech Republic.
- Nguyen Thi Phuong Thao et al. (2003): Induction of tetraploids in ornamental Alocasia through Colchicine and Oryzalin treatments. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 72, 19-25, 2003.
- PhytoTechnology Laboratories (2009): Product Information Sheet; The use of Oryzalin and Trifluralin as substitutes to Colchicine in chromosome doubling. PhytoTechnology Laboratories, P.O. Box 12205; Shawnee Mission, KS 66282-2205.
- Allum J.F, Bringloe D.H., Roberts A.V. (2007): Chromosome doubling in a Rosa rugosa Thunb. hybrid by exposure of in vitro nodes to Oryzalin: the effects of node length, Oryzalin concentration and exposure time. Plant Cell Rep. 2007 Nov, 26(11):1977-84.
- Tuyl van J., Meijer B., van Dien M.P. (1992): The use of Oryzalin as an alternative for Colchicine in in vitro chromosome doubling of Lilium and Nerine. Acta Horticulturae 325, 1992, 625-630.
- Hansen N.J.P., Andersen S.B. (1996): In vitro chromosome doubling potential of Colchicine, Oryzalin, Trifluralin and APM in Brassica napus microspore culture. Euphytica 88: 159-164, 1996.
- Murty K.S.R. et al. (2012): In vitro flowering – A review. Journal of Agricultural Technology 2012 Vol. 8(5): 1517-1536.

Continental

- Bridgestone: Bridgestone Group Environmental Report 2015, Internetquelle:

  http://www.bridgestone.com/responsibilities/environment/environmental_report/pdf/BS_Env

  Report 2015.pdf, 25.08.15, MEZ 9:20h.
- EU-PEARLS: Homepage des EU-PEARLS-Projektpartners Wageningen UR, 2015, Internetquelle:

http://www.wageningenur.nl/en/Research-Results/Projects-and-programmes/eu-pearlsprojects/About-us-1/All-partners.htm, 24.08.2015, MEZ 10:08h.

- European Commission: Artikel „Home-grown rubber to keep tyres turning“, 2015, Internetquelle: http://ec.europa.eu/research/infocentre/article_en.cfm?id=%2Fresearch%2Fstar%2Findex_en.cfm%3Fp%3Dssdrive4eu&calledby=infocentre&item=Infocentre&artid=35196&utm_source=dlvr.it&utm_medium=facebook, 24.08.15, MEZ 18:01h.
- European Commission: EU-PEARLS final report summary, 2013, Internetquelle: http://cordis.europa.eu/result/rcn/59268_en.html, 24.08.15, MEZ 10:45h.
- European Commission: EU-PEARLS periodic report summary, 2011, Internetquelle: http://cordis.europa.eu/result/rcn/46114_de.html, 24.08.15, MEZ 10:46h.
- Goodyear: Artikel „Goodyear-Forschung: Weniger Erdolanteil in Reifen dank Sojabohnen-Ol“, 2012, Internetquelle: http://www.autosieger.de/Goodyear-Forschung-Weniger-Erdoelanteil-in-Reifen-dank-Sojabohnen-Oel-article24505.html, 25.08.15, MEZ 10:44h.
- Lane, J.: Artikel „Rubber Security“, 2015, Internetquelle: http://www.biofuelsdigest.com/bdigest/2015/03/30/rubber-security/, 24.08.15, MEZ 19:40h.
- Wilks, J.: Artikel „Die Reifenrevolution”, 2012, Internetquelle: http://de.euronews.com/2012/11/07/die-reifenrevolution/, 24.08.15, MEZ 10:00h.
- DRIVE4EU: Homepage des europaischen DRIVE4EU-Projektes, 2015, Internetquelle: http://www.drive4eu.eu/, 24.08.15, MEZ 16:12h.
- Warren-Thomas Eleanor, Paul M. Dolman and David P. Edwards (2015): Increasing Demand for Natural Rubber Necessitates a Robust Sustainability Initiative to Mitigate Impacts on Tropical Biodiversity. Conservation Letters Volume 8, Issue 4, pages 230–241, July/August 2015. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/conl.12170/full
- Job K.A. (2014): Trends in green tire manufacturing. Rubber World Magazine, Volume 3 (2014), Pages 32-38
- Rzymski, W. (2014): Extraction of natural rubber from alternative sources. KGK Kautschuk Gummi Kunststoffe, Volume 67, Issue 7-8, July-August 2014, Pages 22-27
- Whaley G. W., J. S. Bowen, Russian Dandelion (Kok-Saghyz). An Emergency Source of Natural Rubber. USDA Miscellaneous Publication 618, U.S. Government Printing Office, Washington DC, 1947.
- Surakit Tuampoemsab, Jitladda Sakdapipanich, Yasuyuki Tanaka: Influence of some non-rubber components on aging behavior, Rubber Chemistry and Technology 80 (2007), 159.
- Liengprayoon S., E. Dubreucq, K. Sriroth, F. Bonflis, L. Vaysse: Lipid composition of Hevea brasiliensis latex and dry rubber: characterization and relation with some physical properties, European Journal of Lipid Science and Technology (2013), 1.

3. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

numares AG
Am BioPark 9
93053 Regensburg
Aktivitäten in der zweiten Projekthälfte überführt in

lifespin GmbH
Am Biopark 13
93053 Regensburg

Gäubodenkräuter GmbH & Co. KG
Zwickauer Str. 12 a
94315 Straubing

Die Kautschukanalytik im Rahmen der Selektion wurde im Rahmen eines Unterauftrages mittels NMR bei der numares AG durchgeführt. Da die numares AG sich während der Projektlaufzeit neu ausgerichtet hat und auf medizinische Fragestellungen fokussiert, wurde die Pflanzenanalytik dort nicht weitergeführt. Die Arbeitsgruppe Pflanzenanalytik wurde jedoch komplett von der lifespin GmbH übernommen und innerhalb weniger Monate konnten sämtliche Protokolle von lifespin weiter als Routinen bearbeitet werden.

Die bewährte Zusammenarbeit mit den Gäubodenkräuter-Erzeugern wurde auch in diesem Projekt als Unterauftrag genutzt, um die Wurzelproduktion für die Flüssiglatexextraktion sicher zu stellen. Hier bedurfte es einer engen Abstimmung zwischen dem Ernte- und dem Extraktionsteam, um möglichst viel nicht koagulierten Latex in flüssiger Form gewinnen zu können.

II. Ergebnisse

1. Erzielte Ergebnisse

Arbeitspaket 1: Züchtung

WP1 T1 Erhöhung des Kautschukertrages

Während der Projektlaufzeit wurden 4 Selektionszyklen von *Taraxacum koksaghyz* (Tks) auf Kautschukgehalte durchgeführt. Die Elternpflanzen dazu wurden jeweils in einer Wintergeneration gekreuzt oder mittels eines Hummelvolkes als Bestäuber isoliert vermehrt. Die Nachkommenschaften derjenigen Pflanzen, die nach NMR-Analyse die höchsten Kautschukgehalte aufwiesen wurden im Frühjahr angezogen, getopft und im November/Dezember auf Wurzelgröße selektiert und für die nächste Kautschukanalyseserie beprobt. Dabei wurde je beprobter Pflanze eine Teilwurzel vergleichbarer Größe und vergleichbaren Verzweigungsgrades entnommen, getrocknet und an lifespin zur Analytik übergeben. Die beprobte Pflanze wurde wieder eingetopft und bis zum Erhalt des Kautschukergebnisses weiter kultiviert. Nach Erhalt der Kautschukwerte wurden die besten Pflanzen im Winter isoliert zwischenvermehrt und parallel in die in vitro Verklonung gegeben. So konnten schon im jeweils nächsten Jahr Kreuzungen mit den aktuellen Hochkautschukträgern durchgeführt werden.

Die erste Serie umfasste 139 analysierte Individuen aus Elitefamilien mit einem mittleren Kautschukgehalt von 5,8%. Einige ausgewählte Familien sind in Tabelle 1 exemplarisch dargestellt. Darüber hinaus wurden noch mehrere hundert Analysen in der Basispopulation durchgeführt mit einem mittleren Kautschukgehalt von 3%.

Tab.1: Kautschukgehalte von Individuen aus ausgewählten Paarkreuzungsnachkommenschaften der ersten Analyse- und Selektionsserie (Elitefamilien)

	d5	d3	d7	d9
Kreuzung	13/210x29/15	30/12x13/210	13/201x11/77	11-64-70x13/210
Mutter	13/210	30/12	13/201	11-64-70
Vater	29/15	13/210	11/77	13/210
	4,9%	10,2%	10,6%	11,0%
	7,2%	9,6%	6,8%	3,8%
	9,0%	10,4%	4,1%	6,5%
	6,6%	8,9%	3,8%	8,2%
	7,5%	5,7%	6,3%	10,0%
	9,4%	17,4%	6,2%	9,9%
	7,1%	8,2%	5,9%	8,6%
	8,0%	9,5%	4,9%	8,9%
	8,6%	9,6%	6,8%	5,4%
	8,0%	11,7%	6,1%	6,5%
	9,3%	7,8%	6,6%	7,8%
	13,1%	9,2%	8,0%	9,0%
	5,6%	7,8%	5,2%	5,8%
	7,8%	8,4%	6,3%	5,8%
	7,4%	8,3%		4,9%
	8,3%	8,4%		6,4%
	5,0%	6,3%		6,8%
	5,6%	9,2%		2,8%
	3,2%			4,6%
	3,7%			8,3%
	5,5%			1,7%
	10,8%			6,5%
	8,1%			4,5%
	8,8%			5,2%
	7,1%			6,9%
	15,8%			5,2%
	5,5%			6,4%
	8,2%			4,7%
	7,7%			7,7%
				8,2%
				5,4%
				5,7%
				7,8%
				9,5%
				11,5%
				6,8%

In der zweiten Kautschukanalyse**serie 2017/18** wurden 557 Pflanzen auf Kautschukgehalt untersucht. Im Mittel wurde ein Kautschukgehalt der untersuchten Pflanzen von 5,9 % gefunden. 107 Pflanzen aus 11 Familien hatten Kautschukgehalte > 8%. Von 106 in Winterzwischenvermehrung gegebenen Pflanzen bildeten 55 Stück Blütenstände auf denen rund 2000 Samen geerntet und im zeitigen Frühjahr 2018 empfangen werden konnten. Pflanzen mit Kautschukgehalten > 10,8 % wurden parallel zur Wintervermehrung an Hortilab zum Verklonen übergeben. 453 Klonteile aus in vitro Vermehrung von 25 Individuen wurden aus dieser Serie im Frühjahr 2018 übernommen.

In der dritten **Serie 2018/19** wurden 927 Pflanzen auf Kautschukgehalt untersucht mit einem Mittelwert von 8,0 %. Die Familie Nr. 76 wies einen Mittelwert von 10,8% auf (Tab. 2). Damit konnte erstmals die Marke von > 10% Kautschukgehalt im Mittel einer Familie erreicht werden.

Die selektierten Pflanzen gingen zur Saatguterzeugung in die Winterzwischenvermehrung.

Parallel wurden 18 Pflanzen an Hortilab zum Verklonen übergeben. 600 Klonteile aus 18 Individuen wurden aus dieser Serie übernommen.

Tab.2: Kautschukgehalte von Individuen der Familie Nr- 76 aus der zweiten Analsyse- und Slektionsserie. In dieser Familie wurde erstmals ein mittlerer Kautschukgehalt von > 10% erreicht.

Familie	Kautschukge
76	6,3%
76	7,7%
76	17,9%
76	15,0%
76	7,4%
76	8,9%
76	8,6%
76	12,1%
76	5,3%
76	16,3%
76	11,7%
76	12,8%
76	4,9%
76	5,5%
76	10,5%
76	11,2%
76	18,7%
76	9,5%
76	14,8%
Mittel	10,8%

Die vierte **Serie 2019/20** umfasste 609 Pflanzen mit einem Mittelwert von 6,6%. Dieser Mittelwert ist geringer als der mittlere Kautschukgehalt von 8,0 % im Jahr davor. Dies ist höchstwahrscheinlich überwiegend auf die kürzere Anzuchtdauer bis zur Beprobung in 2019 zurück zu führen. Die Pflanzen waren also in 2019 physiologisch jünger als in 2018. Sehr jung beprobte Pflanzen zeigten einen Mittelwert von 5,7% Kautschukgehalt. Etwas später beprobte, aber immer noch physiologisch junge Pflanzen zeigten einen mittleren Kautschukgehalt von 7,7%.

Trotzdem der frühen Beprobung konnten zwei Familien (Nr. 1331 und 1334) identifiziert werden, die einen Kautschukgehalt von im Mittel >10% aufwiesen, zwei Familien zeigten Kautschukgehalte >9% und 5 Familien zeigten Gehalte >8% (Abb. 1). 39 Pflanzen wurden an Hortilab zum Verklonen übergeben. 875 Klonteile von 39 Individuen wurden aus dieser Serie übernommen.

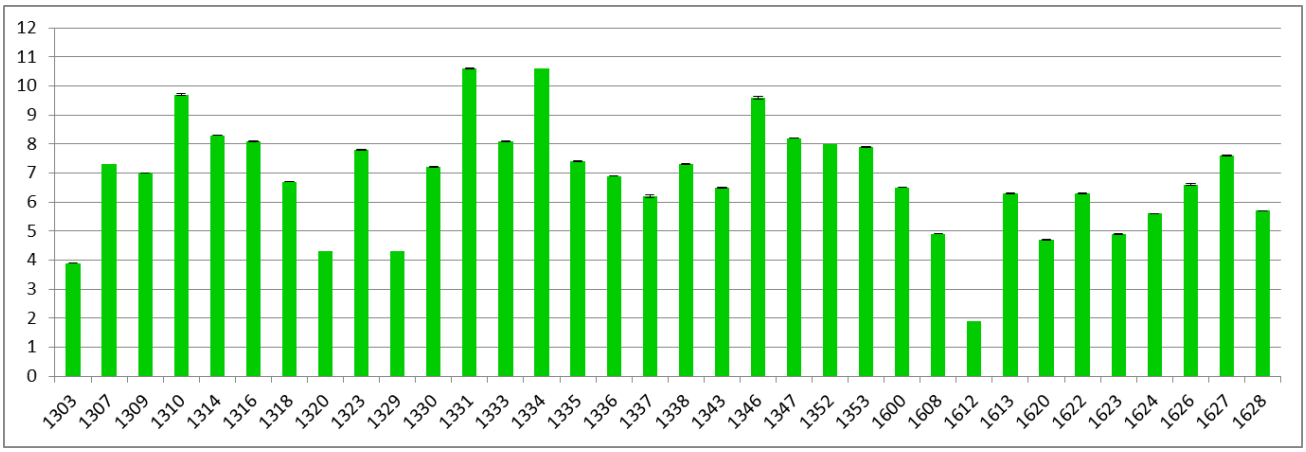


Abb. 1: Mittelwerte der Kautschukgehalte in den untersuchten Pflanzenfamilien der Analyse- und Selektionsserie 2019/20.

Abbildung 2 wurde aus Schutzrechtsgründen entfernt.

Abb.2: Mittlere Kautschukgehalte der Analyseserien 2016 bis 2018

Insgesamt wurden 2095 *T. koksaghyz*-Pflanzen auf Kautschukgehalte analysiert. So konnten innerhalb des Projektes die mittleren Kautschukgehalte im Zuchtmaterial von 5,8 auf 8,0 % (in 2018) 6,6% (in 2019* Begründung siehe oben; daher wurde der Wert nicht in Abb. 2 mit aufgenommen) gesteigert werden. Einzelne Familien sind samenvermehrbar mit >10% Kautschukgehalt selektiert worden. Material zur Erzeugung von Saatgut für die großflächige Vermehrung mit Kautschukgehalten zwischen 8 und 10 % (Material 3.0) steht für die Saatguternte im Sommer 2020 im Folienhaus bereit und wird über Jungpflanzenanzucht für die Saatguternte in 2021 auf ca. 1 ha im Feld vorbereitet.

WP1 T2 Kombination der Merkmale hoher Kautschukgehalt und Vernalisationsbedürfnis

Da in den strikt vernalisationsbedürftigen Nachkommenschaften der Tks-Linie 194 die Kautschukgehalte um mehrere Prozent unter den Kautschukeliten lagen, wurde hier nicht weiter gekreuzt. Stattdessen wurden Kreuzungen zwischen Tks-Kautschukelitepflanzen und

Interspezifischen Hybriden (diese wurden aus dem Projekt TARULIN II übernommen) durchgeführt, um die beiden Merkmale zu kombinieren. In fast allen Interspezifischen Hybridlinien konnte ein deutliches Vernalisationsbedürfnis gefunden werden. Daher lag es nahe, Kautschukgehalte und Vernalisationsbedürfnis in den Interspezifischen Hybriden zu kombinieren, ohne vorher das Merkmal Vernalisationsbedürfnis in *T. koksyghyz*-Linien zu fixieren. In Abbildung 3 sind die mittleren Kautschukgehalte der jüngsten BC-Generation dargestellt.

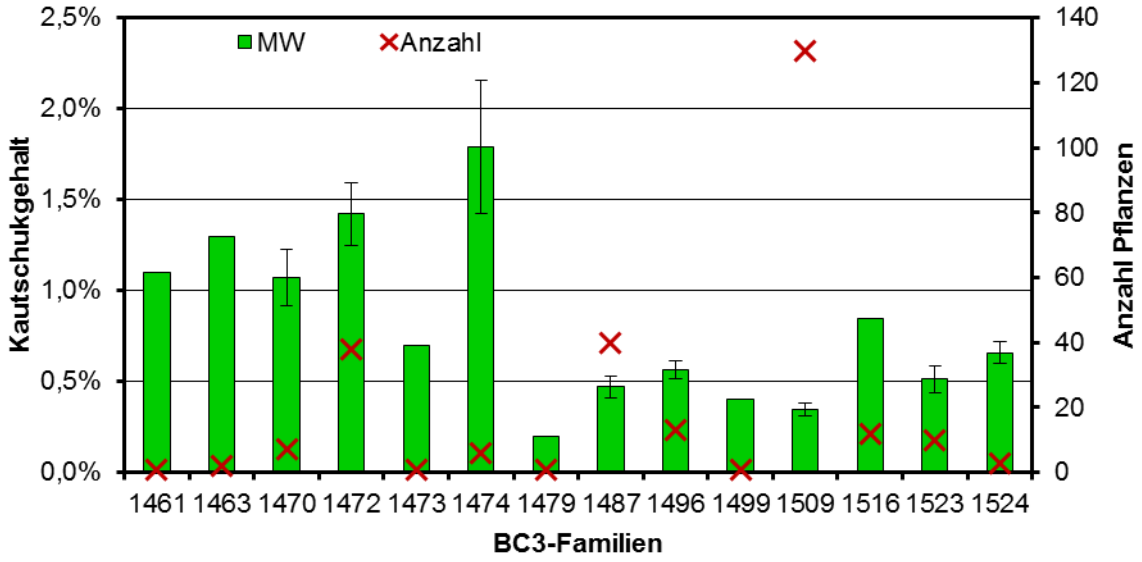


Abb.3: Mittlere Kautschukgehalte in BC3-Familien Interspezifischer Hybriden

Einzelne Linien spalten und zeigen panmiktisches Verhalten. Die Kautschukgehalte in diesem Material (Abb. 3 Familien Nr. 1461, 1463, 1470, 1472 und 1474) sind leicht erhöht bis 2,4% Kautschukgehalt. Untersucht wurden mehr als 1000 Einzelpflanzen. Die Aufspaltung des Materials zeigte sich morphologisch und konnte zusätzlich auch mittels AFLP-Fingerprints (Abb.4) nachgewiesen werden. In den Interspezifischen Hybridlinien, die sich auch in BC3 noch apomiktisch verhalten, konnte keine nennenswertere Steigerung des Kautschukgehaltes festgestellt werden. Hier scheint es zwischen den verschiedenen *Taraxacum*-Genomen bisher keine oder nur minimale Rekombination gegeben zu haben.

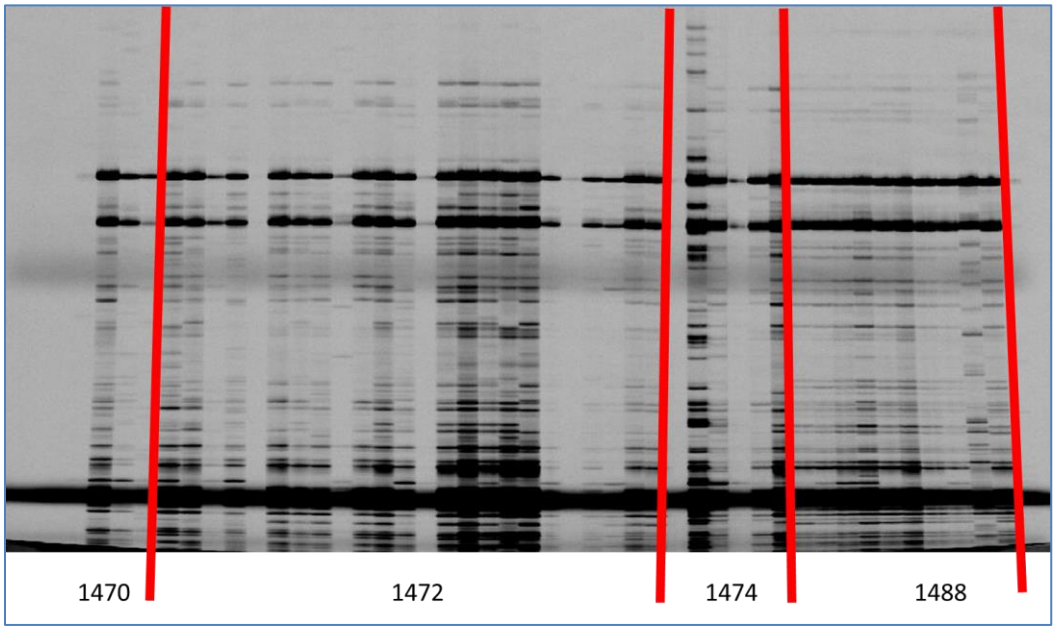


Abb. 4: AFLP Muster von 4 Interspezifischen Hybridlinien in BC3

WP1 T3 Beschleunigung der Züchtung durch Winterzwischengenerationen

Nach Analyse der Kautschukgehalte im November/Dezember und Erhalt der Kautschukdaten im Dezember/Januar wurden die besten Kautschukträger in geheizten und beleuchteten Gewächshauskabinen in Groß Lüsewitz isoliert vermehrt und mit Hilfe eines Hummelvolkes sowie z.T. auch von Hand bestäubt. Auf diese Weise stand für die Frühjahrsanzucht im März/April bereits eine ausreichende Menge Saatgutes der Nachkommenschaften der Kautschukträger für die Anzuchten bei ESKUSA zur Verfügung und der Vegetationszeitraum bis zur nächsten Kautschukbeprobung im Herbst war ausreichend lange. Ohne die Winterzwischengenerationen hätte das im späten Frühjahr gewonnene Saatzucht bis zur Aussaat im kommenden Jahr im März überlagert werden müssen, da die Anzuchtzeit vor der Beprobung im Spätherbst nicht ausgereicht hätte.

In die Wintervermehrungen 2016/17, 2017/18 und 2018/19 sind jeweils zwischen einigen zig und über 100 Tks Pflanzen aus der Kautschukselektion gegangen.

In die Wintervermehrung 2019/20 wurden ausschließlich Interspezifische Bastarde gegeben, für die aufgrund von AFLP-Informationen und morphologischen Eigenschaften angenommen werden konnte, dass sie fremdbefruchtend sind.

WP1 T4 Polyploidisierung

Unter Polyploidie versteht man das Vorhandensein von mehr als zwei Chromosomensätzen in den Zellen eines (pflanzlichen) Organismus. Häufig geht der polyploide Zustand mit einer Zunahme der Pflanzenmasse bzw. einer Leistungssteigerung der Pflanze einher. Polyploidie tritt bei zahlreichen höheren Pflanzen z.B. als Folge von Umwelteinflüssen auf. Die Ursache für die Vervielfältigung des Chromosomensatzes liegt in einer Störung im Aufbau des Spindelapparates während der Zellteilung.

Mit Hilfe von Spindelgiften lassen sich experimentell Polyploide erzeugen.

Durch Polyploidisierung ausgewählter Klone kann neben einer Leistungssteigerung die Eignung für bestimmte Kreuzungspartner erzielt bzw. verbessert werden.

Für Polyploidisierungsversuche wurden die in TAKOWIND I erarbeiteten Protokolle zur Polyploidisierung von *Taraxacum*-Akzessionen durch Behandlung von *in vitro* Blatt- und –Sprossmaterial mit dem Wirkstoff Oryzalin angewendet. Es konnten polyploide Nachkommen meist auf tetraploider, zum Teil auf hexaploider und oktoploider Stufe erzeugt werden. Die Ploidiestufe wurde durch flow-cytometrische Untersuchung bei der WWU überprüft.

In der Regel wurden Eliteklone anhand der Messung von Kautschukgehalten für die Polyploidisierungsansätze von ESKUSA ausgewählt. Das Material wurde für die Behandlung mit dem Spindelgift Oryzalin zunächst verklont.

Dazu erfolgte auf einem Standard-Nährmedium (Murashige u Skoog) unter Zusatz von 1,0 mg/l BAP und 0,2 mg/l IAA an in vitro-Blattstücken eine Sprossinduktion. Die Behandlung der jungen in vitro-Sprosse erfolgte 14 Tage auf Nährmedien unter Zusatz von 40µM Oryzalin, und anschließender Weiterkultur auf Wirkstoff freien Nährmedien.

Es wurden generell mindestens 25 Sprosse pro Genotyp und Ansatz behandelt, da je nach Größe der Explantate bis zu 50% Ausfall durch die Oryzalin-Behandlung zu verzeichnen war. Genotypenabhängig waren z.T. mehrere Behandlungen erforderlich bis tetraploide Individuen erzeugt werden konnten.

Polyploidisierungsansätze 2017

In Tabelle 3 sind die Behandlungen an Kautschuk-Eliten der Selektion 2015/16 im Jahr 2017 zusammengestellt. Es wurden 27 ausgewählte Genotypen mit dem Spindelgift Oryzalin behandelt. Bei acht Genotypen konnten tetraploide Einzelpflanzen erzielt werden. Die flowcytometrischen Untersuchungen der Einzelpflanzen zur Bestimmung der Ploidiestufe wurden bei der WWU vorgenommen. Durch Verklonen der tetraploiden Einzelpflanzen in vitro konnten 108 tetraploide Nachkommen erzeugt und im März 2018 an ESKUSA zur Weiterkultur und Langzeitprüfung übergeben werden.

Tab. 3: Polyploidisierungsansätze 2017

Familie	Individuum	Kautschuk %	Anzahl Pflanzen aus Polyploidisierung I	Anzahl Pflanzen aus Polyploidisierung II	Anzahl Pflanzen aus Polyploidisierung III (nur Einzelpflanzen, keine Nachkommen)
		NMR 2015/16	27.7.2017 OZ 40 NM	26.9.2017 OZ 40 NM	7.11.2017 Oz 40 NM
11-55	B	7,4	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	keine Behandlung
11-63	35	13,4	Behandlung o. Ergebnis	Tetraploide aus 1 Klon, Mixoploide aus 1 Klon	2 tetrapl. Einzelpflanzen
11-63	50	10,6	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis
11-63	51	11,2	Tetrapl. aus 2-4 Klonen	Tetraploide aus 6 Klonen	Behandlung o. Ergebnis
11-72	C	7,4	Mixoploide aus 2 Klonen	Mixoploide aus 1 Klon	keine Behandlung
11-76	C		Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis
11-86	B	10,2	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis
12-26	E	7,4	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis
12-143	B	8,6	keine Behandlung	keine Behandlung	Behandlung o. Ergebnis
12-244	41	13	Behandlung o. Ergebnis	Tetraploide aus 3 Klonen	Behandlung o. Ergebnis
12-244	44	10	keine Behandlung	keine Behandlung	Behandlung o. Ergebnis
12-244	48	20,7	keine Behandlung	keine Behandlung	Behandlung o. Ergebnis
12-244	52	11,4	keine Behandlung	keine Behandlung	Behandlung o. Ergebnis
12-244	95	8,14	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis
12-244	96	8,74	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis
12-488	D	9,6	Behandlung o. Ergebnis	Tetraploide aus 4 Klonen	Behandlung o. Ergebnis
13-210	E	10,5	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis
29-14	D	17,2	keine Behandlung	keine Behandlung	2 mixoploide Einzelpflanzen
29-15	E	13,1	keine Behandlung	keine Behandlung	1 tetrapl. Einzelpflanze, 2 Mixopl.
77-6	B	13,1	Tetraploide aus 2 Klonen, Mixoploide aus 1 Klon	1 tetraploider Klon	2 tetrapl. Einzelpflanzen
77-22	D	7,1	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis
175-12	C	16,5	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	keine Behandlung
175-25	B	12,1	Tetraploide aus 1 Klon, Mixoploide aus 2 Klonen	1 tetraploider Klon	Behandlung o. Ergebnis
175-59	A	9,3	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis
194-16	13	6,04	keine Behandlung	Behandlung o. Ergebnis	keine Behandlung
205-5	B	10,4	Behandlung o. Ergebnis	1 Mixoploide	1 tetrapl. Einzelpflanze
Mischung	A	11	Behandlung o. Ergebnis	Behandlung o. Ergebnis	keine Behandlung

Polyploidisierungsansätze 2018

Im Zeitraum Mai bis November 2018 wurden 18 ausgewählte Kautschuk-Eliten aus der Selektion 2017 mit dem Spindelgift Oryzalin behandelt (s. Tab. 4)

Tab. 4: Eliten ´17- Zusammenstellung des Behandlungserfolges nach zwei Ansätzen

Klon-Nummer	Kautschuk-Gehalt (%)	Übergabe ESKUSA 26.6.2018	Behandelte Pflanzen gesamt	Gesamtzahl überlebender Pflanzen 8 Wochen nach Behandlung	Anzahl FC getester Pflanzen gesamt	Anzahl Tetraploide	Anzahl Ploidiechi-mären
2017_D3-11	12,1	23	50	38	17	1	1
2017_D3-38	17,4	3	20	20	11	3	2
2017_D5-10	15,8	5	35	26	13	2	1
2017_D5-24	10,8	6	50	23	12	0	0
2017_D7-19	10,9	23	35	22	16	3	3
2017_D7-35	11,3	21	35	18	11	1	3
D8-10	11,0	2	16	14	7	2	3
2017_D9-29	11,5	0	16	16	8	5	0
D17-29	12,1	18	35	23	14	0	2
17/84.16	13,2	22	65	38	18	4	1
17/85.4	12,0	21	45	45	18	4	4
17/100.1	11,1	6	35	14	10	0	2
17/103.20	10,9	0	20	5	1	0	0
17/107.12	12,4	6	50	18	18	5	1
17/109.11	14,3	3	17	7	0	0	0
17/122.7	10,8	20	50	36	6	1	1
17/124.16	11,3	0	0	0	0	0	0
17/131.17	10,9	22	80	56	13	4	0

In den ersten beiden Ansätzen konnten bei 12 von 18 behandelten Genotypen Tetraploide erzeugt werden (s. auch Abb. 5). Die flowcytometrische Untersuchung der Einzelpflanzen erfolgte durch die WWU.

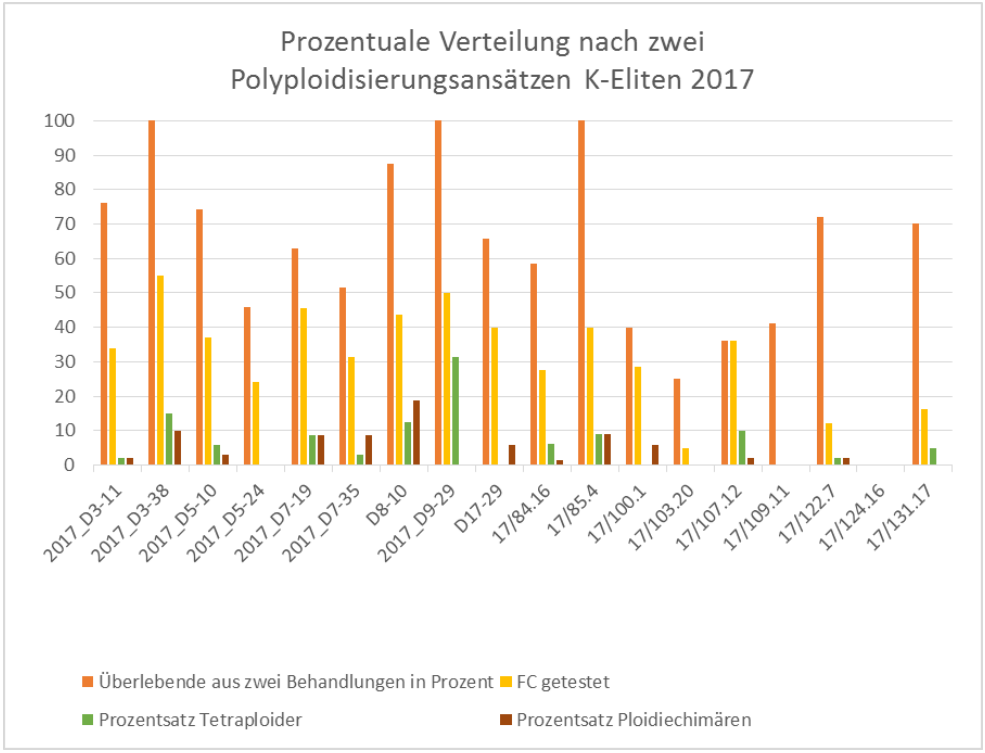


Abb. 5: Prozentuale Verteilung der Anzahl Überlebender Individuen nach zwei Behandlungen, sowie der Anteil von Tetraploiden bzw. Ploidiechimären nach Flowcytometrie

Nach einem dritten Behandlungsansatz konnten aus 16 der 18 Genotypen tetraploide Einzelpflanzen erzeugt werden. Diese wurden über Blattstücke verklont und daraus insgesamt 339 tetraploide Nachkommen und vier hexaploide Nachkommen im Frühjahr 2019 an ESKUSA übergeben.

Ploidiechimären wurden nur teilweise verklont, um bei schwer zu polyploidisierenden Genotypen eventuell daraus später noch rein Tetraploide auslesen zu können (s. z. Bsp. Genotyp 2017-D3-38 Tab. 5).

Tab. 5: Materialübergabe Tetraploide Nachkommen im April 2019

Polyploidisierung Kautschuk-Eliten 2017					
Klon	**Nr. FC**	**Messung 1**	**Messung 2**	**Übergabe Tetraploide**	**Verpackungs-einheit**
2017-D3-11	1	200/100		16	7er Töpfe
	2	215/76		15	7er Töpfe
	3	216/83		9	7er Töpfe
2017-D3-38	3	172/29 187/48	210/100	1	7er Töpfe
	8	200/100		6	7er Töpfe
2017-D5-10	9	183/78	203/91	1	7er Töpfe
	12	218/68		14	7er Töpfe
2017-D5-24	12	183/100		40	7er Töpfe
2017-D7-19	11	185/89	202/100	20	7er Töpfe
	25	207/90		14	7er Töpfe
2017-D7-35	13	112/19 227/80	10.04.2019	3	Tray
	27	105/24 210/76	10.04.2019	2	
	28	98/39 196/61	10.04.2019	4	
D8-10	19	176/100		1	7er Töpfe
	41	215/100		1	7er Töpfe
2017-D9-29	48	228/100		1	7er Töpfe
	49	297/100		1	7er Töpfe
17/84.16	22	184/100		10	7er Töpfe
	23	188/100		5	7er Töpfe
	39	193/85		9	7er Töpfe
	42	210/88		8	7er Töpfe
	57	205/100		6	7er Töpfe
17/85.4	29	201/100	189/100	13	7er Töpfe
	44	208/100		8	7er Töpfe
	47	195/87		16	7er Töpfe
17/100.1	35	224/100		6	7er Töpfe
	36	224/100		2	7er Töpfe
	34	98/80 196/5	10.04.2019	5	Tray
	53	102/36 203/63	10.04.2019	10	
17/107.12	41	194/100	185/100	16	7er Töpfe
	43	176/87	205/84	10	7er Töpfe
	55	196/100		8	7er Töpfe
	42	141/30 185/43	204/100	4	7er Töpfe

17/122.7	61	97/38 195/61	10.04.2019	3	Tray
17/131.17	39	179/100		16	7er Töpfe
	48	133/100?4x		10	7er Töpfe
	51	201/96	189/100	10	7er Töpfe
	52	216/100	200/100	10	7er Töpfe
77-6-B	45	457/63	10.04.2019	5	7er Töpfe
175-25-B	51	470/66	10.04.2019	4 (6X)	7er Töpfe

Für das Arbeitspaket WP1 wurden für die Identifizierung von polyploidisiertem Elite-Material ca. 1800 Blattproben flowcytometrisch bei der WWU vermessen.

