

## ***Abschlussbericht Mykorrhiza – Einsatz von Mykorrhizapilzen***



Eine Einrichtung des Bundesministeriums für Landwirtschaft und Forstwirtschaft, Regionen und Wasserwirtschaft



# **Mykorrhiza – Einsatz von Mykorrhizapilzen an in vitro vermehrten Gehölzen**

Wissenschaftliche Tätigkeit Nr. 101646 (BGB 3809)

Projektleitung: DI Dr. Katharina Hristoforoglu

Projektmitarbeiter: Stefan Szalay, Ing. DI Helene Marous, Lydia Kröpfl

Projektlaufzeit: 2021-2023

Wien, 2023

## **Impressum**

Medieninhaber und Herausgeber:  
HBLFA für Gartenbau und Österreichische Bundesgärten  
Grünbergstraße 24, 1130 Wien  
Wien, 2023. Stand: 10. Dezember 2023  
Kontakt: E-Mail: [katharina.hristoforoglu@gartenbau.at](mailto:katharina.hristoforoglu@gartenbau.at)  
Tel.: +43 1 8135950 330

## **Inhalt**

<b>Einleitung.....</b>	<b>6</b>
<b>Versuchsdurchführung .....</b>	<b>7</b>
<b>Ergebnisse.....</b>	<b>8</b>
<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>11</b>
<b>Bilder und Diagramme.....</b>	<b>12</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>17</b>
<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>18</b>

# Einleitung

Von den Gehölzgattungen *Citrus*, *Ficus*, *Juglans*, *Pyrus*, *Sambucus* und *Sorbus* konnten in den vergangenen Jahren wertvolle Arten, Sorten und Selektionen für den Gartenbau sowie die Land- und Forstwirtschaft in vitro etabliert und vermehrt werden. Sowohl Bewurzelung als auch Akklimatisierung erwiesen sich als schwierige Meilensteine. Eine sehr sensible Phase stellt die Überführung der im Reagenzglas bewurzelten, sterilen Pflänzchen auf Ex-vitro-Bedingungen dar. In dieser Phase erfolgt die Umstellung auf das autotrophe Wachstum.

Im vorliegenden Projekt wird untersucht ob Mykorrhizapilze (<https://inoq.de/produkteservice/25.11.2020>) eine Verbesserung bewirken. An in vitro vermehrten Gehölzen soll durch Beimpfung mit Mykorrhizapilzen die Wurzelinduktion, das Wachstums sowie die Akklimatisierungsrate erhöht werden.

Die in der Pflanzenwelt gelebte Wurzel-Pilzsymbiose wird als Mykorrhiza bezeichnet. Mykorrhiza bedeutet „Pilzwurzel“ oder „verpilzte Wurzel“. Mykorrhizierte Pflanzen profitieren von dieser Symbiose durch Austausch von Nährstoffen, Schutz vor Schadstoffen, Erhöhung der Toleranz gegenüber Stressfaktoren sowie Förderung des Pflanzenwachstums. Im Gegenzug versorgt die mykorrhizierte Pflanze den Pilz mit Kohlehydraten, Aminosäuren und Vitaminen (RAPPARINI et al. 1996; SCHULTZ 2001; KAPOOR et al. 2008, LOTFI et al. 2019).

<https://www.mrcascience.org/25.11.2020>

[https://www.baumpflegeportal.de/aktuell/wissenswertes\\_mykorrhiza\\_pilzen/25.11.2020](https://www.baumpflegeportal.de/aktuell/wissenswertes_mykorrhiza_pilzen/25.11.2020)

<https://www.waldwissen.net/de/lebensraum-wald/baeume-und-waldpflanzen/pflanzenoekologie/mykorrhiza/25.11.2020>

# Versuchsdurchführung

Anhand verschiedener Gehölzgattungen aus der In-vitro-Genbank und aktuellen Projekten werden In-vitro-Bewurzelungen durchgeführt. Die Ex-vitro-Beimpfung erfolgt mit Mykorrhizapilzen („hauseigene Mykorrhiza“, INOQ Top, INOQ Forst) bereits vor dem Auftreten von Wurzeln, in der Kallusphase. Erfahrungswerte bei *Sorbus* zeigten auf, dass Mikrospore mit bereits ausgebildeten Wurzeln, in der Akklimatisierung häufiger abstarben, als jene bei denen nur eine Kallusinduktion erfolgte. Die Kultivierung der beimpften Gehölze erfolgt im Akklimatisierungsraum bei 23°C und 16h Licht (Sylvania GroLux), um den Stress der Umstellungsphase von in vitro auf ex vitro zu reduzieren. Nach zufriedenstellendem Wuchsverhalten werden kräftig entwickelte Pflanzen ins Glashaus überstellt. Es wird der Einfluss auf den Bewurzelungserfolg (Bewurzelungsrate, Anzahl induzierter Wurzeln, Bewurzelungsdauer) sowie die Akklimatisierungsrate untersucht.

