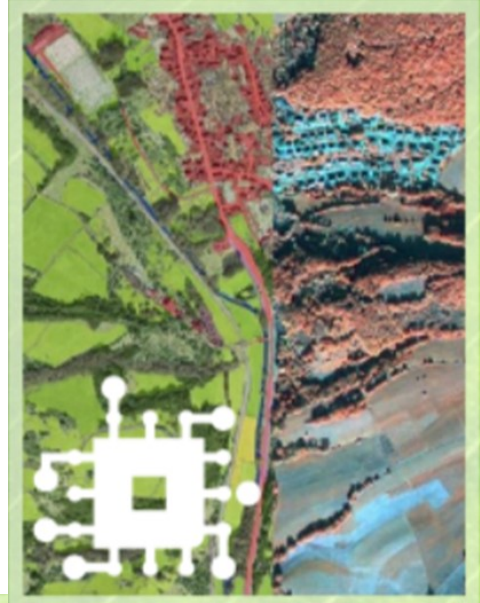


RLP AgroScience



Jahresbericht 2022/2023

Vorwort

Preface



Prof. Dr. Gabriele Krczal
Geschäftsführerin RLP AgroScience GmbH

Tel.: +49 (0)6321 / 671-1301
gabi.krczal@agrosience.rlp.de

Sehr geehrte Leserinnen und Leser,

ich freue mich, Ihnen den Jahresbericht 2022 der RLP AgroScience GmbH präsentieren zu können.

Nachdem die Jahre 2020 und 2021 von Anstrengungen geprägt waren, den Forschungsbetrieb auch unter den Konditionen der Covid 19-Pandemie aufrecht zu erhalten und die AgroScience in diesen beiden Jahren durch die Zusammenlegung der beiden Institute und die Neuordnung der Forschungsfelder in fünf Kernthemen eine Umstrukturierung erfuhr, erfolgte Ende 2022 eine weitere Veränderung: Der Gesellschafter hatte beschlossen, den Fokus der Forschungsaktivitäten der AgroScience stärker auf die öffentliche Forschung zu setzen. Daher wurden die Mitarbeiter, die in den Kernthemen 2 (Klima- und Stressresilienz) und 5 (Umweltverhalten von Pflanzenschutzmitteln) unter Aufgabe dieser Geschäftsfelder in das Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinland-Pfalz versetzt.

Durch die hohe Motivation unserer Mitarbeiter und die schnelle Anpassung an die neue Struktur ist es uns erneut gelungen, unsere Forschungs- und

Dear Readers,

we are pleased to present you the annual report 2022 of RLP AgroScience GmbH.

After the years 2020 and 2021 were characterised by efforts to maintain research operations even under the conditions of the Covid 19 pandemic and while AgroScience underwent restructuring in these two years by merging the two institutes and reorganising the research fields into five core topics, a further change took place at the end of 2022: the shareholder decided to focus AgroScience's research activities more strongly on public research. Therefore, the employees working in the core topics 2 (climate and stress resilience) and 5 (environmental behaviour of plant protection products) were transferred to the Service Centre for Rural Areas in the Rhineland-Palatinate (Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinland-Pfalz), giving up these business areas.

Thanks to the high motivation of our staff and the quick adaptation to the new structure, we have once again succeeded in maintaining our research and development work, as well as our activities in the area of further training for young scientists, so that we can also present exciting research projects to you in this edition of our annual report.

The major topic of AgroScience continues to be "sustainable agriculture", also in the sense

Entwicklungsarbeiten, sowie unsere Aktivitäten im Bereich der Fortbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses aufrecht zu erhalten, so dass wir Ihnen auch in dieser Ausgabe unseres Jahresberichts spannende Forschungsprojekte vorstellen können.

Das große Thema der AgroScience ist weiterhin die „Nachhaltige Landwirtschaft“, auch im Sinne eines Beitrags zur Erreichung der Ziele der Farm-to-Fork Strategie der EU Kommission, deren wichtigste Ziel die Gewährleistung einer nachhaltigen Lebensmittelproduktion unter Reduktion des Inputs chemischer Pflanzenschutzmittel und Düngemittel ist. Wir arbeiten daher weiter an der Entwicklung von Alternativen zu chemischen Pflanzenschutzmitteln durch nebenwirkungsarme und nicht-toxische Alternativen und an der Weiterentwicklung von innovative Züchtungsverfahren, den sog. „New Breeding Technologies (NBTs)“, um einen Beitrag dazu zu leisten, Pflanzeigenschaften zu optimieren, um den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln zu minimieren und landwirtschaftliche Produktion nachhaltig zu gestalten. Wir erproben auch Methoden, um den Düngemiteleinsatz zu verringern.

Im Bereich NBT zeigen wir durch die Verfassung von Stellungnahmen und Positionspapieren zusammen mit anderen Kollegen und Verbänden aus der Wissenschaft sowie der Moderation von Informationsveranstaltungen – im Jahr 2022 mit einem Fokus auf politische Akteure - wissenschaftspolitisches Engagement.

Ein weiterer Schwerpunkt der RLP AgroScience ist die Weiterentwicklung von digitalen Anwendungen in der Landwirtschaft und Klimaanpassungsstrategien zur Erhöhung der standortspezifischen Resilienz auf Landschaftsebene.

Dafür fokussieren wir unsere Forschungsvorhaben auf die Geoboxinfrastruktur RLP (GBI) und den GeoboxViewer (GBV). In enger Zusammenarbeit mit dem MWVLW und den DLR'en in RLP liefern wir Ergebnisse aus Forschungsvorhaben, die als Beiträge in den GBV integriert werden. Resiliente internetunabhängige Sensortechnologien verdichten staatliche Messnetze und komplexe Auswertungsalgorithmen (KI)

of contributing to the achievement of the goals of the EU Commission's Farm-to-Fork Strategy, whose most important goal is to ensure sustainable food production while reducing the input of chemical pesticides and fertilisers. We therefore continue to work on the development of alternatives to chemical pesticides through low side-effect and non-toxic alternatives and on the further development of innovative breeding techniques, the so-called "New Breeding Techniques (NBTs)", in order to contribute to optimising plant traits, minimising the use of pesticides and making agricultural production sustainable. We are also testing methods to reduce the use of fertilisers.

In the field of NBTs, we show our commitment to science policy by drafting statements and position papers together with other colleagues and associations from the scientific community and by moderating information events - in 2022 with a focus on political actors.

Another focus of RLP AgroScience is the further development of digital applications in agriculture and climate adaptation strategies to increase site-specific resilience at the landscape level.

For this purpose, we focus our research projects on the Geobox Infrastructure RLP (GBI) and the GeoboxViewer (GBV). In close cooperation with the MWVLW and the DLR's in RLP, we deliver results from research projects that are integrated as contributions into the GBV. Resilient internet-independent sensor technologies condense state measurement networks and complex evaluation algorithms (AI) help with user-specific data provision. The integration of modern technologies relevant to practice and the connection to the state infrastructure are therefore further research activities. We support consulting and practice in the field of biodiversity and connectivity aspects at the landscape level through digital landscape analyses and the provision of these data. The transfer of knowledge into practice takes place through the visualisation of our results in the GBV and other online platforms as well as lectures, publications and training courses.

AgroScience is involved in national and international committees. Furthermore, it is involved in master's degree courses at the Mannheim University of Applied Sciences

helfen bei der nutzerspezifischen Datenbereitstellung. Die Integration moderner praxisrelevanter Technologien und die Anbindung an die Landesinfrastruktur sind deshalb weitere Forschungsaktivitäten. Wir unterstützen Beratung und Praxis im Bereich Biodiversität und Vernetzungsaspekte auf Landschaftsebene durch digitale Landschaftsanalysen und die Bereitstellung dieser Daten. Der Wissenstransfer in die Praxis erfolgt über die Visualisierung unserer Ergebnisse im GBV und weiteren Online-Plattformen sowie Vorträgen, Veröffentlichungen und Schulungen.

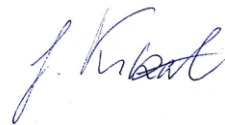
Die AgroScience ist eingebunden in nationale und internationale Gremien. Weiterhin ist sie an Masterstudiengängen der Hochschule Mannheim beteiligt, sowie mit Vorlesung und Praktika an der Universität Heidelberg sowie dem Weincampus Neustadt aktiv. Zusammen mit Universitäten erfolgt auch die Ausbildung von Bachelor- und Masterstudenten, sowie Doktoranden, die mit ihrer Arbeitskraft auch Projekte der AgroScience voran bringen. Unsere Erfolge werden durch den außergewöhnlichen Einsatz unserer Mitarbeiter und die vertrauensvolle Kooperation mit unseren Partnern in Forschung und Entwicklung möglich.

Wir möchten allen unseren Mitarbeitern und Kooperationspartnern für die hervorragende Zusammenarbeit im Jahr 2022 danken.

and is active with lectures and practical courses at the University of Heidelberg and the Weincampus Neustadt. Together with the universities, the institute also trains bachelor's and master's students, as well as doctoral students, who use their work to advance projects of the AgroScience.

Our successes are made possible by the extraordinary commitment of our employees and the trusting cooperation with our partners in research and development.

We would like to thank all our employees and cooperation partners for the excellent cooperation in 2022.



Neustadt an der Weinstrasse, den xx.yy.2023

Translational Plant Epigenetics

Die Kunst der Herstellung hitzeresistenter Kartoffeln durch Kombination von RNA-Interferenz und RNA-Technologie

The art of making heat resistant potatoes by combining RNA interference and RNA technology

Die Kartoffel (*Solanum tuberosum*) ist mit einer Jahresproduktion von 368 Millionen Tonnen im Jahr 2018 weltweit eine wichtige Nahrungsmittelpflanze. Die Kartoffel hat mehrere Vorteile: Sie produziert mehr Trockenmasse und Eiweiß pro Hektar, benötigt weniger Wasser als Getreide und kann sich an verschiedene Umweltbedingungen anpassen. Ihre Knollen sind eine wichtige Quelle für Stärke, Mineralien, Vitamine und essenzielle Aminosäuren und damit entscheidend für die Ernährung der wachsenden Weltbevölkerung.

Klimawandel und die Zukunft der Kartoffeln

Die Erträge von Kartoffelknollen schwanken weltweit erheblich, wobei die afrikanischen Länder die niedrigsten Erträge verzeichnen. Diese Schwankungen sind auf mehrere Faktoren zurückzuführen, darunter agronomische Praktiken, der Zugang zu gesundem Pflanzmaterial, sowie biotische und abiotische Stressfaktoren. Höhere Temperaturen gelten als einer der wichtigsten Faktoren, die sich auf das Wachstum und den Ertrag von Kartoffeln auswirken, und Tagestemperaturen von über 27 °C können den Knollenertrag mehrerer Sorten erheblich verringern. Der Klimawandel hat die Entwicklung von Kartoffelsorten erforderlich gemacht, die hohe Temperaturen vertragen und hohe Erträge liefern können.

Epigenetik

Pflanzen bewältigen ungünstige Umweltbedingungen oft durch epigenetische Genregulierung, die DNA- und Histonmodifikationen umfasst. Diese Modifikationen verändern die Chromatinarchitektur und wirken sich auf die Zugänglichkeit bestimmter Regionen des Genoms für die Transkriptionsmaschinerie aus. Die Methylierung und Demethylierung von Cytosinen (Cs) sind die wichtigsten DNA-

The potato (*Solanum tuberosum*) is a vital food crop globally, with a yearly production of 368 million tons in 2018. Potatoes have several advantages, including producing more dry matter and protein per hectare, being more water-efficient than cereals, and being adaptable to various environmental conditions. Their tubers are a significant source of starch, minerals, vitamins, and essential amino acids, making them crucial for feeding the world's growing population.

Climate change and the future of potatoes

Potato tuber yields vary significantly worldwide, with African countries experiencing the lowest yields. This variability is due to multiple factors, including agronomic practices, access to healthy planting materials, and biotic and abiotic stresses. Higher temperature is considered one of the most important factors affecting potato growth and yield, and day temperatures above 27°C can significantly reduce the tuber yield of several cultivars. Climate change has created a demand for the development of potato varieties that can tolerate high temperatures and maintain high yields.

Epigenetics

Plants often cope with unfavorable environmental conditions through epigenetic gene regulation, which involves DNA and histone modifications. These modifications alter the chromatin architecture, and affect the accessibility of specific regions of the genome to the transcriptional machinery. The methylation and demethylation of

Modifikationen, wobei die de novo-DNA-Methylierung in Pflanzen durch RNA-gesteuerte DNA-Methylierung (RdDM) ausgelöst wird. RdDM zielt auf spezifische Regionen des Genoms für die Cytosin-Methylierung (5mC) mit Hilfe von doppelsträngiger RNA (dsRNA) ab und kann in Pflanzenzellen künstlich durch die Einführung von dsRNA über Transgene oder Viren induziert werden.

RdDM-Mutanten in Arabidopsis weisen eine Überempfindlichkeit gegenüber akuter Hitze auf, was die Bedeutung der de novo-DNA-Methylierung für die Hitzetoleranz unterstreicht. In ähnlicher Weise kann die Hypermethylierung von regulatorischen Elementen bestimmter Kartoffelgene mit der Hitzereaktion in Verbindung stehen, und diese Kandidatengene können durch vergleichende Transkriptom- und Methylomanalysen identifiziert werden. Die Anwendung von dsRNAs kann diese Gene selektiv methylieren, und da die Kartoffel vegetativ vermehrt wird, bleibt die symmetrische Methylierung nach der Etablierung erhalten, was zu Hitzestresstoleranz bei den behandelten Pflanzen führt.

RNA für Pflanzenschutz

Die Verwendung von Viren oder die Schaffung transgener Pflanzen zur Einführung von dsRNA in Pflanzen hat sich als wirksam erwiesen, doch haben diese Methoden Nachteile, wenn es um landwirtschaftliche Anwendungen geht. So können beispielsweise Virusvektoren schwerwiegende Auswirkungen auf die Nutzpflanzen haben, oder genetische Veränderungen an Nutzpflanzen unterliegen rechtlichen und praktischen Beschränkungen. Spray Induced Gene Silencing (SIGS) erscheint als alternativer Ansatz, um dsRNA auf DNA- und virusfreie Weise in Nutzpflanzen einzubringen. SIGS wurde bereits erfolgreich zum Schutz von Pflanzen vor Krankheitserregern wie Fusarium eingesetzt. Es blieb jedoch eine Herausforderung, SIGS auf intakte Pflanzen anzuwenden. Wir haben die 'High Pressure Spraying Technique' (HPST) als wirksame dsRNA-Transportmethode in Pflanzen entwickelt. Die RNAs werden unter einem Druck von 3-6 bar mit einer einfachen, an einen tragbaren Luftkompressor angeschlossenen Spritzpistole auf Blätter oder Meristemgewebe gesprüht. Mit HPST konnten wir zeigen, dass die RNA von den

cytosines (Cs) are the primary DNA modifications, with de novo DNA methylation triggered by RNA-directed DNA methylation (RdDM) in plants. RdDM targets specific regions of the genome for cytosine methylation (5mC) using double-stranded RNA (dsRNA), and can be artificially induced in plant cells through the introduction of dsRNA via transgenes or viruses.

RdDM mutants in Arabidopsis exhibit hypersensitivity to acute heat, highlighting the essentiality of de novo DNA methylation in heat tolerance. Similarly, hypermethylation of regulatory elements of specific potato genes may be linked to heat response, and these candidate genes can be identified using comparative transcriptome and methylome analyses. Application of dsRNAs can selectively methylate these genes, and as potato is vegetatively propagated, symmetric methylation will be maintained once established, leading to heat stress tolerance in the treated plants.

RNA for plant protection

Using viruses or creating transgenic plants to introduce dsRNA to plants have been proven to be effective but these methods have disadvantages when it comes to agricultural applications. For example, virus vectors may have severe effects on the crop plants or genetic modifications on crop plants have legal and practical restrictions. Spray Induced Gene silencing (SIGS) appear as an alternative approach to introduce dsRNA into crop plants in a DNA-free and virus-free manner. SIGS approach have been successfully applied to protect plants against pathogens such as Fusarium. However, it remained as a challenge to apply SIGS to intact plants. We developed 'High Pressure Spraying Technique' (HPST) as an effective dsRNA delivery method *in planta*. The RNAs are sprayed onto leaves or meristem tissues under 3-6 bar pressure using a simple airbrush connected to a portable air compressor. Using HPST, we showed that the RNA is taken up and processed by plant cells.

