

Schlussbericht

zum Verbundvorhaben

Thema: **Züchtung und Massenvermehrung von Torfmoosen zur industriellen Produktion eines nachwachsenden Substratausgangsstoffes für den Gartenbau (MOOSzucht)**



Zuwendungsempfänger:

Teilvorhaben 1: Universität Greifswald

Teilvorhaben 2: Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Teilvorhaben 3: Karlsruher Institut für Technologie – KIT

Teilvorhaben 4: Niedersächsische Rasenkulturen NIRA GmbH & Co. KG

Förderkennzeichen:

Teilvorhaben 1: 22024915

Teilvorhaben 2: 22007216

Teilvorhaben 3: 22007316

Teilvorhaben 4: 22007416

Laufzeit:

15.05.2017 – 31.12.2021

Monat der Erstellung:

04/2022

Gefördert durch:

Datum der Veröffentlichung:

18.01.2023



**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.

Bearbeiter*innen bei den einzelnen Partnern

Universität Greifswald

Anja Prager
Matthias Krebs
Mira Kohl
Paul Lamkowski
Dr. Greta Gaudig
Prof. Dr. Martin Schnittler
Prof. Dr. Dr. h.c. Hans Joosten

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Melanie Heck
Volker Lüth
Dr. Eva Decker
Prof. Dr. Ralf Reski

Karlsruher Institut für Technologie – KIT

Ingrida Melková
Prof. Dr. Clemens Posten

Niedersächsische Rasenkulturen NIRA GmbH & Co. KG

Mira Schäfer
Hendrikje Schreiter
Dr. Christian Schade

Zitiervorschlag:

Prager, A., Decker, E., Heck, M., Joosten, H., Kohl, M., Krebs, M., Lamkowski, P., Lüth, V., Melková, I., Posten, C., Reski, R., Schade, C., Schäfer, M., Schnittler, M., Schreiter, H. & Gaudig, G. (2023) Züchtung und Massenvermehrung von Torfmoosen zur industriellen Produktion eines nachwachsenden Substratausgangsstoffes für den Gartenbau (MOOSzucht), Abschlussbericht des Verbundprojektes. 64 S.

Inhaltsverzeichnis

I. Ziele	4
I.1. Aufgabenstellung.....	5
I.2. Stand der Technik.....	11
I.3 Zusammenarbeit mit anderen Stellen.....	13
II. Ergebnisse	15
1. Erzielte Ergebnisse	15
AP 1 Sammlung, Charakterisierung und Selektion von Torfmoos-Wildformen.....	15
AP 2 Smart breeding und axenische Inkulturnahme.....	28
AP 3 Etablierung und Optimierung der Kulturparameter für die Vermehrung in axenischer <i>In vitro</i> -Bioreaktorkultur	32
AP 4 Entwicklung eines <i>Trickle bed</i> -Bioreaktors zur großskaligen Massenvermehrung von Torfmoos	34
AP 5 Vermehrung und Reifung in nicht-axenischer Kultur.....	38
AP 6 Feldtest für Torfmoos-Saatgut	46
AP 7 Koordination des Verbundes und Öffentlichkeitsarbeit	50
Zusammenfassung & Ausblick: Erfolgreiche Selektionszüchtung und effizientes Saatgut-Produktionsverfahren	51
2. Erkenntnisse von Dritten	53
3. Veröffentlichungen	54
ANHANG	55
Teilvorhaben 1 Selektion hochproduktiver Wild-Provenienzen, Saatgut-Produktion im Gewächshaus, Feldtest gezüchteter und massenvermehrter Torfmoose (Universität Greifswald)	55
Teilvorhaben 2 Etablierung der <i>In vitro</i> -Kultivierung unter sterilen Bedingungen und Produktivitätssteigerung durch Smart <i>Sphagnum</i> Breeding (Universität Freiburg)	57
Teilvorhaben 3 Prozessoptimierung für das Wachstum von Torfmoosen im Labor, Entwicklung und Bau eines <i>Trickle bed</i> -Reaktors zur großskaligen Massen-Produktion (KIT)	59
Teilvorhaben 4 Weiterentwicklung der Torfmooskultur im Schattenhaus und im Freiland durch Optimierung der Bewässerung, der Beleuchtung und Nährstoffversorgung (NIRA)	60

I. Ziele

Torfmoos-Biomasse ist ein hervorragender Torfersatz. Die Produktion in Paludikultur, also auf nassen (Hoch)Moorflächen, ist möglich und wurde großflächig erfolgreich getestet und erforscht. Um die Erträge zu maximieren, wurden im Verbundvorhaben MOOSzucht Torfmoos-Sippen (*Sphagnum* L.) züchterisch bearbeitet und hochproduktive Provenienzen selektiert. Für die Einrichtung neuer Torfmoos-Paludikulturflächen bzw. Neuansaat nach einer Kompletternte, ist Torfmoos-„Saatgut“ (hier: vitale, vegetative Pflanzenteile von Torfmoosen) notwendig. Torfmoose sind jedoch geschützte Arten, Saatgut steht nicht zur Verfügung. Deshalb umfasste der zweite Schwerpunkt im Verbundvorhaben MOOSzucht die Entwicklung eines innovativen Verfahrens zur massenhaften Saatgut-Produktion.

Zentrale Arbeitsziele im Verbundvorhaben MOOSzucht waren:

- Sammeln eines weiten Spektrums an Arten und Provenienzen (Europa) von Torfmoos-Wildformen,
- Aufbau eines Mutterpflanzenquartiers aus den gesammelten Torfmoosen,
- Screening der gesammelten Wildformen auf Produktivität in Abhängigkeit verschiedener Standortbedingungen (Wasserstand und Nährstoffverhältnisse in semikontrollierten Bedingungen im Mesokosmenversuch und unter vollkontrollierten Bedingungen im Klimaschrank); Selektion der produktivsten Sippen anhand von Trockenmassezuwachs; Identifikation jeweils geeigneter Sippen für weitere Kultivierung und züchterische Bearbeitung; Validierung der Ergebnisse für Produktivität, Entwicklung eines nicht-destruktiven Verfahrens zur Produktivitätsbestimmung,
- Beschreibung von Phänotyp (Wuchsform, Zuwachsmengen, morphologische Merkmale) und Genotyp (Ploidiegrad, Genotypisierung) der produktivsten Torfmoos-Wildformen; Klärung der Merkmalsverteilung bei *Sphagnum medium* & *S. divinum* (innderhalb *S. magellanicum sensu lato*¹);
- In-Kulturnahme der produktivsten Sippen unter axenischen Bedingungen und Etablierung als Kultivar (Start Domestikation),
- Anlegen von axenischen Kulturen aus Torfmoos-Gewebe (selektierte, produktivste Torfmoos-Individuen (vorvermehrt); Reaktionsnormbestimmung der Klone im Klimaschrank,
- Züchterische Bearbeitung (Polyploidisierung) der hinsichtlich Produktivität selektierter Kultivare zur weiteren Steigerung der Produktivität,
- Entwicklung von effizienten Techniken zur Massenvermehrung der hochproduktiven Kultivare zur Ableitung eines Saatgut-Produktionsverfahrens,
- Reifung und Abhärtung (*Hardening*) des Saatgutes in Zwischenkultur gekoppelt an Verfahrensentwicklung,
- Prüfung der Eignung des produzierten Saatgutes im Feldanbau und Kulturoptimierung,
- Etablierung von Torfmoos als neue landwirtschaftliche Kulturpflanze.

¹ Hassel *et al.* (2018) folgend, ist das Vorkommen von *S. magellanicum* ausschließlich auf Feuerland (Chile) beschränkt. Bei Vorkommen außerhalb Feuerlands handelt es sich demnach um *S. medium* oder *S. divinum*. Da die Zuordnung der in MOOSzucht gesammelten Proben morphologisch nicht immer eindeutig möglich war (v.a. nicht nach Kultur unter gleichen Bedingungen), wird vorläufig „*S. magellanicum sensu lato*.“ als Bezeichnung im Projektkontext genutzt

I.1. Aufgabenstellung

Um Torfmoos-Saatgut massenhaft herstellen zu können, wurde im Verbundvorhaben MOOSzucht neben der axenischen Vermehrung von generativem Ausgangsmaterial (aus Torfmoos-Sporen) auch eine Methode zur axenischen Vermehrung von vegetativem Ausgangsmaterial in Bioreaktoren entwickelt – ein technologischer Durchbruch. Die weitere technische Skalierung dieses kleinmaßstäbigen Bioreaktors wurde unter der Prämisse der technischen Einfachheit, der geringen Kosten und der Ressourcen-Effizienz an Pilotreaktoren mit unterschiedlichen primären Wirkprinzipien erprobt.

Zur Ertragssteigerung wurden im Verbundvorhaben MOOSzucht anhand von 476 in Europa gesammelten Torfmoosproben (12 *Sphagnum*-Arten, 31 Provenienzen) die wüchsigsten Torfmoos-Mikroprovenienzen je *Sphagnum*-Art bestimmt und im Feldversuch unter den Bedingungen in Niedersachsen (Hankhauser Moor) kultiviert. Für einzelne *Sphagnum*-Arten konnte eine um durchschnittlich ca. 30 % höhere Biomasseproduktivität im Vergleich zu den bisher verwendeten Torfmoosen erreicht werden, was die Erwartungen überstieg, für andere Arten wurden teilweise erstmals Daten erhoben. Die Ergebnisse zeigen, dass durch Selektion substantiell höhere Produktivitäten erreicht werden können. Dahingegen war Smart *Sphagnum* breeding durch Protoplastenfusion und Ausbildung von Gametophoren zu langwierig und wurde als Züchtungsmethode nicht weiterverfolgt.

Tabelle 1 fasst die Ziele und Ergebnisse im Verbundvorhaben MOOSzucht für alle Teilvorhaben und Arbeitspakete zusammen.

Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Projekt wurde weitgehend wie geplant durchgeführt. Im Verbundvorhaben MOOSzucht wurden sieben Arbeitspakete bearbeitet. Die APs 3 und 5 wurden von zwei Verbundpartnern zusammen bearbeitet; die meisten Arbeitsschritte bauten partnerübergreifend aufeinander auf. Aufgrund von Verzögerungen waren über die Projektlaufzeit hinweg mehrere Aktualisierungen des Zeitplanes sowie kleinere inhaltliche Änderungen gegenüber dem Antrag erforderlich. Die Aufstockung um ein Jahr ermöglichte eine Vertiefung verschiedener Projekthinhalte.

Tab. 1. Übersicht über Ziele und Ergebnisse der einzelnen Arbeitspakete in der MOOSzucht-Kernlaufzeit und im Aufstockungszeitraum. Ergebnisse: (+) = Ziel erreicht, (-) = Ziel nicht erreicht.

	Arbeitspaket	Ziele in MOOSzucht	Ergebnisse in MOOSzucht
AP 1	Sammlung, Charakterisierung und Selektion von Torfmoos-Wildformen + Produktivitätsvergleich und Selektion von Torfmoosmikroprovenienzen		
1.1	Etablierung und Erhalt eines Torfmoos-Mutterpflanzenquartiers	Sammlung von Mikroprovenienzen von 12 <i>Sphagnum</i> -Arten in Mooren Europas	(+) Kultivierung von 476 Mikroprovenienzen und 6 Klone im Mutterpflanzenquartier
1.2	Selektion hochproduktiver Mikroprovenienzen pro Art	Selektion in mehreren Schritten und Ebenen (Topf, Individuum) als Vorbereitung für den Feldtest	(+) 1. Selektionsschritt: Identifizierung der 15 produktivsten Mikroprovenienzen pro Zielart im Mutterpflanzenquartier anhand des Zuwachses an Rasenhöhe (+) 2. Selektionsschritt: Identifizierung der 2-3 produktivsten Mikroprovenienzen pro Zielart im Klimaschrankversuch anhand des Biomassezuwachses
1.3	Genetische Charakterisierung hochproduktiver Klone	Charakterisierung nach 1) Ploidiegrad und 2) Multilokus-Genotyp aus Mikrosatelliten-Assay; Prüfung des Materials auf genetische Uniformität; Klärung der Merkmalsverteilung bei <i>S. medium</i> & <i>S. divinum</i>	(+) 180 Mikroprovenienzen genotypisiert (je 3 Individuen) (+) Bestimmung des Ploidiegrades (+) Merkmalsbestimmung bei <i>Sphagnum medium</i> & <i>S. divinum</i> abgeschlossen
1.4	Produktion von Ausgangsmaterial für axenische Inkulturnahme	Produktion von Ausgangsmaterial für APs 2-4	(+) Lieferung von Ausgangsmaterial für APs 2-4 (+) Vermehrung produktivster Torfmoosindividuen zur axenischen Inkulturnahme in AP 3 abgeschlossen
1.5	Bestimmung der Reaktionsnorm einzelner Klone von 6 Arten für unterschiedliche Nährstoffkonzentrationen	Ermittlung des Nährstoffoptimums bei verschiedenen Torfmoosarten	(+) Nährstoffoptimum liegt nicht in der verfügbaren Menge an N, P u. K sondern das Verhältnis dieser Nährstoffe zueinander → bei gleichbleibendem NPK-Verhältnis bleibt der Biomassezuwachs gleich (bis 60 kg N ha ⁻¹ a ⁻¹)
1.6	Methodenentwicklung für die Bestimmung von Biomasse	Weiterentwicklung/Etablierung einer nicht-destruktiven Methode zur Bestimmung der Produktivität von Torfmoosindividuen	(+) Untersuchungen zur Etablierung einer nicht-destruktiven Methode zur Produktivitätsbestimmung weitergeführt (-) eine nicht-destruktive Methode zur Produktivitätsbestimmung nicht abschließend etabliert

1.7	Feldtest selektierter Torfmoos-Mikroprovenienzen	Verifizierung der im Klimaschrankversuch ermittelten Produktivität sowie zwischen- und innerartlicher Vergleich der Produktivität in Abhängigkeit von Wasserstand und Nährstoffsituation)	(+) durch Selektion wurde eine bis zu 30 % höhere Produktivität im Vergleich zu den bisher in Paludikultur angebauten Torfmoosen erreicht (+) schnellste Etablierung der Torfmoosrasen und höchste Produktivitäten bei konstant hohen Wasserständen nah unter Torfmoosoberfläche und hoher Phosphor-Verfügbarkeit bei nicht ausbalanciertem NPK-Verhältnis unter Feldbedingungen (+) produktivste Mikroprovenienzen von <i>S. palustre</i> und <i>S. fallax</i> im Mutterpflanzen-quartier (1. Selektion) unter Feldbedingungen bestätigt
AP 2	Smart Sphagnum Breeding neuer Torfmoos-Kultivare + Etablierung axenischer <i>In vitro</i>-Torfmoos-Kultivare aus vegetativem Torfmoosmaterial		
2.1	Etablierung der <i>In vitro</i> -Kultur aus Sporen	Beschleunigte Vermehrung von artenreinem Saatgut in axenischen <i>In vitro</i> -Kulturen	(+) Verfahren für Züchten aus Sporen unter axenischen Bedingungen (+) 19 Torfmoos-Arten aus Sporen generiert, Bestimmung des produktivsten Klons (+) DNA-Barcoding mit BRK1 zur Unterscheidung des produktivsten Klons der 19 Torfmoos-Arten
2.2	Etablierung der <i>In vitro</i> -Kultur aus vegetativem Torfmoosmaterial	Dekontamination von vegetativem Material aus besonders ertragreichen Mikroprovenienzen	(+) Dekontamination von vegetativem Material etabliert für die produktivste Mikroprovenienz der 12 Torfmoosarten
2.3	Polyploidisierung mittels Protoplastentransfer	zusätzliche Ertragssteigerung durch Polyploidisierung produktiver haploider Arten	(+) hohe Regenerationsraten für <i>S. papillosum</i> -Protoplasten (-) für <i>S. palustre</i> nicht möglich (+) Fusion von Protoplasten möglich (-) effiziente Identifizierung fusionierter Protoplasten nicht möglich, da sich etablierte Verfahren zur Nachverfolgung von ausgewählten Zellen aufgrund der langen Regenerationszeit der Protoplasten nicht eignen.
AP 3	Etablierung und Optimierung der Kulturparameter für die Vermehrung in axenischer <i>In vitro</i>-Bioreaktorkultur + Vermehrung in axenischer Photobioreaktorkultur		
3.1	Kulturoptimierung: Medium und Beleuchtung	Optimierung der Wachstumsbedingungen für <i>In vitro</i> -Kultivierung von 6 Torfmoosarten	(+) optimierte Medienzusammensetzung für <i>S. palustre</i> , <i>S. fallax</i> , <i>S. squarrosus</i> , <i>S. papillosum</i> , <i>S. fuscum</i> und <i>S. centrale</i> (+) Lichteinfluss und CO ₂ -Einfluss auf das schnellstmögliche Wachstum von <i>S. palustre</i> angepasst
3.2	Etablierung der Photobioreaktorkultur	Etablierung von Photobioreaktorprozessen für 3 Torfmoos-Arten	(+) Kultivierung im Photobioreaktor und Optimierung des Prozesses mit 25x Biomassezunahme für <i>S. squarrosus</i> , 40x für <i>S. palustre</i> und 50x für <i>S. fuscum</i> innerhalb von 24 Tagen
3.3	Produktion für kontinuierliche Ausbringung	Materialproduktion zur Bestimmung von geeigneten Ausbringzeiten (AP 6)	(+) Produktion in Blasensäulenreaktoren liefert für Torfmoos-Anbau im Feld sehr gut geeignetes „Saat“-Material (homogen, artenrein, beikrautfrei, mit vielen Innovationen)
AP 4	(Weiter)Entwicklung eines <i>Trickle bed</i>-Bioreaktors zur großskaligen Massenvermehrung von Torfmoos		
4.1	Reaktorentwicklung: Tricklebed-Reaktor Prototyp	Entwicklung eines Scale-Down-Prototyps	(+) 1,5 L Scale-Down-Ansatz des <i>Trickle bed</i> -Photobioreaktor aus hitzebeständigem, bioverträglichem, lichtdurchlässigem Polycarbonat zur axenischen Kultivierung entwickelt und in Betrieb genommen

		Entwicklung eines Scale-up-Prototyps	(-) Versprühen des Kulturmediums wirkte sich negativ auf das Torfmooswachstum → Reaktor ohne Düse betrieben → neue Bezeichnung des Reaktortyps: Moosbettreaktor (+) 125 L <i>Trickle bed</i> -Photobioreaktor aus kostengünstigem Material (Plexiglas) zur Torfmooskultivierung mit Hochskalierungspotenzial im Labormaßstab entwickelt (-) der Reaktor konnte aufgrund von nicht behebbarem Problem mit der Reaktorwand nicht zur Kultivierung verwendet werden
4.2	Massenvermehrung von drei <i>Sphagnum</i> -Kultivaren für industriellen Maßstab	Etablierung von Photobioreaktorprozessen für 3 Torfmoos-Arten	(+) Etablierung des Prozesses im 1,5 L Moosbettreaktor und Kultivierung von <i>S. palustre</i> , <i>S. rubellum</i> und <i>S. fimbriatum</i> mit Rasenhöhezunahme für <i>S. palustre</i> 0,18 cm d ⁻¹ , <i>S. rubellum</i> 0,09 cm d ⁻¹ , <i>S. fimbriatum</i> 0,20 cm d ⁻¹ (+) Torfmooswachstum: lockeres Moospolster (+) Morphologie der Pflanze: ausdifferenzierte Moospflanzen, mehrfach verzweigt, an der Spitze des Stämmchens kleine Capitula (Ø 5 mm)
4.3	Entwicklung eines submersen Photobioreaktors	Kultivierung von einer <i>Sphagnum</i> -Art im Schlauchreaktor; Kultivierung in einem <i>Wave bag</i> -Photobioreaktor	(+) 60 L Schlauchreaktor mit Kühlungssystem zur Aufrechterhaltung der konstanten Kultivierungstemperatur entwickelt (+) Etablierung des Prozesses in 55 L Arbeitsvolumen und mit einer geringen auf das Kulturmedium bezogene Produktivität von 20 mg (TM) L ⁻¹ d ⁻¹ ; 430 mg (FM) L ⁻¹ d ⁻¹ , bedingt durch Entmischungsprobleme (+) Torfmooswachstum: dichtes Moospolster (+) Morphologie der Pflanze: deutlich höhere Anzahl an Capitula pro Stämmchen im Vergleich zum Moosbettreaktor (+) 5 L <i>Wave bag</i> -Photobioreaktor mit Kühlungssystem zur Aufrechterhaltung der konstanten Kultivierungstemperatur entwickelt (+) Etablierung des Prozesses in 3 L Arbeitsvolumen und mit einer auf das Kulturmedium bezogene Produktivität von 2.800 mg (FM) L ⁻¹ d ⁻¹ (+) Torfmooswachstum: vereinzelt kugelförmige Moosstrukturen (+) Morphologie der Pflanze: deutlich höhere Anzahl an Capitula pro Stämmchen im Vergleich zum Schlauchreaktor, Längenwachstum unterblieben
AP 5	Vermehrung und Reifung in nicht-axenischer Kultur		
5.1	Vermehrung und Reifung in nicht-axenischer horizontaler Kultur auf Vliesunterlage im Schattiertunnel	Weiterentwicklung einer sicheren Kulturführung von Torfmoosen im Schattiertunnel; Quantifizierbare Ertragsteigerung insbesondere für die Produktion von „Saatgut“;	(±) Vermehrung von <i>Sphagnum palustre</i> und <i>S. fallax</i> auf Vlieskultur im Schattiertunnel teilweise erfolgreich (4,25 L Torfmoossaatgut· m ⁻²): bedarfsgerechte Schattierung als Wind- und Verdunstungsschutz geeignet, Bewässerung (je 1,3 mm d ⁻¹ mit Überkopfbegner); Brunnenwasser mit deutlich höheren Gehalten an Hydrogencarbonat (96-121 mg l ⁻¹) bei pH 6,4 als Regenwasser (14 mg l ⁻¹ , pH4,8) zur dauerhaften Bewässerung wahrscheinlich ungeeignet; auf Recyclingvlies nach zweitem Kulturjahr Torfmooshöhenzuwachs stärker als Neufaservlies und Beikrautwachstum geringer; Universol mit 0,6g N m ⁻² förderte Capitulanzahl (1980 Capitula m ⁻² ;

		Optimierung von Ausbring- und Erntetechnik; Regeneration nach der Ernte	Kontrolle 322 Capitula m ⁻²), Torfmooshöhe und mittleren Deckungsgrad vitaler Torfmoose (58 %) signifikant (+) Torfmoosmähd auf Vlieskultur mit angepasstem Spindelmäher erfolgreich entwickelt und getestet; für größere Flächen Optimierung hinsichtlich Mähgeschwindigkeit (ca. 5 km/h) und Auffang-/Entleerungstechnik erforderlich (-) Regeneration nach der Ernte wegen möglichen Einflusses des Wassers nicht bewertbar (-) wegen vermutlich ungeeigneter Wasserauswahl im Versuch nicht bewertbar
5.2	Torfmoosvermehrung in Freiland-Vlieskultur	Weiterentwicklung einer sicheren Kulturführung von Torfmoosen im Freiland; Quantifizierbare Ertragsteigerung insbesondere für die Produktion von „Saatgut“; Regeneration nach der Ernte; Optimierung von Ausbring- und Erntetechnik	(-) Vermehrung von Torfmoos in Freilandvlieskultur (<i>Sphagnum palustre</i> , <i>S. fallax</i> aus Bioreaktor und Schattiertunnel) nicht erfolgreich trotz dauerhafter Schattierung gegen Verdunstung und Windverfrachtung der Torfmoose, Bewässerung und Fertigation; möglicherweise wegen zu starker Austrocknung durch Wind und/oder Wasserzusammensetzung (+) längere nasse Zwischenlagerung von im Reaktor vermehrten Torfmooses im Schattiertunnel möglich (+) erste erfolgreiche Versuche zur Nass-Ansaat durchgeführt mit feiner, gleichmäßiger, schneller Ausbringung kleiner Reaktortorfmoosmengen (1 L Torfmoos und 20-30 L Wasser m ⁻²)
5.4	Vermehrung und Reifung in nicht-axenischer, vertikaler Vlieskultur (Torfmooswand)	Ausreifung und Vermehrung von Torfmoosen aus (axenischer) Bioreaktorkultur	(+) Anpassung der Vertikalkultur an Bioreaktor-Torfmoosmaterial (klein, nichtausdifferenziert) hinsichtlich Fixierung u. Stabilisierung gelungen (+) axenisch produziertes Torfmoos wuchs unter nicht-axenischen Bedingungen an der Torfmooswand erfolgreich mit Ausdifferenzierung der Moose weiter (+) Bestimmung optimaler Ausbringdeckung des Bioreaktor-Torfmoosmaterials mit 40 % (+) bis zu 10fache Multiplikation des Biomassezuwachses innerhalb von sechs Monaten
5.5	Optimierung vertikale Vlieskultur	Test von Torfmooswachstum unter verschiedenen LED-Pflanzenleuchten	(+) Lichtspektrn beeinflussten Torfmooswachstum stärker als Lichtintensität (+) schnellste Etablierung und höchste Torfmoosrasen mit Lichtspektrum White (+) höchste Biomassezuwächse bei Lichtspektrum White und Magenta (+) höhere Lichtintensität erhöhte Anzahl der Wachstumspunkte (Capitula) pro Fläche (+) größtes Längenwachstum bei Lichtspektrum Deep Blue bei gleicher Astbündelzahl wie andere Lichtfarben
AP 6	Feldtest für Torfmoos-Saatgut		
6.1	Saatgut-Test	Einschätzen der Etablierfähigkeit des produzierten Saatgutes	(+) axenisch und nicht-axenisch produziertes Saatgut zur Begründung einer Torfmoos-Paludikultur geeignet (+) submers im Bioreaktor vermehrtes Saatgut etabliert am schnellsten im Feld

			(+) Bestimmung optimaler Ausbringdeckung des submers produzierten Bioreaktor-Torfmoosmaterials (nicht ausdifferenziert) mit 40 % (+/-) für <i>S. palustre</i> und <i>S. squarrosus</i> produktivere und nicht-produktivere Mikroprovenienzen als Klon 12a und 5.2 identifiziert (-) Validierung der Produktivität von Klonen noch nicht abgeschlossen
6.2	Ausbringzeitraum	Ermitteln des optimalen Ausbringzeitraumes für nichtausdifferenziertes Torfmoos aus Submerskultur	(+) erfolgreiches Wachstum nach Ausbringung März-Oktober, verzögerte Etablierung mit Ausbringung im November (+) erntebare Rasen nach 6 Monaten nur bei Ausbringung im Frühjahr möglich
6.3	Zwischenkultur vs. Direktsaat von Torfmoos aus Submerskultur	Ermitteln, ob Zwischenkultur sinnvoll	(+) höhere Biomassezuwächse mit Zwischenkultur (Reife) im Vergleich zu Direktsaat; besonders bei Zwischenkultur in Wintermonaten (-) Produktivitäten des Saatgutes (> 1 Jahr) noch nicht erforscht
AP 7	Koordination des Verbundes und Öffentlichkeitsarbeit		
7.1		Koordination des Verbundes	(+) Kommunikation innerhalb Verbundes gelungen (+) Austausch von Torfmoosmaterial zwischen Partnern erfolgte planmäßig (+) 4 Zwischenberichte, 8 Projekttreffen
7.2		Öffentlichkeitsarbeit	(+) zahlreiche Medienbeiträge in Presse, Funk und Fernsehen (+) Info-Tag „Torfmooskultivierung im Hankhauser Moor“ u. weitere Info-Veranstaltungen (+) Projekt-Homepage (www.mooszucht.paludikultur.de) (+) 9 Vorträge und 5 Posterbeiträge bei nationalen und internationalen Konferenzen

I.2. Stand der Technik

Torfmoos-Anbau

Torfmoos-Anbau ist eine Form von Paludikultur auf Hochmoorstandorten. Hierbei werden Torfmoose (*Sphagnum*) kultiviert, um die Biomasse zu ernten und als nachwachsenden Rohstoff zu verwerten, z.B. zur Herstellung von hochwertigen Kultursubstraten für den Gartenbau. Seit 2004 wird Torfmoos-Anbau weltweit erforscht, entwickelt und auf Pilotflächen umgesetzt. Der Stand des Wissens ist in Gaudig *et al.* (2018) zusammengefasst.

Für die Umwandlung von intensiv genutztem Hochmoorgrünland in eine Torfmoos-Anbaufläche hat sich bewährt, zunächst mit einem Bagger den degradierten Oberboden abzuziehen, Fahrdämme zu modellieren und Bewässerungsgräben anzulegen. Das anschließende Ausstreuen von Torfmoosen und Stroh bei der Einrichtung erfolgt maschinell mit einer angepassten Pistenraupe und aufgesatteltem Miststreuer. Eine automatische Bewässerung sichert die konstante Wasserversorgung. Seit 2011 wurde im Hankhauser Moor (LK Ammerland) eine mittlerweile 17 ha große Demonstrationsfläche eingerichtet, die im Juni 2016 weltweit erstmals maschinell geerntet wurde.

Um den jährlichen Verbrauch von 3 Mio. m³ Weißtorf in Deutschland vollständig durch Torfmoos-Biomasse zu ersetzen, ist eine Netto-Produktionsfläche von ca. 35.000 ha erforderlich (Wichmann *et al.* 2020). Für die schnelle Etablierung einer neu eingerichteten Torfmoos-Anbaufläche hat sich die Ausbringung von 80 m³ Torfmoos-Saatgut je Hektar bewährt. Saatgut ist im notwendigen Umfang bisher jedoch nicht verfügbar.

Regenerationspotential von Torfmoosen

Grundsätzlich eignen sich alle Torfmoos-Diasporen (reproduktionsfähige Verbreitungseinheiten) als „Saatgut“. Dazu gehören neben Sporen alle regenerationsfähigen Spross-Abschnitte, wie Capitulum (Köpfchen), Stämmchen (-abschnitte), Ästchen oder Vesikel (Poschlod & Pfadenhauer 1989). Aus einzelnen Blättchen oder einzelnen Gewebeabschnitten erfolgt in situ keine Reproduktion, dies ist aber durch *In vitro*-Kultur als vegetative Vermehrung möglich. Bei der Vermehrung über Sporen ist die genetische Ausstattung der Individuen hingegen nicht kontrollierbar. Zudem ist der Wissensstand zu den auslösenden Faktoren für eine Sporulation von Torfmoosen unzureichend (Sundberg & Rydin 2000), weshalb die vegetative Vermehrung vorteilhafter und zukunftsfähiger ist. Eine Reifung von in axenischer Kultur vermehrten Torfmoosen für die Ausbringung im Freiland ist nur bedingt notwendig.