Mykorrhizaprodukte: „Hauseigene Mykorrhiza“: Aus In-vitro-Bewurzelung bei der Mostbirne gewonnen. INOQ Forst: Ektomykorrhizapilze (*Amanita muscaria*, *Hebeloma crustuliniforme*, *Cenococcum geophilum*, *Pisolithus arhizus*) und Endomykorrhizapilze (*Rhizoglyphus irregulare*, *Funneliformis mosseae*, *Funneliformis caledonius*). INOQ Top: Endomykorrhizapilze (*Rhizoglyphus irregulare*, *Funneliformis mosseae*, *Funneliformis caledonius*).

# Ergebnisse

Bevor das DaFNE –Projekt gestartet wurde, konnten bereits in Vorversuchen erste Erfahrungen mit Mykorrhizapilzen an Pflänzchen aus In-vitro-Kultur gemacht werden. Den Anstoß dazu gab eine spontane Mykorrhizierung im Reagenzglas (Abb. 6). Bei der Bewurzelung der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne' kam es im Reagenzglas an einer Pflanze zur Pilzkontamination. Das ist nichts Außergewöhnliches bei der Kultivierung von Pflanzen im Reagenzglas. Dabei dürfte es sich jedoch um einen Mykorrhizapilz gehandelt haben, da es sehr bald an den Wurzeln zur Ausbildung von Mykorrhiza („Pilzwurzel“ oder „verpilzte Wurzel“) kam.

Mit dieser „hauseigenen Mykorrhiza“ aus dem Labor konnten im Akklimatisierungsraum die ersten Beimpfungsexperimente durchgeführt werden. Über ein Jahr lang wurden sowohl bei der Mostbirne als auch bei der Elsbeere Erfolge in der Bewurzelung und Akklimatisierung erzielt. Danach dürfte das Trägermaterial (Substrat N3 plus Perlite) bereits mit pathogenen Keimen, die leider zum Absterben der Mostbirnen-Pflänzchen führten, kontaminiert gewesen sein. Betrachtet man den Bewurzelungserfolg bei der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne' in Abbildung 1, so zeigte die „hauseigene Mykorrhiza“ im Vorversuch 2020 einen deutlich höheren Prozentanteil von 79% als INOQ Top und INOQ Forst mit 33% und 67% im Versuchsjahr 2021. Interessanterweise konnte im Versuchsjahr 2021 bei der Kontrolle ohne Mykorrhizapilze der höchste Bewurzelungserfolg von 89% erzielt werden. Betrachtet man die Anzahl der Hauptwurzeln pro Pflanze so kam es bei INOQ Forst zu einer höheren Anzahl von 4,5 im Vergleich zur Kontrolle mit 3 (Abb.2). Bei INOQ Top hingegen wurden 1,7 pro Pflanze, deutlich weniger als bei der Kontrolle ausgebildet. Über die Versuchsjahre hinweg beurteilt, kann bei der Mostbirne folgende Aussage getroffen werden: 89 % Bewurzelungserfolg bei der Kontrolle mit durchschnittlich 3 Hauptwurzeln pro Pflanze führte zur Schlussfolgerung, dass bei der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne' keine Beimpfung mit Mykorrhizapilzen notwendig ist. Als am besten geeignete Bewurzelungsmethode erwies sich eine In-vitro-Pulsbehandlung der Mikrosteckling mit IBA. Diese wurden nach Wachstumszunahme, jedoch bereits vorm Auftreten von Wurzeln in Perlite akklimatisiert. Die eigentliche Wurzelbildung erfolgte erst in der Akklimatisierung.

Andere Beobachtungen wurden bei der Elsbeere (*Sorbus torminalis*) gemacht. Die Elsbeere erwies sich sowohl in der Etablierung, Vermehrung, Bewurzelung und Akklimatisierung als äußerst schwierig. Die wenigen Pflanzen die im DaFNE-Projekt 101258 bewurzelt werden konnten, wiesen nur ein bis zwei Wurzeln auf und starben bereits in der Akklimatisierung, im Glashaus oder im Freien (Topfquartier) ab. Erst das Einschalten einer Kühlkultur bewirkte bei der Elsbeere eine Rejuvenilisierung und dadurch bedingt eine deutliche Verbesserung in der In-vitro-Vermehrung. Mit diesem Vermehrungsmaterial konnte ein Beimpfungsversuch gestartet

werden. Betrachtet man die Abbildungen 3 und 7, so konnte bei INOQ Forst ein geringfügig höherer Bewurzelungserfolg von 60% im Vergleich zur Kontrolle mit 56% erzielt werden. Der große Unterschied zeigte sich jedoch in der Ausbildung eines Wurzelballens. Ohne Mykorrhizapilze bildet sich kein Wurzelballen aus, hingegen bei der Beimpfung mit INOQ Forst und INOQ Top zu 40% und 22%. In der Fotodokumentation (Abb.8a-b) sieht man den deutlichen Unterschied zur Kontrolle, in Form eines kompakten Wurzelballens mit Haupt- und Nebenwurzeln. Im Vergleich zur Mostbirne erwies sich auch bei der Elsbeere INOQ Top als weniger erfolgreich mit 33% Bewurzelungserfolg und 22% Wurzelballenausbildung als INOQ Forst. Die Jungpflanzen von Mostbirne und Elsbeere wurden zur Weiterkultivierung an den Auftraggeber (Forschungsaufträge) übergeben. Die Elsbeere ist bereits im Forst ausgepflanzt.