Pflanzenzellen aufgenommen und verarbeitet wird.

Zunächst haben wir 22nt siRNAs gesprüht, die auf ein GFP-Transgen abzielen. Je nach Zielort der RNA konnten wir bis zu hundert Prozent lokales und systemisches Silencing erreichen. Wir konnten zeigen, dass bei der Übertragung von Blätter mit systemischen Silencing in die Gewebekultur das Silencing bis zum Kallusstadium erhalten blieb und aus neu wachsenden Sprossen Pflanzen mit vollständigem Silencing des Transgens entstanden. Das Silencing wurde nicht durch eine umfassende Methylierung der Promotorsequenz verursacht, da es in der nächsten Generation nicht aufrechterhalten wurde. Wir konnten also nachweisen, dass die Genexpression nur durch posttranskriptionelles Gen-Silencing über kleine interferierende RNAs gesteuert werden kann. Derzeit optimieren wir die Verwendung von 22nt siRNAs zur Kontrolle der Expression eines Endogens. Wenn dies gelingt, wird es ein neues Feld der Pflanzenzüchtung eröffnen, das eine Kontrolle der Genexpression ermöglicht, die bei der vegetativen Vermehrung ohne jegliche genetische oder epigenetische Manipulation vererbbar ist.

Epigenetische Modifikationen durch RNA

Der zweite von uns angewandte Ansatz ist das Sprühen von 24nt siRNAs, die auf einen Transgenpromotor abzielen. Wir haben herausgefunden, dass es möglich ist, nach der Verabreichung von 24nt siRNA eine Methylierung und ein Gen-Silencing auszulösen. Der Bisulfit-Assay zeigte, dass die Methylierung am häufigsten an der Zielstelle auftrat, sich aber in begrenztem Umfang auch auf die benachbarten Stellen ausbreitete. Dies war jedoch der erste Nachweis in planta, dass exogen applizierte 24nt siRNAs eine DNA-Methylierung auslösen können. Darüber hinaus zeigte die Sequenzierung kleiner RNAs, dass die 24nt siRNAs zur Transkription einzelsträngiger RNAs durch Polymerase V führen, was die molekulare Maschinerie der RNA-abhängigen DNA-Methylierung verdeutlicht. Mithilfe der Chromatin-Immünpräzipitation untersuchen wir die Histonveränderungen und die Rolle der

First of all, we sprayed 22nt siRNAs targeting a GFP transgene. Depending on the target site of the RNA, we could obtain up to hundred percent local and systemic silencing. We showed that when the systemically silenced leaves were transferred into the tissue culture, the silencing was kept through the callus stage and newly growing shoots gave rise to fully silencing plants. The silencing was not driven by extensive methylation of the promoter sequence, as it was not maintained in the next generation. Therefore, we proved that the gene expression could be controlled only by triggering post-transcriptional gene silencing via small interfering RNAs. Currently, we are optimizing the use of 22nt siRNAs to control the expression of an endogene. When succeeded, it will be open up a new field of plant breeding, which allows gene expression control, which is heritable upon vegetative reproduction without any genetic or epigenetic manipulation.

Modifying Epigenetics via RNA

In a second approach we employed spraying 24nt siRNAs targeting a transgene promoter. We found out that it is possible to trigger methylation and gene silencing upon 24nt siRNA delivery. Bisulfite assay demonstrated that the methylation was the most abundant in the target site but it also spread to the neighboring sites to a limited extent. However, this has been the first in planta evidence that 24nt siRNAs spraying can initiate DNA methylation. Moreover, small RNA sequencing demonstrated that the 24nt siRNAs lead to transcription of single stranded RNAs by polymerase V, which highlights the molecular machinery of RNA dependent DNA methylation. By using chromatin immunoprecipitation, we are investigating the histone changes and the role of RdDM enzymes in the establishment and maintenance of methylation.

Our aim is to apply the HPST method on potato plants to be able to modify

RdDM-Enzyme bei der Etablierung und Aufrechterhaltung der Methylierung. Unser Ziel ist es, die HPST-Methode auf Kartoffelpflanzen anzuwenden, um die Expression von Endogenen zu verändern und die Kartoffelpflanzen hitzeresistenter zu machen. Dazu sprühen wir 22nt und 24nt siRNAs, die auf Reportergene oder Endogene in der Kartoffel abzielen.

endogene expression for making potato plants heat resilient. Therefore, we spray 22nt and 24nt siRNAs targeting reporter genes or endogenes in potato.

Kontakt/Contact



Translational Plant Epigenetics Group
Dr. Veli Vural Uslu
Fon: 06321 671 1330
Email: velivural.uslu@agrosience.rlp.de

Proteomics

Proteomics

Pflanzenwachstumsförderung mittels Purpur Nicht-Schwefel Bakterien

Plant growth promotion using purple non-sulfur bacteria

Zum Schutz des Grundwassers in landwirtschaftlich intensiv genutzten Regionen hat die Europäische Union 1991 die Nitratrichtlinie erlassen. Mit diesem Gesetz schreibt die EU weitergehende Maßnahmen zur Reduzierung des Stickstoffeintrags durch Aktionsprogramme vor. In Deutschland begrenzt die neue Düngerverordnung die maximal zulässige Stickstoffdüngung.

Neben einer effizienten Pflanzenzüchtung sind daher alternative Methoden zur Ertragssteigerung notwendig. Pflanzenwachstums-fördernde Bakterien können hier einen wesentlichen Beitrag leisten.

Die Purpur-Nicht-Schwefel-Bakterien (PNSB) eine Gruppe photosynthetischer Bakterien (PSB), können das Pflanzenwachstum fördern. In unserem Projekt konzentrieren wir uns auf eine Untergruppe von PSB, sog. Purpurbakterien, Rhodospirillineae, und zwar auf native PNSB, die von uns in Rheinland-Pfalz isoliert wurden. Die ausgewählten Bakterienstämme sollen das Pflanzenwachstum stimulieren und gleichzeitig den Einsatz von Düngemitteln reduzieren. Dieses neue Produkt wird in Zusammenarbeit mit einem Industriepartner etabliert, der bereits Pflanzenwachstums-fördernde Produkte auf Basis von Mikroorganismen und Bio-Produkte für landwirtschaftliche Zwecke entwickelt, herstellt und vertreibt.

Im Projekt werden erstmals mitteleuropäische (Rheinland-Pfalz) PNSBs auf ihre potenzielle Eignung als Biodünger für den Einsatz im Pflanzenbau getestet.

Nicht-Schwefelpurpurbakterien aus Rheinland-Pfalz

Wir haben 20 Wasserproben aus natürlichen Ressourcen im Westen von Rheinland-Pfalz entnommen. Nach

Die rotbraune Farbe der Bakterienzellsuspension zeigt an, dass die gemischte Bakterienkultur PSB enthält. Eine einzelne

To protect the groundwater in regions with intensive agricultural use, the European Union issued the Nitrate Directive in 1991. With this law, the EU prescribes further-reaching measures to reduce nitrogen input through action programs. In Germany, the new fertilizer regulation limits the maximum permitted nitrogen fertilization.

In addition to efficient plant breeding, alternative methods of increasing yields are therefore necessary. Plant growth-promoting bacteria can make a significant contribution here.

The purple non-sulphur bacteria (PNSB), a group of photosynthetic bacteria (PSB), can promote plant growth. In our project, we focus on a subgroup of PSB, namely purple bacteria, Rhodospirillineae, namely on native PNSB isolated in Rhineland-Palatinate region. The selected bacterial strains are designed to stimulate plant growth while reducing the use of fertilizers. This new product will be established in cooperation with an industrial partner who already develops, produces and sells plant growth stimulating products based on microorganisms and organic products for agricultural purposes.

In the project, Central European (Rhineland-Palatinate) PNSBs are being tested for their potential suitability as bio-fertilizers for use in crop production for the first time.

sulphur purple bacteria from Rhineland-Palatinate

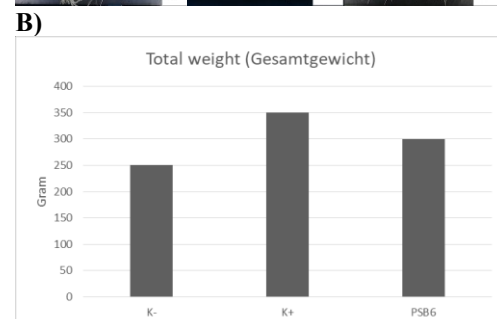
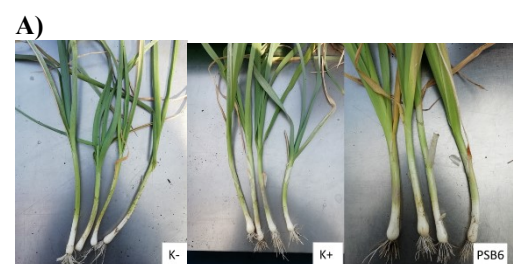
We collected 20 water samples from natural resources in west region of Rhineland-Palatinate. After pre-selecting in selecting media, reddish-brown colour bacteria culture were obtained indicating that the mixed bacterial culture contains PSB. A single colony bacterium on a selective agar plate was picked and its genotype confirmed using PCR. The result showed that 18 of 20 collected water sample contained

Bakterienkolonie auf einer selektiven Agarplatte wurde dann gepickt und der Genotyp mittels PCR untersucht. Das Ergebnis zeigt, dass 18 von 20 gesammelten Wasserproben *Rhodopsuedomonas palustris* enthielten. Nach zweiwöchiger Kultivierung wurde die IAA-Konzentration (ein pflanzenstimulierendes Hormon), die von den Bakterien im Überstand der Bakterienkultur produziert wird, mit dem Salkowski-Reagenz getestet. Das Ergebnis zeigt, dass unsere PNSB IAA in unterschiedlichen Konzentrationen produzieren können. Die am stärksten IAA produzierenden Kulturen PSB6 und 17 (mehr als 250 $\mu\text{M}/50 \mu\text{l}$ oder 5 M/ml) erzeugen 3-mal mehr IAA als der Standard-DMSZ-Stamm. Außerdem kann PSB6 anorganischen Phosphor aus unlöslichen Verbindungen auflösen. Die Fähigkeit der Mikroorganismen zur P-Solubilisierung gilt als eines der wichtigsten Merkmale im Zusammenhang mit der Phosphatnahrung von Pflanzen. Aufgrund der höchsten IAA-Produktion des Stammes und der Fähigkeit, Phosphat zu solubilisieren, wurde das Bakterium PSB6 weiter verwendet, um zu untersuchen, ob es das Pflanzenwachstum im Gewächshaus und auf der Feldversuch stimulieren kann. Die Bakteriensuspension wurde im Gewächshausversuch auf *Allium ampeloprasum* (Lauch) und im Feldversuch (in Zusammenarbeit mit Dr. Sebastian Weinheimer, Versuchswesen Gemüsebau, Abteilung Gartenbau, DLR Lehr- und Versuchsbetrieb Queckbrunnerhof, Schifferstadt) auf Chinakohl (*Brassica rapa*, subspecies *pekinensis*) in einem wöchentlichen Intervall über 60 Tage ausgebracht. Die Ergebnisse zeigen, dass PSB6 das Pflanzenwachstum in beiden Versuchen tatsächlich stimulieren kann (Abbildung 1 und 2).

Weitere Planung

Die Ergebnisse zeigen, dass PSB6 IAA produzieren und Phosphat auflösen kann, was das Pflanzenwachstum fördern kann. Seine Fähigkeit, Stickstoff zu fixieren, ein weiterer wichtiger Faktor zur Verbesserung des Pflanzenwachstums bei gleichzeitiger Reduzierung des Düngerverbrauchs, wurde jedoch noch nicht untersucht. Wir führen

Rhodopsuedomonas palustris. After 2 weeks of cultivation, IAA concentration, (a plant stimulating hormone) produced by the bacterial in the supernatant of the bacterial culture was tested with Salkowski's reagent. The result shows that the isolated PNSB can produce IAA in different concentrations. The highest IAA producing cultures PSB6 and -17 (greater than 250 $\mu\text{M} / 50 \mu\text{l}$ or 5 M / ml) produce 3 times more IAA than the standard DMSZ strain. In addition, PSB6 can dissolve inorganic phosphorus from insoluble compounds. The ability of microorganisms to solubilize P is considered one of the most important features related to phosphate nutrition in plants. Based on the strain's highest IAA production and ability to solubilize phosphate, bacterium PSB6 was further used to investigate whether it could stimulate plant growth in the greenhouse and field trial. The bacterial suspension was applied to *Allium ampeloprasum* (leek) in the greenhouse trial and to Chinese cabbage (*Brassica rapa*, subspecies *pekinensis*) in the field trial (in collaboration with Dr. Sebastian Weinheimer, Versuchswesen Gemüsebau, Abteilung Gartenbau, DLR Lehr- und Versuchsbetrieb Queckbrunnerhof, Schifferstadt) at a weekly interval for 60 days. The results show that PSB6 can indeed stimulate plant growth in both trials (Figure 1 and 2).



C)

derzeit ein Experiment durch, um die Stickstofffixierungsfähigkeit von PSB6 zu testen. Wir versuchen auch, andere Bakterien zu isolieren, die Stickstoff fixieren können und zusammen mit PSB6 zur Verbesserung des Pflanzenwachstums durch Verringerung des Düngerverbrauchs eingesetzt werden können.

Abbildung 1. Wirkung von PSB6 auf das Pflanzenwachstum (Gesamtgewicht) nach Anwendung auf Lauchpflanzen im Gewächshaus (A und B) und auf Chinakohlpflanzen im Feldversuch (C). Das Gesamtgewicht der mit PSB6 behandelten Lauchpflanze ist höher als das der nicht behandelten (K-). Im Feldversuch ist das Gesamtgewicht der Kohlblätter, die mit PSB6 in Kombination mit 80 % Dünger (4) behandelt wurden, höher als das der Pflanzen, die nicht gedüngt wurden (1), und der Pflanzen, die nur mit 80 % gedüngt wurden, während es etwas höher ist als das der Pflanzen, die mit 100 % gedüngt wurden (2). Das Gesamtgewicht der Kopfpflanzen, die mit PSB6 in Kombination mit 80%igem Dünger gedüngt wurden, ist etwas höher als das der Pflanzen, die nur mit 80%igem Dünger gedüngt wurden (3), aber etwas niedriger als das der Pflanzen, die mit 100%igem Dünger gedüngt wurden (2). Zusammengefasst deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die Verwendung von PSB6 die Pflanzenerträge steigern und den Einsatz von Düngemitteln um mindestens 20 % reduzieren kann.

Ein neues Produkt für umweltverträgliche Landwirtschaft

Als Produkt wollen wir aus diesen ausgewählten Bakterien einen innovativen mikrobiologischen Dünger und Biostimulator entwickeln, dessen wichtigste Parameter sein sollen:

Wirksamkeit im Feld: Das Produkt sollte die Menge an Stickstoff-Dünger reduzieren, die zum Anbau der Kultur verwendet wird, die Stickstofffixierung unterstützen und die Menge an Nitrat in den Kulturpflanzen selbst verringern.