Torfmoos-Produktivität

Die Produktivität von Torfmoosen in natürlichen Habitaten variiert stark zwischen den Arten. Der globale Durchschnitt wird mit 260 g Trockenmasse (TM) m⁻² a⁻¹ mit einem Maximum von 1.450 g TM m⁻² a⁻¹ angegeben (Gunnarsson 2005). Bislang wurde nur verfügbares Material einzelner Arten aus Wildpopulationen gesammelt und für Versuche zur Torfmoos-Paludikultur verwendet. Diese erreichten in Kultur auf Moorböden Produktivitäten zwischen 300 und 700 g TM m⁻² a⁻¹ (Wichmann *et al.* 2020). Im Ergebnis des Verbundvorhabens MOOSzucht wird klar, dass durch Selektion substantiell höhere Produktivitäten erreicht werden können, was die Rentabilität von Torfmoos-Paludikultur erhöht.

Für die Nicht-invasive Bestimmung von Torfmoosproduktivität wurden verschiedene existierende Methoden getestet und weiterentwickelt (z.B. Unterwassergewicht nach Clymo 1970). Final erfolgte die Bestimmung des Trockengewichtes des Stämmchen-Zuwachses mit Weiterkultur der Capitula der selektierten Torfmoosindividuen (aufgrund zu hoher Ungenauigkeiten der anderen Methoden).

Bei der Züchtung von Samenpflanzen wird oftmals eine Produktivitätssteigerung oder eine Erhöhung der Vitalität über Multiplizieren des Chromosomensatzes erreicht. Deshalb wurden im Verbundvorhaben MOOSzucht die vorhandenen Techniken zur **Polyploidisierung** (Whole Genom Duplikation) für natürlicherweise haploid vorkommende Torfmoose erprobt, jedoch mit wenig Erfolg.

Genetische Charakterisierung und genetische Vielfalt

Zur genetischen Charakterisierung von Torfmoosen wird die Mikrosatellitenanalyse eingesetzt, um genetische Individuen zu identifizieren (Genotypisierung) und Verwandtschaftsgrade zu quantifizieren (Lamkowski 2015). Die Methode ist durch Shaw *et al.* (2008) für *Sphagnum* etabliert. Bisher sind ca. 23 neutrale Loci (Genorte) für die Gattung untersucht. Neben 8 erfolgreich angewandten Markern (Lamkowski 2015) wurden im Projekt vier weitere zur sicheren Genotypisierung etabliert.

Mittels Mikrosatellitenanalyse wurden die Genotypen dreier Individuen der drei besten Torfmoos-Mikroprovenienzen pro Art und Region innerhalb Europas (Westen, Osten, Norden, Süden sowie aus Nordwest-Deutschland, = 180 Mikroprovenienzen) bestimmt. Die Verwandtschaftsgrade konnten nur innerhalb der jeweiligen Arten erfolgreich eingeschätzt werden.

Die genetische Vielfalt der Torfmoose ist artspezifisch und insbesondere abhängig von der Ausbreitungsstrategie der Moosarten über vegetative oder generative Vermehrung. Arten, die Sporen ausbilden, können aufgrund der Sporengröße (23–40 µm, Crum 1984) durch Lufttransport große Distanzen überwinden (Sundberg 2013) und die genetische Vielfalt erhöhen. Unterschiede gibt es hier auch zwischen monözischen und diözischen Torfmoosarten. Erste Untersuchungen für *S. papillosum* zeigten eine unerwartet hohe genetische Vielfalt (Lamkowski 2015). Diese hohe Vielfalt wurde auch im Projekt festgestellt, wo bei drei untersuchten Individuen einer Mikroprovenienz zwei bis drei unterschiedliche Genotypen vorlagen.

Axenische Inkulturnahme, Protoplastenfusion und Barcoding von Torfmoosen

Schneller als bei der In situ-Kultur gelingt Massenvermehrung von selektierten (z.B. genetisch einheitlichen Torfmoos-Kultivaren) in einer *In vitro*-Kultur, welche jedoch axenische Bedingungen erfordert. Die Etablierung axenischer Kulturen von Torfmoos-Gametophyten gelang bislang sehr selten. Ein erster Bioreaktor (5l, kontinuierlich laufender Fermenter) mit axenischer Torfmooskultur aus Sporen wurde von Rudolph *et al.* (1988) entwickelt. Auch dem Projektpartner Universität Freiburg gelang die axenische *In vitro*-Etablierung diverser Moosarten, so auch eines Kultivars von *Sphagnum palustre*, ebenfalls aus Sporen (Beike *et al.* 2015). Darauf aufbauend wurde im Verbundvorhaben MOOSzucht die Vermehrung aus Sporen weiterentwickelt sowie die vegetative Vermehrung unter axenischen Bedingungen durch die Isolierung und Fusion von Protoplasten durchgeführt sowie Bioreaktorkulturen für weitere *Sphagnum*-Arten, die zudem durch Barcoding (genetische Differenzierung) entschlüsselt wurden, etabliert. Für diese Arbeiten wurde auf Reski *et al.* (1991, 1994), Rother *et al.* (1994), Kruse *et al.* (1995), Hohe & Reski (2002), Schween *et al.* (2005) und Beike *et al.* (2014, 2015) sowie auf die Datenbank ‚Phytozome, the Plant Comparative Genomics portal of the Department of Energy’s Joint Genome Institute‘ ([link](#)) zurückgegriffen.

Entwicklung eines Photobioreaktors zur großskaligen Massenvermehrung von Torfmoos

Bauweise, Reaktormaterialien, sowie die Prozessführungsstrategie, wie z.B. Begasungsrate, Lichteintrag, Medienzufuhr und Durchmischung des von Rudolph *et al.* (1988) entwickelten ersten Bioreaktors für die Vermehrung von Torfmoosen wurden analysiert und für das Hochskalieren in Betracht gezogen. Zudem wurde auf die Erfahrungen in Beike *et al.* (2015) zurückgegriffen, die unter Verwendung von Knop-Medium mit $1,25 \text{ mM L}^{-1}$ Ammoniumnitrat und 20 g L^{-1} Saccharose in einem 5 L-Rührkesselreaktor eine zehn- bis dreißigfache Zunahme der Biomasse von *Sphagnum palustre* innerhalb von vier Wochen erreichten. Für die Etablierung des Wachstums von Torfmoosen unter photoautotrophen Bedingungen wurde zusätzlich auf Angaben aus der Literatur zurückgegriffen, welche sich mit dem Torfmooswachstum im Labor sowie direkt in der Natur beschäftigten. Dabei wurde auf Experimente fokussiert, die den Einfluss von eingestrahelter Photonenflussdichte, CO_2 -Konzentration in der Flüssigphase und in der Gasphase, die Art und Konzentration der Stickstoffquelle auf das Wachstum und die morphologische Merkmalsausprägung der Torfmoose untersuchten. Außerdem wurden Erkenntnisse aus der phototrophen Biotechnologie mit Moosen und Mikroalgen übertragen, insbesondere zu Lichteintrag, N/P-Verhältnis und CO_2 -Umsatz (Simola *et al.* 1969, Sobotka *et al.* 1976, Clymo & Hayward 1982, Hayward & Clymo 1983, Baker *et al.* 1985, Kajita *et al.* 1986, Rudolph & Voigt 1986, Silvola *et al.* 1990, Jauhiainen *et al.* 1999, Smolders *et al.* 2001, Cerff & Posten 2012, Fritz *et al.* 2014, Hanson & Rice 2014, Posten 2018).

1.3 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Während der Laufzeit von MOOSzucht wurden zahlreiche Projekte und Forschungsvorhaben durchgeführt, die entweder direkt Torfmoos-Anbau umsetzen oder damit assoziiert sind. Im Verbundvorhaben MOOSzucht fand ein intensiver Austausch mit diesen Projekten statt. Hervorzuheben sind hierbei die Projekte MOOSWEIT (FKZ 22007614) und OptiMOOS (Verbundprojekt „Torfmooskultivierung optimieren: Wassermanagement, Klimabilanz, Biodiversität & Produktentwicklung“, Laufzeit: 11/19-12/22, Förderung: Ministerium für Umwelt, Energie und Klimaschutz Niedersachsen, EFRE), in deren Rahmen die großflächigen Feldversuche zur Torfmoos-Paludikultur im Hankhauser Moor weiterentwickelt und erforscht wurden. Die hier unter sehr ähnlichen Bedingungen bestimmten Biomasseerträge können für den Vergleich mit den Ergebnissen in MOOSzucht herangezogen werden.

Die enge Zusammenarbeit mit Wissenschaftler*innen von der Radboud University Nijmegen (Niederlande) ermöglichte es, die Nährstoffsituation für die im Feld getesteten Torfmoose in MOOSzucht genau zu analysieren und detaillierte Schlussfolgerungen im Hinblick auf den Zusammenhang zwischen Standortbedingungen und genetischer Disposition der Torfmoose zu ziehen.

Seit 2017 arbeiten zahlreiche Wissenschaftler aus aller Welt zusammen im Sphagnome Projekt. Ziel des Projektes ist die erstmalige Entschlüsselung des Genoms für Torfmoose anhand der Arten *Sphagnum magellanicum* s.l. und *S. fallax* sowie weiterführend durch Sequenzierung auf Artniveau den Zusammenhang zwischen einzelnen Genen und Merkmalsausprägungen der Torfmoose herzustellen („from gene to trait“, Weston *et al.* 2018). Um herauszufinden, ob relevante Ergebnisse für das MOOSzucht-Projekt vorlagen und inwiefern eine Kooperation zwischen beiden Projekten zu Synergien führen konnte (z.B. Austausch von Torfmoos-Material), fand im April 2018 ein Treffen zwischen Wissenschaftlern der Universitäten Greifswald, Lund und Uppsala sowie des NTNU University Museum Trondheim in Uppsala statt.

Der intensive Austausch mit Wissenschaftlern der Universitäten Münster, Budweis (CZ), Uppsala (S) und mit R.S. Clymo (GB) 2019 wurde zur Weiterentwicklung von Methoden, v. a. im Bereich der nicht-destruktiven Produktivitätsbestimmung genutzt. Darüber hinaus wurde auf Treffen die wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit der MOOSzucht-Thematik erörtert.

Für die breite wissenschaftliche Diskussion wurden die wissenschaftlichen Ansätze und Ergebnisse in MOOSzucht einem Fachpublikum auf Konferenzen vorgestellt, unter anderem mit Vorträgen über die axenische *In vitro*-Kultivierung von Torfmoosen (Botanikertagung 2017, Black Forest Workshop 2018, WETSCAPES Conference 2019, Cytométrie 2021, IPC 2021). Zudem fand vom 9. bis 11. März 2021 die 3. durch das Greifswald Moor Centrum organisierte internationale Konferenz über Nachwachsende Rohstoffe aus nassen und wiedervernässten Mooren (Renewable Resources from Wet and Rewetted Peatlands) - RRR2021 - statt, dieses Mal rein digital. Mehr als 300 Wissenschaftler*innen und Praktiker*innen aus 25 Ländern der Welt teilten ihr Wissen über Paludikultur, darunter mehrere Beiträge aus MOOSzucht.

In Kooperation mit weiteren Projekten am Greifswald Moor Centrum (MoorDialog, MoKli) wurden öffentliche Feldtage im Hankhauser Moor veranstaltet, bei denen auch der MOOSzucht-Feldversuch vorgestellt wurde. Der Feldtag ermöglichte die Verbreitung von Informationen und die Diskussion mit Interessierten aus Landwirtschaft, Naturschutzverbänden und Politik. Daneben kamen auch zahlreiche Besucher(gruppen) aus dem In- und Ausland außerhalb der Feldtage in das Hankhauser Moor, um sich hier über Torfmoos-Paludikultur zu informieren (z.B. Delegationen aus Finnland, Baltische Staaten, Berufsschule Jever; Niedersächsische Landwirtschaftsministerin).

Des Weiteren wurde Kontakt mit der Forschungsgruppe von Line Rochefort (Université Laval, Kanada) geknüpft. Im Juni 2019 fand ein wissenschaftlicher Austausch über Sphagnum farming an der Universität Laval in Québec, sowie auf den Versuchsflächen in Shippigan (New Brunswick, Kanada) statt.

II. Ergebnisse

1. Erzielte Ergebnisse

AP 1 Sammlung, Charakterisierung und Selektion von Torfmoos-Wildformen

Sammlung

Für die Etablierung eines Torfmoos-Mutterpflanzenquartiers wurden insgesamt 476 Torfmoosmikroprovenienzen von 12 *Sphagnum*-Arten (*S. austinii*, *S. centrale*, *S. denticulatum*, *S. fallax*, *S. fimbriatum*, *S. fuscum*, *S. magellanicum* sensu lato. (für Erläuterung der Benennung vgl. S.2, Fußnote), *S. palustre*, *S. papillosum*, *S. riparium*, *S. rubellum*, *S. squarrosum*) auf dem Transekt vom ozeanisch bis kontinental geprägten Europa in Irland (eine Probe *Sphagnum austinii*), Großbritannien (eine Probe *S. papillosum*), den Niederlanden, Nordwest-Deutschland, Schweden, Tschechien, Estland, Lettland, Litauen und Georgien gesammelt (Abb. 1).

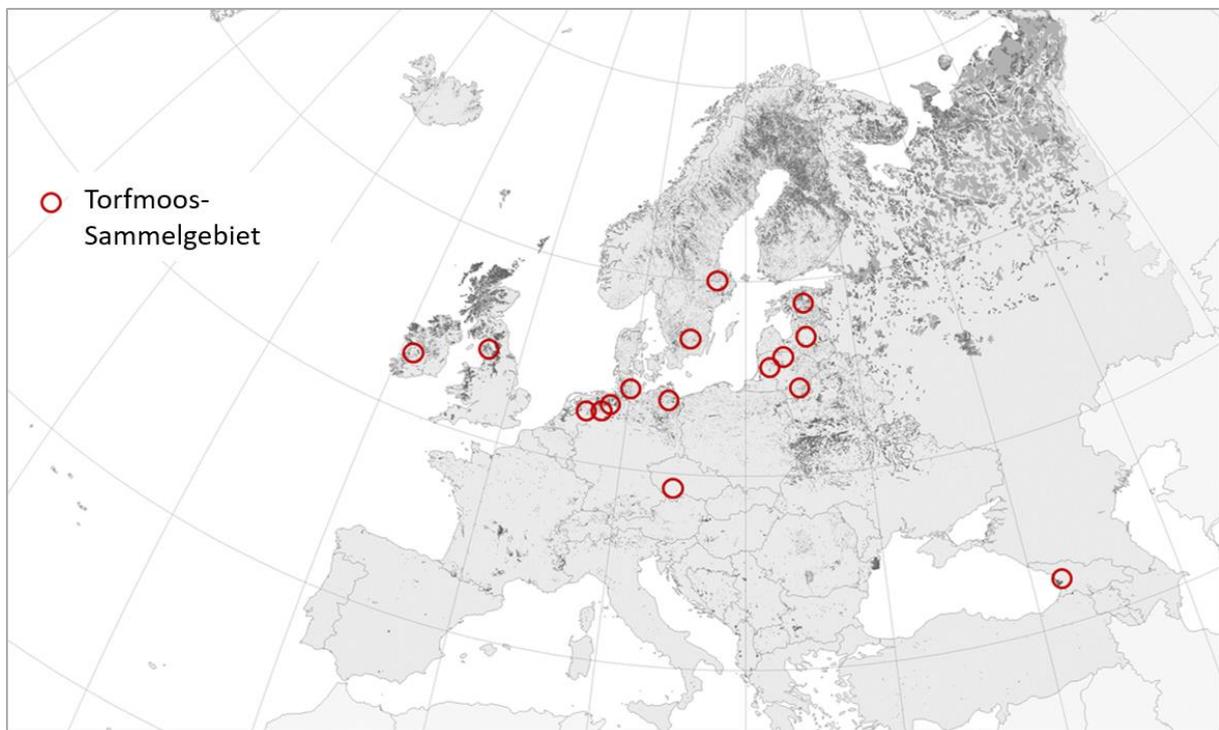


Abb. 1. Torfmoos-Sammelgebiete in MOOSzucht, eingetragen in der Moor-Verbreitungskarte von Europa (aus Tanneberger *et al.* 2017).

Dabei wurden innerhalb eines Moores möglichst an drei Mikrostandorten (Bult, Rasen, Schlenke) beprobt. Die am häufigsten gesammelten Arten waren *Sphagnum papillosum*, *S. palustre*, *S. magellanicum* sensu lato, *S. fimbriatum*, *S. fallax*, *S. fuscum* und *S. rubellum*.

Die insgesamt 476 gesammelten Torfmoosproben, aus 10 Ländern und 31 Provenienzen, wurden ins *Outdoor*-Mutterpflanzenquartier in Mecklenburg-Vorpommern (Greifswald) eingepflegt. Dazu wurden die Torfmoosproben von Beiwuchs befreit und artenrein in Pflanztöpfe (12x12 cm) überführt, wobei die sortierten und auf 9 cm gekürzten Torfmoosindividuen einen natürlichen Rasen nachbilden sollten. Torfmoosproben, die nicht die Länge von 9 cm erreichten, wurden durch Vlies auf die Höhe von 9 cm gepolstert. Jeweils 12 Pflanztöpfe wurden zusammen in eine mit Regenwasser bis auf ca. 2 cm unter

den Moosköpfchen gefüllte Wasserpflanzenkiste (40x60x24 cm) gestellt. Temperatur und Luftfeuchtigkeit wurden durch einen Datalogger dokumentiert. Das verwendete Regenwasser wurde alle 3 Monate analysiert.

Genetische Charakterisierung und Ploidiegradbestimmung

Für alle 12 *Sphagnum*-Arten wurden von 180 selektierten Mikroprovenienzen (1. Selektionsschritt, s. unten) je drei Torfmoose genetisch charakterisiert ($n=569$ inklusive Wiederholungen; Mikrosatellitenanalyse, SSR-simple sequence repeats, Verwendung von 12 Primern, Shaw *et al.* 2008) und der Ploidiegrad mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Im Ergebnis wurde die sich in Vorversuchen abzeichnende genetische Heterogenität bestätigt. Unabhängig vom Mikrohabitat betrug die Wahrscheinlichkeit der genetischen Uniformität von drei zufällig ausgewählten Moosindividuen pro Probe (Mikroprovenienz) lediglich $p = 0,71$, d.h. bei drei gemessenen Individuen einer Probe lagen zwei bis drei Genotypen vor. Diese erfolgreich etablierte Methode ermöglicht ebenfalls Aussagen zu Verwandtschaftsbeziehungen z.B. auf Populationsebene. Insgesamt wurden 322 unterschiedliche Genotypen bestimmt. Innerhalb einer Art waren durchschnittlich 60 % der Proben genetisch verschieden, wobei für *S. fuscum* die höchste Anzahl verschiedener Genotypen (80 %) und *S. riparium* die geringste Anzahl (30 %) festgestellt wurden. Mit der Bestimmung des Ploidiegrades konnten Literaturangaben zu unterschiedlichen Ploidiesippen innerhalb einer Art nicht bestätigt werden.

Generell zeigt sich trotz artspezifischer Unterschiede eine nur sehr geringe europaweite genetische Differenzierung innerhalb der *Sphagnum*-Arten, was sich mit Erkenntnissen zur globalen genetischen Differenzierung für haploide *Sphagnum*-Arten deckt (Kyrkjeeide *et al.* 2016) und auf einen ständigen genetischen Austausch zwischen den Populationen hinweist (Sundberg 2013). Unsere Untersuchungen zeigen für *S. austinii*, *S. fuscum*, *S. riparium* und *S. squarrosum* auch eine geringe, aber im Vergleich zu den anderen Arten höhere genetische Differenzierung zwischen den verschiedenen europäischen Herkünften. Die Gründe dafür sind bislang unklar und sollten auch im Hinblick auf mögliche ökologische Risiken der Ausbringung nicht-regionaler (gebietsfremder) Genotypen untersucht werden.

Innerhalb der Projektlaufzeit wurde die taxonomische Auftrennung des *S. magellanicum*-Komplexes in drei Arten (*Sphagnum magellanicum*, *S. medium* und *S. divinum*) veröffentlicht und morphologische Unterscheidungsmerkmale beschrieben (Yousefi *et al.* 2017, Hassel *et al.* 2018). Aufgrund von Unsicherheiten in der Bestimmung wurden in „MOOSzucht“ zur Unterscheidung der in Europa vorkommenden Arten des *S. magellanicum*-Komplexes (i.c. *S. medium* und *S. divinum*) Analysen mit Mikrosatelliten-Marker zur genetischen Trennung geprüft und angewendet sowie anschließend die in der Literatur beschriebenen morphologischen Unterscheidungsmerkmale vermessen und auf ihre Zuverlässigkeit geprüft. Für die Unterscheidung von *S. medium* und *S. divinum* konnte kein „knock-out trait“ (Merkmal, das eindeutige Unterscheidung zulässt) gefunden werden. Alle untersuchten Merkmale, wie die Stammbblattseptierung, Stammbblattmembranlücken, Astlänge, Astblattporen der proximalen Hyalozyten (dorsal) und die Hyalozytenquerwanddicke sind stark von Umwelteinflüssen und dem Entwicklungsstand der Pflanzen (z.B. Jugend- und Hungerformen) beeinflusst. Die Merkmalskombination für die Bestimmung von *S. divinum*, wie Stammbblätter mit unseptierten Hyalozyten und elliptischen Stammbblattporen bei Abwesenheit von vergrößerten Astblattporen (beobachtbar bei einer gut entwickelten Pflanze mit Astlänge von >13 mm) wurde auch bei Kümmer- oder Jugendformen von *S. medium* festgestellt. Als Habitat von *S. medium* werden offene Regenmoore und für *S. divinum* deren Randgebiete oder minerotrophe Moore beschrieben (Hassel *et al.* 2018). Das lässt sich mit großer Übereinstimmung in Deutschland feststellen, wo *S. medium* deutlich häufiger in ungestörten, intakten Hochmoorflächen zu finden ist, wohingegen *S. divinum* gestörte Randbereiche und auch minerotrophe Sümpfe und Waldmoore besiedelt. Allerdings gibt es viele Abweichungen wie

z. B. Ostsibirien, wo *S. divinum* auch offene Hochmoore besiedelt, sowie atlantisch geprägten Gebieten, wie den Britischen Inseln, wo *S. medium* auch in schwach minerotrophen Mooren wächst. Somit bietet das Habitat keine sichere Unterscheidungsmöglichkeit.

Selektion unter (semi)kontrollierten Bedingungen anhand der Produktivität

Entwicklung einer nicht-destruktiven Methode zur Produktivitätsbestimmung: Um hochproduktive Torfmoos-Mikroprovenienzen und –Klone selektieren und für die Massenproduktion verwenden zu können, ist eine nicht-destruktiven Methode zur Produktivitätsbestimmung hilfreich, denn nach der Bestimmung der Trockenmasse ist das Torfmoos nicht mehr lebensfähig. Deshalb wurde in MOOSzucht versucht, eine aussagekräftige Methode zu entwickeln, was jedoch nicht zufriedenstellend gelang. Bei der Messung der Photosyntheserate (photosynthetische CO₂-Assimilation) mittels LI-6400XT tragbares Photosynthese-System (LI-COR, USA) werden die Ergebnisse auf die Trockenmasse der Messobjekte (Capitula) bezogen. Bei der Bestimmung des Unterwassergewichtes von Torfmoosindividuen (nach Clymo 1970) wird ein Vakuum angelegt. Bei der weiteren Kultur dieser Torfmoosindividuen waren diese in ihrem Wachstum stark beeinträchtigt oder starben ab. Im Klimaschrankversuch (2. Selektionsschritt, s.u.) wurde der Zuwachs einzelner Torfmoosindividuen unter dem Capitulum bestimmt (Länge und Trockenmasse), das Capitulum konnte weiter kultiviert und vermehrt werden. Um die Genauigkeit der Methode zu verbessern und auch die Änderungen des Capitulum während der Versuchsdauer zu erfassen, wurde ein auf „*Structure from Motion*“ basiertes Verfahren zur Volumenschätzung der Capitula erprobt. Hierfür wurden 1500 Capitula unterschiedlicher *Sphagnum*-Arten aus unterschiedlicher Perspektive fotografiert und deren Trockengewicht bestimmt. Mit Hilfe von Agisoft Metashape Professional wurden aus den Bildern dreidimensionale Punktwolken der Capitula rekonstruiert. Auf Basis der Punktwolken wurden verschiedene Proxi berechnet (Punktzahl, 2.5D Oberfläche, 2.5D Volumen) und deren Korrelation mit den Trockengewichten der Capitula geprüft. Insgesamt ließ sich ein Zusammenhang feststellen, allerdings erhöhte sich die Streuung bei höheren Trockenmasse-Werten. Es wurden verschiedene Optimierungsansätze für das Verfahren identifiziert und die Ergebnisse verbessert. Neben der technisch/methodischen Optimierung sind weitere Untersuchungen in Bezug auf mögliche Einflüsse auf der Varianz notwendig.

Erster Selektionsschritt: Im Rahmen eines *Common garden*-Experiments (Weiterkultur von Material verschiedener Herkunft unter gleichen Bedingungen, hier im *Outdoor*-Mutterpflanzenquartier, Abb. 2a) wurden in einer Vegetationsperiode (Aug. 2018 – Aug. 2019) alle zwei Monate Rasenhöhe, Capituladeckung und Vitalität für die Torfmoose in jedem Pflanztopf im Mutterpflanzenquartier bestimmt. Die drei besten Torfmoos-Mikroprovenienzen pro Art von innerhalb Europas westlicher, östlicher, südlicher nördlicher Herkunft und aus Nordwest-Deutschland wurden anhand des Zuwachses der Rasenhöhe nach neun Wochen sowie zusätzlich Moos-Klone des Projektpartners Freiburg für einen Klimaschrank-Versuch zur Produktivität unter kontrollierten Bedingungen verwendet.

Zweiter Selektionsschritt: Zunächst wurden von den im ersten Selektionsschritt als wüchsigste Mikroprovenienzen identifizierten Torfmoosen je drei verzweigte Individuen mittels visueller Approximation der Vitalität und Größe ausgewählt. Je ein Capitulum wurde für die genetische Charakterisierung abgetrennt (s.o.). Das zweite Capitulum mit Stämmchen wurde für die Bestimmung der Produktivität verwendet.



Abb. 2. a) Mutterpflanzenquartier; b) Klimaschrank-Versuche an der Universität Greifswald. (Fotos: Mira Kohl).

Nach zweiwöchiger Vorkultur im Klimaschrank (Tag/Nacht Rhythmus 16/8 h und 20/15°C, Lichtintensität $\bar{\varnothing}$ 148 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 90 % Luftfeuchtigkeit, Nährlösung nach Rudolph *et al.* (1988; halbe Konzentration, Erneuerung alle 2 Wochen), Abb. 2b) wurden alle Torfmoose auf 4 cm gekürzt, die Größe der Capitula gemessen und mit dem Versuch begonnen. Nach 28 Tagen wurden die unteren 4 cm der Torfmoose abgeschnitten und verworfen. Nach 48 weiteren Tagen wurde die Länge des Stämmchens unter dem Capitulum als Zuwachs gemessen, das Material abgetrennt und das Trockengewicht bestimmt. Die Capitula wurden erneut vermessen, weiterkultiviert und neu gebildete Capitula zur Genotypisierung genutzt. Mögliche Änderungen des Capitulum während der Versuchsdauer konnten bei der Bestimmung des Biomassezuwachses nicht berücksichtigt werden, weil die Beziehung der Größe bzw. Volumen eines Capitulum zu dessen Trockengewicht bislang noch nicht eindeutig geklärt ist. Von den zwölf untersuchten *Sphagnum*-Arten produzierten *S. riparium*, *S. squarrosum*, *S. centrale* die meiste Biomasse, während *S. rubellum* und *S. fuscum* nur geringe Biomasseproduktivität aufwiesen. Ein Vergleich der Produktivität der jeweils wüchsigsten Mikroprovenienz mit den im großflächigen Feldversuch (Parallelprojekte MOOSWEIT bzw. OptiMOOS, Hankhauser Moor) kultivierten Provenienzen zeigte für *S. fallax* eine Steigerung von 9 %, für *S. palustre* von 12 % und für *S. papillosum* von 40 %. Die Ergebnisse des Klimaschrankversuches waren die Grundlage zur Selektion der wüchsigsten Torfmoos-Mikroprovenienzen für den Feldversuch zur Produktivitätsbestimmung unter Freilandbedingungen sowie für die Vermehrung produktivster Torfmoosindividuen zur axenischen Inkulturnahme in AP 2 (s.u.).

Validierung der ersten beiden Selektionsschritte: Um die Ergebnisse der ersten beiden Selektionsschritte zu bestätigen und verlässliche Ergebnisse in Bezug auf zugewachsene Biomasse zu erhalten, wurde über ein weiteres Jahr (Feb. 2020 – Feb. 2021) im *Common garden*-Experiment (*Outdoor*-Mutterpflanzenquartier) der Zuwachs der Biomasse (Trockengewicht) zusätzlich zur Bestimmung der Rasenhöhe ermittelt. Ergänzt wurde die Sammlung durch 15 Klone von vier *Sphagnum*-Arten und 13 weiteren Torfmoos-Mikroprovenienzen (vgl. AP 2). Im Februar 2020 wurden alle Torfmoose auf eine Rasenhöhe von 9 cm gekürzt und pro Topf fünf Torfmoosindividuen mit einem Kabelbinder direkt unter dem Köpfchen (Capitulum) markiert. Biomassezuwachs (Trockengewicht) sowie Längenzuwachs ab Markierung wurden nach sieben Monaten (Okt. 2020, Hauptwachstumsphase) bestimmt. Rasenhöhe sowie Vitalität und Dichte des Torfmoosrasens wurden alle 2 Monate bonitiert und über Oktober 2020 hinaus für insgesamt ein Jahr dokumentiert. Die 15 im ersten Selektionsschritt als am

wüchsigsten identifizierten Mikroprovenienzen je Art wiesen auch bei der Validierung weitgehend einen überdurchschnittlichen Biomassezuwachs innerhalb der Art auf, jedoch wurden teilweise andere Mikroprovenienzen mit noch höherer Produktivität ermittelt (für *S. fallax* und *S. palustre* siehe Abb. 3, 4). Demnach gibt die Rasenhöhe nach neun Wochen Wachstum zwar schon brauchbare Hinweise auf die Wüchsigkeit von Torfmoosen, der über einen längeren Zeitraum ermittelte Biomassezuwachs ermöglicht jedoch eine genauere Einschätzung.