Ein umfassender Versuch mit Weiterkultivierung im Glashaus wurde bei der Citrussorte 'Limonade' (*Citrus meyeri x paradisi*) durchgeführt. Vor vielen Jahren wurden mit dieser Rarität aus der Botanischen Sammlung die ersten In-vitro-Versuche durchgeführt. Die Akklimatisierung in einem Torfsubstrat erwies sich im Vergleich zur Persischen Limette (*Citrus latifolia*) als äußerst schwierig. Beim Beimpfungsversuch wurde daher nur Perlite ohne Beimischung von Torf, etc. verwendet. Dies führte zu einem 98 %igem Akklimatisierungserfolg bei den 4 Subklonen. Im Gegensatz zur Elsbeere und Mostbirne erfolgte die Ausbildung von Wurzeln bereits in vitro. Bei *Citrus* findet zuerst die Wurzelinduktion, danach über mehrere Monate hinweg die Sprossstreckung statt. Aufgrund der festen, kompakten Wurzeln, kommt es bei der Akklimatisierung kaum zur Verletzung dieser. Im Beimpfungsversuch konnten deutliche Unterschiede zwischen der Kontrollbehandlung und INOQ Top und INOQ Forst erzielt werden. In der Anzahl der Hauptwurzeln konnten bei der Kontrolle weniger oder geringfügig mehr (Subklon 21) induziert werden (Abb.4, Abb.10a-c). In der Anzahl der Seitenwurzeln wurden bei der Kontrolle bei allen 4 Subklonen weniger Wurzeln ausgebildet. Die Wuchshöhe der Kontrollen war zum Bonitierungszeitpunkt 11.11.2021 - während der Kultivierung im Akklimatisierungsraum – im Gegensatz zu den Versuchsvarianten geringer, die Blätter gelblich (Abb.5, Abb.9a-b). Im Vergleich zu Mostbirne und Elsbeere zeigten sowohl INOQ Top als auch INOQ Forst zufriedenstellende Ergebnisse. Am 11.11.21 wurde Neuhaus 3 (N3) untergemischt.

Bei der Glashaus-Bonitur am 07.03.2022 zeigte die Kontrolle, mit Ausnahme vom Subklon 21 noch immer ein geringeres Wachstum (Abb.5). Erst bei der Bonitur am 02.11.2022 hatte die Kontrolle stark aufgeholt und INOQ Forst und INOQ Top deutlich überholt. Maximale Wuchshöhen: Kontrolle, Subklon 1 mit 28 cm, INOQ Top, Subklon 19 mit 27,25 cm und INOQ Forst, Subklon 19 mit 27 cm. Interessanterweise kam es bei INOQ Top und INOQ Forst nach dem Umtopfen im Glashaus im Gegensatz zur Kontrolle zu keiner Durchwurzelung des gesamten Topfvolumens. Es könnte darauf zurückzuführen sein, dass die höhere Nährstoffversorgung zur Hemmung der Mykorrhizapilze geführt hat. Gesamt betrachtet war die Überführung in Perlite, ohne Substratbeimischung ein wichtiger Schritt um die Akklimatisierungsphase bei *Citrus meyeri x paradisi* zu erleichtern. Die Beimpfung mit Mykorrhizapilzen bewirkte eine deutliche

Zunahme in der Anzahl der Haupt- und Nebenwurzeln, einen kompakten, kräftigen Habitus und die Ausbildung grüner Blätter.

Ein Mykorrhizierungsversuch mit *Juglans regia* aus dem DaFNE Projekt 101501 ergab keinen Unterschied zur Kontrolle. Weder bei der Kontrolle noch auf INOQ Top und INOQ Forst konnte im Akklimatisierungsraum eine Wurzelbildung induziert werden. Als Vorbehandlung wurden die Mikrosprosse 5 Wochen auf einen Bewurzelungsnährboden mit IBA und Aktivkohle kultiviert.