Formulierung: Die Formulierung wird nach der aktuellen Guten Landwirtschaftlichen Praxis (GAP) ausgewählt. Dabei sollen die Landwirte ihre Gewohnheiten nicht ändern müssen, die Fitness des Bakterienstammes

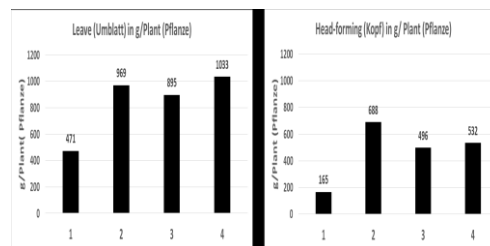


Figure 1. Effect of PSB6 on plant growth (total weight) after application to leek plants in the greenhouse (A and B) and to Chinese cabbage plants in the field trial (C). The total weight of the leek plant treated with PSB6 is higher than that of the non-treated (K-). In the field experiment, the total weight of cabbage leaves treated with PSB6 in combination with 80% fertilizer (4) is higher than that of plants that were not fertilized (1) and plants that were only fertilized with 80%, while it is slightly higher than that of plants that were fertilized with 100% (2). The total weight of the head plants fertilized with PSB6 in combination with 80% fertilizer is slightly higher than that of the plants fertilized with 80% fertilizer only (3), but slightly lower than that of the plants fertilized with 100% fertilizer (2). Taken together, the results suggest that the use of PSB6 can increase crop yields and reduce fertilizer use by at least 20%.

Further planning

The results show that PSB6 can produce IAA and dissolve phosphate, which can promote plant growth. However, its ability to fix nitrogen, another important factor in improving plant growth while reducing fertilizer consumption, has not yet been investigated. We are currently conducting an experiment to test the nitrogen-fixing ability of PSB6. We are also trying to isolate other bacteria that can fix nitrogen and can be used together with PSB6 to improve plant growth and reducing fertilizer application.

A new product for environmentally friendly agriculture

As a product, we want to develop an innovative microbiological fertilizer and biostimulator from these selected bacteria, the most important parameters of which will be *Effectiveness in the field:* The product should reduce the amount of nitrogen fertilizer used to grow the crop, support nitrogen fixation

soll erhalten bleiben und gleichzeitig eine maximal mögliche Lebensfähigkeit werden.

Rentabilität: Die Vorteile für die Landwirte bei der Anwendung dieses Produkts sollten höher sein als die Kosten.



Kontakt

Contact



Dr. Kajohn Boonrod

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1332

Kajohn.boonrod@agrosience.rlp.de

and reduce the amount of nitrate in the crop itself.

Formulation: The formulation is selected according to current Good Agricultural Practice (GAP). Farmers should not have to change their habits, the fitness of the bacterial strain should be maintained and at the same time maximum viability should be achieved.

Profitability: The benefits for farmers in using this product should outweigh the costs.

Molekulare Pflanzenzüchtung

Molecular Plant Breeding

Projekt Wertholz: Strategien zur Erzeugung von Wertholz

Strategies for the production of high value timber

Die RLP AgroScience koordiniert das Verbundvorhaben „Wertholz“, welches sich die Erhöhung des Wertschöpfungspotentials der Wertholznutzung durch Anwendung eines innovativen Konzepts zum Ziel gesetzt hat. Hierzu sollen Methoden erarbeitet werden zur Identifizierung, Erhaltung, Vermehrung und Verwertung von Wertholzbäumen mit besonderen und wertgebenden Maserungen. Beispiele für solche Maserungen sind die Riegelung verschiedener Hölzer, die Maserpappel oder der Vogelaugenahorn. Eine bereits vorhandene Riegelahorn-Sammlung soll zu einer Wertholz-Sammlung ausgebaut werden, indem neue interessante Wertholzkclone im Bundesgebiet gesammelt werden, deren Stämme auf Wertholzsubmissionen angeboten werden. Kronenreisermaterial oder im Idealfall Wurzelschosslinge bzw. Stockausschläge sollen für die Etablierung von Gewebekulturen mit diesem wertvollen Material verwendet werden. Erfolgreich in Kultur genommenes Material dient als Ausgangsmaterial für die Entwicklung von kommerziell anwendbaren Mikrovermehrungsprotokollen.

Riegelahorn als Wertholz

Das erzeugte Pflanzenmaterial soll als hochpreisiges Vermehrungsgut vermarktet werden. Da die Nutzung des Holzes in frühestens 50 bis 80 Jahren zu erwarten ist, sind heute Prognosen sehr schwierig, welche Hölzer und Maserungen in Zukunft besonders gefragt sein werden (persönl. Mitteilung auf Anfrage bei Furnierwerken). Daher wird sich dieses Projektvorhaben nicht nur auf den heute sehr nachgefragten Riegelahorn konzentrieren, sondern auch andere geriegelte Baumarten und andere besondere Maserungen verfolgen. Das

RLP AgroScience is coordinating the joint project "Wertholz" (valuable timber), which aims to increase the value-added potential of the use of valuable wood by applying an innovative concept. To this end, methods are to be developed for the identification, conservation, propagation and utilisation of valuable wood trees with special and value-adding grains. Examples of such grains are the wavy grain of various trees, the burl poplar or the bird's-eye maple.



Abb. 1: Ein Bergahorn mit nachgewiesener Riegelung.

Fig. 1: A sycamore maple with proven wavy grain.

An already existing sycamore maple collection is to be developed into a value wood collection by collecting new interesting value wood clones in the federal territory, the trunks of which are offered at value wood submissions. Crown rice material or, ideally,

Vorhaben will damit auch einen Betrag leisten, die Biodiversität zu bewahren. Bei Baumarten, die dem Forstvermehrungsgutgesetz (FoVG) unterliegen, werden Klonprüfungen für eine spätere Zulassung als geprüftes Vermehrungsgut durchgeführt.



Abb 2: Furnierprobe von Riegelahorn-Holz. Der wellenförmige Verlauf der Holzfasern verursacht die Querstreifung des Furniers. Fig. 2: Veneer sample of wavy grain maple wood. The wavy course of the wood fibres causes the transverse banding of the veneer.

Um eine frühzeitige Verwertung zu ermöglichen, wird eine vorläufige Zulassung angestrebt. Um dies zu unterstützen, werden Untersuchungen zur Vererbbarkeit und zu den Ursachen der Riegelung durchgeführt. ist. Dem Verbund steht einmaliges Riegelahorn-Material zur Verfügung, bei dem die Vererbbarkeit der Riegelung untersucht werden kann. Außerdem soll mit diesem Material eine vergleichende Transkriptom-analyse durchgeführt werden, um differentiell exprimierte Gene im

root shoots or stick cuttings are to be used to establish tissue cultures with this valuable material. Successfully cultured material will serve as source material for the development of commercially applicable micro-propagation protocols.

Wavy grain maple as valuable timber

The plant material produced is to be marketed as high-priced propagation material. Since the wood is not expected to be used for at least 50 to 80 years, it is very difficult today to predict which woods and grains will be in particular demand in the future (personal communication on request from veneer factories). Therefore, this project will not only concentrate on the curly maple, which is in great demand today, but will also pursue other curly tree species and other special grains.



Abb 3: Riegelahorn-Klone in der *in vitro*-Vermehrung. Fig. 3: clones of wavy grain maple in micro-propagation

In this way, the project also wants to make a contribution to preserving biodiversity. For tree species covered by the Forest Reproductive Material Act (Forstver-

holzbildenden Kambium in geriegelten und schlichten Bergahorn zu identifizieren. Die Ergebnisse sollen zum einen dazu verwendet werden, Ursachen der Riegelung zu klären, zume Anderen soll versucht werden, einen molekularbiologischen Test auf Riegelung zu entwickeln, um eine frühe Erkennung mit der Eigenschaft Riegelung am lebenden Baum zu ermöglichen.

Das Vorhaben wird von der Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe (FNR) unter dem FKZ 2221NR009 gefördert. Projektpartner sind das Thünen Institut für Forstgenetik, das Thünen Institut für Holzforschung, die Nordwestdeutsche Forstlich Versuchsanstalt, Reinhold Hummel GmbH + Co. KG und das Institut für Pflanzenkultur GmbH + Co KG.

Somatische Embryogenese als Methode zur vegetativen Vermehrung

Neben der Transkriptomanalyse bearbeitet die RLP AgroScience eine zweite Aufgabe. Dabei soll die Methode der somatischen Embryogenese zur effektiven Mikrovermehrung von Riegelahorn-Klonen etabliert werden.



Abb. 5: Blatt-Explantate nach 5 Wochen auf Induktionsmedium.

Fig. 5: Leaf explants after 5 weeks on induction medium.

Die somatische Embryogenese ist eine biotechnologische Methode, bei der die Bildung von pflanzlichen Embryonen auf asexuelle Weise ausgehend von somatischen Zellen erfolgt. Gerade bei der vegetativen

mehrungsgutgesetz, FoVG), clone tests are carried out for later approval as tested reproductive material. To enable early recovery, provisional approval is being sought. In order to support this, investigations are being carried out into the heritability and the causes of bolting. The association has unique sycamore maple material at its disposal on which the heritability of bolting can be investigated. In addition, a comparative transcriptome analysis will be carried out with this material in order to identify differentially expressed genes in the wood-forming cambium in barred and plain sycamore maple. The results will be used to clarify the causes of latching and to develop a molecular biological test for latching in order to enable early detection of latching in living trees.

The project is funded by the Agency for Renewable Resources (FNR) under FKZ 2221NR009. Project partners are the Thünen Institute of Forest Genetics, the Thünen Institute of Wood Research, the Northwest German Forest Research Institute, Reinhold Hummel GmbH + Co KG and the Institute of Plant Culture GmbH + Co KG.



Abb. 4: Blatt-Explantate frisch auf Induktionsmedium gelegt.

Fig. 4: Leaf explants freshly placed on induction medium.

Somatic embryogenesis as a method for vegetative reproduction

In addition to transcriptome analysis, RLP AgroScience is working on a second task. The aim is to establish the method of somatic

Vermehrung von holzigen Pflanzenspezies wird diese effektive Methode oft eingesetzt.

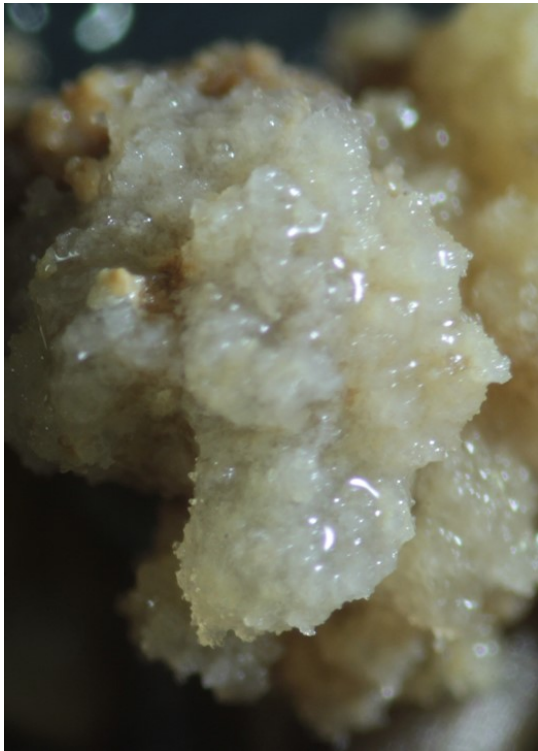


Abb. 6: Putativ embryogener Kallus
Fig. 6: Putative embryogenic Callus.

Die Induktion der somatische Embryogenese erfolgt durch Applikation von Phytohormonen. Zuerst wird die Bildung von Kallus induziert, unter diesem Kallusmaterial, das sich in Form und Farbe unterscheiden kann, wird nach embryogenen Kallus gesucht, der in einer zweiten Entwicklungsphase Embryonen ausbilden kann. Aus den Embryonen entwickeln sich vollständige, genetisch identische Pflanzen.

embryogenesis for effective micro-propagation of wavy grain maple clones. Somatic embryogenesis is a biotechnological method in which the formation of plant embryos takes place in an asexual manner starting from somatic cells. Especially in the vegetative propagation of woody plant species, this effective method is often used.

The induction of somatic embryogenesis takes place through the application of phytohormones. First, the formation of callus is induced, and among this callus material, which can differ in shape and colour, embryogenic callus is sought, which can form embryos in a second developmental phase. Entire, genetically identical plants develop out of somatic embryos.

Kontakt

Contact



Dr. Michael M. Wallbraun

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1350

michael.wallbraun@agrosience.rlp.de

Obstkrankheiten

Fruit tree diseases

Digitaler Obstbau: Fernerkennung von Apfeltriebsucht und Birnenverfall

Digital fruit growing: remote sensing of apple proliferation and pear decline

Apfeltriebsucht (apple proliferation, AP) und Birnenverfall (pear decline, PD) sind wirtschaftlich bedeutende Phytoplasma-Krankheiten von Apfel und Birne. Für diese im europäischen Obstanbau weit verbreiteten Quarantänekrankheiten gibt es jedoch keine direkte Bekämpfungsmöglichkeit. Um eine weitere Ausbreitung dieser Phytoplasmen zu verhindern, helfen nur prophylaktische Maßnahmen, wie eine Bekämpfung der übertragenden Insekten mit Insektiziden sowie die Rodung befallener Bäume. Eine Rodung ist allerdings nur dann wirtschaftlich sinnvoll, wenn weniger als 10% der Bäume befallen sind. Darüber hinaus erfordert die Eindämmung der Erkrankungen ein koordiniertes regionales Vorgehen. Für den Anbauer ist es daher sehr wichtig, die Krankheit frühzeitig zu erkennen.

In einem von RLP AgroScience koordinierten Verbundprojekt mit dem Fraunhofer Institut für Fabrikbetrieb und –automatisierung IFF sowie der Spatial Business Integration GmbH (SBI) sollte daher ein Diagnoseverfahren entwickelt werden, dass die Krankheiten in Luft- und Satellitenbildern sowohl frühzeitig als auch großflächig erkennen kann. Die durch die Phytoplasmen verursachte biochemische Veränderung in der Pflanze, die sich z.B. in einer spezifischen Rotfärbung äußert, wurde hierfür genutzt. Multi- und hyperspektrale Daten wurden mit Hilfe der Methoden des maschinellen Lernens analysiert und für eine spezifische Fernerkennungsmethode von Apfeltriebsucht und Birnenverfall genutzt. Die Fernerkennung auf Basis von Drohnen- oder Satellitendaten soll in einem Entscheidungshilfesystem als Dienstleistung in verschiedener Form für einzelne Anbauer, Genossenschaften oder auf regionaler Ebene für Pflanzenschutzdienste angeboten werden. Im Idealfall kann die Methode die

Apple proliferation (AP) and pear decline (PD) are economically important phytoplasma diseases of apple and pear. However, there is no direct control option for these quarantine diseases, which are widespread in European fruit production. To prevent further spread of these phytoplasma diseases, only prophylactic measures can help, such as control of the transmitting insects with insecticides and uprooting of infected trees. However, clearing is only economically viable if less than 10% of the trees are infected. In addition, disease containment requires a coordinated regional approach. It is therefore very important for the grower to detect the disease at an early stage.



Abb. 1: Rotlaubigkeit eines Apfeltriebsucht-infizierten Apfels

Fig. 1: Reddening of apple proliferation infected apple tree

In a joint project coordinated by RLP AgroScience with the Fraunhofer Institute for Factory Operation and Automation IFF and Spatial Business Integration GmbH (SBI), a diagnostic procedure was therefore to be developed that can detect the diseases in aerial and satellite images both at an early

arbeitsintensive visuelle Bonitur vor Ort ersetzen und die Diagnosezuverlässigkeit speziell bei Birne verbessern.

Von RLP AgroScience wurde zunächst untersucht, in wie weit die spektral erkennbare Rotfärbung tatsächlich mit dem Befall mit AP oder PD korreliert ist. Hierzu wurden in den Jahren 2019 – 2022 in der Pfalz mehr als 20.000 Apfelbäume und mehr als 6.300 Birnbäume bonitiert. Der Nachweis eines Befalls mit *Candidatus* Phytoplasma mali, dem Erreger der Apfeltriebsucht, oder mit *Candidatus* Phytoplasma pyri, dem Erreger des Birnenverfalls, erfolgte zunächst molekular mittels PCR. AP verursacht spezifische Symptome wie Hexenbesen und vergrößerte Nebenblätter, die zu 100% mit dem PCR-Nachweis korreliert waren. Die Rotlaubigkeit beim Apfel war zu 96% mit diesen spezifischen Symptomen korreliert. Auch in rotlaubigen Bäumen, die keine spezifischen AP-Symptome zeigten, wurden in 82% der Fälle Phytoplasmen molekular nachgewiesen. Die Rotlaubigkeit beim Apfel ist daher ein sehr zuverlässiges Symptom von AP, das gut zur Fernerkennung genutzt werden kann.