Die an ESKUSA übergebenen Pflanzen (250 Stück aus 13 Klonen) wurden dort z.T. direkt samenvermehrt und z.T. gekreuzt. Nach Überprüfung der Kautschukgehalte wurde bei ESKUSA allerdings eine erhebliche somaklonale Variation der Kautschukgehalte innerhalb von tetraploiden Klonen festgestellt (Abb.6 und Abb. 7). Dies führte dazu, dass nicht nur stichprobenartig innerhalb eines Klones, sondern sämtliche Klonteile auf Kautschukgehalt geprüft werden müssen.

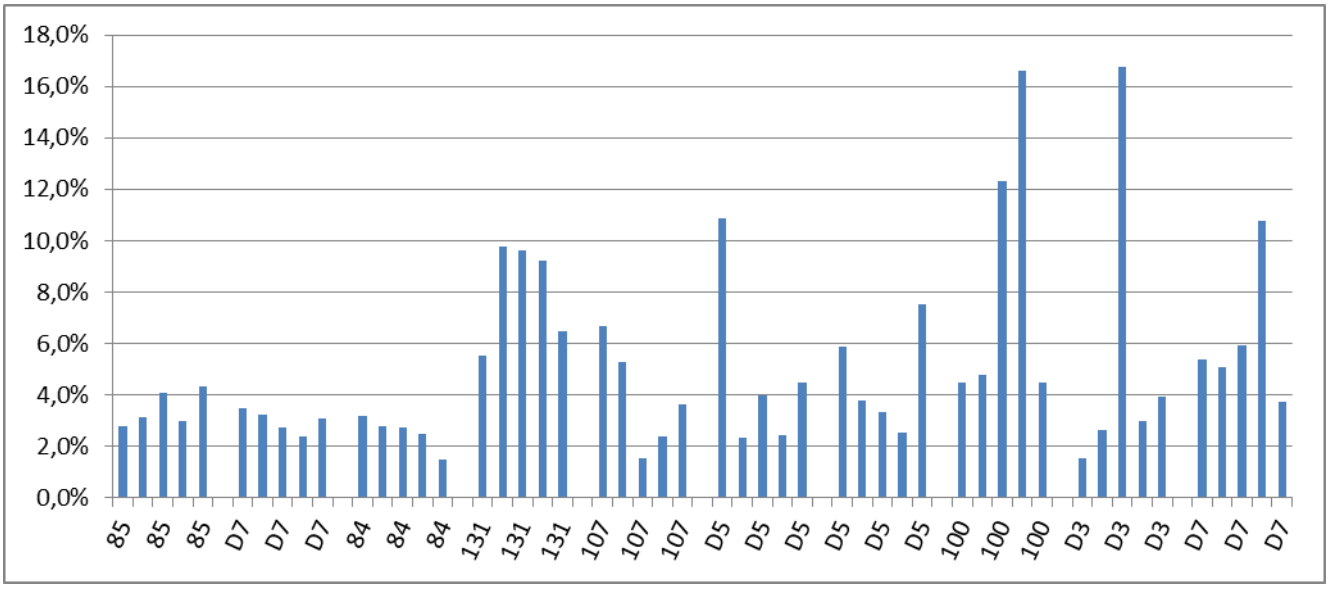


Abb. 6: Kautschukgehalte zwischen tetraploiden Klonen und Variation der Gehalte innerhalb der Individuen eines Klones (5er Gruppen)

Abb. 7: Morphologische Unterschiede zwischen Individuen eines tetraploiden Klones

Gegen Ende des Projektes liegt Saatgut aus Folienhaus- und Freilandvermehrung vor, um mehrere tausend tetraploide T. koksaghyz-Pflanzen daraus anzuziehen. Eine erste tetraploide Feldgeneration soll jedoch erst aus den Nachkommenschaften der auf Kautschukgehalt überprüften Klone aufgebaut werden.

WP1 T5 In-vitro Vermehrung und Klonerhaltung

Die in vitro-Vermehrung dient der klonalen Vermehrung von ausgewählten Akzessionen und Zuchtklonen und damit der Bereitstellung größerer Stückzahlen für die Partner zu Versuchs- und Zuchtzwecken. Außerdem werden über Klonierungsverfahren Klonteile für die Polyploidisierung ausgewählter Genotypen erzeugt. Die Erhaltung von wichtigen Akzessionen und Zuchtklonen über die in vitro-Kultur bietet ein sicheres Verfahren, das Material unabhängig von äußeren Einflüssen zu konservieren.

Im Vorgängerprojekt TAKOWIND I war die spaltende F1-Kartierungsfamilie EK14-12 mit 175 Genotypen in vitro aufgenommen worden und mit jeweils 5-6 Klonteilen an die Partner ESKUSA, JKIZL und JKISB zur Aufpflanzung an drei Standorten übergeben worden. Zwei weitere Wiederholungen dieses Ansatzes waren für die Kulturjahre 2017 und 2018 geplant. Die Genotypen wurden über den gesamten Projektzeitraum in vitro erhalten und jeweils für das kommende Kulturjahr wieder in vitro vermehrt (Abb. 8). Es wurden im April 2017 insgesamt 3020 Pflanzen, und im April 2018 insgesamt 3011 Pflanzen herangezogen und an die drei Partner übergeben.

Abb. 8: Pflanzen der Kartierungspopulation Ek14-12

Während der gesamten Projektphase wurden aktuelle Zuchtklone in vitro aufgenommen.

In 2016 wurden aus der Laboraufnahme der WWU 66 Genotypen von Kautschuk-Eliten aus der Selektion 2015/16 übernommen. Das Material wurde zur Erzeugung von Klonteilen weiter vermehrt. Im Dezember 2016 wurden 904 Nachkommen aus 41 Genotypen (ca. 20 Pflanzen/Genotyp) herangezogen und an ESKUSA übergeben. Weitere 453 Pflanzen aus 25 Genotypen wurden im März 2017 übergeben. Parallel dazu wurde Pflanzenmaterial für Polyploidisierungsansätze herangezogen.

Von Januar bis April 2018 wurden 18 Kautschuk-Eliten aus der Selektion 2017 in vitro aufgenommen. Im Juni 2018 wurden daraus 200 bewurzelte Klonteile und im April 2019 wurden weitere 400 Pflanzen an ESKUSA übergeben. Außerdem wurden Sprosse für Polyploidisierungsansätze vermehrt.

Im September 2018 wurden 21 Hybriden in vitro aufgenommen. Von 18 Genotypen konnten je 20-25 Klonteile erzeugt und im April 2019 an ESKUSA übergeben werden (insgesamt 439 Pflanzen).

Im Februar 2019 wurden außerdem 1052 Pflanzen der Kautschuk-Eliten 15/16 und 17 aus in vitro-Vermehrung an die WWU übergeben (24 Genotypen zu je 40-50 Klonteilen).

Im Zeitraum Februar – April 2019 wurden 39 Kautschuk-Eliten aus der Selektion 2018 in vitro aufgenommen. Zum Projektende konnten 875 Pflanzen (20-25 Klonteile je Genotyp) an ESKUSA übergeben werden.

Abb. 9: Akklimatisierung von in vitro Jungpflanzen im Gewächshaus

Klonerhaltung

Alle Genotypen wurden während und nach Abschluss der Vermehrung in vitro erhalten. Zur Verbesserung der Klonerhaltung und Verlängerung der Subkulturdauer wurde in den Standardnährmedien Saccharose teilweise durch Mannitol ersetzt. Dieser Zuckeralkohol wird von der Pflanze langsamer verwertet und reduziert das Wachstum.

Nach der ersten Passage auf einem Nährmedium mit 4% Mannitol wurden zunächst Wuchsdepressionen bei den Pflanzen beobachtet. Um diese zu minimieren wird derzeit ein Nährmedium mit einer Kombination aus 3% Mannitol und 1% Saccharose für die Klonerhaltung verwendet. Bei den meisten Klonen ist auf Standard-Nährmedium mit 3% Saccharose nach 3-4 Monaten eine Subkultur notwendig, diese kann nach aktuellem Stand durch Mannitol auf mindestens 6 Monate ausgedehnt werden (Abb.10).

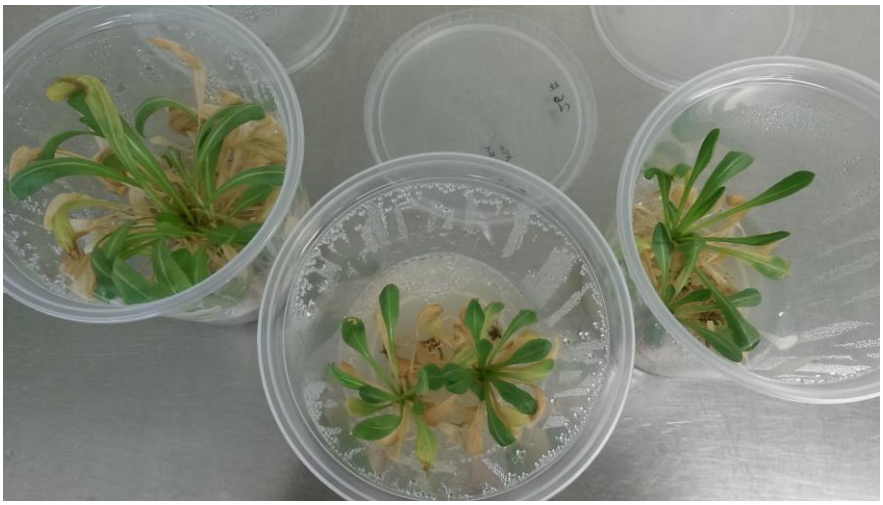


Abb. 10: Pflanzen eines Klons nach 6 Monaten Kulturdauer, von links nach rechts:
auf Standardnährmedium mit 3% Saccharose, auf NM mit 4% Mannitol und 0,5% Saccharose,
auf NM mit 4% Mannitol und 1 % Saccharose

Ein weiteres Kriterium bei der in vitro-Vermehrung und –Erhaltung ist die Einschränkung des Endophytenbesatzes im Pflanzengewebe. Diese kann zu starken Pflanzenverlusten in der in vitro-Kultur führen (Abb.11). Durch Zusatz von 0,5 mg/l PPM (Plant Preservative Mixture, Plant Cell Technology, Inc., Washington DC; US) in Kombination mit einem Antibiotikum (Amoxicillin-Clavulonat, Duchefa, NL) 100 mg/l im Nährmedium kann diesem Problem derzeit am effektivsten entgegen gewirkt werden.

In Zusammenarbeit mit dem Mikrobiologischen Institut der WWU konnten verschiedene, häufig in vitro beobachtete Erreger bestimmt werden:

Bakterieller Befall sichtbar, Wachstum beeinträchtigt:

- *Methylobacterium pseudosasicola* *Microbacterium diaminobutyricum*
- Fruchtiger, hefiger Geruch, tritt häufig und plötzlich auf, führt i.d.R. zum Zusammenbruch der Pflanzen

  Curtobacterium flaccumfaciens

  Pflanzenpathogen mit verschiedenen Pathovaren : z.B. pv. poinsettiae (Welke an Weihnachtsstern) zuerst an Euphorbia pulcherrima im Dezember 2016 beschrieben. Ausbreitung eher in Gewächshauskulturen als im Freiland, derzeit wird für Deutschland bei Weihnachtssternkulturen mittleres Befallsrisiko angenommen.
- Kurze, verdrehte und knotige Wurzeln

  Leifsonia lichenia

Abb. 11 links: durch Endophyten bedingter Zusammenbruch beim gleichen Genotyp; rechts kein Zusammenbruch durch Endophyten

WP1 T6 Kreuzung von Elitelinien mit Inzuchtlinien und selbstkompatiblen *Taraxacum* spec.

In Arbeitspaket 2 wurden von der WWU erfolgreich *T. koksaghyz*-Inzuchtlinien bis in die sechste Inzuchtgeneration (IBF6) generiert (siehe AP2). Im 3. Projektjahr wurden mit ausgewählten Linien der 5. Inzuchtgeneration (IBF5) Kreuzungen mit Elitelinien durchgeführt (siehe Tabelle 6). Das entstehende Saatgut wurde sowohl von den Pflanzen der Inzuchtlinien als auch von Pflanzen der Elitelinien geerntet und an ESKUSA übergeben.

Tab. 6: Übersicht der erfolgreich gekreuzten Elitelinien mit Inzuchtlinien der 5. Generation (IBF5). Von den mit einem √ markierten Kreuzungen konnte Saatgut geerntet werden.

	Tk7-IBF5	Tk23-IBF5	Tk25-IBF5	Tk27-IBF5	17/84.16	17/85.4	2017-D5-10	2017-D5-24	2017-D5-35
Tk7-IBF5					√		√		√
Tk23-IBF5					√			√	
Tk25-IBF5					√	√			
Tk27-IBF5					√				
17/84.16			√	√					
17/85.4			√						
17/131.17		√							
2017-D5-10	√								
2017-D5-24		√							
2017-D5-35	√								

Die von der WWU übergebenen Kreuzungen IBF5 x Kautschukeliten bzw. reziprok konnten im 3. Projektjahr von ESKUSA wegen fortgeschrittener Vegetationszeit nicht mehr ausgesät werden. Die Anzucht und Weiterselektion auf Kautschukgehalte ist jedoch eingeplant.

WP1 T7 Integration der Ergebnisse aus Zuchtmethodik, Agronomie, Verwertung in Zuchtmaterial und Zuchtschema - Koordination

Kautschukelitepflanzen aus in vitro Verklonung, tetraploide Eliten aus Polyploidisierung und kautschukreiche Inzuchtlinien wurden übernommen und in das Zuchtmaterial integriert.

Wintergenerationen wurden zur Beschleunigung der Züchtung in den Zuchtablauf integriert.

Die Ergebnisse aus Fingerprints (AFLP), Kautschukanalysen (NMR), Ploidiebestimmung (Flow Cytometrie) wurden zur Beurteilung des Kreuzungserfolges, zur Charakterisierung des Zuchtmaterials, zur Kreuzungsplanung und Dimensionierung der Kreuzungen und Materialentwicklung genutzt.

Verklonung, Polyploidisierung, Wintergenerationen, Kautschukanalysen, Ploidiebestimmungen verlaufen mit zuverlässigen Resultaten in züchtungsrelevanten Serien.

Die Arbeitsteilung zwischen den Partnern mit daraus resultierender Ableitung der weiteren Vorgehenswweise soll nachfolgend am Beispiel der Polyploidisierung dargestellt werden:

Die Polyploidisierung selber wurde bei Hortilab durchgeführt. Die Messung am Flow Cytometer wurde an der WWU durchgeführt. Die Auswahl der besten Kautschukträger erfolgte bei ESKUSA und auch die Übernahme und Integration in ein Kreuzungsprogramm erfolgte bei ESKUSA. Bei ESKUSA wurde darüber hinaus festgestellt, dass Klonteile tetraploider Pflanzen aus der Polyploidisierung von diploiden Kautschukeliten nicht durchgängig hohe Kautschukwerte hatten. Es trat deutliche somaklonale Variation für das Merkmal Kautschukgehalt in tetraploiden Klonteilen eines Genotyps auf. Die führt dazu, dass sämtliche Klonteile vermeintlicher tetraploider Kautschukeliten auf Kautschukgehalt analysiert werden müssen und nicht nur eine Stichprobe, die dann für alle Klonteile gelten könnte.

Als wichtigste Erkenntnisse können angesehen werden, dass i) Teile eines Klones - bedingt durch somaklonale Variation - erhebliche Unterschiede im Kautschukgehalt aufweisen können und somit jedes Individuum analysiert werden muss, ii) das panmiktische Verhalten vieler interspezifischer BC-

Linien auch nach 3 Rückkreuzungen mit T. koksaghyz noch nicht durchbrochen werden konnte. Insbesondere in diesen weiterhin apomiktischen BC3 Linien fehlt es höchstwahrscheinlich an Rekombination. Daher konnten keine nennenswerten Kautschukgehalte restauriert werden.

Der Mangel an Rekombination bei bisherigen Kreuzungen des Typs: 2n Panmikt x 3n Apomikt führt dazu, dass mehr auf die tetraploide Ebene gegangen werden muss, um Fertilitätsstörungen und Rekombination zu verbessern. Diploide Kreuzungen am JKI zur Hybriderstellung für Invasives Potenzial zeigen, dass möglicherweise Kreuzungen auf diploidem Niveau zielführend sein können. Diese Art der Kreuzung wurde zwar aufgrund eines einzelnen Ergebnisses bereits ausgemustert, soll aber wieder aufgegriffen werden.

Erste diploide Fremdbefruchter wurden von den Partnern erhalten und gekreuzt. Sammlungen diploider Fremdbefruchter in Österreich und der Schweiz (Gebiete mit hohen Frequenzen an diploidem, fremdbefruchtendem Löwenzahn) sind geplant. Diese sollen nach Identifikation panmiktischen Verhaltens zu tetraploiden Fremdbefruchtern polyploidisiert werden.

[redacted]

WP2 T1 Inzuchtlinien und Kompatibilitätsmechanismus

T1.1/ T1.2 (WWU) Erzeugung von T. koksaghyz Inzuchtlinien und Auffinden diploider selbstkompatibler Taraxacum spec

Für die Generierung von Inzuchtlinien an der WWU Münster wurden 100 vorselektierte *T. koksaghyz* Wildtyp-Pflanzen mit einem mittleren Kautschukgehalt von 7 % verwendet. Sie wurden zu Beginn des Projekts im Gewächshaus angezogen und spontan blühende Pflanzen (ca. 50 %) wurden mit Mentorpollen mit Blüten von parallel angezogenen triploiden *T. officinale* Pflanzen bestäubt. 30 der 100 Tk Wildtyp Pflanzen bildeten nach Mentorpollenbestäubung fertiles Saatgut aus. Dieses Saatgut bildete die Grundlage für die Anzucht der ersten Inzuchtgeneration (*inbreed filial* 1 – IBF1). Die IBF1 Pflanzen wurden nach gleichem Verfahren mit Blüten der triploiden *T. officinale* Pflanzen bestäubt zur Erzeugung von IBF2-Saatgut usw. bis zur Generierung der sechsten Inzuchtgeneration (IBF6) im Laufe des dritten Projektjahres. In jeder Generation wurden je Inzuchtlinie 3-5 Pflanzen angezogen und mittels Mentorpollen-Bestäubung Saatgut erzeugt. Zusätzlich zur Saatgut-Produktion wurden diese Pflanzen nach einer Wachstumsphase von 6 Monaten im Gewächshaus geerntet, das Wurzelmaterial wurde getrocknet und gemahlen und ausgewähltes Material von Inzuchtlinien jeder Generation wurde zur Kautschukgehaltsbestimmung an numares/lifespin übergeben. Über diese standardisierte Kautschukbestimmung nach einer Wachstumsperiode von 6 Monaten wurden die Inzuchtlinien über mehrere Generationen in Bezug auf ihren Kautschukgehalt hin analysiert (Abb. 12). Darüber konnten gezielt Inzuchtlinien mit einem stabilen Kautschukgehalt selektiert und für die Generierung der weiteren Inzuchtgenerationen ausgewählt werden.

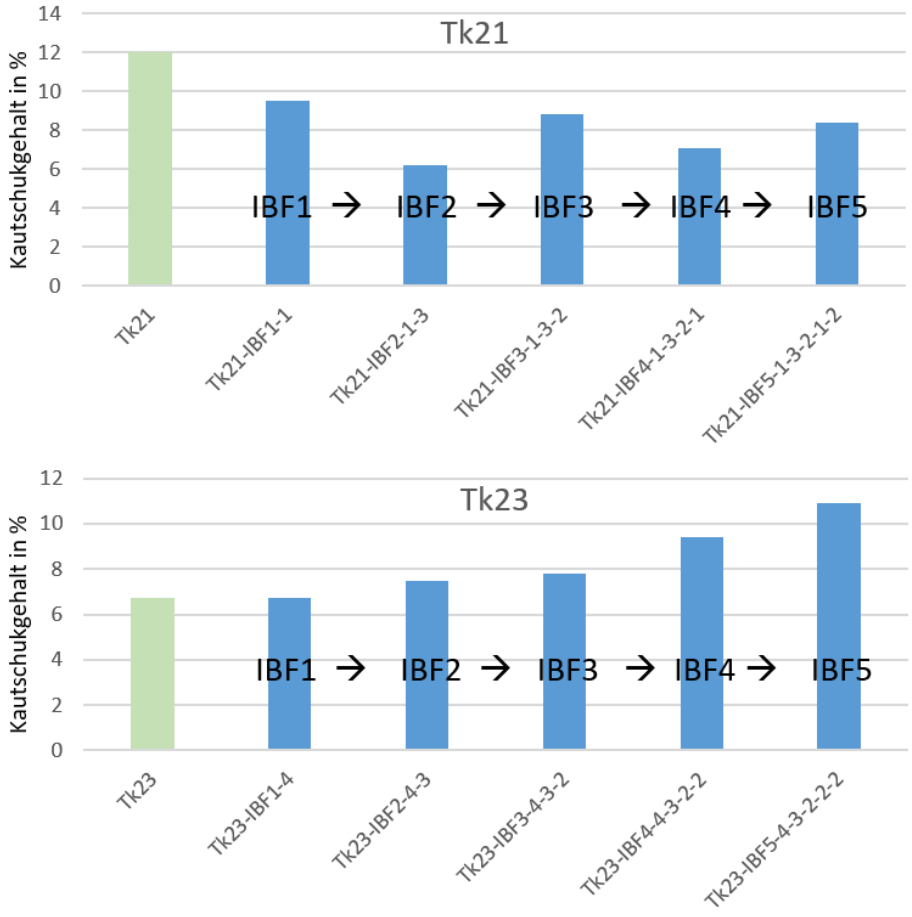


Abb. 12: Analyse des Kautschukgehalts nach 1., 2., 3., 4. und 5. Inzuchtgeneration standardisiert nach 6 Monaten von zwei ausgewählten Inzuchtlinien.

Die Kautschukbestimmungen konnten im Rahmen des Projekts bis zur fünften Inzuchtgeneration (IBF5) durchgeführt werden. Mit ausgewählten Pflanzen der IBF5 wurden Kreuzungen mit Elitepflanzen durchgeführt und Saatgut geerntet (siehe AP1). Die Pflanzen der sechsten Inzuchtgeneration (IBF6) wurden im November 2019 geerntet und 39 der IBF6-Linien konnten erfolgreich zur Erhaltung in der Sterilkultur durch hortilab etabliert werden und das Material wurde zum Projektende an die WWU Münster übergeben (Tab 7). Ausgehend von 30 vorselektierten *T. koksaghyz* Wildtyp-Pflanzen (benannt als Tk1-30), die über Mentorpollen-Bestäubung Saatgut erzeugten, konnten neun (Tk11, Tk14, Tk16, Tk21, Tk22, Tk23, Tk25, Tk27 und Tk29) bis in die sechste Inzuchtgeneration weitergeführt werden, in der jeweils eine Anzahl von 1-9 Linien in der IBF6 für die langfristige Erhaltung und Verwertung etabliert wurden.

Tab. 7: Übersicht der 39 IBF6-Linien, die am Ende des Projekts erfolgreich für eine langfristige Erhaltung und Verwertung *in-vitro* etabliert wurden.

	in-vitro Etablierung (hortilab)	*in-vitro* Erhaltung (hortilab und WWU)
Tk11-IBF6-1,-3	√	√
Tk14-IBF6-1,-3,-4	√	√
Tk16-IBF6-1	√	√
Tk21-IBF6-1-9	√	√
Tk22-IBF6-1-4	√	√
Tk23-IBF6-4-6	√	√
Tk25-IBF6-1-2,-7,9-11,-13	√	√
Tk27-IBF6-1-4,-6-7	√	√
Tk29-IBF6-4,-5,-7,-8	√	√

Innerhalb der vierten Inzuchtgeneration, die von August bis November 2018 für die Erzeugung von IBF5-Saatgut verwendet wurde, konnte eine Pflanze identifiziert werden, die ohne Mentorpollen-Bestäubung fertiles Saatgut produziert (Tk7-IBF4-2123). Zur weiteren Saatgut-Erzeugung wurde diese Pflanze im Folgenden isoliert bestäubt. Zusätzlich wurde die Pflanze über Blattmaterial in Sterilkultur aufgenommen und *in vitro* verklont. Diese potentiell diploide selbstkompatible Tk Pflanze wird für die weitere Analyse des Inkompatibilitätsmechanismus in Tk auf morphologischer und molekulargenetischer Ebene verwendet. Für diese geplanten Analysen wurde zusätzlich eine Pflanze derselben Inzuchtlinie und Generation ohne selbstkompatiblen Phänotyp (Tk7-IBF4-2122) in Sterilkultur aufgenommen und *in vitro* verklont.

T1.1 (JKI-ZL) Erzeugung von *T. koksaghyz*-Inzuchtlinien durch Bestäubung mit Mentorpollen von Taraxacum-verwandten Arten

Ergänzend zu den Arbeitspaketen der WWU zur Erzeugung von Inzuchtlinien und Analysen zum Kompatibilitätsmechanismus bei *T. koksaghyz* (TKS) wurden durch JKI-ZL mehrere Pollen-Donoren Taraxacum-verwandter Arten auf ihr Potential zur Induzierung einer Selbstbefruchtung durch die Mentorpollen-Methode untersucht. Dazu wurden in 2017 und 2018 Bestäubungen von TKS-Pflanzen der USDA-Akzessionen mit insgesamt elf verschiedenen Gattungen aus der Familie der Asteraceae durchgeführt (Tab. 8 a,b). Fünf ausgewählte Asteraceen (Herbstlöwenzahn, Ferkelkraut, Wiesenbocksbart, Wiesen-Pippau und Wegwarte) aus einem Programm zur Vermehrung autochthoner Kräuter wurden von ESKUSA ausgewählt und in Form von ausgegrabenen Pflanzen und Saatgut zur Nutzung als Mentorpollenlieferant an das JKIZL übergeben.

Tab. 8 Übersicht Mentorpollen-Bestäuber, durchgeführte Bestäubungen und erzeugtes Saatgut 2017 (a) und 2018 (b)

(a) 2017

"Mentorpflanze"	Anzahl Bestäubungen	Anzahl Samen	Samen/Best.
Ferkelkraut	31	1719	55.5
Herbstlöwenzahn	24	958	39.9
Sonnenbl. ‚Sunspot'	12	454	37.8
Studentenblume	22	829	37.7
Wiesen-Pippau	18	650	36.1
Sonnenbl. ‚Ministars'	6	213	35.5
Wegwarte	23	761	33.1
Acker-Gänsedistel	7	169	24.1
Ringelblume	3	35	11.7
Sonnenbl. ‚Piccolo'	7	35	5.0

(b) 2018

"Mentorpflanze"	Anzahl Bestäubungen	erzeugtes Saatgut	Saatgut/Best.
Wiesen-Bocksbart	14	368	26.3
Sonnenbl. ‚Sunspot'	14	230	16.4
Ferkelkraut	12	106	8.8
Herbstlöwenzahn	15	117	7.8
Wiesen-Pippau	21	153	7.3
Wegwarte	3	7	2.3

Durchgeführt wurden die Bestäubungen entweder per Handbestäubung direkt Blüte an Blüte oder mit gesammeltem Pollen, der mit einem feinen Pinsel auf die Blüte der Mutterpflanze aufgetragen wurde. Letztere Methode bietet den Vorteil, dass gesammelter Pollen eingefroren werden kann und jederzeit zur Verfügung steht, wohingegen erstere Methode von einer synchronen Reife von Pollendonor und TKS-Pflanze abhängig ist. Voraussetzung für die zweite Methode ist, dass ausreichend Pollen produziert wird und dieser sich gut sammeln und übertragen lässt.

Die Kriterien für die Mentorpollen–Eignung der jeweiligen Art waren (i) die Durchführbarkeit der Bestäubung (Pollenproduktion, Blütenbestäubung, Pollenübertragung), (ii) die je Bestäubung erzielte Ausbeute an pigmentierten Samen auf der Mutterpflanze, (iii) die Keimfähigkeit und (iv) die per DNA-Markeranalyse festgestellte Selbstungsrate (Abb. 13). Eine Selbstung wurde als erfolgreich gewertet, wenn das AFLP-Fragmentmuster der F1-Nachkommen nur Allele der Mutterpflanze aufwies. Demgegenüber ließ eine hohe Anzahl an Fragmenten, die nicht auch in der Mutterpflanze vorkommen, auf eine intraspezifische Fremdbefruchtung – etwa infolge mangelhafter bzw. zu später Isolierung der Mutterpflanze im Bestand – schließen. AFLP-Fragmente der Mentorpollenbestäuber, die auf interspezifische Fremdbefruchtung hindeuten würden, wurden in keinem Fall in den Nachkommen beobachtet.

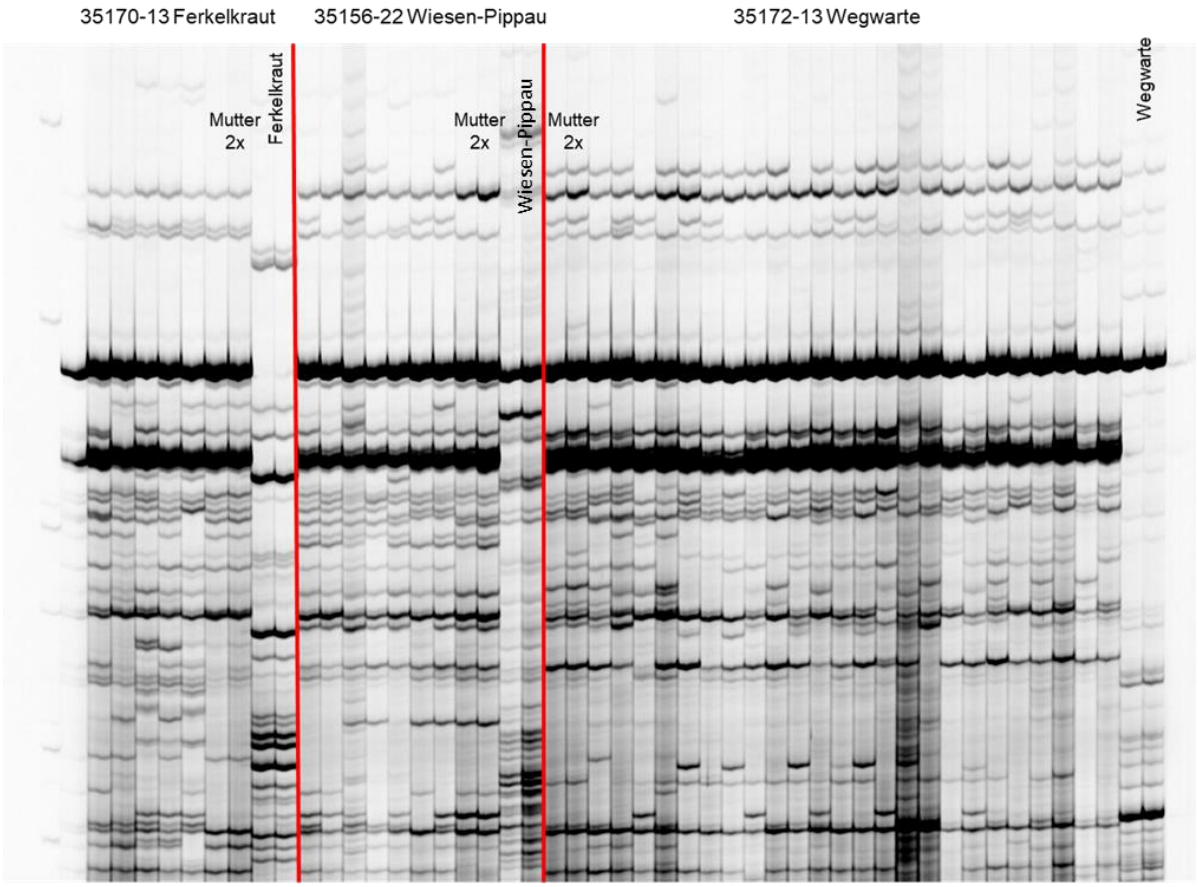


Abb. 13: AFLP-Fragmentmuster von F1-Nachkommen aus drei Bestäubungen mit Mentorpollen (Ferkelkraut, Wiesen-Pippau, Wegwarte); DNA der Mutterpflanzen in jeweils 2-facher Wiederholung („Mutter 2x“) aufgetragen

Als am besten geeigneter Pollendonor für die Anwendung der Mentorpollen-Methode bei TKS stellte sich die Sonnenblumen-Sorte ‚Sunspot‘ heraus. Mit gesammeltem Pollen dieser Sorte konnten mit hoher Erfolgswahrscheinlichkeit Selbstungsnachkommenschaften erzeugt werden. Zudem bietet diese Sorte große Vorteile hinsichtlich der Menge an gebildetem Pollen und der Durchführbarkeit von Bestäubungen mit gesammeltem und eingefrorenem Pollen.

T1.3 Analyse des Inkompatibilitätsmechanismus

Für die Analyse des Inkompatibilitätsmechanismus in *T. koksaghyz* auf molekulargenetischer Ebene wurden Transkriptionsanalysen nach kompatibler bzw. nicht-kompatibler Bestäubung zwischen zwei Tk-Linien durchgeführt. Dafür wurden zwei an der WWU Münster etablierte selbst-inkompatible Tk WT Linien verwendet, die zueinander kompatibel sind, d. h. die fertiles Saatgut nach gegenseitiger Bestäubung erzeugen: TkMS1 und TkMS2. Vor der Bestäubung der Pflanzen wurde Pistil/Pollen-Material von den Blüten der Pflanzen TkMS1 und TkMS2 (T0 Proben) geerntet. Nach kompatibler bzw. nicht-kompatibler Bestäubung wurde Pistil/Pollen-Material nach verschiedenen Zeitpunkten geerntet (10, 30, 60, 120 und 240 Minuten). Aus allen Proben wurde RNA isoliert und die RNA-Proben von 10, 30 und 60 Minuten (T1) bzw. 120 und 240 Minuten (T2) wurden für die jeweiligen Ansätze vereinigt. Einen Überblick der RNA-Proben für die Transkriptomanalyse ist in Tabelle 9 zusammengefasst.

Tabelle 9: Überblick über die RNA-Proben, die für die Transkriptomanalysen zu GATC Biotech AG geschickt wurden. TkMS1 und TkMS2: selbst-inkompatible Tk WT Linien; T0: vor Bestäubung; T1: 10, 30 und 60 Minuten nach Bestäubung; T2: 120 und 240 Minuten nach Bestäubung

	T0	T1	T2
Selbst-inkompatible Bestäubung	TkMS1-T0	TkMS1X TkMS1-T1	TkMS1X TkMS1-T2
	TkMS2-T0	TkMS2X TkMS2-T1	TkMS2X TkMS2-T2
Kompatible Bestäubung	TkMS1-T0	TkMS1X TkMS2-T1	TkMS1X TkMS2-T2
	TkMS2-T0	TkMS2X TkMS1-T1	TkMS2X TkMS1-T2

Die RNA-Proben wurden von der Firma GATC Biotech für die Erstellung von cDNA-Libraries und anschließender RNAseq-Analyse mit einem paarweisen Vergleich der Genexpressionslevel verwendet.

Differentiell exprimierte Gene (DEGs) der kompatiblen und inkompatiblen Kreuzungen nach unterschiedlichen Zeitpunkten wurden nach bioinformatischer Analyse an der WWU Münster identifiziert und selektiert. Nach manueller Tiefenanalyse (Abb. 14) wurden 35 relevante Transkript-Kandidaten für weitere molekularbiologische Analysen ausgewählt.