# Zusammenfassung

Bevor das DaFNE –Projekt gestartet wurde, konnten bereits in Vorversuchen erste Erfahrungen mit Mykorrhizapilzen an Pflänzchen aus In-vitro-Kultur gemacht werden. Den Anstoß dazu gab eine spontane Mykorrhizierung im Reagenzglas. Über die Versuchsjahre hinweg beurteilt, kann bei der Mostbirne folgende Aussage getroffen werden: 89 % Bewurzelungserfolg bei der Kontrolle mit durchschnittlich 3 Hauptwurzeln pro Pflanze führte zur Schlussfolgerung, dass bei der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne' keine Beimpfung mit Mykorrhizapilzen notwendig ist. Als am besten geeignete Bewurzelungsmethode erwies sich eine In-vitro-Pulsbehandlung der Mikrosteckling mit IBA. Diese wurden nach Wachstumszunahme, jedoch bereits vorm Auftreten von Wurzeln in Perlite akklimatisiert. Die eigentliche Wurzelbildung erfolgte erst in der Akklimatisierung. Andere Beobachtungen wurden bei der Elsbeere (*Sorbus torminalis*) gemacht, die sich sowohl in der In-vitro-Kultur als auch Akklimatisierung als äußerst schwierig erwies. Nach der Beimpfung zeigte sich der große Unterschied zur Kontrolle in der Ausbildung eines Wurzelballens. Ohne Mykorrhizapilze bildet sich kein Wurzelballen aus, hingegen bei der Beimpfung mit INOQ Forst und INOQ Top zu 40% und 22%. Ein umfassender Beimpfungsversuch mit Weiterkultivierung im Glashaus wurde bei der Citrussorte 'Limonade' (*Citrus meyeri x paradisi*) durchgeführt. Im Gegensatz zur Elsbeere und Mostbirne erfolgte die Ausbildung von Wurzeln bereits in vitro. Nach der Beimpfung konnten deutliche Unterschiede zwischen der Kontrollbehandlung und INOQ Top und INOQ Forst erzielt werden. In der Anzahl der Hauptwurzeln konnten bei der Kontrolle weniger oder geringfügig mehr (Subklon 21) induziert werden. In der Anzahl der Seitenwurzeln wurden bei der Kontrolle bei allen 4 Subklonen weniger Wurzeln als bei INOQ Forst und INOQ Top ausgebildet. Die Wuchshöhe der Kontrollen war zum Bonitierungszeitpunkt 11.11.2021 - während der Kultivierung im Akklimatisierungsraum – im Vergleich zu den Versuchsvarianten geringer, die Blätter gelblich.

# Bilder und Diagramme

Abbildung 1: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf den Bewurzelungserfolg (%) bei der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne'. Kontrolle im Vergleich zu „hauseigener Mykorrhiza“, INOQ Top und INOQ Forst.

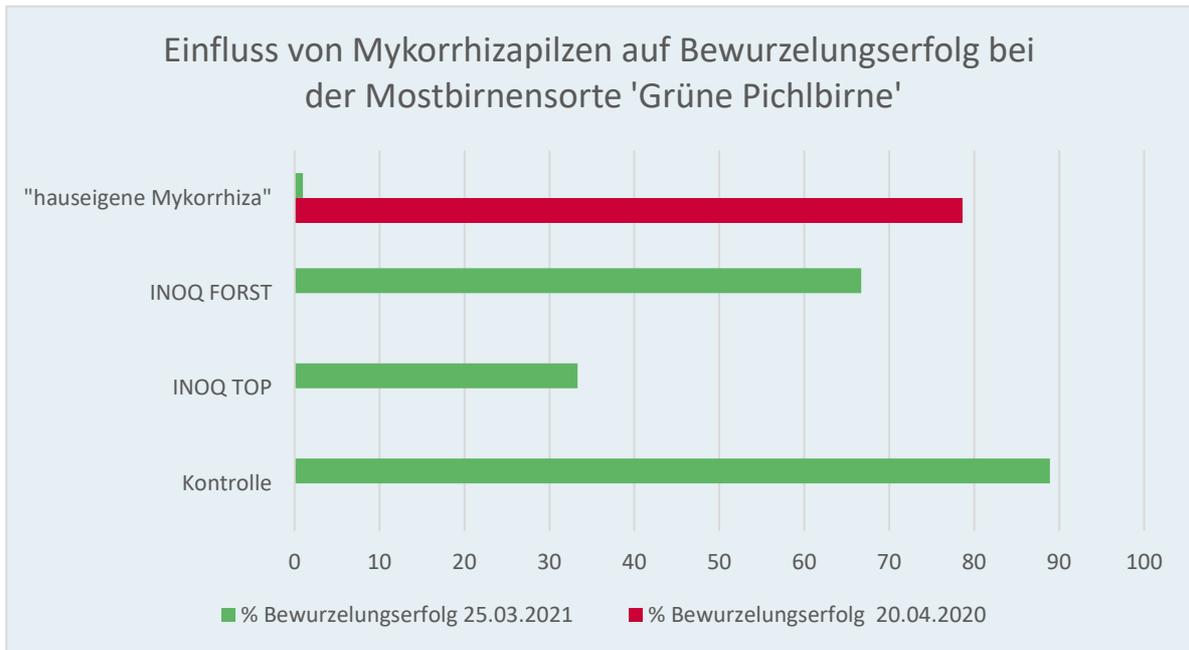


Abbildung 2: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf die Hauptwurzelanzahl bei der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne'.