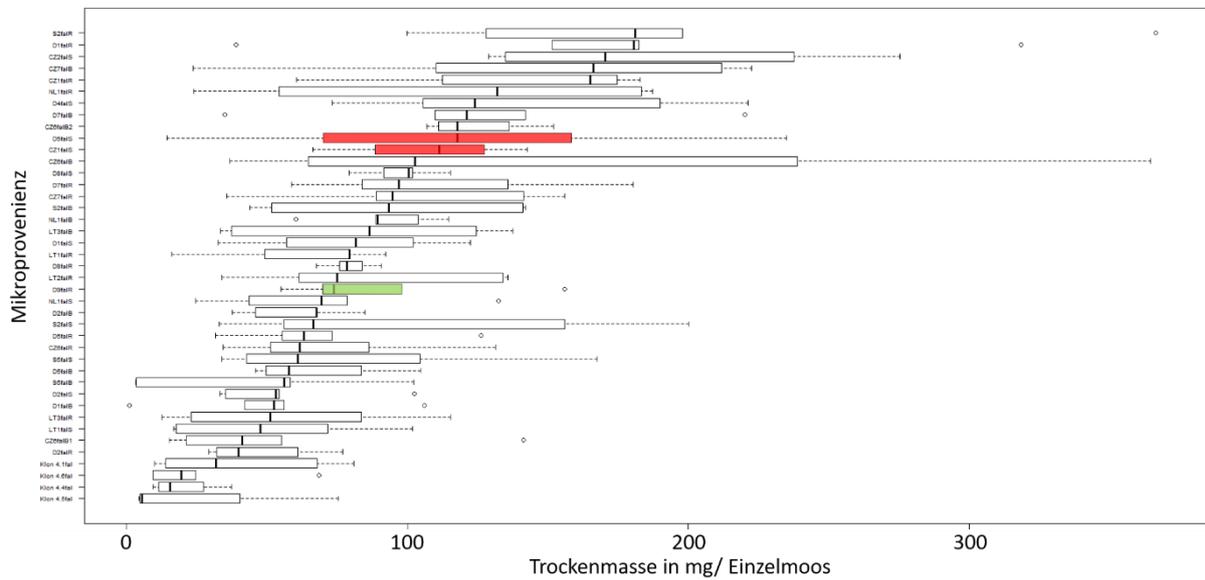


Abb. 3. Biomassezuwachs (in mg Trockengewicht je Einzelmoos ohne Köpfchen) unterschiedlicher Mikroprovenienzen von *Sphagnum fallax* nach 7,5 Monaten Wachstum im Mutterpflanzenquartier Greifswald ($n=5$). Hervorgehoben sind die auch im Feldversuch getesteten Mikroprovenienzen (grün = bisher verwendete Torfmoose für die Paludikultur im Hankhauser Moor, rot = im 1. Selektionsschritt als am wüchsigsten identifiziert).

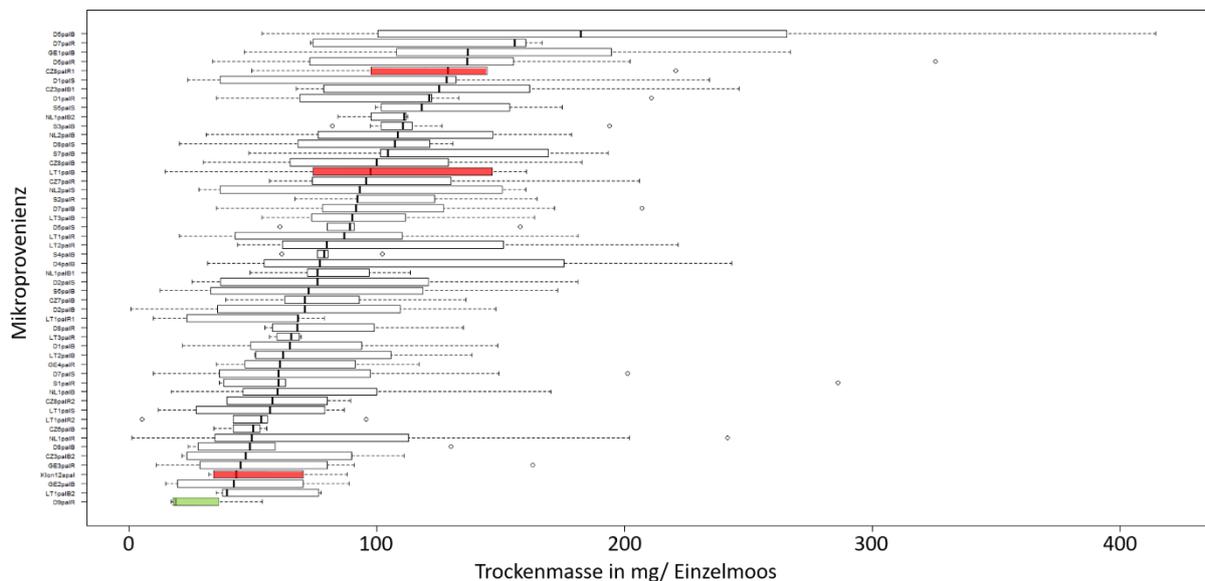


Abb. 4. Biomassezuwachs (in mg Trockengewicht je Einzelmoos ohne Köpfchen) unterschiedlicher Mikroprovenienzen und Klone von *Sphagnum palustre* nach 7,5 Monaten Wachstum im Mutterpflanzenquartier Greifswald ($n=5$). Hervorgehoben sind die auch im Feldversuch getesteten Mikroprovenienzen (grün = bisher verwendete Torfmoose für die Paludikultur im Hankhauser Moor, rot = im 1. Selektionsschritt als am wüchsigsten identifiziert).

Selektion in axenischer Submerskultur anhand der Produktivität

Nicht nur für Torfmoos-Mikroprovenienzen, sondern auch für unterschiedliche Klone einer Art wurde die Produktivität bestimmt und verglichen. Es wurden sowohl zwischen Arten als auch zwischen Klonen innerhalb einer Art Unterschiede in der Produktivität festgestellt (Abb. 5, Heck *et al.* 2021a).

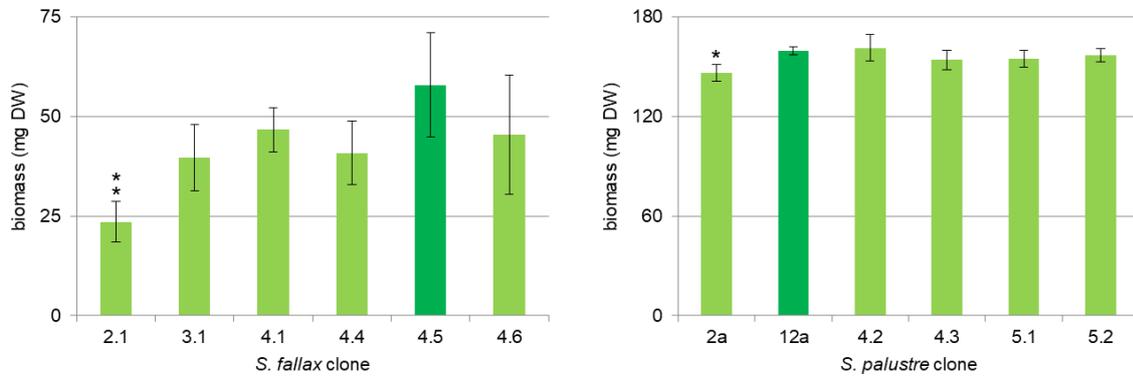


Abb. 5. Biomassezuwachs (in mg Trockengewicht pro Liter) unterschiedlicher Klone von *Sphagnum fallax* (links) und *S. palustre* (rechts) nach 6 Wochen Suspensions-Kultivierung aus jeweils 3 Köpfchen in einem 50 ml-Kolben unter axenischen Bedingungen in Freiburg (vgl. Heck *et al.* 2021a).

Validierung der Selektion unter Freilandbedingungen anhand der Produktivität

Um die Ergebnisse der Selektion im Mutterpflanzenquartier und im Klimaschrankversuch zu validieren, wurde ein Feldversuch eingerichtet.

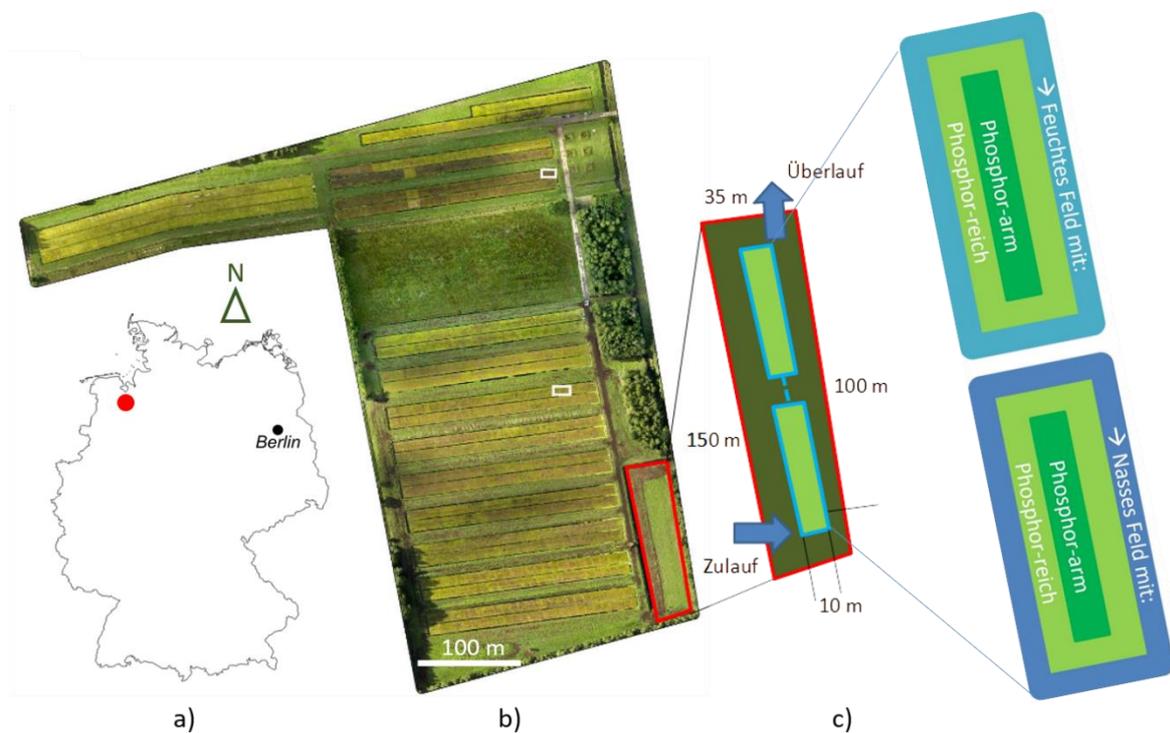


Abb. 6. MOOSzucht Feldversuch im Hankhauser Moor: a) Lage in NW-Deutschland; b) Lage im Feldversuchskomplex Hankhauser Moor; c) Schematische Darstellung der beiden Versuchsfelder.

Vorbereiten und Charakterisierung der Feldversuchsfläche: In Erweiterung des bereits in Parallelprojekten angelegten Feldgroßversuchs (ca. 14 ha) im Hankhauser Moor (Landkreis Ammerland, Niedersachsen, Abb. 6) wurde im Herbst 2018 für das Projekt MOOSzucht eine Feldversuchsfläche von 0,3 ha (davon 0,1 ha Torfmoosfläche) vorbereitet (Abb. 7). Moorbodensondierungen im Vorfeld ergaben Torfmächtigkeiten von 2,5-3 m mit ca. 20 cm stark zersetztem Torf (nach von Post-Skala: H8-10) über schwach zersetztem Torfmoos-Torf, der mit zunehmender Tiefe auch einen zunehmenden Zersetzungsgrad aufwies. Ab ca. 90 cm Tiefe folgten mittel bis stark zersetzte Radizellen- und Holztorfe (H6-8), unterlagert von Mittel- und Feinsanden.

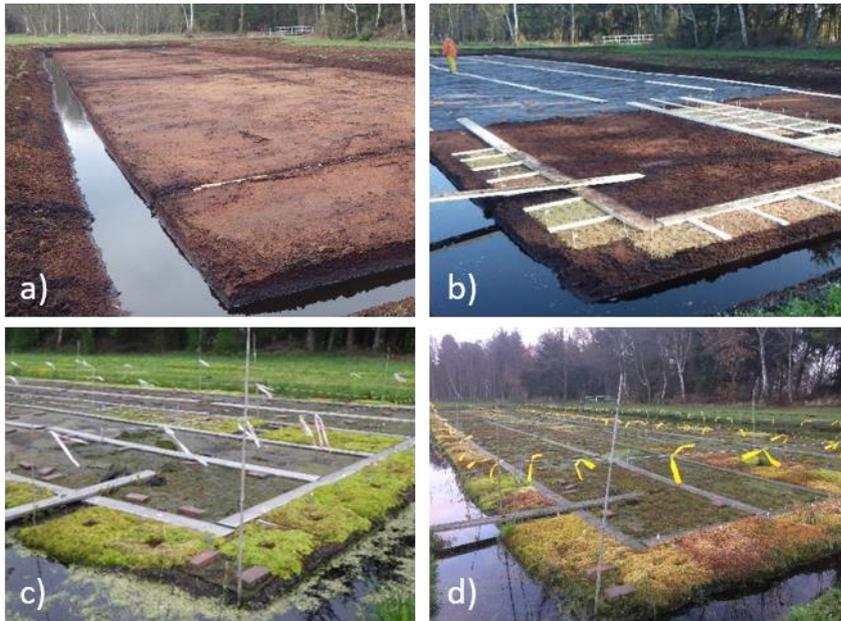


Abb. 7. Mooszucht Feldversuch im Hankhauser Moor. a) Vorbereitete Fläche mit Wall und Ringgraben, b) Beginn der Versuchseinrichtung am 02.04.19, c) ein Jahr nach Einrichtung (quadratische Löcher markieren Probenahmestelle zur Bestimmung des Trockengewichtes), d) 2 Jahre nach Einrichtung (Fotos: Anja Prager).

Tab. 2. Charakterisierung der Behandlungen hinsichtlich Wasser- und Nährstoffbedingungen (P-Phosphor) zur Ermittlung der wüchsigsten Torfmoos-Mikroprovenienzen im Feld. ¹ = Wasserstandsmessungen bezogen auf Torfoberfläche erfolgten je Plot ($n=474$) mit 18 Messungen im Zeitraum April 2019 - November 2021 (siehe Abb. 8): Mittel = Mittelwert \pm Standardabweichung, Min = Minimum, Max = Maximum.; ² = Elementkonzentrationen wurden einmalig im Porenwasser im Torfmoosrasen bestimmt ($n=474$), Probenahme erfolgte im Zeitraum Juni-November 2020: PO_4^{3-} = Phosphat, NH_4^+ = Ammonium, NO_3^- = Nitrat, K^+ = Kalium, Ca^{2+} = Calcium, Mg^{2+} = Magnesium, Na^+ = Natrium; Darstellung als Signaturen im Vergleich zu Elementkonzentrationen im Porenwasser von Hochmooren (Literaturzusammenfassung in Lütt 1992, Bragazza *et al.* 1998) und im Vergleich der Behandlungen: unterschiedliche Signatur bedeutet signifikante Unterschiede, - = niedrigere, o = ähnliche, + = höhere Werte als in der Literatur angegeben, die Anzahl der + gibt an, um wie vielfach höher die gemessenen Werte des Feldversuches sind.

Variante	Lage (vgl. Abb. 5c)	Wasser ¹	Nährstoffe im Porenwasser ²						
			PO_4^{3-}	NH_4^+	NO_3^-	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Na^+
„Nass/P-reich“	Feld „nass“, Feldrand	Mittel: -2,9 cm \pm 3,0 cm/ Min: -15,8 cm/ Max: +6,5 cm	++	o	++	+	+++	+++	+
„Nass/P-arm“	Feld „nass“, Feldmitte	Mittel: -2,9 cm \pm 4,4 cm/ Min: -21,4 cm/ Max: +5,0 cm	-	o	o	+	+++++	+++++	++
„Feucht/P-reich“	Feld „feucht“, Feldrand	Mittel: -4,4 cm \pm 3,5 cm/ Min: -24,0 cm/ Max: +3,0 cm	++	-	+	+	+++	+++	+
„Feucht/P-arm“	Feld „feucht“, Feldmitte	Mittel: -6,4 cm \pm 7,8 cm/ Min: -36,3 cm/ Max 6,5 cm	o	o	+	+	+++++	+++++	++

Der nach vorheriger Grünlandbewirtschaftung stark degradierte und durchwurzelte Oberboden wurde bis zum schwach zersetzten und gut wasserleitenden Torfmoos-Torf abgetragen (ca. 30 cm, Abb. 7a). Dabei wurden zwei Becken mit ebener Ausgangsfläche geschaffen und das abgetragene Material zu Ringwällen modelliert. In den zwei Becken wurden Felder von jeweils 10x50 m Größe mit einem Ringgraben angelegt, über den durch eine programmierbare Pumpe sowie Zu- und Überlauf der Wasserstand für die beiden Felder separat eingestellt werden konnte. Da mit zunehmenden Abstand zum Ringgraben die Nährstoffverfügbarkeit abnimmt (vgl. Temmink *et al.* 2017, Vroom *et al.* 2020), wurden vier verschiedene Varianten hinsichtlich Wasser- und Phosphorverfügbarkeit getestet: Nass/P-reich, Nass/P-arm; Feucht/P-reich und Feucht/P-arm (vgl. Tab. 2, Abb. 8), die das Spektrum an Standortbedingungen nach optimiertem Wassermanagement im Feldgroßversuch abbilden. Deutlich wird, dass die Porenwasserkonzentrationen an Elementen um ein Vielfaches höher war als in natur-nahen Hochmooren Tab. 2).

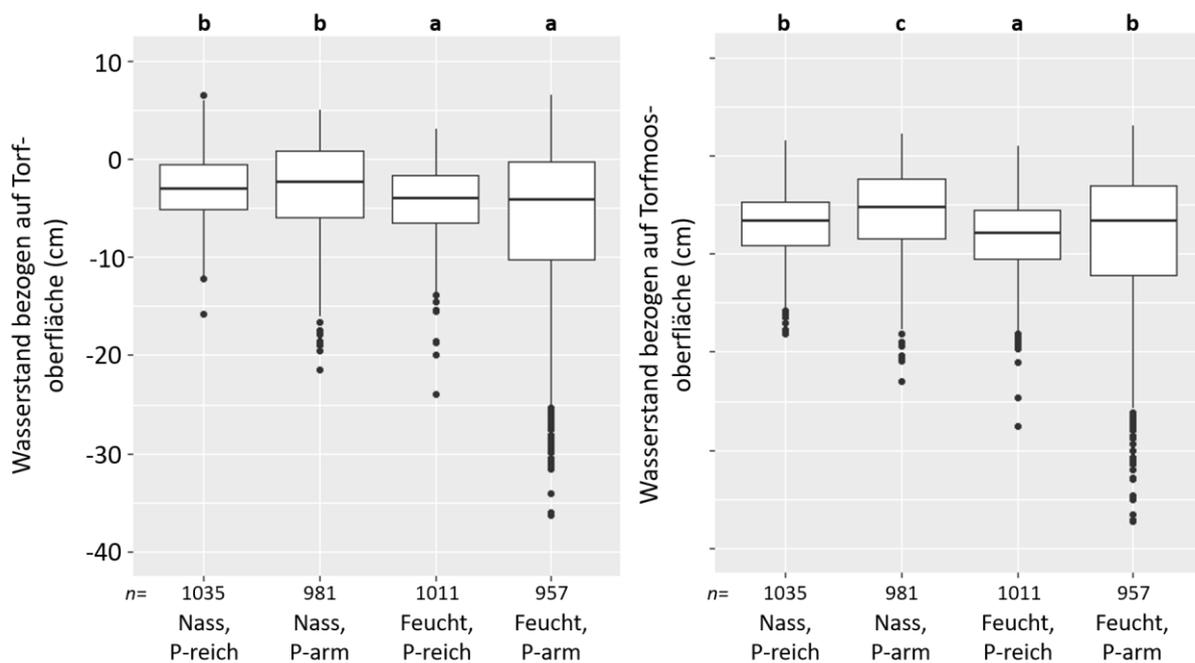


Abb. 8. Wasserstände (cm) im Feldversuch mit selektierten Torfmoos-Mikroprovenienzen; bezogen auf die Torfoberfläche (links) bzw. auf die Torfmoos-Capitula-Oberfläche (rechts) für die vier Varianten „Nass/P-reich“, „Nass/P-arm“, „Feucht/P-reich“ und „Feucht/P-arm“ (n = Anzahl der Messungen). Messungen an fünf Stichtagen sowie nach 6, 12 und 24 Versuchsmonaten.

Einrichtung der Untersuchungsplots und Management: Die anhand der beiden Selektionsschritte im Mutterpflanzenquartier und Klimaschrankversuch als zwei produktivste Mikroprovenienzen pro Art identifizierten Moose wurden für den Feldversuch ausgewählt, der im Herbst 2019 startete (Abb. 7b). War von einer Torfmoos-Mikroprovenienz nicht genügend Material für den Feldversuch verfügbar, wurde die nächstbeste Mikroprovenienz ausgewählt. Wenn in dieser Auswahl von einer Art noch keine regionale Mikroprovenienz enthalten war, wurde die beste NW-deutsche Mikroprovenienz zusätzlich untersucht ebenso wie *S. palustre* und *S. fallax* aus dem bisherigen Feldgroßversuch im Hankhauser Moor. Aus logistischen Gründen wurden acht Mikroprovenienzen bereits im Frühjahr 2019 ausgebracht. Insgesamt wurden 39 Torfmoos-Mikroprovenienzen einschichtig mit einer Deckung von 80 % in Blöcken nach Herkunftsland auf jeweils drei zufällig verteilten Wiederholungsplots à 60x60 cm pro

Variante ausgestreut, mit Ausnahme von zwei Mikroprovenienzen, die nur am Grabenrand (P-reich) getestet wurden. Jeder Plot ($n=474$) wurde mit einem Pegelrohr versehen sowie Pegelrohre in einem Transekt vom Graben, 1 m und 5 m Abstand zum Graben installiert. Wasserstände wurden manuell an Stichtagen gemessen (alle Pegelrohre) bzw. wöchentlich (im Winter seltener) im Transekt. Die Untersuchungsplots waren über Bohlen erreichbar und mittels Vogelschutzband vor Störungen geschützt. Um Gefäßpflanzenaufkommen zu minimieren, wurden noch nicht eingerichtete Bereiche mit Vlies abgedeckt und in den Untersuchungsflächen Gefäßpflanzen 3-4 Mal jährlich manuell entfernt.

Für Untersuchungen zum Wachstum der Torfmoos-Mikroprovenienzen im Feldtest wurden drei Mal (6, 12 und 24 Monate nach Ausbringung) auf jeweils 25x25 cm die Torfmoosdeckung geschätzt sowie Rasenhöhe und Vitalität der Torfmoose ermittelt. Nach 12 und 24 Monaten wurde auf 15x15 cm pro Plot der Torfmoosrasen geerntet, Fremdbewuchs aussortiert und das Gewicht nach 48 h Trocknung bei 80°C bestimmt. In den nach 12 Versuchsmonaten geernteten Torfmoos-Capitula wurden Nährstoffgehalte (NPK) und Gehalte an weiteren Elementen bestimmt. Die Standortbedingungen, wie Wasserstand und Qualität des Grabenwassers sowie des Porenwassers in den Torfmoosrasen wurden dokumentiert.

Etablierung der Torfmoosrasen: Zwölf Monate nach Ausbringung waren ca. 80 % der Plots zu ≥ 90 % mit Torfmoosen bedeckt, der Torfmoosrasen war etabliert – am Grabenrand bei höherer P-Verfügbarkeit und geringeren Wasserstandsschwankungen besser als in der Feldmitte (Tab. 3). Im Vergleich der Arten etablierte sich *S. denticulatum* am schnellsten (mittlere Torfmoos-Gesamtdeckung von 100 %, $n= 24$); dagegen *S. magellanicum* sensu lato und *S. austinii* am langsamsten (beide mit jeweils 82 %, $n= 28$ bzw. $n= 24$). Die im Frühjahr ausgebrachten Moose etablierten sich mit einer mittleren Torfmoos-Gesamtdeckung von 97 % ($n= 84$) besser als die im Herbst ausgebrachten (88 %, $n= 390$).

Tab. 3. Mittlere Torfmoos-Deckungen (in %) und -Rasenhöhen (in cm) 12 Monate nach Versuchseinrichtung im Hankhauser Moor, betrachtet für die vier Varianten.

Variante	Anzahl der Messungen	Ø Torfmoos-Deckung gesamt	Ø Torfmoos-Deckung vital	Ø Torfmoos-Rasenhöhe
"Nass/P-reich"	123	92 %	79 %	3,6 ± 1,8 cm
"Nass/P-arm"	117	88 %	58 %	2,1 ± 1,1 cm
"Feucht/P-reich"	120	96 %	83 %	3,7 ± 1,7 cm
"Feucht/P-arm"	114	81 %	46 %	1,9 ± 1,4 cm

Einfluss von *Sphagnum*-Art und Mikroprovenienz auf die Produktivität: Für Vergleichbarkeit der im Feldversuch erreichten Produktivitäten untereinander wurde das Trockengewicht der nach 24 Versuchsmonaten geernteten Torfmoose auf 100 % Gesamtdeckung und 730 Tage normiert und so die Produktivität (g Trockengewicht $m^{-2} a^{-1}$) ermittelt. Untersuchungsplots mit einer großen Differenz (≥ 30 %) zwischen Gesamtdeckung und Deckung vitaler Torfmoose wurden in der Analyse nicht berücksichtigt. Die Torfmoos-Produktivitäten von Frühjahrs- und Herbstausbringung wurden zusammengefasst betrachtet, da nach 24 Monaten Versuchsdauer keine signifikanten Unterschiede mehr hinsichtlich Produktivität beobachtet wurden.

Verglichen mit der globalen durchschnittlichen Torfmoos-Produktivität von 250 g Trockenmasse $m^{-2} a^{-1}$ (Gunnarson 2005) erreichten 36 der 39 getesteten Torfmoos-Mikroprovenienzen nach 24 Monaten

eine höhere mittlere Produktivität (Abb. 9). Die aus der Literatur bekannte höchste Produktivität für jede *Sphagnum*-Art (rote Balken in Abb. 9) wurde von fünf Mikroprovenienzen überboten (*S. palustre* CZ8-Rasen, *S. fimbriatum* CZ7-Bult und S2, *S. austinii* GE2_1-Bult und GE2_2-Bult). Dieser Erfolg bestätigt, dass gezielte Selektion zur Produktivitätssteigerung führt. Für andere Zielarten wurden die höchsten, bekannten Produktivitätsraten bisher nicht erreicht, hier besteht weiterer Sammel- und Selektionsbedarf. Für *Sphagnum fallax* wurde festgestellt, dass alle drei anderen Mikroprovenienzen produktiver waren als die seit 2011 im Hankhauser Moor im Feldgroßversuch verwendete (D9), bei *S. palustre* war die Biomasseproduktivität der Mikroprovenienz CZ8-Rasen um 30 % höher und zudem die produktivste im gesamten Feldversuch (Abb. 9). Die nach 24 Versuchsmonaten im Mutterpflanzenquartier ermittelte innerartliche Reihung (Biomassezuwachs, vgl. Abb. 3, 4) wurde im Feldversuch für *Sphagnum palustre* bestätigt und für *S. fallax* wurde gezeigt, dass dieselben beiden Mikroprovenienzen wie im Mutterpflanzenquartier auch im Feldversuch produktiver als die Referenz waren (nur Reihung anders). Während im Mutterpflanzenquartier *S. riparium* und *S. squarrosum* die produktivsten *Sphagnum*-Arten waren, zeigten diese Arten unter den nährstoffreicheren Bedingungen im Feldversuch vergleichbar geringe Produktivitäten. Weiterhin konnten für die beiden Arten, *S. centrale* und *S. squarrosum*, Produktivitäten ermittelt werden, für die noch keine Angaben in der Literatur gefunden werden konnten (Abb. 9).