Laboruntersuchungen und Freilanddaten zeigten, dass die Rotlaubigkeit bei infizierten Apfelbäumen Ende September durch tiefe Nacht- und hohe Tagtemperaturen ausgelöst wird. Es kann somit ein konkretes Zeitfenster für die Durchführung der Fernerkennung vorgegeben werden.

Der Birnenverfall induziert keine spezifischen Symptome und ist daher durch visuelle Bonitur nicht sicher nachzuweisen. Die PCR-Ergebnisse von RLP AgroScience zeigten jedoch, dass eine vorzeitige Rotlaubigkeit bei Birne zu über 80% mit dem molekularen PCR-Nachweis korreliert ist. Diese Rotlaubigkeit wird allerdings nicht wie bei AP durch kalte Nächte induziert sondern tritt bereits im Sommer ab August auf. Das beste Zeitfenster für die Fernerkennung ist der September.

Rotlaubige infizierte und grüne gesunde Blätter von Apfel und Birne wurden spektral mit den Hyperspektralkamera-Systemen HySpex VNIR-1800 und HySpex SWIR-384

stage and over a large area. The biochemical change in the plant caused by the phytoplasmas, which manifests itself e.g. in a specific red coloration, was used for this purpose. Multi- and hyperspectral data were analyzed using machine learning methods and used for a specific remote detection method of apple proliferation and pear decline. Remote detection based on drone or satellite data will be offered in a decision support system as a service in various forms for individual growers, cooperatives, or at the regional level for crop protection services. Ideally, the method can replace labor-intensive on-site visual assessment and improve diagnostic reliability, especially for pear.



Abb. 2: Multispektraldrohne über Pear decline-infizierten Birnen

Fig. 2: Multispectral drone over pear decline infected pears

RLP AgroScience first investigated to what extent the spectrally detectable red coloration is actually correlated with infestation with AP or PD. For this purpose, more than 20,000 apple trees and more than 6,300 pear trees were evaluated in the Palatinate region in the years 2019 - 2022. Detection of infection with *Candidatus* Phytoplasma mali, the causal agent of apple proliferation, or with *Candidatus* Phytoplasma pyri, the causal agent of pear decline, was first performed molecularly by PCR. AP causes specific symptoms such as witches' broom and enlarged stipules, which were 100% correlated with PCR detection. Reddening in

in den Wellenlängenbereichen 400-1000nm und 950-2500nm analysiert. Die Auswertung der Daten erfolgte durch den Projektpartner IFF mit Hilfe von Methoden des Maschinellen Lernens. In den Spektren von gesunden und kranken Blättern konnten spezifische Unterschiede gefunden werden, aus denen sich nun informative spektrale Signaturen für einen multispektralen Einsatz ableiten lassen.

Die Fernerkennung von AP und PD erfolgt im lokalen Maßstab mit Hilfe von Drohnen, die mit speziellen Multispektralkameras ausgestattet sind. RLP AgroScience hat hierzu mit einer eigenen Drohne eine Vielzahl von Befliegungen von Apfel- und Birnenanlagen durchgeführt. Die Auswertung der Flugdaten erfolgt zurzeit noch durch den Projektpartner IFF – soll aber automatisiert werden. Die Fernerkennung kranker Bäume hängt stark davon ab, wie viele Blätter am Baum rotlaubig sind und wie gut sie sich in den Aufnahmen vom Hintergrund unterscheiden.

Die Strategie der großflächigen Fernerkennung von AP und PD in ganzen Anbaugebieten verfolgt der Projektpartner SBI. Hierzu werden multispektrale Bilddaten von Satelliten ausgewertet. Diese wurden von den Satelliten PlanetScope und SkySat sowie WorldView-2 und -3 erhalten. Auf Basis der von RLP AgroScience ermittelten Ground Truth-Daten konnten zunächst Apfel- und Birnenanlagen mit hoher Wahrscheinlichkeit in den Satellitenbildern identifiziert werden. In Satellitenbildern mit einer räumlichen Auflösung von 3m konnten in den von RLP AgroScience bonitierten Anlagen Bereiche erkannt werden, in denen infizierte Bäume stehen. Einzelne kranke Bäume konnten in Satellitenbildern identifiziert werden, die eine räumliche Auflösung von nur 15cm haben.

In dem Projekt konnte gezeigt werden, dass eine zuverlässige Fernerkennung von AP und PD mittels spezifischer spektraler Signaturen möglich ist. Eine praktische Anwendung kann mit Hilfe von Multispektraldrohnen sowie in Satellitenbildern erfolgen.

apple was 96% correlated with these specific symptoms. Even in red-leaved trees that did not show specific AP symptoms, phytoplasmas were detected molecularly in 82% of cases. Reddening in apple is therefore a very reliable symptom of AP that can be used well for remote detection.

Laboratory studies and field data showed that reddening in infected apple trees is triggered by low night and high day temperatures at the end of September. Thus, a concrete time window can be given for the implementation of remote detection.

Pear decline does not induce specific symptoms and therefore cannot be reliably detected by visual inspection. However, PCR results from RLP AgroScience showed that premature reddening in pear is correlated to over 80% with molecular PCR detection. However, this reddening is not induced by cold nights as in AP but occurs already in summer from August onwards. The best time window for remote detection is September.

Red-leaved infected and green healthy leaves of apple and pear were spectrally analyzed with the HySpex VNIR-1800 and HySpex SWIR-384 hyperspectral camera systems in the wavelength ranges 400-1000nm and 950-2500nm. The data was analyzed by the project partner IFF using machine learning methods. Specific differences were found in the spectra of healthy and diseased leaves, from which informative spectral signatures can now be derived for multispectral use.

Remote sensing of AP and PD is carried out on a local scale using drones equipped with special multispectral cameras. RLP AgroScience has carried out a large number of aerial flights of apple and pear orchards with its own drone. The evaluation of the flight data is currently still carried out by the project partner IFF - but is to be automated. The remote sensing of diseased trees depends heavily on how many leaves on the tree are red-leaved and how well they are distinguishable from the background in the images.

The strategy of large-scale remote sensing of AP and PD in entire fruit growing regions is

Kontakt

Contact



Dr. Wolfgang Jarausch

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1307

wolfgang.jarausch@agrosience.rlp.de

being pursued by the project partner SBI. For this purpose, multispectral image data from satellites are analysed. These were obtained from the PlanetScope and SkySat satellites as well as from WorldView-2 and -3. Based on the ground truth data obtained by RLP AgroScience, apple and pear orchards could first be identified with high probability in the satellite images. In satellite images with a spatial resolution of 3m, areas where infected trees were located could be detected in the orchards monitored by RLP AgroScience. Individual diseased trees could be identified in satellite images that have a spatial resolution of only 15cm.

In the project it could be shown that a reliable remote sensing of AP and PD is possible by means of specific spectral signatures. A practical application can be done with the help of multispectral drones as well as in satellite images.

Reben-Biotechnologie

Grapevine Biotechnology

Optimierung eines PCR-basierten Nachweises für latenten Maukebefall von Weinreben durch *Allorhizobium vitis* und Untersuchungen zu möglichen Resistenzen

Optimization of a PCR-based detection of latent crown gall infestation of grapevine by *Allorhizobium vitis* and studies on possible resistance.

Die Aufgabe der Arbeitsgruppe Reben-biotechnologie ist es, die Wettbewerbs- und Zukunftsfähigkeit der heimischen Weinwirtschaft durch Forschungsprojekte und Kooperationen zu stärken und zu unterstützen. Molekularbiologische und biochemische Methoden und biotechnologisches 'know-how' bilden hierbei die Basis für Lösungsansätze im Bereich der Rebenzüchtung, Erhaltung der genetischen Diversität der Weinrebe sowie die Entwicklung neuer Verfahren für den Pflanzenschutz.

Das Pathogen

Allorhizobium (syn. *Agrobacterium*) *vitis*, ein Gram-negatives Bakterium, ist ein wichtiges Phytopathogen der Weinreben. Bedingt durch den Krankheitsausbruch (Mauke), der sich durch tumorartige Wucherungen (Kalli) äußert, kann es zu erhöhtem Stockausfall und damit verbunden zu erheblichen Reduzierungen von Ernteerträgen und -qualität bis hin zur Rodung und Neuanlage des Weinbergs führen. Die Krankheit ist für die Rebenzüchtung und die Rebveredelung von großer Bedeutung, da als wichtigster Verbreitungsweg die Übertragung durch latent infiziertes Vermehrungsmaterial angesehen wird. Neben dem phytosanitären Ansatz zeichnen sich auch züchterische Ansätze zur Lösung des Maukeproblems ab. Während alle traditionellen *Vitis vinifera*-Sorten anfällig gegenüber der Mauke sind, wurden in manchen Akzessionen verschiedener Wildarten Resistenzen gefunden (Süle *et al.*, 1994). Szegedi *et al.*, (1984) beschrieben die im ostasiatischen Raum beheimatete Wildart *Vitis amurensis* als eine Resistenzquelle gegenüber der Mauke-Krankheit. Das Bakterium ist zwar schon seit längerer Zeit in vielfachen Forschungsprojekten weltweit Thema, was auch die Wichtigkeit dieser Rebenkrankheit in

The task of the grapevine biotechnology working Group is to strengthen and support the competitiveness and future viability of the domestic wine industry through research projects and cooperations. Molecular biological and biochemical methods and biotechnological know-how form the basis for solutions in the field of grapevine breeding, preservation of the genetic diversity of the grapevine and the development of new methods for plant protection.

The pathogen

Allorhizobium (syn. *Agrobacterium*) *vitis*, a Gram-negative bacterium, is an important phytopathogen of grapevines. Caused by the disease outbreak (crown gall), which manifests itself as tumor-like growths (calli), it can lead to increased cane failure and associated significant reductions in crop yield and quality, up to and including uprooting and replanting of the vineyard. The disease is of great importance for grapevine breeding and grafting, as the most important route of spread is considered to be transmission through latently infected propagation material. In addition to the phytosanitary approach, breeding approaches are also emerging to solve the crown gall problem. While all traditional *Vitis vinifera* cultivars are susceptible to crown gall, resistance has been found in some accessions of various wild species (Süle *et al.*, 1994). Szegedi *et al.*, (1984) described the wild species *Vitis amurensis*, native to the East Asian region, as a source of resistance to the crown gall disease. The bacterium has been the subject of multiple research projects worldwide for quite some time, which also underlines the importance of this grapevine disease in grapevine breeding and viticulture. Despite all this, there is still no reliable test on the market that can detect latent infections with comparatively little effort and thus avoid the

der Rebenzüchtung und Weinproduktion unterstreicht. Trotz alledem ist bisher kein verlässlicher Test auf dem Markt, der mit vergleichsweise geringem Aufwand latente Infektionen erkennen und so die Gefahr der Verschleppung dieses Schaderregers im Rahmen des Handels mit Rebenpflanzgut vermeiden kann.

Nachweis auf Tumorigenität

Bisher wurde eine Vielzahl von *A. vitis*-Varianten dokumentiert, die alle als Charakteristikum über ein Gen verfügen, das für das Enzym Polygalacturonase codiert (*pehA*). Sie produzieren unabhängig von ihrer Tumorigenität in der Kultur eine einzige Polygalacturonase. Das Vorhandensein dieses *pehA*-Gens gilt zurzeit als valider Nachweis in der Nachweistestung. *A. vitis* kann jedoch in nicht-tumorigene und tumorigene Varianten unterschieden werden. Eine Abklärung der Tumorigenität ist wichtig, da mit den Infektionen tumorinduzierenden Varianten das Risiko der genannte Ertrags- und Qualitätsverlust einhergeht, während die Infektionen mit nicht-tumorigenen Varianten keine bekannten negativen Auswirkungen haben. Tumorigene unterscheiden sich von nicht-tumorigenen Varianten durch das Vorhandensein eines tumorinduzierenden Plasmids (pTi). Auf diesem pTi lokalisiert ist das *virD2*-Gen, welches für den Transfer und die Integration der T-DNA in die Wirtszelle essenziell ist [1]. Das Vorhandensein dieses Gens gilt als unabdingbar für die Tumorinduktion und bietet sich somit als Target des Tumorigenitäts-Nachweises an (Johnson et al., 2013; Bini et al., 2008). Des weiteren codieren pTi-lokalisierte Gene, für Enzyme zur Katalyse der Synthese von Opinen innerhalb transformierter Pflanzenzellen. Ein spezifisches Opin, produziert von den transformierten Wirtszellen, dient dann als Nahrung für die jeweilige *A. vitis*-Variante.

Projektbeschreibung

Im Rahmen eines vom Fonds für die Entwicklung ländlicher Räume in Rheinland-Pfalz (FELR) unterstützten Projekts soll ein PCR-basierter Nachweis entwickelt bzw.

risk of spreading this pathogen in the context of trade in grapevine planting material.

The testing

To date, a number of *A. vitis* variants have been documented, all of which have as a characteristic a gene encoding the enzyme polygalacturonase (*pehA*). They produce a single polygalacturonase in culture regardless of their tumorigenicity. The presence of this *pehA*-gene is currently considered valid evidence in detection testing. However, *A. vitis* can be differentiated into non-tumorigenic and tumorigenic variants. Clarification of tumorigenicity is important because infections with tumorigenic variants are associated with the risk of the aforementioned yield and quality loss, whereas infections with non-tumorigenic variants have no known adverse effects. Tumorigen variants differ from non-tumorigenic ones by the presence of a tumor-inducing plasmid (pTi). Localized on this pTi is the *virD2* gene, which is essential for T-DNA transfer and integration [1]. The presence of this gene is considered indispensable for tumor induction and thus lends itself as a target of tumorigenicity detection (Johnson et al., 2013; Bini et al., 2008). Furthermore, pTi-localized genes encode enzymes for catalyzing the synthesis of opines within transformed plant cells. Specific opines produced by the transformed host cells then serve as nutrient for the respective *A. vitis* variants.

Project description

As part of a project supported by the Fund for the Development of Rural Areas in Rheinland-Palatinate (FELR), a PCR-based detection method is to be developed or optimized that distinguishes tumorigenic *A. vitis* variants from those without tumorigenicity. This is particularly relevant for the examination of grapevine rootstocks for propagation by grapevine nurserymen, where latent *A. vitis* infection is suspected. Vines of rootstock varieties would be removed from the nursery in case of false negative testing.

A. vitis can be typified in variants of the synthesis of different opines, its main food source. The *A. vitis* variants tested in this project are assigned to the different opine

optimiert werden, der tumorigene *A. vitis*-Varianten von solchen ohne Tumorigenität unterscheidet. Dies ist v.a. bei der Untersuchung von Rebenunterlagen zur Vermehrung bei Rebveredlern relevant, wo der Verdacht latenter *A. vitis*-Infektion besteht. Stöcke von Unterlagsrebsorten würden bei falsch negativer Testung aus dem Bestand genommen werden.

A. vitis lässt sich in Varianten der Synthese verschiedener Opine, ihrer Hauptnahrungsquelle, typisieren. Die im Rahmen des Projekts untersuchten *A. vitis*-Varianten werden den verschiedenen Opintypen Vitopin (S4), Octopin (B5.12(2), C9.9(1), C9.9(2)) und Nopalin (CG440) zugeteilt.

Die Varianten B5.12 und C9.9 1 u. 2 sind Eigenisolate. S4 u. CG 440 wurden von L. Otten (Uni Strasbourg) und T. Burr (Cornell University, NY) zur Verfügung gestellt. Die verschiedenen Varianten wurden gewählt, um einerseits verschiedene *A. vitis*-Opin-Typen abzudecken und andererseits, weil sie in Versuchen an *in vitro*-Pflanzen (sterile nicht verholzte Unterlags- und Edelreis-Sorten) unterschiedlich starke Tumorigenität aufwiesen.