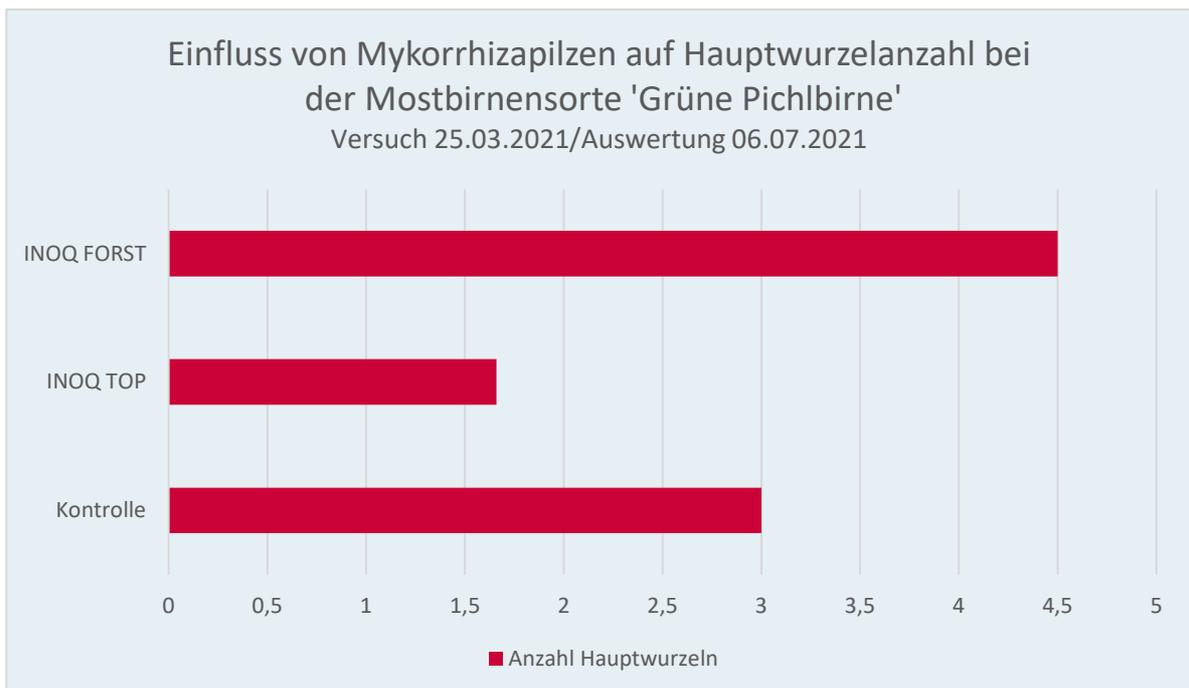


Abbildung 3: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf den Bewurzelungserfolg (%) und Ausbildung von Wurzelballen (%) bei *Sorbus torminalis*. Kontrolle im Vergleich zu INOQ Top und INOQ Forst.

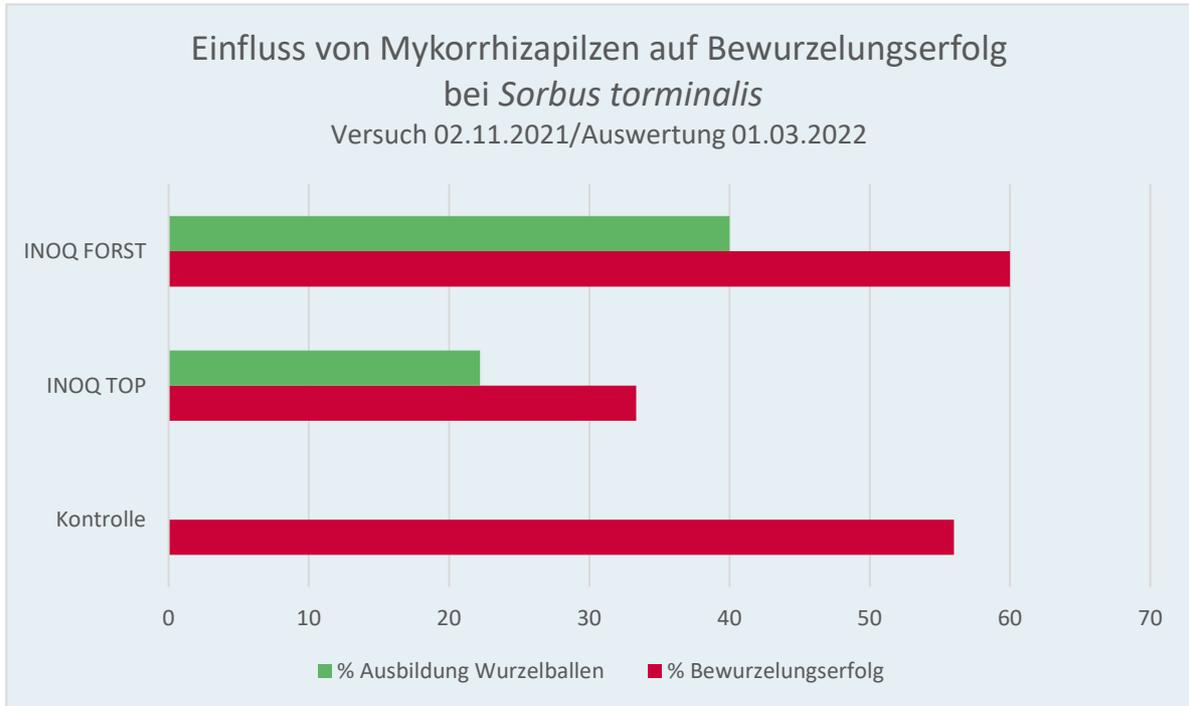


Abbildung 4: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf die Anzahl der Haupt- und Nebenwurzeln bei *Citrus meyeri x paradisi* 'Limonade'. Kontrolle im Vergleich zu INOQ Top und INOQ Forst.