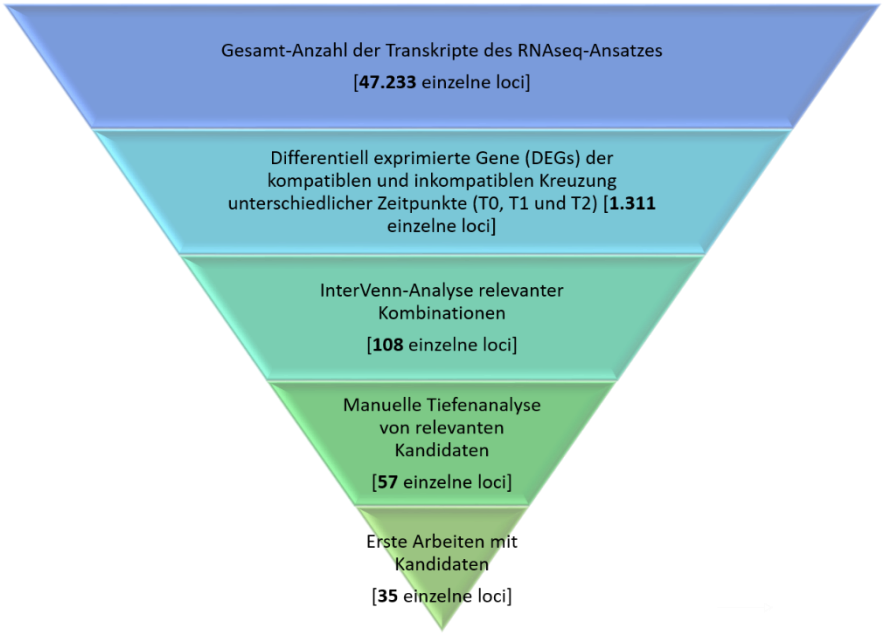


Abb. 14: Überblick über die bioinformatischen Analysen an der WWU Münster zur Selektion differentiell exprimierter Gene (DEGs) und Auswahl von relevanten Transkript-Kandidaten nach manueller Tiefenananalyse.

Von 12 Transkripten konnten erfolgreich 1-2 Isoformen von cDNA aus Pistill- und Pollen-Gewebe von Tk-MS1 und Tk-MS2-Pflanzen isoliert werden. Zur Verifizierung der Transkriptom-Analysen wurden unabhängige Expressionsanalysen (quantitative Echtzeit-PCR) mit neu isoliertem Pistill/Pollen-Material von kompatiblen und inkompatiblen Kreuzungen durchgeführt. Hierfür wurden für die Transkripte Isoform-spezifische Primer für die quantitative Echtzeit-PCR etabliert und Pistill/Pollen-Material wurde vor der Bestäubung und nach 10, 30, 60, 120 und 240 Minuten geerntet und getrennt voneinander analysiert. Abbildung 15 zeigt beispielhaft die Verifizierung des Transkript-Kandidaten *utg106261.27*.

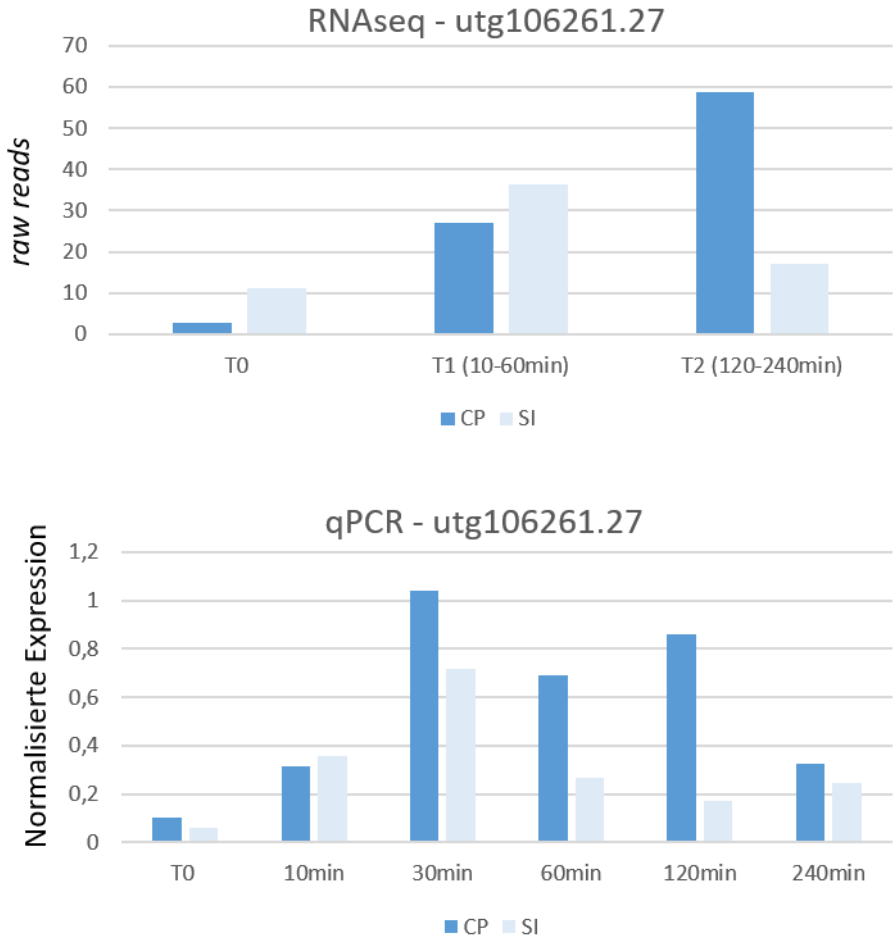


Abb. 15: Expressionsdaten des Transkript-Kandidaten *utg106261.27* nach kompatibler Kreuzung (*cross pollination* – CP) und selbst-inkompatibler (SI) Bestäubung. (A) *raw reads* der *utg106261.27*-Transkripte in den Transkriptomanalysen (RNAseq-Daten von GATC Biotech); (B) normalisierte Expression von *utg106261.27* in quantitativer Echtzeit-PCR in Pistill/Pollen-Gewebe nach unabhängigen Bestäubungen.

Erfolgreich verifizierte Transkript-Kandidaten werden in anschließenden Analysen molekulargenetisch untersucht und es werden Konstrukte etabliert, um die beteiligten Gene in transgenen *T. koksaghyz*-Pflanzen zu deregulieren (Überexpression) oder auszuschalten. Die Analyse der transgenen Pflanzen wird zum Verständnis des Inkompatibilitätsmechanismus beitragen.

Mittelfristig kann das Verständnis des Selbstinkompatibilitätssystems zur regelmäßigen Erzeugung von homozygoten Pflanzenlinien für verschiedene Merkmale führen.

Langfristig kann ein Verständnis des Selbstinkompatiblitätssystems zur Erzeugung von F1-Hybriden beim Löwenzahn genutzt werden.

WP2 T2 Merkmalsorientierte Genetische Kartierung und Molekulare Markerentwicklung

T2.1 Ermittlung des Kautschukgehaltes innerhalb einer spaltenden F1-Kartierungspopulation

In TAKOWIND I wurde die Kartierungsnachkommenschaft EK14-12 aus einer Kreuzung zwischen einer hoch kautschukhaltigen TKS-Mutterpflanze (E30-12) und einer niedrigkautschukhaltigen TKS-Pflanze (E55-12) als Bestäuber erstellt. Um für die in TAKOWIND II verfolgte QTL (Quantitative Trait Loci)-Analyse aussagekräftige Messdaten zu den Kautschukgehalten zu generieren, wurde die Kartierungsfamilie EK14-12 (N= 173 Pflanzen) beim Kooperationspartner hortilab komplett verklont und jeweils für das Anbaujahr 2016, 2017 und 2018 vermehrt, so dass für die drei Standorte Groß Lüsewitz, Quedlinburg und Parkstetten je ca. fünf Klonteile/Individuum zur Verfügung standen und ins Feld gepflanzt werden konnten (Abb. 15). Die Pflanzen wurden von dem Kooperationspartner hortilab bereits getopft übergeben, an die Standorte verteilt und je nach Witterung und Anfang bis Mitte Mai in fünf Reihen randomisiert gepflanzt. Die Ernte erfolgte nach ca. 6 Monaten Ende Oktober bis Anfang November. Alle Pflanzen wurden geerntet, gewaschen und gewogen. Gewogen wurde sowohl die Frischmasse der gesamten Pflanze als auch die Wurzelfrischmasse. Die Wurzeln wurden mind. 48 Stunden bei 60 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Anschließend wurde die Trockenmasse der Wurzeln bestimmt und jeweils zwei Wurzelproben je Individuum an die Firma lifespin GmbH (ehem. numares) versandt.

Abb. 15 Feldversuch zur Bestimmung der Kautschukkonzentrationen der verklonten Kartierungspopulation EK14-12 am Standort Groß Lüsewitz 2017. Je Reihe (fünf Reihen, eine Reihe = eine Wiederholung) wurden 173 Individuen der Population inklusive der Eltern in 20 cm Abstand randomisiert gepflanzt.

Dort wurden die Wurzelproben homogenisiert und die Kautschukmessungen der Wurzeltrockenmasse nach dem in TAKOWIND I entwickelten spezifischen NMR-Protokoll durchgeführt. Je Jahr und Standort wurden Messungen zum Kautschukgehalt der Familie EK14-12 in zweifacher Wiederholung mit insgesamt 3011 Messdaten durchgeführt. Die Kautschukgehalte in Prozent der Wurzeltrockenmasse über alle Jahre und Standorte sind in Abb.16 dargestellt. Die Werte zeigen eine für quantitative Merkmale typische Normalverteilung. Einzelne Ausreißer mit sehr hohen

Kautschukgehalten bis 24 % sind vermutlich auf Messfehler durch Akkumulation von Kautschukpartikeln während der Homogenisierung des Materials zurückzuführen.

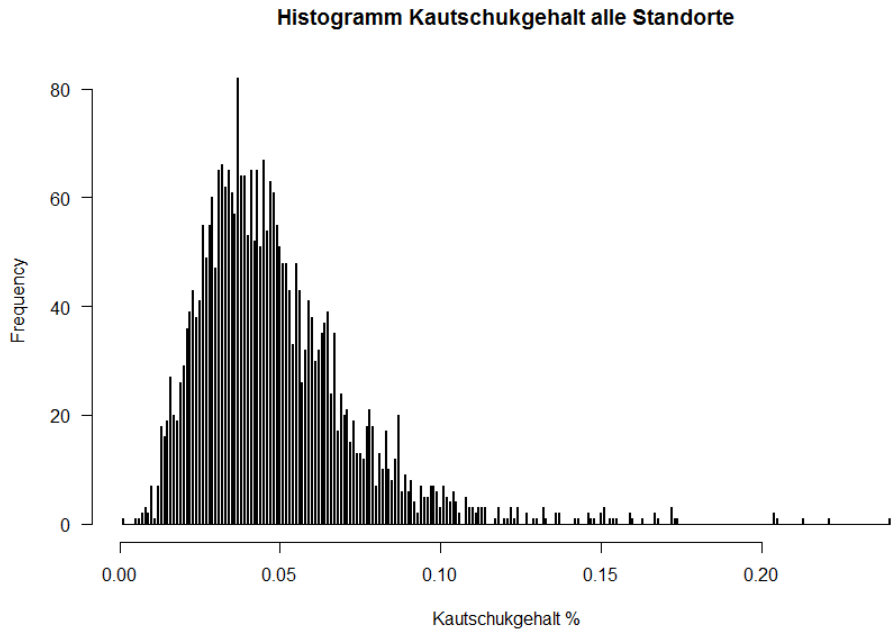


Abb. 16 Häufigkeitsverteilung der Kautschukkonzentration aller Individuen von EK14-12 in 9 Umwelten (3 Versuchsstandorte, 3 Jahre)

In den jeweiligen Anbaujahren zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Versuchsstandorten (Abb. 17).

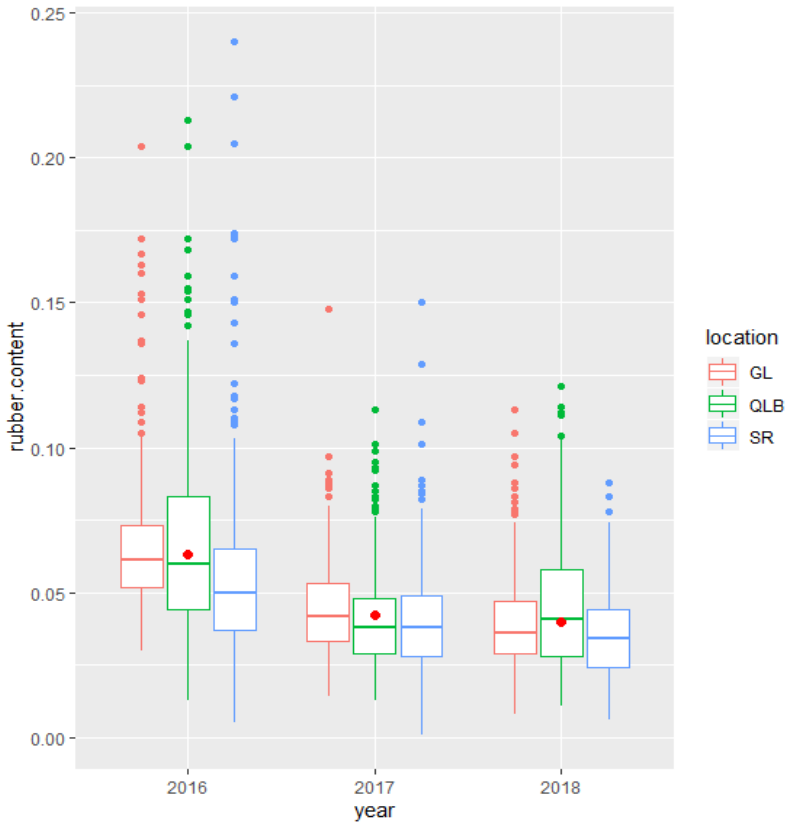


Abb. 17: Box-Plots der Kautschukgehalte der Kartierungsfamilie EK 14-12 für die Standorte Groß Lüsewitz (GL), Quedlinburg (QLB) und Straubing (SR) über die drei Versuchsjahre

T2.2 QTL-Analyse aus gewonnenen Felddaten zum Kautschukgehalt

Für die QTL-Analyse wurden die im vorliegenden Projekt gewonnenen Messdaten zum Kautschukgehalt aus 9 Umwelten herangezogen. Ein Teil der molekularen Marker wurde bereits im Zuge des Vorgängerprojekts TAKOWIND I entwickelt und anhand der Kartierungsfamilie EK 14-12 auf maternaler und paternaler Seite kartiert. Für TAKOWIND II standen somit insgesamt mehr als 1000 kartierte SNP-, AFLP- und SSR-Marker zur Verfügung

In einem ersten Schritt wurden aus den gewonnen Felddaten zum Kautschukgehalt unter Berücksichtigung aller Messdaten (3011 Datenpunkte; Abb 18 a) so genannte BLUEs (Best Linear Unbiased Estimators) berechnet, die dem jeweiligen Kautschukwert der 173 Genotypen entsprechen und für die QTL-Analyse genutzt wurden (Abb. 18 b).

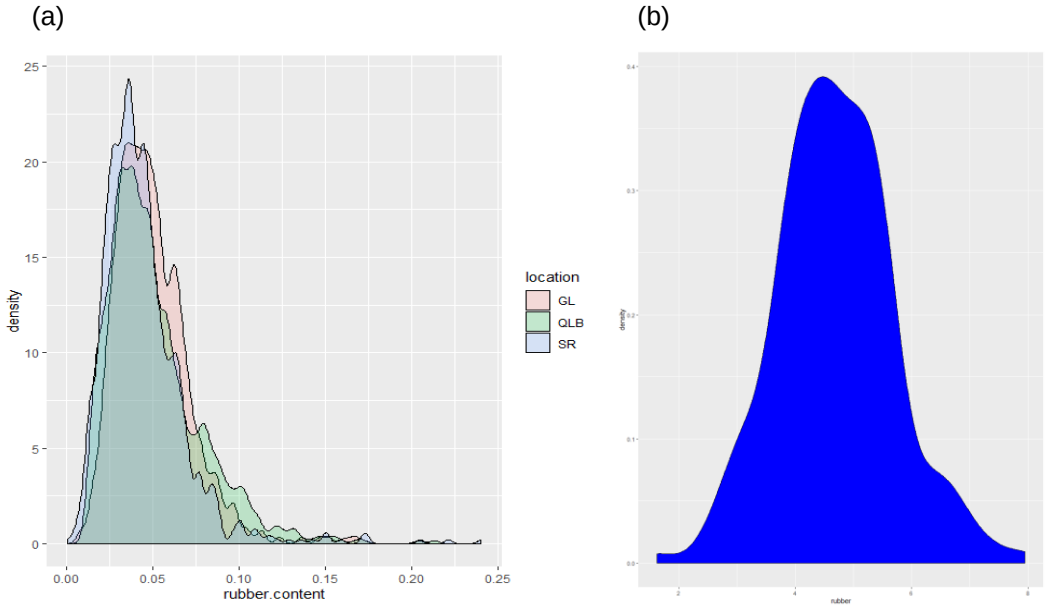


Abb. 18: Dichteplots der Kautschukwerte der Kartierungspopulation. (a) Alle 3011 Messdaten der drei Jahre und Standorte. (b) Auf Grundlage der Genotyp-x-Umwelt-Interaktion berechnete BLUEs für die 173 Genotypen der Kartierungsfamilie EK 14-12

Die auf der Basis der Feldversuchsdaten berechnete Heritabilität für den Kautschukgehalt betrug h^2= 0,51 und bot damit eine ausreichende Grundlage für eine QTL-Analyse. Sowohl die BLUEs als auch die Heritabilität wurden in R berechnet (R-Studio, packages: lme4, lmerTest, emmeans).

Die als BLUEs dargestellten Kautschukwerte von 153 Individuen der Kartierungsfamilie wurden zusammen mit den Markerdaten der maternalen und paternalen Karten (E30: 477 Loci; E55: 576 Loci) genutzt, um auf den jeweils acht Kopplungsgruppen QTL mit der Software MapQTL 5 zu berechnen. Insgesamt konnten drei QTL (QTL-1, -2 und -3) mit signifikanten LOD-Scores > 3 identifiziert werden. Zwei QTL (E30 QTL-1, E30 QTL-2) liegen auf den Kopplungsgruppen 2 und 5 der maternalen genetischen Karte (Abb. 19 a, b).

(a)

(b)

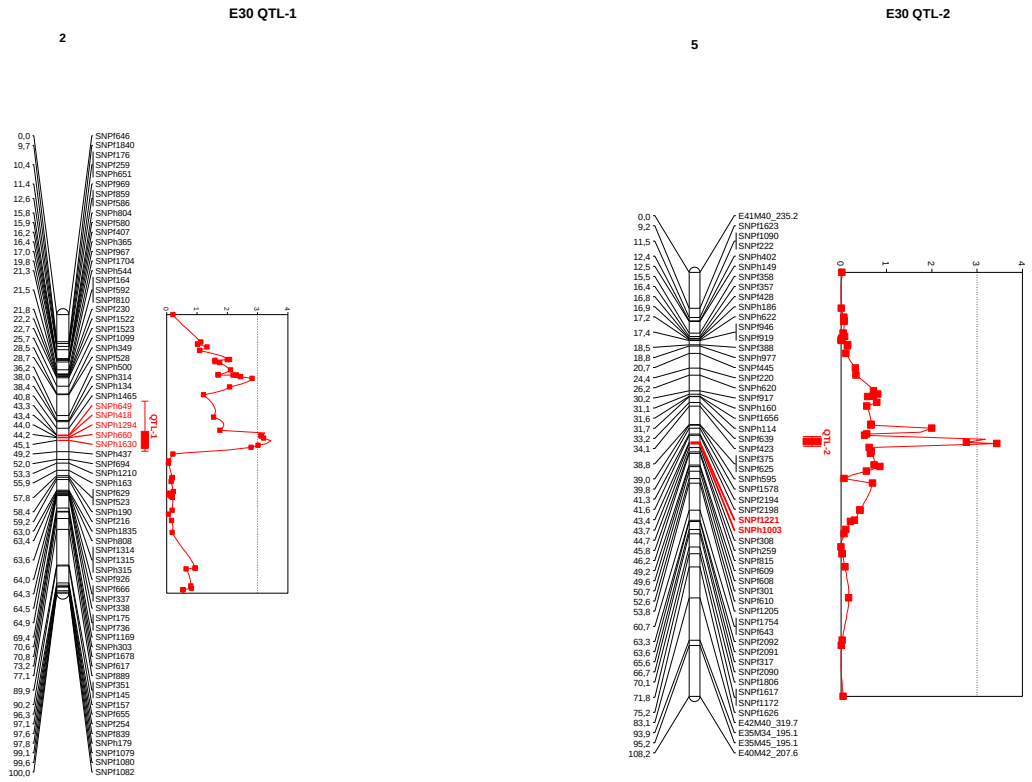


Abb. 19 a: QTL-1 auf Kopplungsgruppe 2 der maternalen Karte (E30), b: QTL-2 auf Kopplungsgruppe 5.

Ein weiterer QTL (E55 QTL-3) wurde auf Kopplungsgruppe 1 der paternalen Karte identifiziert (Abb. 20).

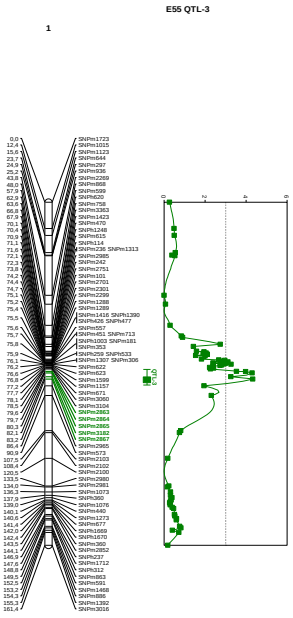


Abb. 20: QTL-3, kartiert auf Kopplungsgruppe 1 der paternalen Karte (E55)

Die Marker-Intervalle der einzelnen QTL sind in Tabelle 10 angeben. Insgesamt umfassten die QTL Regionen 12 SNP-Marker, die jeweils 9–15 % der Variation im Kautschukgehalt erklären.

Tabelle 10: Markerintervalle der QTL1-3 auf den entsprechenden Kopplungsgruppen (Group). Die Position der einzelnen SNP-Marker ist in centiMorgan angegeben. Aufgeführt sind alle SNP-Marker mit einem LOD > 3, die erklärte phänotypische Varianz (% Expl.) und das entsprechende Contig mit der zugehörigen Sequenz aus der GBS-Analyse.

	Group	Position	Locus	LOD	% Expl.	Contig
E30 QTL-1	2	44.282	SNPh1294	3.2	10.8	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1102_9865_3913_72
	2	43.609	SNPh418	3.13	10.7	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1103_13126_91441_26
	2	43.520	SNPh649	3.11	10.6	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1105_6684_42874_69
	2	46.853	SNPh660	3.02	12.2	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1109_2661_41691_43
E30 QTL-2	5	43.683	**SNPh1003**	3.44	**15.4**	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1101_8092_16070_82
E55 QTL-3	1	83.159	SNPm2867	4.32	12.3	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1101_19063_55650_32
	1	80.320	SNPm2865	4.29	12.3	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1107_2165_11707_32
	1	79.704	SNPm2864	3.98	11.4	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1115_5423_17290_14
	1	79.636	SNPm2863	3.53	10.2	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1115_5423_17290_27
	1	76.200	SNPm622	3.27	9.5	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1115_5423_17290_44
	1	82.145	SNPm3182	3.26	9.5	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1115_5423_17290_70
	1	75.059	SNPm2299	3.12	9.1	HET-141-007_213_C7WU9ACXX_2_1208_4912_50405_27

Auf Basis der GBS-Sequenzdaten, auf die die Marker zurückgehen, konnten zehn SNP-Marker-Assays abgeleitet werden, die auch in TKS Pflanzen außerhalb der Kartierungspopulation anwendbar sind und mittels HRM (High Resolution Meltcurve)-Analyse oder KASP (Kompetitive allele specific PCR) für Genotypisierungen zur Verfügung stehen. Erste Validierungen der SNP-Marker in hoch und niedrig kautschukhaltigem Zuchtmaterial zeigen eine klare Allelzuordnung des entsprechenden Genotyps und erlauben so eine Differenzierung.

Die erfolgreiche Kartierung von QTL-Regionen für Kautschukgehalt stellt eines der wichtigsten Ergebnisse von Teilvorhaben 4 dar. Die identifizierten Bereiche im Genom von TKS sind eine wichtige Grundlage für die Suche nach Kandidatengenen, die einen Einfluss auf den Kautschukgehalt haben und in der weiterführenden Forschung die Ausgangsbasis für eine Feinkartierung bieten. Die in diesem Zusammenhang assoziierten SNPs konnten als Marker abgeleitet werden, die potentiell eine markergestützte Selektion ermöglichen und den Züchtungsfortschritt maßgeblich unterstützen und beschleunigen können.

T2.3 Erfassung von Mehltautoleranz innerhalb einer Kartierungspopulation

Ziel des Arbeitspakets war die Identifizierung mehltauresistenter oder -toleranter Individuen von *T. officinale* (To) und die genetische Analyse der Resistenz bzw. Toleranz, um in zukünftigen Hybridzüchtungsprogrammen molekulare Marker für die Selektion auf dieses Merkmal nutzen zu können. In diesem Arbeitspaket mussten eine Reihe von Methoden etabliert werden, um belastbare Ergebnisse zur Resistenz bzw. Toleranz von *T. officinale* und gegenüber dem Echten Mehltau (*Podosphaera erigerontis-canadensis*) erzielen zu können. Alle im folgenden beschriebenen Techniken wurden am JKI in Groß Lüsewitz neu entwickelt.

Zur Gewährleistung ganzjähriger Verfügbarkeit von Inokulum wurde in einem ersten Schritt die Erhaltung des biotrophen Pilzes unter semi-sterilen Bedingungen etabliert. Ausgangsmaterial bildeten lokale Mehltau-Populationen aus dem Feld. Hierzu wurden befallende Blätter von *T. officinale* an den Standorten Groß Lüsewitz und Parkstetten gesammelt. Der Pilz wurde mittels eines feinen Pinsels vom befallenden Feldblatt auf In-vitro-Pflanzen (Abb. 21 a) oder auf Blättern aus dem Gewächshaus, die auf Petrischalen mit Medium (Murashige & Skoog) kultiviert wurden, übertragen (Abb. 21 b). Um die Erhaltung des Pilzes zu gewährleisten, wurde der Pilz im Abstand von 14–28 Tagen auf frisches, nicht infiziertes Blattmaterial übertragen.

Erhaltung des Pilzes unter semi-sterilen Bedingungen

(a) (b)

Abb. 21 a: In-vitro-Erhaltung des Pilzes auf *T.-officinale*-Pflanzen, b: Erhaltung des Pilzes auf Gewächshausblättern, die auf sterilem Medium kultiviert werden

Vermehrung des Pilzes im Gewächshaus

Die oben beschriebene Methode erlaubt die Erhaltung des Pilzes über einen längeren Zeitraum. Eine Vermehrung des Pilzes in ausreichender Menge, um eine Inokulation von Ganzpflanzen einer Population im Gewächshaus durchführen zu können, ist unter Anwendung dieser Technik indes nicht möglich. Die Vermehrung des Pilzes für die Resistenztests erfolgte daher im Gewächshaus an 6 – 8 Wochen alten *T. officinale* Jungpflanzen der anfälligen Sorte Riesentreib (‚RT') (Abb. 22 a, b). Pilzsporen aus der In-vitro-Kultur wurden in eine Suspension überführt und die Ganzpflanzen mit einer Sprühflasche inokuliert. Die Pflanzen wurden anschließend 20 Tage in einer Folienkammer mit hoher Luftfeuchte kultiviert, um eine ausreichende Pilzvermehrung auf den Pflanzen zu gewährleisten.

(a) (b)

Abb. 22 *T. officinale* (‚RT') 20 Tage nach der Inokulation mit Echten Mehltau a: Ganzpflanzen, b: Einzelblatt von *T. officinale*

Durchführung der Resistenztests an *T. officinale* und *T. koksaghyz*

Die Anzucht der Akzessionen erfolgte für 6–8 Wochen im Gewächshaus in separaten Folientunneln, um eine Infektion mit Mehltau zwischen Akzessionen zu vermeiden. Das Saatgut wurde von den Projektpartnern ESKUSA und JKI-SB zur Verfügung gestellt. Die Inokulation der Ganzpflanzen erfolgte, wie in der Vermehrung des Pilzes im Gewächshaus beschrieben, über eine Sprühinokulation. Die Bonitur erfolgte 10 und 20 Tage nach der Inokulation (10 dpi und 20 dpi). Beurteilt wurden die befallene Blattfläche und der Befall der Pflanzensprosse. Auf Basis der differenzierenden Befallsstärke wurde ein Boniturschema von 1–5 festgelegt. Pflanzen mit den Boniturnoten 1 und 2 wurden als resistent, BN 3 als tolerant und BN 4 und 5 als anfällig eingestuft (Abb. 23).

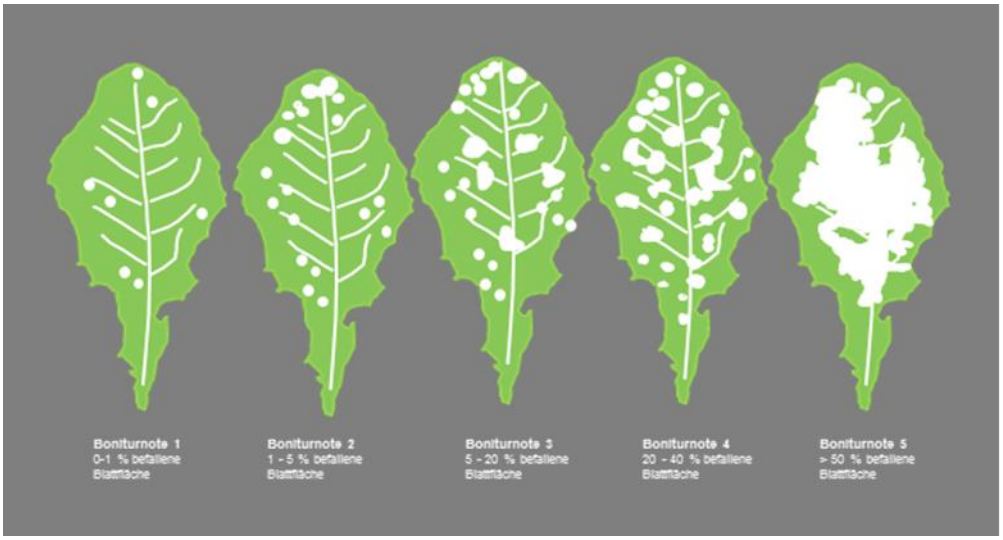


Abb. 23 Schematisch dargestellter Befall mit Echtem Mehltau auf einer Boniturskala 1–5

Sämtliche Resistenzversuche wurden mit mindestens einer unabhängigen Wiederholung durchgeführt. Je Prüfglied wurden 25 Ganzpflanzen getestet. Im Projektzeitraum wurden verschiedene Akzessionen von *T. officinale* und *T. koksaghyz* in Resistenztests geprüft, deren Ergebnisse in Abb. 24 zusammengefasst sind. Grundsätzlich war es von züchterischem Interesse einzuschätzen, ob es im Hinblick auf das Befallsniveau Unterschiede zwischen den Arten *T. officinale* und *T. koksaghyz* gibt. Bisherige Feldbeobachtungen von Partner ESKUSA ergaben eine hohe Mehltauanfälligkeit von triploidem *T. officinale*.

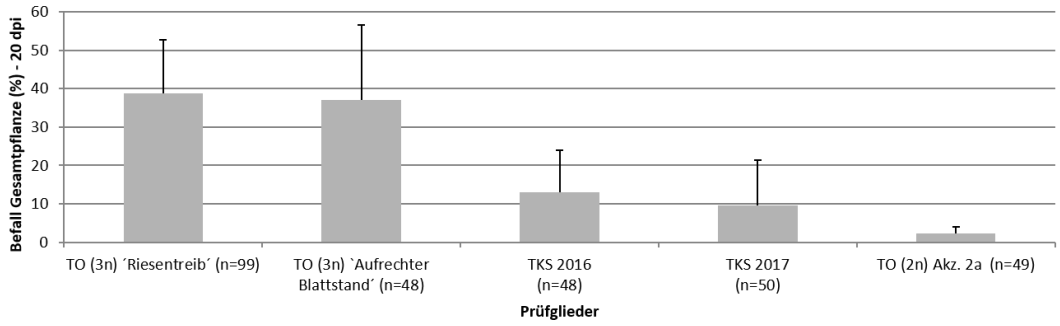


Abb. 24 Auswertung der zusammengefassten Mehltau-Resistenztests verschiedener To- und TKS-Akzessionen. Dargestellt ist der anhand des Boniturschemas bewertete Befall der Gesamtpflanze in %, 20 dpi.

Die Ergebnisse der Resistenztests zeigen, dass TKS signifikant weniger befallen wurde als triploider To (3n) und insgesamt als tolerant gegenüber Mehltau eingestuft werden kann. Dies wird bestätigt durch die bisherigen Feldbeobachtungen. Die als resistent einzustufende diploide (2n) To-Akzession 2a steht als potentieller Kreuzungspartner für die Züchtung zur Verfügung. Es wurden noch die diploiden T. officinale (To) Akzessionen 3a und 4a geprüft, doch aufgrund technischer Probleme bei der Pflanzenanzucht ließen sich die Akzessionen nicht eindeutig als resistent/tolerant oder anfällig einstufen.

Differentielle Transkriptom-Analyse und Markerentwicklung

Langfristig wird es für den Züchtungsfortschritt beim Löwenzahn hilfreich sein, molekulare Selektionswerkzeuge für die Selektion auf relevante Merkmale einzusetzen. Marker für abgestufte Merkmalsausprägungen wie Mehltauresistenz lassen sich relativ kostengünstig über eine vergleichende Transkriptom-Analyse (RNAseq/MACE) von differenziellen Phänotypen (etwa resistent vs. anfällig) entwickeln. Das Ziel im Vorhaben war, solche Gene oder Sequenzen zu identifizieren, die ausschließlich im Set von resistenten Pflanzen exprimiert werden. Diese lassen sich anschließend über SNP-Analysen in PCR-basierte Marker umwandeln. Basis für die Transkriptom-Analyse bildeten Pflanzen des resistenten diploiden To 2a und des anfälligen triploiden To ‚RT'. Die Pflanzen wurden wie oben beschrieben inokuliert und Blattmaterial in einer definierten Zeitreihe (0, 2, 4, 12, 24 h nach Inokulation) entnommen und die restliche Pflanze nach 10 und 20 Tagen bonitiert. Das Blattmaterial wurde bei -80 °C eingefroren und auf Trockeneis an die Fa. GenXPro zur Transkriptom-Analyse versendet. Die Auswertung der Daten erfolgte durch JKI-ZL.

Aus Kosten –und Effizienzgründen wurden die Blattproben für die Sequenzierung in vier verschiedene RNA-Pools unterteilt. Zwei Pools bildeten To ‚RT' (To_RT_null) und To 2a (To_2a_null) vor der Inokulation mit Mehltau und zwei Pools bildeten sich aus allen Blattproben, die nach der Inokulation von To ‚RT' (To_RT_inf) und To 2a (To_2a_inf) genommen wurden. Nach Sequenzierung und Annotierung wurden vier Vergleiche durchgeführt, um differentiell exprimierte RNAs zwischen den Pools zu identifizieren (Tab. 11).

Tab. 11 Vergleiche der Sequenzdaten unterschiedlicher RNA-pools mit entsprechender Anzahl Gene, die mit einem p-Wert < 0,05 signifikant differentiell exprimiert sind

Vergleich	Differentiell exprimierte RNA/Gene (p-Wert < 0,05)
To_RT_null vs. To_RT_inf	9529
To_2a_null vs. To_2a_inf	8354
To_RT_null vs. To_2a_null	10043
To_RT_inf vs. To_2a_inf	9390

Auf Grundlage der differentiell exprimierten Transkripte wurden die Daten zunächst weiter gefiltert, um Gene zu identifizieren, die im resistenten Pool (To_2a_inf) nach der Inokulation im Vergleich zu den anderen Pools entweder wesentlich stärker exprimiert wurden (Abb. 25 a) oder extrem herunterreguliert waren (Abb. 25 b) und auf eine pflanzliche Immunantwort hindeuten. Weitere Filterkriterien beinhalteten die FDR (False Discovery rate < 0,05), den log2fold change (>1, bzw. <-1) und eine Mindestanzahl von exprimierten Transkripten (raw count of reads > 10).