Ein Ziel des Projekts war die Überprüfung und wenn möglich Optimierung der bisher veröffentlichten, auf PCR-basierten Nachweise des *virD2*-Genabschnitts der verschiedenen Opintypen. Dazu wurden zum einen für diesen Nachweis aus der Literatur stammende Primer, zum anderen auf Datenbankrecherche stützende, selbst entwickelte Primer beispielhaft an den oben genannten *A. vitis*-Varianten aus dem Dauerbestand getestet. Ein Ziel ist die Sequenzen von *virD1*-Vollängenklonen aus einer Reihe von Isolaten verschiedener Varianten zu erhalten, um so weitere mögliche Primeransatzstellen, als Basis für einen universell einsetzbaren *A. vitis*-Nachweis, zu finden.

Neben diesem Forschungsziel stand eine Untersuchung von divergenter Tumorbildung verschiedener *A. vitis*-Varianten im Mittelpunkt, mit dem Ziel zum einen die verschiedenen Auswirkungen einzelner *A. vitis*-Varianten in Bezug auf die Erscheinung entstehender Tumore und zum anderen bei verschiedenen Rebenotypen auf eine mögliche Resistenz gegenüber der

types vitopine (S4), octopine (B5.12(2), C9.9(1), C9.9(2)), and nopaline (CG440).

The variants B5.12 and C9.9 1 and 2 are self isolates. S4 u. CG 440 were provided by L. Otten (Univ. Strasbourg) and T. Burr (Cornell University, NY). The different variants were chosen to cover different *A. vitis* opine types on the one hand and on the other hand because they showed different degrees of tumorigenicity in experiments on *in vitro* plants (sterile non-lignified rootstock and scion cultivars).

One aim of the project was to review and, if possible, optimize the previously published PCR-based detections of the *virD2* gene of the different opine types. For this purpose, primers derived from the literature for this detection, on the one hand, and self-developed primers based on database research, on the other hand, were tested exemplarily on the above-mentioned *A. vitis* variants from the frozen stocks. One goal is to obtain the sequences of *virD1* full-length clones from a series of isolates of different variants in order to find further possible primer binding sites, as a basis for a universally applicable *A. vitis* detection.



Abb.1: Inokulation eines Internodiums mit Hilfe einer in eine *A. vitis*-Kolonie getauchten Kanüle.

Fig. 1: Inoculation of an internode using a syringe dipped into an *A. vitis* colony.

In addition to this research objective, an investigation of divergent tumor formation of different *A. vitis* variants was the focus, with the aim to investigate, on the one hand, the different effects of individual *A. vitis* variants with respect to the appearance of developing tumors and, on the other hand, possible resistance to tumor formation in different grapevine genotypes (Kuczmog *et al.*, 2012). For this purpose, potted vines were grown from scions provided by the Volker Freytag

Tumorbildung zu untersuchen (Kuczmog *et al.*, 2012).

Dazu wurden Topfreben aus Edelreibern gezogen die von der Rebschule Volker Freytag in Neustadt/W. Lachen-Speyerdorf zur Verfügung gestellt wurden. Es handelt sich um Sorten, die gezüchtet wurden von Valentin Blattner, Soyhières; Jura (CH). Insgesamt wurden 10 Reben pro Sorte in einer Gesamtzahl von 100 Stöcken hergestellt. Diesen Sorten zu eigen ist die Introgression von Resistenzgenen aus *Vitis amurensis*, der auch gegen Mauke resistenten asiatischen Amur-Rebe gegen den Falschen Mehltau. Die durch diese Mehltau-Resistenz-Züchtung hervorgegangenen Genotypen könnten also auch Resistenz gegen den Befall von Mauke tragen. So wurden verholzte Internodien mittels sich auf einer Kanüle befindlichen *A. vitis*-Zellen der oben genannten Varianten inokuliert. Des Weiteren wurden in geringerer Anzahl auch aus anderen Quellen erhaltene Sorten (‘Kunbárat’, ‘Fleurtaí’, ‘Soreli’, ‘Solaris’) mit *V. amurensis* im Stammbaum inokuliert.

Die oben geschilderten Arbeiten waren zum Zeitpunkt des Berichts noch nicht beendet.

Kontakt/Contact



Dr. Günther Buchholz

Tel.: +49 (0)6321 / 671 – 1351

guenther.buchholz@agrosience.rlp.de

Vineyard in Neustadt/W. Lachen-Speyerdorf. These are varieties bred by Valentin Blattner, Soyhières; Jura (CH). A total of 10 vines per variety were produced in a total number of 100 vines. Inherent to these varieties is the introgression of resistance genes from *Vitis amurensis*, the Asian Amur grapevine also resistant to downy mildew. Thus, the genotypes produced by this powdery mildew resistance breeding could also carry resistance to crown gall formation. Thus, lignified internodes were inoculated using *A. vitis* cells of the above variants with a needle (Fig. 1). Furthermore, varieties obtained from other sources (‘Kunbárat’, ‘Fleurtaí’, ‘Soreli’, ‘Solaris’) with *V. amurensis* in the pedigree, were inoculated in smaller numbers.

The work described above had not been completed at the time of the report.

Literatur/ References

Kuczmog *et al.* 2012 *Theor Appl Genet.* 125: 1565-1574.

Stover *et al.* (1997). *American Journal of Enology and Viticulture* 48(1): 26-32

Süle *et al.* (1994). *Phytopathology* 84(6): 607-611

Szegedi *et al.* (1984) *Vitis* 23(2):21-26

Johnson *et al.* 2013 *Phytopathology* 103:633–40.

Bini *et al.* 2008 *Eur J Plant Pathol* 122:403-11.

Genomics

Genomics

Selektionsmarker für Vicin/Convicin-Armut in der Ackerbohne (*V. faba* L.)

Selektionsmarkers for vicine/convicin in faba beans (*V. faba* L.)

Vicin/Convicin-arme Ackerbohnen

Durch ihren hohen Vicin- und Convicin-Gehalt (Abk. „V/C“) im Samen (bis zu 1.5% in der Trockenmasse) sind Anbau und Verwertung der Ackerbohne (*Vicia faba* L., Abb.1) deutlich eingeschränkt. Dies gilt zum einen in der Tierhaltung bei Nicht-Wiederkäuern, bei denen zu hohe Anteile an Ackerbohne im Futter zu deutlichen Leistungsverlusten (z.B. bei Legehennen oder Masthühnern) führen. Zum anderen führt auch beim Menschen mit einem genetisch bedingten Mangel an Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase der Verzehr von V/C-haltigen Bohnen bei den Betroffenen zu einer hämolytischen Anämie, die auch als Favismus bekannt ist. Mit ca. 7.5% der Weltbevölkerung handelt es sich um die häufigste Enzym-Krankheit beim Menschen.

Es ist nur eine züchterisch relevante Mutation für einen genetisch bedingt sehr niedrigen V/C-Gehalt von Ackerbohnen-Samen beschrieben, die in allen aktuell auf dem Markt verfügbaren Niedrig-V/C-Sorten eingekreuzt wurde. Dieser im Vergleich zum Wildtyp um 95% reduzierte Gehalt vererbt sich nach den Mendel'schen Regeln monogen rezessiv mit intermediärer Ausprägung bei Heterozygotie. Die Samen übernehmen ihren V/C-Gehalt aus dem Genotyp ihrer Mutterpflanze. Vieles deutet daher auf die Existenz eines sog. „V/C-Gens“ hin.

Mitglieder des NORFAB-Konsortiums (ein Zusammenschluss von Forschern der Aarhus Universität und der University Copenhagen mit dänischen Züchtern und Forschern aus Finnland, England und Kanada) publizierten zwischenzeitlich überzeugende Beweise, dass das sog. VC1-Gen auf Chromosom 1 von *V. faba* eine Schlüsselstellung für die Synthese beider Substanzen hat. Dieses Gen war seit langem in der wissenschaftlichen Literatur bekannt als RIBA1, ein in Pflanzen bi-funktionelles

Vicine/convicine depleted faba beans

Due to its high vicine and convicine content (abbr. "V/C") in the seed (up to 1.5% of dry matter), the cultivation and utilisation of faba bean (*Vicia faba* L., Fig.1) is clearly restricted. On the one hand, this applies to animal husbandry for non-ruminants, where too high a proportion of faba bean in the feed leads to significant performance losses (e.g. in laying hens or broilers). On the other hand, in humans with a genetic deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase, the consumption of faba beans containing V/C leads to haemolytic anaemia, also known as favism. It is the most common enzyme-related disease in humans, affecting about 7.5% of the world's population.



AAbb. 1: Junge Ackerbohnen im Gewächshaus
Fig. 1: Young *V.faba* seedlings in the greenhouse

Only one breeding-relevant mutation has been described for a low V/C-content of faba bean seeds, which has been crossed into all low-V/C-varieties currently available on the market. This V/C-content, which is 95% lower than in the wild type, is inherited as a single gene recessively according to the Mendelian rules with intermediate expression in a heterozygotic situation. The seeds inherit their V/C-content from the genotype of their mother plant. There is

Riboflavin-Biosynthese-Protein. Es weist zwei katalytische Domänen auf, eine mit einer 3,4-Dihydroxy-2-butanon-4-phosphat-Synthase-Aktivität und eine zweite mit einer GTP-Cyclohydrolase-Aktivität.

Das mutierte VC1-Gen auf Chromosom 1 in *V. faba* ist verantwortlich für die V/C-Armut in der Ackerbohne und das Wildtyp-VC1-Gen wurde als das Schlüsselenzym der V/C-Biosynthese identifiziert, welches den ersten von vier postulierten Biosyntheseschritten hin zu V/C in der Samenschale katalysiert (Abb.2).

Die Ursache der V/C-Armut wurde in einer Frame-Shift-Insertion in der GTP-Cyclohydrolase II-Domäne von RIBA1 lokalisiert, die exklusiv in der Genvariante des Niedrig-V/C-Genotyps „Mélodie“ nachgewiesen wurde. Die Sequenzdaten der Wildtyp-VC1-cDNA und der mutierten Version, die jene „AT“-Mikroinsertion enthält, wurden ebenfalls publiziert und konnten in unseren eigenen Abo-Vici-Datensätzen bestätigt werden.

Die beschriebene AT-Insertion liegt auf der cDNA-Ebene 3'-seitig von dem bisher beschrieben, besten SNP-Selektionsmarker und könnte z.B. in *V. faba* auch auf einem anderen Exon liegen. Dadurch besteht weiterhin die Möglichkeit von Rekombinationen, die bei Kreuzungen zwischen beiden Positionen stattfinden können. Dies entspricht auch der Beobachtung aus der Züchtungspraxis. Damit ist die aktuelle Marker-gestützte Selektion auf Niedrig-V/C mit einem Unsicherheitsfaktor versehen. Unser Projekt zielt daher darauf ab, einen molekularen Marker zu entwickeln, der diese AT-Insertion direkt identifizieren kann. Damit könnte das bestehende Problem der Selektionsunsicherheit gelöst werden. D.h. durch den Einsatz eines „100%igen“ Markers könnte der Selektionsprozess eine gezielte Vorlauf- und Sorten-Züchtung von V/C-armen Sommer- und Winterbohnen ermöglichen. Die genomische DNA-Region für das VC1-Gen in *V. faba* ist derzeit in den öffentlichen Datenbanken nicht vorhanden. Für die Entwicklung eines 100%-treffsicheren Nachweises der AT-Insertionsmutation ist eine umfassende Kartierung der Sequenzvariationen um die Insertionsstelle im VC1-Gen von *V. faba* die notwendige Voraussetzung. In der Züchtung werden je nach gewünschten Eigenschaften

therefore much evidence for the existence of a so-called "V/C gene".

Members of the NORFAB consortium (an alliance of researchers from Aarhus University and the University of Copenhagen with Danish breeders and researchers from Finland, England and Canada) recently have published convincing evidence that the so-called VC1 gene on chromosome 1 of *V. faba* is responsible for the synthesis of both substances. This particular gene has long been known in the scientific literature as RIBA1, a bi-functional riboflavin biosynthesis protein in plants. It possesses two catalytic domains, one with a 3,4-dihydroxy-2-butanone-4-phosphate synthase activity and a second with a GTP cyclohydrolase activity.

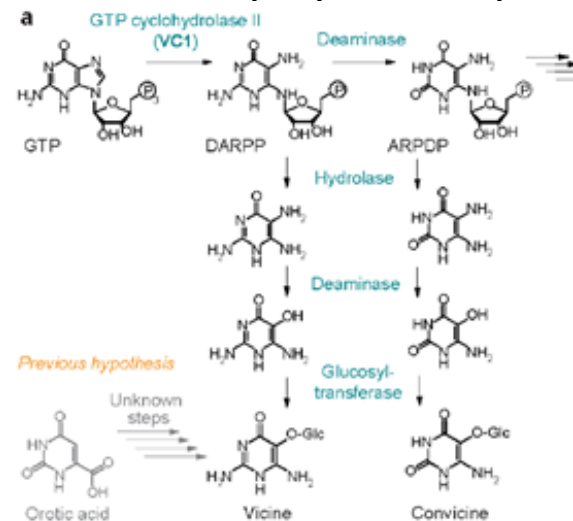


Abb. 1: Hypothetischer V/C-Biosynthese
Fig. 1: V/C-biosynthesis *V.faba*
Graphik aus Björnsdotter et al. 2021

The mutant VC1 gene on chromosome 1 in *V. faba* is causing V/C poverty in faba bean and the wild-type VC1 gene has been identified as the key enzyme in V/C biosynthesis, catalysing the first of four postulated biosynthetic steps towards V/C in the seed coat (Fig.2).

The cause of the V/C -poverty was localised in a frame-shift insertion at the genomic DNA in the GTP cyclohydrolase II domain of RIBA1, which was exclusively detected in the gene variant of the low V/C genotype "Mélodie". The sequence data of the wild-type VC1 cDNA and the mutant version containing that "AT" microinsertion were also published and could be confirmed in our own Abo-Vici datasets.

unterschiedlichste Ackerbohnen-sorten bzw. Genotypen eingesetzt (Abb.3). Dies besitzen eine unbekannt Anzahl von sehr ähnlichen Genvarianten bzw. sog. Allele, die letztlich zu den verschiedenen Phänotypen beitragen. Die VC1-Mutation, die zu dem züchterisch gewünschten Niedrig-V/C-Phänotyp führt, ist durch die einzigartige AT-Insertion charakterisiert, die den Leserahmen für ein funktionelles Protein unterbricht. Die benachbarten Sequenzabschnitte 5'- und 3'-seitig dieser Mutationsstelle können zusätzliche Variationen in Form von Einzelbasenaustauschen (SNP) aufweisen, die die Funktion des Proteins im Wildtyp nicht beeinflusst, aber für einen stabilen molekularen Nachweis der Mutation von Nachteil sein können. Es gilt, sog. konservierte Sequenzbereiche zu identifizieren, die unabhängig vom Genotyp immer die identische Basenabfolge aufweisen. Diese konstanten, Genotyp-unabhängigen Bereiche werden als Ausgangspunkt für molekular-diagnostische Nachweisverfahren (z.B. qPCR-Assays oder Pyro-Sequenzierung) benötigt, um möglichst die gesamte Bandbreite des in der Züchtung verwendeten Sortenspektrums analysieren zu können.



Abb. 2: Variabilität von *V. faba* Samen
Fig. 2: Variability of *V. faba* seeds

Daher ist das erste Arbeitsziel eine umfassende Charakterisierung des Bereiches ca. 200 b 5'- und 3'-seitig von der AT-Insertionsstelle. Insgesamt 230 Genotypen, repräsentativ für die aktuelle Züchtung, für die Züchtungsforschung sowie für züchtungsferne Samenkollektion von *V. faba* wurden für die selektive Sequenzanalyse des relevanten Bereiches des VC1-Gens um die bekannte Mutationsstelle herum ausgewählt.

The described AT insertion is located at the cDNA level 3'-side of the best SNP selection marker described so far and it could also easily be located on another exon in *V. faba*. This still leaves the possibility of recombination events taking place in crosses between the two positions. This also corresponds to observations from breeding practice. Thus, the current marker-assisted selection for low V/C is connected with an uncertainty factor. Our project therefore aims to develop a molecular marker that can directly identify this AT insertion. This could solve the existing problem of selection uncertainty. I.e. by using a "100%" marker, the selection process could enable targeted pre-breeding and varietal breeding of low-V/C summer and winter faba beans.