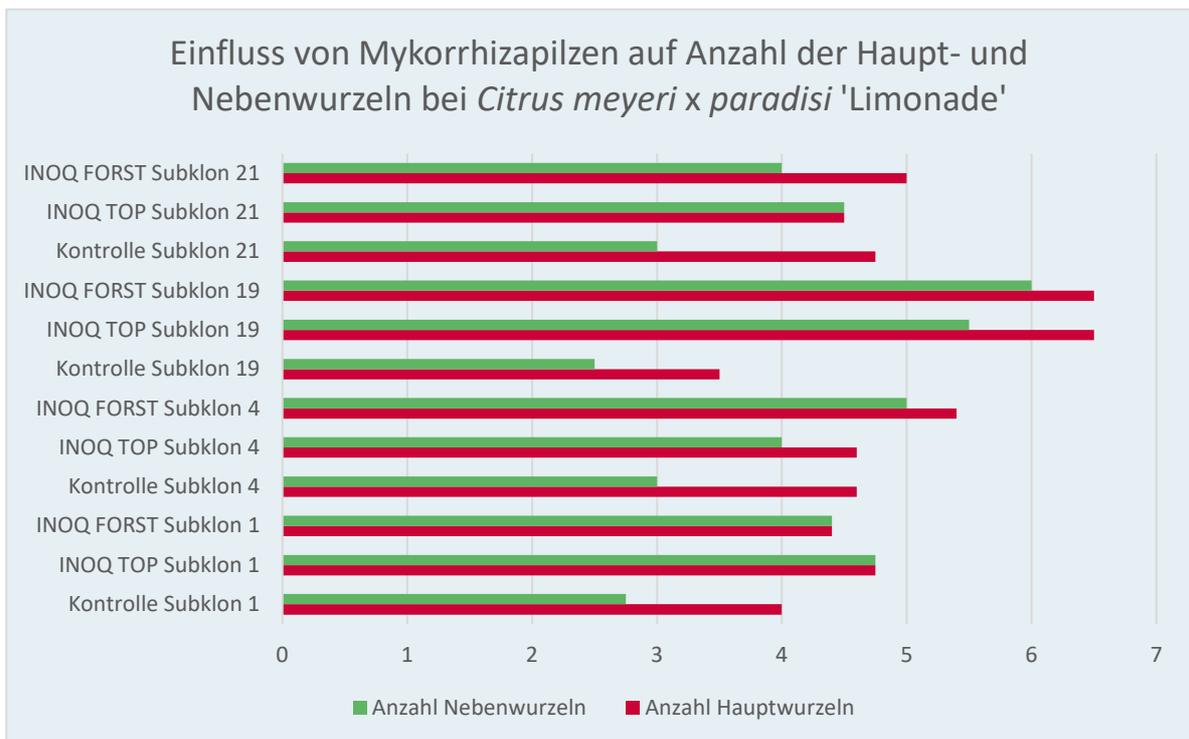


Abbildung 5: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf das Wachstum von *Citrus meyeri x paradisi* 'Limonade' nach Glashaustransfer.