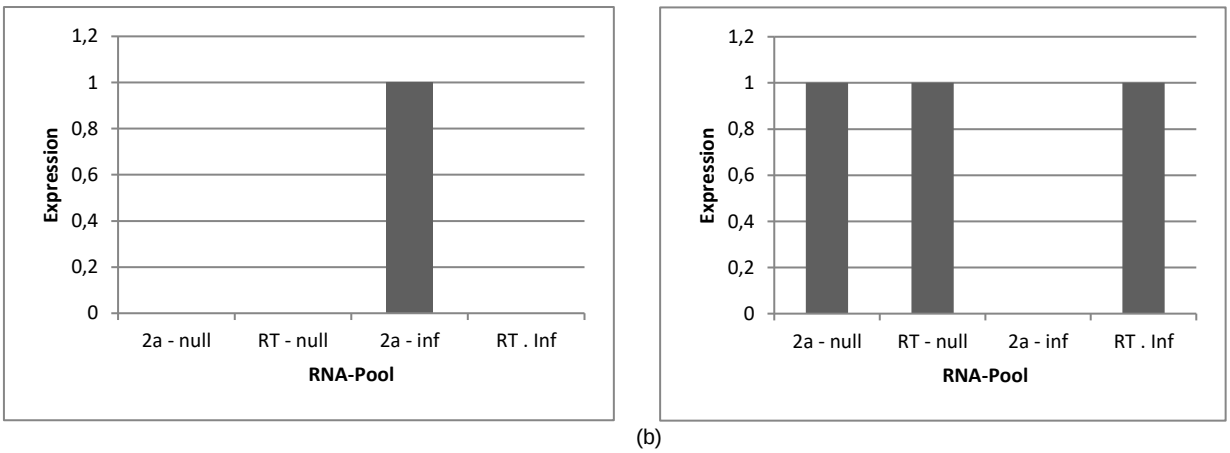


Abb. 25: Beispielhafte Expressionsunterschiede im resistentem RNA-Pool To 2a inf. (a) Gen ist als Reaktion nach einer Infektion mit Mehltau deutlich hochreguliert. (b) Infektion mit Mehltau führt zur ausbleibenden Expression eines Gens im resistenten Pool.

Insgesamt konnten anhand dieser Einteilung 17 eindeutig hochregulierte und 19 herunterregulierte Transkripte in dem resistenten RNA-Pool von To 2a identifiziert werden. Auf der Basis dieser

differenziellen Transkripte wurde eine SNP-Analyse durchgeführt, um merkmalsbezogene SNP-Marker zu entwickeln. Dazu wurden SNPs aus den Sequenzdaten der Kandidatengene herausgefiltert, die zwischen dem anfälligem und toleranten Pool am gleichen Lokus eine Differenzierung anhand ihres Genotyps ermöglichen. Insgesamt konnten 175 solcher SNPs identifiziert werden. Für 150 dieser SNPs konnten aus den flankierenden Sequenzen Primer abgeleitet werden, um sie in SNP-Markerassays (KASP-Assays) für Genotypisierungen in spaltenden Populationen nutzen zu können.

Um das Merkmal Mehltauresistenz/Toleranz genetisch analysieren zu können, ist der Aufbau einer Kartierungspopulation aus einer Kreuzung zwischen anfälligen und resistenten To-Pflanzen ein notwendiger Schritt. Da im Rahmen dieses Projektes noch kein eindeutig anfälliger diploider To identifiziert werden konnte (s.o.), der sich mit dem resistenten To 2a kreuzen ließe, konnte eine solche Nachkommenschaft noch nicht entwickelt werden. Der stark anfällige To RT ist triploid und für den Aufbau einer Kartierungsfamilie mit diploidem Partner nicht geeignet.

Die entwickelten Markerassays stehen für den Einsatz in künftigen für Mehltauresistenz aufspaltenden Populationen bereit, um mit der Resistenz kosegregierende Marker für die markergestützte Selektion identifizieren zu können.

WP3 T1 Verbesserung/Sicherung des Feldaufganges nach Direktsaat

Die Planbarkeit der Bestandesdichte von Tks ist weiterhin unzureichend, was durch die große Streubreite an etablierten und später geernteten Pflanzen pro Hektar (zwischen 450000 und 2.5 Mio. pro Hektar) trotz Berücksichtigung von Tausendkorngewicht (TKG) und Keimfähigkeit (KF) bei der Berechnung der Aussaatmenge offenbart wird. Aufgrund dieser nur begrenzt planbaren Bestandesdichte und des negativen Zusammenhangs zwischen sehr hohen Bestandesdichten und dem Wurzelgewicht der einzelnen Pflanze ist eine weitere Verbesserung der technischen Saatguteigenschaften (abriebfreies Pilliermaterial, stabile Multipille, verbesserte Keimfähigkeit von Multipillen) erstrebenswert. Es zeigte sich im Laufe der zwei Versuchsjahre, dass durch Saatgutpillierung der Feldaufgang gegenüber blankem Saatgut verbessert werden kann. Weitere Verbesserungen in der Zusammensetzung des Pilliermaterials können zukünftig die nötigen Aussaatmengen reduzieren. Dafür sollten weitere Saatgutpillierungen/-behandlungen getestet werden. Aussaatversuche mit einer pneumatischen Einzelkornsämaschine könnten dann weiter zu einer Standraumoptimierung beitragen, in dem das kritische Gleichgewicht zwischen Wurzelgewicht der Einzelpflanze und Wurzelertrag aus der Fläche ermittelt werden kann.

Ziel: Verbesserung des Feldaufgangs und der planbaren Bestandesdichte durch Saatgutpillierung

Methode: In den Jahren 2017 und 2018 wurden an den JKI-Standorten in Quedlinburg (QLB) und Groß Lüsewitz (GL) jeweils ein Parzellenversuch mit sieben Versuchsgliedern angelegt, die in beiden Versuchsjahren identisch waren (Tabelle 12) (n=4, randomisierte Blöcke, 1,5 x 6m á 6 Reihen). Zwei Versuchsglieder aus dem Jahr 2017 (VG 2: Tks-Wildtyp mit Pilliermasse als Einzelkorn, VG 6: Tks-Wildtyp mit Pilliermasse als Multipille) konnten im Jahr 2018 nicht nochmal angelegt werden, da nicht mehr ausreichend Material mehr zur Verfügung stand (Zwischenbericht 1). Der zusammenfassende Bericht stellt die Ergebnisse der Versuchsglieder dar, die in beiden Jahren an beiden Standorten angelegt werden konnten.

Material: Die Bereitstellung des Saatguts erfolgte 2017 durch die Fa. Eskusa und wurde als Blanksaat, mit Pilliermasse ($CaCO_3$) als Einzelkorn oder als Multipille und mit/ohne Aktivkohle, mit/ohne weitere Zusatzstoffe (Beizmittel, Wasseradsorber, Pflanzenstärkungsmittel) mit ca. 7-11 Korn pro Pille durch ESKUSA vorbereitet. Die keimfördernden/sichernden Stoffe wurden beim Pilliervorgang zugegeben.

Das Material der VG 1 und 3-6 stammte aus dem Nachbau (2015) der ursprünglichen Tk-Wildpopulation der Fa. ESKUSA, VG 7 Tk Elite 2.0 war der Nachbau einer auf Kautschukgehalt selektierten Population in der ersten Nachkommenschaft aus dem Jahr 2015, VG 2 stammte aus der offen abgeblühten Tk-Population 2017 am JKI-QLB, die seit 2012 an diesem Standort jährlich nachgebaut wird. Aufgrund von Saatgutengpässen konnte durch die Fa. Eskusa 2018 kein weiteres Saatgut mit züchterisch verbessertem Material (hinsichtlich Kautschukgehalt) bereitgestellt werden, so dass für die Versuchsanlage auf das Ausgangsmaterial von 2017 zurückgegriffen wurde. Es wurden jedoch 2019 drei Hybridlinien (TksxTO) der Fa. Eskusa in die Düngeversuche integriert. Die Aussaat erfolgte in beiden Jahren im April als Drillsaat (Hege 90). Der Feldaufgang musste in beiden Jahren auf beiden Standorten aufgrund anhaltender Trockenheit durch Beregnungsmaßnahmen unterstützt werden (mind. 2 x 8-10mm)

Tab. 12: Varianten der Saatgutpillierung und Herkunft an zwei Standorten (QLB, GL) in 2017 und 2018

Versuchsglied	Herkunft	Material	Form	Pillierung	Korn/Pille	TKG (g)	Keimrate 2018 (% ausgelegte Achänen)	Keimrate 2017 (% ausgelegte Achänen)
VG 1	Eskusa	Tk-Wildtyp	Einzelkorn (EK)	unbehandelt (blank)		0.42	74	27
VG 2	JKI/QLB 2017		EK	unbehandelt (blank)		0.57	98	82
VG 3	Eskusa		EK	+ Pilliermasse + Aktivkohle		0.97	87	79
VG 4	Eskusa		EK	+Pilliermasse+Aktivkohle+Beizmittel+Wasseradsorber+Pflanzenstärkungsmittel + Dünger		1.95	85	74
VG 5	Eskusa		Multipille (MP)	+Pilliermasse + Aktivkohle	2	6.96	24	18
VG 6	Eskusa		MP	+Pilliermasse+Aktivkohle+Beizmittel+Wasseradsorber+Pflanzenstärkungsmittel + Dünger	1	22.55	10	10
VG 7	Eskusa	Tk Elite 2.0	EK	+Pilliermasse + Aktivkohle		1.10	100	71

Ergebnisse und Schlussfolgerungen aus den Versuchsjahren 2017 und 2018:

Charakterisierung des veredelten Saatguts:

Das Tausendkorngewicht (TKG) und die Keimfähigkeit des Saatguts waren stark abhängig von der Art der Saatgutbehandlung (Tabelle 12). Es wurde deutlich, dass durch die zwischenzeitliche Lagerung des Saatguts, ca. 11 Monate bei -20°C, die ursprüngliche Keimfähigkeit des Saatguts mindestens erhalten blieb bzw. sich sogar verbesserte (VG 1, 3, 4, 5, 7). Das Material der Herkunft JKI/QLB (blank) wies ein höheres TKG sowie eine höhere Keimfähigkeit auf Filterpapier auf als das Material der ESKUSA (blank). Die Unterschiede können sowohl auf die unterschiedlichen Witterungsbedingungen während der Samenreife in der Vorsaison, unterschiedliche Lagerbedingungen bzw. unterschiedliche Reinigungsschritte zurückzuführen sein. Es war wie im Vorjahr in vitro zu beobachten, dass die Keimfähigkeit der Achänen innerhalb der Multipillen im Vergleich zur Einzelkornpillierung stark reduziert war. Darüber hinaus wurde wiederum beobachtet, dass die Ummantelung mit Pilliermasse zu einem erhöhten Auftreten von Pilzkontamination während des Keimtests führte sowie dass die Multipillen in Wasser relativ schwer löslich waren. Verbesserungen bei der zukünftigen Zusammensetzung der Pilliermasse müssen angestrebt werden, um die Keimfähigkeit der Samen in einer Multipille zu verbessern.

Verhalten des veredelten Saatguts im Feld:

In beiden Versuchsjahren erfolgte die Berechnung der Aussaatmengen, unter Berücksichtigung von TKG, Keimfähigkeit und zu erwartendem Feldaufgang (15%) erfolgte mit der Zielsetzung, in allen Varianten ca. 25-30 Pflanzen pro Meter (1,5 Mio. Pflanzen/ha, 23 cm Reihenabstand) zu etablieren. Dazu wurden als Vergleichsbasis für die Berechnung der Aussaatstärke der unterschiedlichen Saatgutpillierungen (unterschiedliches TKG, unterschiedliche Keimfähigkeit) immer 300 keimfähige Korn pro Meter verwendet, um die Bestandesetablierung zu beurteilen. Das Ziel wurde nur selten punktuell (z.B. V1 2017-beide Standorte) erreicht, die erzielten Bestandesdichten lagen insbesondere beim Elite-Material und den Multipillen weit unter dem gesetzten Ziel (insbesondere am Standort GL). Im Durchschnitt verbesserte die Saatgutpillierung (VG 3-7) den Feldaufgang gegenüber dem blanken Saatgut (VG 1) (Ausnahme: Multipillen 2017, Tks 2.0). Sowohl bei der EK- als auch bei der MP-Variante war die Pillierung mit dem Wasseradsorber (VG 4 und 6) den anderen Varianten etwas überlegen. Der Vorteil dieser Pilliermasse kann in der schnelleren Erwärmung der dunklen Aktivkohle-Hülle aber auch in ihren leicht hygroskopischen Eigenschaften liegen. 2017 waren in den mit Aktivkohle pillierten Varianten auch ein vorzeitiger Feldaufgang sowie ein homogeneres Auflaufverhalten zu beobachten, was 2018 aber nicht wieder so zu beobachten war.

Der verbesserte Feldaufgang in den pillierten (Einzelkorn-)Varianten resultierte jedoch auch in sehr hohen Bestandesdichten, so dass bei diesen veredelten Varianten zukünftig weniger Saatgut eingesetzt werden kann, um die gewünschten Bestandesdichten zu erzielen. In 2018 in QLB waren die erzielten Bestandesdichten in VG 2, 3, 4 und 5 ein Vielfaches zu dicht, da der Feldaufgang vermutlich aufgrund der durchgeführten Beregnungsmaßnahmen deutlich höher ausfiel als erwartet. Bei diesen Varianten wäre ein geringerer Saatguteinsatz möglich gewesen. Die gewünschte Bestandesdichte wurde in 2018 in QLB am besten mit VG 5 (Multipille) und VG 7 (Elite 2.0) erreicht. In GL lagen in 2018 14 Tage nach Feldaufgang die Bestandesdichten deutlich besser an dem gesetzten Ziel, da der Feldaufgang, trotz Beregnung, im Vergleich zu QLB z.T. um 50% reduziert war (evtl. tiefere Ablage). Entscheidend für die planbare Bestandesdichte sind das Zusammenspiel aus einer Vielzahl an Faktoren (Saatguteigenschaften, Umwelt (Jahr x Standort) – Witterungsbedingungen nach Aussaat, Tiefenablage Aussaat, mögliche Bewässerungsmaßnahmen). Zum jetzigen Zeitpunkt ist die Etablierung von Tks mittels Drillsaat im Feld noch immer wenig planbar und kann in Feldaufgängen von 3-30% des eingesetzten keimfähigen Saatguts resultieren.

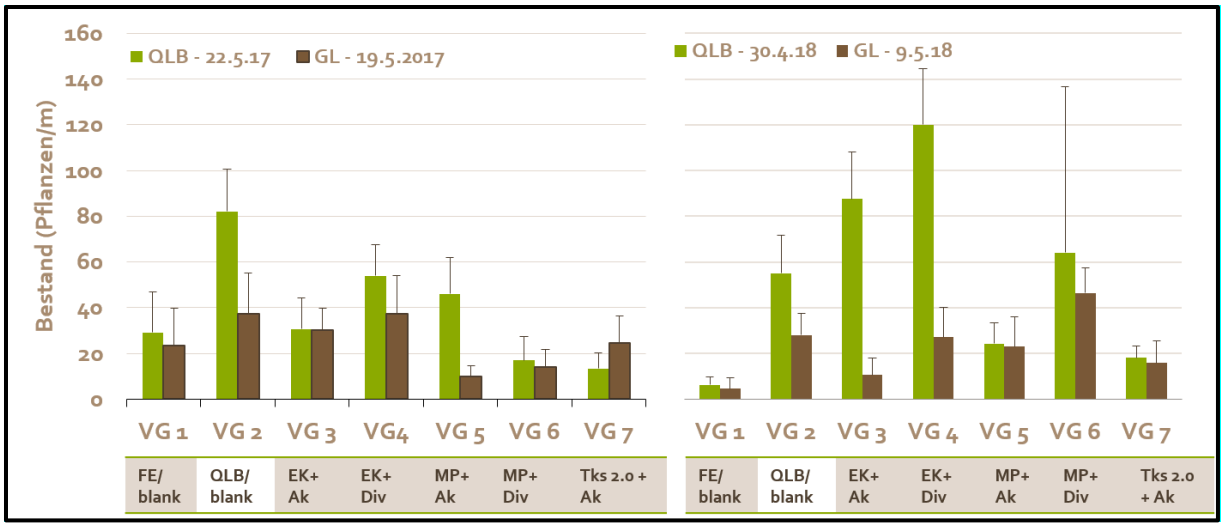


Abb. 26: Erzielte Bestandesdichten 14 Tage nach Feldaufgang am Standort QLB und GL in 2017 und 2018

Die Bestandesdichten nach Feldaufgang korrelieren im Wesentlichen mit den erzielten erntbaren Beständen im Oktober (Daten nicht dargestellt). Aufgrund der unterschiedlich erzielten Bestandesdichten ließen sich auch gut Zusammenhänge zwischen den Ertragsparametern untersuchen (Abb. 27). Es wurde deutlich, dass mit zunehmender Pflanzendichte das Einzelwurzelgewicht signifikant abnimmt, was negative Konsequenzen für die maschinelle Ernte haben kann. Es stellt sich an dieser Stelle die Frage nach einem technisch notwendigen Mindestwurzelgewicht, die zum derzeitigen Technikstand nicht beantwortet werden kann. Es existierte jedoch auch ein direkter positiver Zusammenhang zwischen den erzielten Pflanzen/ha und dem Wurzelertrag (Wurzel-TM in t/ha) an beiden Standorten, wobei berücksichtigt werden muss, dass die Ernte der Versuchsparzellen manuell erfolgte (Rodeaggregat plus händisches Auflesen der gerodeten Pflanzen). Und da die Wurzelernte z.T. manuell erfolgte, steigt unter Versuchsbedingungen der Ertrag mit jeder einzelnen Pflanze (fast linear) an, unabhängig von der Wurzelgröße.

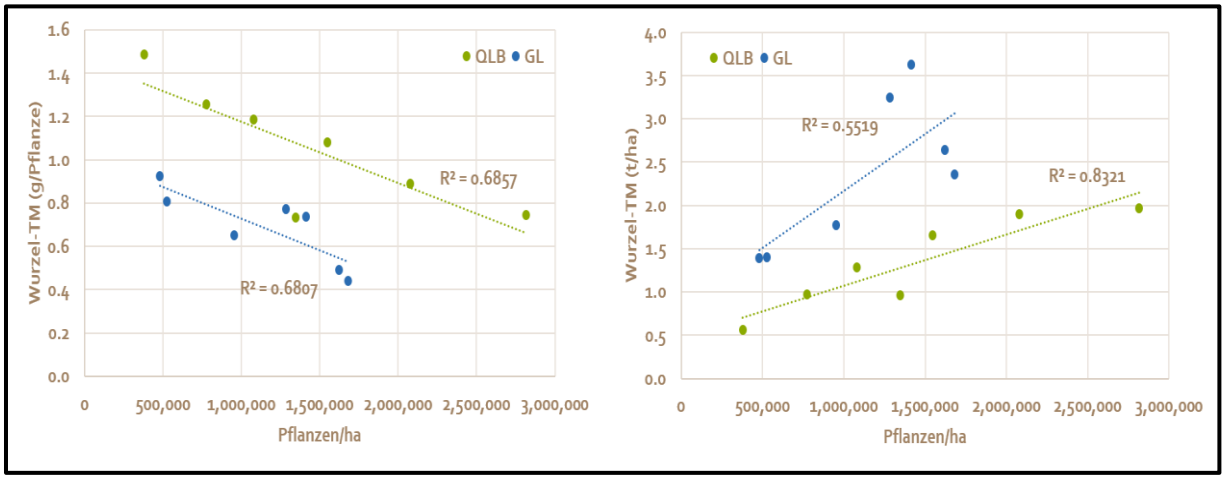


Abb. 27: Zusammenhang zwischen Ertragsparametern und Bestandesdichten an zwei Standorten (GL, QLB) im Versuchsjahr 2018

Fazit: Die große Streubreite (Abbildung 26) an etablierten und später geernteten Pflanzen pro Hektar (zwischen 450000 und 2.5 Mio. pro Hektar) trotz Berücksichtigung von Tausendkorngewicht (TKG) und Keimfähigkeit (KF) bei der Berechnung der Aussaatmenge offenbart die noch immer stark eingeschränkte Planbarkeit von Bestandesdichten in Tk. Aufgrund der z.Zt. nur stark begrenzt planbaren Bestandesdichte und des negativen Zusammenhangs zwischen sehr hohen Bestandesdichten und dem Wurzelgewicht der einzelnen Pflanze ist eine weitere Verbesserung der technischen Saatguteigenschaften (abriebfreies Pilliermaterial, stabile Multipille, verbesserte

Keimfähigkeit von Multipillen) erstrebenswert. Es zeigte sich im Laufe der zwei Versuchsjahre, dass durch Saatgutpillierung der Feldaufgang gegenüber blankem Saatgut verbessert werden kann. Weitere Verbesserungen in der Zusammensetzung des Pilliermaterials können zukünftig die nötigen Aussaatmengen reduzieren. Dafür sollten weitere Saatgutpillierungen/-behandlungen getestet werden. Aussaatversuche mit einer pneumatischen Einzelkornsämaschine könnten dann weiter zu einer Standraumoptimierung beitragen, indem das kritische Gleichgewicht zwischen Wurzelgewicht der Einzelpflanze und Wurzelertrag aus der Fläche ermittelt werden kann.

WP3 T2 Anbauversuche zu Düngung, Aussaat- und Erntezeitpunkt

Die gedüngten Varianten von Tks, unabhängig von der Düngeform, zeigten keinen signifikanten Mehrertrag im Vergleich zur nicht gedüngten Kontrolle in keinem der Versuchsjahre und an keinem der Standorte. Der Einfluss auf den Kautschukgehalt in der Trockenmasse war nicht konsistent und wurde nur 2017 festgestellt. Das Versuchsjahr unterschied sich von den beiden folgenden Versuchsjahren durch überdurchschnittlich hohe Niederschläge, die ein Auswaschen des Festdüngers in tiefere Bodenschichten erwarten ließ. Die Überprüfung der N-Dynamik zeigte jedoch, dass die Unterschiede durch die unterschiedlich hohen N-Gaben durchaus auch in trockneren Versuchsjahren wie 2019 für die Pflanzen verfügbar waren, jedoch offensichtlich nicht zur Bildung von mehr Wurzelmasse genutzt wurden/werden konnte. Auch in den Hybridlinien konnte kein signifikanter Einfluss der N-Düngung auf den Wurzelertrag gezeigt werden (Anbau nur 2019). Die Hybridlinien enthielten keinen Kautschuk. Die N-Düngung zeigte auch keinen Einfluss auf die saisonale Entwicklung von Wurzelmasse und Kautschuk.

Generell konnten trotz anhaltender Trockenheit in den Jahren 2018 und 2019 auf beiden Standorten im Schnitt über alle Versuchsglieder im Vergleich zu 2017 Mehrerträge (Wurzel-TM t/ha) von bis zu 70% erzielt werden, da es über die Saison gelang, ca. 64% mehr Pflanzen als 2017 auf der gleichen Fläche zu etablieren.

Da weder der Wurzelertrag noch der Kautschukgehalt von Russischem Löwenzahn signifikant mit den getesteten Düngemaßnahmen gesteigert werden konnte, muss davon ausgegangen werden, dass die Grundversorgung mit N im Boden (Nachmineralisation) an beiden Standorten ausreichend für die Pflanzen war, um ihr mögliches Wachstumspotential an diesen Standorten auszuschöpfen. Eine zusätzliche Düngung mit N ist daher unter vergleichbaren Umweltbedingungen für Tk nicht empfehlenswert. Diese Schlussfolgerung kann im Wesentlichen durch die Elementanalysen und die daraus resultierende Berechnung zu den Nährstoffentzügen zur Ernte bestätigt werden. Die selbe Schlussfolgerung kann aufgrund der Datenlage eines Anbaujahres an zwei Standorten auch für die z.T. signifikant wüchsigeren Hybridlinien (TksxTo) gezogen werden. Weitere Versuche mit kautschukhaltigen Hybridlinien, die signifikant mehr Biomasse bilden als der Tk-Wildtyp müssten unter unterschiedlichen Standortbedingungen untersucht werden, um diese Eregbnisse zu verifizieren.

Die Elementanalysen mittel N-Analyzer und ICP-OES mit Proben aus dem Jahr 2017 in Blatt und Wurzel ermöglichten die Berechnung der Nährstoffentzüge zum Zeitpunkt der Ernte in Tks mit den realisierten Erträgen, so dass erstmalig solche Daten für Tks zur Verfügung stehen und Orientierung für eine mögliche Düngung an ähnlichen Anbaustandorten geben kann.

Ziel: Verbesserung der Wurzelerträge durch Stickstoffdüngung im Feld, Datengrundlage zur Nähstoffbedürfnissen von Tks für die Entwicklung möglicher Düngeempfehlungen

Hintergrund: Angenommener niedriger Nährstoffbedarf von Tks und signifikante Steigerung der Wurzelmasse in Gefäßversuchen im Gewächshaus nach N-Düngung

Methode: Es wurden über drei Jahre (2017-2019) Parzellenversuche (1,5 x 6 m á 6 Reihen) im Freiland an zwei Versuchsstandorten des JKI (Quedlinburg, QLB, Groß Lüsewitz, GL) angelegt. Die Versuchsanlage wurde als randomisierte Blockanlage mit n=4 (2017), n=6 (2018) und n=4 (GL) und n=6 (QLB) in 2019 angelegt. Es wurden verschiedene Düngerformen - Kalkammonsalpeter (KAS), Ammoniumsulfat (SSA), Ammoniumsulfatsalpeter (ASS) und NPK (15-15-15) eingesetzt, die sich hinsichtlich ihrer Nitrat-Ammonium-Zusammensetzung unterscheiden und damit in der unmittelbaren Verfügbarkeit (schnell/langsam) für die Pflanzen. Die Dünger wurden in einer Gesamtaufwandmenge von 85 bzw. 170 kg N/ha eingesetzt (Tabelle 13 und 14), um stark voneinander unterscheidbare Düngeszenarien (keine, niedrige, hohe N-Düngung) zu gestalten. Außer in der Kontrolle erfolgte die Düngung der Gesamtmenge über drei Termine 25+25+35 (85 kg/ha) und 50+50+70 (170 kg/ha), die sich an dem erreichten Entwicklungsstadium der Pflanzen orientierten (N1: nach Feldaufgang (EC 10-12, N2: Beginn Blütenanlage/EC 51, N3: nach der Blüte und Samenreife /EC 71-81), um Auswaschungsverluste von N in tiefere Bodenschichten zu reduzieren. Eine Düngung weiterer Mineralstoffe (P, K, Mg, B, Zn, Fe) war an beiden Versuchsstandorten nicht empfehlenswert aufgrund der überdurchschnittlich hohen Versorgung der Standorte mit diesen Elementen (Gehaltsklasse E). In GL wurde in 2017 und 2018 zum Stadium Knospenschieben 0,5 kg Bor/ha als Blattdüngung gegeben, da auf diesem Standort nach Bodenanalyse nach VDLUFA ein Bormangel (Gehaltsklasse A) festgestellt wurde. Die Verfügbarkeit der N-Gaben wurde durch sequentielle Bodenproben überprüft (Abb. 28). Zur Ernte im Oktober wurden die Elementkonzentrationen (2017), die Biomasseerträge (Wurzel/Blatt), die Bestandesdichten sowie die Kautschukgehalte in der Trockenmasse (2017-2019) ermittelt. Im Jahr 2018 erfolgte darüber hinaus eine sequentielle Beprobung monatliche Beprobung von Einzelpflanzen aus den Beständen zur Ermittlung der Wurzelmasse und der Kautschukgehalte über die Saison unter dem Einfluss verschiedener Düngergaben.

Die Berechnung der N-Gaben erfolgte aus Literaturangaben (u.a. Whaley and Bowen 1947, Ulmann, 1951) und der Annahme von 1 -1.5 Mio. etablierten Pflanzen im Feld zum Erntezeitpunkt. Die Drillsaat erfolgte im April, die manuelle Ernte der Pflanzen im Oktober des Anbaujahrs (Sommerkultur).

Material: Das verwendete Tks-Saatgut (blank) stammte aus der offen abgeblühten Tk-Population 2017 am JKI-QLB, die seit 2012 an diesem Standort jährlich nachgebaut wird (Herkunft: Genbank USDA-NPGS). Die Hybridlinien (TkxTo) 207, 136 und 182 stammten von der Fa. Eskusa.

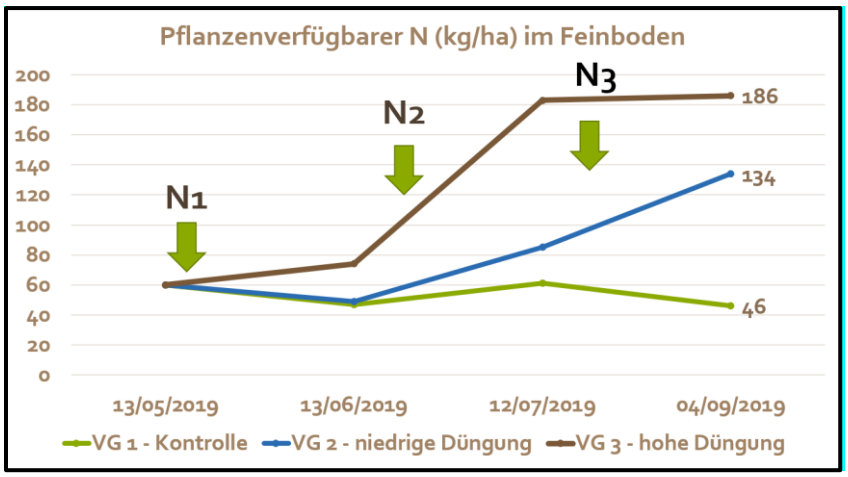


Abb. 28: Pflanzenverfügbarer Stickstoff im Boden nach N-Düngung zu unterschiedlichen Entwicklungszeitpunkten der Pflanzen (N1: EC 10-12, N2: EC 51, N3: EC 71-81) am Standort QLB, 2019

Tab. 13: Pflanzenmaterial (Tks, Hybride 207, 182, 136), N-Stufen (0, 85, 170 kg/ha) und Düngerformen (KAS – Kalkammonsalpeter, SSA – Ammoniumsulfat, ASS – Ammoniumsulfatsalpeter, N-P-K – Volldünger im Verhältnis 15-15-15) und Terminierung zu unterschiedlichen Entwicklungszeitpunkten (N1: EC 10-12, N2: EC 51, N3: EC 71-81) am Standort QLB in 2017-2019

QLB	2018								2019					
	2017													
kg N/ha	Tks	Tks	Tks	Tks	Tks	Tks	Tks	Tks	Hybride 207		Hybride 182		Hybride 136	
	-	KAS	KAS	SSA	SSA	ASS	ASS	NPK	-	KAS	-	KAS	-	KAS
N1	-	25	50	25	50	25	50	85	-	25	-	25	-	25
N2	-	25	50	25	50	25	50	-	-	25	-	25	-	25
N3	-	35	70	35	70	35	70	-	-	35	-	35	-	35
Σ		85	170	85	170	85	170	85	-	85	-	85	-	85

Tab. 14: Pflanzenmaterial (Tks, Hybride 207, 136), N-Stufen (0, 85, 170 kg/ha) und Düngerformen (KAS – Kalkammonsalpeter, SSA – Ammoniumsulfat, ASS – Ammoniumsulfatsalpeter, NPK – Volldünger im Verhältnis 15-15-15) und Terminierung zu unterschiedlichen Entwicklungszeitpunkten (N1: EC 10-12, N2: EC 51, N3: EC 71-81) am Standort GL in 2017-2019

GL	2018									2019			
kg N/ha	2017												
	Tks	Tks	Tks	Tks	Tks	Tks	Tks	Tks	Tks	Hybride 207		Hybride 136	
	-	KAS	KAS	KAS	KAS	SSA	SSA	ASS	ASS	-	KAS	-	KAS
N1	-	25	25	50	50	25	50	25	50	-	25	-	25
N2/B	-	25	25/0,5	50	50/0,5	25	50	25	50	-	25	-	25
N3	-	35	35	70	70	35	70	35	70	-	35	-	35
Σ		85	85	170	170	85	170	85	170	-	85	-	85

Ergebnisse und Schlussfolgerungen 2017-2019:

Die gedüngten Varianten von Tks, unabhängig von der Düngeform, zeigten keinen signifikanten Mehrertrag im Vergleich zur nicht gedüngten Kontrolle in keinem der Versuchsjahre und an keinem der Standorte (Abb.29, Abb.30). Der Einfluss auf den Kautschukgehalt in der Trockenmasse war nicht konsistent. In 2017 war in QLB ein leichter Anstieg des Kautschukgehalts nach Düngung mit SSA erkennbar. In GL reduzierte jedoch die N-Düngung mit KAS den im Jahresdurchschnitt ohnehin sehr niedrigen Kautschukgehalt signifikant. Folgende Gründe waren möglicherweise die Ursache für die niedrigen Kautschukwerte: hohe Bestandesdichten (→kleine Wurzeln), die kurze Vegetationszeit durch den späten Feldaufgang so wie überdurchschnittlich hohe Niederschläge (100-150 mm mehr als im Jahresdurchschnitt) und schlecht drainierte Flächen, die ein Wurzelwachstum verhindern.

Die Wirkung von SSA-Düngung auf den Kautschukgehalt konnte in keinem weiteren Versuchsjahr nochmal gemessen werden. Das Versuchsjahr unterschied sich von den beiden folgenden Versuchsjahren durch überdurchschnittlich hohe Niederschläge, die ein Auswaschen des Festdüngers in tiefere Bodenschichten erwarten ließ. Die Überprüfung der N-Dynamik zeigte jedoch, dass die Unterschiede durch die unterschiedlich hohen N-Gaben durchaus auch in trockneren Versuchsjahren wie 2019 (Abb. 28) für die Pflanzen verfügbar waren, jedoch offensichtlich nicht zur Bildung von mehr Wurzelmasse genutzt wurden/werden konnte. Auch in den Hybridlinien konnte kein signifikanter Einfluss der N-Düngung auf den Wurzelertrag gezeigt werden (Anbau nur 2019). Die Hybridlinien enthielten keinen Kautschuk.

Die N-Düngung zeigte auch keinen Einfluss auf die saisonale Entwicklung von Wurzelmasse und Kautschuk (Abb. 32).

Generell konnten trotz anhaltender Trockenheit in den Jahren 2018 und 2019 auf beiden Standorten im Schnitt über alle Versuchsglieder im Vergleich zu 2017 Mehrerträge (Wurzel-TM t/ha) von bis zu 70% erzielt werden, da es über die Saison gelang, ca. 64% mehr Pflanzen als 2017 auf der gleichen Fläche zu etablieren.

Da weder der Wurzelertrag noch der Kautschukgehalt von Russischem Löwenzahn signifikant mit den getesteten Düngemaßnahmen gesteigert werden konnte, muss davon ausgegangen werden, dass die die Grundversorgung mit N im Boden (Nachmineralisation) an beiden Standorten ausreichend für die Pflanzen war, um ihr mögliches Wachstumspotential an diesen Standorten auszuschöpfen. Eine zusätzliche Düngung mit N ist daher unter vergleichbaren Umweltbedingungen für Tks nicht empfehlenswert. Diese Schlussfolgerung kann im Wesentlichen durch die Elementanalysen und die daraus resultierende Berechnung zu den Nährstoffentzügen zur Ernte bestätigt werden (Abb. 31). Dieselbe Schlussfolgerung kann aufgrund der Datenlage eines Anbaujahres an zwei Standorten auch für die z.T. signifikant wüchsigeren Hybridlinien (TksxTo) gezogen werden. Weitere Versuche mit kautschukhaltigen Hybridlinien, die signifikant mehr Biomasse bilden als der Tk-Wildtyp müssten unter unterschiedlichen Standortbedingungen untersucht werden, um diese Ergebnisse zu verifizieren.

Die Elementanalysen mittel N-Analyzer und ICP-OES mit Proben aus dem Jahr 2017 in Blatt und Wurzel (Abb.32) ermöglichten die Berechnung der Nährstoffentzüge zum Zeitpunkt der Ernte in Tks mit den realisierten Erträgen, so dass erstmalig solche Daten für Tks zur Verfügung stehen (Tabelle 15 und 16) und Orientierung für eine mögliche Düngung an ähnlichen Anbaustandorten geben kann.