The genomic DNA region encoding for the VC1 gene in *V. faba* is currently not available in public databases. For the development of a 100% accurate detection of the AT insertion mutation, a comprehensive mapping of the sequence variations around the insertion site in the VC1 gene of *V. faba* is a necessary prerequisite. In breeding, a wide variety of field bean cultivars are used depending on the desired traits (Fig.3). These genotypes harbor an unknown number of very similar gene variants or so-called alleles, which ultimately contribute to the different phenotypes. The VC1 mutation, which leads to a low V/C phenotype that is desired by the breeders, is characterized by the unique AT insertion, which interrupts the reading frame for a functional protein. The adjacent sequence segments 5'- and 3'-sided of this mutation site may show additional variations in the form of single base substitutions (SNP), which do not affect the function of the protein in the wild type, but may be disadvantageous for a stable, sequence based detection of the mutation. The aim is to identify so-called conserved regions that always have the identical base sequence regardless of the genotype. These constant, genotype-independent regions are needed as a starting point for molecular diagnostic detection methods (e.g. qPCR assays or pyro-sequencing) in order to be able to analyze as far as possible the entire range of varieties used in breeding.

Therefore, the first objective is a comprehensive characterisation of the region approximately 200 b 5'-upstream and 3'-downstream from the AT insertion site. A total of 230 genotypes,

Über PCR-gestützte Amplifikation des Zielbereiches wurden cDNA-Fragmente einheitlicher Größe generiert und einer Next-Generation Sequenzierung unterworfen. Die aktuellen Ergebnisse zeigen, dass die Situation bzgl. des VC1-Gens wesentlich komplexer ist, als die ursprüngliche Arbeitshypothese (ein Gen => funktionaler Wildtyp oder dysfunktionale Insertions-mutation) und die bekannten Daten es bisher vermuten ließen. Daher wurde eine Vorab-Version des *V. faba* Genomentwurfs der Sorte „Hedin“ (Wildtyp bzgl. V/C-Gehalt) vom o.g. NORFAB-Konsortium angefordert und hinsichtlich der Situation von VC1 und der Zielregion um die fragliche Mutationsstelle im Detail analysiert. Überraschenderweise ergab die Analyse drei identische, mutationsfreie VC1-Genkopien, die auf Chromosom 1 in enger Nachbarschaft lokalisiert sind. Sobald die bioinformatische Auswertung der 230 Genotypen abgeschlossen ist, werden die Daten mit den Hedin-Genomdaten verglichen. Es könnte erforderlich sein, die experimentellen Strategien (z.B. digitale PCR) anzupassen, um mit der veränderten Ausgangssituation optimal geeignete Nachweismethoden für die AT-Mutation und deren Quantifizierung zu entwickeln

Referenz:

Björnsdotter, E., Nadzieja, M., Chang, W. et al. VC1 catalyses a key step in the biosynthesis of vicine in faba bean. *Nat. Plants* 7, 923–931 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41477-021-00950-w>.

representative of current breeding material, breeding research and breeding-remote wild type collection of *V. faba* were selected for selective sequence analysis of the relevant region of the VC1 gene around the known mutation site. PCR-assisted amplification of the target region was used to generate cDNA fragments of uniform size that were subjected to next-generation sequencing. The current results show that the situation regarding the VC1 gene is more complex than the original working hypothesis (one gene => functional wild type or dysfunctional insertion mutation) as the known data had previously suggested. Therefore, a preliminary version of the *V. faba* draft genome of the variety "Hedin" (wild type with regard to V/C-content) was requested from the NORFAB consortium mentioned above and analysed in detail with regard to the situation of VC1 and the target region around the mutation site in question. Surprisingly, the analysis revealed three identical, mutation-free VC1 gene copies located in close proximity on chromosome 1. Once a more detailed bioinformatics evaluation of the 230 genotypes is completed, the data will be compared with the Hedin genome data. It might be necessary to adapt the experimental strategies (e.g. digital PCR) in order to develop optimally suitable detection methods for the AT mutation and its quantification with the changed initial situation.

Kontakt

Contact



Dr. Michael Höfer

Tel.: +49 (0)6321 / 671-1332

michael.hoefer@agrosience.rlp.de

Anwendungen der Digitalisierung

Applications of digitization

Sensordatenbasierte Services zur bodenschonenden Bewirtschaftung und umweltgerechten Düngung durch Kombination unterschiedlich skaliertes Geodaten. Kooperation von Beratung und Maschinenringen beim Praxistransfer durch Mobile AgrarPortale (SOFI)

Sofi – Smart Soil Information for Farmers

Einleitung

Die Digitalisierung in der Landwirtschaft bietet vielfältige Potenziale zur Effizienzsteigerung, zur Erhöhung der Wirtschaftlichkeit und Nachhaltigkeit sowie zur Steigerung der Produktqualität. Gleichzeitig entstehen bessere Möglichkeiten der Vernetzung sowie ein leichter Zugang zu Informationen. Unser Fokus liegt dabei insbesondere auf einer umweltschonenden, präzisen und nachhaltigen Bewirtschaftung des Bodens. Zukünftig und aktuell wird Smart Farming durch Erhebung und Analyse von Prozess- und Sensordaten dazu seinen Betrag leisten. Die Landwirtschaft, aber auch die landwirtschaftliche Beratung stellt dies vor die Herausforderung, die dabei entstandenen individuellen Betriebsdaten, öffentliche Daten sowie Fach- und Expertenwissen nutzbar zu machen. Daher werden in RLP Landwirte, Berater sowie überbetriebliche Organisationen wie Maschinenringen und Lohnunternehmern durch die GeoBoxInfrastruktur (GBI) darin unterstützt. Im GeoBoxViewer (GBV) werden landwirtschaftlich relevante Informationen aus heterogenen Quellen gebündelt und visualisiert.

Das Forschungsvorhaben SOFI – Smart Soil Information for Farmers - liefert deshalb neue sogenannte Layer (Daten) für den GBV, die eine ressourceneffiziente und umweltschonende Düngung und Bodenbearbeitung im Hinblick auf die Vermeidung von Bodenverdichtung und die Reduzierung klimaschädlicher Emissionen unterstützen.

Die Projektpartner:



Rheinland-Pfalz
DIENSTLEISTUNGSZENTRUM
LÄNDLICHER RAUM (DLR)
RHEINHESSEN-NAHE-
HEINRÜCK



UNIVERSITÄT
TRIER

PREMOSYS

Dazu zählen die aktuelle Bodenfeuchte und Informationen zur Befahrbarkeit von Flächen.



Introduction

Digitization in agriculture offers a wide range of potential for improving efficiency, increasing profitability and sustainability, and enhancing product quality. At the same time, it creates better networking opportunities and easier access to information. Our focus is particularly on environmentally friendly, precise and sustainable soil management. In the future and at present, smart farming will make its contribution to this by collecting and analysing process and sensor data. This poses the challenge to agriculture, but also to agricultural extension, to make the resulting individual farm data, public data as well as technical and expert knowledge usable. Therefore, in RLP farmers, advisors as well as inter-farm organizations such as machinery rings and contractors are supported by the GeoBoxInfrastructure (GBI). In the GeoBoxViewer (GBV), agriculturally relevant information from heterogeneous sources is bundled and visualized.

The SOFI research project – Smart Soil Information for Farmers -therefore provides new so-called layers (data) for GBV that support resource-efficient and environmentally friendly fertilization and soil cultivation in terms of avoiding soil compaction and reducing climate-damaging emissions.

Ergebnisse

Datenerhebung auf Intensivmessstellen

Zur Evaluierung von Modellen für Bodenfeuchte und Schadverdichtungsrisiko wurden drei Standorte in Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg auf Basis bodenkundlicher Kriterien ausgewählt (Welschbillig Nähe Trier, Sponheim Nähe Bad Kreuznach und ein Standort im Kraichgau). Diese Standorte decken eine große Spannweite hinsichtlich der Bodenarten von sandigen bis tonigen Böden sowie unterschiedliche landwirtschaftliche Nutzungsformen in Südwestdeutschland ab. An den Standorten wurden jeweils eine Intensivmessfläche ausgewählt und Messstellen für Bodenfeuchte eingerichtet. Gemessen wurde jeweils in drei Tiefen (15, 25, 50 cm) Wassergehalt, Saugspannung und Bodentemperatur. Die Sensoren in 15 cm Tiefe wurden vor der Grundbodenbearbeitung entnommen und nach Bodenbearbeitung wieder eingebaut, um eine ungestörte Bewirtschaftung zu ermöglichen. Weiterhin wurden mehrere Befahrbarkeitsversuche durchgeführt.

Im Projektverlauf wurden zusätzlich LoRaWAN-Sensoren eingebaut, die Bodenfeuchte und -Temperatur an drei zusätzlichen Messpunkten messen. Diese wurden in 20-25 und 40-50 cm Tiefe platziert, um die Bewirtschaftung der Flächen nicht zu beeinträchtigen. Die Technik bietet hierbei den Vorteil einer räumlich flexiblen Sensorinstallation, da die einzelnen Sensoren ihre Messdaten drahtlos an die Gateway-Station außerhalb der Ackerfläche übermitteln, die wiederum über eine eigene Sim-Karte die Sensordaten an das IoT-Netzwerk (The Things Network, TTN) weiter leitet. The Things Network ist eine globale, offene, kostenlose und dezentrale Plattform, Aktuell wird in RLP eine resiliente und dezentrale technologische Infrastruktur zur Datenspeicherung und Analyse aufgebaut.

Results

Data collection at intensive monitoring sites

Three sites in Rhineland-Palatinate and Baden-Württemberg were selected on the basis of soil science criteria (Welschbillig near Trier, Sponheim near Bad Kreuznach, and on test site in Kraichgau) for the evaluation of models for soil moisture and risk of soil compaction. These sites cover a wide range in terms of soil types from sandy to clayey soils as well as different agricultural land uses in southwestern Germany. At each of the sites, an intensive measurement area was selected and measurement points for soil moisture were set up. Water content, suction tension and soil temperature were measured at three depths (15, 25, 50 cm). The sensors at 15 cm depth were removed before tillage and reinstalled after tillage to allow undisturbed cultivation. Furthermore, several trafficability tests were carried out.



Abb. 1: Sensoranordnung für den Befahrbarkeitstest

Fig 1: Sensor set up of the trafficability tests

During the course of the project, additionally LoRaWAN sensors were installed to measure soil moisture and temperature at three additional measuring points. These were placed at a depth of 20-25 and 40-50 cm so as not to interfere with the cultivation of the land. The technology here offers the advantage of spatially flexible sensor installation, as the individual sensors transmit their measurement data wirelessly to the



Abb. 2: LoRa-WAN- fähige Bodenfeuchtesensoren innerhalb der Ackerfläche

Fig 2: LoRa-WAN enabled soil moisture sensors in the agricultural plot

Die Sensordaten wurden mittels statistischer Analysen geprüft, Qualitäts- und Plausibilitätschecks wurden durchgeführt. Abbildung 3 zeigt den Verlauf der mittels LoRaWAN- Sensoren aufgezeichneten Bodenfeuchte am Standort Sponheim an 2 verschiedenen Positionen in 20 cm Tiefe (Position 1 Hanglage, Position 2 Tiefenlinien Unterhang).

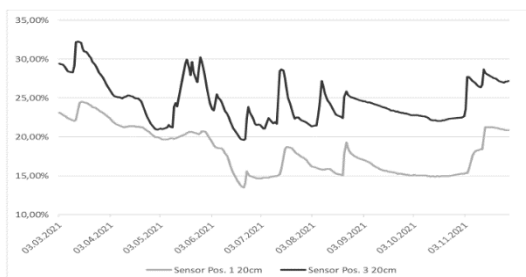


Abb. 4: LoRA-WAN basierte Bodenfeuchtwerte am Standort Sponheim

Fig 3: LoRA-WAN based soil moisture values in Sponheim

Deutlich zu erkennen sind die unterschiedlichen Bodenfeuchtwerte der etwa 150m entfernten Sensoren, aber auch

gateway station outside the farmland, which in turn forwards the sensor data to the IoT network (The Things Network, TTN) via its own sim card. The Things Network is a global, open, free and decentralized platform. Currently, a resilient and decentralized technological infrastructure for data storage and analysis is being established in RLP.



Abb. 3: Gateway am Feldrand

Fig. 3: Gateway positioned at the edge of field

The sensor data were checked by means of statistical analyses, quality and plausibility checks were performed.

Figure 3 shows the course of the soil moisture recorded by LoRaWAN sensors at the Sponheim site at 2 different positions in 20 cm depth (position 1 slope, position 2 depth lines lower slope).

The different soil moisture values of the sensors about 150m away can be clearly seen, but also the basically similar curve progression. This shows that small-scale site differences can be well mapped by such sensors.

der grundsätzlich ähnliche Kurvenverlauf. Dies zeigt, dass kleinräumige Standortunterschiede durch solche Sensoren gut abgebildet werden können.

Modellierung der Bodenfeuchte

Um Landwirten und Beratern flächendeckende Informationen zum aktuellen Bodenfeuchtezustand liefern zu können, sind allerdings solche punktuellen Messungen nicht geeignet.

Deshalb wurde ein einfaches, aber robustes und schnelles 0-dimensionales Speichermodell zur Abschätzung der relativen Bodenfeuchte ausgewählt, das Simulationsmodell SIMPEL. Die potentielle Bodenfeuchte wird stündlich für über 970.000 einzelne Flächen berechnet. Die dargestellten Bodenfeuchteklassen geben einen Überblick über die potentielle Bodenfeuchte und sollen in erster Linie helfen, Flächen miteinander zu vergleichen. Die Berechnungsergebnisse sind deshalb vor allem als Orientierung gedacht.

Eingangsparameter für das Modell sind Wetterdaten (Niederschlag, Verdunstung) und Bodeneigenschaften (nutzbare Feldkapazität, Schichtmächtigkeit) der Bodenschätzung mit ca. 970.000 Einzelflächen in RLP (Polygone). Als 0-dimensionales Speichermodell simuliert SIMPEL auch „nur“ einen Bodenhorizont. Die Schichtmächtigkeit wird aus den Daten der Bodenschätzung genommen.

Dieses Speichermodell SIMPEL wurde bereits ausgiebig validiert, hat aber auch auf Grund seiner Einfachheit Limitationen. Bei schweren Böden (hoher Lehmanteil) können Schrumpfrisse entstehen (Makroporen), und auch Böden mit hohen Skelettanteilen neigen dazu, bei Austrocknung solche Makroporen zu bilden. Dies kann mit SIMEPL nicht berücksichtigt werden, ebenso wie laterale Wasserflüsse (insbesondere in stark geneigten Regionen ein wichtiger Einflussfaktor auf die Bodenfeuchte). Da diese simulierten Werte dazu dienen, die Befahrbarkeit und das Verdichtungsrisiko von landwirtschaftlich genutzten Flächen darzustellen, sind diese Limitationen allerdings akzeptabel.

In Abbildung 5 werden für einen ausgewählten Zeitraum gemessene und

Modelling soil moisture

In order to provide farmers and consultants with area-wide information on the current soil moisture status, such point measurements are not suitable.

Therefore, a simple but robust and fast 0-dimensional memory model was selected to estimate relative soil moisture, the simulation model SIMPEL. Potential soil moisture is calculated hourly for over 970,000 individual plots. The soil moisture classes presented provide an overview of the potential soil moisture and are primarily intended to help compare areas with each other. The calculation results are therefore intended primarily as a guide.

Input parameters for the model are weather data (precipitation, evapotranspiration) and soil properties (usable field capacity, layer thickness) of the soil estimate with approx. 970,000 individual plots in RLP (polygons). As a 0-dimensional storage model, SIMPEL also simulates "only" one soil horizon. The layer thickness is taken from the data of the soil estimate.