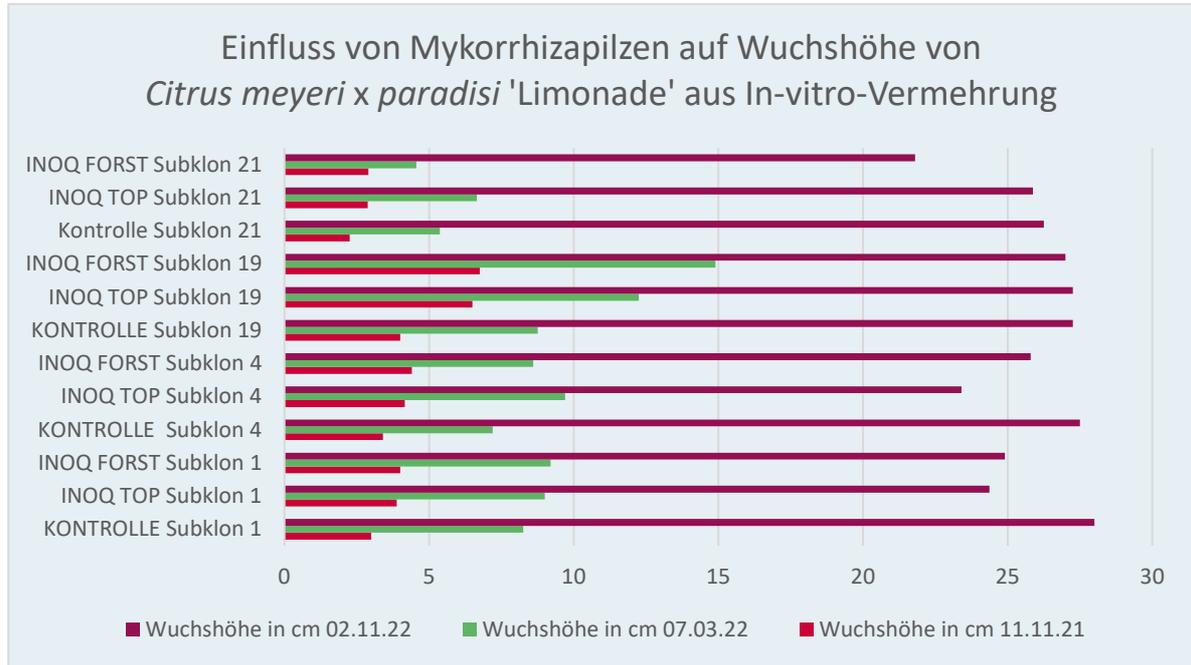


Abbildung 6: Wurzel-Pilzsymbiose in vitro nach Pilzkontamination bei der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne'. An der Nährbodenoberfläche (rot markierter Bereich) Pilzmycel, im Nährboden Wurzeln mit und ohne Mykorrhizapilz (=“hauseigene Mykorrhiza“).



Abbildung 7: Jungpflanzen der *Sorbus torminalis* Selektion 34079/2 nach Beimpfung mit dem Produkt INOQ Forst.



Abbildung 8a-b: a) Kontrollpflanze der *Sorbus torminalis* Selektion 34079/2 mit einer Hauptwurzel, ohne Ausbildung eines Wurzelballens b) Sehr gute Durchwurzelung mit Ausbildung eines Wurzelballens nach Beimpfung mit dem Mykorrhizaprodukt INOQ Forst.



Abbildung 9a-b: a) Akklimatisierte Jungpflanzen von *Citrus meyeri* x *paradisi* 'Limonade' aus In-vitro-Bewurzelung ohne Beimpfung b) Beimpfung mit dem Produkt INOQ Forst.