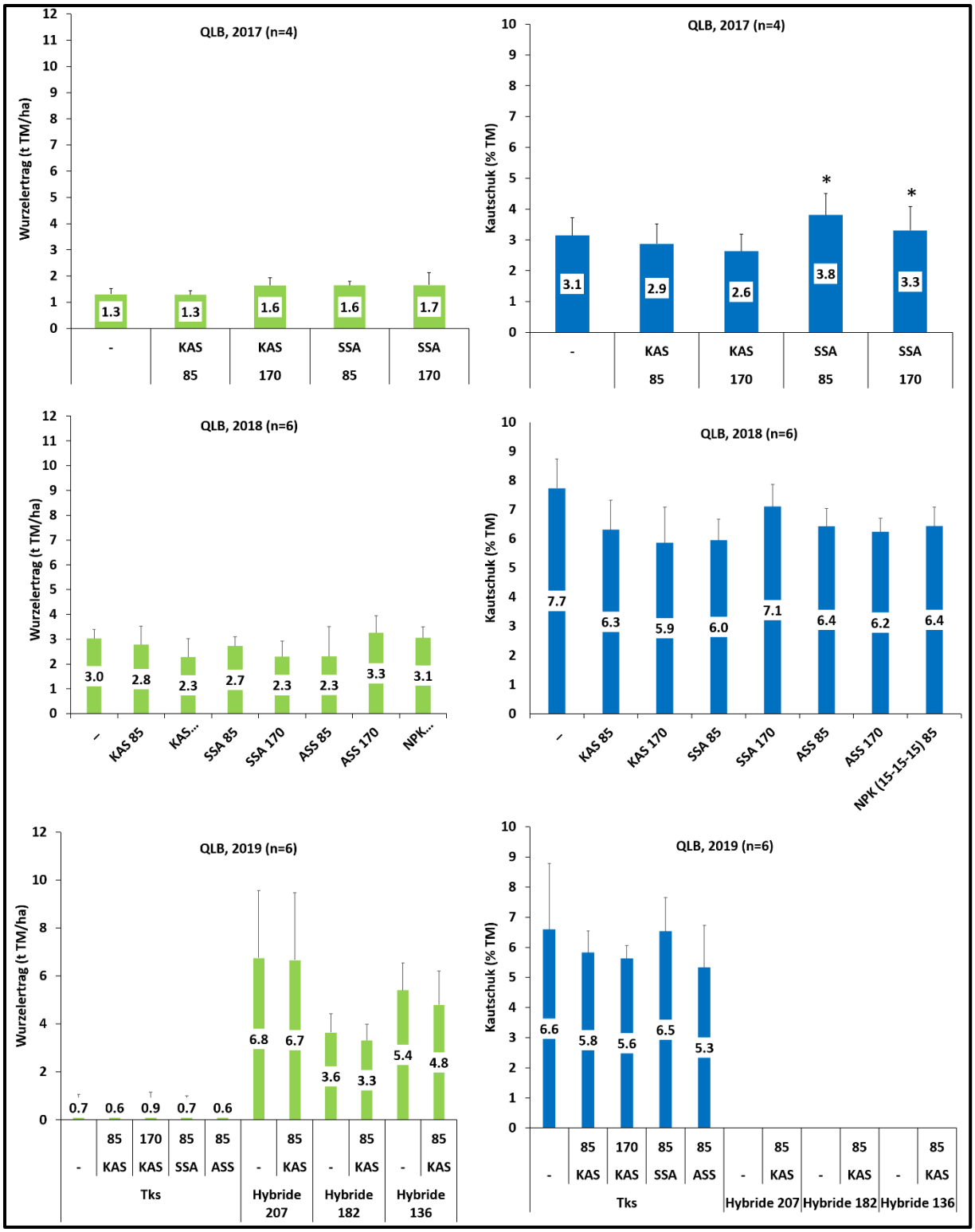


Abb. 29: Einfluss der Stickstoffdüngung auf den Wurzelertrag und den Kautschukgehalt am Standort QLB (schwerer Lehmboden, ausreichende Grundversorgung mit P, K, Mg, Ca, B (Nmin 2017: 31 kg N/ha, 2018: 60 kg N/ha, 2019: 60 kg N /ha) 2017-2019, * symbolisiert einen signifikanten Unterschied des Mittelwerts zur Kontrolle (p<0,05, Einfaktorielle ANOVA).

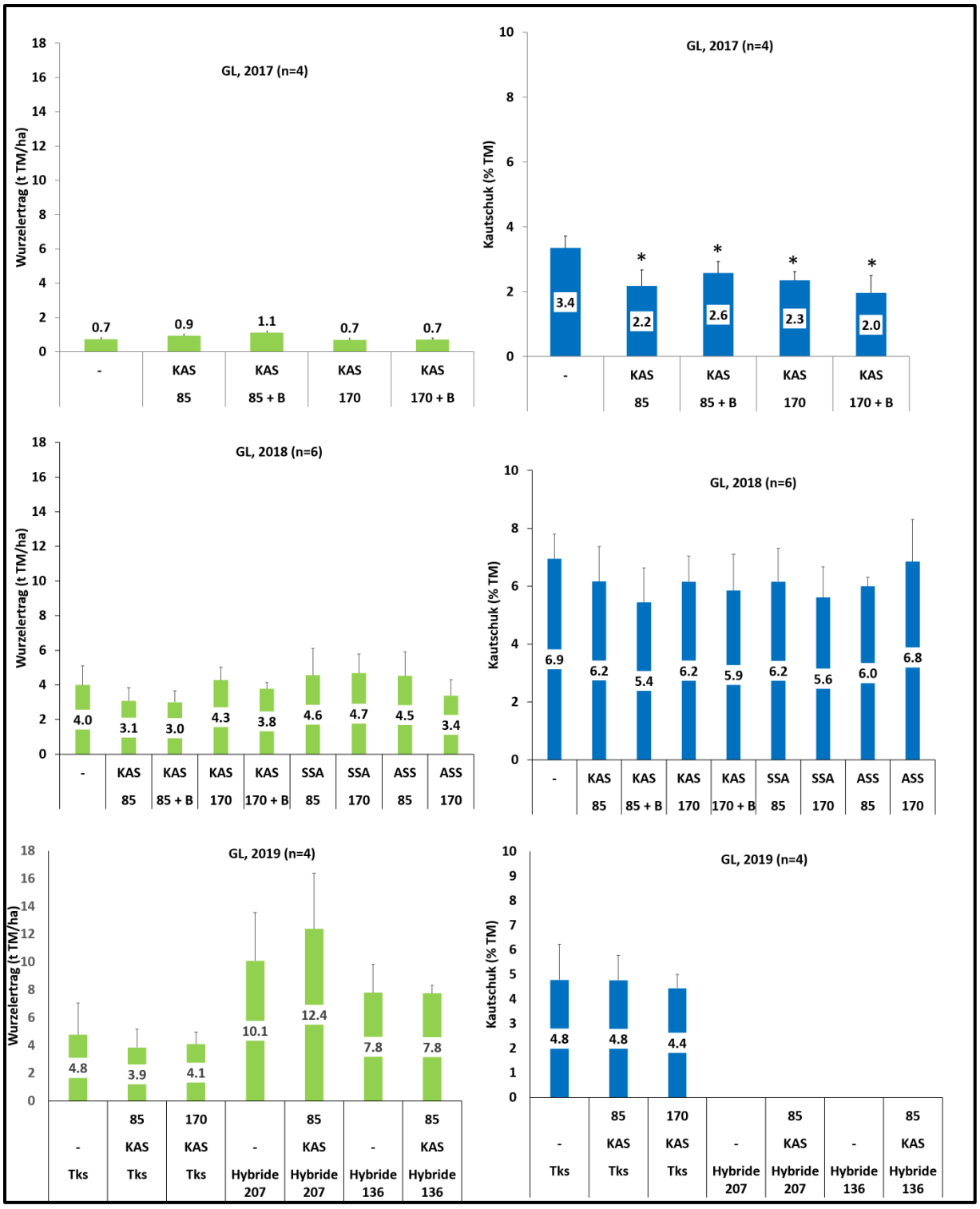


Abb. 30: Einfluss der Stickstoffdüngung auf den Wurzelertrag und den Kautschukgehalt am Standort GL (lehmiger Sand l'S, ausreichende Grundversorgung mit P, K, Mg, Ca) außer mit B (Nmin 2017: 21 kg N/ha, 2018: 30 kg N/ha, 2019: 24 kg N/ha) 2017-2019, * symbolisiert einen signifikanten Unterschied des Mittelwerts zur Kontrolle (p<0,05, Einfaktorielle ANOVA).

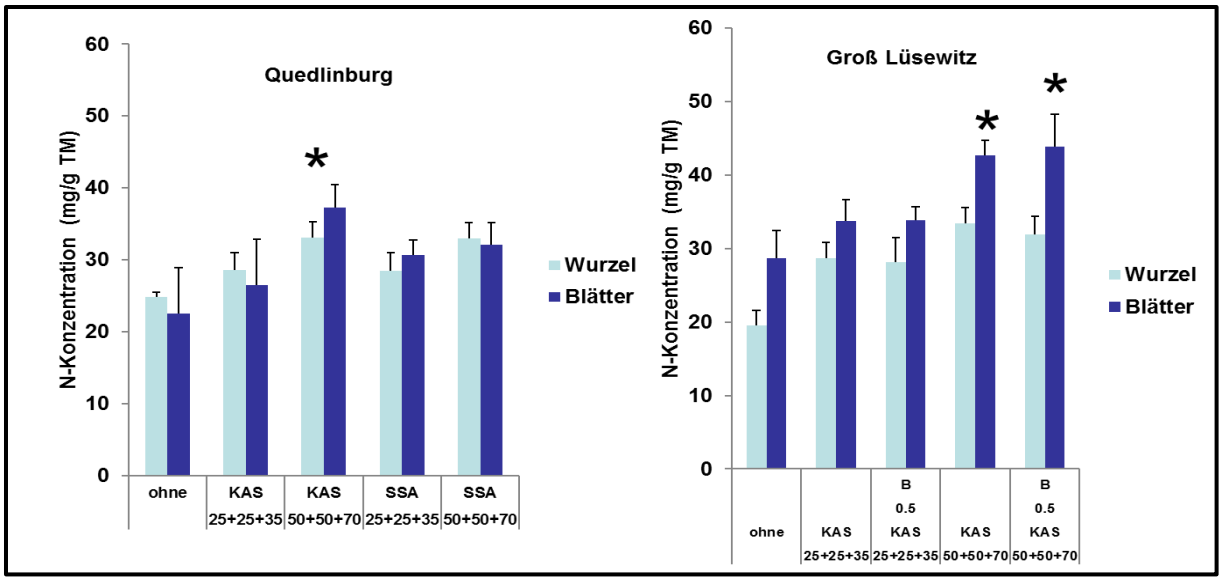


Abb. 31: Einfluss der N-Düngung auf die N-Konzentration in Wurzeln und Blättern zum Erntezeitpunkt in 2017,* symbolisiert einen signifikanten Unterschied des Mittelwerts zur Kontrolle (p<0,05, Einfaktorielle ANOVA).

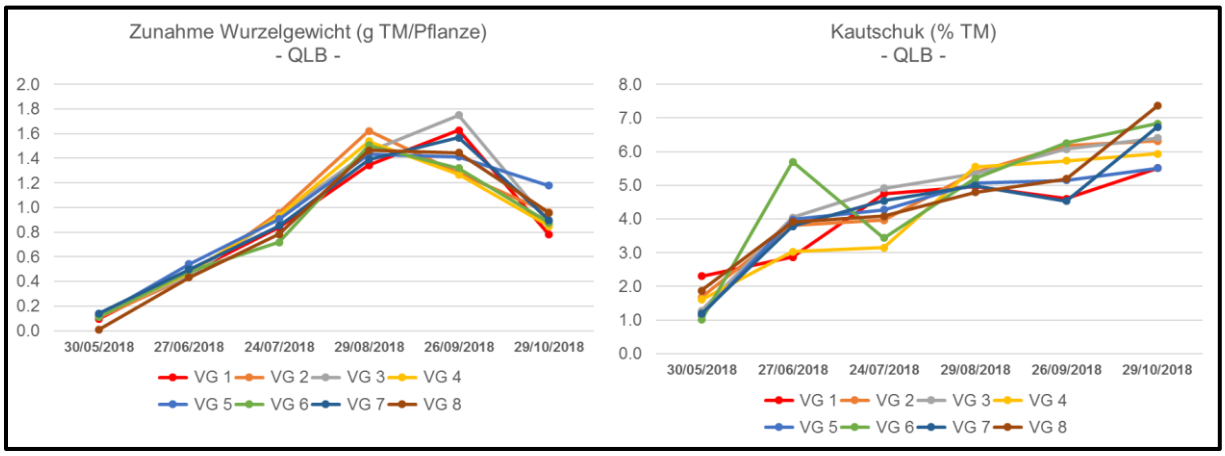


Abb. 32: Entwicklung von Wurzelgewicht und Kautschukgehalt über die Saison 2018, QLB, nach monatlicher Beprobung

Tab. 15: Überblick über die durchschnittlichen Werte der Ertragsparameter von Tk an zwei Versuchsstandorten 2017-20018 unabhängig von der Düngung

	Quedlinburg		Groß Lüsewitz	
Ertragsparameter	**2017**	**2018**	**2017**	**2018**
Bestandesdichte zur Ernte (Pflanzen/ha)	750.000	1.700.000	650-765.000	2.000.000
Trockenwurzelgewicht (g/Pflanze)	1,6-2	1,3-1,7	0,9-1,4	1,7-2,2
Trockenwurzelertrag (t/ha)	1,3-1,6	2,3-3,3	0,7-1,1	3,0-4,7
Kautschuk (% TM)	2,6-3,8	5,9-7,7	2,0-3,4	5,4-6,9
Kautschukertrag (kg/ha)	37-63	129-236	16-28	161-283

Tab. 16: Überblick über den Nährstoffbedarf von Tk zum Erntezeitpunkt (Oktober 2017), berechnet aufgrund der durchschnittlichen Elementkonzentrationen (Stickstoff N, Phosphor P, Kalium K, Magnesium Mg, Kalzium Ca, Bor B) in Blatt und Wurzel und den erzielten Erträgen, unabhängig von der Düngung

Nährstoffbedarf (kg/ha)	Quedlinburg	Groß Lüsewitz
N	60-119	20-45
P	12-18	4-7
K	70-118	18-21
Mg	7-9	2.5-4
Ca	19-25	7-9
B (g/ha)	70-90	19-30

WP3 T3 Monitoring Invasives Potenzial

- Die Katalogisierung der am Standort Quedlinburg vorkommenden *Taraxacum*-Arten wurde vervollständigt. Insgesamt wurden 37 verschiedene Arten erfasst.
- Es wurden Arthybriden von *Taraxacum koksaghyz* mit triploiden heimischen *Taraxacum*-Arten hergestellt und teilweise charakterisiert. Auf Grund der sehr geringen Frequenz des Saatgutansatzes aus diesen Kreuzengen konnte jedoch festgestellt werden, dass die spontane Hybridisierung mit den hier vorkommenden triploiden Apomikten unwahrscheinlich bzw. ein sehr seltenes Ereignis ist.
- Zur weiteren Charakterisierung von *Taraxacum koksaghyz*-Hybriden wurden deshalb Kreuzungen mit diploiden *Taraxacum*-Akzessionen (*Taraxacum linearisquameum*) durchgeführt. Diese Kreuzungen erwiesen sich im Hinblick auf den Samenansatz als sehr ergiebig. Insgesamt 10 Geschwistergruppen wurden taxonomisch beschrieben.

Die Inventarisierung der im Anbaugebiet vorkommenden Taraxacum-Arten wurde bis zum Frühjahr 2018 fortgeführt. Am Standort Quedlinburg wurden 8 weitere Arten identifiziert. Die Liste der bekannten Arten beläuft sich somit auf 37 Arten am Standort Quedlinburg und 21 Arten am Standort Groß Lüsewitz, wobei acht Arten an beiden Standorten vorkommen. Alle aufgefundenen Arten wurden als Apomikten identifiziert.

In den letzten Jahren gab es zahlreiche Bestrebungen, Hybridlinien von Tks mit lokal vorkommenden, für die Versuchsstandorte typischen Löwenzahnarten herzustellen, um die Wahrscheinlichkeit solcher Kreuzungen in der Praxis abschätzen zu können und diese taxonomisch zu beschreiben.

Versuche zur Erzeugung von Arthybriden zwischen *Taraxacum koksaghyz* und heimischen Taraxaca wurden mit 8 ausgewählten Arten aus dem in Quedlinburg erfassten Artenspektrum und einer unbekannten Art durchgeführt. Diese wurden zusammen mit Tks-Pflanzen in Kleinparzellen im Freiland gepflanzt und mit Isolierkabinen abgedeckt. Es konnte auf diesen Plots im Frühjahr 2017 keine synchrone Blüte von Tks und einheimischen Löwenzahnarten beobachtet werden. Im Frühjahr 2018 wurden diese Versuche mit Isolierkabinen im Freiland und zusätzlich mit gezielten Handkreuzungen wiederholt.

Der Anteil an fertilen Samen, der aus diesen Kreuzungen hervorging, war sehr gering, was darauf schließen lässt, dass die Kreuzungswahrscheinlichkeit von Tks mit triploiden apomiktischen Löwenzahnarten sehr niedrig ist (Uhlemann et al, Kochia 12: 19 – 35 (2019)). Wenige aus diesen Kreuzungen hervorgegangene Hybriden wurden vermehrt und stehen nun zur taxonomischen Bearbeitung bereit (Abbildung 33). Es handelt sich um insgesamt 6 Hybride, wobei eine Pflanze auf eine Kreuzung mit *Taraxacum oblongatum* und fünf Hybride auf eine Kreuzung mit einer unbekannten apomiktischen *Taraxacum*-Art (Zuchtlinie RT, Eskusa Parkstetten) zurückzuführen sind. Eine Zählung der Chromosomen einiger Pflanzen ergab jeweils einen tetraploiden Chromosomensatz. Bei allen Hybridpflanzen handelt es sich um Apomikten.

Abb. 33: Habitus ausgewählter Hybride zwischen diploidem Tks und triploiden apomiktischen Löwenzahnarten

Um die Materialbasis für die Beschreibung hybrider Typen zu erweitern wurden zusätzlich Kreuzungen von Tks mit diploiden sexuellen Löwenzahn-Akzessionen durchgeführt, die aus einer Sammlung im Wiener Becken (Uhlemann 2017) stammen Die Originalbelege wurden in das Herbarium der Martin-Luther-Universität in Halle eingeliefert. Aus diesen Belegen erfolgte eine Saatgutentnahme. Die daraus angezogenen Pflanzen wurden mit Tks gekreuzt. Aus einigen hundert Handkreuzungen wurde

körbchenweise Saatgut gesammelt. Einige Geschwistergruppen wurden angezogen und im Herbst 2018 ins Freiland gepflanzt. Im Frühjahr 2019 wurden insgesamt 10 Geschwistergruppen, die aus 5 reziproken Kreuzungen hervorgegangen waren, bonitiert und taxonomisch beschrieben.

Abb. 34 Pflanzung von Tks-Hybriden und Vergleichsakzessionen (Herbst 2018)

Für die Nachkommen der Kreuzungen ***Taraxacum DW4a/2 x Tks WT*** und ***Tks WT x Taraxacum DW4a/2*** ist die taxonomische Beschreibung im Folgenden beispielhaft dargestellt.

´Taraxacum DW4a/2 x WT´ (Taraxacum linearisquameum* (Wien 4) *x Taraxacum koksaghyz)
Origin: JKI, 2018

The offspring comprises only **23** plants of intermediate character between parents.

Description (intermediate type):

Plant 15-20 cm tall, robust. **Leaves** subsucculent, patent to suberect, bluish-green, glabrous, not spotted, pinnatisect, terminal lobe triangular to helm-shaped, often with a short lingulate tip, lateral margins convex, entire; lateral lobes **5-6 pairs**, patent to slightly recurved sometimes broad lingulate, broad triangular, distal margin convex, entire or with small teeth, proximal margin ±straight to convex, entire or with a few small teeth; interlobes distinct but short, green; petiole winged, green, midrib green or brownish-green. **Scapes** green, intensely aranose in particular below involucre. **Capitulum** 40-43 mm in diameter, yellow; outer ligules flat, striped grey-purple abaxially; styles in the upper part **light grey** abaxially; pollen present. **Involucre** olive-green, not pruinose; **exterior bracts** 13-15, patent to suberect, with a small but distinct **white border**, with **corniculations** below the apex, adaxially white-greyish, abaxially dark green, (2.0-)3-4(-6.5) mm wide, (8-)10-14(-16) mm long. **Achenes** grey, achene body 3.0 mm long, coarsly spinulose in the upper part, abruptly narrowing into a 1.0 mm long cylindrical cone; **rostrum 6 mm long**; pappus white; c. 90% are sterile.

Annotation: The offspring basically is intermediate between parents but tends habitually more to *T. koksaghyz* (mother). *T. koksaghyz*-characters are well developed appearing in an intermediate leaf and capitulum morphology. Leaves are bluish-green, slightly succulent with a simple but distinct lobe shape; outer bracts have a small but distinct white border, well developed coniculations and a **patent to suberect position** and achenes have an abruptly transition into **long cylindrical** cone and a relatively short rostrum.

This crossing (11) and the reciprocal one (12) are morphologically extremely similar which is unique among all combinations tested. Usually, the offspring tends more to the mother but in this case, when *T. linearisquameum* (4) is mother, the offspring is intermediate between parents and it is distinguished from hybrid no. 12 only by a smaller white border on outer bracts. Even rubber content is relatively high. **Rubber content:** 1.2-2.8 %, average: 1.8%. 9 plants were tested.

Taraxacum DiploidWien4a/2 x *Taraxacum koksaghyz*, Julius-Kühn-Institut (JKI), Quedlinburg; 6.4.2019, I. Uhlemann; A – view to plot (46 plants); B – capitulum

´Tks *WT x Taraxacum DW4a/2´ (Taraxacum koksaghyz x Taraxacum linearisquameum* (Wien 4)*;* **Origin**: JKI, 2018

The offspring comprises **16** plants. **15** plants have an intermediate character between parents. **1** plant is *T. koksaghyz*.

Description (intermediate type):

Plant 15-20 cm tall, robust. **Leaves** subsucculent, patent to suberect, bluish-green, glabrous, not spotted, pinnatisect, terminal lobe triangular to helm-shaped, often with a short lingulate tip, lateral margins entire; lateral lobes **5-6 pairs**, patent to slightly recurved to hamate, broad triangular, distal margin convex, entire or with small teeth, proximal margin ±straight to concave, entire; interlobes distinct but short, green; petiole winged, green, midrib green or brownish-green. **Scapes** green, intensely aranose in particular below involucre. **Capitulum** c. 40 mm in diameter, yellow; outer ligules flat, striped grey-purple abaxially; styles in the upper part **light grey** abaxially; pollen present. **Involucre** olive-green, not pruinose; **exterior bracts** 13, erect to patent, with a **wide white border**, with **corniculations** below the apex, adaxially white-greyish, abaxially dark green, (2.5-)3-5(-6.5) mm wide, (11-)12-14 mm long. **Achenes** grey, achene body 3.0-3.2 mm long, coarsly spinulose in the upper part, abruptly narrowing into a 1.0 mm long cylindrical cone; **rostrum 7 mm long**; pappus white; c. 90% sterile.

Annotation: The reciprocal crossing basically is intermediate between parents but tends habitually more to *T. koksaghyz* (mother) and is closer to it than other hybrids which is also confirmed by its high rubber content. *T. koksaghyz*-characters are well developed appearing in an intermediate leaf and capitulum morphology. Leaves are bluish-green, slightly succulent with a simple but distinct lobe shape; outer bracts have a wide distinct white border **(the widest border observed in all hybrids = sect. *Palustria*-like)**, well developed coniculations and an **erect position** and achenes

have an abruptly transition into **long cylindrical** cone and a relatively short rostrum. To its morphological similarity to reciprocal crossing, see there.

Rubber content: 1.4-3.7 %, average: 2.3%. 5 plants were tested. It is the highest rubber content observed in all hybrids, even as high as in some *T. koksaghyz*-types.

Taraxacum koksaghyz x *Taraxacum* DiploidWien4a/2, Julius-Kühn-Institut (JKI), Quedlinburg; 6.4.2019, I. Uhlemann; A – view to plot (46 plants); B – capitulum

Eine zusammenfassende Charakterisierung ist in nachfolgender Tabelle 17 dargestellt.

Tab. 17: Zusammenfassende Charakterisierung der Nachkommen der Kreuzungen *Taraxacum DW4a/2 x Tks WT* und *Tks WT x Taraxacum DW4a/2*

Mutter	TKS	DW2a	DW1a	TKS	DW4a/2	TKS	DW4a/1	TKS	DW3a/2	TKS	DW1a/2	TKS	DW3b/4
Vater	TKS	DW2a	DW1a	DW4a/2	TKS	DW4a/1	TKS	DW3a/2	TKS	DW1a/2	TKS	DW3b/4	TKS
Phänotyp													
To-Selbstung[a]											19		8
intermediär				15	23	46		32	129	18	1	19	5
Tks-Selbstung[a]				1						12			
Hörnchen bei intermediärem Phänotyp[c]				ja	ja	ja		ja	nein	ja	ja	ja	ja
Ploidie-bestimmung[b]				2n ToxTks	2n ToxTks	3n ToxTks	2n To	2n ToxTks	2n To	2n ToxTks	2n To	2n ToxTks	2n To
Wurzelmessung													
Anzahl	13	5	5	5	9	5	5	9	10	10	4	5	9
MW Kautschuk	3,6%	0,3%	0,2%	2,3%	1,8%	1,0%	0,2%	1,1%	0,4%	0,9%	0,2%	0,7%	0,2%
MW WFM g	6,3	30,9	65,2	54,6	72,4	47,7	67,8	28,7	31,1	46,6	87,3	91,1	61,6

[a] eindeutiger Phänotyp, keine intermediären Eigenschaften erkennbar; diese Pflanzen wurden bei der Ploidiebestimmung und bei der Bestimmung des Kautschukgehaltes nicht verwendet

[b] es wurde eine zufällige Pflanze ausgewählt; der DNA-Gehalt wurde im Durchflußzytometer bestimmt und die wahrscheinlichste Herkunft der Elterngenome geschätzt

c Hörnchen an den äußeren Involukralblättern

Zur Ermittlung des invasiven Potentials von *T. koksaghyz* wurde ein einjähriger Sukzessionsversuch auf einer Ackerfläche angelegt. Ein etablierter Bestand wurde im zeitigen Frühjahr 2017 sich selbst überlassen, es fanden auf dieser Fläche keinerlei Pflegemaßnahmen mehr statt. Monatlich erfolgten Bonituren der Fläche hinsichtlich Deckungsgrad, Artenzahl und Anzahl verbliebener *T. koksaghyz*-Pflanzen (Tab. 18).

Tab. 18: Sukzessionsfläche mit *T. koksaghyz* im Feldanbau des Julius Kühn-Instituts, Quedlinburg; 9 Reihen mit je 8 m Länge *T. koksaghyz* im Abstand von 50 cm. Aufnahmezeitraum: November 2016-September 2017.

Aufnahme-Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Datum	26.11. 2016	01.04. 2017	01.05. 2017	03.06. 2017	17.07. 2017	12.08. 2017	09.09. 2017
Größe Aufnahmefläche [m²]	50	50	50	50	50	50	50
Gesamtdeckung [%]	60	50	75	95	95	95	90
Artenzahl	07	12	14	14	14	14	14
Anzahl Pflanzen *T. koksaghyz*	973	973	691	378	80	23	1

Während zu Beginn der Beobachtung die Fläche zu etwa 60 % fast ausschließlich mit Tks bedeckt war, betrug der Deckungsgrad der in die Fläche eingewanderten einheimischen Vegetation ab dem Beobachtungszeitpunkt im Juni annähernd 100 % (Abb. 35). In diesem Versuch nahm die Anzahl auf der Fläche vorhandener Tks-Pflanzen von Mai bis Juli sehr stark ab und zu Saisonende konnte nur noch eine der ursprünglich vorhandenen 973 Tks-Pflanzen aufgefunden werden.

Im Herbst 2017 erfolgte eine ähnliche Versuchsanlage mit einer durch die Eskusa GmbH zur Verfügung gestellten Tks-To-Hybridlinie (207/1). Die Aussaat erfolgte auf einer brachliegenden Parzelle, die durch bodenwendende Verfahren bis dahin unkrautfrei gehalten wurde. Der Auflauf der Pflanzen erfolgte nach wenigen Tagen. Die Fläche wurde bis zum Einbruch des Winters weiterhin durch Jäten gepflegt. Der gut etablierte Jungpflanzenbestand überwinterte als geschlossene Reihen und wurde ab Frühjahr 2018 sich selbst überlassen. Es erfolgten monatliche Bonituren zur Anzahl der Pflanzen, zum Unkrautspektrum und zum Deckungsgrad. Um die Parzelle herum wurde im Frühjahr 2018 Phacelia gedrillt. Dieser Bestand wurde im Herbst 2018 gemulcht, die Stoppeln blieben unbehandelt. Zur Erfassung des Samenfluges wurde die Fläche über den Winter weiterhin belassen und wurde im Jahr 2019 auf das Auftreten von Keimlingen der Hybridlinie sowohl innerhalb des Bestandes als auch im umgebenden Ackerland bonitiert. Im Gegensatz zu Tks erwies sich die Hybridlinie als konkurrenzstark, zum Abschluß des Versuches im April 2019 waren noch mehr als 50% der Ausgangspflanzen erhalten. Weder zwischen den Reihen noch in der umgebenden Ackerfläche konnten bis zu diesem Zeitpunkt Sämlinge der Hybridlinie aufgefunden werden.

Tab. 19: Sukzessionsfläche mit *Taraxacum ´Hybride 207´* eingebettet in das Ackerland des JKI Quedlinburg; 6 Reihen *T. ´Hybride 207´* im Abstand von 50 cm. Aufnahmezeitraum: April-September 2018 und April 2019.

Aufnahme-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Datum 2018	21.04. 2018	21.05. 2018	01.07. 2018	04.08. 2018	22.09. 2019	06.04. 2019	27.04. 2019	01.07.
Größe der Aufnahmefläche [m²]	18	18	18	18	18	18	18	18
Gesamtdeckung [%]	70	85	90	65	30	80	90	95
Artenzahl (ohne Hybride 207)	09	13	11	07	07	09	10	09

Taraxacum ´Hybride 207´	4	4	5	4	2[a]	4	4	2
Anzahl der Pflanzen	651	590	533	458	447	399	383	c. 350
Stellarietea mediae-Arten								
Capsella bursa-pastoris	+	+	·	·	·	+	1	+
Cirsium arvense	+	+	+	+	+	·	r	+
Galium aparine	·	r	r	·	·	1	1	1
Lamium amplexicaule	1	r	·	·	·	+	+	·
Senecio vulgaris	+	+	·	·	·	+	+	·
Solanum nigrum	·	+	r	r	r	·	·	·
Sonchus asper	·	·	r	r	·	+	+	·
Stellaria media	2	+	+	·	·	+	+	+
Thlaspi arvense	r	+	·	·	·	·	·	·
Urtica urens	r	r	r	·	·	·	·	·
Sisymbrietea-Arten								
Chenopodium album	·	r	r	r	r	·	·	·
Conyza canadensis	·	+	+	+	+	+	+	+
Lactuca serriola	·	·	r	·	·	·	·	r
Matricaria recutica	r	r	·	·	·	·	·	+
Phacelia tanacetifolia	r	1	1	1	1	1	2	4
Picris hieracoides	·	·	r	r	r	·	·	·
Molino-Arrhenatheretea-Arten								
Taraxacum officinale	·	·	·	·	r	+	+	r

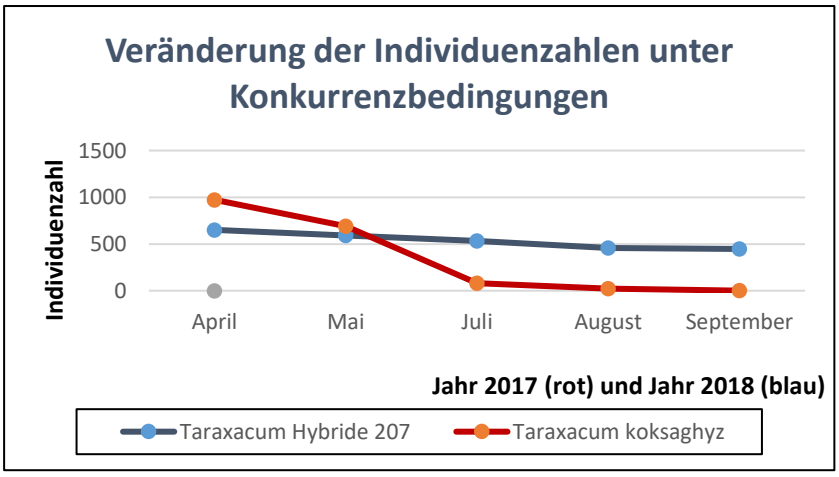
[a] Der Grund für die geringe Deckung war, dass nur noch die mittleren Blätter der Grundblattrosette übrig waren, trotz fast konstanter Individuenzahl.

Abb. 35: Phänologie eines *Taraxacum* - ´Hybride 207´-Versuchsfeldes eingebettet in das Ackerland des JKI Quedlinburg. Obere Reihe: 21.5.2018, mittlere Reihe: 1.7.2018, untere Reihe: 22.9.2018; I. Uhlemann.

Abb. 36: Phänologie einer *Taraxacum* - Hybride (207)- Versuchsfeldes eingebettet in das Ackerland des JKI Quedlinburg. Obere Reihe: 6.4.2019, untere Reihe: 27.4.2019.

In der folgenden Abbildung (37) ist das Konkurrenzverhalten von Tks und der Hybridlinie unter vergleichbaren Bedingungen (Versuch auf einer als Ackerland genutzten Fläche) dargestellt.

Abb. 37: Zeitlicher Verlauf des Konkurrenzverhaltens von Tks und Hybridlinie



Ein weiterer Sukzessionsversuch wurde mit der Tks-Hybride auf einer frisch umgebrochenen Parzelle in einem ruderal geprägten Dauergrünland-Schlag im Herbst 2018 angelegt. Hier sollte ebenfalls die Konkurrenzfähigkeit gegenüber einer typischen Grünlandflora und das Ausbreitungspotential auf Grünlandflächen geprüft werden. Der Auflauf der Tks-Hybride erfolgte innerhalb weniger Tage und war begleitet von einem massiven Auflaufen von Unkräutern. Zum Ende der Vegetationsperiode waren Reihen nicht mehr zu erkennen, die Fläche war zu 100% bedeckt. Vorherrschend war ein Bestand aus Brennnesseln und Taubnesseln. Die Fläche wurde im Jahr 2019 monatlich bonitiert. Dabei wurden, soweit möglich, die Pflanzenanzahl und die Zusammensetzung der konkurrierenden Unkrautflora erfasst. Zu den meisten Boniturterminen konnten die Pflanzenzahlen wegen der dichten Vegetation nicht erfasst werden. Auch eine Blüte konnte nicht beobachtet werden. Die Mahd einer Teilfläche machte jedoch die Reihen der Hybridansaat wieder teilweise sichtbar, wobei festgestellt wurde, dass die Pflanzen teilweise sehr klein blieben. In den kommenden Jahren soll dort die mögliche Ausbreitung der Hybridlinie durch Samenflug in das umgebende Grünland beobachtet werden.

Abb. 38: Eindruck von der Parzelle mit Aussaat der Hybridlinie 207 im Spätherbst 2019

T4 Betreuung des Praxisanbaus

Für die Flächen zur Rodung für die Flüssilatexextraktion wurde das Saatgut von ESKUSA erzeugt, vorbehandelt und den Landwirten der Gäubodenkräuter-Erzeugergemeinschaft zur Verfügung gestellt. Die Flächen wurden weitgehend selbstständig von den Landwirten gepflegt. Die Rodung, Sortierung und das Waschen der Wurzeln wurde mit dem IPTC in Regensburg abgestimmt, so dass möglichst frische Wurzeln für die Latexextraktion verwendet werden konnten.

Im Rahmen des Projektes wurden folgende Flächen von ESKUSA betreut:

2017: 0,4 ha

2018: 1,0 ha

2019: 1,0 ha

Die Betreuung ESKUSAs bestand in der Bereitstellung des Saatgutes, der Beratung und Bereitstellung von Maschinen (Reihenfräse, Striegel, Hackmaschine, Rotowiper) zur Unkrautbekämpfung und zur Düngung, der Ernteplanung (Koordination zwischen Landwirten und IPTC Regensburg) und der Vorbereitung des Erntegutes für die Latexaufarbeitung.