This SIMPEL storage model has been extensively validated, but also has limitations due to its simplicity. Heavy soils (high clay content) can develop shrinkage cracks (macropores), and soils with high skeletal content also tend to form such macropores when they dry out. This cannot be accounted for with SIMEPL, nor can lateral water fluxes (an important factor influencing soil moisture, especially in highly sloped regions). However, since these simulated values are used to represent the trafficability and compaction risk of agricultural land, these limitations are acceptable.

Figure 5 shows measured and simulated values for a selected period. The very similar course of the curve is clearly visible, although the simulation shows stronger amplitudes.

Figures 6 show the results of the soil moisture simulation for the whole of RLP for 2 selected days. It is noticeable that in large parts of the state the dryness in 2019 was already in spring. In 2020, the

simulierte Werte dargestellt. Gut erkennbar ist der sehr ähnliche Kurvenverlauf, wobei die Simulation stärkere Amplituden zeigt.

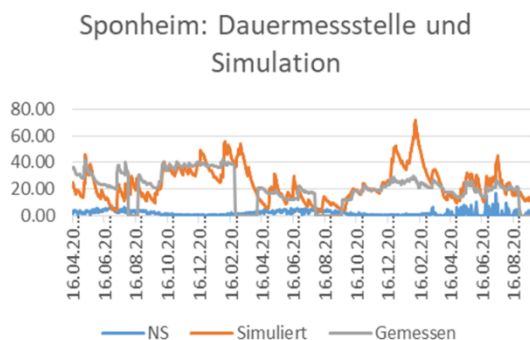


Abb. 5: Vergleich zwischen gemessenen und simulierten Bodenfeuchtwerten am Standort Sponheim für einen ausgewählten Zeitraum
Fig 5: Comparison between measured and simulated soil moisture values at the Sponheim site for a selected period of time

Die Ergebnisse der Modellierung werden stundenaktuell für alle 970.000 Polygone im GeoBoxViewer veröffentlicht.

In Abbildung 6 7 werden für 2 ausgewählte Tage die Ergebnisse der Bodenfeuchtesimulation für ganz RLP dargestellt. Auffällig ist die in weiten Landesteilen herrschende Trockenheit in 2019 schon im Frühjahr. In 2020 normalisierte sich die Lage, was sich auch in den Ergebnissen der Simulation zeigt. Abbildung 7 zeigt für die Flächen des Hofgutes Neumühle die hohe räumliche Auflösung des Modells.

situation normalized, which is also reflected in the results of the simulation.

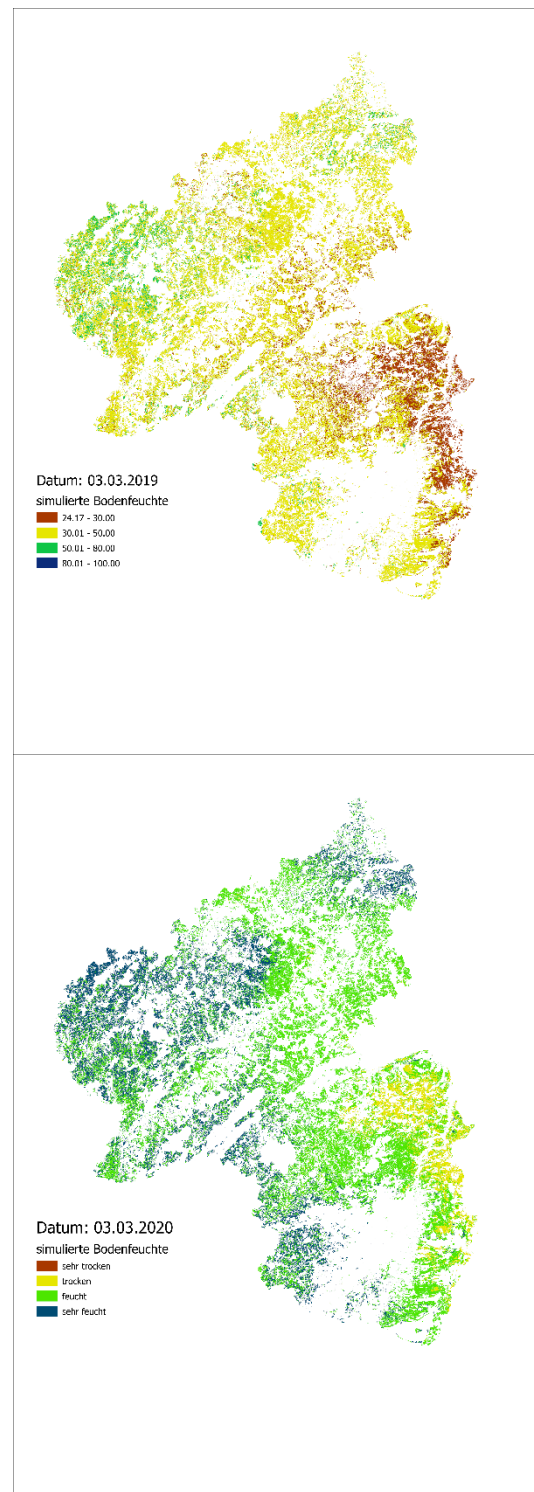


Abb. 6: Visualisierung der simulierten Bodenfeuchte für den 3 März 2019 und 2020
Fig. 6: Visualisation of simulated soil moisture for the 3 March 2019 and 2020

Figure 7 shows the high spatial resolution of the model for the plots of the Neumühle farmstead.

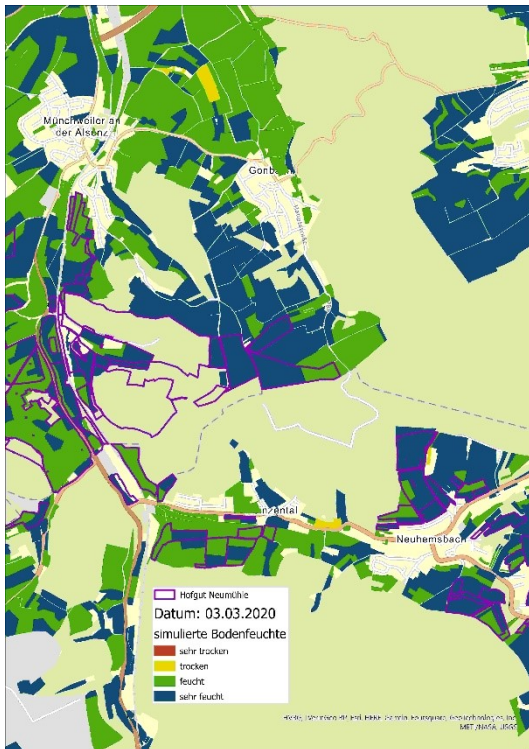


Abb. 7: Visualisierung der simulierten Bodenfeuchte für die Flächen des Hofgutes Neumühle für den 03.03.2020

Fig 7: Visualisation of simulated soil moisture for the plots of the Neumühle farmstead for the 3 March 2020

Eine weitere sehr hilfreiche Möglichkeit im GBV ist die Darstellung der simulierten Bodenfeuchtwerte als Zeitreihe, wie in Abbildung 8 beispielhaft dargestellt. Damit können Landwirte und Berater erste Schritte hin zu „on farm research“ beginnen.

Ausblick/Fazit

Informationen über den aktuellen Feuchtestatus von Böden sind für viele landwirtschaftliche Prozesse enorm wichtig. Im Projekt Sofi wurde ein Ansatz gewählt, der eine sehr hohe räumliche Auflösung mit einer sehr hohen zeitlichen Auflösung kombiniert. Vergleichbare Dienste sind derzeit nicht vorhanden.

Die Nutzung von Lora-WA-fähigen Sensoren in einer eigens entwickelten Speicherumgebung ermöglicht ein neues Level an zeitkritischer Umweltbeobachtung. In Folgeprojekten wie z.B. dem

One very important feature in the GBV is the possibility to visualize the simulated soil moisture values as time series, which enables the first steps for on farm research, presented in figure 8.

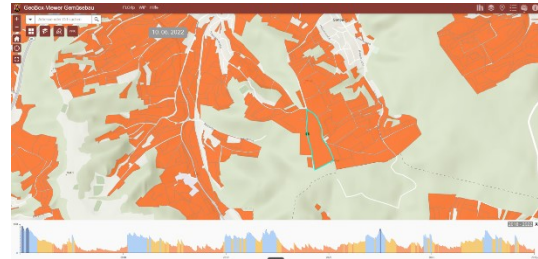


Abb. 8: Visualisierung der simulierten Bodenfeuchtwerte als Zeitreihe

Fig. 8: Visualisation of time series of the simulated soil moisture in the GBV

Lookout/conclusion

Information about the current moisture status of soils is enormously important for many agricultural processes.

In the Sofi project, an approach was chosen that combines a very high spatial resolution with a very high temporal resolution. Comparable services are not currently available.

The use of Lora WA-enabled sensors in a specially developed storage environment enables a new level of time-critical environmental monitoring. In follow-up projects such as the Experimentation Field Southwest or AgriRegio, these methods and technologies will be further developed and transferred into additional applications.

Sources:

<https://sofi.rsflab.de/>

<https://www.dap.rlp.de/>

Experimentierfeld Südwest oder AgriRegio werden diese Methoden und Technologien weiterentwickelt und in zusätzliche Anwendungen überführt.

Quellen:

<https://sofi.rsflab.de/>

<https://www.dap.rlp.de/>

Kontakt
Contact



Dr. Matthias Trapp

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 426

matthias.trapp@agrosience.rlp.d

Anwendungen der Digitalisierung

Applications of digitization

Projekt CRICETUS – Schutz des Feldhamsters am Oberrhein *CRICETUS project - Protection of the European Hamster in the Upper Rhine Region*

Im länderübergreifenden EU-Interreg-Projekt CRICETUS schloss die RLP AgroScience in 2022 erfolgreich die Entwicklung eines innovativen, auf Künstlicher Intelligenz (KI) und Satelliteninformation basierenden Habitatmodells für den Feldhamster ab. Mit Hilfe dieses Modells ist es nun für einen Bereich von rund 25.000 km² möglich, Standorte der Agrarlandschaft flächendeckend im Hinblick auf ihre Eignung als Hamster-Habitat zu beurteilen. Die Agroscience stellt damit eine Planungsgrundlage zur Verfügung, die Akteure in Landwirtschaft und Naturschutz die Planung von Maßnahmen zur Förderung der Biodiversität in der Agrarlandschaft deutlich vereinfachen kann.

In die umfangreiche Datenbasis der Analyse flossen neben „klassischen“ Geoinformationen wie Boden- oder Landnutzungsdaten auch erstmals Informationen aus der Auswertung hochaktueller Satellitenbilder ein (Copernicus Sentinel 1 und 2).

Somit konnte neben den Erntezeitpunkten landwirtschaftlicher Flächen das für das Überleben des Feldhamsters so wichtige Angebot an Flächen mit Deckungsvegetation räumlich und zeitlich in der Analyse berücksichtigt werden.

Der als Kulturfolger früher in weiten Teilen Eurasiens verbreitete Feldhamster wird besonders seit den 1980er Jahren durch veränderte landwirtschaftliche Praktiken, Zersiedelung und Straßenbau dramatisch zurückgedrängt. Die stark bedrohte Spezies wird von deutschem

In the transnational EU Interreg project CRICETUS, RLP AgroScience successfully completed the development of an innovative habitat model for the field hamster based on artificial intelligence (AI) and satellite information in 2022. With the help of this model, it is now possible to assess the suitability of sites in the agricultural landscape as hamster habitats over an area of around 25,000 km². Agroscience thus provides a planning basis that can significantly simplify the planning of measures to promote biodiversity in the agricultural landscape for actors in agriculture and nature conservation.

In addition to "classic" geoinformation such as soil or land use data, the extensive database of the analysis also included information from the evaluation of current satellite images (Copernicus Sentinel 1 and 2) for the first time.



Abb. 1: Radar-Vegetationsindex (Sentinel 1) im Gebiet einer Hamsterpopulation nordöstlich von Mannheim (dunkle Grüntöne >> dichte Vegetationsdecke; eigene Abbildung)

Fig. 1: Radar vegetation index (Sentinel 1) in the area of a hamster population northeast of Mannheim (dark-small green tones >> dense vegetation cover; own illustration).

Thus, in addition to the harvesting times of agricultural areas, it was possible in the analysis to spatially and temporally take

wie internationalem Recht (EU-Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie) stark geschützt, geht jedoch trotzdem immer weiter zurück.



Abb. 2: CRICETUS - Ein grenzüberschreitendes Projekt zum Schutz des Feldhamsters (<https://www.alsace.eu>).
Fig. 2: CRICETUS - A transboundary project for the protection of the European hamster (<https://www.alsace.eu>).

Das Interreg-Projekt CRICETUS bündelt in einem grenzübergreifenden Ansatz Kompetenzen und Kenntnisse über die Ökologie des Feldhamsters auf deutscher und französischer Seite. Durch die Zusammenarbeit von Forschenden, Landwirt:innen und Institutionen in Rheinland-Pfalz, Baden-Württemberg und dem Elsass werden Grundlagen geschaffen und Maßnahmen getroffen, die dem Schutz des Feldhamsters und der Agrarlandschaften des Oberrheins dienen. Die insgesamt neun Projektmodule reichen in ihren Aktivitäten von Aufklärungs- und Öffentlichkeitsarbeit für den Feldhamster über die Erarbeitung von Planungsgrundlagen und neuer Monitoring-Methoden bis zur Ansiedlung neuer Populationen durch Auswilderungen. Neben der Entwicklung des KI-basierten Habitatmodells engagierte sich die AgroScience bei der Erprobung neuer Monitoring-Methoden mit Versuchen zum Einsatz drohnengestützter Sensoren. Hier wurden die Möglichkeiten der Hamster-Erfassung mit Multispektral- und Thermal-Kameras getestet (siehe Artikel „Querschnittsthema Starrflügler- und Multikopterdrohne“). Unterstützt wird

into account the supply of areas with vegetation providing protective cover, which is very important for the survival of the hamster.

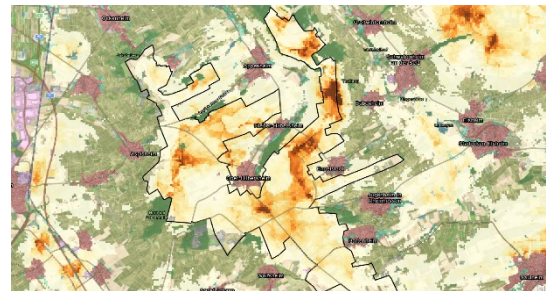


Abb. 3 : Das Ergebnis der Modellierung im Bereich des Vogelschutzgebiets Hilbersheim: Dunkle Brauntöne zeigen eine hohe erwartete Habitateignung, helle Töne eine geringe Eignung an (eigene Darstellung).
Fig. 3 : The result of the modelling in the area of the bird sanctuary Hilbersheim: Dark brown tones indicate a high expected habitat suitability, light tones a low suitability (own illustration).

The European hamster, a synanthropic species which used to be widespread in large parts of Eurasia, has been dramatically reduced since the 1980s due to changes in agricultural practices, urban sprawl and road construction. The highly endangered species is strongly protected by German and international law (EU Fauna-Flora-Habitat Directive), but nevertheless continues to decline. The Interreg project CRICETUS combines competences and knowledge about the ecology of the hamster on the German and French side in a cross-border approach. Through the cooperation of researchers, farmers and institutions in Rhineland-Palatinate, Baden-Württemberg and Alsace, the foundations are being laid and measures taken to protect the hamster and the agricultural landscapes of the Upper Rhine. The activities of the nine project modules range from education and public relations work for the European hamster, the development of planning principles and new monitoring methods to the establishment of new populations through releases. In addition to the development of

das Projekt aus Mitteln des Europäischen Fonds für regionale Entwicklung (EFRE – Interreg V), die Arbeit der AgroScience wird zusätzlich vom Projektpartner Stiftung Natur und Umwelt RLP finanziell mitgetragen.