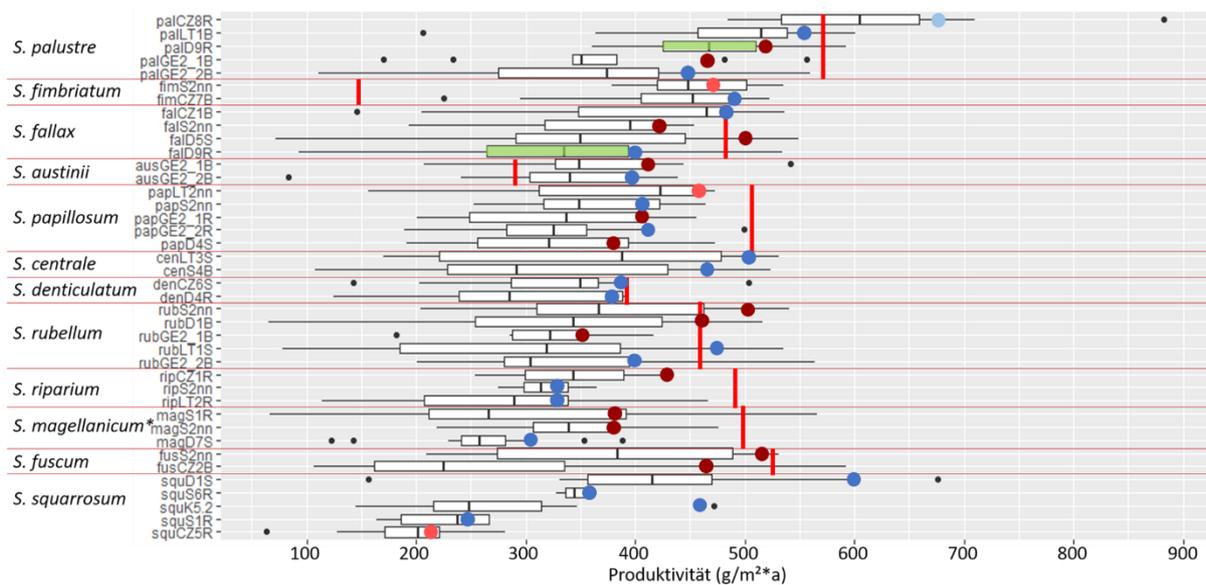


Abb. 9. Torfmoos-Produktivität (als Biomasserate in $\text{g Trockengewicht m}^{-2} \text{a}^{-1}$) unterschiedlicher Mikroprovenienzen von verschiedenen *Sphagnum*-Arten 24 Monate nach deren Ausbringung im Hankhauser Moor ($n=12$). S = Schlenke, R = Rasen, B = Bult), * *S. magellanicum* sensu lato (also *S. divinum* + *S. medium*). Farbige Punkte: höchste mittlere Produktivität für jede Torfmoos-Mikroprovenienz ($n=3$), die Farbe der Punkte zeigt die entsprechende Variante (P=Phosphor): Nass/P-reich, Nass/P-arm, Feucht/P-reich, Feucht/P-arm. Roter Strich: maximale Produktivität auf Artniveau nach Literaturangaben (Gunnarsson 2005, Gaudig 2001, Krebs *et al.* 2016, Ilyashuk 2002), grün: bisher verwendete Torfmoose für die Paludikultur im Hankhauser Moor.

Einfluss von Wasserstand und Nährstoffverfügbarkeit auf die Produktivität: Am Grabenrand produzierten die meisten Torfmoos-Mikroprovenienzen bei höherer P-Verfügbarkeit und geringeren Wasserstandsschwankungen sowie weniger Überstau (Tab. 2) mehr Biomasse (nach 24 Monaten Versuchsdauer) als in der Feldmitte (Abb. 9, 10).

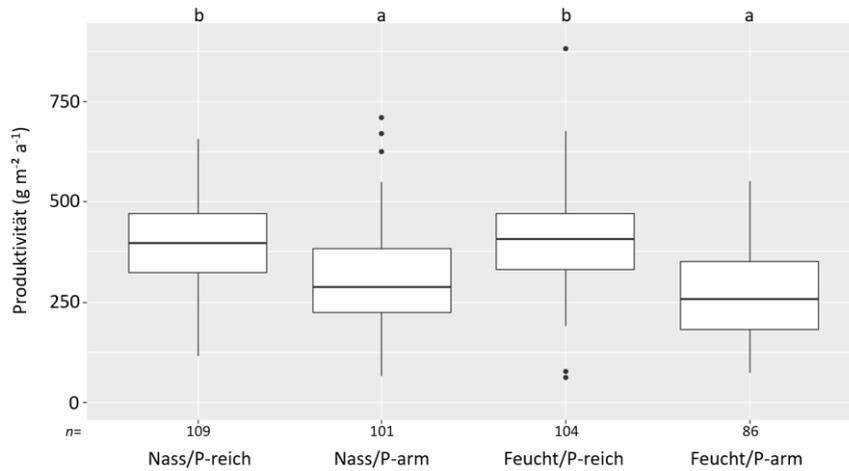


Abb. 10. Torfmoos-Produktivität (in g Trockengewicht m⁻² a⁻¹) der Mikroprovenienzen 24 Monate nach deren Ausbringung im Feldversuch im Hankhauser Moor entsprechend der vier Varianten. Buchstaben (a und b) zeigen Signifikanzniveaus.

Zur Einschätzung von Stickstoff- oder Phosphorlimitationen des Torfmooswachstums wurde das N/P-Verhältnis in den Capitula verwendet, das im Mittel bei 12 lag und nach Aerts *et al.* (1992) auf eine optimale N- und P-Versorgung deutet. Gaudig *et al.* (2017) beschreiben P-limitiertes Wachstum der Torfmoose in einer Paludikultur in Nordwestdeutschland für N/P-Werte >18, was nur für 15 % der Werte im MOOSzucht-Feldversuch, insbesondere bei Proben aus der Feldmitte zutraf (Abb. 11). Somit wiesen die Daten auf eine weitestgehend gute und ausgeglichene N- und P-Versorgung für Torfmooswachstum hin. Eine N-Limitation wird zwar von Aerts *et al.* (1992) für N/P-Verhältnisse <10 angegeben (wie bei Variante Nass/P-reich), ist aber aufgrund der hohen N-Deposition in der Region (22 kg ha⁻¹ a⁻¹) weitgehend auszuschließen. Kalium ist ein weiteres Hauptnährelement. Hohe K⁺-Konzentrationen im Porenwasser in allen Varianten (Tab. 2) und mit $\bar{\phi}$ 4,8 mg g⁻¹ hohe K⁺-Gehalte in den Capitula weisen auf eine gute Kaliumversorgung hin. Nur ca. 20 % der N/K-Werte waren > 3,3, was nach Bragazza *et al.* (2004) auf eine K-Limitation des Torfmooswachstums deutet.

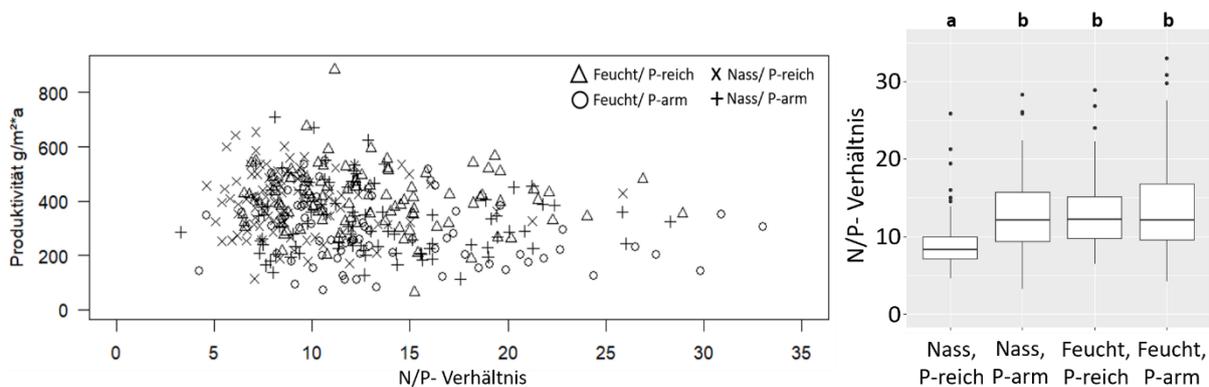


Abb. 11. N/P-Verhältnis in den Torfmoos-Capitula nach 12 Monaten Wachstum bezogen auf die vier Varianten, links) in Bezug zur Torfmoos-Produktivität nach 24 Monaten (g Trockenmasse m⁻² a⁻¹); rechts) für die vier Varianten in boxplots zusammengefasst. Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterschieden sich signifikant ($P \leq 0,05$). Unterschiede zwischen den Behandlungen wurden mit dem nicht-parametrischen Kruskal Wallis-Test nach Siegel & Castellan (1988) analysiert.

Während am Grabenrand die Verfügbarkeit von Phosphor höher war als in der Flächenmitte, verhielt es sich mit anderen Nährelementen wie Calcium, Magnesium und Schwefel umgekehrt (Tab. 2), was sich auch bei den Gehalten in den Capitula widerspiegelte und mit der Torfmoos-Produktivität negativ

korrelierte (Abb. 12). Insbesondere eine hohe Calcium-Verfügbarkeit führt zu verringertem Torfmooswachstum, da die Ca^{2+} -Ionen als erstes aufgenommen werden und die Aufnahme anderer Elemente hemmt (Hajek & Adamec 2009). Die Schwefelgehalte in den Capitula ($\bar{\varnothing}$ 0,15 mg g^{-1}) sind höher als in natürlichen Hochmooren (Bottrell & Novak 1997) und können die photosynthetische Kohlenstoff-Fixierung beeinträchtigen (Ferguson & Lee 1983).

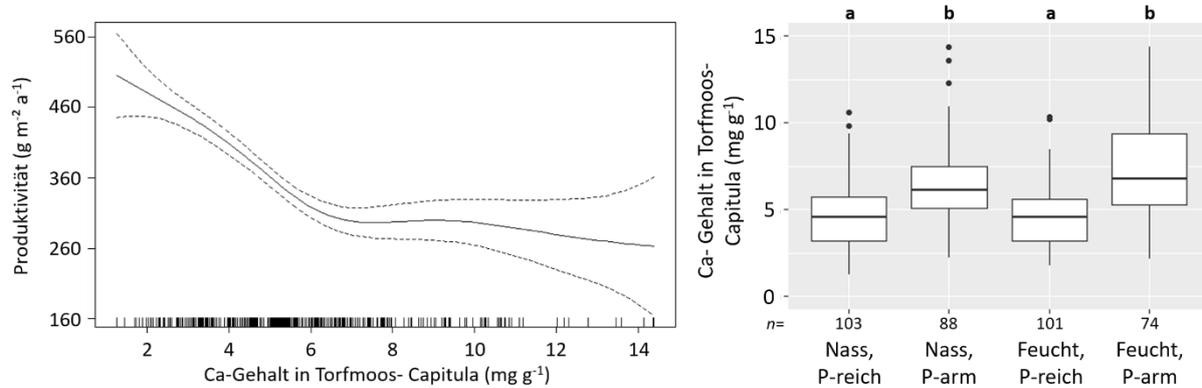


Abb. 12. links) Torfmoos-Produktivität nach 24 Monaten ($\text{g Trockenmasse m}^{-2} \text{a}^{-1}$) und Ca-Gehalt in den Torfmoos-Capitula nach 12 Monaten; Darstellung des Zusammenhanges mittels loess smoother, der Trendlinie (durchgehend) und den 95 % Konfidenzintervall (obere und untere gestrichelte Linie) angibt, mit Angabe der Einzeldatenlage der Ca-Gehalte (Striche auf der y-Achse repräsentieren 10 Messwerte je Strich), rechts) Ca-Gehalt in den Torfmoos-Capitula (mg g^{-1} Trockenmasse) für die vier Varianten in boxplots zusammengefasst. Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($P \leq 0,05$). Unterschiede zwischen den Behandlungen wurden mit dem nicht-parametrischen Kruskal Wallis-Test nach Siegel & Castellan (1988) analysiert.

Beim Stand der Domestikation und Selektion zu Projektende, wurden zumindest im Feld an den selektierter Torfmoos-Sippen (hier: Torfmoos-Mikroprovenienzen) noch keine morphologischen Merkmale beobachtet, die von denen der Wildformen abwichen (für Beschreibung von Wildformen vgl. z.B. Michaelis 2012). Deswegen wurde hier auf die Beschreibung von Wuchsformen verzichtet.

Reaktionsnormbestimmung im Klimaschrankversuch

Die Produktivitätsbestimmung der Torfmoose im zweiten Selektionsschritt (Klimaschrankversuch) erfolgte unter einheitlichen Bedingungen (Temperatur, Licht, Luftfeuchtigkeit, Wasserstand und Nährstoffgehalt des Mediums). Um den Einfluss unterschiedlicher N, P und K-Verfügbarkeiten auf das Torfmooswachstum zu untersuchen sowie auch die Ergebnisse des Klimaschrankversuches zur Selektion zu validieren, wurden zwei Reaktionsnorm-Experimente mit einzelnen Klonen der Arten *S. palustre*, *S. papillosum*, *S. magellanicum sensu lato*, *S. fuscum*, *S. squarrosum* und *S. fallax* durchgeführt. In den Experimenten wurden Einzelmoose von Klonen (und den Einfluss unterschiedlicher Genotypen auszuschließen) im Nährmedium stehend im Klimaschrank getestet mit 2 Wiederholungen je Variante (Kulturbedingungen und Dauer wie im Klimaschrankversuch AP 1).

Im Versuch 1 erfolgte eine Düngung direkt auf die Capitula (mittels Pipette, 1x wöchentlich) für 30 Varianten mit einer Steigerung der N-Zugabe entsprechend der Jahresdeposition von 2 bis $60 \text{ kg N ha}^{-1} \text{a}^{-1}$ bei gleichzeitiger Erhöhung der P- und K-Zugaben für ein gleichbleibendes NP- und NK-Verhältnis bzw. gleichbleibende NPK-Stöchiometrie (vgl. Aerts *et al.* 1992, Bragazza *et al.* 2004, Temmink *et al.* 2017, Gaudig *et al.* 2020).

Im Versuch 2 wurde das Torfmooswachstum mit verschiedenen N, P und K- Konzentrationen im Nährmedium untersucht mit 32 Varianten von 0,6 – 42 mg N L⁻¹ (vgl. Klimaschrankversuch: Nährlösung 50 % Konzentration von Rudolph *et al.* 1988 entspricht 1,4 mg N L⁻¹, Bewässerungswasser Torfmoos-Paludikulturfläche Hankhauser Moor: Schanze 1,5-4,5 mg N L⁻¹, Graben 0,24 mg N L⁻¹; Temmink *et al.* 2017, Vroom *et al.* 2020) mit gleichbleibender NPK-Stöchiometrie.

Die Biomassezuwächse waren für *S. squarrosus* am höchsten, für *S. fuscum* wie auch im Klimaschrankversuch am niedrigsten (*S. squarrosus* > *S. palustre* > *S. papillosum* > *S. fallax* > *S. magellanicum sensu lato* > *S. fuscum*). Der Biomasseaufwuchs blieb unabhängig von der Nährstoffverfügbarkeit für alle Arten ähnlich hoch, mit Ausnahme von *S. fallax* mit geringeren Biomassezuwächsen bei den Varianten > 40 kg N ha⁻¹a⁻¹ (Versuch 1) und geringfügig höheren Biomassezuwächsen von *S. squarrosus*, *S. palustre*, *S. papillosum* ab einer Mediumkonzentrationen von 9,3 mg N L⁻¹ (Versuch 2). Ein erhöhtes Längenwachstum wurde für alle Arten bis zur Variante mit 9,3 mg N L⁻¹ im Nährmedium beobachtet. *S. magellanicum sensu lato* und *S. papillosum* wiesen bei den Varianten > 30 kg N ha⁻¹a⁻¹ höhere Längenzuwächse und geringere Capitulagewichte auf (Versuch 1), was nach Twenhöven (1992) eine Wachstumshemmung durch zu hohe N-Verfügbarkeit andeutet. Insgesamt scheint auch bei sehr hoher N-Verfügbarkeit unabhängig ob durch atmosphärischen oder Porenwassereintrag eine Toxizität durch ebenfalls erhöhte P- und K-Verfügbarkeiten (gleichbleibende Stöchiometrie) mindestens abgeschwächt.

Die Zuwächse aus dem Klimaschrankversuch zur Selektion waren ähnlich hoch wie in den beiden Reaktionsnorm-Versuchen. Damit zeigt sich, dass bei ausgeglichener NPK-Stöchiometrie und fehlender Nährstofflimitation eine Selektion von Mikroprovenienzen verschiedener Arten erfolgreich möglich ist. Untersuchungen zum Torfmooswachstum mit Unterschieden in der NPK-Stöchiometrie sind für weitere Selektionsschritte zur Bestimmung geeigneter Mikroprovenienzen für verschiedene Standortbedingungen sinnvoll.

Vermehrung produktivster Torfmoosindividuen zur axenischen Inkulturnahme

Für die Bereitstellung von 50 ausgereiften Capitula der als am produktivsten selektierten Torfmoosindividuen verschiedener Arten zur axenischen Inkulturnahme von vegetativem Ausgangsmaterial (AP 2) wurden die Torfmoose in 2 cm-Abschnitte zerkleinert und auf Torf in Saatschalen kultiviert. Da sich die *Sphagnum*-Arten in ihrer Geschwindigkeit bei der Bildung neuer Capitula und in ihrer Wachstumsrate stark unterscheiden, zog sich die Vermehrung über unterschiedlich lange Zeiträume. Spätestens nach 6 Monaten Wachstum konnte für alle ausgewählten Torfmoosindividuen ausreichend Material für die vegetative axenische In-Kulturnahme bereitgestellt werden.

AP 2 Smart breeding und axenische Inkulturnahme

Smart *Sphagnum* breeding

Für das Smart *Sphagnum* Breeding (SSB) wurde als Vorbedingung für die Polyploidisierung ein erfolgreiches Protokoll für die Protonema-Generierung (Ausgangsgewebe für die Protoplastenfusion) entwickelt und bei elf *Sphagnum*-Kultivaren erfolgreich angewendet. Die Isolierung von Protoplasten sowie die Fusion gelang für einzelne Arten. Für *S. papillosum* konnte eine hohe Regenerationsrate der Protoplasten festgestellt werden. Die Entwicklung von Gametophoren aus einzelnen Protoplasten erforderte jedoch drei Monate, erste Knospenansätze junger Gametophoren konnten zwei Monate nach der Protoplastenisolierung beobachtet werden. Bei *S. palustre* konnten keine Bedingungen gefunden werden, unter denen eine effiziente Protoplastenregeneration möglich ist, nur einzelne Zellen regenerierten und bildeten Gametophoren aus. Während die Fusion von Protoplasten als Prozess erfolgreich etabliert werden konnte, braucht es zur effizienten Identifizierung fusionierter Protoplasten noch weitere Entwicklungen, da sich etablierte Verfahren zur Nachverfolgung von ausgewählten Zellen aufgrund der langen Regenerationszeit der Protoplasten nicht eignen. Gametangien konnten unter Laborbedingungen nicht induziert werden, eine Züchtung neuer Arten durch Kreuzung unter axenischen Bedingungen ist bisher nicht möglich. Zur Selektionszüchtung in MOOSzucht erfolgte neben einer nicht-axenischen auch eine axenische Inkulturnahme.

Etablierung axenischer *In vitro*-Torfmoos-Kultivare aus Sporen

Voraussetzung für eine Vermehrung im Photobioreaktor ist die axenische Inkulturnahme. In MOOSzucht ist die Oberflächensterilisierung von Sporenkapseln und die Erzeugung daraus hervorgehenden axnischen Pflanzen gelungen, womit ein effizientes Protokoll etabliert wurde. Nach Überprüfung des Überlebens wurden die Klone über mehre Schritte, auf Festmedium sowie in Submerskulturen, im Hinblick auf die höchste Produktivität selektiert.

Zunächst wurden Sporenkapseln im Feld gesammelt. Konzentrations- und Zeitreihen wurden zueinander variiert, um optimale Sterilisationsbedingungen zu identifizieren: 0,6 %, 1,2 % oder 2,4 % Natriumhypochlorit-Lösung als Sterilisationsmittel sowie Einwirkdauer zwischen 30 Sekunden und 7 Minuten. Die optimalen Bedingungen für eine erfolgreiche Dekontamination zeigten sich jede Sporenkapsel individuell unterschiedlich. Dabei konnte zwischen der *Sphagnum*-Art, dem Reifegrad der Sporenkapsel, der Konzentration bzw. Einwirkdauer des Sterilisationsmittels und der Sporenceimung kein Zusammenhang ermittelt werden. Nach Sterilisation der Sporenkapseln keimten die Sporen im Durchschnitt nach 2 bis 20 Wochen. Die gekeimten Sporen wurden zunächst auf festen Nährböden kultiviert und die Sterilität durch Abstriche auf drei verschiedenen Indikationsmedien (für die Hauptkontaminanten Mikroalgen, Pilze und Bakterien) überprüft. Anschließend wurde das Pflanzenmaterial in Submerskultur gezogen und erneut auf Sterilität überprüft. Dadurch konnten neun der Ziel-*Sphagnum*-Arten und zehn weitere *Sphagnum*-Arten erfolgreich in eine axenische Kultur überführt werden, davon 15 haploide und 4 diploide Arten (Tab. 4).

Um den wüchsigsten Klon zu ermitteln, wurden gleiche Mengen Pflanzenmaterial von bis zu 16 Klonen pro Art auf Nährböden mit Knop-ME Medium (Schween *et al.* 2003) sowie Knop-ME Medium mit 1% Saccharose und 1,25 mM Ammoniumnitrat (Standard *Sphagnum* Medium nach Beike *et al.* 2015) kultiviert. Nach einer Kultivierungsdauer von vier Wochen wurde das Wachstum verglichen, indem die

Größe der Gametophoren bestimmt wurde. Dazu wurden die Gametophoren fotografiert, in ein binäres Bild umgewandelt und die Fläche anhand der Pixel bestimmt. Die Wachstumsraten der sechs wüchsigsten Klone wurden anschließend in flüssigem Standard *Sphagnum* Medium überprüft. Nach weiteren sechs Wochen Kultivierung wurde der Biomassezuwachs mittels Trockengewichtsbestimmung ermittelt. Für jede Art in axenischer Kultur wurde so der wüchsigste Klon bestimmt (vgl. Abb. 5 in AP 1 und Abb 13).

Des Weiteren wurde der Biomassezuwachs zwischen den wüchsigsten Klonen der 19 verschiedenen *Sphagnum*-Arten miteinander verglichen. Hierzu wurde jeweils 50 mg Frischgewicht in 35 mL des Standard-*Sphagnum*-Mediums kultiviert und nach sechs Wochen das Gesamt-Trockengewicht ermittelt. Unter diesen Bedingungen erreichte *Sphagnum fallax* unter den Zielarten den höchsten Biomassezuwachs (Abb. 13).

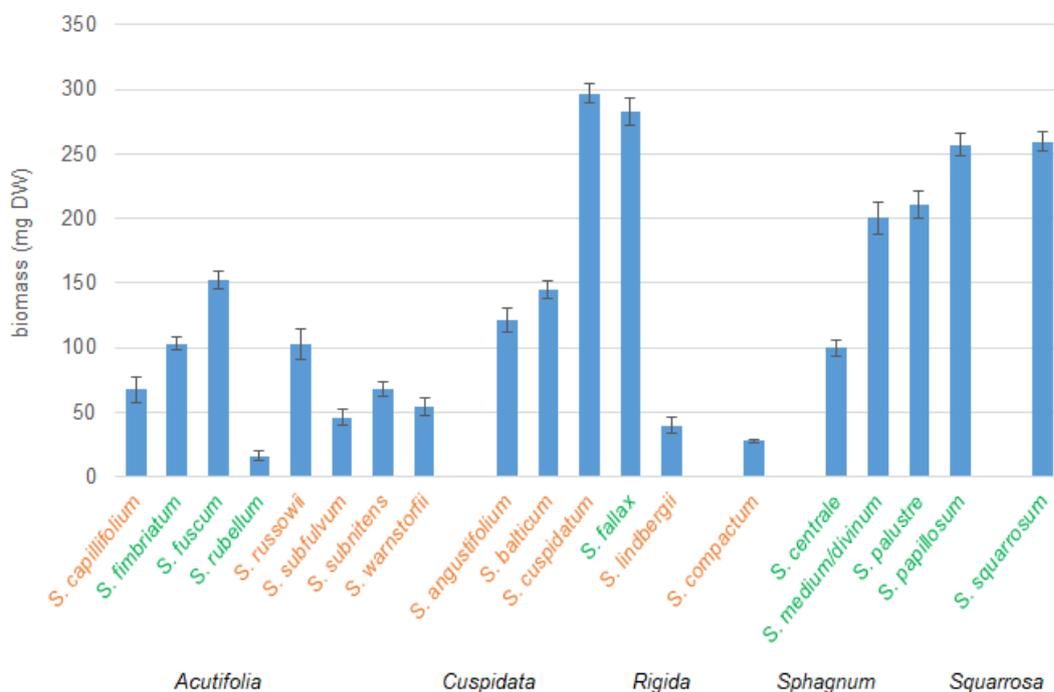


Abb. 13. Gesamt-Trockengewicht (in mg) von 19 *Sphagnum*-Arten (sortiert nach Zugehörigkeit zu *Sphagnum*-Sektionen) nach 6 Wochen Kultivierung von 50 mg FW in 35 mL *Sphagnum*-Medium (Quelle: Heck *et al.* 2021a), grün= Zielarten im Projekt ($n=9$), orange = weitere Arten ($n=10$).

Genetische Unterscheidung mittels DNA-Barcoding

Da sich die axenisch kultivierten Torfmooskultivare morphologisch von den Wildformen unterscheiden, müssen diese für eine eindeutige Zuordnung auf genetischer Ebene - mittels DNA-Barcoding - charakterisiert und damit voneinander unterschieden werden. Das Gen BRK1 wurde für das DNA-Barcoding der produktivsten Klone der 19 axenisch kultivierten *Sphagnum* Arten verwendet. Die Amplifikation ergab zwei Sequenzen, mit einer Länge von ca. 500 bp (BRK1 short) sowie ca. 1300 bp (BRK1 long). Mit diesen beiden Sequenzen können 18 der 19 *Sphagnum*-Arten voneinander unterschieden werden. *S. capillifolium* und *S. rubellum* liefern identische Sequenzen, differenzieren sich jedoch anhand ihrer phänotypischen Merkmale. Die vier *Sphagnum*-Arten *S. centrale*, *S. palustre*, *S. papillosum* und *S. russowii* liefern jeweils zwei Sequenzen für BRK1 short und BRK1 long was auf

einen hybriden Ursprung hindeutet. Mittels Durchflusszytometrie konnte die Diploidie dieser vier Arten bestätigt werden, wobei die restlichen 15 *Sphagnum*-Arten haploid sind (Heck *et al.* 2021a).

Es konnte keine Korrelation zwischen Ploidie und Produktivität festgestellt werden. Die diploiden Arten *S. palustre* und *S. papillosum* gehören zu den sechs Arten mit dem größten Biomassezuwachs, wobei die haploiden Arten *S. cuspidatum* und *S. fallax* den größten Biomassezuwachs lieferten. Die anderen beiden diploiden Arten *S. centrale* und *S. russowii* erzielten eine durchschnittliche Biomassezunahme (Heck *et al.* 2021a).

Etablierung axenischer *In vitro*-Torfmoos-Kultivare aus vegetativem Material

Neben den Sporen ist es in MOOSzucht gelungen, auch ein Protokoll zur Oberflächensterilisierung von vegetativem (grünen) Gewebe zu entwickeln und erfolgreich für zwölf *Sphagnum*-Arten anzuwenden. Dadurch konnten die in AP 1 bestimmten produktivsten Genotypen in axenische Kultur aufgenommen und so der Bestand von Torfmooskultivaren durch *S. austinii*, *S. denticulatum* und *S. riparium* auf 22 Arten erweitert werden (Tab. 4), die nun als neu generierte Kultivare für Freilandversuche zur Verfügung stehen.

Um das Wachstum der verschiedenen Klone zu vergleichen, wurden je 3 Köpfchen pro Art in 100 mL Erlenmeyerkolben in 50 mL Standard *Sphagnum* Medium mit 0,3 % Saccharose als Triplikate für 6 Wochen kultiviert und anschließend das Trockengewicht bestimmt. Danach wiesen die axenischen Klone des produktivsten Genotyps von *S. rubellum* in Submerskultur eine höhere Produktivität auf als der bisher vorhandene Klon (generiert aus Sporen).

Ein herausragender Vorteil der Etablierung axenischer *In vitro*-Kultivare aus vegetativem Torfmoosmaterial ist, dass ein besonders wertgebendes z.B. selektiertes hochproduktives Torfmoosindividuum axenisch und klonal massenhaft vermehrt werden kann. Zudem entfällt die Notwendigkeit, Sporenkapseln zu sammeln, die von vielen *Sphagnum*-Arten nur äußerst selten gebildet werden.

Tab. 4. *Sphagnum*-Arten in axenischer Kultur. Die grün und orange markierten Arten sind Fokusarten im Projekt. Für die grün markierten Arten wurden die Wachstumsbedingungen optimiert. Schwarz markiert sind weitere in axenische *in vitro*-Kultur genommene Arten. (2n) kennzeichnet diploide Arten, *Taxonomie der Art aktuell in Diskussion.

<i>Sphagnum</i> -Art	Aus vegetativem Material	Aus Sporenkapseln	Medienoptimierung	Bioreaktor	Protonema-induktion	Einleitung der Gametangien-induktion
<i>S. angustifolium</i>		✓				
<i>S. austinii</i>	✓					
<i>S. balticum</i>		✓			✓	✓
<i>S. capilifolium</i>		✓			✓	✓
<i>S. centrale</i> (2n)	✓	✓	✓		✓	✓
<i>S. compactum</i>		✓				
<i>S. cuspidatum</i>		✓				✓
<i>S. denticulatum</i>	✓					
<i>S. fallax</i>	✓	✓	✓			✓
<i>S. fimbriatum</i>	✓	✓	Abbruch	Abbruch	✓	✓
<i>S. fuscum</i>	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. lindenbergii</i>		✓				
<i>S. magellanicum s.l.*</i>	✓	✓			✓	✓
<i>S. palustre</i> (2n)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. papillosum</i> (2n)	✓	✓	✓		✓	✓
<i>S. riparium</i>	✓					
<i>S. rubellum</i>	✓	✓				
<i>S. russowii</i> (2n)		✓				
<i>S. squarrosum</i>	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>S. subnitens</i>		✓				✓
<i>S. subfulvum</i>		✓			✓	✓
<i>S. warnstorffii</i>		✓			✓	✓

AP 3 Etablierung und Optimierung der Kulturparameter für die Vermehrung in axenischer *In vitro*-Bioreaktorkultur

Optimierung der Kulturparameter in Submerskultur unter photoheterotrophen Bedingungen

Für sechs *Sphagnum*-Arten (*S. palustre*, *S. fallax*, *S. squarrosum*, *S. papillosum*, *S. fuscum* und *S. centrale*) wurde das Medium optimiert und hierfür ein experimentelles Design (Design Expert, Stat-Ease) verwendet. Aus acht Faktoren wurden zuerst die signifikanten Faktoren mit einem zweistufigen faktoriellen Design ermittelt. Anschließend erfolgte die Optimierung mit einem Central-Composite-Design (CCD). In parallelen Experimenten mit kleinen Kulturvolumina von 200 mL wurden folgende Kulturparameter individuell für jede der sechs Arten bestimmt: Medienzusammensetzung, Nährstoffverbrauch, Temperatur, CO₂-Begasung, Lichtintensität und Beleuchtungsdauer. Im Ergebnis können zwar alle *Sphagnum*-Arten in Suspension im Standard-Medium (Beike *et al.* 2015) kultiviert werden, jedoch enthält das optimierte Medium weniger Nährsalze, wodurch der Prozess kostengünstiger wird bei gleichzeitiger Steigerung der Produktivität (Heck *et al.* 2021b).