T1 Beurteilung neues Zuchtmaterial

T1.1 Beurteilung der Kautschukqualitäten aus weiterentwickeltem Zuchtmaterial

Noch keine Ergebnisse von neuem Zuchtmaterial. Verweis auf Abschlussbericht der Projektverlängerung.

T1.2 Beurteilung der Kautschukmischungen aus weiterentwickeltem Zuchtmaterial

Noch keine Ergebnisse von neuem Zuchtmaterial vorhanden. Verweis aus Abschlussbericht der Projektverlängerung.

T2 Analyse Alterungsverhalten Tks-Kautschuk

T2.1 Charakterisierung der Kautschukproben vor Alterung

Zur Beurteilung des Alterungsverhaltens wurden vier verschiedene Tks-Rohmaterialproben hergestellt. Eines ohne Stabilisatoren und je eines mit einem der drei Stabilisatoren [redacted]. Das Alterungsverhalten der vier verschiedenen Rohmaterialienproben wird mit dem Alterungsverhalten von herkömmlichem Hevea-Kautschuk verglichen. Dafür werden die Tks-Kautschukproben und der Hevea Kautschuk bei sechs verschiedenen Kombinationen von Alterungszeiträumen und Temperaturen an Luft gealtert. Die Alterungsbedingungen sind in der nachfolgenden Tabelle 20 zusammengefasst. Zusätzlich wird das Eigenschaftsprofil eines nicht-gealterten Kautschuks untersucht (Tab. 21).

Tab. 20: Prüfprotokoll der Alterung der Rohmaterialien

Temperatur [°C]	Zeit [Tage]	Medium
50	28	Luft
50	56	Luft
70	7	Luft
70	14	Luft
100	1	Luft

Die Stabilität des Tks Rohmaterials wurde mittels GPC untersucht. In Tabelle 21 sind die gemessenen Zahlenmittel der Molmasse (Mn) der sechs verschiedenen Proben aufgeführt und in Abbildung 39 graphisch dargestellt.

Tab. 21: Zahlenmittel der Molmasse (Mn [g/mol]) aus GPC Messung für alle sechs verschiedenen Rohmaterialien exemplarisch bei drei verschiedenen Proben Alterungszuständen

Mn (g/mol) Condition	Hevea-NR	IR	Tks-NR	Tks-NR [redacted]	Tks-NR [redacted]	Tks-NR [redacted]
unaged	332000	328000	565000	[redacted]	[redacted]	[redacted]
7d / 70°C	348000	232000	255000			
14d / 70°C	323000	225000	222000			

Abbildung 39 wurde aus Schutzrechtsgründen entfernt.

Abb. 39: [redacted]

[redacted]

T2.2 Einfluss im Aufarbeitungsprozess

Die Parameter, die für die Aufarbeitungsprozessoptimierung bezüglich des Alterungsverhaltens signifikant sind, wurden definiert und ein Versuchsplan erarbeitet. Der Versuchsplan wurde zum größten Teil durchgeführt und erste Kautschukproben wurden auf ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften hin untersucht.

[redacted]

Die finale Auswertung wird mit dem Abschlussbericht der Projektverlängerung abgeschlossen.
Die vollständige Auswertung des Einflusses des Aufarbeitungsprozesses wird im Abschlussbericht der Verlängerung zu finden sein.

T2.3 Alterungsverhalten von Kautschukmischungen

Die Tks-Rohmaterialproben aus T2.1 werden für die Herstellung der Kautschukmischungen genutzt und mit Mischungen aus Hevea- und synthetischem Isoprenkautschuk verglichen. In Tabelle 22 sind die Testergebnisse der Kautschukmischungen exemplarisch für die ungealterten Proben sowie für die für 7 Tage bei 70°C und die für 14 Tage bei 70°C gealterten Proben aufgeführt.

Tab. 22: Testergebnisse der Kautschukmischung mit den ungealterten, 7d/70°C und 14d/70°C gealterten Rohmaterialien

	Hevea-NR	IR	Tks-NR	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Shore Härte A RT	62.2 / 63.4 / 63.6	60.8 / 60.0 / 59.4	72.2 / 74.3 / 72.1	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Resilience RT	47.9 / 45.5 /	43.2 / 41.2 /	31.9 / 31.0 /	[redacted]	[redacted]	[redacted]

[%]	45.3	41.5	32.4			
Resilience 70°C [%]	58.9 / 59.0 / 57.4	43.2 / 41.2 / 41.5	47.7 / 44.5 / 48.3			
Stress (300 % Dehnung) [MPa]	12.1 / 12.4 / 13.2	7.3 / 10.2 / 9.1	12.6 / 12.6 / 14.0			

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, dass die Änderungen der physikalischen Eigenschaften

T2.4 Alterungsverhalten im Produkt

Um das Alterungsverhalten im Produkt bewerten zu können, wurden Reifen gebaut, deren Gürtelgummierungsmischung aus Tks-Kautschuk besteht.
Für den Reifenbau mit der experimentellen Tks-Mischung wurde vorab im Labor die Tauglichkeit der Mischung hinsichtlich ihrer Reifeneigenschaften und ihrer Prozessierbarkeit überprüft. Es wurden mehrere Chargen Tks-Kautschuk im Labor mit der Referenzmischung aus Hevea-Kautschuk verglichen. In Tabelle 22 ist ein Auszug an Messwerten aufgeführt.

Tabelle 23: Testergebnisse der Hevea-Kautschuk Referenzmischung und der experimentellen Tks-Mischungen

	Hevea-Kautschuk			
t90 [min]	10,6			
Shore Härte A RT	85,9			
Resilience RT [%]	39,0			
Resilience 70°C [%]	50,0			
Stress (300 % Dehnung) [MPa]	16,4			

Aus Tabelle 23 ist zu entnehmen,

Tab. 24: Übersicht der Unterschiede der gebauten Referenz und Experimentalreifen

	Hevea-Kautschuk 1	Hevea- Kautschuk 2	Experimental 1	Experimental 2
Polymer	Hevea- Kautschuk	Hevea- Kautschuk	Tks-Kautschuk	Tks-Kautschuk
Bauprozess	Standard	adaptiert		
Vulkanisation	Standard	Standard		

Die Kautschukmischungen, die in den Reifen verbaut wurden, wurden zusätzlich unter Laborbedingungen gealtert und vor und nach der Alterung mit typischen Testmethoden untersucht. Das Prüfprotokoll der Alterung ist Tabelle 25 zu entnehmen.

Tab. 25: Prüfprotokoll der Alterung der Reifenmischungen

Dauer [Tage]	Temperatur [°C]	Medium
1	120	Luft
2	100	Luft
3	120	Luft
4	100	Luft
14	70	Luft
28	70	Luft
56	70	Luft
90	70	Luft

Wie aus Abbildung 40 zu entnehmen [redacted]

Abbildung 40 wurde aus Schutzrechtsgründen entfernt.

Abb. 40 [redacted]

Die Reifen selber wurden für die Alterung im Feld präpariert. Dafür wurden die Reifen [redacted] unter kontrollierten Bedingungen der Umwelt ausgesetzt. Um das Alterungsverhalten der Reifen zu bewerten, werden die Reifen zu gegebenen Zeitpunkten (Neu; Nach 0,5; 1 und 2 Jahren) auf ihre Haltbarkeit und ihre Rollwiderstandseigenschaft hin untersucht und die chemische und physikalische Beschaffenheit der Gürtelmischung charakterisiert.

[redacted]

Tabelle 26: Chemischen und physikalischen Eigenschaften (neu / 0.5 / 1 / [redacted]) der Gürtelkantengummierung und der Gürtelgummierung der Experimentalreifen

	Hevea-Kautschuk 1	Hevea-Kautschuk 2	Experimental 1	Experimental 2
Gürtelkantengummierung				
Aceton Extract [%]	- / 11.1 / 11.5	- / 10.2 / 11.1	[redacted]	[redacted]
Reißfestigkeit [MPa]	13 / 14 / 14 [redacted]	17 / 15 / 15 [redacted]	[redacted]	[redacted]
Bruchdehnung [%]	221/220/193 [redacted]	291/236/213 [redacted]	[redacted]	[redacted]
Gürtelgummierung				
Aceton Extract [%]	8.1 / 10.4 / 11.0	8.0 / 10.5 / 11.2	[redacted]	[redacted]

Der Acetonextract wurde für die Gürtelkanten und die Gürtelgummierung bestimmt. Für die Gürtelkante jedoch nicht im Neuzustand. [redacted]

Die Ergebnisse für die 2 Jahre gealterten Reifen werden im Abschlussbericht der Verlängerung zu finden sein.

T3 Verfahrenskette Latexextraktion

T3.1 Behandlung/Lagerung der Frischwurzeln zur erntezeit-unabhängigen Latexgewinnung

Lagerung von Tks-Wurzeln/Extrakten:

Lagerungstests von Frischwurzeln in feuchtem Sand, Erdmieten und flüssigen Medien und durch Schockgefrieren sind abgeschlossen. Lediglich die Lagerung in Sand stellte sich als praktikable Lösung für kurzzeitige Lagerung von mehreren Wochen heraus, ohne die Latexqualität drastisch zu verschlechtern.

Erd-freie Kultivierung:

Der Hintergrund für diesen Alternativanbau war, Pflanzen ohne Erdanhaftung für die Optimierung der Aufarbeitung zu haben (Abb. 41) bzw. den Einfluss von Erdanhaftungen bei der Aufarbeitung auszuschließen. Desweitern war die Idee, mit dieser Methode Zeitspannen zu überbrücken, in denen auf dem Feld keine Wurzeln zur Ernte zur Verfügung standen.
Es wurden daher Pflanzen in erdfreiem Substrat bei Hortilab angezogen. Zur Kultivierung in erd-freiem Substrat wurden seitens Hortilab mehrere Strategien in unterschiedlichen Substraten und Substratkombinationen getestet.
Dabei zeigte die Wahl des Substrats und die Größe des Substrats einen deutlichen Einfluss auf die Vitalität und Wüchsigkeit der Pflanzen: Die Wurzeln und die Wurzelform waren je nach Substratwahl sehr unterschiedlich. Vermiculit zeigt dabei Vorteile gegenüber Perlite.
Neben dem Substrat wurde auch die Saatmethode variiert. Dass Saatgut wurde anfangs breit ausgesät und dann in Substrat pikiert. Die Wurzeln neigten zu einer sehr feinen und stark verzweigten Struktur. Daher wurde eine Direktsaat in Substrat getestet. Durch die Wahl der Substratkombination konnte dies verbessert werden. Direktsaat führte zu vitaleren Pflanzen im Vergleich zu einer breiten Aussaat mit Pikieren.

Die Pflanzen aus optimiertem, erd-freiem Anbau wurden an die Universität Regensburg zur weiteren Bearbeitung übergeben. Die Handhabung der Wurzeln war aufgrund ihrer Struktur aufwändig, feine Wurzeln können im Vergleich zu der Wurzelform aus dem Feldaufbau nur mit erhöhtem Aufwand verarbeitet werden.

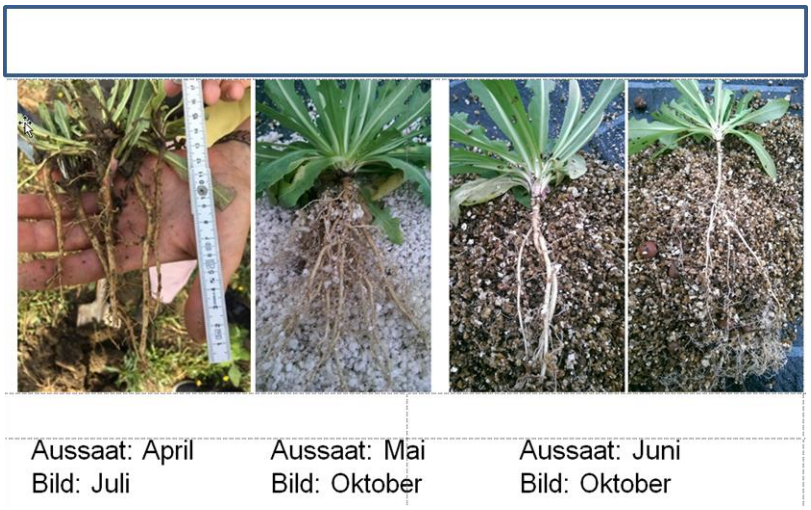


Abb. 41: Feldanbau (links) im Vergleich zu unterschiedlichen Substraten.

Fazit:

Die Kultivierung im erdfreien Substrat wurde nicht weitergeführt, da die Wurzelform und Struktur für die Aufarbeitung von Nachteil war.

Die Erkenntnisse aus der erdfreien Kultivierung sind wichtige Grundlagen für diese Kultivierungsmethode. Weitere Arbeiten sind notwendig, um diese Anbauform zu optimieren. Diese wurden jedoch im weiteren Verlauf des Projektes als nicht zielführend gesehen und daher nicht weiterverfolgt.

Die Reinigung bei Wurzeln aus Feldanbau aus eher sandigen Böden führt zu Wurzeln, bei denen Erdanhaftungen für die weitere Aufarbeitung weniger kritisch sind. Bei der Wahl der Anbauflächen wurde dies berücksichtigt.

T3.2 Lagerung der Rohlatices

Konzentrate und Rohlatex sind über einen Zeitraum von einem Jahr haltbar (Abb. 42), solange auf eine regelmäßige Homogenisierung sowie Luftabschluss geachtet wird.

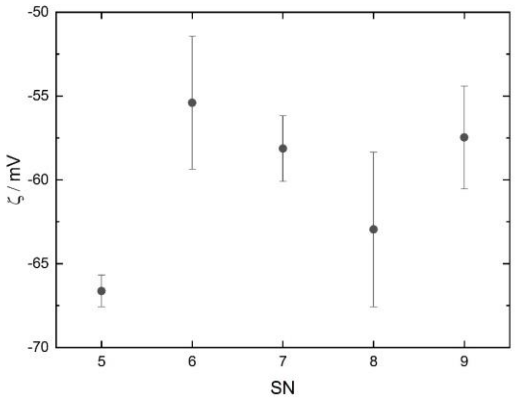


Abb. 42: Zetapotentiale einer Verdünnungsreihe eines über 1 Jahr gelagerten TKS-Latexkonzentrats, extrahiert mit der Flowmethode

Charakterisierung der Kolloideigenschaften:

Kolloideigenschaften sowie Latexstabilität und Partikelgrößenverteilung unter Einfluss von Konzentrationsgrad, Aufarbeitungsmethode, Stabilisator, pH-Wert u.a. auf Latexstabilität, Partikelgrößenverteilung und Morphologie wurden intensiv untersucht. Die Partikel (Abb. 43) unterscheiden sich teils stark durch die unterschiedlichen Aufarbeitungswege untereinander und von denen aus Hevea Latex. Die grundlegenden Zusammenhänge konnten erschlossen werden.

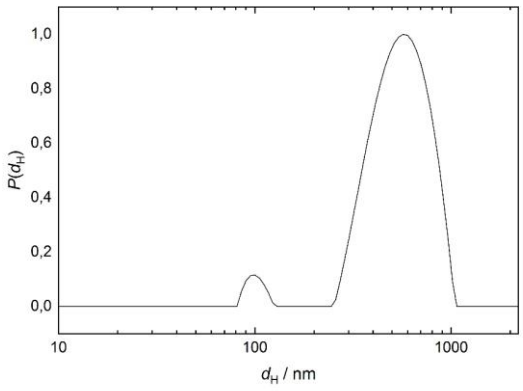


Abb. 43: Partikelgrößenverteilung eines TKS-Latexkonzentrats extrahiert mit der Flowmethode

T3.3 Ammoniakfreie Extraktion

Feldanbau:

Im Rahmen des Projektes wurde seitens der Synthomer über den Auftragnehmer Gäubodenkräuter GmbH & Co KG der Feldanbau durchgeführt. In den einzelnen Jahren wurden folgende Flächen angebaut:

2017: 0,4 ha

2018: 1,0 ha

2019: 1,0 ha.

Im Auftrag enthalten war Aussaat, Pflege und Ernte des Löwenzahns durch den Auftragnehmer, die Betreuung erfolgt über ESKUSA, die weitere Aufarbeitung wurde unter der Leitung der Universität Regensburg durchgeführt.

Extraktion von Latex aus Tks-Wurzeln:

Die Arbeitsabläufe der Extraktion von 300-400 kg Frischwurzeln mit der Flowmethode (Abb. 44) wurden vereinfacht und optimiert.

Abb. 44: Verschiedene Schritte der Latexextraktion mit der Flowmethode

1) Herstellung von Wurzelscheiben durch Bandschneidemaschine.

2) Einrühren der Scheiben in Pufferlösung mithilfe eines Rührwerks und gleichzeitige Auswaschung des Latex aus den Schnittstellen. Anpassung des Rührvorgangs und der Zusammensetzung der Stabilisierungslösung

3) Entfernung der extrahierten Scheiben

4) Auspressen der feuchten, extrahierten Scheiben mithilfe hydraulischer Obstpresse erlaubt Zurückgewinnung von anhaftendem Rohextrakt.

Weitere Extraktionsmöglichkeiten (u.a. chemischer Aufschluss des Wurzelmaterials) wurden untersucht. Als erfolgreich hat sich der Einsatz einer Mühle gezeigt, die anstelle der Bandschneidemaschine für 700-800 kg Frischwurzeln verwendet wurde. Durch die stärkere Zerkleinerung der Wurzeln konnten doppelt so hohe Saftausbeuten als mit der Flowmethode erzielt werden, was jedoch auch eine große Menge an Verunreinigungen zur Folge hatte. Die manuelle Entfernung des Blattmaterials hat sich in allen Fällen als Flaschenhals der Prozesskette herausgestellt.

T3.4 Aufkonzentration Technik und Upscaling

Konzentration und Aufreinigung von Extrakten:

Extrakte mit < 1 wt% Kautschukgehalt konnten auf bis zu 10 wt% durch Aufrahmen mithilfe von Alginat konzentriert werden (Abb. 45). Anschließende Zentrifugationen lieferten Konzentrationen von 30 wt% sowie >60 wt%.

Aufrahmung stellte sich als leicht handhabbare, aufwandsarme Methode heraus, größere Mengen an Extrakt aufzukonzentrieren. Der Erfolg der Separation hing maßgeblich vom Schwebstoffanteil im Extrakt ab. Bei Extrakten aus stärker zerkleinerten Wurzeln ging dementsprechend der Latexanteil in die untere, schwere Phase. Dies zog weitere Aufreinigungsschritte nach sich, um den Latex von Sedimenten zu befreien. Der Zusatz von Oleaten war für den Erfolg entscheidend.

Wiederholtes Verdünnen und Aufkonzentrieren ist entscheidend für Latexstabilität und Reinheit. Die hohe Viskosität von Konzentraten war problematisch, konnte jedoch durch Ersatz von Natriumsalzen durch Kalium- bzw. Ammoniumsalze erniedrigt werden. Mit sinkender Reinheit der Konzentrate machte sich dieses Problem stärker bemerkbar.

Abb. 45: Latexproben einer schrittweisen Aufreinigung und Aufkonzentrierung nach Extraktion mit der Flowmethode

Abb. 46: Lichtmikroskopaufnahme eines TKS-Latexkonzentrats, extrahiert mit der Flowmethode

T3.5 Durchführung von Handschuhtauchversuchen / Demonstrator

In Tabelle 27 sind die Mengen an Latex dargestellt, die aus den einzelnen Erntejahren Synthomer als Muster zur Verfügung gestellt wurden.

Tab. 27: Übersicht über Latex Muster

Erntejahr	Menge	Zielkonzentration	Kommentar
2017	450 mL	30 %	Verwendung für Tauchversuche
2017	150 mL	55 %	Der Latex war sehr hochviskos; Verwendung in Abmischung mit Syntheselatex
2018	300 mL	55 %	Vorversuche zur Verschäumung zeigen gute Ergebnisse; aufgrund des niedrigen Feststoffgehaltes traten Luftblasen im Schaum auf.
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

Anwendungstechnische Prüfung – Tauchen / Handschuhe

Für Versuche im Bereich Handschuhtauchen wurden 0,5 L eines 30 %igen TKS Latex erhalten. Die Teilchengrößenverteilung (Abb. 47) war vergleichbar zu früheren Mustern.
Während der Herstellung des Tauchcompounds wurden keine Unverträglichkeiten festgestellt. Allerdings zeigte das Muster ein Verhalten, das sich wie vorvernetzte Latices verhält. Dies wird auch als Ursache für die Bildung von Rissen beim Trocknen und Vulkanisieren angenommen (Abb. 47).

Aufgrund der geringen Latexmenge, die aus dem Erntejahr 2017 vorlag, waren weitere Versuche zur Untersuchung des Phänomens nicht möglich. Bis zum Zeitpunkt der Erstellung des Berichtes lagen keine neuen Latexmuster vor, mit denen die Versuche wiederholt werden konnten.

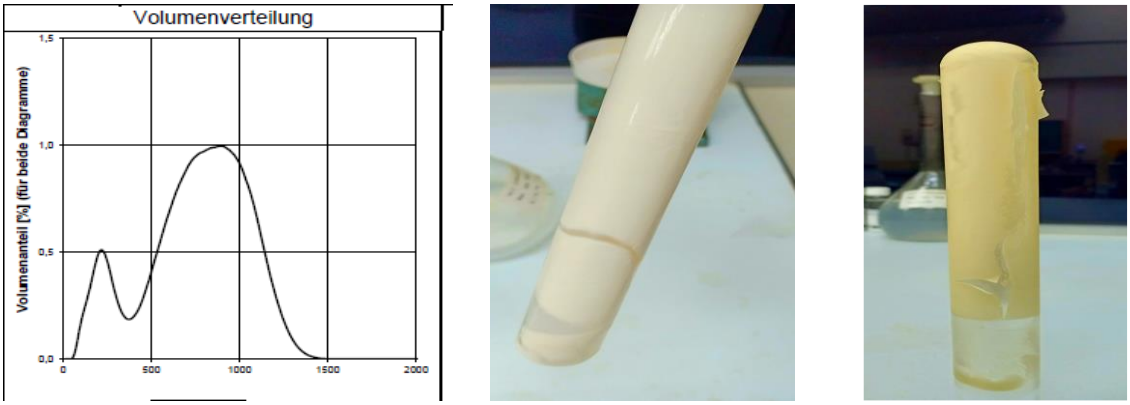


Abb. 47: links: Teilchengrößenverteilung; rechts: Tauchversuch nass und nach Trocknung.

Anwendungstechnische Prüfung – Formschaum

Bei der Herstellung von Formschaumprodukten (Abb. 48), wie sie zum Beispiel in Matratzen verwendet werden, werden Naturlatex oder Syntheselatex mit einem Feststoffgehalt von ca. 65 % verwendet.
Im Rahmen des Projektes sollte eine Methode entwickelt werden, die Herstellung von Mustern auf Basis von TKS Latex mit einem Feststoffgehalt von > 60 % ermöglicht.

Muster aus Erntejahr 2017: Es wurden ca. 150 mL eines 55 % igen TKS Latex für Prüfungen zur Verfügung gestellt. Die Teilchengrößenverteilung war vergleichbar zu Hevea Latex, allerding war die Viskosität des Latexmusters sehr hoch, so dass eine Verarbeitung in Reinform nicht möglich war. Daher wurde eine Rezeptur, die neben Naturlatex auch Syntheselatex enthält, für die Abtestung verwendet. Bei dieser Rezeptur handelt es sich um eine industrietypische Rezeptur zur Verarbeitung von Naturlatex in Kombination mit Syntheselatex. Durch die Zugabe des Syntheselatex konnte die Viskosität der Mischung so eingestellt werden, dass eine Verarbeitung möglich wurde.
Die hohe Viskosität könnte mit der Wahl des Emulgators zusammenhängen. Vor allem bei hohen Feststoffen tritt dieses Phänomen auf. Daher wurde für weitere Muster der Emulgatortyp angepasst.
Bei der Herstellung des Compounds in Kombination mit Syntheselatex zeigte das TKS Muster keinen Unterschied. Die Schaumstruktur war vergleichbar zu Hevea Latex, das Kissen mit TKS Latex wirkte weicher. Allerdings hatte das TKS Kissen den von Löwenzahn bekannten charakteristischen Geruch.

Aus dem Erntejahr 2018 wurden zweimal ca. 150 mL Latex zur Verfügung gestellt, die nach einer Umstellung des Emulgators eine niedrigere Viskosität hatten. Der Feststoff lag bei ca. 55 %. Ziel war es zu prüfen, ob dieser Latex für Schaumanwendungen ohne Mischen mit Syntheselatex verwendet werden kann. Aufgrund der Menge wurden Vorversuche zur Handhabung beim Compoundieren, zum Gelieren (der Prozessschritt vor dem Aufschäumen) und zum Schaumverhalten durchgeführt. Diese zeigten ein von Hevea Latex her bekanntes Verhalten. Allerdings war die Schaumstruktur teilweise sehr grobporig, verbunden mit der Bildung von Löchern im Schaum, was auf den Feststoff des Latex zurückzuführen war. Aufgrund der Latexmenge konnten keine Schaumkissen hergestellt werden, die für weitere Prüfungen verwendet werden konnten.
Als Ergebnis dieser positiven Vorversuche wurde die Emulgatorwahl zur Stabilisierung beibehalten. Zur Vorbereitung der Ernte 2019 wurden Versuche durchgeführt, die das Ziel hatten, Formen für Schaumanwendungen zu entwickeln, bei denen deutlich kleinere Schaumformkörper hergestellt werden können, die aber immer noch aussagekräftige Ergebnisse liefern können. Diese kleinere Form benötigt nur ca. ein Zehntel der Menge an Latex. Ziel war es, mit dieser Variante sowohl die idealen Compound- als auch die besten Prozessparameter einzustellen und dann mit der Standardform die Formkörper für die Prüfung bzw. die Demonstratoren herzustellen.

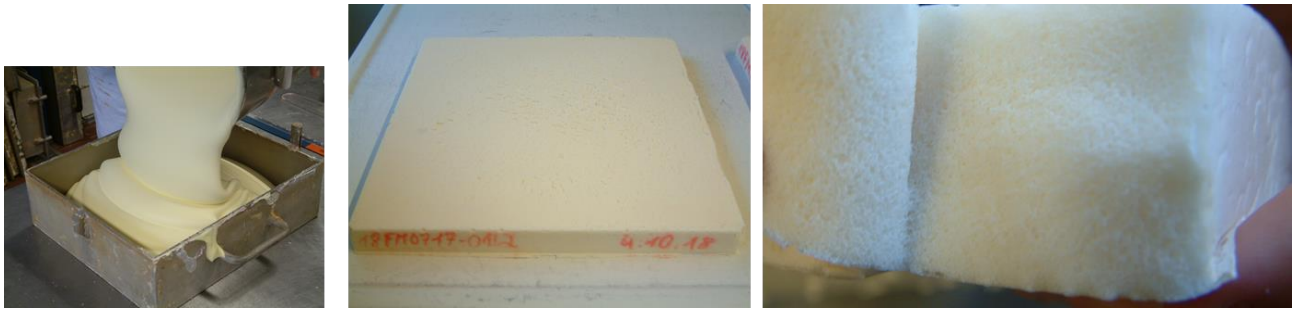


Abb. 48: Herstellung von Formschaumprüfkörpern.

Ernte 2019: Der aufgearbeitete Latex hatte bei der Übergabe nur 15 % Feststoff und zeigte eine sehr inhomogene Konsistenz. Aufgrund des geringen Feststoffes sind keine weiteren Versuche im Bereich Formschaum bisher möglich gewesen.

Fazit:

Mit den bisher zur Verfügung gestellten Latexmustern konnten im Bereich Tauchen Versuche durchgeführt werden, die allerdings aufgrund der Bildung von Rissen beim Trocknen nicht weiter ausgewertet werden konnten. Neue Latexmuster sind bisher nicht zur Verfügung gestellt worden, um hier die Vulkanisationsbedingungen anzupassen

Im Bereich Formschaum konnte in Abmischung mit Syntheselatex ein Formschaumkissen hergestellt werden. Vorversuche mit reinem TKS Latex weisen darauf hin, dass die Prozessschritte, wie von Hevea Latex bekannt, übertragen werden können. Weitere Versuche waren bisher nicht möglich, da die zur Verfügung gestellten Muster in ihrer Qualität nicht ausreichend sind bzw. nicht brauchbar sind.

Das Projekt wurde seitens Synthomer bis 12/2020 verlängert. Aktuell ist noch in Klärung, ob weitere Latexmuster zur Verfügung gestellt werden können. Ergebnisse, die im Rahmen der Projektverlängerung erzielt werden, werden mit dem Abschlussbericht der Projektverlängerung eingereicht.

T3.6 Entwurf für industrielles Upscaling inkl. ökonomischer Betrachtung

Task 3.6 ist noch nicht abschließend zu bewerten. Die wird mit dem Abschlussbericht der Verlängerung eingereicht.

An dieser Stelle sollen aber die Untersuchungen zur Allergenität des Tks-Latex dargestellt werden.

Untersuchung zum Thema Allergie:

Für Hevea Latex ist ein FITKit System bekannt, mit dem ausgewählte Allergene aus dem Hevea Latex untersucht werden können. Daher wurde das Prüfverfahren FITKit Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6.02 entsprechend der ASTM D 7427:2014-09 angewendet (Abb. 49). Untersucht wurden Latexproben mit niederem Latexgehalt und Serumsproben aus der Aufarbeitung. Serumsproben werden bei der Aufarbeitung des Latex erhalten, nachdem die Latex-reiche Schicht abgetrennt wurde. Bei der Probenvorbereitung für den Test nach FITKit wird ebenfalls der Latex von der flüssigen Phase, dem Serum, abgetrennt und das erhaltene Serum untersucht.
Dabei zeigten alle untersuchten Proben keinen Hinweis auf Allergene, die aus dem Hevea Latex bekannt sind.

Fazit:

Im Prüfverfahren FITKit Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6.02 entsprechend der ASTM D 7427:2014-09 zeigte sich kein Hinweis bei den untersuchten TKS Latex- und Serumsproben auf von Hevea bekannte Allergene.

Durch die gewählte Aufarbeitung kann eine Kontamination dieser Proben mit Hevea ausgeschlossen werden.

Probe/Identifikation / Sample/Identification	Gewicht / Weight [g]	Extraktionsvol. / Extract vol. [ml]	Allergenkonzentration **Serumfraktion** / Allergen conc.**serum fraction** [µg/l]				
			Hev b 1	Hev b 3	Hev b 5	Hev b 6.02	Summe / Sum
Produkt/Material: **Löwenzahnlatex Probe 3 TKS Latex 01/18** 180614-02/3	entfällt	entfällt	**< 2,0**	**< 2,0**	**< 1,5**	**< 1,5**	< 7,0
Probe/Identifikation / Sample/Identification	Gewicht / Weight [g]	Extraktionsvol. / Extract vol. [ml]	Allergenkonzentration **Latexmilch** / Allergen conc. **Latex milk** [µg/l]				
			Hev b 1	Hev b 3	Hev b 5	Hev b 6.02	Summe / Sum
Produkt/Material: **Löwenzahnlatex Probe 3 TKS Latex 01/18** 180614-02/3	entfällt	entfällt	**< 1,236**	**< 1,236**	**< 0,9273**	**< 0,9273**	< 4,327

Abb. 49: Ergebnisse des FITKit Test.

2. Verwertung

- **Verwertungsplan ESKUSA**

Aus den Ergebnissen zur Zuchtmethodik wird ESKUSA ein effizientes und anwendungsorientiertes Zuchtschema entwickeln. Das entwickelte Zuchtmaterial wird zur Züchtung einer ökonomisch für alle Beteiligten tragbaren Sorte weiter entwickelt. Die Wertschöpfung bei ESKUSA wird über die Saatgutproduktion in eigener Regie mit Vertragslandwirten oder über Saatgutvermehrungsfirmen (VO-Firmen) erfolgen. Erste nennenswerte Saatgutumsätze wurden bereits aus Aufträgen der Fa. Continental erzielt. Das Forschungsnetzwerk sowie die gesammelten Erfahrungen im beantragten Projekt können auf weitere Nischenarten zur stofflichen und energetischen Nutzung als NaWaRo beitragen und so eine weitere Profilierung des Unternehmens beinhalten.

- **Verwertungsplan WWU**

Die im Rahmen von TAKOWINDII an der WWU durchgeführten Arbeiten zu Inzuchtlinien und den Analysen zum Inkompatibilitätsmechanismus hat die Wissensbasis zum Aufbau einer nachhaltigen Züchtungsmethodik für *T. koksaghyz* erheblich erweitert. Die erfolgreich erzeugten Inzuchtlinien werden als stabile genetische Ressourcen verwertet und für Kreuzungen mit Elitepflanzen und für weitere Züchtungsprogramme der Projektpartner zur Verfügung stehen. Die WWU wird zusätzlich durch ihre umfangreichen Arbeiten zur Analytik von *T. koksaghyz* (z.B. Flow-Cytometry, molekulare Diagnostik, bioinformatische Verarbeitung von Sequenzdaten) auch in Zukunft ein kompetenter Partner für züchtungsbegleitende Forschung sein. Die Erkenntnisse zum Mechanismus der Selbstinkompatibilität bei *T. koksaghyz* sollen in wissenschaftlichen Fachjournalen veröffentlicht werden und in die universitäre Lehre und Ausbildung einfließen.

- **Verwertungsplan JKI**

Das JKI ist eine Forschungseinrichtung des Bundes. Es ist keine kommerzielle Verwertung der Forschungsergebnisse vorgesehen. Das JKI wird die gewonnenen Erkenntnisse zur genetischen Analyse von Merkmalen, Merkmalskartierung und Markereinsatz jederzeit allen Projektpartnern zugänglich machen und je nach Relevanz in wissenschaftlichen Fachjournalen veröffentlichen, auf Fachtagungen in Form von Postern und Vorträgen präsentieren oder als Monografie zugänglich machen. Fachmessen (Grüne Woche) werden genutzt, um die Arbeiten einem breiten Publikum (z. B. Landwirten) zugänglich zu machen. Die Forschungsarbeiten zum Löwenzahn werden das an Fremdbefruchtern erarbeitete Methodenspektrum im Hinblick auf Phänotypisierung (Merkmale) und Genotypisierung (Molekulare Marker) erweitern. Die Erkenntnisse und Pflanzenmaterialien aus dem Vorhaben werden dazu genutzt, auf spezifischen Handlungsfeldern der Ackerbaustrategie 2035 des BMEL weiterführende pflanzenzüchterische Optionen zu entwickeln.

Das Julius Kühn-Institut (JKI), als das Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen in Deutschland, verfolgt per se keine wirtschaftlichen Gewinnziele, trägt aber durch Bereitstellung von Forschungsergebnissen und Beratung, wie in diesem Fall, zu einer nachhaltigen Bioökonomie bei.

Die wissenschaftlichen Erkenntnisse, die im Rahmen der Projekte TAKOWIND und TAKOWINDII gesammelt wurden, werden regelmäßig und intensiv mit den Projektpartnern kommuniziert und durch Rückmeldungen von technischer und wirtschaftlicher Seite ergänzt und angepasst um die allgemeine, sowie fachspezifische Kompetenz zu erweitern. Die zum Teil neu entwickelten Methoden konnten das Spektrum am JKI bezogen auf die neue fremdbefruchtende Kultur Löwenzahn nachhaltig erweitern. Die auf den Ergebnissen und dem Austausch basierende Kompetenz macht das JKI zu einem wichtigen Ansprechpartner und wird die Basis für kommende Kooperationen und Beratungsanfragen seitens der Politik bieten.

Die Ergebnisse aus diesen beiden Projekten bezogen auf die neu entwickelten molekularen Marker und Züchtungsmethodik stellen weiterhin eine der wichtigsten Grundlagen für die Züchtungsforschung dieser neuen Kulturart dar und werden auch nach Projektende auf nationaler und internationaler Ebene einen wichtigen Einfluss auf die züchterische Entwicklung des Russischen Löwenzahns besitzen. So werden beispielsweise die entwickelten Marker genutzt um von ESKUSA entwickeltes Pflanzenmaterial molekular zu charakterisieren und eine einfachere und genauere Selektion von weiterzuführendem Zuchtmaterial zu ermöglichen. Gewonnene Erkenntnisse aus der QTL-Kartierung und entsprechende Sequenzdaten wurden mit der WWU Münster ausgetauscht und um zusätzliche Informationen ergänzt. Nach Prüfung der generierten Daten hinsichtlich möglicher nötiger Absicherung durch Anmeldung von Schutzrechten sollen die wissenschaftlichen Neuigkeiten dem entsprechenden Fachpublikum, aber auch einer breiten Öffentlichkeit in Form von Vorträgen und Publikationen zugänglich gemacht werden.