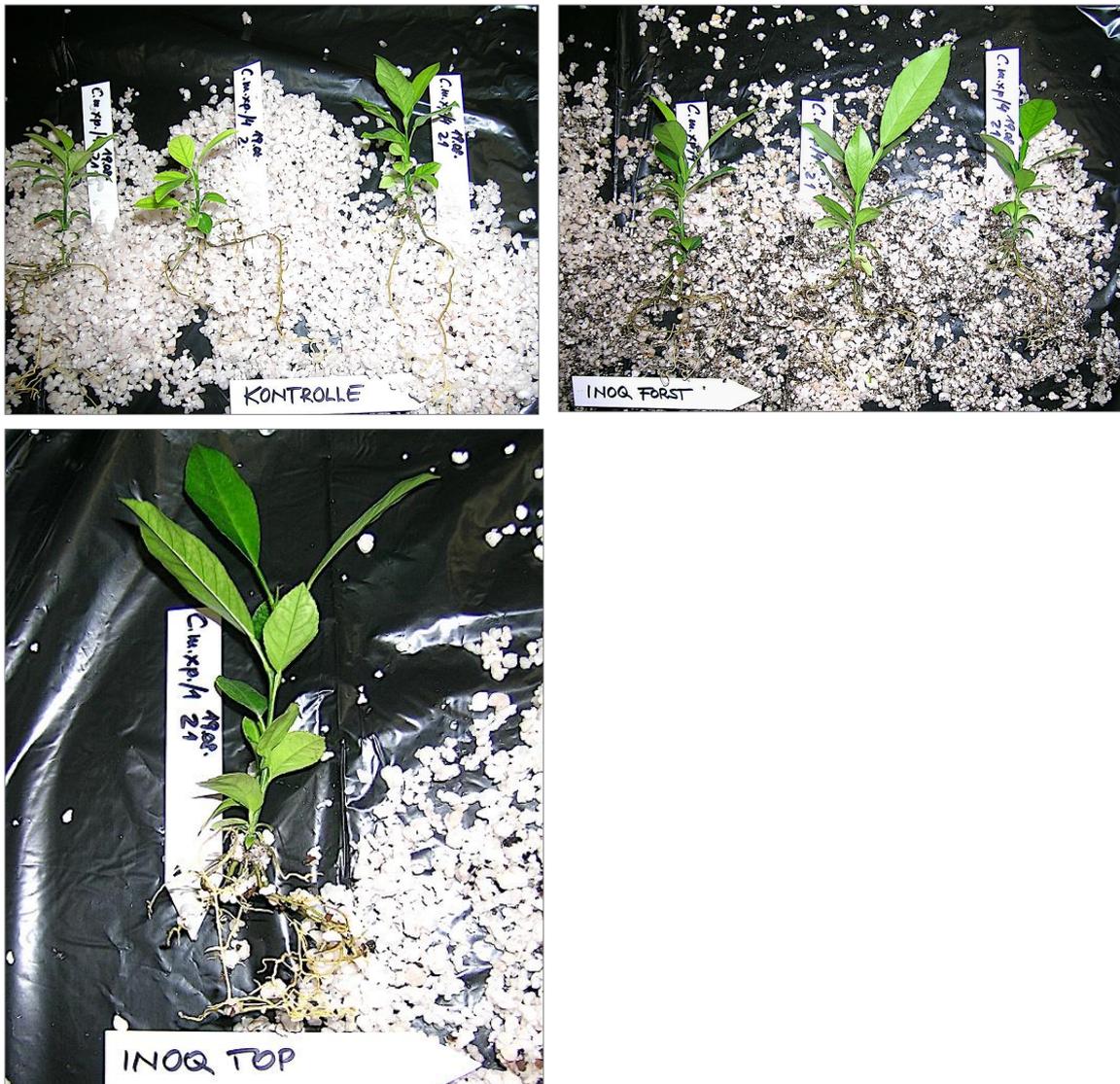


Abbildung 10a-c: Wurzelentwicklung mit Haupt- und Nebenwurzeln bei *Citrus meyeri* x *paradisi* 'Limonade'. a) Kontrolle b) INOQ Forst c) INOQ Top.

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf den Bewurzelungserfolg (%) bei der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne'. Kontrolle im Vergleich zu „hauseigener Mykorrhiza“, INOQ Top und INOQ Forst.	12
Abbildung 2: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf die Hauptwurzelanzahl bei der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne'.	12
Abbildung 3: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf den Bewurzelungserfolg (%) und Ausbildung von Wurzelballen (%) bei <i>Sorbus torminalis</i> . Kontrolle im Vergleich zu INOQ Top und INOQ Forst.	13
Abbildung 4: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf die Anzahl der Haupt- und Nebenwurzeln bei <i>Citrus meyeri x paradisi</i> 'Limonade'. Kontrolle im Vergleich zu INOQ Top und INOQ Forst.	13
Abbildung 5: Auswirkung von Mykorrhizapilzen auf das Wachstum von <i>Citrus meyeri x paradisi</i> 'Limonade' nach Glashaustransfer.	14
Abbildung 6: Wurzel-Pilzsymbiose in vitro nach Pilzkontamination bei der Mostbirnensorte 'Grüne Pichlbirne'. An der Nährbodenoberfläche (rot markierter Bereich) Pilzmycel, im Nährboden Wurzeln mit und ohne Mykorrhizapilz (=„hauseigene Mykorrhiza“).	14
Abbildung 7: Jungpflanzen der <i>Sorbus torminalis</i> Selektion 34079/2 nach Beimpfung mit dem Produkt INOQ Forst.	15
Abbildung 8a-b: a) Kontrollpflanze der <i>Sorbus torminalis</i> Selektion 34079/2 mit einer Hauptwurzel, ohne Ausbildung eines Wurzelballens b) Sehr gute Durchwurzelung mit Ausbildung eines Wurzelballens nach Beimpfung mit dem Mykorrhizaprodukt INOQ Forst.	15
Abbildung 9a-b: a) Akklimatisierte Jungpflanzen von <i>Citrus meyeri x paradisi</i> 'Limonade' aus In-vitro-Bewurzelung ohne Beimpfung b) Beimpfung mit dem Produkt INOQ Forst.	16
Abbildung 10a-c: Wurzelentwicklung mit Haupt- und Nebenwurzeln bei <i>Citrus meyeri x paradisi</i> 'Limonade'. a) Kontrolle b) INOQ Forst c) INOQ Top.	16

# Literaturverzeichnis

KAPOOR, R., SHARMA, D., BHATMAGAR, A.K., 2008: Arbuscular mycorrhizae in micro propagation systems and their potential applications. *Sci Hort* 117:227-239

LOTFI, M., FERNANDEZ, K., VERMEIR, P., MESSAOUD, M., WERBROUCK, S., 2019: In vitro mycorrhization of pear (*Pyrus communis*). *Mycorrhiza* 29:607-614

RAPPARINI, F., BARALDI, R., BERTAZZA, G., 1996: Growth and carbohydrate status of *Pyrus communis* L plantlets inoculated with *Glomus* sp. *Agronomie, EDP Sciences* 16(10):653-661. Hal-00885764

SCHULTZ, C., 2001: Effect of (vesicular-) arbuscular mycorrhiza on survival and post vitro development of micro propagated oil palms (*Elaeis guineensis* Jacq.). Dissertation der Georg-August-Universität Göttingen. 160 Seiten

<https://inoq.de/produkte-service/25.11.2020>

<https://www.mrca-science.org/25.11.2020>

[https://www.baumpflegeportal.de/aktuell/wissenswertes\\_mykorrhiza\\_pilzen/25.11.2020](https://www.baumpflegeportal.de/aktuell/wissenswertes_mykorrhiza_pilzen/25.11.2020)

<https://www.waldwissen.net/de/lebensraum-wald/baeume-und-waldpflanzen/pflanzenoekologie/mykorrhiza/25.11.2020>