Die Erkenntnisse aus diesen Experimenten konnten auf die Kultivierung in 5 L Rührkessel-Photobioreaktoren übertragen werden. Der Photobioreaktorprozess wurde für *S. palustre*, *S. squarrosum* und *S. fuscum* erfolgreich durchgeführt: mit einer 25-fachen Biomasse-zunahme für *S. squarrosum*, 40-facher Biomassezunahme für *S. palustre* (Abb. 14) und 50-facher Biomassezunahme für *S. fuscum* innerhalb von 24 Tagen. Der optimierte Prozess umfasst eine Vorkultur für 2 Wochen in einem 1L Erlenmeyerkolben mit 500 mL Standard-*Sphagnum* Medium mit 1 % Saccharose (Beike *et al.* 2015), die anschließende Kultivierung im 5 L Rührkessel-Photobioreaktor mit optimiertem Medium, im Verlauf der Kultur ansteigender Lichtintensität von 150 bis zu 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, einem Tag/Nacht-Zyklus von 20/4 Stunden sowie einer Druckluftbelüftung von 0,3 vvm (Volumen Luft pro Volumen Kulturmedium und Minute), angereichert mit 2 % CO₂ (Heck *et al.* 2021b).

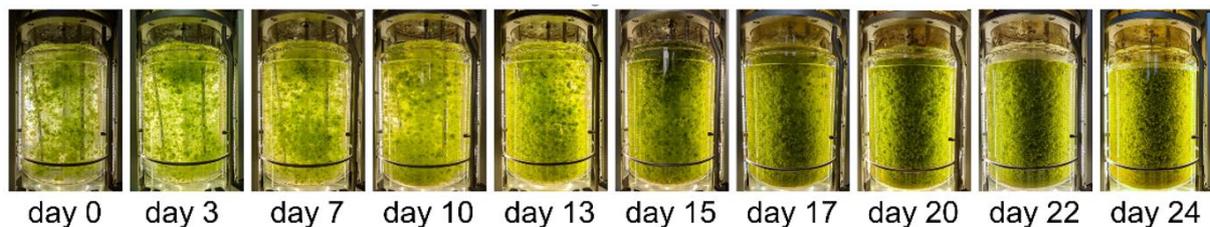


Abb. 14. Kultivierung von *S. palustre* im 5 L Rührkessel-Photobioreaktor für 24 Tage in optimiertem Palustre-Medium (Heck *et al.* 2021b, Fotos: Melanie Heck).

Kontinuierliche Produktion in Blasensäulenreaktoren

Die kontinuierliche Produktion von *S. palustre* Klon 12a in 6L Blasensäulenreaktoren lieferte eine gleichmäßige Menge an homogenem „Saatgut“ mit einer durchschnittlichen Biomasse von $359,3 \pm 52,2$ g Frischgewicht innerhalb von 26 Tagen ($n=21$).

Zur Produktion von größeren Mengen Saatgut wurde ein 20 L-Blasensäulenreaktortyp, der in einem parallelen Projekt entwickelt wurde, auch für Torfmoose erfolgreich getestet. Dadurch konnte gezeigt

werden, dass die Hochskalierung einer axenischen Vermehrung auf 20 L möglich ist, wobei weiteres Optimierungspotential besteht.

Optimierung der Kulturparameter in Submerskultur unter photoautotrophen Bedingungen

Bislang war eine Kultivierung von Torfmoosen im anorganischen Knop Medium nicht realisierbar. Mit der kontinuierlichen Begasung (0,08 vvm, $x_{\text{CO}_2}=1\%$) war es möglich, *S. palustre* reproduzierbar zu kultivieren. Fünfwochige Kultivierungen im *Sphagnum*-Medium ohne Saccharose (AP 3) bei einer Photonenflussdichte (PFD) von $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erbrachten eine durchschnittliche Biomassekonzentration von $6,85 \pm 0,62\ \text{g(BTM)}\cdot\text{L}^{-1}$. Eine reine Luftbegasung (CO_2 -Anteil von 0,04 %) erwies sich für das Wachstum von *S. palustre* in anorganischem Medium als nicht ausreichend, da die durchschnittlich $c_x=0,89 \pm 0,17\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($n=2$) betrug. Somit konnte gezeigt werden, dass eine rein autotrophe Kultivierung möglich ist, womit das Kontaminationsrisiko durch eine organische C-Quelle beseitigt wurde. Bei einem wöchentlichen Mediumwechsel (Knop-Medium 20 % (v/v), $V_M=250\ \text{mL}$) ließen sich auch weitere Torfmoos-Arten wie *S. rubellum in-vitro* in den Schüttelkolben vegetativ vermehren, mit einer vergleichbaren Biomassekonzentration wie *S. palustre* ($c_{\text{BTM}}=5,97 \pm 0,41\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Dies deutet darauf hin, dass für manche Torfmoos-Arten einige Medienkomponente zu hoch konzentriert sind. Dies stellt eine wesentliche Erkenntnis für eine weitere Optimierung des Kulturmediums für andere Torfmoos-Arten dar.

AP 4 Entwicklung eines *Trickle bed*-Bioreaktors zur großskaligen Massenvermehrung von Torfmoos

Für die großskalige Massenvermehrung von Torfmoos wurden drei Reaktorprototypen entworfen, der Kultivierungsprozess etabliert und das Wachstum von *S. palustre* und teilweise weiterer *Sphagnum*-Arten beobachtet.

Moosbettreaktor (Prototyp 1)

Bislang war ein kontrollierter Photobioreaktor zur hydroponischen Torfmooskultivierung, der auf Kultivierungsbedingungen ähnlich der Wasserversorgung von *Sphagnum* in Hochmooren basiert, nicht bekannt. Der erste Prototyp des *Trickle bed*-Reaktors wurde extern anhand einer Entwurf-Skizze (Abb. 15) angefertigt. Das Reaktorelement umfasste ein Arbeitsvolumen von 1,5 L, wobei die Schnittstelle mit dem Gesamtreaktor im Experiment später nachgestellt werden sollte. Die Größe des Reaktorelementes wurde kleinskalig gewählt, um die experimentelle Handhabung zu erleichtern, mehr Elemente zugleich betreiben zu können und so mehr Versuche pro Zeiteinheit zu ermöglichen. Da das Besprühen der Biomasse mit einer Zerstäubungsdüse nicht erfolgreich war, wurde im nächsten Schritt ein quasi-kontinuierlicher Perfusionsprozess vorbereitet. Dabei befanden sich die Torfmoose auf einem Pflanzenvlies (wie in AP 5 verwendet) und wurden hydroponisch kultiviert. Da die Torfmoose selbst das „Bett“ (*bed*) waren und nicht mehr besprenkelt wurden, wurde der Reaktor als **Moosbettreaktor** bezeichnet.

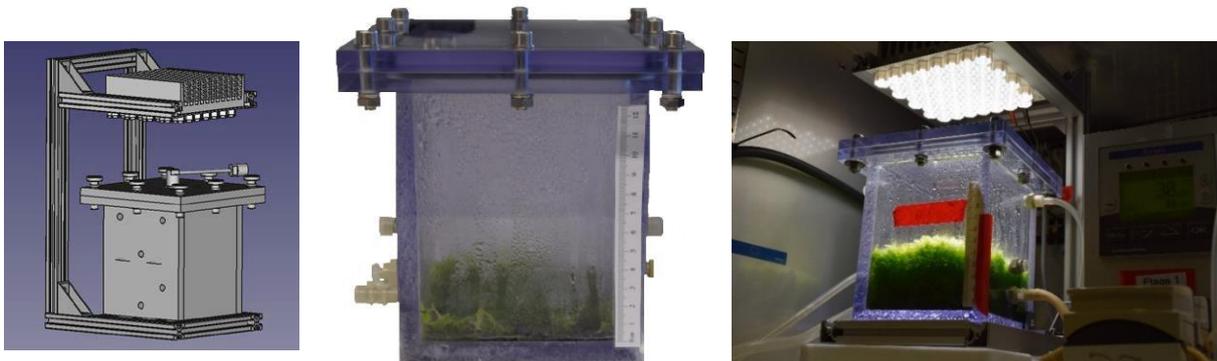


Abb. 15. Moosbettreaktor. Links: Technische Skizze des Moosbettreaktors zusammen mit dem Lichtmodul und Halterung des Lichtmodules. Mitte: Zusammengebauter Moosbettreaktor mit Anschlüssen für die Medienzufuhr, die Medienabfuhr auf Moosbettreaktor, Zugas und das Abgas. Rechts: Der Moosbettreaktor im Betrieb während der Kultivierung von *S. palustre* (Fotos: Ingrida Melkova).

Der Reaktor wurde aus Polycarbonat (Makrolon® GP clear 099) gefertigt, was im PAR-Bereich (photosynthetisch aktive Strahlung) lichtdurchlässig ist. Gleichzeitig ist Polycarbonat bis 140 °C dampfsterilisierbar, wodurch axenische Kultivierung vereinfacht wird. Für die ausreichende Lichtverfügbarkeit wurde oberhalb des Reaktors ein Lichtmodul aus kalt-weißen LEDs positioniert, welches dem Emissionsspektrum aus den Schüttelkolbenexperimenten entsprach. Die Lichtintensität konnte von 0 bis $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ausgewählt werden und eine Variation der Dauer der Hellphase war möglich. Die Gasmischung mit einstellbarer CO_2 -Konzentration (0,04-5 %) wurde in den Reaktorraum geführt, um die Aufnahme von CO_2 aus der Luft für das Torfmoos zu erleichtern. Zusätzlich dazu passierte die Gasmischung das Kulturmedium in einer Medienflasche, um die CO_2 -Verfügbarkeit in Flüssigphase zu erhöhen. Um die Kontamination durch die Belüftung zu vermeiden, wurde das Zugas vor dem Eintritt in die Medienflasche über einen sterilen Filter geleitet. Das Kulturmedium wurde im

Kreislauf durch den Reaktor gepumpt, um die Naturbedingungen in Moor (geringere Nährstoffkonzentration, laminare Strömung) zu simulieren. Zur Kultivierung wurde der Moosbettreaktor in einem temperierten Brutschrank positioniert, wo die Temperatur des Innenraums auf 20 °C geregelt wurde. Somit konnte die Kultivierung bei einer konstanten Temperatur erfolgen.

Neben *Sphagnum palustre* wurden so auch die beiden in Submerskultur schwierig kultivierbare Arten *S. rubellum* und *S. fimbriatum* getestet. Bei 35 Tagen Kultivierung im Moosbettreaktor entwickelte sich ein kompakter Torfmoos-Teppich, der durchschnittlich 14 mm d⁻¹ in der Höhe zunahm und insgesamt 7.285 g m⁻² Frisch-Biomasse produzierte. Dabei wurden für *S. fimbriatum* und *S. palustre* die höchsten Zuwachsraten bestimmt (Tab. 5), wobei die Frischmasse aufgrund des unklaren Wassergehaltes nur Anhaltspunkte liefert. Ein Hochskalieren des *Trickle-bed*-Reaktors auf 125 L ist aufgrund mechanischer Schäden des neuen gebauten Prototyps nicht gelungen.

Tab. 5. Zuwachsraten verschiedener *Sphagnum*-Arten bei 35 Tagen Kultivierung im Moosbettreaktor.

<i>Sphagnum</i> -Art	Längenzuwachs (cm d ⁻¹)	Geerntete Frischmasse (g m ⁻²)
<i>S. palustre</i> (n=2)	0,18 ± 0,03	10.400 ± 490
<i>S. rubellum</i> (n=2)	0,09 ± 0	4.900 ± 350
<i>S. fimbriatum</i> (n=1)	0,20	5.320

Im Moosbettreaktor wuchsen die Torfmoose - wie an natürlichen Standorten - hauptsächlich in Richtung Licht und gegen das Gravitationsfeld (Abb. 15). Sie ähnelten der Wuchsform von BeadaHumok™, welche bereits für die Restauration von degradierten Moorflächen in England verwendet werden (vgl. Caporn 2018). Bei BeadaHumok™ scheint die Produktivität jedoch geringer zu sein als im Moosbettreaktor mit optimierten Wachstumsbedingungen. Weitere Vorteile des Moosbettreaktors sind geringere Kosten infolge des viel geringeren Energieaufwandes als bei klassischen Photobioreaktor-Systemen (Rührkessel, Blasensäulen), der Verwendung eines anorganischen Mediums ohne Zusatz von Saccharose (Saccharose würde das Kontaminationsrisiko erhöhen) sowie der Flächeneffizienz durch mögliches Aufstapeln baugleicher Etagen.

Wave bag-Photobioreaktor (Prototyp 2)

Der horizontal ausgerichtete *Wave bag*-Photobioreaktor wird bereits für die Produktion von Pharmazeutika aus dem Braunmoos *Physcomitrella patens* im 100 L-Maßstab (Firma Eleva, ehemals greenovation) eingesetzt. Hierbei befinden sich die Moose mit Medium in einem Kunststoffbeutel, der auf einer Schütteleinheit gewippt wird, so dass sich wellenartige Mischvorgänge im Reaktor ergeben. Ein ähnliches System wurde in MOOSzucht für die massenhafte Vermehrung von Torfmoos entwickelt, um die gewünschte Saatgutqualität mit vielen Innovationen zu erzielen (Abb. 16). Hierfür wurde der 5 L-Kunststoffbeutel (STD Flexboy® 5L, Sartorius, Deutschland) um Anschlüsse zur Gaszufuhr- und -abfuhr, Abgasanalytik sowie pO₂ – und pH-Messung erweitert. Der Reaktor wurde flächig mit einem Lichtmodul, bestehend aus kalt-weißen LEDs von oben beleuchtet. Die Durchmischung des Reaktorinhaltes erfolgte über die radiale Bewegung des Schüttlers, die das Medium in wellenförmige Bewegung setzte. Zur Überwachung des Wachstums von Torfmoosen diente eine integrierte Messtechnik (pH-Sonde, pO₂-Sonde, Abgasanalytik). Bei dem Zusammenbau war zu beachten, dass der Reaktor an den Verbindungsstellen dicht bleibt, um mögliche Kontamination von außen zu

verhindern. Die Entwicklung eines Kühlsystems durch Anbringen eines Kühlkörpers an der unteren Außenseite des Reaktors, erlaubte das Aufrechterhalten einer konstanten Temperatur im Reaktor.



Abb. 16. Kultivierung von *S. palustre* in einem 5 L *Wave bag*-Photobioreaktor. a) Aufbau eines 5 L *Wave bag*-Photobioreaktors, b) *S. palustre* im Photobioreaktor am Ende der Kultivierung (Tag 30) sowie c) im Detail nach der Ernte (Fotos: Ingrida Melkova).

Ein erster Test wurde mit 3 L *Sphagnum*-Medium ohne Saccharose, $\text{PFD}=300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Dauerbeleuchtung, 2 % CO_2 im Zugas und einer Begasungsrate von 0,02 vvm erfolgreich über 30 Tage Kulturdauer durchgeführt. Der ermittelte CO_2 -Verlauf bewies lineares Wachstum. Hierbei wurde 2.839 g Frischmasse pro Liter in 30 Tagen produziert und damit weniger als im Rührkesselreaktor (AP 3), teilweise verursacht durch eine Kontamination. Die Kontaminierung des Reaktorinhalts konnte auf den Selbstbau des Reaktors in der Sterilwerkbank zurückgeführt werden. Durch die Weiterentwicklung des *Wave bag*-Photobioreaktors könnte in Zukunft das Kontaminationsrisiko minimiert und die Produktivität erhöht werden. Die so produzierten Torfmoose bilden sphärische Aggregate mit zahlreichen Innovationen. Die Größe der Torfmoosköpfchen nahm mit zunehmender Kultivierungsdauer zu, während Verzweigungen kaum beobachtet wurden. Sie sind als Saatgut also gut geeignet. Der beleuchtete *Wave bag*-Reaktor kann prinzipiell in alle Raumrichtungen parallelisiert und bis auf ca. 500 L erweitert werden, das würde aber ein wesentlich vereinfachtes Antriebssystem erfordern. Die Investitions- und Betriebskosten sind deutlich höher als im Moosbettreaktor, jedoch geringer als im Rührkesselreaktor.

Schlauchreaktor (Prototyp 3)

Als zweiter Submers-Reaktor wurde ein Airlift-Reaktor (Phytobag®, Phytolution GmbH, Deutschland), wie er bereits für die Mikroalgenkultivierung eingesetzt wird, auch für die Torfmoos-Produktion getestet. Dieser Schlauchreaktor hat sich für die skalierbare Torfmoos-Produktion als geeignet erwiesen (Abb. 17). Er besteht aus doppelagigen vertikal aufgehängten Kunststoffschläuchen von ca. 1,4 m Höhe und 6 cm Durchmesser. Die Schläuche wurden unten verbunden und hier durch einen porösen Schlauch mit einer CO_2 -Luft-Gasmischung begast. Das Abgas trat aus dem oberen Bereich des Reaktors seitlich in die Umgebungsluft aus. Die Begasung erzeugte Turbulenz, welche im Reaktor für die Durchmischung des Mediums entlang der Säulen sorgte. Damit entstand eine ähnliche Hydrodynamik wie im bereits eingesetzten Rührkesselreaktor (vgl. AP3). Zur Beleuchtung wurde orthogonal in 40 cm Abstand ein Lichtmodul mit einer Fläche von $1,8 \text{ m}^2$ angebracht. Das LED-Modul war mit dem der *Wave bag*-Photobioreaktor-Kultivierung identisch. Als Kulturmedium wurde nicht-autoklaviertes *Sphagnum*-Medium ohne Saccharose verwendet, um einen hygienisierten Betrieb zu testen. Um die Kultivierungstemperatur konstant zu halten, wurde eine Verdunstungskühlung an der Reaktorwand mit Kühlwasser integriert.

In einem Arbeitsvolumen von insgesamt 60 L konnte *S. palustre* unter folgenden Bedingungen erfolgreich kultiviert werden: $\text{PFD}=200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, Dauerbeleuchtung, 2 % CO_2 im Zugas, Begasungs-

rate 0,03 vvm, Kultivierungstemperatur 20°C, hygienisiert. Da die Begasung des Reaktors im Aufschwimmen der Torfmoose im oberen Reaktorabschnitt resultierte, wurde nicht die komplette Lichtfläche bzw. das gesamte Arbeitsvolumen ausgenutzt und war die produzierte Torfmoos-Biomasse mit 0,43 g (FM) L⁻¹d⁻¹ gering. Durch eine verbesserte axiale Durchmischung und eine angepasste Geometrie kann die Produktivität dieses Reaktortyps in der Zukunft erhöht werden. Die Morphologie der produzierten Torfmoose ähnelte der der Moose aus dem Blasensäulen-Photobioreaktor (AP 3), d.h. mit vielen erwünschten Innovationen. Vorteile von Schlauchreaktoren sind geringe Kosten durch die Verwendung von dünnen Kunststofffolien, höhere Flächeneffizienz sowie die beliebige Erweiterungsmöglichkeit.

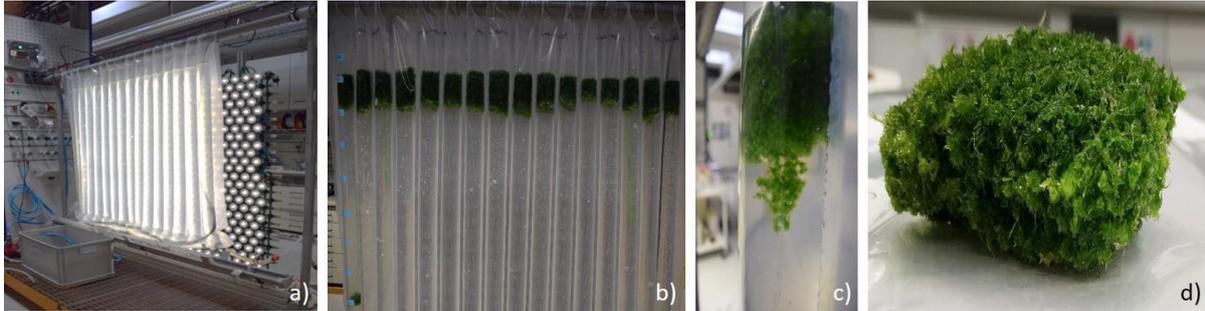


Abb. 17. Schlauchreaktor mit 16 parallelen Schlauchreaktoren und einem Arbeitsvolumen von insgesamt 60 L a) leer mit zusätzlichem Lichtmodul und Kühlungseinheit, b) mit *S. palustre* am Ende der Kultivierung (35. Tag) als Gesamtansicht und c) im Detail. d) Ernte (Fotos: Ingrida Melkova).

Im Vergleich der drei getesteten Reaktortypen erscheint die Weiterentwicklung von Moosbett- und Schlauchreaktor aufgrund der Skalierbarkeit und Kosten vielversprechend (Tab. 6).

Tab. 6. Vergleich der getesteten, potentiellen Reaktortypen zur großskaligen Massenvermehrung von Torfmoos

	Moosbettreaktor	Wave bag-Photobioreaktor	Schlauchreaktor
Testgröße [Liter]	1,5	5	60
Beschaffenheit der produzierten Torfmoose	Ausdifferenzierte Torfmoose, spirrig, wenig Innovationen	Sphärische Morphologie, viele Innovationen	Flockige Morphologie, viele Innovationen
Frischmasse-Produktivität (nach 35 Tagen)	+++	+	+
Skalierbarkeit	Aufstapeln baugleicher Einheiten möglich	eingeschränkt bis ca. 500 L	Beliebig erweiterbar
Kosten für Anschaffung und Betrieb	+	+++	+

AP 5 Vermehrung und Reifung in nicht-axenischer Kultur

In nicht-axenischer Vlieskultur wurde zum einen die Vermehrung von Torfmoosen getestet und mit den Vermehrungsraten in den Bioreaktoren verglichen sowie geprüft, ob eine Ausreifung von nicht ausdifferenzierten Torfmoosen aus (axenischer) Bioreaktor-Kultur für die Eignung im Feld notwendig ist bzw. sich produktivitätssteigernd auswirkt (Ergebnisse zur Notwendigkeit der Reifung in AP 6). Die Versuche erfolgten mit zwei unterschiedlich ausgerichteten Vlieskultursystemen, die im MOOSzucht-Projekt weiterentwickelt wurden: horizontal im Schattiertunnel und im Freiland sowie vertikal an einer Torfmooswand und im Gewächshaus.

Vermehrung und Reifung in nicht-axenischer, horizontaler Vlieskultur (Schattiertunnel)

Kultivierung im Schattiertunnel: Zur Vermehrung von Torfmoos-Saatgut wurde in einem Schattiertunnel (Netz (grün, Schattierwert 50 %, Windschutz 50 %) auf 275 m² eine horizontale Vlieskultur entwickelt. Dafür wurde der Boden mit einem wasserdurchlässigen Bändchengewebe ausgelegt, welches die Durchwurzelung von Unkraut behindert. Um die Wasserrückhaltung zu erhöhen, wurden auf PE-HD-Flachfolie Bahnen von acht verschiedenen Vliesen (Recycling, Neufaser, PLA in unterschiedlicher Grammat, jeweils 1,10 m breit) dichtgestoßen ausgelegt und darauf Torfmoose aus dem Feldgroßversuch im Hankhauser Moor (Beikraut-durchsetzt) (sowie aus dem Photobioreaktor manuell ausgebracht. Die Bewässerung erfolgte durch Überkopfberegnung mit Sprinklern mit Brunnen- und kurzzeitig Leitungswasser. Zudem wurde die Wirkung von fünf verschiedenen Düngern (organischen Langzeitdünger 0,6 g N m⁻², KAS 0,6 g N m⁻², Wuxal 0,6 g N m⁻², SSA 0,6 g N m⁻², Universol Blau 0,6 g N m⁻², Universol Blau 1,35 g N m⁻²) auf das Torfmooswachstum untersucht. Pro Variante wurden drei bzw. vier Wiederholungen und je Wiederholung fünf bzw. sechs Dauerquadrate bonitiert (Fremdbewuchs, Anteil vitalen Torfmooses, Deckung und Höhe des Torfmoosrasens, Trockenmasse und Anzahl der Capitula in der Erntemenge).

Im ersten Jahr entwickelten sich die ausgebrachten Torfmoose gut, ihr Deckungsgrad nahm stetig zu (Abb. 18). Die besondere Trockenheit im Jahr 2018 konnte durch die Bewässerung gut ausgeglichen werden (Sommer: 1,3 mm d⁻¹). Durch die Abdeckung mit einem Schattiernetz (45 %) sollte während der Vegetationsperiode zusätzlich die Schaffung eines feuchten Mikroklimas für die Torfmoose erreicht werden.



Abb. 18. Entwicklung der Torfmoose auf horizontaler Vlieskultur im Schattiertunnel, Versuch im November 2017 eingerichtet (Fotos: Hendrikje Schreiter).

Das Recyclingvlies förderte den Deckungsgrad der Torfmoose stärker als Neufaservlies. Neufaservlies förderte dagegen das Beikräuterwachstum, insbesondere in Kombination mit der Düngervariante Wuxal (durchschnittlich 27 % Deckung durch Beikraut). Das Vliesgewicht und damit die potenzielle Wasserspeicherung hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Torfmoosdeckung und -höhe. Außer bei der Düngervariante Wuxal wurden auf dem Recyclingvlies mehr Capitula als auf Neufaser- oder PLA-Vlies gezählt. Im August 2020 traten die meisten Capitula bei Recyclingvlies mit Universoldünger ($0,6 \text{ g N m}^{-2}$) auf (geschätztes Randmittel $2633 \text{ Capitula m}^{-2}$) sowie Fertiggrün ($1.581 \text{ Capitula m}^{-2}$) und Universol mit $1,35 \text{ g N m}^{-2}$ ($1.527 \text{ Capitula m}^{-2}$), die geringsten bei der Düngervariante mit SSA ($404 \text{ Capitula m}^{-2}$) und der Kontrolle ($755 \text{ Capitula m}^{-2}$). Die vitalsten Torfmoose wurden bei den Düngervarianten Universol $0,6 \text{ g N m}^{-2}$, Universol $1,35 \text{ g N m}^{-2}$ und Wuxal dokumentiert. Wie im Freiland war auch hier kaum Höhenzuwachs zu verzeichnen. Die Torfmoosrasenhöhen wurden nur durch die Düngung beeinflusst, allerdings mit geringen Unterschieden: Universol $0,6 \text{ g N m}^{-2}$ > Universol $1,35 \text{ g N m}^{-2}$ > Wuxal > KAS > Fertiggrün > SSA > Kontrolle. So erreichte im August 2020 der Torfmoosrasen der Variante Universol $0,6 \text{ g N m}^{-2}$ durchschnittlich $3,38 \text{ cm}$ im Vergleich zur Kontrolle mit $1,5 \text{ cm}$ (Abb. 19). Dennoch wurden die höchsten Torfmoosbiomassen (Trockenmassen) summiert über 5 Probenahmen in 11 Monaten bei den Düngervarianten KAS und Fertiggrün ermittelt (3.756 g m^{-2} bzw. $3.530,88 \text{ g m}^{-2}$). Auf der ungedüngten Kontrolle wurden $3077,44 \text{ g m}^{-2}$ gebildet. Die geringsten Trockenmassen ergaben die durch Wuxal ($2.914,72 \text{ g m}^{-2}$) und Universol $1,35 \text{ g N m}^{-2}$ ($2.968,8 \text{ g m}^{-2}$) gedüngten Flächen. Nach einem Jahr Versuchsdauer (November 2020) wuchs das Torfmoos gedüngt mit $0,6$ signifikant am besten (Capitulaanzahl, Torfmoosrasenhöhe und Deckungsgrad vitaler Torfmoose). Wuxal mit dem höchstem P-Anteil führte zum stärksten Aufwuchs von Gefäßpflanzen (\emptyset 32 %).

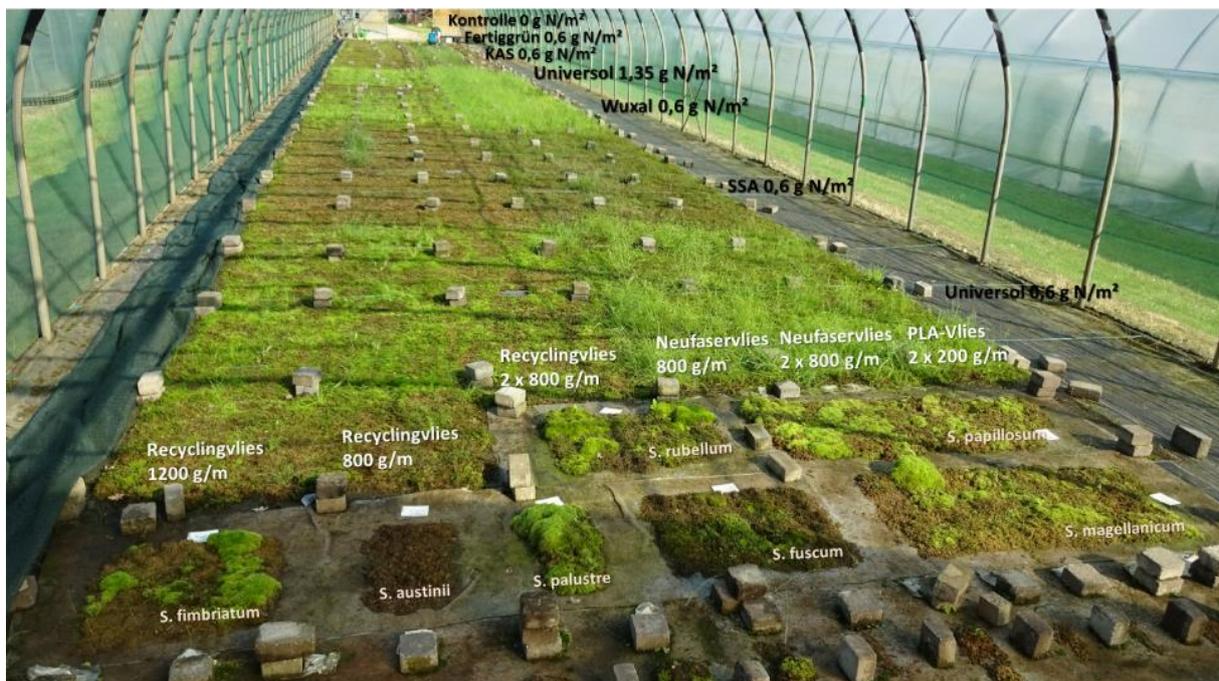


Abb. 19. Torfmooskultivierung im Schattiertunnel auf verschiedenen Vliesvarianten zwei Monate nach der ersten (monatlichen) Düngung mit Universol, Schwefelsaurem Ammoniak, Wuxal, Kalkammonsalpeter, Fertiggrün. Düngervarianten führten zu unterschiedlichem Torfmooswachstum (Foto: Hendrikje Schreiter).