Die gesammelten Erkenntnisse werden weiterhin richtungsweisend für die Züchtung sein und zusammen mit der verfahrenstechnischen Aufarbeitung von T. koksaghyz und Weiterverarbeitung der isolierten Rohstoffe dazu beitragen eine Pflanzenspezies zu ergänzen, die bisher noch nicht in der Kulturpflanzenfamilie etabliert ist.

Das Projekt TAKOWIND II hatte zum Ziel, den Russischen Löwenzahn züchterisch als Rohstoff-Fruchtart für eine Verwendung in der deutschen Landwirtschaft zu optimieren, die pflanzenbauliche Praxis für diese neue Kulturart zu entwickeln und die betriebswirtschaftlichen und makroöknomischen Bedingungen für einen profitablen und nachhaltigen Anbau in Deutschland zu definieren. Die Ergebnisse aus TAKOWIND I konnten aufgegriffen und weitergeführt werden. Der bislang erzielte Erkenntnisgewinn kann aus genetisch-züchterischer Sicht nutzbringend verwendet werden um verbessertes Pflanzenmaterial für T. koksaghyz zu entwickeln.

- **Verwertungsplan hortilab**

Das in vitro Labor strebt neben der Verfeinerung der Vermehrungsmethoden, die sich auch auf andere Asteraceen übertragen lassen, vor allem eine Erweiterung des Dienstleistungsspektrums hinsichtlich der Polyploidisierung an. Die erarbeiteten Techniken und Methoden können auch Züchtern anderer Pflanzenarten als Dienstleistung angeboten werden.

- **Verwertungsplan IPTC**

Für die Verwertung der Forschungsergebnisse auf dem Teilgebiet des IPTC zur Latexextraktion, -stabilisierung und -konzentrierung aus Tks sind sowohl Publikationen in entsprechenden wissenschaftlichen Fachjournalen als auch Präsentationen auf verschiedenen Symposien in Form von Postern und wissenschaftlichen Vorträgen vorgesehen. Des Weiteren liegt das Interesse auf einer möglichen (anteiligen) Patentierung von verschiedenen Aspekten bei der Verfahrensentwicklung, wie beispielsweise der Extraktionsmethode oder der Zusammensetzung eines geeigneten Stabilisierungs- und Konservierungsmittels für Tks Latex.

- **Verwertungsplan Synthomer**

T. koksaghyz ist eine Quelle für einen möglicherweise nicht-allergenem Naturlatex und daher insbesondere für medizintechnische Anwendungen von Interesse. Ergebnisse aus dem Projekt Takowind II werden ergänzend Anreize setzen, neue Unternehmen zu etablieren, die die Gewinnung des Rohstoffes Latex aus *T. koksaghyz* im technischen Maßstab realisieren. Alternativ könnten auch bestehende Unternehmen ihr Portfolio um diese zusätzlichen Rohstoffe erweitern: Vor allem in Bereichen, bei denen die Verwendung von Naturlatex notwendig ist bzw. das allergene Verhalten von Hevea Latex eine Verwendung von Naturlatex bisher ausschließt, bietet TKS Latex eine interessante Alternative für die Zukunft.

- **Verwertungsplan Conti**

Naturkautschuk ist für Reifen und technische Kautschukartikel ein unverzichtbarer Rohstoff mit zukünftig steigendem Bedarf, der mit *T. koksaghyz* als einer zum Kautschukbaum alternativen Quelle ökologisch und ökonomisch sinnvoll auch langfristig gedeckt werden kann. Da viele der Produkte aus Naturkautschuk in sicherheitsrelevanten Anwendungen eingesetzt werden und während ihrer vergleichsweise langen Lebenszyklen verschiedenen Umgebungsbedingungen ausgesetzt sind (Temperatur, Feuchtigkeit, Beanspruchung,…), ist die Kenntnis des Alterungsverhaltens im Vergleich zum bekannten Werkstoff Hevea-Naturkautschuk Grundvoraussetzung der erfolgreichen Anwendung. Sind mögliche Unterschiede im Alterungsverhalten auf Präsenz oder Abwesenheit von Inhaltsstoffen zurückführbar, können diese als weitere Aspekte in der nachfolgenden Züchtung berücksichtigt werden. Continental hat mit der Gründung des TaraxagumLabAnklam bereits mit der Verwertung der Projektergebnisse begonnen. So konnten in 2019 erstmals Fahrradreifen mit Löwenzahnkautschuk auf den Markt gebracht werden.

Beitrag zu den förderpolitischen Zielen

Das Vorhaben TAKOWIND II zielte als interdisziplinäres Forschungsprojekt darauf ab, den Russischen Löwenzahn (*Taraxacum* koksaghyz) durch Optimierung der Qualitäts- und Ertragseigenschaften weiterhin zu einer anbauwürdigen Kulturpflanze zu entwickeln. Durch ihre Eigenschaften, Kautschuk in hoher Qualität und höheren als bis dato bekannten Konzentrationen in den Wurzeln speichern zu können und ihre Eignung für den Anbau auch auf marginalen Böden unserer Breiten, hat sich diese Löwenzahnart als vielversprechendster, alternativer nachwachsender Rohstoff für Naturkautschuk herausgestellt. Das Vorhaben konnte mit seinen Ergebnissen einen wichtigen Beitrag zur Weiterentwicklung der Bioökonomie im Sinne des Förderprogramms des BMEL im Bereich Nachwachsende Rohstoffe leisten.

In Bezug auf den Leitgedanken einer nachhaltigen Bioökonomie kann durch den vermehrten Anbau des Russischen Löwenzahns eine wichtige Alternative und Ergänzung zu Importen von Naturkautschuk aus Kautschukbaumplantagen geboten werden und das Wertschöpfungspotenzial landwirtschaftlicher Betriebe steigern. Für die weiterverarbeitende Industrie ergibt sich mit dem Einsatz von *T. koksaghyz* als Rohstoffquelle eine gewisse Unabhängigkeit von Importen, die zunehmend Schwankungen und Engpässen in der Verfügbarkeit unterliegen.

Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Die erfolgreiche Wiedereinführung von *T. koksaghyz* als alternative Rohstoffpflanze bietet in vielerlei Hinsicht wirtschaftliche Erfolgsaussichten. Durch die im Rahmen des Projektes erzielten Innovationen werden die beteiligten Partner in die Lage versetzt, einen Wettbewerbsvorteil in Ihrem Umfeld zu generieren und neue, wertschöpfende Marktsegmente in Deutschland zu etablieren.

In TAKOWIND II wurden weitere Grundlagen für eine gute landwirtschaftliche Praxis für den Anbau von *T. koksaghyz* in Deutschland entwickelt und hochwertiges Saatgut als Basis für die Entwicklung von verbesserten Kulturen erzeugt. Ein weiteres Arbeitsfeld ist die Entwicklung/Verbesserung von großtechnischen Prozessen zur Gewinnung der enthaltenen Wertstoffe, die als Prototypen realisiert werden. Zusammen ergeben sich aus TAKOWIND II umfassende Grundlagen und ihre Wechselwirkungen, um sowohl die Wettbewerbsfähigkeit der Pflanzenzüchter als auch der Verfahrenstechnik im nationalen wie internationalen Wettbewerb deutlich zu verbessern.

Langfristig (Zeitraum ca. 10 Jahre) ergeben sich für Pflanzenzüchter Möglichkeiten, ihr Portfolio um Pflanzen von hohem kommerziellen Interesse zu erweitern. Durch die Möglichkeit, *T. koksaghyz* als gewinnträchtige Pflanze [redacted] zu kultivieren, erhalten landwirtschaftliche Betriebe zusätzliche Erwerbschancen [redacted]. Auf der Ebene der kautschukverarbeitenden Industrie kann zukünftig auf lokale Rohstofferzeuger zurückgegriffen werden, um so einerseits bestehende und mögliche weitere zukünftige Beschränkungen in der Rohstoffversorgung zu überwinden und andererseits eine Verbesserung der CO2-Balance zu erreichen. Weiter ist anzumerken, dass mit *T. koksaghyz* eine Quelle für nicht-allergenen Naturlatex und -kautschuk zur Verfügung steht, die insbesondere für medizinische Anwendungen von Interesse ist. Das Projekt TAKOWIND II hat Anreize gesetzt, neue Unternehmen zu etablieren, die die Gewinnung der Rohstoffe Latex, Kautschuk und Inulin aus *T. koksaghyz* im technischen Maßstab realisieren. Alternativ könnten auch bestehende Unternehmen ihr Portfolio um diese zusätzlichen Rohstoffe erweitern.

Die Partner des TAKOWIND II-Konsortiums halten bereits heute Schutzrechte, die die Schlüsseltechnologien entlang der Prozesskette sichern. Durch die Zusammenarbeit der Forschungsinstitute und Industriepartner mit Know-how in allen Bereichen entlang der Prozesskette, wie technische Biologie, Pflanzenzüchtung und Sortenzulassung, Agronomie, Rohstoffaufbereitung und Verfahrenstechnik, Kautschukverarbeitung und Kommunikation, sind alle für die Entwicklung relevanten Partner eingebunden.

Insgesamt werden die wirtschaftlichen Erfolgsaussichten des Projektes als gut angesehen, da die Entwicklungsziele wesentlichen aktuellen Entwicklungen und Trends Rechnung tragen und da technische, ökonomische und ökologische Aspekte positiv bewertet werden.

Im Rahmen [redacted] hat die Firma Continental Reifen Deutschland GmbH zusammen mit der Fraunhofer Gesellschaft begonnen, einzelne, außerhalb der Drittmittelprojekte stehende Aspekte der Züchtungsforschung, Züchtung und Rohstoffextraktion im Hinblick auf eine Kommerzialisierung gezielt zu forcieren. Mit dem Forschungsprojekt ´Taraxagum® Lab Anklam´ hat Continental eine Laboranlage zur Kautschukextraktion in der Region um Anklam in Mecklenburg-

Vorpommern in Betrieb genommen. Dort sollen in den nächsten Jahren insgesamt rund 35 Mio. € investiert werden.

Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten

Die wissenschaftlichen Einrichtungen in Zusammenarbeit mit den Partnern aus der Wirtschaft haben insgesamt eine Erweiterung der allgemeinen aber auch partnerspezifischen Wissensbasis und Kompetenz sowohl im Bereich der Pflanzenzüchtung als auch in technischen Arbeitsgebieten im Rahmen des Projektes TAKOWIND II generiert. Damit werden besonders die wissenschaftlichen Einrichtungen aber auch die FuE-Abteilungen der Industriepartner ihre internationale Konkurrenzfähigkeit stärken können. Nach Prüfung der generierten Daten hinsichtlich möglicher nötiger Absicherung durch Anmeldung von Schutzrechten sollen die wissenschaftlichen Neuigkeiten dem entsprechenden Fachpublikum, aber auch einer breiten Öffentlichkeit in Form von Vorträgen und Publikationen zugänglich gemacht werden. Zudem wird das Wissen in die Ausbildung und Lehre an den Universitäten eingebunden, um somit den wissenschaftlichen Nachwuchs durch aktuelle Forschungsarbeiten exzellent auszubilden und das Interesse für das Arbeitsgebiet Pflanzenzüchtung und Nachwachsende Rohstoffe für die Bioökonomie zu wecken und vorzubereiten.

Die Erkenntnisse werden weiterhin richtungweisend für die Züchtung und die verfahrenstechnische Aufarbeitung von *T. koksaghyz* und Weiterverarbeitung der isolierten Rohstoffe sein und somit dazu beitragen eine Pflanzenspezies zu ergänzen, die bisher nicht in der Kulturpflanzenfamilie etabliert ist.

Durch den regelmäßigen fachlichen Austausch der Projektpartner wird die Anwendung des aktuellen Wissensstandes in allen Bereichen des Projektes auch über die Projektlaufzeit hinaus gewährleistet.

Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Das berichtete Verbundvorhaben TAKOWIND II hatte zum Ziel, den Russischen Löwenzahn und seine Hybriden züchterisch als Rohstoff-Fruchtart für eine Verwendung in der deutschen Landwirtschaft zu optimieren, die pflanzenbauliche Praxis für diese neue Kulturart zu entwickeln und die betriebswirtschaftlichen und makroökonomischen Bedingungen für einen profitablen Anbau in Deutschland zu definieren. Mit diesem Ansinnen wollte das Vorhaben an die bisherigen durch BMEL und BMBF geförderten Forschungsvorhaben TARULIN und TAKOWIND anknüpfen, die sehr erfolgreich verlaufen sind und die wirtschaftliche Anschlussfähigkeit und Verwertbarkeit der dort erarbeiteten Ergebnisse mit der Produktion von Autoreifen aus Löwenzahn-Kautschuk durch den Projektpartner Continental und ersten Latex-Handschuhen durch den Partner Synthomer eindrucksvoll belegt haben. Mit diesen vorangegangenen Forschungsaktivitäten konnte der Proof of Concept dafür erbracht werden, dass sich der Russische Löwenzahn prinzipiell als nachwachsender Rohstoff unter unseren Anbaubedingungen eignet.

Deshalb erscheint es angezeigt, mit TAKOWIND III nun den nächsten Schritt in Richtung der systematischen Inkulturnahme von *T. koksaghyz* und der Bereitstellung verfahrenstechnisch und ökonomisch relevanter Rohstoffmengen zu unternehmen, um sowohl den bislang erzielten Erkenntnisgewinn als auch das damit im Zusammenhang stehende genetisch-züchterisch entwickelte und definierte Keimplasma nutzbringend zu verwenden. Werden die in TAKOWIND III avisierten Ziele im Wesentlichen erreicht, würde dies Anschlusspunkte für die Intensivierung systematischer privatwirtschaftlicher Züchtungsaktivitäten (Fa. ESKUSA und andere) und die Anmeldung von Rechten auf spezifisch geeignete Kultursorten generieren. Die im Vorhaben zu erarbeitenden Erkenntnisse im Hinblick auf eine an *T.koksaghyz*-Wuchstypen angepasste Erntetechnik wurden bereits von spezialisierten Landmaschinenherstellern aufgegriffen und technisch wie ökonomisch bearbeitet (Projekt TAKOROD). Im Bereich der Verarbeitungstechnologie werden die entwickelten und auf spezifische *T. koksaghyz*-Sorten zugeschnittenen Prozessverfahren schutzrechtsmäßig durch die akademischen und industriellen Partner ausgewertet. Die für die weitere Optimierung des Russischen Löwenzahns als nachwachsender Rohstoff zu bearbeitenden Fragestellungen werden im Rahmen künftiger bioökonomisch ausgerichteter Forschungsprogramme im nationalen bzw. europäischen Kontext Anschlussmöglichkeiten für entsprechende FuE-Vorhaben liefern.

Im wissenschaftlichen Bereich wird die Erforschung des Biosyntheseweges für Kautschuk auf biochemischer und genetischer Ebene neue, interessante Fragestellungen in der grundlagenorientierten und anwendungsorientierten Forschung aufwerfen. Insbesondere die Agrarforschung steht im Fall von T. koksagyhz ganz am Anfang und wird im Falle einer breiteren Verwendung dieser Pflanze als Kulturart auf eine Fülle von Anschlussvorhaben in den Bereichen Züchtung, Pflanzenbau und Pflanzenschutz blicken können. Sowohl in der biologischen Grundlagenforschung als auch in der Agrar- und Verfahrensforschung wird der Russische Löwenzahn ein vielseitiges und ergiebiges Forschungsobjekt für weiterführende Aktivitäten und Publikationen darstellen.

Aus wissenschaftlicher Sicht und aus Sicht des Teilvorhabens konnten in den beiden Projekten TAKOWIND und TAKOWIND II wichtige Ressourcen in Form von Methoden, Sequenz- und Markerdaten etc. geschaffen werden um anschließende aufkommende Fragestellungen der grundlagen- und anwendungsorientierten Forschung, in der T. koksaghyz immer noch am Anfang steht, zu bearbeiten. Unter anderem ist es aus züchterischer Sicht sinnvoll und unabdingbar, die genetische Variabilität zu erhalten und wissenschaftlich zu definieren um wichtige Merkmale durch züchterische Selektion in Zukunft nicht zu verlieren. Die Erforschung der an der Kautschukbiosynthese beteiligten Gene und wie diese genau vererbt werden, wird auch in zukünftigen Projekten und Forschungsvorhaben eine wichtige Rolle spielen. Aus anwendungstechnischer Sicht ist es sinnvoll, die Erzeugung interspezifischer Hybride mit *T. kokaghyz* und *T. officinale* zu optimieren. Um passende Hybridpartner für die Erhaltung der Kautschukeigenschaften und erhöhte Ertragsleistung z.B. durch Heterosis zu finden, ist es essentiell die Biologie der Hybridisierungsvorgänge weiterhin zu erforschen.

Insgesamt wird im Falle einer breiteren Verwendung dieser Pflanze als Kulturart eine Fülle von Anschlussvorhaben in den Bereichen Züchtung, Pflanzenbau und Pflanzenschutz folgen können. Sowohl in der biologischen Grundlagenforschung als auch in der Agrar- und Verfahrensforschung wird der Russische Löwenzahn ein vielseitiges und ergiebiges Forschungsobjekt für weiterführende Aktivitäten und Publikationen darstellen.

3. Erkenntnisse von Dritten

Während der Projektlaufzeit wurde in den USA im PENRA-Konsortium weiter an der Entwicklung von *T. koksaghyz* zur Industrierohstoffpflanze gearbeitet. Für das hier berichtende Konsortium wurden aus der PENRA-Gruppe jedoch weder nutzbare Erkenntnisse publiziert noch Erkenntnisse öffentlich gemacht, die die Handlungen des berichtenden Konsortiums einschränken würden. Derzeit werden aus diesem Konsortium Investoren für eine Indoor-Produktion von *T. koksaghyz* unter Hydroponikbedingungen gesucht.

Seit Februar 2014 werden die Aktivitäten des EU-Konsortiums Drive4EU (www.drive4eu.eu) unter der Koordination der UR Wageningen gefördert. Auch aus diesem Konsortium wurden keine Erkenntnisse publiziert, die für das hier berichtende Konsortium nutzbar wären noch die Arbeiten einschränken würden. Das Projekt ist inzwischen beendet. Als ein Resultat daraus ist eine Zusammenarbeit der Fa. Keygene mit der Züchtungsfirma Barenbrug im Rahmen des Unternehmens “Lionflex“ entstanden. Im Herbst 2018 wurde von dieser Firma eine Züchterstelle für einen Löwenzahnzüchter ausgeschrieben. Ein Sortenschutzverfahren für eine Taraxacum koksaghyz Zuchtsorte dieses Unternehmens läuft derzeit. Eine geschützte Sorte würde jedoch die eigenen Aktivitäten zunächst nicht berühren, da die Art *T. koksaghyz* nicht im Artenverzeichnis steht und somit nicht dem Saatgutverkehrsgesetz unterliegt.

Im April 2015 wurde in China unter der Leitung des Reifenherstellers Linglong eine strategische Allianz unter der Bezeichnung “Dandelion rubber industry strategic alliance“ gegründet. Es konnten keine Ergebnisse der dort laufenden Aktivitäten in Erfahrung gebracht werden.

4. Veröffentlichungen

- Eickmeyer F und Recker C (2016): Autoreifen aus Löwenzahnkautschuk - Mit Züchtung vom Unkraut zur Industrierohstoffpflanze. Vortrag auf dem Kooperationsforum Biopolymere am 15.11.2016 in Straubing. www.bayern-innovativ.de/biopolymere2016

- Eickmeyer F (2014): Entwicklung von Russischem Löwenzahn als nachwachsenden Industrierohstoff. In: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR): “Mit Pflanzenzüchtung zum Erfolg“ am 09./10.09.2014 in Berlin, Gülzower Fachgespräche (48), 148-163.

- Flüß, H.; Ruge-Wehling, B.; Eickmeyer, F.; Wehling, P. (2014): Züchtung von Russischem Löwenzahn (*Taraxacum koksagyhz*) – Von der Wildpflanze zum nachwachsenden Industrierohstoff. In: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR): Mit Pflanzenzüchtung zum Erfolg (Gülzower Fachgespräche 48), Gülzow-Prüzen, 203.

- Epping J, van Deenen N, Niephaus E, Stolze A, Fricke J, Huber C, Eisenreich W, Twyman RM, Prüfer D and Schulze Gronover C (2015): A rubber transferase activator is necessary for natural rubber biosynthesis in dandelion. Nature Plants, Advance Online Publication. DOI: 10.1038/nplants.2015.48

- Stolze A, Wanke A, van Deenen N, Geyer R, Prüfer D and Schulze Gronover C. (submitted) Development of rubber-enriched dandelion varieties by metabolic engineering of the inulin pathway.

- Unland K, Bröker JN, van Deenen N, Müller B, Prüfer D and Schulze Gronover C (in prep.) Modulation of triterpene content in *Taraxacum koksaghyz* by targeted inactivation of squalene epoxidase.

- Unland K, Pütter K, Vorwerk K, van Deenen N, Twyman R, Prüfer D and Schulze Gronover C (2018) Functional characterization of squalene synthase and squalene epoxidase in Taraxacum koksaghyz, Plant Direct. DOI: 10.1002/pld3.63

- van Deenen N, Unland K, Prüfer D, Schulze Gronover C (2019) Oxidosqualene Cyclase Knock-Down in Latex of *Taraxacum koksaghyz* Reduces Triterpenes in Roots and Separated Natural Rubber, molecules, July 2019, DOI: 10.3390/molecules24152703

- Pütter K, van Deenen N, Müller B, Fuchs L, Vorwerk K, Unland K, Bröker J N, Scherer E, Huber C, Eisenreich W, Prüfer D and Schulze Gronover C (2019) The enzymes OSC1 and CYP716A263 produce a high variety of triterpenoids in the latex of *Taraxacum koksaghyz*, Scientific Reports, April 2019, DOI: 10.1038/s41598-019-42381-w

- Eggert, M., Eggert, K., Flüß, H., Ruge-Wehling, B., Thiele, K. (2019): Yield performance of wild Taraxacum koksaghyz under different N regimes in the field, In: CIRAD French Agricultural Research Centre for International Development (Hrsg.): International Conference, Development of Innovative Alternative Crops for the Production of Natural rubber, Book of abstracts, November 4-6, 2019, Montpellier, Frankreich. (Poster)

- Uhlemann, I., Eggert, M., Flüß, H., Ruge-Wehling, B., Thiele, K. (2019): Competitiveness of Russian Dandelion (Taraxacum koksaghyz) and its hybrid lines in native plant communities, In: CIRAD French Agricultural Research Centre for International Development (Hrsg.): International Conference, Development of Innovative Alternative Crops for the Production of Natural rubber, Book of abstracts, November 4-6, 2019, Montpellier, Frankreich. (Poster)

- Flüß, H., Eickmeyer, F., Geyer, R., Eggert, M., Thiele, K., Ruge-Wehling, B. (2019): Development of population genetic tools supporting the breeding progress of Russian dandelion, In: CIRAD French Agricultural Research Centre for International Development (Hrsg.): International Conference, Development of Innovative Alternative Crops for the Production of Natural rubber, Book of abstracts, November 4-6, 2019, Montpellier, Frankreich. (Poster)

- Uhlemann I., Eggert, M., Schiemann J., Thiele, K. (2019): Zum Wiederanbau von Taraxacum koksaghyz (Asteraceae) als Kautschuklieferant in Deutschland Kochia 12:19-35. (Artikel)

- Eggert, M., Schiemann, J., Thiele, K. (2018): Yield performance of Russian dandelion transplants (Taraxacum koksaghyz L. Rodin) in flat bed and ridge cultivation with different planting densities. European Journal of Agronomy 93, 126-134. (Artikel)

III. Anhang - Kurzdarstellung der Teilvorhaben

Teilvorhaben 1: Züchtung (FKZ 22024015)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Im Teilvorhaben 1 - Züchtung sollten Kautschukgehalte im Zuchtmaterial gesteigert, wichtige Merkmale kombiniert und neue Ploidiestufen ins Zuchtmaterial eingeführt werden. Diese Züchtungsaktivitäten sollten durch eine Winterzwischenvermehrung beschleunigt werden.

Für Teilvorhaben der Verbundpartner wurde Saatgut erzeugt sowie ein Prüfstandort für eine spaltende Kartierungspopulation zur Verfügung gestellt.

Darüber hinaus wurde Saatgut technisch veredelt und in pillierter und unpillierter Form den Partnern zur Verfügung gestellt sowie die Praxisflächen mit Ratschlägen, Maschinen und Personal unterstützt.

Sämtliche Material- und Methodenentwicklungen wurden in ein anwendungsorientiertes Zuchtprogramm integriert.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

AP1 Züchtung

T1 Erhöhung des Kautschukertrages

Hier konnten vier Selektionsgenerationen durchgeführt werden und der Kautschukgehalt gegenüber dem Ausgangsmaterial deutlich gesteigert werden.

In interspezifischen Hybriden konnte die Wurzelmasse von Einzelpflanzen im Vergleich zu T. koksaghyz erheblich gesteigert werden.

T2 Kombination der Merkmale hoher Kautschukgehalt und Vernalisationsbedürfnis

Die Kombination dieser Merkmale war ursprünglich in reinem *T. koksaghyz* vorgesehen, wurde jedoch im Laufe des Projektes in interspezifischen Hybridlinien weiter verfolgt. In diesen Hybridlinien konnte ein Vernalisationsbedürfnis weitestgehend erreicht werden. Die Kautschukgehalte in Hybridlinien konnten gesteigert werden, liegen jedoch noch weit unter dem Niveau des reinen *T. koksaghyz*.

T3 Beschleunigung der Züchtung durch Winterzwischengenerationen

Durch die Winterzwischengeneration konnte die Generationsfolge für einen Selektionszyklus von knapp zwei Jahren auf ein Jahr verkürzt werden, so dass im Projekt anstelle von 2 Generationen drei Generationen erzeugt werden konnten.

T4 Polyploidisierung

Tetraploide Pflanzen von diploiden Hochkautschukträgern konnten von Hortilab erzeugt und bei ESKUSA eingekreuzt werden. Die Kautschukgehalte sind jedoch nicht in allen Individuen eines Klones gleich hoch. Hier reicht eine Beprobung einer Stichprobe eines Klones nicht aus. Es müssen alle Klonteile auf Kautschukgehalt analysiert werden.

T7 Integration der Ergebnisse aus Zuchtmethodik, Agronomie, Verwertung in Zuchtmaterial und Zuchtschema - Koordination

Die Verwertung der Projektergebnisse in Form von Pflanzenmaterial und generiertem Wissen im Zuchtprozess passiert laufend. Die Kooperation zwischen den Partnern verlief/verläuft sehr gut und zielgerichtet.

AP2 Züchtungsmethodik

T2 Merkmalsorientierte Genetische Kartierung und Molekulare Markerentwicklung - Ermittlung des Kautschukgehaltes in spaltender F1-Kartierungspopulation

Die Kartierungspopulation wurde in allen drei Projektjahren am Standort Parkstetten aufgepflanzt, gepflegt und geerntet. Die geernteten Pflanzen wurden dem Verbundpartner JKI-ZL für Kautschukanalysen übergeben. Ergebnisse siehe unter dem Bericht des JKI-ZL.

Darüber hinaus wurden Pflanzen mit hohen und niedrigen Kautschukgehalten selektiert, um geeignete SNP-Marker daran zu testen.

AP3 Agronomie und Pilotanbau

T1 Verbesserung/Sicherung des Feldaufganges nach Direktsaat

Hier wurde von ESKUSA Saatgut in mehreren Pilliervarianten vorbereitet und an den Verbundpartner JKI-SB für Feldversuche übergeben. Ergebnisse siehe unter dem Bericht des JKI-SB.

T4 Betreuung des Praxisanbaus

Die landwirtschaftlichen Praxisflächen der Gäubodenkräuter Erzeugergemeinschaft wurden mit *Taraxacum koksaghyz* Saatgut versorgt. Die Betreuung der Flächen beinhaltete Hinweise zu Pflanzenschutz und Düngung sowie die Bereitstellung von Spezialmaschinen zur Pflege der Flächen. Weiterhin wurde Personal bei Arbeitsengpässen bei der Ernte und Aufbereitung der Wurzeln für die Flüssiglatexextraktion bereitgestellt.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

- Die Kautschukgehalte von Elitepflanzen konnten im Mittel des Zuchtmaterials um mehrere 2% gesteigert werden. Einzelne Familien zeigten mittlere Kautschukgehalte von >10%. Damit ist ein Kautschukgehalt im zweistelligen Prozentbereich in einer samenvermehrbaren Form vorliegend.
- Die Merkmale Hoher Kautschukgehalt und Vernalisationsbedürfnis konnten in Interspezifischen Hybridlinien kombiniert werden. Diese Hybridlinien sind weitestgehend vernalisationsbedürftig und zeigen gegenüber dem *T. officinale* Elter erhöhte Kautschukgehalte, wenn auch noch auf einem niedrigen Niveau (bis zu 2,4% Kautschukgehalt). Das Rekombinationsverhalten der interspezifischen Hybriden ist näher zu beleuchten, um eine schnellere Steigerung des Kautschukgehaltes in solchen Hybridlinien zu erzielen. Hybridlinien liegen in BC3 vor. Erste Familien zeigen restaurierte Panmixie.
- Unter Einschaltung einer Winterzwischengeneration konnte eine Pflanzengeneration pro Jahr ausgesät, beprobt, vermehrt und verklont werden. Ohne diese Winterzwischengeneration hätte es zwei Vegetationszeiten bis zur Vermehrung gebraucht. Die Züchtungsgeschwindigkeit ist damit verdoppelt worden. Basissaatgut zur Erzeugung einer großflächigen Vermehrung von im Kautschukgehalt verbessertem Material (Tks 3.0) für die großflächige Wurzelproduktion konnte erzeugt werden.
- Es konnten tetraploide Pflanzen von diploiden Hochkautschukträger-Elitepflanzen in vitro erzeugt werden. 250 tetraploide Pflanzen aus 13 Klonen wurden von ESKUSA übernommen.
- Die Überprüfung von mehreren Teilen eines tetraploiden Klones zeigte jedoch, dass nicht alle tetraploiden Nachkommen zwischen aber auch innerhalb eines Klones das Kautschukniveau der diploiden Ausgangspflanze erzielten. Hier ist ein zusätzlicher Analyseaufwand zu betreiben, um alle Klonteile eines Klones vor der Weiterkreuzung auf Kautschukgehalt zu beurteilen und hohe Gehalte in den Individuen zu sichern.
- Hexa- und oktoploide Pflanzen zeigen deutliche Wuchsdepressionen und sind deutlich weniger vital als diploide oder tetraploide *T. koksagyz*-Pflanzen.
- Erste Spätsommeraussaaten verliefen mit unterschiedlichem Erfolg: Während die Bestände bei Aussaat im August/September 2018 gut entwickelt in den Winter gingen und sich im darauf folgenden Jahr prächtig entwickelt zeigten, gingen die Bestände bei Septemberaussaat 2019 wegen anhaltender Trockenheit und mangelhaftem Bodenanschluss lange nicht auf. Sie gingen dünn, schwach und unregelmäßig entwickelt in den Winter und mussten allesamt im Frühjahr 2020 umgebrochen und neu angesät werden.
- Spätsommeraussaaten können gut gelingen, sofern bei Aussaat im August/September ausreichender Bodenschluss erzielt werden kann und ausreichend Feuchtigkeit für die Keimung zur Verfügung steht. Bei zu spätem Aufgang und zu schwach bzw. unregelmäßig entwickelten Beständen vor Winter gelingen Spätsommeraussaaten nicht. Für die Saatgutproduktion ist eine gewisse Routine im Praxisanbau erreicht worden.

- Hoch- und Niedrig-Kautschukträger-Pflanzen wurden selektiert, um SNP-Marker aus der QTL-Analyse daran zu testen.
- Rekombinationsreduktion bei bisherigen Kreuzungen des Typs: 2n Panmikt x 3n Apomikt führen dazu, in Kreuzungen mehr auf die tetraploide Ebene zu gehen, um Fertilitätsstörungen und Rekombination zu verbessern. Diploide Kreuzungen am JKI zu Hybriderstellung für Invasives Potenzial zeigen, dass möglicherweise interspezifische Kreuzungen auf diploidem Niveau doch zielführend sein können. Diese Art der Kreuzung wurde bereits früher durchgeführt, jedoch aufgrund eines einzelnen Ergebnisses zu mangelnder Fertilität ausgemustert und nicht weiter verfolgt. Sie soll nun in neuen Kreuzungen wieder aufgegriffen werden.
- Diploide Fremdbefruchter wurden von den Verbundpartnern erhalten und erste Kreuzungen durchgeführt. Weitere diploide Fremdbefruchter sollen in Österreich und der Schweiz gesammelt und anschließend polyploidisiert werden.

Für eine detaillierte Darstellung wird auf den gemeinsamen Teil II des Schlussberichtes verwiesen.

Teilvorhaben 2: Fortpflanzungs-Mechanismen bei *Taraxakum koksaghyz* (FKZ 22008916)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Hauptaspekt des Teilvorhabens 2 war die Etablierung von homozygoten *T. koksaghyz* Linien durch die WWU durch Erzeugung von Inzuchtlinien oder durch Überwindung der Selbstkompatibilität. Der Mechanismus der Selbstinkompatibilität in Tk resultiert in einer hohen Heterozygotie der Pflanzen. Aus Kreuzungen dieser diploiden, auskreuzenden Spezies gehen stark variierende Phänotypen hervor, die eine sichere Vorhersage von Erträgen (Wurzelmasse, Kautschukgehalt) nur bedingt möglich macht. Um durch Kreuzungen und anschließende Analytik schneller wichtige Genomabschnitte für den Ertrag identifizieren und direkt in Elitelinien überprüfen und übertragen zu können, bedarf es homozygoter Pflanzen-Linien (Inzuchtlinien). Diese können entweder durch das Auffinden selbstkompatibler *Taraxacum* spec. oder über die Bestäubung durch Pollen geeigneter triploider apomiktischer Pflanzen durch Selbstung induziert werden. Durch dieses Verfahren nimmt der Anteil an Homozygotie pro Generation zu, so dass große Teile des Genoms nach 5-6 Generationen in den jeweiligen Nachkommen homozygot vorliegen sollten. Weitere Arbeiten im Teilvorhaben 2 umfassten die Analyse des Inkompatibilitätsmechanismus in Tk auf morphologischer und molekulargenetischer Ebene.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

AP1 Züchtung

T6 Kreuzung von Elitelinien mit Inzuchtlinien und selbstkompatiblen *Taraxacum* spec.

Das in AP2 erarbeitete Material sollte für Kreuzungen genutzt werden, um so Filial-Generationen zu erzeugen, die für Kartierungen und QTL-Mapping geeignet sind als auch in das Zuchtmaterial integriert werden können. Erste Testkreuzungen sollten nach dem zweiten Projektjahr erfolgen, wobei weitere Generationen der Inzuchtlinien bis zum Projektende generiert werden sollten.

AP2 Züchtungsmethodik

T1 Inzuchtlinien und Kompatibilitätsmechanismus

Die Erzeugung von *T. koksaghyz* Inzuchtlinien wird für weitere Analysen hinsichtlich des Auffindens von Merkmal assoziierten Genomabschnitten in Zukunft von großer Relevanz sein, da bisherige Ansätze gezeigt haben, dass aufgrund der starken Heterozygotie eine Auswertung sehr schwierig ist. Durch die Inzucht werden vermutlich Depressionen induziert, jedoch sollten auch wüchsige Pflanzen auftreten, die eine verminderte Anzahl von depressiv wirkenden Allelen tragen und somit eine erhöhte Fitness aufweisen. Daher wurde an der WWU mittels sogenannter Mentorpollen-Produzenten innerhalb der Gattung Taraxacum eine Selbstung des sonst selbst-inkompatiblen *T. koksaghyz* durchgeführt.

Das Auffinden diploider selbstkompatibler *Taraxacum* spec. kann im Züchtungsprogramm dazu genutzt werden, die Selbstinkompatibilität von *T. koksaghyz* zu durchbrechen und damit durch Selbstung eine Homozygotisierung zu erreichen.