Für die Bewässerung wurde Brunnenwasser verwendet. Aufgrund von Änderungen in der Qualität war ein Wechsel der Quellen im Projektverlauf und ein Antransport über mehrere Kilometer notwendig. Ab April 2020 wurde Brunnenwasser mit niedrigem Eisengehalt ($<0,5 \text{ mg L}^{-1}$) verwendet, allerdings mit

höherem Hydrogencarbonatgehalt von 121 mg L^{-1} (vorher $<24 \text{ mg L}^{-1}$) mit einem pH-Wert von 6,4. Koks *et al.* (2019) beschrieben physiologischem Stress für Torfmoose bei Hydrogencarbonatgehalten über $12,2 \text{ mg L}^{-1}$ in Verbindung mit pH-Werten ab 8. Torfmoosvitalität und -zuwachs waren nach der Ernte (März 2020) sehr gering, was auch auf die Hydrogencarbonatgehalte im Bewässerungswasser zurückgeführt wird. Um eine geeignetere Wasserqualität (geringere Eisen- oder Hydrogencarbonatgehalte) zu erhalten, sollte künftig Regenwasser aufgefangen und gespeichert werden. Zu untersuchen ist noch, ob für eine optimale Torfmoosfeuchte ein Wasseranstau oder ein häufigeres Überkopfbewässern besser ist.

Ein Test mit LED-Beleuchtung Rot/Weiß/Blau (3386 Lux) seit 12/2020 zur Verlängerung der Tageslänge (L/K 20/4) zeigte keine signifikanten Auswirkungen auf das Torfmoos.

Die Erntemenge im März 2020 auf der gesamten Fläche (275 m^2) betrug 1170 l ($4,25 \text{ L m}^{-2}$).

Störfaktoren im Schattiertunnel: Vor Kulturbeginn wurden die verzinkten Streben des Tunnelgerüsts mit Kunststoffolie ummantelt, um Kulturschäden durch zinkhaltiges Tropfwasser zu vermeiden. Unter noch frei liegenden Querrohrbereichen starb das Torfmoos ab oder wies deutliche Wuchsdepressionen auf, so dass auch diese Rohrbereiche mit Kunststoffolie ummantelt wurden. Auf der Vlieskultur mit Torfmoos im Schattiertunnel stellte besonders die Belastung mit Algen und möglicherweise Pilzen eine Herausforderung dar. Das Auftreten von hellgelben und hellbraunen Flecken auf Torfmoosrasenbereichen ließ Pilzbefall vermuten. Spritzen mit dem Fungizid SCORE (Wirkstoff Difenoconazol; $0,5 \text{ mL}$ auf 500 mL Wasser) führte zu keiner Reduktion der Flecken. Später wurden die stark mit Algen befallenen Bereiche sowie die Fruchtkörper von Pilzen entfernt. Dennoch traten diese Flecken in anderen Bereichen wieder auf und führten zum Absterben der befallenen Torfmoose. Seltener traten Hutpilze und Hexenringe auf. Zur Bekämpfung des Beiwuchses wurde das Herbizid Select einmal mit und einmal ohne Rapsöl (5 mL Select, $1,5 \text{ L}$ Wasser, 10 mL Öl) appliziert. Das Öl dient der Benetzung und erzielte eine schnellere Beiwuchsbekämpfung. Eine Beeinträchtigung der Torfmoose durch das Öl wurde nicht beobachtet. Eine hohe Konzentration des Herbizids Durano (360 g/10 L Wasser) schädigte Torfmoose und Beiwuchs stark.

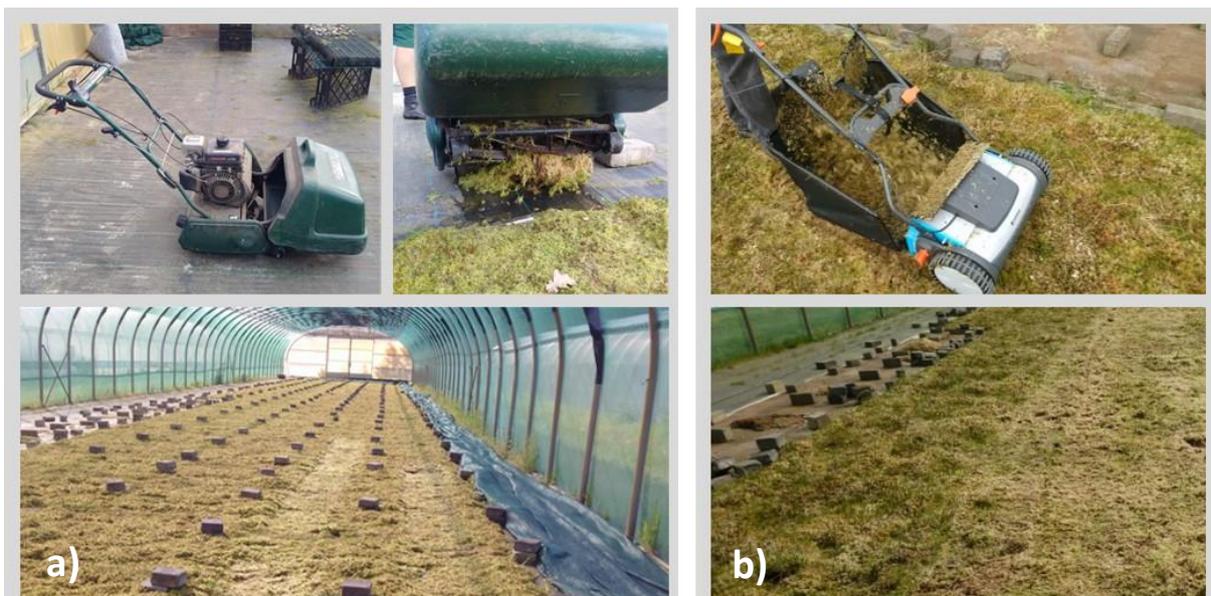


Abb. 20. Mahdversuche auf der nassen Torfmooskultur im Schattiertunnel a) mit umgebautem, schwerem Spindelmäher und b) mit kleinem, leichtem Elektrospindelmäher (Fotos: Hendrikje Schreiter).

Ernte: Die Erntemethode auf Vlieskultur soll sowohl das Torfmoossaatgut schonend und gleichmäßig abschneiden als auch die verbleibende Torfmooskulturfläche schadenfrei hinterlassen (Abb. 20). Auf der Vlieskultur erfolgten Mahdversuche. Sehr nasses Torfmoos ließ sich nicht gut mähen und schob sich vor dem Mäher auf. Der Versuch, vor der Ernte mittels Walzen Wasser aus dem Torfmoos zu verdrängen, drückte das Torfmoos zu stark zusammen, um es anschließend mähen zu können. Förderliche Maßnahmen waren die Umrüstung eines Spindelmähers mit Zusatzmessern, Reduzierung der Mähgeschwindigkeit und der Anbau eines Laufrades für eine exakte Höheneinstellung. Vereinzelt riss der schwere Spindelmäher auf der nassen Kultur Torfmoosstücken vom Vlies. Ein leichter Elektrospindelmäher mit größeren Rädern erzielte ein etwas gleichmäßigeres Schnittbild. Die Mähgeschwindigkeit betrug ca. 5 km h^{-1} . Für die Optimierung der Mahd mit einem Spindelmäher kann die Geschwindigkeit erhöht und muss eine Lösung für den Materialabtransport gefunden werden, beispielsweise mit einem parallel fahrenden Auffangbehälter, sodass der Mähvorgang wegen des Leerens des Fangkorbes seltener unterbrochen werden muss.



Abb. 21. Freilandkultur für Torfmoose. oben) Beregnen der Freilandfläche vor der Schattierung, unten) Schattierung der Freilandvliesfläche (Fotos: Hendrikje Schreiter).

Freiland: Neben der Kultur im Schattiertunnel wurden Torfmoose auch auf Vlies im Freiland ausgebracht und hier durch Sprenger mit Brunnenwasser bewässert (Abb. 21). Trotz Bewässerung und Abdeckung mit einem Schattierungsnetz trockneten die Torfmoose durch Wind und Witterung stark aus und war dessen Etablierung stark verzögert. Bei den im Herbst 2019 und März 2020 auf der Vlies-Freifläche (ca. 450 m^2) ausgebrachten Torfmoosen (*Sphagnum palustre*, *S. fallax* aus Mahd im Schattiertunnel, 1170 L) nahm die Torfmoosmenge im Beobachtungszeitraum ab, obwohl die Fläche wegen Gefahr der Austrocknung und Verwehung der Torfmoose mit Schattiergewebe abgedeckt und regelmäßig bewässert wurde (ca. $1,3 \text{ mm d}^{-1}$). Aus diesem Grund wurde Juni 2020 und August 2020 mit Universol Blau ($1,2 \text{ g N m}^{-2}$) gedüngt. Da die windbedingte Bewegung des Gewebes auf den Torfmoosen als mögliche Stressursache angenommen wurde, erfolgte der Bau eines Abstandhaltenden Gestells für das Schattiergewebe. Außerdem wurde ein Bassin zum Wasserstau errichtet für eine gleichmäßigere Wasserversorgung. Keine der Maßnahmen bewirkte ein Wachstum der mittlerweile stark zurückgegangenen Torfmoose. Die Biomasseabnahme könnte neben der

windbedingten gelegentlichen Austrocknung der Torfmoose durch die Wasserzusammensetzung beeinflusst worden sein.

Nassansaat: Torfmoos-Saatgut aus dem Bioreaktor hat eine deutlich andere Struktur als bislang verwendetes Saatgut (ganze Moose oder Moosfragmente): je nach eingestellten Bedingungen und Reaktortyp mit flockiger Konsistenz oder als sphärische Aggregate. Für die gleichmäßige Ausbringung derartiger Strukturen sind die bisherigen Ausbringmethoden ungeeignet. Eine andere Methode zur Ausbringung von Torfmoos-Saatgut ist das sogenannte „Hydroseeding“ (auch Nassansaat oder Anspritzbegrünung), bei dem die Fragmente mit Wasser vermischt ausgespritzt werden (Money 1995). Diese Methode wird z.B. für die Begrünung von Problem- und Extremflächen eingesetzt und wurde in MOOSzucht für die Ausbringung von Bioreaktormaterial getestet. Eine feine, gleichmäßige, schnelle Ausbringung kleiner Mengen war möglich. Größere Torfmoosmengen bedürfen einer Pumpenanpassung. Teilweise wurden die ausgebrachten Torfmoose bei Wasseranstau vom Neufaservlies gespült, weshalb im weiteren Verlauf die Aussaat auf Rippenvlies erfolgte. Weiterhin wurde der Anspritzmasse ein Kleber zugesetzt, wie bei der Dachbegrünung, um das Pflanzenmaterial zu fixieren und die Verdunstung etwas herabzusetzen. Die nass angesäten Torfmoose zeigten keinen Zuwachs, was vermutlich durch die geringe Schichtdicke oder die Wachstumsbedingungen begründet ist. Da Nassansaat eine vielversprechende Methode zur Ausbringung von Bioreaktormaterial ist, ist eine Weiterentwicklung notwendig (Abb. 22).



Abb. 22. Nassansaat mit 1 L *S. palustre*, + 30 L Wasser + 15 mL Kleber (Terra-Control®) (Fotos: Hendrikje Schreiter).

Vermehrung und Reifung in nicht-axenischer, vertikaler Vlieskultur (Torfmooswand)

Ausreifung von Torfmoosen aus (axenischer) Bioreaktor-Kultur: Bisher wurde ausschließlich ausdifferenziertes Torfmoos an der Torfmooswand vermehrt. Deshalb wurde zunächst in einem Vorversuch die Adaptation axenisch produzierten Torfmoos-Materials an nicht-axenische Bedingungen im Gewächshaus getestet, diese hat sich als grundsätzlich machbar herausgestellt. An der Torfmooswand mit insgesamt 16,8 m² Versuchsfläche wurden daraufhin Torfmoose aus Bioreaktor-Submerskultur (*Sphagnum palustre* Klon 12a, *S. squarrosum* Klon 5.2) in drei Ausbringdichten (40 %, 60 %, 80 % Torfmoos-Deckung) und mit vier Abdeckungen bei *S. palustre* Klon 12a (Fliegengitter und Maulwurfsnetz mit und ohne Schlingengelege) sowie zusätzlich mit Schlingengelege ohne weiteres Netz oder Gitter darunter bei *S. squarrosum* Klon 5.2 getestet. Alle Varianten wurden mit je drei Wiederholungen zufallsverteilt und in Quadraten à 20 cm angebracht. Die Torfmoose wurden mit Na-SON-

Pflanzenleuchten 16 Stunden täglich beleuchtet und alle 2 h mit Nährlösung nach Rudolph *et al.* (1988) überrieselt.



Abb. 23. Versuch zu Fixierung und Ausbringdichte von nichtausdifferenziertem *S. palustre* Klon 12a (aus Submerskultur) an der Torfmooswand, links) zu Versuchsbeginn, rechts) nach sechs Versuchsmonaten (Fotos: Anja Prager).

Nach zwei Versuchsmonaten hatte sich unabhängig von der Ausbringdichte und Klon ein geschlossener Torfmoosrasen entwickelt. Bei einer Ausbringdichte von 80 % Torfmoosdeckung waren Rasenhöhe und Biomassezuwachs höher als bei weniger ausgebrachten Torfmoosen, jedoch führte eine Verdopplung des Ausgangs-Torfmoosmaterials lediglich zu einem ca. 1,4fachen Biomassezuwachs (Tab. 7, Abb. 23). Die Ausgangsdeckung hatte keinen Einfluss auf die Anzahl der gebildeten Wachstumspunkte (Capitula + Innovationen). Die Art der Fixierung und Stabilisierung hatte keinen Einfluss auf das Wachstum von *S. palustre* Klon 12a, wohingegen bei *S. squarrosum* Klon 5.2 die Abdeckung mit Maulwurfsnetz ohne Schlinggelege und Schlinggelege ohne weitere Fixierung zu den höchsten Biomassezuwächsen führte. Eine Ernte für die Verwendung als Saatgut könnte bei *S. palustre* Klon 12a bereits nach vier Monaten stattfinden, da danach die Anzahl ausdifferenzierter Capitula nur noch wenig zunimmt. Jedoch war nach vier Monate eine erntebare Torfmooshöhe nur bei hoher Ausbringdichte (80 %) erreicht. *S. squarrosum* Klon 5.2 wuchs noch schneller, so dass nach sechs Monaten Versuchsdauer bereits die ersten Moospolster von der Wand abfielen. Ein Schlinggelege war hier als Stütze unabdingbar.

Tab. 7. Wachstum von *S. palustre* Klon 12a und *S. squarrosum* Klon 5.2 sechs Monate nach Versuchseinrichtung an der Torfmooswand.

<i>Sphagnum</i> -Art	Ausbringdichte (Deckung Torfmoose)	Mittl. Deckung vitaler Torfmoose	Mittl. Rasenhöhe (cm)	Mittl. Biomassezuwachs (g TM m ⁻²)	Vervielfachung des Ausgangsmaterials
<i>S. palustre</i> Klon 12 a	80%	100 % (n=12)	7,1 (n=60)	510 (n=12)	7 x
	60%	100 % (n=12)	6,3 (n=60)	420 (n=12)	8 x
	40%	100 % (n=12)	4,6 (n=60)	370 (n=12)	10 x
<i>S. squarrosum</i> Klon 5.2	80%	100 % (n=15)	10,8 (n=75)	550 (n=15)	7 x
	60%	100 % (n=15)	10,3 (n=75)	560 (n=15)	10 x
	40%	100 % (n=15)	8,7 (n=75)	440 (n=15)	11 x

In axenischer Bioreaktor-Kultur produziertes Torfmoos-Saatgut kann also unter nicht-axenischen Bedingungen in vertikaler Vlieskultur vermehrt werden, reift innerhalb von zwei Monaten zu ausdifferenzierten Moosen erfolgreich aus und hat nach vier Monaten erntbare Rasenhöhen erreicht.

Optimierung der Beleuchtung: Bisher wurden zur Beleuchtung der Torfmooswände Natrium-Dampflampen (Na-SON) genutzt. Neben hellorangem Licht gaben diese Leuchten viel Wärme ab, die zu hoher Verdunstung und Trockenstress führten, so dass eine Zusatzbelüftung installiert werden musste. Um den Stress für die Torfmooskulturen und den Stromverbrauch zu reduzieren, wurden in MOOSzucht LED-Leuchten in verschiedenen Lichtfarben und –intensitäten getestet. Lichtfarben (Wellenlängen im Spektralbereich) haben Einfluss auf Produktivität und Habitus von Pflanzen. Im Pflanzenbau werden zunehmend LED-Leuchten eingesetzt, um ein für die Kulturpflanze optimales Farbspektrum zu erzeugen. Theoretisch sollte bei gleicher Lichtintensität Torfmoos unter Magenta am besten wachsen, da v.a. rotes und blaues Licht für die Photosynthese verwendet werden (Cerff & Posten 2012), bisher ist jedoch nichts zum Wechselspiel Lichtfarben \leftrightarrow Torfmooswachstum bekannt.

Zunächst erfolgte ein **Vorversuch** zur Beleuchtung der Torfmooskultur mit LED-Lampen unterschiedlicher Farbspektren (weiß, blau, rot, Photonenstromdichte $140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und den *Sphagnum*-Arten *S. palustre* und *S. fallax*. Die Torfmoose wurden im Gewächshaus im Rasenverbund in Töpfen mit konstanten Wasserständen 4 cm unterhalb der Torfmoosoberfläche kultiviert. 12 Wochen nach Versuchseinrichtung wuchs *S. palustre* in Biomasse und Länge besser als *S. fallax*. Das blaue LED-Licht führte im Vergleich zu den anderen Beleuchtungsfarben bei beiden Arten zu höherem Längenzuwachs bei gleicher Astbüschelanzahl. Bei *S. fallax* war der Biomassezuwachs bei allen Beleuchtungsvarianten gleich, während *S. palustre* bei weißem LED-Licht den höchsten Biomassezuwachs aufwies. Im Ergebnis des Vorversuches ist blaues LED-Licht für das Torfmooswachstum förderlich.

Für den **Hauptversuch** wurde an der Torfmooswand der Einfluss von vier LED-Lichtspektren in jeweils drei PAR (=Photo-synthetically Active Radiation) Photonenflussdichten (=PAR-PFD) von 60, 135, 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tag/Nacht 16/8 h) auf das Wachstum von *Sphagnum palustre* untersucht. Mit GrowEmity 300 developing kit (4-Kanal-LED-Pflanzenleuchte/ Firma Cezos) wurden folgende Spektren gemischt: Magenta, Mix3 (mit Mix3=Mix aus *white*, *hyper red* and *deep blue*) und Mix3+*far red*. Ein Tageslicht-Spektrum diente als Referenz. Die einzelnen Lichtvarianten von je 1 m² Größe waren voneinander abgeschottet und beeinflussten sich nicht gegenseitig. Die Torfmoose (*S. palustre*, ausgereift in Capitulum und Stämmchen, 3-5 cm lang) wurde mit einer Ausbringdichte von 80 % an der Torfmooswand befestigt, mit Nährlösung nach Rudolph *et al.* (1988) alle 2 Stunden überrieselt. In jeweils drei Dauerbeobachtungsquadraten (á 10x10 cm) pro Variante wurden alle zwei Monate die Deckung vitaler Torfmoose und Capitula sowie die Rasenhöhe bestimmt. Nach sechs Versuchsmonaten wurden die aufgewachsene Trockenmasse sowie die Anzahl der gebildeten Capitula ermittelt.

Im Ergebnis beeinflusste die Lichtqualität (Spektren hier: White/Magenta/Mix3=White& Deep blue&hyperred/Mix3+*far red*) das Torfmooswachstum stärker als die Lichtintensität (hier PFD=60/135/200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Schnellste Etablierung, höchste Deckungen von vitalen Torfmoosen und Capitula sowie höchste Rasen und Biomassen (als Gewicht nach Trocknung bei 80°C) wurden unter Tageslicht erreicht. Nach sechs Versuchsmonaten war die Rasenhöhe mit \varnothing 8 cm doppelt so hoch wie bei den anderen Lichtspektren und die aufgewachsene Biomasse mit 490 g Trockengewicht m⁻² (entspricht einer Versechsfachung des Ausgangsmaterials) unter Tageslicht signifikant höher als bei Mix3-Licht. Dahingegen war die Anzahl gebildeter Wachstumspunkte aus den Ausgangsfragmenten als Maß für die Eignung als „Saatgut“ mit Ausnahme von Mix3+*far red* bei allen Lichtspektren vergleichbar.

Im Vergleich der Varianten (Kombination aus Lichtspektrum und -intensität) wurde 100 % Deckung von vitalem Torfmoos sowie maximale Biomassezuwächse (Trockengewicht) bei Magenta/200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sowie bei Tageslicht/135 und 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ beobachtet. Eine höhere Lichtintensität (gemittelt über alle vier Lichtspektren) führte zur Ausbildung von signifikant mehr Capitula pro Flächeneinheit. Pro neu gewachsene Moospflanze wurden bei Mix3-Licht die meisten Capitula gebildet, die Gesamtdeckung vitaler Torfmoose war jedoch geringer als bei den anderen Lichtspektren. Es blieb unklar, ob die höhere Capitulazahl direkt vom Lichtspektrum Mix3 resultiert (im Sinne eines Anregens von Capitulateilung) oder indirekt ein Ergebnis des Lichtspektrums ist, weil z.B. die Deckung von vitalem Torfmoos unter Mix3 vergleichsweise niedrig war und durch Capitulateilung ausgeglichen wurde. Von *Physcomitrella patens* (Kleines Blasenmützenmoos) ist bekannt, dass weißes Licht und die Zugabe von blauem zu rotem Licht die Bildung von Seitenästen anregt (Uenaka *et al.* 2005). Das dauerhafte Zuschalten von *far red* führte zu keiner Steigerung des Torfmooswachstums und weniger neu gebildeten Wachstumspunkten, möglicherweise als Reaktion auf das Signal „andauernde Dämmerung“ und damit Umschalten von Photosynthese auf Regenerationsprozesse während der Ruhephase (Photoperiodismus einer Pflanze, Schopfer & Brennicke 2010). Zukünftig gilt es zu testen, ob ein Zuschalten von *far red* in Intervallen, besonders außerhalb der Beleuchtungszeit, das Torfmooswachstum stimulieren kann.

Ein Gewächshausversuch, bei dem die vorkultivierten Torfmoose sechs Monate auf nassem Torf unter Tageslichtbedingungen wuchsen, zeigte, dass sie unabhängig von der Beleuchtung in der Vorkultur gleich viel Biomasse produzieren.

Störfaktoren/Schadbefall und Problemlösung: An der Torfmooswand traten verschiedene Störfaktoren auf, denen wie folgt begegnet wurde:

- 1) **Parasitäre Pilze** können zu Chlorosen und anschließendem Absterben der befallenen Torfmoose führen. Im Parallelprojekt MOOSWEIT erwies sich bei Befall die Behandlung mit dem Fungizid Myclobutanil als erfolgreich.
- 2) Im heißen Sommer 2018 vermehrt auftretende **Trauermücken**, die Fraßschäden an den vitalen Moosen verursachten, wurden wirksam mit Gelbtafeln (mit Leim versehene Tafeln) bekämpft. Der Prophylaxetest mittels Aufbringens von Nematoden, die die Larven der Trauermücken fressen, steht noch aus.
- 3) Starkes **Veralgen** kann zur Beeinträchtigung des Torfmooswachstums führen. Prophylaktisch werden deshalb alle „Freiflächen“ mit lichtundurchlässiger Folie abgedeckt.
- 4) Mit voranschreitender Versuchsdauer gibt es zunehmend abgestorbene Torfmoosmasse, die Habitat und Nahrungsgrundlage für **Collembolen** (Springschwänze) ist. Es besteht die Gefahr, dass die Wasserleitung vom durchrieselten Vlies zum darauf befestigten Torfmoosrasen durch Collembolen-Fraß unterbrochen wird. Aktuell wird eine Bekämpfung mit Pyrethrine (natürliches Insektizid aus Chrysanthemen) getestet.
- 5) **Beiwuchs** (nicht erwünschte *Sphagnum*-Arten, Braunmoose und Gefäßpflanzen) kann durch Konkurrenz und Verdrängen das Wachstum der gewünschten Torfmoose beeinträchtigen. Der Beiwuchs wurde regelmäßig manuell entfernt, damit das Torfmoosmaterial als Saatgut artenrein und „sauber“ blieb sowie optimal wachsen konnte.

AP 6 Feldtest für Torfmoos-Saatgut

AP 6 Feldtests für produziertes Torfmoos-Saatgut

Ziel des Arbeitspaketes war es, das Wachstum von auf verschiedenen Verfahrenswegen im Projekt produzierten „Saatgutes“ unter Feldbedingungen zu untersuchen, um dessen Eignung als Saatgut zu bewerten. Außerdem wurde der optimale Ausbringzeitraum für nichtausdifferenziertes „Saatgut“ im Feld ermittelt sowie geklärt, inwiefern eine Reifekultur vor der Ausbringung im Feld Vorteile gegenüber einer Direktsaat mit sich bringt.

Ideales „Saatgut“ zur Begründung einer Torfmoos-Paludikultur muss:

- artenrein vorliegen, um die spezifischen Anforderungen des Gartenbaus an die aus Torfmoos-Biomasse produzierten Substrate zu befriedigen (verschiedene *Sphagnum*-Arten erlauben verschiedene Anwendungen),
- viele Ausgangspunkte für Wachstum (Innovationen) und hohe Vitalität (hoher Anteil an grünen Moosabschnitten) haben,
- frei sein von (oder zumindest arm sein an) Diasporen unerwünschter Gefäßpflanzen, Moose und Pilze, um die Konkurrenz zu Torfmoosen zu minimieren,
- sich innerhalb eines Jahres nach Ausbringung im Freiland zu einem dichten, gut wüchsigen Torfmoosrasen etablieren und hochproduktiv sein,
- in ausreichender Menge und termingenau verfügbar sein.

Das in MOOSzucht getestete Saatgut unterschied sich hinsichtlich der Produktionsbedingungen, Morphotypen (Habitus) und Herkunft (Tab. 8).

Tab. 8. Eigenschaften des in MOOSzucht getesteten Saatgutes (Fotos: Anja Prager).

Produktionsbedingungen	axenisch: <i>In vitro</i> -Kultur, frei von Kontaminationen durch Algen, Bakterien, Pilze (hier im Photobioreaktor)	nicht-axenisch: Kontaminationen mit Algen, Bakterien, Pilzen möglich (hier in horizontaler und vertikaler Vlieskultur sowie in Feldkultur)
Morphotypen (Habitus)	nicht ausdifferenziert: juvenil, noch nicht in Capitulum und Stämmchen untergliedert, einige mm bis 2 cm große Aggregate (= „Filzflocken“), vital und regenerationsfreudig aufgrund vieler (bis 30) noch unreifer Capitula (= Innovationen, die als neue Wachstumspunkte dienen können) und aus Submerskultur in alle in alle Richtungen orientiert	ausdifferenziert: in Capitulum und Stämmchen untergliedert, gravimetrisch orientiert, großteilig und länglich (mehrere cm bis wenige dm lang); mit „Knospen“ in den Achseln der Astbüschel; meist nur oberste 3-5 cm grün (=vital), darunter bleich (=subvital, unter Lichteinfluss regenerierend); Moose aus Moosbetteaktor mit mehr Innovationen als jene von der Torfmooswand oder Feld
		
Herkunft	Kulturklone: aus <i>in vitro</i> -Kultur, genetisch homogen	Wildmaterial: natürlich, meist genetisch divers (gibt auch Klone)

Etablierung und Wachstum von Torfmoos-„Saatgut“ unter Feldbedingungen: Für den Feldtest wurde Torfmoos-„Saatgut“ (Klone von *S. palustre*, *S. squarrosum*, *S. fuscum* + *S. Wildform-Mix S. fallax/S. palustre* D9) aus der Produktion in verschiedenen Typen von Photobioreaktoren (Rührkessel, Blasensäule, *Trickle bed*) und aus horizontaler sowie vertikaler Vlieskultur im Hankhauser Moor (im Becken „Nass“) mit unterschiedlicher Dichte (40 %, teilweise auch 60 und 80 %) ausgebracht (Abb. 24a) und die Entwicklung bis zu 2 Jahre lang beobachtet. Lage, Einrichtung und Management des Feldversuches und Methoden zum Messen von Torfmooswachstum sind bei AP 1 beschrieben.

Im Ergebnis konnte „Saatgut“ jeder Form einen Torfmoos-Rasen bilden und war deshalb als „Saatgut“ geeignet (Abb. 24). Nach einem Jahr wuchs aus dem Saatgut, unabhängig von Produktionsform, Habitus, Herkunft und Ausbringdichte, ein Rasen mit einer mittleren Torfmoos-Gesamtdeckung von $\geq 90\%$, es hatte sich also erfolgreich etabliert (Abb. 24c). Am schnellsten etablierte sich nicht-ausdifferenziertes Torfmoos aus axenischer Submerskultur im Rührkessel-Photobioraktor mit 98 % mittlerer Gesamtdeckung bereits nach drei Monaten auch bei einer Ausgangsdichte von 40 %. Nach zwei Jahren hatte das im Blasensäulenreaktor produzierte Saatgut von *S. palustre* Klon 12a (Ausbringung im Herbst, 40 %) mit 1.020 g m^{-2} am meisten Trockenmasse produziert, die anderen beiden *S. palustre* Klone 5.2 und 4.2. produzierten im Durchschnitt 25 bzw. 40 % weniger Biomasse. Insgesamt war der Einfluss der Ausbringdichte auf den Biomassezuwachs uneindeutig, jedoch führte eine Verdopplung der Ausbringdichte/ -menge nicht zur Verdopplung der Produktivität. Deshalb wurde eine 40 % Ausbringdichte als optimal für nicht-ausdifferenziertes Saatgut geschlußfolgert. Dahingegen bewirkte eine Verdopplung der Ausbringmenge (80 %) bei ausdifferenziertem *S. palustre* Klon 12a (im Frühjahr ausgebracht) nach einem Jahr zu mehr als doppelt soviel Biomasse wie bei 40 % Ausbringmenge, nicht aber bei im Herbst ausgebrachtem *S. squarrosum* Klon 5.2. Bei anderen Klonen (*S. fuscum* Klon 1.1 und *S. palustre* Klone 4.2, 5.2, 12a) wirkte sich dagegen die Herbst-Ausbringung nicht nachteilig auf die Produktivität aus.

Es wurde ein Vergleich von Wildformen mit Kulturklonen vorgenommen, wobei beide Formen ausdifferenziert waren und zeitgleich sowie mit gleicher Ausgangsdeckung ausgebracht wurden. Es zeigte sich, dass bei *S. squarrosum* zwei Wildformen (Mikroprovenienzen D1-Schlenke und S6-Rasen) signifikant mehr und ebenso zwei Wildformen (S1-Rasen und CZ5-Rasen) weniger Trockenmasse produzierten als Klon 5.2 (Abb. 9). Auch für *S. palustre* wurden höhere und niedrigere Produktivitäten bei Wildformen beobachtet als bei Klon 12a. Sowohl die Selektion aus Wildformen (Mikroprovenienzen) als auch die axenische Inkulturnahme aus Sporen führte zur Identifizierung bisher produktivster Torfmoose. Die im Rahmen von MOOSzucht ermittelten Daten zum Wachstum von Klonen im Feld bedürfen aber einer Validierung durch wiederholtes Beobachten der Etablierung und durch längerfristigeres Bestimmen von Produktivitätsraten als über zwei Jahre.



Abb. 24. Klone *S. palustre* 12a und *S. squarrosum* 5.2 ausgebracht mit 40, 60 und 80 % Deckung im Feldtest a) direkt zu Versuchsbeginn April 2019, b) 6 Monate und c) 12 Monate nach Ausbringung (Fotos: Anja Prager).

Vergleich Direktsaat vs. Zwischenkultur (Reifung) von *In vitro*-Kultivaren aus axenischer Submerskultur vor Ausbringung im Feld: Um zu ermitteln, inwiefern eine Vorkultur für axenisch produziertes Torfmoos-Material unter Gewächshausbedingungen als notwendig bzw. vorteilhaft für die Etablierung und Produktivität im Feld auswirkt, wurde nicht-ausdifferenziertes *Sphagnum palustre* Klon 12a aus Submerskultur an der Torfmooswand vorkultiviert, bevor das Material im Feld ausgebracht wurde. Im Vergleich wurde das axenische Material nicht-ausdifferenziert direkt im Feld ausgebracht. Die Ausgangsmenge war jeweils 6 L Frischmasse (ca. 110 g Trockenmasse), die im zeitigen Frühjahr parallel an der Torfmooswand und im Feldversuch auf jeweils 1,8 m² mit 40 % Deckung ausgebracht wurden. Die Torfmoose in der Zwischenkultur an der Torfmooswand wurden nach fünf Monaten geerntet und der Zuwachs an einer kleinen Teilprobe mit 600 g Trockenmasse bestimmt. Die gesamte restliche Biomasse von den inzwischen ausdifferenzierten Torfmoosen wurde mit einer Ausbringdichte von 80 % im Sommer im Feldversuch auf 9,7 m² ausgebracht und wuchs hier sieben Monate. Hier umfasste der Trockenmassezuwachs ein weiteres Kilogramm, was eine Versechszehnfachung der zu Beginn eingesetzten Menge nach insgesamt 12 Monaten Kultur bedeutete. Bei Direktsaat ins Feld wurde auf den 1,8 m² nach sechs Monaten ein Trockenmassezuwachs von 350 g, nach zwölf Versuchsmonaten von 570 g ermittelt (letzteres entspricht einer Versevenfachung der Ausgangsmasse). Die Kompletternte nach sechs Monaten Wachstum im Feld reichte für die erneute Ausbringung mit 80 % Deckung auf 6,2 m² (im Herbst) und führte nach weiteren sechs Monaten zu weiteren 450 g an Trockengewicht, was eine Verachtfachung der zu Beginn eingesetzten Menge nach insgesamt 12 Monaten Kultur bedeutete. Eine Zwischenkultur (auf Vlies, Torfmooswand) war somit für das Weiterwachsen unter Feldbedingungen nicht notwendig, führte aber zur Verdopplung des Multiplikationsfaktors im Vergleich zur Direktsaat. Zudem könnte die Zwischenkultur insbesondere für die im Winter in Photobioreaktoren produzierten Torfmoose eine „produktive Lagerungsmöglichkeit“ bieten, bevor das Material zu günstigeren klimatischen Bedingungen ab Beginn der Vegetationsperiode im Feld ausgebracht werden kann.

Einfluss der Ausbringzeit auf das Torfmooswachstum: Ein Faktor für den schnellen Etablierungserfolg von Torfmoos-Saatgut ist der Ausbringzeitpunkt. Bisher wurde großflächig die Ausbringung zum Beginn der Vegetationsperiode (im Frühjahr) sowie im Herbst getestet. Da die Produktion von Saatgut in Photobioreaktoren ganzjährig erfolgt und die längere Lagerung des produzierten Moosmaterials zu Qualitätsverlusten führen kann, wurde untersucht, inwieweit die Ausbringung von Torfmoosen im gesamten Jahresverlauf möglich ist. Dazu wurde im Bioreaktor vermehrtes Saatgut der Art *Sphagnum palustre* (Klon 12a) zu sieben Zeitpunkten im Jahresverlauf (März, April, Mai, Juli, September, Oktober, November) mit einer Menge von 10 L (locker gezupft) (Ernte von zwei 5 L-Blasensäulenreaktoren nach 26 Tagen Kulturdauer) direkt im Feld mit drei Wiederholungen auf einer Fläche von insgesamt 1,6 m² ausgebracht.

Es zeigte sich, dass das Torfmoos-Saatgut zu allen Ausbringzeitpunkten im Feldversuch weiterwuchs. Die zwischen Mai und September ausgebrachten Moose hatten sich bereits nach drei Versuchsmonaten erfolgreich etabliert (mittlere Torfmoos-Gesamtdeckungen $\geq 90\%$, vgl. Abb. 25), nach sechs Monaten konnte eine Etablierung bei zu allen getesteten Zeitpunkten ausgebrachten Moosen beobachtet werden (Ausnahme: Novemberausbringung erst nach 12 Monaten). Die zwischen März und Mai ausgebrachten Torfmoose profitierten davon, eine ganze Vegetationsperiode nutzen zu können (bevor im Winter das Wachstum bremst) und erreichten schnell (innerhalb von sechs Monaten) deutlich höhere Rasenhöhen und Biomassezuwächse als später ausgebrachte Torfmoose. Ein Jahr nach Ausbringung erreichten die im Herbst ausgebrachten Torfmoose höhere Rasenhöhen als

die im Frühjahr ausgebracht und die Biomassezuwächse glichen sich an (Ausnahme: Novemberausbringung). Zielt man auf schnell (halbes Jahr) erntebare Rasen, sollte im Frühjahr ausgebracht werden. Hat man mindestens ein Jahr Zeit ist auch die Ausbringung in Sommer und Herbst (jedoch vor November) ratsam.

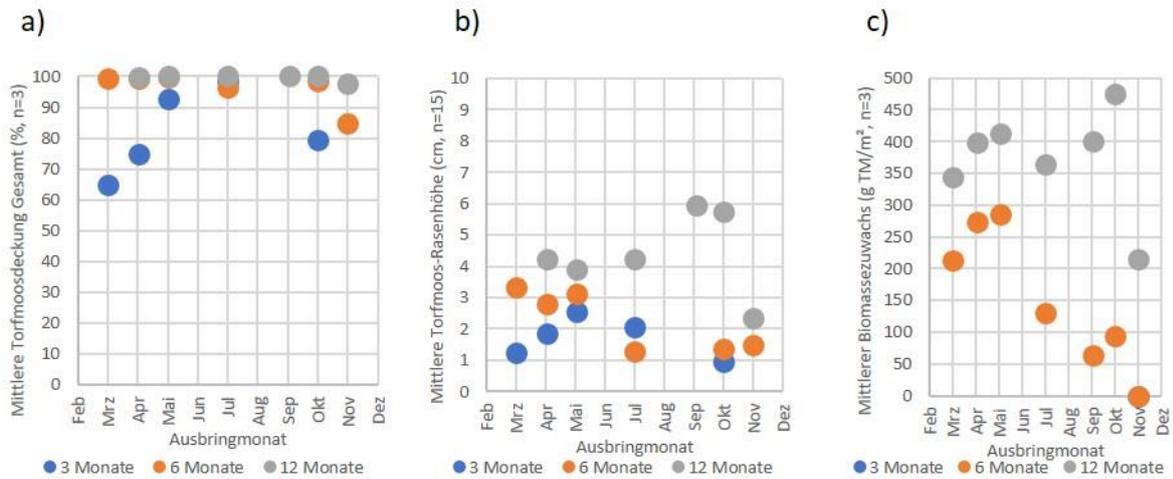


Abb. 25. Entwicklung von *Sphagnum palustre* Klon 12a, produziert in axenischer Submerskultur im Blasensäulen-Photobioreaktor, nicht-ausdifferenziert) nach Ausbringung mit 40 % Deckung im Feldversuch und in Abhängigkeit vom Ausbringmonat in 2020. a) Mittl. Gesamtdeckung von Torfmoos (in %), b) mittl. Höhe des Torfmoosrasens (in cm), c) mittl. Biomassezuwachs (in g TM m⁻²).

Ausbildung von Morphotypen bei *Sphagnum palustre* Klon 12a unter Feldbedingungen: Nach zwölf Monaten Kultur im Hankhauser Moor begann *Sphagnum palustre* Klon 12a zwei verschiedene Morphotypen auszubilden, die unter gleichen Wasser- und Nährstoffbedingungen in klar voneinander abgegrenzten Bereichen nebeneinander wuchsen (Abb. 26). Die genetisch identischen Torfmoose unterschieden sich hinsichtlich ihrer Morphologie, z.B. in der Pigmentierung, Länge und Stärke der Moosästchen und ihrem Wachstum (Deckung Capitula, Rasenhöhe). Die (phänotypische) Plastizität von Klonen und dessen Einflussfaktoren sollten zukünftig systematisch untersucht werden.

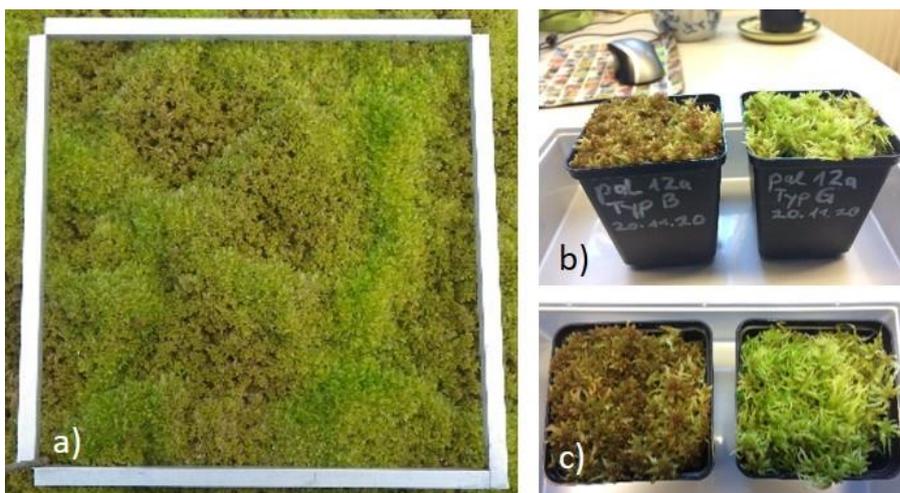


Abb. 26. Ausbildung von zwei verschiedenen Morphotypen von *S. palustre* Klon 12a im Feld nach ca. 1,5 Jahren (Fotos: Anja Prager).

AP 7 Koordination des Verbundes und Öffentlichkeitsarbeit

Kommunikation zwischen den einzelnen Projektpartnern sowie die Koordination des Projektverbundes (jährlich zwei Projekttreffen, jährliche Zwischenberichte, Schlussbericht) liefen zur Zufriedenheit aller Partner. Die Arbeitspakete im Verbund waren eng miteinander verzahnt.

Eine gute Zusammenarbeit und ein permanenter Moosmaterialfluss waren Voraussetzung für die erfolgreiche Bearbeitung der Arbeitspakete. Deshalb erfolgten Mooslieferungen in Form von: 104 Klonen von 19 Torfmoosarten aus *In vitro*-Kultur im Photobioreaktor (Rührkessel bzw. Blasensäule (Freiburg → Greifswald), je einem Klon von drei Torfmoosarten aus *In vitro*-Kultur im Photobioreaktor (Freiburg → Karlsruhe), drei Klonen aus Blasensäulen-Photobioreaktor für Nassansaat (Freiburg → NIRA), Individuen der produktivsten Mikroprovenienz von 12 *Sphagnum*-Arten (Greifswald → Freiburg), Sporenkapseln von Wildformen von zehn *Sphagnum*-Arten (Greifswald → Freiburg), Wildformen von sechs *Sphagnum*-Arten aus Torfmooswand-Kultivierung (Greifswald → NIRA), Wildformen von zwei *Sphagnum*-Arten aus Torfmooswand-Kultivierung (Greifswald → NIRA), drei Klonen aus *Trickle bed*-Photobioreaktor (Karlsruhe → Greifswald), ein Klon aus *Wave bag*-Photobioreaktor (Karlsruhe → Greifswald), ein Klon aus Schlauch-Photobioreaktor (Karlsruhe → Greifswald), einem Klon aus 1,5 L *Trickle bed*-Photobioreaktor (Karlsruhe → NIRA).

Ebenso gelang die Repräsentation des Verbundprojektes nach außen durch:

- 1) Mehrere Medienbeiträge in Presse, Funk und Fernsehen (Auswahl zu finden auf der GMC website Presse [link](#))
- 2) Pflege der zweisprachigen Projekt-Homepage (www.mooszucht.paludikultur.de)
- 3) Informationstag „Torfmooskultivierung im Hankhauser Moor“: ca. 2,5 km Rundgang mit 7 Informationsständen; ca. 50 Besucher*innen, intensive Diskussionen
- 4) virtuelle Informationsveranstaltung „Nutzungsoptionen für Paludi-Biomasse“: ~250 Teilnehmende, ~20 Kurzvorträge, lebhaftes Diskussion im *chat*
- 5) virtuelle Veranstaltung *Soup'n'Talk* „Wir haben es satt“ Extra -Session über Moore mit 3 x 5 min – Kurzvorträgen, u.a. „Torfmoosanbau statt Torfabbau“, ca. 300 Teilnehmende aus aller Welt (Simultanübersetzung D/E), Diskussionen in *break out*-Sessions
- 6) Faktenpapier „Torfmoos-Anbau in Niedersachsen“ (MOOSWEIT) Versand an Ministerin Otte-Kienast (Landwirtschaft Niedersachsen) + weitere Politiker*innen und andere Akteure https://www.greifswaldmoor.de/files/dokumente/Infopapiere_Briefings/202101_Faktenpapier_Torfmoosanbau.pdf
- 7) Beiträge zu Konferenzen in Form von Vorträgen und Postern:
 - 2021: *3rd Conference on Renewable resources from wet and rewetted peatlands* – RRR2021: virtuell, > 300 Teilnehmende aus 24 Ländern aus der ganzen Welt, *Sphagnum*-Paludikultur als ein Schwerpunkt, Ergebnisse (key messages), Präsentationen und Tagungsband sind inzwischen veröffentlicht auf: www.moorwissen.de/en/veranstaltungen/rrr2021/index.php;
Vortrag: Axenic *in vitro* cultivation of 19 peat moss (*Sphagnum* L.) species as a resource for basic biology, biotechnology, and paludiculture; Vortrag: Selection of highly productive *Sphagnum* species and provenances in Europe to maximize the yield in *Sphagnum* farming; Poster: Selecting highly productive *Sphagnum* (peatmoss) provenances and their mass-propagation – results of the joint *Sphagnum* farming research project ‚mooszucht‘

- 2021: Cytométrie in Straßburg; Vortrag: Axenic *in vitro* cultivation of 19 peat moss (*Sphagnum*) species as a resource for basic biology, biotechnology, and paludiculture
- 2020: Process-Net-Jahrestag; virtuell; Poster: Development of a photobioreactor for large-scale mass production of peat moss *Sphagnum palustre*
- 2019: International Conference of Plant Science technology and Molecular Biology in Valencia (ES); Poster: Development of a photobioreactor for large-scale mass production of peat moss
- 2019: WETSCAPES Conference in Rostock (DE); Vortrag: *In-vitro* biomass production of different peat moss species; Vortrag Parameters for rapid *Sphagnum* lawn establishment; Poster: Development of a photobioreactor for large-scale mass production of peat moss *Sphagnum palustre*
- 2019: SWAMPS-Konferenz in Oldenburg, Vortrag: Sphagnum farming on former bog grassland: it must be wet!
- 2018: Black Forest Workshop; Vortrag: Bryophyte *in-vitro* cultivation at the International Moss Stock Center (IMSC)
- 2017: Botanikertagung; Vortrag: MOOSzucht: Optimization of sustainable peat moss cultivation
- 2017: First International and Interdisciplinary PhD Summerschool Nagoya, Japan; Poster: MOOSzucht: Optimization of sustainable peat moss cultivation

Zusammenfassung & Ausblick: Erfolgreiche Selektionszüchtung und effizientes Saatgut-Produktionsverfahren

Für Torfmoos-Paludikultur gibt es bisher noch keine Sorten-Palette. Im Projekt MOOSzucht wurden Wildformen gesammelt, um Material für die anschließende Selektionszüchtung und axenische Inkulturnahme bereitzustellen. Durch Selektion konnte in MOOSzucht im Vergleich zu bisher verwendetem Material eine bis zu 30 % höhere Produktivität erreicht werden, die im Feldtest validiert wurde (grün hinterlegter Bereich in Abb. 27). Die als hochproduktiv selektierten Torfmoos-Mikroprovenienzen wurden erfolgreich in axenischer Submerskultur im Rührkessel-Photobioreaktor vermehrt – sowohl aus Sporen als auch aus vegetativem Material. Hier konnte eine Vermehrungsrate von bis zu 50 innerhalb von 24 Tagen erreicht werden (Abb. 27, Mitte und rechts im oberen Teil des grau hinterlegten Bereiches). Dieses Verfahren dient der Bereitstellung von Inokulum, um in größeren Bioreaktoren massenhaft Saatgut zu produzieren. Hierfür wurden drei Prototypen entwickelt, von denen zwei für die Weiterentwicklung vielversprechend sind (Moosbettreaktor und Schlauchreaktor, (Mitte und rechts im unteren Teil des grau hinterlegten Bereiches). Die Zwischenkultur von Material aus dem Blasensäulen-Photobioreaktor auf Vlies (an der Torfmooswand) für ein halbes Jahr (Abb. 27 grauer Bereich, links) und dann Ausbringung im Feld führte zu doppelt so viel Biomasse nach einem Jahr wie im Vergleich zur Direktausbringung ins Feld (und erneutes Ausbringen nach einem halben Jahr). Inwiefern dieses Ergebnis für mehr Arten und Material aus einem Moosbett- oder Schlauchreaktor wiederholbar ist, sich dieser Unterschied bis zur Ernte hin bemerkbar macht und wie er sich ökonomisch auswirkt, gilt es in Zukunft zu untersuchen. Nach derzeitigem Stand besteht ein effizientes Produktionsverfahren für die Herstellung von Torfmoos-Saatgut aus der Herstellung eines Inokulums aus vegetativem Material hochproduktiver Klone bzw. Mikroprovenienzen im ersten Schritt, der Massenproduktion in einem Moosbett- oder Schlauchreaktor im zweiten Schritt und einer

Zwischenkultur zur Reifung des Bioreaktormaterials an der Torfmooswand im dritten Schritt, bevor das so prozessierte Saatgut im wiedervernässten Moor zur Neueinrichtung einer Torfmoos-Paludikultur ausgebracht wird (Abb. 27).

Um den Weißtorf in Kultursubstraten in Deutschland zu ersetzen (3 Mio. m³ pro Jahr), wird eine Fläche von 35.000 ha Torfmoos-Paludikultur benötigt. Unter der Annahme, dass in Rotation alle 10 Jahre geerntet und danach neu eingerichtet werden muss, ergeben sich 3.500 ha Einrichtung pro Jahr. Bei einem Einsatz von 40 m³ nicht-ausdifferenziertem Torfmoos (aus Submerskultur im Photobioreaktor) pro Hektar zur Begründung einer Torfmoos-Paludikultur ergibt sich ein Saatgut-Bedarf von 140.000 m³, die nach den Erfahrungen aus MOOSzucht in ca. 15.500 m³ Reaktorvolumen produziert werden können. Dafür ist die Weiterentwicklung der Massenproduktion in einem *Low cost*-Bioreaktor notwendig.

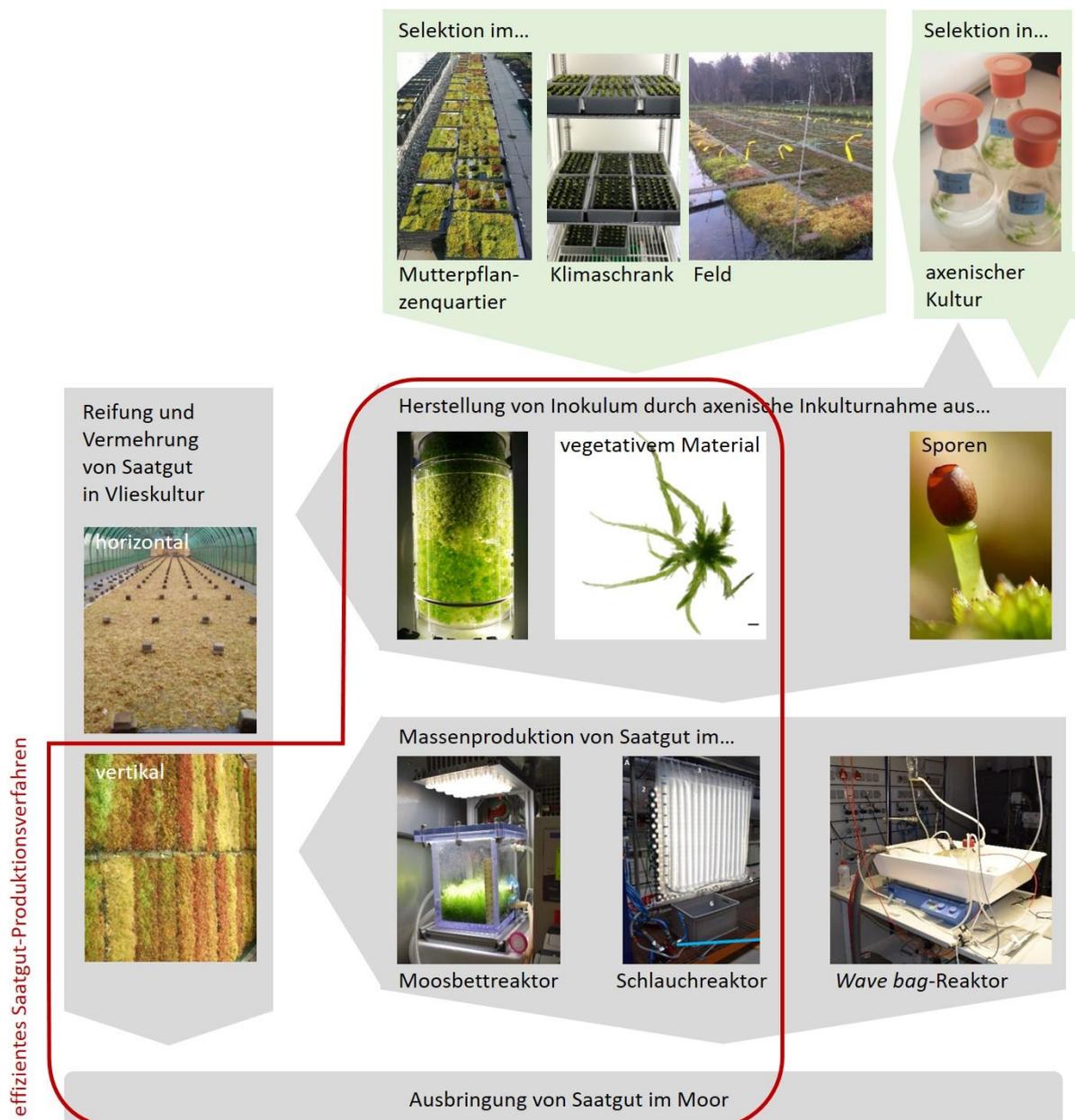


Abb. 27. Forschungsarbeiten im MOOSzucht-Projekt (grün hinterlegt die Selektion hochproduktiver Provenienzen, grau hinterlegt Wege zu deren Vermehrung) und das daraus ermittelte effizienteste Produktionsverfahren für die Herstellung von Torfmoos-Saatgut (im roten Rahmen).

2. Erkenntnisse von Dritten

Im Rahmen der Paludikultur-Konferenzwoche in Greifswald im September 2017, insbesondere beim 3. Internationalen Sphagnum farming Workshop, erfolgte ein intensiver Austausch der Wissenschaftler und Praktiker, die sich weltweit mit Torfmooskultivierung beschäftigen. Die präsentierten und diskutierten Ergebnisse waren für die Ziele und Durchführung des Vorhabens jedoch nicht relevant.

Seit 2017 arbeiten zahlreiche Wissenschaftler aus aller Welt zusammen im Sphagnume Projekt. Ziel des Projektes ist die erstmalige Entschlüsselung des Genoms für Torfmoose anhand der Arten *Sphagnum magellanicum* sensu lato und *S. fallax* sowie weiterführend durch Sequenzierung auf Artniveau den Zusammenhang zwischen einzelnen Genen und Merkmalsausprägungen der Torfmoose herzustellen („from gene to trait“, Weston *et al.* 2018). Um herauszufinden, ob relevante Ergebnisse für das MOOSzucht-Projekt vorlagen und inwiefern eine Kooperation zwischen beiden Projekten zu Synergien führen konnte (z.B. Austausch von Torfmoos-Material), fand im April 2018 ein Treffen zwischen Wissenschaftlern der Universitäten Greifswald, Lund und Uppsala sowie des NTNU University Museum Trondheim in Uppsala statt.

Der intensive Austausch mit Wissenschaftlern der Universitäten Münster, Budweis (CZ), Uppsala (S) und mit R.S. Clymo (GB) 2019 wurde zur Weiterentwicklung von Methoden, v. a. im Bereich der nicht-destruktiven Produktivitätsbestimmung genutzt. Darüber hinaus wurde auf Treffen die wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit der MOOSzucht-Thematik erörtert.

2019 wurde die Taxonomie von *Sphagnum magellanicum* (eine der MOOSzucht-Fokusarten) diskutiert. Hassel *et al.* (2018) folgend, ist das Vorkommen von *S. magellanicum* ausschließlich auf Feuerland (Chile) beschränkt. Bei Vorkommen außerhalb Feuerlands handelt es sich demnach um *S. medium* oder *S. divinum*. Da die Zuordnung der in MOOSzucht gesammelten Proben morphologisch nicht immer eindeutig möglich war (v.a. nicht nach Kultur unter gleichen Bedingungen), wird vorläufig „*S. magellanicum* sensu lato.“ als Bezeichnung im Projektkontext genutzt. Erste Analysen legen nahe, dass beide Arten in axenischer Kultur vorhanden sind. Eine molekulare Charakterisierung erfolgt im Projektzeitraum.

Um das Klimaschutzziel 2050 (Pariser Klimaschutzabkommens von 2015) zu erreichen, sind die CO₂-Emissionen aus den Moorböden auf Null zu reduzieren, was nur durch deren Wiedervernässung erreicht werden kann. Ein möglicher Transformationspfad für die Bewirtschaftung von Mooren in Deutschland wurde auf der Abschlussveranstaltung des Deutschen Moorschutzdialogs (Berlin, Okt/2018) vorgestellt und detaillierter in Tanneberger *et al.* (2021) beschrieben. Zudem ist die Verwendung von fossilem Torf zu beenden, jedoch zugleich die Verfügbarkeit von hochwertigen Substratrohstoffen für den Erwerbsgartenbau sicherzustellen. Torfmoos-Anbau bietet die einzigartige Möglichkeit, diese drei Herausforderungen integrativ zu lösen. Für die großmaßstäbige Umsetzung von Paludikultur (z.B. Torfmoos-Anbau) als einen wesentlichen Baustein im Transformationspfad ist es weiterhin notwendig, Forschung, Entwicklung und Erprobung voranzutreiben.

UN Decade of Restoration 2021-2030 <https://www.decadeonrestoration.org/>: Unter Leitung der FAO wurde mit der Entwicklung von Konzepten und Indikatoren begonnen, wobei Moorzuniederlassung selbstverständlich eine wichtige Rolle spielt.

Greenpeace Deutschland hatte 2021 ein Klimagerechtes Konjunkturprogramm herausgegeben mit Plänen für die Wiedervernässung von 300.000 ha Moor in den nächsten 3 Jahren (u.a. Paludikultur) wofür 4,5 Milliarden Euro angesetzt wurden: <https://www.greenpeace.de/presse/publikationen/der-neun-punkte-plan>.