Die Analyse des Inkompatibilitätsmechanismus wird dazu beitragen, in der Züchtung Kompatibilitäts-Klassen aufzubauen. Die Arbeiten der WWU zum Inkompatibilitätsmechanismus umfassten morphologische als auch molekulare Analysen. Zum Auffinden der S-Genloci bzw. deren Allele wurden Transkriptomanalysen nach kompatiblen und nicht-kompatiblen Kreuzungen durchgeführt.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

- In AP2 (Züchtungsmethodik) wurde an der WWU für die Erzeugung von Tk-Inzuchtlinien erfolgreich eine Methodik über Mentorpollenbestäubung mittels triploider *T. officinale* Pflanzen entwickelt

- Ausgehend von 100 vorselektierten *T. koksaghyz* Wildtyp-Pflanzen mit einem mittleren Kautschukgehalt von 7 % wurde im ersten Projektjahr erfolgreich eine erste Tk-Inzuchtgeneration (*inbreed filial* 1 – IBF1) erzeugt und im Gewächshaus angezogen

- Das Verfahren wurde bis zur Generierung der sechsten Inzuchtgeneration (IBF6) im Laufe des dritten Projektjahres durchgeführt.

- Parallel wurde in jeder Inzuchtgeneration eine standardisierte Kautschukbestimmung nach einer Wachstumsphase von 6 Monaten von den Inzuchtlinien durchgeführt. Dadurch konnten gezielt Inzuchtlinien mit einem stabilen Kautschukgehalt selektiert und für die Generierung der weiteren Inzuchtgenerationen ausgewählt werden.

- Ausgehend von 30 *T. koksaghyz* Wildtyp-Pflanzen, die über Mentorpollen-Bestäubung Saatgut erzeugten, konnten 9 Akzessionen bis in die sechste Inzuchtgeneration weitergeführt werden, in der jeweils eine Anzahl von 1-9 Linien in der IBF6 für die langfristige Erhaltung und Verwertung in der Sterilkultur *in-vitro* etabliert wurden

- Im 3. Projektjahr wurden mit ausgewählten Linien der 5. Inzuchtgeneration (IBF5) Kreuzungen mit Elitelinien durchgeführt. Das entstandene Saatgut wurde sowohl von den Pflanzen der Inzuchtlinien als auch von Pflanzen der Elitelinien geerntet und an ESKUSA übergeben (AP1).

- Innerhalb der vierten Inzuchtgeneration konnte eine Pflanze identifiziert werden, die ohne Mentorpollen-Bestäubung fertiles Saatgut produziert. Diese potentiell diploide selbstkompatible Tk Pflanze wird zukünftig für die Analyse des Inkompatibilitätsmechanismus in Tk auf morphologischer und molekulargenetischer Ebene verwertet und wurde im Rahmen des Projekts *in vitro* etabliert und verklont

- Für die Analyse des Inkompatibilitätsmechanismus in *T. koksaghyz* wurden Transkriptionsanalysen nach kompatibler bzw. nicht-kompatibler Bestäubung zwischen zwei an der WWU Münster etablierten selbst-inkompatiblen Tk WT Linien durchgeführt

- Die Firma GATC Biotech wurde für die anschließende RNAseq-Analyse beauftragt und differentiell exprimierte Gene (DEGs) wurden nach bioinformatischer Analyse an der WWU Münster identifiziert und selektiert

- Zur Verifizierung der Transkriptom-Analysen wurden unabhängige Expressionsanalysen (quantitative Echtzeit-PCR) von ausgewählten Transkripten nach kompatiblen und inkompatiblen Kreuzungen durchgeführt

- Für erfolgreich verifizierte Transkripte wurden Konstrukte etabliert, um die beteiligten Gene in transgenen *T. koksaghyz*-Pflanzen zu deregulieren (Überexpression) oder auszuschalten. Die Analysen der transgenen Pflanzen werden zum Verständnis des Inkompatibilitätsmechanismus beitragen und können für zukünftige Züchtungsstrategien zielgerichtet verwertet werden.

Für eine detaillierte Darstellung wird auf den gemeinsamen Teil II des Schlussberichtes verwiesen.

Teilvorhaben 3: Optimierung agronomischer Maßnahmen und Monitoring des invasiven Potentials beim Anbau von Russischem Löwenzahn (FKZ 22009116)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

In diesem Teilvorhaben wurden 3 Schwerpunkte verfolgt: Der Feldaufgang und die planbare Bestandesdichte sollten durch Saatgutpillierung verbessert werden. Wurzelerträge sollten durch Stickstoffdüngung in Feldversuchen erhöht werden und es sollte eine Datengrundlage zum Nährstoffbedürfnis von Tks ermittelt werden, um mögliche Düngeempfehlungen daraus abzuleiten. Zum Monitoring des invasiven Potenzials von Tks und Hybriden sollten die vorhandenen *Taraxacum*-Arten am Standort Quedlinburg katalogisiert werden. Es sollten gezielt interspezifische Kreuzungen durchgeführt werden und in Sukzessionsversuchen die Persistenz und das Ausbreitungsvermögen solcher Kreuzungen untersucht und mit der Persistenz und dem Ausbreitungsvermögen von *T. kokssaghyz* verglichen werden.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

WP3 T1 Verbesserung/Sicherung des Feldaufganges nach Direktsaat

WP3 T2 Anbauversuche zu Düngung, Aussaat- und Erntezeitpunkt

WP3 T3 Monitoring Invasives Potenzial

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

T1 Verbesserung/Sicherung des Feldaufganges nach Direktsaat

Die Planbarkeit der Bestandesdichte von Tks ist weiterhin unzureichend, was durch die große Streubreite an etablierten und später geernteten Pflanzen pro Hektar (zwischen 450000 und 2.5 Mio. pro Hektar) trotz Berücksichtigung von Tausendkorngewicht (TKG) und Keimfähigkeit (KF) bei der Berechnung der Aussaatmenge offenbart wird. Aufgrund dieser nur begrenzt planbaren Bestandesdichte und des negativen Zusammenhangs zwischen sehr hohen Bestandesdichten und dem Wurzelgewicht der einzelnen Pflanze ist eine weitere Verbesserung der technischen Saatguteigenschaften (abriebfreies Pilliermaterial, stabile Multipille, verbesserte Keimfähigkeit von Multipillen) erstrebenswert. Es zeigte sich im Laufe der zwei Versuchsjahre, dass durch Saatgutpillierung der Feldaufgang gegenüber blankem Saatgut verbessert werden kann. Weitere Verbesserungen in der Zusammensetzung des Pilliermaterials können zukünftig die nötigen Aussaatmengen reduzieren. Dafür sollten weitere Saatgutpillierungen/-behandlungen getestet werden. Aussaatversuche mit einer pneumatischen Einzelkornsämaschine könnten dann weiter zu einer Standraumoptimierung beitragen, in dem das kritische Gleichgewicht zwischen Wurzelgewicht der Einzelpflanze und Wurzelertrag aus der Fläche ermittelt werden kann.

T2 Anbauversuche zu Düngung, Aussaat- und Erntezeitpunkt

Die gedüngten Varianten von Tks, unabhängig von der Düngeform, zeigten keinen signifikanten Mehrertrag im Vergleich zur nicht gedüngten Kontrolle in keinem der Versuchsjahre und an keinem der Standorte. Der Einfluss auf den Kautschukgehalt in der Trockenmasse war nicht konsistent und wurde nur 2017 festgestellt. Das Versuchsjahr unterschied sich von den beiden folgenden Versuchsjahren durch überdurchschnittlich hohe Niederschläge, die ein Auswaschen des Festdüngers in tiefere Bodenschichten erwarten ließ. Die Überprüfung der N-Dynamik zeigte jedoch, dass die Unterschiede durch die unterschiedlich hohen N-Gaben durchaus auch in trockneren Versuchsjahren wie 2019 für die Pflanzen verfügbar waren, jedoch offensichtlich nicht zur Bildung von mehr Wurzelmasse genutzt wurden/werden konnte. Auch in den Hybridlinien konnte kein signifikanter Einfluss der N-Düngung auf den Wurzelertrag gezeigt werden (Anbau nur 2019). Die Hybridlinien enthielten keinen Kautschuk. Die N-Düngung zeigte auch keinen Einfluss auf die saisonale Entwicklung von Wurzelmasse und Kautschuk.

Generell konnten trotz anhaltender Trockenheit in den Jahren 2018 und 2019 auf beiden Standorten im Schnitt über alle Versuchsglieder im Vergleich zu 2017 Mehrerträge (Wurzel-TM t/ha) von bis zu 70% erzielt werden, da es über die Saison gelang, ca. 64% mehr Pflanzen als 2017 auf der gleichen Fläche zu etablieren.

Da weder der Wurzelertrag noch der Kautschukgehalt von Russischem Löwenzahn signifikant mit den getesteten Düngemaßnahmen gesteigert werden konnte, muss davon ausgegangen werden, dass die Grundversorgung mit N im Boden (Nachmineralisation) an beiden Standorten ausreichend für die Pflanzen war, um ihr mögliches Wachstumspotential an diesen Standorten auszuschöpfen. Eine zusätzliche Düngung mit N ist daher unter vergleichbaren Umweltbedingungen für Tks nicht empfehlenswert. Diese Schlussfolgerung kann im Wesentlichen durch die Elementanalysen und die daraus resultierende Berechnung zu den Nährstoffentzügen zur Ernte bestätigt werden. Dieselbe Schlussfolgerung kann aufgrund der Datenlage eines Anbaujahres an zwei Standorten auch für die z.T. signifikant wüchsigeren Hybridlinien (TksxTo) gezogen werden. Weitere Versuche mit kautschukhaltigen Hybridlinien, die signifikant mehr Biomasse bilden als der Tks-Wildtyp müssten unter unterschiedlichen Standortbedingungen untersucht werden, um diese Ergebnisse zu verifizieren.

Die Elementanalysen mittel N-Analyzer und ICP-OES mit Proben aus dem Jahr 2017 in Blatt und Wurzel ermöglichten die Berechnung der Nährstoffentzüge zum Zeitpunkt der Ernte in Tks mit den realisierten Erträgen, so dass erstmalig solche Daten für Tks zur Verfügung stehen und Orientierung für eine mögliche Düngung an ähnlichen Anbaustandorten geben kann.

T3 Monitoring Invasives Potenzial

Die Katalogisierung der am Standort Quedlinburg vorkommenden Taraxacum-Arten wurde vervollständigt. Insgesamt wurden 37 verschiedene Arten erfasst.
Es wurden Arthybriden von Taraxacum koksaghyz mit triploiden heimischen Taraxacum-Arten hergestellt und teilweise charakterisiert. Auf Grund der sehr geringen Frequenz des Saatgutansatzes aus diesen Kreuzengen konnte jedoch festgestellt werden, dass die spontane Hybridisierung mit den hier vorkommenden triploiden Apomikten unwahrscheinlich bzw. ein sehr seltenes Ereignis ist.
Zur weiteren Charakterisierung von Taraxacum koksaghyz-Hybriden wurden deshalb Kreuzungen mit diploiden Taraxacum-Akzessionen (Taraxacum linearisquameum) durchgeführt. Diese Kreuzungen erwiesen sich im Hinblick auf den Samenansatz als sehr ergiebig. Insgesamt 10 Geschwistergruppen wurden taxonomisch beschrieben.

Für eine detaillierte Darstellung wird auf den gemeinsamen Teil II des Schlussberichtes verwiesen.

Teilvorhaben 4: Entwicklung molekularer Marker und genetische Kartierung relevanter Merkmale für innovative Züchtungsstrategien (FKZ 22009216)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Das Teilvorhaben zielte darauf ab, durch Untersuchungen zur Züchtungsmethodik und der Genetik von *Taraxacum koksyghyz* (TKS), der angewandten Züchtung Werkzeuge zur Verfügung zu stellen, um den Züchtungsfortschritt zu beschleunigen und nachhaltig gestalten zu können. Die Züchtungsziele zur Erhöhung des Ertrags und der Ertragsstabilität können so schneller erreicht werden und tragen dazu bei, die Weiterentwicklung von *Taraxacum koksaghyz* zur Kulturpflanze als nachwachsenden Rohstoff für Naturkautschuk voran zu treiben. Aufbauend auf den genetischen Analysen und der erstellten DNA-Markerkarte von *T. koksyghyz* aus dem vorangegangenen Projekt TAKOWIND (FKZ 22002312) wurden dazu am JKI – Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen folgende Arbeiten durchgeführt:

- Untersuchung Taraxacum-verwandter Arten auf ihre Eignung zur Anwendung der Mentorpollen-Methode um Selbstungen bei *T. koksaghyz* zu induzieren
- Erweiterung der genetischen Karten durch zusätzliche molekulare Marker
- Planung und Durchführung von Feldversuchen zur Ermittlung des Kautschukgehaltes der Kartierungspopulation
- Aufarbeitung phänotypischer und genotypischer Daten
- Ableitung merkmalsbezogener molekularer Marker aus QTL-Analyse für das Merkmal Kautschukgehalt
- Entwicklung von Methoden zur Erhaltung und Vermehrung des Echten Mehltaus an Taraxacum-Pflanzen
- Durchführung von Resistenztests mit Mehltau an *T. koksaghyz* und *T. officinale* Pflanzen
- Differentielle Transkriptom-Analyse und Markerentwicklung auf Basis von RNA-Sequenzdaten anfälliger und resistenter *T. officinale* Populationen

In dem Teilvorhaben 4 wurden für die Erzeugung von Inzuchtlinien artverwandte Gattungen auf ihre Eignung für die Anwendung der Mentorpollen untersucht. Für die Kartierung des quantitativen Merkmals Kautschukgehalt wurden umfangreiche Feldversuche mit einer Kartierungspopulation durchgeführt. Anhand der daraus entsprechenden phänotypischen Daten und den hoch auflösenden genetischen Karten der TKS Kartierungspopulation konnten mehrere QTL kartiert und signifikante SNP-Marker abgeleitet werden. Für die Erfassung der Mehltautoleranz wurden Methoden entwickelt um den Pilz zu erhalten und zu vermehren, um Resistenztests durchzuführen. Mehltau anfällige, tolerante und resistente Taraxacum-Populationen konnten identifiziert werden. Eine differentielle Transkriptom-Analyse wurde durchgeführt und SNP-Marker abgeleitet, die in spaltenden Populationen für Mehltautoleranz eingesetzt werden können. Die wichtigsten Ergebnisse sind hier kurz zusammengefasst, für eine detaillierte Darstellung wird auf den gemeinsamen Teil des Schlussberichtes verwiesen.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

WP2: Züchtungsmethodik

T1 Inzuchtlinien und Kompatibilitätsmechanismus

T1.1 Erzeugung von *T. koksaghyz* Inzuchtlinien durch Mentorpollenbestäubung Taraxacum-verwandter Arten

T2 Merkmalsorientierte genetische Kartierung und molekulare Markerentwicklung

T2.1 Ermittlung des Kautschukgehaltes in spaltender F1-Kartierungspopulation
T2.2 QTL-Analyse aus gewonnenen Felddaten zum Kautschukgehalt
T2.3 Erfassung von Mehltautoleranz in Taraxacum-Populationen

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Von insgesamt elf getesteten Taraxacum-verwandten Arten hat sich in zwei Versuchsjahren die Sonnenblumensorte ‚Sunspot' als die am besten geeignete Art erwiesen, um in verschiedenen TKS Akzessionen eine Selbstung durch den Mentorpolleneffekt auszulösen.

In Feldversuchen wurde über 3 Jahre an 3 Standorten der Kautschukgehalt von 175 Individuen der Kartierungspopulation in zweifacher Wiederholung ermittelt. Insgesamt wurden 3011 Messdaten zum Kautschukgehalt der Wurzeltrockenmasse in % erhoben. Über statistische Methoden wurden die Messdaten unter Berücksichtigung der Umweltfaktoren zu entsprechenden Mittelwerten der einzelnen

Individuen verrechnet. Für das quantitative Merkmal Kautschukgehalt wurde eine hohe Heritabilität von 0,514 berechnet.

Anhand der erweiterten genetischen Karten und den ermittelten phänotypischen Daten zum Kautschukgehalt der Kartierungspopulation wurde eine QTL-Analyse durchgeführt. Insgesamt konnten drei signifikante QTL (LOD > 3) auf verschiedenen Kopplungsgruppen identifiziert werden, die einen Einfluss auf den Kautschukgehalt haben.

Signifikante SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms), die in den QTL-Regionen liegen konnten identifiziert und als Marker abgeleitet werden, die eine Differenzierung zwischen hoch und niedrig kautschukhaltigen Pflanzen ermöglichen.

Methoden zur Erhaltung des Taraxacum befallenden Pilzes *Podosphaera erigerontis-canadensis* (Echter Mehltau) auf anfälligen *Taraxacum officinale* (To) Pflanzen und Blättern in-vitro wurden neu entwickelt.

Methoden zur Vermehrung des Echten Mehltaus und Inokulation von Pflanzen für Resistenztests im Gewächshaus über eine Sporensuspension wurden neu entwickelt. Es wurde ein Boniturschema für die Durchführung von Resistenztests erstellt.

Resistenztests bestätigten eine hohe Anfälligkeit gegenüber Mehltau der triploiden To-Sorte ‚Riesentreib'. TKS zeigte eine Toleranz und nur geringen Befall mit Mehltau. Die diploide To-Akzession ‚2a' wurde in mehreren Tests als resistent eingestuft und eignet sich prinzipiell gut für Ansätze in der Hybridzüchtung mit TKS.

Über eine differentielle Transkriptom-Analyse zwischen anfälligem To (To 3n ‚Riesentreib') und resistentem To (To ‚2a') konnten in dem resistenten Pool Gene identifiziert werden, die mit einer Mehltauresistenz in Verbindung gebracht werden können. Aus den entsprechenden Sequenzdaten wurden in einer anschließenden SNP-Analyse Marker abgeleitet, die in spaltenden Populationen für das Merkmal Mehltauresistenz für Genotypisierungen zur Verfügung stehen.

Für eine detaillierte Darstellung wird auf den gemeinsamen Teil II des Schlussberichtes verwiesen.

Teilvorhaben 6: Vermehrung und Polyploidisierung (FKZ 22009416)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Im Teilvorhaben Vermehrung und Polyploidisierung wurden *in vitro* Kulturtechniken genutzt, um *Taraxacum*-Akzessionen vermehren und Pflanzenmaterial für die Partner bereitstellen zu können.

Mit dem *in vitro* etablierten und angezogenen Material wurden außerdem Behandlungen zur Polyploidisierung durchgeführt, mit dem Ziel zu leistungsfähigeren Genotypen zu kommen und das Spektrum für die Züchtung zu erweitern.

Die *in vitro*-Kultur von züchtungsrelevanten Akzessionen und Eliten bietet ein sicheres Verfahren, das Material unabhängig von äußeren Einflussfaktoren zu erhalten. Ziel war es daher auch, die Bedingungen zur Langzeiterhaltung ausgewählter Genotypen *in vitro* zu optimieren.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

WP1 T4 Polyploidisierung

Die Polyploidisierung von Blattstücken und *in vitro* Sprossen mit dem Spindelgift Oryzalin erfolgte auf der Grundlage der in TAKOWIND I erarbeiteten Protokolle. Es wurden zahlreiche Akzessionen/Eliteklone nach Übergabe durch ESKUSA mit dem Wirkstoff behandelt. So konnten polyploide Nachkommen meist auf tetraploider, zum Teil auf hexaploider und oktoploider Stufe erzeugt werden. Zum Vergleich wurden diploide Nachkommen des Ausgangsmaterials vermehrt und an ESKUSA übergeben.

WP1 T5 *In vitro*-Vermehrung und Klonerhaltung

Im Projektzeitraum wurde unterschiedliches Material auf der Grundlage der in TAKOWIND I erarbeiteten Protokolle für die Partner verklont und *in vitro* erhalten.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

T4 Polyploidisierung

Für Polyploidisierungsversuche wurden die in TAKOWIND I erarbeiteten Protokolle zur Polyploidisierung von *Taraxacum*-Akzessionen durch Behandlung von *in vitro*-Blatt- und -Sprossmaterial mit dem Wirkstoff Oryzalin angewendet. Es konnten polyploide Nachkommen meist auf tetraploider, zum Teil auf hexaploider und oktoploider Stufe erzeugt werden. Die Ploidiestufe wurde durch flow-cytometrische Untersuchung bei der WWU überprüft.

In der Regel wurden Eliteklone anhand der Messung von Kautschukgehalten für die Polyploidisierungsansätze ausgewählt. Das Material wurde für die Behandlung mit dem Spindelgift Oryzalin zunächst verklont.

Es wurden generell mindestens 25 junge Sprosse pro Genotyp und Ansatz behandelt, da je nach Größe der Explantate bis zu 50% Ausfall durch die Oryzalin-Behandlung zu verzeichnen war. Genotypen abhängig waren z.T. mehrere Behandlungen erforderlich bis tetraploide Individuen erzeugt werden konnten.

Tetraploide (und hexaploide) Einzelpflanzen wurden im Anschluss verklont und z.T. die Ploidiestufe nochmals überprüft, bevor die Nachkommen an die Partner übergeben wurden. In der Regel wurden ebenfalls Vergleichspflanzen der diploiden Stufe vermehrt. Es konnten so größere Serien Polyploider erzeugt und zur weiteren Prüfung an ESKUSA übergeben werden.

Es wurden vorzugsweise Einzelpflanzen einer einheitlich gemessenen Ploidiestufe verklont, um das Problem von Ploidiechimären auszuschließen. In einigen Einzelfällen konnten Ploidiechimären nach Verklonung entmischt und einheitliche Nachkommen erzielt werden.

Aus Einzelpflanzen der oktoploiden Stufe ließen sich nur wenige Nachkommen erzeugen. Diese wiesen in der Regel deformierte Blätter auf und entwickelten sich nicht weiter. Die Erzeugung oktoploider Nachkommen wurde daher nicht weiter verfolgt.

T5 *In vitro*-Vermehrung und Klonerhaltung

In den Jahren 2016/17 und 2017/18 wurde die spaltende F1-Kartierungsfamilie EK14-12 mit 175 Genotypen vermehrt und zur Aufpflanzung an drei Standorten an die Partner ESKUSA, JKI-LZ und JKI-SB mit jeweils 5-6 Klonteilen pro Genotyp übergeben.

Außerdem wurden jährlich ausgewählte Kautschuk-Eliten und andere züchtungsrelevante Akzessionen von ESKUSA übernommen und *in vitro* etabliert und vermehrt. Dabei waren der Zeitpunkt der Materialaufnahme und der Zustand des Blattmaterials entscheidend für den Erfolg der Etablierung. Im zeitigen Frühjahr und im Spätsommer war die Etablierung meist erfolgreicher als in den Sommermonaten. Im Sommer steigt offensichtlich der Anteil an Endophyten im Blattmaterial an. Dem konnte in der in vitro-Kultur nur durch generelle Zugabe eines Biozids in den Nährmedien, und teilweise auch durch die Gabe von Antibiotika entgegen gewirkt werden.

Alle *in vitro* etablierten Akzessionen wurden während und nach Abschluss der Vermehrung weiter erhalten. Zur Verbesserung der Klonerhaltung und Verlängerung der Subkulturdauer wurde in den Standardnährmedien Saccharose teilweise durch Mannitol ersetzt. Dieser Zuckeralkohol wird von der Pflanze langsamer verwertet und reduziert das Wachstum.

Nach der ersten Passage auf einem Nährmedium mit 4% Mannitol wurden zunächst Wuchsdepressionen bei den Pflanzen beobachtet. Um diese zu minimieren wird derzeit ein Nährmedium mit einer Kombination aus 3% Mannitol und 1% Saccharose für die Klonerhaltung verwendet. Bei den meisten Klonen ist auf Standard-Nährmedium mit 3% Saccharose nach 3-4 Monaten eine Subkultur notwendig, diese kann nach aktuellem Stand durch Mannitol auf mindestens 6 Monate ausgedehnt werden.

Durch i*n vitro*-Kulturtechniken wurde die Etablierung, Vermehrung und Anzucht züchtungsrelevanter Akzessionen/Eliteklone und Bereitstellung an beteiligte Partner ermöglicht.

Außerdem erfolgte züchtungsbegleitend *in vitro* die Langzeit-Klonerhaltung ausgewählter Genoytpen.

Für eine detaillierte Darstellung wird auf den gemeinsamen Teil II des Schlussberichtes verwiesen.

Teilvorhaben 7: Analyse von Kautschukproben und -mischungen sowie des Alterungsverhaltens (FKZ 22009516)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Aus diesem Arbeitspaket sollte nach Überprüfung der Qualitätseigenschaften des Kautschuks durch die Weiterverarbeiter ein Feedback an die Züchtung gegeben werden, ob und ggf. welche Qualitätsparameter bei der Selektion berücksichtigt werden müssen/können. Dadurch sollte sichergestellt werden, dass das jeweils neu entwickelte Zuchtmaterial den Anforderungsprofilen der Verarbeiter entspricht.

Während der erstmaligen Abbildung der Wertschöpfungskette sind Unterschiede im Alterungsverhalten des Löwenzahnkautschukes (Tks-Isoprenkautschuk) im Vergleich zum Hevea-Isoprenkautschuk erkannt worden, die im Zuge dieses Projektes aufgeklärt wurden. Die erhaltenen Ergebnisse wurden in laufende und weiterführende Züchtungsprogramme als möglicherweise neue Anforderungen zurückgespielt.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

WP4 Rohstoffverarbeitung und Produktcharakterisierung

T1 Beurteilung neues Zuchtmaterial
T1.1 Beurteilung der Kautschukqualitäten aus weiterentwickeltem Zuchtmaterial
T1.2 Beurteilung der Kautschukmischungen aus weiterentwickeltem Zuchtmaterial
T2 Analyse Alterungsverhalten Tks-Kautschuk
T2.1 Alterungsverhalten des Rohmaterials
T2.2 Einfluss im Aufarbeitungsprozess
T2.3 Alterungsverhalten von Kautschukmischungen
T2.4 Alterungsverhalten im Produkt

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Für eine detaillierte Darstellung wird auf den gemeinsamen Teil II des Schlussberichtes verwiesen.

Teilvorhaben 8: Lagerung, Extraktion und Aufkonzentration der Rohlatices (FKZ 22009616)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Aufgabe des Teilvorhabens Latexextraktion war es, ein Ammoniak-freies Stabilisierungsverfahren für flüssigen Latex zu entwickeln. Außerdem sollen geeignete Parameter der notwendigen Schritte zur Extraktion, Stabilisierung und Aufkonzentration von Flüssiglatex ermittelt werden. Es sollten Kombinationen von verschiedenen Verfahrensschritten zur Herstellung von Latex mit verschiedenem Kautschukkgehalt für die jeweilige Anwendung geprüft und optimiert werden. Dazu mussten Latexeigenschaften wie Viskosität und Reinheit beurteilt und angepasst werden.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

WP4 Rohstoffverarbeitung und Produktcharakterisierung

T3.1 Behandlung/Lagerung der Frischwurzeln zur erntezeit-unabhängigen Latexgewinnung

T3.2 Lagerung der Rohlatices

T3.3 Ammoniakfreie Extraktion

T3.4 Aufkonzentration Technik und Upscaling

T3.6 Entwurf für industrielles Upscaling inkl. ökonomischer Betrachtung

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

T3.1 Behandlung/Lagerung der Frischwurzeln zur erntezeit-unabhängigen Latexgewinnung

Anzucht von Wurzeln in Substraten erfolgte zur Überbrückung der erntefreien Zeit und zur leichten Reinigung der Wurzeln.

Weitere Lagerungstests von Frischwurzeln erfolgten in feuchtem Sand, Erdmieten und flüssigen Medien und durch Schockgefrieren. Die Lagerung von Frischwurzeln in feuchtem Sand ist als praktikable Lösung für kurzzeitige Lagerung (einige Wochen) möglich. Weitere Lagerungsmöglichkeiten sind bisher noch nicht erfolgreich.

Zur Beurteilung wurden Kolloideigenschaften wie Latexstabilität und Partikelgrößenverteilung untersucht.

Die Reinigung und Aufarbeitung von bis zu 100 kg Frischwurzeln erfolgte mit gewöhnlichen Wäschern sowie Entsaftern oder Schneidemaschinen.Die Reinigung und Aufarbeitung von mehreren 100 kg Frischwurzeln war mit landwirtschaftlichen Waschanlagen sowie Bandschneidemaschinen bzw. Mühlen sowie mobilen Rührwerken und hydraulischen Obstpressen möglich. Die Arbeitsschritte in diesem Maßstab wurden optimiert.

T3.2 Lagerung der Rohlatices

Die Lagerung von Rohextrakten ist bei Stabilisierung mit Ethanolamin und Oleaten über ein Jahr hinweg möglich.

Konzentrate und Rohlatices sind bei Lagerung über einen Zeitraum von einem Jahr haltbar, solange regelmäßige Homogenisierung und Luftabschluss gewährleistet ist.

Zur Beurteilung wurden Kolloideigenschaften wie Latexstabilität und Partikelgrößenverteilung nach Lagerung von > 1 Jahr untersucht.

Zukünftig müssen die Haltbarkeiten von Rohlatices aus unterschiedlichen Aufarbeitungsmethoden in verschiedenen Stabilisierungsmedien untersucht werden.

T3.3 Ammoniakfreie Extraktion

Die Flowmethode unter Verwendung einer Bandschneidemaschine ist als Extraktionstechnik für hochreinen Latex geeignet, jedoch verbunden mit geringer Ausbeute an Latex. Die Arbeitsabläufe der Flowmethode bei Extraktion von 300-400 kg Frischwurzeln konnten vereinfacht und optimiert werden.

Die Extraktion mit einer Mühle (700-800 kg Frischwurzeln) führt zu höheren Ausbeuten an Latex, jedoch mit geringerer Reinheit.

Weitere Extraktionsmöglichkeiten (u.a. chemischer Aufschluss des Wurzelmaterials) sollten untersucht werden.

T3.4 Aufkonzentration Technik und Upscaling

Wiederholtes Verdünnen und Aufkonzentrieren ist entscheidend für Latexstabilität und Reinheit.

So konnte 30 wt%iger Tks-Latex ausgehend von <1 wt%igen Rohextrakten durch mehrere Konzentrierungsschritte hergestellt werden.

Rund 4 kg Tks-Latex mit >60% Kautschukgehalt ausgehend von Rohextrakten mit <1% Kautschukgehalt konnten durch mehrere Konzentrierungsschritte ebenfalls erzeugt werden. Jedoch stellte sich dessen Qualität als noch stark verunreinigt heraus. Mit der letzten Ernte konnten durch Anpassung der Extraktion (Verwendung einer Mühle anstelle der Bandscheidemaschine) höhere Ausbeuten an Latex erzielt werden, jedoch mit geringer Qualität des Produkts.

Aufrahmung ist als leicht handhabbare, aufwandsarme Methode für die Konzentration größerer Mengen an Extrakt möglich.

Latex für verschiedene Tauchversuche und Schaumanwendungen konnte hergestellt und an Synthomer übergeben werden.

T3.6 Entwurf für industrielles Upscaling inkl. ökonomischer Betrachtung

In 2018 erfolgte die Verarbeitung von 400 kg Frischwurzeln und in 2019 die von 750 kg Frischwurzeln.

Es konnte eine Extraktions- und Konzentrationsmethode von bis zu 1000 kg Frischwurzeln erarbeitet werden. Der Flaschenhals in der Prozesskette ist das manuelle Entfernen des Blattmaterials von der Wurzel. Zukünftige Erntetechnik unter Einsatz eines Klemmbandroders könnte diesen Flaschenhals auflösen. Weitere Automatisierungsmöglichkeiten sowie Anpassung der eingesetzten Lösungsmittel und Chemikalien an diese Erntetechnik sollten dann noch einmal vorgenommen werden.

Eine Wirtschaftlichkeit der Latexextraktion scheint erreichbar bei:

a) starker Erhöhung der Reinheit mit Mühlenextraktion

b) starker Erhöhung der Ausbeute mit Flowextraktion

Für eine detaillierte Darstellung wird auf den gemeinsamen Teil II des Schlussberichtes verwiesen.

Teilvorhaben 9: TKS Latex als Industrierohstoff (FKZ 22009716)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Der wesentliche Inhalt dieses Teilvorhabens bestand in der Beurteilung der erzeugten Latices aus Sicht eines Verwerters. Es sollten anwendungstechnische Versuche durchgeführt werden. In einem Tauchversuch sollten die Filmeigenschaften des verarbeiteten Latex (z.B. für Handschuhe) beurteilt werden. Die zweite zu überprüfende Anwendung waren Formschäume, wie sie z.B. in Matratzen verwenden werden. Abschließend sollte eine ökonomische Betrachtung der Latexextraktion und -aufarbeitung durchgeführt und die Möglichkeiten eines Upscalings beurteilt werden

2. Bearbeitete Arbeitspakete

WP4 T3 Verfahrenskette Latexextraktion

T3.1 Behandlung/Lagerung der Frischwurzeln zur erntezeit-unabhängigen Latexgewinnung

Hier wurde die erdfreie Kultivierung zur Erzeugung von Wurzeln auch in der erntefreien Zeit erprobt.

T3.3 Ammoniakfreie Extraktion

Synthomer hat hier die Rohstoffproduktion im Feldanbau im Unterauftrag an die Gäubodenkräuter Erzeugergemeinschaft vergeben.

T3.5 Durchführung von Handschuhtauchversuchen / Demonstrator

Handschuhtauchversuche und Formschaumversuche wurden hier durchgeführt.

T3.6 Entwurf für industrielles Upscaling inkl. ökonomischer Betrachtung

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Die Kultivierung im erdfreien Substrat wurde erprobt, aber nicht weitergeführt, da die Wurzelform und Struktur für die Aufarbeitung von Nachteil war.

Die Erkenntnisse aus der erdfreien Kultivierung sind wichtige Grundlagen für diese Kultivierungsmethode. Weitere Arbeiten sind notwendig, um diese Anbauform zu optimieren. Diese wurden jedoch im weiteren Verlauf des Projektes als nicht zielführend gesehen und daher nicht weiterverfolgt.

Die Reinigung bei Wurzeln aus Feldanbau aus eher sandigen Böden führt zu Wurzeln, bei denen Erdanhaftungen für die weitere Aufarbeitung weniger kritisch sind. Bei der Wahl der Anbauflächen wurde dies berücksichtigt.

Im Rahmen des Projektes wurde seitens der Synthomer über den Auftragnehmer Gäubodenkräuter GmbH & Co KG der Feldanbau durchgeführt. In den einzelnen Jahren wurden folgende Flächen angebaut:

2017: 0,4 ha

2018: 1,0 ha

2019: 1,0 ha.

Im Auftrag enthalten war Aussaat, Pflege und Ernte des Löwenzahns durch den Auftragnehmer, die Betreuung erfolgte über ESKUSA, die weitere Aufarbeitung wurde unter der Leitung der Universität Regensburg durchgeführt.

Mit den bisher zur Verfügung gestellten Latexmustern konnten im Bereich Tauchen Versuche durchgeführt werden, die allerdings aufgrund der Bildung von Rissen beim Trocknen nicht weiter ausgewertet werden konnten. Während der Herstellung des Tauchcompounds wurden keine Unverträglichkeiten festgestellt. Allerdings zeigte das Muster ein Verhalten, das sich wie vorvernetzte Latices verhält. Dies wird auch als Ursache für die Bildung von Rissen beim Trocknen und Vulkanisieren angenommen. Neue Latexmuster sind bisher nicht zur Verfügung gestellt worden, um hier die Vulkanisationsbedingungen anzupassen

Im Bereich Formschaum konnte in Abmischung mit Syntheselatex ein Formschaumkissen hergestellt werden. Vorversuche mit reinem TKS Latex weisen darauf hin, dass die Prozessschritte, wie von Hevea Latex bekannt, übertragen werden können. Weitere Versuche waren bisher nicht möglich, da die zur Verfügung gestellten Muster in ihrer Qualität nicht ausreichend sind bzw. nicht brauchbar sind.

Das Projekt wurde seitens Synthomer bis 12/2020 verlängert. Aktuell ist noch in Klärung, ob weitere Latexmuster zur Verfügung gestellt werden können. Ergebnisse, die im Rahmen der Projektverlängerung erzielt werden, werden mit dem Abschlussbericht der Projektverlängerung eingereicht.In Tabelle 26 sind die Mengen an Latex dargestellt, die aus den einzelnen Erntejahren Synthomer als Muster zur Verfügung gestellt wurden.

Der Entwurf für industrielles Upscaling inkl. ökonomischer Betrachtung ist noch nicht abschließend zu bewerten. Die Bewertung wird mit dem Abschlussbericht der Verlängerung eingereicht.

Für eine detaillierte Darstellung wird auf den gemeinsamen Teil II des Schlussberichtes verwiesen.