Im Ergebnis einer Patentrecherche wurden drei Patentanmeldungen von Micropropagation Services Ltd. aus Großbritannien (Erfinder: Neal Wright) ermittelt:

- GB2584128A Methods for cultivating *Sphagnum*: 25 Ansprüche
- WO2020/234607A1 Methods for cultivating *Sphagnum*: 73 Ansprüche
- WO2020/234611A1 Nutrient compositions for cultivating *Sphagnum*: 62 Ansprüche

Alle drei Patentanmeldungen wurden im Mai 2019 eingereicht und am 25.11.2020 veröffentlicht. Inwiefern die Ansprüche den Torfmoos-Anbau im Feld oder die Kultivierung in Bioreaktoren (sowohl Rührkessel- und Blasensäulen-Photobioreaktor in submerser Kultur als auch *Trickle bed*-Photobioreaktor in emerser Kultur), wie sie bisher in mehreren auch vom BMEL finanzierten Projekten erforscht und entwickelt wurden, und die großflächige Umsetzung des Torfmoos-Anbaus in Paludikultur (nicht nur in Deutschland) betreffen, muss dringend eingehend geprüft werden. Gegebenenfalls muss Einspruch erhoben werden. Dafür sind im MOOSzucht-Projekt jedoch keine Kapazitäten eingeplant. Gegebenenfalls werden wir uns mit diesem Anliegen an das BMEL bzw. die FNR und deren Rechtsabteilungen wenden.

3. Veröffentlichungen

- Heck, M.A., Lüth, V.M., van Gessel, N., Krebs, M., Kohl, M., Prager, A., Joosten, H., Decker, E.L. & Reski, R. 2021a. Axenic *in vitro* cultivation of 19 peat moss (*Sphagnum* L.) species as a resource for basic biology, biotechnology, and paludiculture. *New Phytologist* **229**: 861-876.
- Heck, M.A., Melková, I., Posten, C., Decker, E.L. & Reski, R. 2021b. Medium optimization for biomass production of three peat moss (*Sphagnum* L.) species using fractional factorial design and response surface methodology. *Bioresource Technology Reports* **15**: 100729.
- Käärmelahti, S.A., Temmink, R.J.M., van Dijk, G., Prager, A., Kohl, M., Gaudig, G., Koks, A.H.W., Krebs, M., Liu, W., Vroom, R.J.E., Peters, R.C.J.H., Fritz, C. (in prep.) Interactions between nutrients and 12 peat moss species in the establishment phase of *Sphagnum* paludiculture
- Prager, A., Fritz, C., Käärmelahti, S., Kohl, M., Krebs, M., Temmink, R., & Gaudig, G. (in prep.) Origin or growth conditions – what triggers *Sphagnum* growth in the field?

ANHANG

Teilvorhaben 1 Selektion hochproduktiver Wild-Provenienzen, Saatgut-Produktion im Gewächshaus, Feldtest gezüchteter und massenvermehrter Torfmoose (Universität Greifswald)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Das Teilvorhaben 1 zielte auf die Sammlung und Charakterisierung von Torfmoos-Wildformen (Mikroprovenienzen) für die Selektion hochproduktiver Torfmoos-Mikroprovenienzen (= Torfmoosart + Moor + Mikrohabitat) als eine Voraussetzung für die Rentabilität von Torfmoos-Paludikultur. Dafür wurde versucht, eine Methode zum nichtinvasiven Bestimmen der Torfmoosproduktivität zu entwickeln (nicht final etabliert). Das bereits bestehende Verfahren zum Vermehren von Torfmoos in vertikaler Vlieskultur (Torfmooswand) wurde optimiert und für die Anwendung von noch nicht ausdifferenziertem Torfmoos-Saatgut aus Submerskultur adaptiert. Die Verifizierung der Produktivität selektierter Wild-Provenienzen und Zuchtlinien erfolgte unter Feldbedingungen. Die Universität Greifswald koordinierte den Verbund.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

- AP 1: Sammlung, Charakterisierung und Selektion von Torfmoos-Wildformen
+ Aufstockung: Produktivitätsvergleich und Selektion von Torfmoosmikroprovenienzen
- AP 5: Vermehrung und Reifung in nicht-axenischer Kultur: Teil vertikale Vlieskultur (Torfmooswand)
- AP 6: Feldtest für produziertes Torfmoos-Saatgut
- AP 7: Projektkoordination und Öffentlichkeitsarbeit

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

- Sammlung, Charakterisierung und erfolgreiche Kultivierung von 476 Torfmoos-Mikroprovenienzen sowie 6 Klonen im Mutterpflanzenquartier (12 Zielarten: *Sphagnum austinii*, *S. centrale*, *S. denticulatum*, *S. fallax*, *S. fimbriatum*, *S. fuscum*, *S. magellanicum* sensu lato (hier *S. medium* & *S. divinum*), *S. palustre*, *S. papillosum*, *S. riparium*, *S. rubellum*, *S. squarrosum*)
- Merkmalsbestimmung bei *Sphagnum medium* & *S. divinum* abgeschlossen
- Erfolgreiche Identifizierung produktivster Mikroprovenienzen in zwei Selektionsschritten (darunter produktivere Provenienzen als bisher in Paludikultur), Validierung der Produktivität im Feldtest und erfolgreich Vermehrung für axenische Inkulturnahme (für Teilvorhaben 2)
- Eine nicht-destruktive Methode zur Produktivitätsbestimmung nicht abschließend etabliert
- Ausgeglichene Stöchiometrie von Stickstoff, Phosphor und Kalium förderte Torfmooswachstum unter Laborbedingungen unabhängig von der Gesamtkonzentration dieser Nährstoffe

- Geeignete Methode für erste Selektion von Mikroprovenienzen etabliert
- Mit Management der Feldkultur kann Produktivität von Torfmoosen mit unterschiedlicher Ökologie gefördert werden
- Axenisch in Photobioreaktoren produziertes Torfmoos wächst unter nicht-axenischen Bedingungen im Labor, in Vlieskultur und im Feld uneingeschränkt weiter
- Vermehrung an der Torfmooswand an kleinteiliges Torfmoos-Saatgut aus Photobioreaktor-kultivierung angepasst; Vermehrungsrate von bis zu 10 in 6 Monaten erreicht
- Mit Ändern von Lichtqualität (Spektralen) und Lichtintensität kann man auf Habitus und Produktivität von Torfmoosen an der Torfmooswand Einfluss nehmen
- Bei Einsatz von nicht-ausdifferenziertem gegenüber ausdifferenziertem Torfmoos als Saatgut für Torfmooswand- und Feldkultur kann Einsatzmenge (bis zur Hälfte) reduziert werden
- Erfolgreiche Steigerung von Biomassertrag durch Zwischenkultur von nicht-ausdifferenziertem Torfmoos-Saatgut (aus Submerskultur) gegenüber Direktsaat ins Feld
- Optimalen Ausbringzeitraum (März bis Oktober) für nichtausdifferenziertes Torfmoos-Saatgut (aus Submerskultur) übers Jahr erfolgreich ermittelt
- langfristige (> 2 Jahre) Validierung von Torfmoos-Produktivitäten unter Feldbedingungen zwingend notwendig
- Erfolgreiche Zusammenarbeit im Verbund (Kommunikation für alle Partner zufriedenstellend, planmäßiger Austausch von Torfmoosmaterial, gemeinsame Berichte, halbjährliche Projekttreffen
- Präsenz in Öffentlichkeit durch zahlreiche Medienbeiträge in Funk und Fernsehen, Feldinformationstag und andere Info-Veranstaltungen, Projekt-Homepage, 9 Vorträge und 5 Posterbeiträge bei nationalen Tagungen und internationalen Konferenzen

Teilvorhaben 2 Etablierung der *In vitro*-Kultivierung unter sterilen Bedingungen und Produktivitätssteigerung durch Smart *Sphagnum* Breeding (Universität Freiburg)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Ziel dieses Teilvorhabens war die Herstellung von axenischem („sauberem“) Torfmoosmaterial und dessen beschleunigte vegetative Massenvermehrung im Photobioreaktor zum Zweck der Herstellung von „Saatgut“ sowie die Optimierung der Biomasseproduktion verschiedener *Sphagnum*-Arten im Photobioreaktor. Individuen der am besten wachsenden Mikroprovenienzen (selektiert und vermehrt in AP 1) sollten in *In vitro*-Kultur genommen werden. Dazu wurde das Material oberflächensterilisiert, aus Einzelzellkulturen der axenische Klon gewonnen und anschließend auf Kontaminationsfreiheit überprüft. Nach Ploidiebestimmung wurde das axenische Material in Photobioreaktorkultur vermehrt, wobei die Kulturparameter in Hinsicht auf Biomasseproduktion optimiert wurden. Die wiederum produktivsten Klone wurden weiter vermehrt.

Wüchsige Klone wurden mittels züchterischer Methoden polyploidisiert oder durch Protoplastenfusion bzw. chemisch induzierte Polyploidisierung miteinander hybridisiert. Polyploide Arten sowie Hybride zeigen oftmals verbesserte Wachstumseigenschaften, was hier für Torfmoose untersucht werden sollte.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

AP 2: Smart *Sphagnum* Breeding neuer Torfmoos-Kultivare und Etablierung axenischer *In vitro*-Torfmoos-Kultivare aus vegetativem Torfmoosmaterial

AP 3: Etablierung und Optimierung der Kulturparameter für die Vermehrung in axenischer *In vitro*-Bioreaktorkultur (gemeinsam mit KIT) und Vermehrung in axenischer Photobioreaktorkultur

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

- Erfolgreiche Erarbeitung eines Protokolls für die Protonema-Generierung für 11 *Sphagnum*-Kultivare als Ausgangsgewebe für die Protoplastenfusion
- Erfolgreiche Isolierung von Protoplasten und Protoplastenfusion für einzelne *Sphagnum*-Arten
- Unerwartet langsame oder ausbleibende Entwicklung von Gametophoren nach der Protoplastenisolierung → Smart *Sphagnum* Breeding bisher nicht erfolgreich
- erfolgreiche Oberflächensterilisierung von Sporenkapseln und Ermittlung optimaler Sterilisationsbedingungen für jede Sporenkapsel
- Erfolgreiche Etablierung axenischer *In vitro*-Torfmoos-Kultivare aus Sporen in Submerskultur für 19 *Sphagnum*-Arten und Bestimmung der wüchsigsten Klone → mehr als 80fache Biomassezunahme innerhalb von 6 Wochen
- Erfolgreiche Entwicklung eines Protokolls zur Oberflächensterilisierung von vegetativem (grünen) Gewebe und Anwendung für 12 *Sphagnum*-Arten
- Erfolgreiche Etablierung axenischer *In vitro*-Torfmoos-Kultivare aus vegetativem Material in Submerskultur und Bestimmung der Biomasseproduktivität

- Etablierung einer DNA-Barcoding-Methode zur eindeutigen Identifizierung der Torfmoos-Kultivare auf genetischer (Art-)Ebene
- Feststellung einer fehlenden Korrelation zwischen Ploidie und Produktivität
- Optimierung des Mediums für die axenische Submerskultur von 6 *Sphagnum*-Arten
- Erfolgreiche Vermehrung in axenischer Submerskultur in 5 L Blasensäulenreaktoren für 3 *Sphagnum*-Arten mit bis zu 50facher Biomassezunahme innerhalb von 24 Tagen
- Erfolgreiches Hochskalieren der axenischen Submerskultur auf 20 L im Blasensäulenreaktor

Teilvorhaben 3 Prozessoptimierung für das Wachstum von Torfmoosen im Labor, Entwicklung und Bau eines *Trickle bed*-Reaktors zur großskaligen Massen-Produktion (KIT)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Das wissenschaftliche und technische Haupt-Arbeitsziel dieses Teilvorhabens ist die Entwicklung von effizienten Techniken für die Massenvermehrung der hochproduktiven Torfmoos-Kultivare zur Saatgut-Produktion. Zur Massenvermehrung von Torfmoos sollte ein *Trickle bed*-Photobioreaktor (TBR) entwickelt werden. Ein *Trickle bed*-Photobioreaktor ist ein Bioreaktor, in dem die Biomasse auf ein grobporöses Material aufgebracht und von oben mit einem Medium berieselt wird. Das Medium wird unten gesammelt und von oben wieder dem Reaktor zugeführt. Dadurch wird die Biomasse kontinuierlich mit ausreichend Nährmedium versorgt. Gleichzeitig wird die Biomasse von unten bzw. seitlich mit einer Gasmischung durchströmt. Aktuell wird dieser Reaktortyp in der Abwasserreinigung eingesetzt. Ein wesentlicher Vorteil des TBR ist die große Kontaktfläche zwischen Gas- und Feststoffphase, wodurch der Stoffübergang aus der Gasphase in die Biomasse erleichtert wird. Das Torfmoos wächst nicht ganz untergetaucht im Wasser, was die Aufnahme von CO₂ aus der Luft erleichtert.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

AP 3: Etablierung und Optimierung der Kulturparameter für die Vermehrung in axenischer *In vitro*-Bioreaktorkultur (gemeinsam mit Universität Freiburg)

AP 4: Entwicklung eines *Trickle bed*-Photobioreaktor (Rieselbettreaktor) zur großskaligen Massenvermehrung von Torfmoos

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

- Etablierung eines anorganischen Mediums für die Submerskultur einzelner *Sphagnum*-Arten
- Weitere Optimierung der Kulturbedingungen (Licht, CO₂-Verfügbarkeit, Hell-Dunkel-Zyklen) für die Submerskultur einzelner *Sphagnum*-Arten
- Erfolgreiche Entwicklung und Testung eines 1,5 L-*Trickle-bed*-Reaktors (bzw. Moosbettreaktors) mit höchster Torfmoos-Biomasseproduktion; produziertes Torfmoos-Saatgut mit wenig Innovationen und spirriger Wuchs → Optimierung möglich; Hochskalierung auf 125 L nicht erfolgreich
- Erfolgreiche Testung eines 5 L-*Wave-bag*-Photobioreaktors mit geeigneter Torfmoos-Saatgutqualität; Hochskalierung nur eingeschränkt möglich
- Erfolgreiche Entwicklung und Testung eines 60 L-Schlauchreaktors mit geeigneter Torfmoos-Saatgutqualität; Optimierungspotential bei der Biomasseproduktion

Teilvorhaben 4 Weiterentwicklung der Torfmooskultur im Schattenhaus und im Freiland durch Optimierung der Bewässerung, der Beleuchtung und Nährstoffversorgung (NIRA)

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Das Teilvorhaben 4 zielte auf die Weiterentwicklung einer sicheren Kulturführung von Torfmoosen im Schattiertunnel und Freiland auf Vliesunterlage sowie eine relevante Ertragssteigerung, insbesondere für die Produktion von Saatgut. Hierfür wurden Varianten der Schattierung, Intensitäten der Bewässerung, Nährstoffversorgung und Vliesvarianten als Kulturunterlage für Torfmoose aus axenischer und nicht-axenischer Kultur untersucht. Die Ausbring- und Erntetechnik wurde für Torfmoos-Capitula optimiert. Zudem wurde die Regeneration nach der Ernte untersucht. Der Eignungstest des produzierten Vermehrungsmaterials erfolgte sowohl für Freilandvlieskultur (moorungebunden) als auch im Feldversuch auf wiedervernässtem Hochmoor (im TV 1).

2. Bearbeitete Arbeitspakete

AP 5: Vermehrung und Reifung in nicht-axenischer Kultur: Teil horizontale Vlieskultur (Schattiertunnel und Freiland)

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

- Erfolgreiche Vermehrung von *Sphagnum palustre* und *S. fallax* auf Vlieskultur im Schattiertunnel; Faktoren für Kulturschäden identifiziert und Vorschläge für Management erstellt
- Mit Management der Vlieskultur können Produktivität von Torfmoosen gefördert und Kulturschäden minimiert werden
- Vermehrung von Torfmoos in Freilandvlieskultur nicht erfolgreich (Ursache vermutlich nicht ausreichende Wasserquantität und ungünstige Wasserqualität)
- Erfolgreiche Optimierung und Testung einer Torfmooserntetechnik auf Vlieskultur durch Mahd mit angepasstem Spindelmäher; für größere Flächen Optimierung hinsichtlich Mähgeschwindigkeit und Auffang- sowie Entleerungstechnik erforderlich
- Erfolgreiche nasse Zwischenlagerung (einmonatig) von im Photobioreaktor vermehrtem Torfmoos im Schattiertunnel (evtl. nötig, wenn ungünstige Witterung Ausbringzeitpunkt verzögert)
- Erste erfolgreiche Versuche für gleichmäßige und schnelle Ausbringung durch Nassansaat mit Anspritzfass und Generator; für Upscaling noch Optimierung der Technik erforderlich
- Erfolgreiche Entwicklung eines Musters für einen Vegetationsträger auf Torfmoosbasis

Literaturliste

- Aerts, R., Wallen, B., Malmer, N. (1992) Growth-limiting nutrients in *Sphagnum*-dominated bogs subject to low and high atmospheric nitrogen supply. *J. Ecol.*, 80, 131-140.
- Baker, R. G. & Boatman, D. J. (1985) The effect of carbon dioxide on the growth and vegetative reproduction of *Sphagnum cuspidatum* in aqueous solutions. *Journal of bryology*, 13(3), 399-406.
- Beike, A.K., von Stackelberg, M., Schallenberg-Rüdinger, M., Hanke, S.T., Follo, M., Quandt, D., McDaniel, S.F., Reski, R., Tan, B.C., Rensing, S.A. (2014) Molecular evidence for convergent evolution and allopolyploid speciation within the *Physcomitrium-Physcomitrella* species complex. *BMC Evolutionary Biology*, 14(1), 1-20.
- Beike, A. K., Spagnuolo, V., Lüth, V., Steinhart, F., Ramos-Gómez, J., Krebs, M., ... & Reski, R. (2015) Clonal in vitro propagation of peat mosses (*Sphagnum* L.) as novel green resources for basic and applied research. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120(3), 1037-1049.
- Bottrell, S. & Novak, M. (1997) Sulphur isotopic study of two pristine *Sphagnum* bogs in the western British Isles. *J. Ecol.*, 85, 125-132.
- Bragazza, L., Alber, R., & Gerdol, R. (1998) Seasonal chemistry of pore water in hummocks and hollows in a poor mire in the southern Alps (Italy). *Wetlands*, 18(3), 320-328.
- Bragazza, L., Tahvanainen, T., Kutnar, L., Rydin, H., Limpens, J., Hájek, M., ... & Gerdol, R. (2004) Nutritional constraints in ombrotrophic *Sphagnum* plants under increasing atmospheric nitrogen deposition in Europe. *New Phytologist*, 609-616.
- Caporn, S. J. M., Rosenburgh, A. E., Keightley, A. T., Hinde, S. L., Riggs, J. L., Buckler, M., & Wright, N. A. (2018) *Sphagnum* restoration on degraded blanket and raised bogs in the UK using micropropagated source material: a review of progress. *Mires & peat*, 20, 1-17.
- Cerff, M. & Posten, C. (2012) Enhancing the growth of *Physcomitrella patens* by combination of monochromatic red and blue light - a kinetic study. *Biotechnol J.*, 7, 527-536.
- Clymo, R.S. & Hayward, P.M. (1982) The Ecology of *Sphagnum*. In: Smith A.J.E. (ed) *Bryophyte Ecology*. Springer Netherlands, Dordrecht, 229-289.
- Clymo, R.S. (1970) The Growth of *Sphagnum*: Methods of Measurement. *J. Ecol.*, 58, 13-49.
- Crum, H.A. (1984) Sphagnopsida, Sphagnaceae. *North American Flora – Series II, Part 11*, 79-80
- Ferguson, P. & Lee, J. A. (1983) The growth of *Sphagnum* species in the southern Pennines. *Journal of Bryology*, 12(4), 579-586.
- Fritz, C., Lamers, L. P., Riaz, M., van den Berg, L. J. & Elzenga, T. J. (2014) *Sphagnum* mosses-masters of efficient N-uptake while avoiding intoxication. *PLoS one*, 9(1), e79991.
- Gaudig, G. (2001) *Sphagnum* als nachwachsender Rohstoff, Etablierung von Sphagnen – Optimierung der Wuchsbedingungen, Uni Greifswald.
- Gaudig, G., Krebs, M. & Joosten, H. (2017) Sphagnum farming on cut-over bog in NW Germany: Long-term studies on *Sphagnum* growth. *Mires & Peat*, 20, 1-19.

- Gaudig, G., Krebs, M., Prager, A., Wichmann, S. & 30 others (2018) Sphagnum farming from species selection to the production of growing media: a review. *Mires & Peat*, 20(13), 1-30.
- Gaudig, G., Krebs, M., & Joosten, H. (2020) *Sphagnum* growth under N saturation: interactive effects of water level and P or K fertilization. *Plant Biology*, 22(3), 394-403.
- Gunnarsson, U. (2005) Global patterns of *Sphagnum* productivity. *Journal of Bryology*, 27(3), 269-279.
- Hajek, T. & Adamec, L. (2009) Mineral nutrient economy in competing species of *Sphagnum* mosses. *Ecol Res*, 24, 291-302.
- Hanson, D. T. & Rice, S. K. (Eds.) (2014) Photosynthesis in bryophytes and early land plants (Vol. 37). New York: Springer.
- Hassel, K., Kyrkjeeide, M. O., Yousefi, N., Prestø, T., Stenøien, H. K., Shaw, J. A. & Flatberg, J. I. (2018) *Sphagnum divinum* (sp. nov.) and *S. medium* Limpr. and their relationship to *S. magellanicum* Brid. *Journal of Bryology*, 40(3): 197-222.
- Hayward, P.M. & Clymo, R.S. (1983) The Growth of *Sphagnum*: Experiments on, and Simulation of, Some Effects of Light Flux and Water-Table Depth. *J. Ecol.*, 845–863.
- Heck, M. A., Lüth, V. M., van Gessel, N., Krebs, M., Kohl, M., Prager, A., ... & Reski, R. (2021) Axenic in vitro cultivation of 19 peat moss (*Sphagnum* L.) species as a resource for basic biology, biotechnology, and paludiculture. *New Phytologist*, 229(2), 861-876.
- Heck, M. A., Melková, I., Posten, C., Decker, E. L. & Reski, R. (2021) Medium optimization for biomass production of three peat moss (*Sphagnum* L.) species using fractional factorial design and response surface methodology. *Bioresource Technology Reports*, 15, 100729.
- Hohe, A. & Reski, R. (2002) Optimisation of a bioreactor culture of the moss *Physcomitrella patens* for mass production of protoplasts. *Plant Science*, 163, 69-74.
- Ilyashuk, B. P. (2002) Growth and production of aquatic mosses in acidified lakes of Karelia Republic, Russia. *Water, Air, and Soil Pollution*, 135(1), 285-290.
- Jauhainen, J. & Silvola, J. (1999) Photosynthesis of *Sphagnum fuscum* at long-term raised CO₂ concentrations. *Annales Botanici Fennici*, 11-19.
- Kajita, M., Takio, S., Takami, S., & Hino, S. (1987) Establishment and growth characterization of suspension culture of cells from the moss, *Sphagnum imbrication*. *Physiologia plantarum*, 70(1), 21-26.
- Koks, A.H.W., van Dijk, G., Smolders, A.J.P., Lamers, L.P.M. & Fritz, C. (2019) The effects of alkalinity and cations on the vitality of *Sphagnum palustre* L. *Mires and Peat*, 24(25), 1–14.
- Krebs, M., Gaudig, G., & Joosten, H. (2016) Record growth of *Sphagnum papillosum* in Georgia (Transcaucasus): rain frequency, temperature and microhabitat as key drivers in natural bogs. *Mires & Peat*, 18,1-16.
- Kruse, S., Quast, S., Ipsen, A., Reutter, K., & Reski, R. (1995) Cytokinin affects stability of complex plastid transcripts in cytokinin-sensitive moss mutants. *Plant Science*, 112(2), 187-196.
- Kyrkjeeide, M. O., Hassel, K., Flatberg, K. I., Shaw, A. J., Brochmann, C., & Stenøien, H. K. (2016) Long-distance dispersal and barriers shape genetic structure of peatmosses (*Sphagnum*) across the Northern Hemisphere. *Journal of Biogeography*, 43(6), 1215-1226.

- Lamkowski, P. (2015) Verwandtschaftsanalysen mittels Mikrosatelliten an den Torfmoosen *Sphagnum magellanicum* & *Sph. papillosum* in Europa. Abschlussarbeit (M.Sc.), Universität Greifswald, 41 S.
- Lütt, S. (1992) Produktionsbiologische Untersuchungen zur Sukzession der Torfstichvegetation in Schleswig-Holstein. Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft Geobotanik in Schleswig-Holstein und Hamburg, 43, Kiel, 250 S.
- Michaelis, D. (2012). Die *Sphagnum*-Arten der Welt. TAXON, 61(81), 265-266.
- Money, R.P. (1995) Re-establishment of a *Sphagnum* dominated flora on cut-over lowland raised bogs. In Wheeler, B.D., Shaw, S., Fojt, W.J. & Roberts, R.A. (eds.) Restoration of temperate wetlands. Wiley, Chichester, 405-422.
- Poschlod, P. & Pfadenhauer, J. (1989) Regeneration vegetativer Sprossteilchen von Torfmoosen. Eine vergleichende Studie an neun *Sphagnum*-Arten. *Telma*, 19, 77-88.
- Posten C. (2018) Integrated Bioprocess Engineering. In: EBOOK PACKAGE Physics, Chemistry, Materials Sc, Geosc, De Gruyter, Berlin, Boston.
- Reski, R., Wehe, M., Hadel, B., Marienfeld, J. R. & Abel, W. O. (1991) Cytokinin and light quality interact at the molecular level in the chloroplast-mutant PC22 of the moss *Physcomitrella*. *Journal of plant physiology*, 138(2), 236-243.
- Reski, R., S. Kruse, B. Kasten, K. Reutter, M. Faust, G. Gorr, W.O. Abel (1994) Molecular analysis of cytokinin action in *Physcomitrella patens*. *Biologia Plantarum*, 36, S36.
- Rother, S., Hadel, B., Orsini, J. M., Abel, W. O., & Reski, R. (1994) Fate of a mutant macrochloroplast in somatic hybrids. *Journal of plant physiology*, 143(1), 72-77.
- Rudolph, H. & Voigt, J.U. (1986) Effects of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^{--}\text{-N}$ on growth and metabolism of *Sphagnum magellanicum*. *Physiol Plant*, 66, 339-343.
- Rudolph, H., Kirchhoff, M. & Gliesmann, S. (1988) *Sphagnum* culture techniques. In: Glime, J.M. (ed.) Methods in Bryology. Proceedings of the Bryological Methods Workshop, Mainz. Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, 29-34.
- Schopfer, P. & Brennicke, A. (2010) Blütenbildung und Befruchtung. In *Pflanzenphysiologie* (501-523). Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg.
- Schween, G., Hohe, A., Koprivova, A., & Reski, R. (2003) Effects of nutrients, cell density and culture techniques on protoplast regeneration and early protonema development in a moss, *Physcomitrella patens*. *Journal of plant physiology*, 160(2), 209-212.
- Schween, G., Schulte, J., Reski, R., & Hohe, A. (2005) Effect of ploidy level on growth, differentiation, and morphology in *Physcomitrella patens*. *The Bryologist*, 108(1), 27-35.
- Shaw, J. A., Cao, T., Wang, L.-S., Flatberg, K. I., Flatberg, B., Shaw, B., Zhou, P., Boles, S. & Terraciano, S. (2008) Genetic variation in three Chinese peat mosses (*Sphagnum*) based on microsatellite markers, with primer information and analysis of ascertainment bias. *The Bryologist*, 111(2):271-281. 2008
- Siegel, S. & Castellan, N.J.Jr. (1988) Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences. McGrawHill, New York, 399 S.

- Silvola, J. (1990) Combined effects of varying water content and CO₂ concentration on photosynthesis in *Sphagnum fuscum*. *Ecography*, 13(3), 224-228.
- Simola, L. K. (1969) The effect of various mono- and disaccharides on the growth of *Sphagnum nemoreum* thalli in sterile cultures. *Physiologia plantarum*, 22(5), 1079-1084.
- Smolders, A. J. P., Tomassen, H. B. M., Pijnappel, H. W., Lamers, L. P. M., & Roelofs, J. G. M. (2001) Substrate-derived CO₂ is important in the development of *Sphagnum* spp. *New Phytologist*, 152(2), 325-332.
- Sobotka, D. (1976) Regeneration and vegetative propagation of *Sphagnum palustre* as factor of population stability. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 45(4), 357-368.
- Sundberg, S. (2013) Spore Rain in Relation to regional Sources and beyond. *Ecography*, 36, 364–373.
- Sundberg, S. & Rydin, H. (2000) Experimental evidence for a persistent spore bank in *Sphagnum*, *New Phytol.*, 148, 105-116.
- Tanneberger, F., Tegetmeyer, C., Busse, S., Barthelmes, A. and 55 others (2017) The peatland map of Europe. *Mires & Peat*, 19(22), 1-17.
- Tanneberger, F., Abel, S., Couwenberg, J., Dahms, T., Gaudig, G., Günther, A., Kreyling, J., Peters, J., Pongratz, J., Joosten, H. (2021) Towards net zero CO₂ in 2050: An emission reduction pathway for organic soils in Germany. *Mires and Peat*, 27, 05, 17pp.; doi: 10.19189/MaP.2020.SNPG.StA.1951
- Temmink, R. J., Fritz, C., van Dijk, G., Hensgens, G., Lamers, L. P., Krebs, M., ... & Joosten, H. (2017) *Sphagnum* farming in a eutrophic world: The importance of optimal nutrient stoichiometry. *Ecological Engineering*, 98, 196-205.
- Wichmann, S., Krebs, M., Kumar, S. & Gaudig, G. (2020) Paludiculture on former bog grassland: Profitability of *Sphagnum* farming in North West Germany. *Mires & Peat*, 26, 08, 1-18.
- Weston, D.J., Turetsky, M.R., Johnson, M.G., Granath, G., [...] Clymo, R.S. & Shaw, A.J. (2018) The Sphagnome project: enabling ecological and evolutionary insights through a genus-level sequencing project. *New Phytologist*, 217, 16–25. (Online: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nph.14860/epdf>).
- Twenhöven, F. L. (1992) Untersuchungen zur Wirkung stickstoffhaltiger Niederschläge auf die Vegetation von Hochmooren. *Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft Geobotanik in Schleswig-Holstein und Hamburg*, 44, Kiel, 172 S.
- Uenaka, H., Wada, M., & Kadota, A. (2005) Four distinct photoreceptors contribute to light-induced side branch formation in the moss *Physcomitrella patens*. *Planta*, 222(4), 623-631.
- Yousefi, N., Hassel, K., Flatberg, K. I., Kempainen, P., Trucchi, E., Shaw, A. J., ... & Stenøien, H. K. (2017) Divergent evolution and niche differentiation within the common peatmoss *Sphagnum magellanicum*. *American Journal of Botany*, 104(7), 1060-1072.