Mit dem Einsatz von Satellitentechnologie, künstlicher Intelligenz und der Anwendung auf einen so großen Raum betritt die AgroScience wieder einmal Neuland beim Design und der Auswertung von Big Data. Die rund 4,7 Millionen Punkte des für die Analyse generierten Punktgitters bilden in einem 50 m-Abstand ein dichtes Netz, das sich auf rund 25.000 km² von südlich Colmar im Elsass nach Norden über den gesamten Oberrheingraben bis weit in die hessischen Populationsgebiete des Hamsters spannt. Jeder dieser potenziellen Hamster-Siedlungspunkte sowie seine Umgebung in einem Umkreis von 500 m wurde in Form einer Datenbank umfassend mit Geodaten im Hinblick auf seine ökologischen und landwirtschaftlichen Eigenschaften erfasst und statistisch beschrieben.

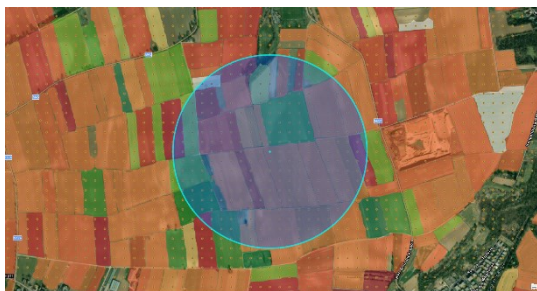


Abb. 4: Flächenanalyse im Umkreis von 500 m für jeden Punkt (hier: Erntezeitpunkte). Jeder Punkt erhält so eine individuelle Charakteristik seines Standortes und seiner Umgebung (Eigene Darstellung).

Fig. 4: Area analysis within a radius of 500 m for each point (here: harvest time data). Each point thus receives an individual characterisation of its location and its surroundings (own representation).

Zur Auswertung dieser Datenfülle wurde ein KI-Modell trainiert, das in der Lage ist, die charakteristischen Merkmalskombinationen geeigneter Hamsterstandorte anhand realer

the AI-based habitat model, AgroScience was involved in testing new monitoring methods with experiments on the use of drone-based sensors. Here, the possibilities of hamster detection with multi-spectral and thermal cameras were tested (see article "Cross-cutting issue of fixed-wing and multicopter drones"). The project is supported by the European Regional Development Fund (ERDF - Interreg V), and the work of AgroScience is also financially supported by the project partner Stiftung Natur und Umwelt RLP.

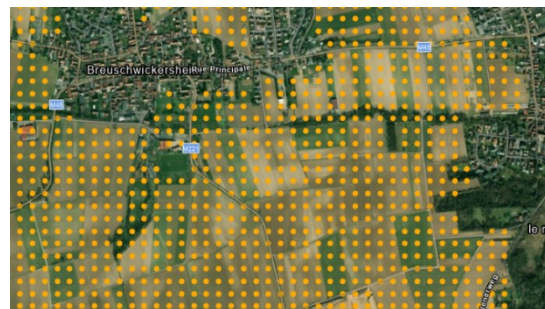


Abb. 5: Punktraster (Abstand 50 m) für die Modellierung (eigene Darstellung).

Fig. 5: Point grid (distance 50 m) for modelling (own representation).

With the use of satellite technology, artificial intelligence and the application to such a large area, AgroScience is once again breaking new ground in the design and analysis of Big Data. The approximately 4.7 million points of the point grid generated for the analysis form a dense network at 50-metre intervals, spanning some 25,000 km² from south of Colmar in Alsace to the north across the entire Upper Rhine Rift and far into the hamster's population areas in Hesse. Each of these potential hamster settlement points as well as its surroundings within a radius of 500 m were comprehensively recorded and statistically described in the form of a database with geodata with regard to its ecological and agricultural properties.

To evaluate this wealth of data, an AI model was trained that is able to learn the characteristic combinations of features of suitable hamster sites on the basis of

Siedlungspunkte des Feldhamsters zu erlernen (Machine Learning). Auf das Gitter angewendet beurteilt das Modell jeden Punkt auf der Basis seiner Merkmalskombinationen und gibt ihm einen Wahrscheinlichkeitswert für seine Eignung als Hamster-Lebensraum. Das Ergebnis ist eine flächendeckende, hoch auflösende Karte zur Eignung der Landschaft als Lebensraum für den Feldhamster. Sie wird einerseits als Grundlage für die projektinterne Planung von Auswilderungsmaßnahmen Verwendung finden. Durch ihren großflächigen und überregionalen Ansatz eignet sie sich aber auch als Grundlage für größer angelegten Planungen von Schutzkonzepten und Maßnahmen in den beteiligten Regionen.



Kontakt

Contact



Gregor Tintrup gen. Suntrup, Annette Fuchs, Christina Koller, Djamal Guerniche, Kai Thomas, Aditya Narang

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 371

gregor.tintrup@agrosience.rlp.de

real hamster settlement points (machine learning). Applied to the grid, the model assesses each point based on its feature combinations and gives it a probability value for its suitability as hamster habitat. The result is an area-wide, high-resolution map of the landscape's suitability as a habitat for the field hamster. It will be used as a basis for the planning of reintroduction measures within the project. Due to its large-scale and supra-regional approach, it is also suitable as a basis for larger-scale planning of conservation concepts and measures in the participating regions.



Abb. 6: 500 m-Konnektivität von Habitatpatches mit voraussichtlich hoher Habitateignung (eigene Darst.).

Fig. 6: 500 m connectivity of habitat patches with expected high habitat suitability (own illustration).

Anwendungen der Digitalisierung

Applications of digitization

Experimentierfeld Südwest – Smart Data von Logistikketten im Weinbau

Experimentation Field Southwest - Smart Data of Logistics Chains in Viticulture

Seit knapp zwei Jahren ist die RLP AgroScience GmbH gemeinsam mit dem DLR Rheinpfalz und dem Weincampus Neustadt im Projekt "Experimentierfeld Süd-West" aktiv, dessen Ziel die "Förderung eines branchen- und unternehmensübergreifenden Datenmanagements zur Unterstützung landwirtschaftlicher Wertschöpfungssysteme" ist. Der Anwendungsfall 3, der im Folgenden vorgestellt wird, befasst sich mit der Anwendung von Smart Data zur Optimierung von Logistikketten im Weinbau. Die Laufzeit des Projekts wurde um 2 Jahre bis Anfang 2025 verlängert.

Im Jahr 2022 lag der Arbeitsschwerpunkt im Anwendungsfall 3 zunächst noch auf der Auswertung der Daten aus der letztjährigen Traubenlogistik-Erhebung und schließlich auf der Vorbereitung, Durchführung und Nachbereitung einer optimierten Datenerhebung während der Ernte 2022 bei ausgewählten Partnerbetrieben. Darüber hinaus wurde ein Routing-Algorithmus auf Basis der Daten der Partnerbetriebe entwickelt und angewendet. Innerhalb der logistischen Prozesse im Weinbau blieb der Fokus auf der Optimierung der Traubenlogistik, insbesondere während der Ernte. Die umfangreichen Daten der ersten Erhebung im Herbst 2021 bei fünf Partnerbetrieben wurden also zunächst im Detail ausgewertet. Die Ergebnisse wurden anschließend den Betrieben vorgestellt und als hoch relevant für weitere Erhebungen bewertet. Die Auswertung zeigte, dass Wartezeiten im

For almost two years, RLP AgroScience GmbH, together with DLR Rheinpfalz and Weincampus Neustadt, has been active in the project "Experimentierfeld Süd-West", the goal of which is to "promote cross-industry and cross-company data management to support agricultural value creation systems". Use case 3, which is presented below, deals with the application of smart data to optimize logistics chains in winegrowing. The duration of the project was extended by 2 years until the beginning of 2025.

In 2022, the focus of work in use case 3 was initially still on the evaluation of the data from last year's grape logistics survey and finally on the preparation, implementation and follow-up of an optimized data collection during the 2022 harvest at selected partner wineries. In addition, a routing algorithm was developed and applied based on the data from the partners. Within the logistical processes in viticulture, the focus remained on the optimization of grape logistics, especially during harvest. The extensive data from the first survey in the fall of 2021 at five partner wineries were thus first evaluated in detail. The results were then presented to the wineries and evaluated as highly relevant for further surveys. The evaluation showed that waiting times in the vineyard and at grape reception represent a decisive bottleneck. Predictive and adaptive planning of the harvesting phase based on smart data approaches can therefore offer far-reaching optimization potential.

Weinberg und bei der Traubenannahme einen entscheidenden Engpass darstellen. Eine vorausschauende und adaptive Planung der Erntephase auf Basis von Smart-Data-Ansätzen kann daher weitreichende Optimierungspotenziale bieten.

Schließlich wurde im Herbst 2022 eine umfassende zweite Erhebung mit digitalen Erhebungsinstrumenten durchgeführt, darunter zwei digitale Fragebögen in der Limesurvey-Software und neue Stabthermometer zur Messung der Traubentemperatur. Außerdem wurde ein neues Konzept für die Erfassung von Geodaten mit neuen GNSS-Trackern entwickelt. Bei der Analyse der Trackerdaten aus dem Vorjahr wurde festgestellt, dass die räumliche Auflösung für die geplanten weiteren Auswertungen nicht ausreichend ist. Daher wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Crafty Solutions ein anwendungsspezifischer GNSS-Tracker entwickelt, der mit verschiedenen Funktionen ausgestattet ist, darunter ein Temperaturmesser, ein Start-Stopp-Sensor und ein präziser GNSS-Empfänger. Das Gehäuse des Trackers lässt sich leicht an Fahrzeugen befestigen und erfasst während der Fahrt genaue Standort- und Temperaturdaten. Bei Inaktivität schaltet der Tracker automatisch in den Ruhemodus und setzt die Verfolgung in 5-Sekunden-Intervallen fort, wenn er sich wieder bewegt. Es wurden insgesamt 40 Tracker mit der finalen Ausstattung hergestellt, die rechtzeitig vor Beginn der Erhebung fertiggestellt und dann erfolgreich eingesetzt wurden. Abbildung 1 gibt einen Überblick über das methodische Vorgehen bei der Erhebung der Traubenlogistik, bei der die vier Teilaktivitäten Anfahrt zur Lese, Lese(-aufnahme), Anfahrt zur Abnahme und Abnahme erfasst wurden.

Finally, a comprehensive second survey was conducted in the fall of 2022 with digital survey instruments, including two digital questionnaires in the Limesurvey software and new stick thermometers for measuring grape temperature. In addition, a new approach to geospatial data collection was developed using new GNSS trackers. During the analysis of the tracker data from the previous year, it was determined that the spatial resolution was not sufficient for the planned further evaluations. Therefore, in cooperation with the company Crafty Solutions, an application-specific GNSS tracker was developed, which is equipped with various functions, including a temperature sensor, a start-stop sensor and a precise GNSS receiver. The tracker's housing easily attaches to vehicles and captures accurate location and temperature data while driving. When inactive, the tracker automatically switches to sleep mode and resumes tracking at 5-second intervals when moving again. A total of 40 trackers were produced with the final equipment, completed in time for the start of the survey and then successfully deployed. Figure 1 gives an overview of the methodological procedure for the survey of grape logistics, in which the four sub-activities of travel to harvest, harvest, travel to acceptance and acceptance were recorded.

During the grape acceptance survey in the fall of 2022, data from two winegrowers' cooperatives and one winegrower, who together cultivate over 1250 hectares of vineyards, were collected using these survey methods. More than 650 collections of more than 2100 tons of grapes were collected on a total of 20 days in September, which together with the existing data form the basis for the developed model. After the collection, the data were processed, validated and finally evaluated. Key figures were calculated, slides were created and

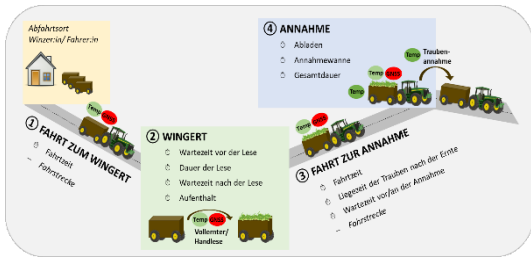


Abb. 1: Schaubild des methodischen Vorgehens bei der Erhebung der Traubenlogistik im Herbst 2022

Fig. 1: Illustration of the methodological approach to the survey of grape logistics in the fall of 2022

Bei der Traubenannahmeerhebung im Herbst 2022 konnten also durch diese Erhebungsmethoden Daten von zwei Winzergenossenschaften und einem Winzer gesammelt werden, die gemeinsam über 1250 Hektar Rebfläche bewirtschaften. Es wurden mehr als 650 Annahmen von über 2100 Tonnen Trauben an insgesamt 20 Tagen im September, erhoben, die zusammen mit den vorhandenen Daten die Grundlage für das entwickelte Modell bilden. Nach der Erhebung wurden die Daten aufbereitet, validiert und schließlich ausgewertet. Es wurden Kennzahlen berechnet, Diagramme erstellt und die Präsentationen für die Partnerunternehmen vorbereitet. Abbildung 2 zeigt einen Überblick über die wesentlichen Erhebungsergebnisse in Bezug auf die erfassten Zeiten der drei Partnerbetriebe.

Ausblick

Neben den Daten aus den Fragebögen lieferten die beiden Erhebungen der Traubenlogistik durch die Gewinnung von Parzellendaten und die Erhebung von Geodaten weitere äußerst relevante Daten, die bereits für die Entwicklung der Routenoptimierung genutzt werden. Im weiteren Verlauf des Projektes Anfang 2023 wird der Fokus auf der Weiterentwicklung der Routenoptimierung und der Auswertung

presentations for the partner companies were prepared. Figure 2 shows an overview of the main survey results in relation to the recorded times of the three partner companies.

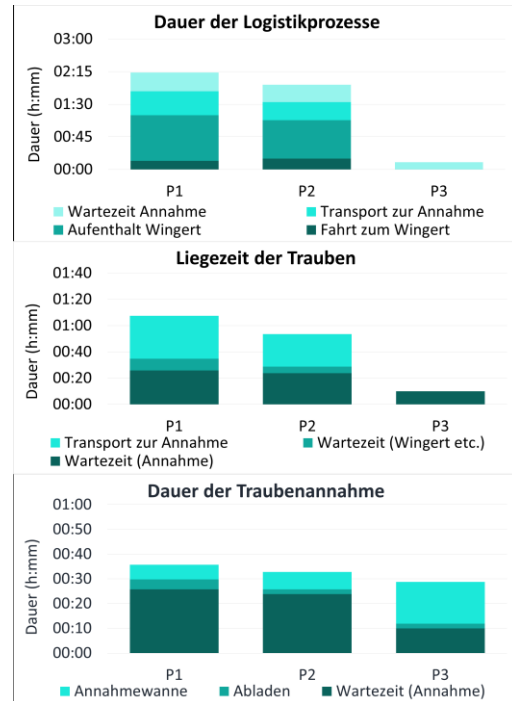


Abb. 2: Vergleich der Auswertungsergebnisse der Partner der Erhebung im Herbst 2022

Fig. 2: Comparison of the evaluation results of the partners of the survey in fall 2022

Outlook

In addition to the data from the questionnaires, the two surveys of the grape logistics provided further extremely relevant data through the acquisition of parcel data and the collection of geodata, which are already being used for the development of the route optimization. In the further course of the project in early 2023, the focus will be on the further development of the route optimization and the evaluation of the geodata. In order to bundle the data and results of the survey(s), the route optimizations and other relevant data, the "virtual winery" will be developed within the project. This ArcGIS dashboard will present results from other relevant

der Geodaten liegen. Um die Daten und Ergebnisse der Erhebung(en), der Routenoptimierungen und anderer relevanter Daten zu bündeln, wird im Rahmen des Projekts das "virtuelle Weingut" entwickelt. Dieses ArcGIS-Dashboard wird neben den Projektergebnissen auch Ergebnisse anderer relevanter Projekte darstellen, um ein ganzheitliches Bild zu erzeugen.

projects in addition to the project results to create a holistic picture.

Kontakt

Contact



Gwendolyn Karsch

Fon: +49 (0) 6321 671-481

gwendolyn.karsch@agrosience.rlp.de

Obstkrankheiten

Fruit tree diseases

Digitaler Obstbau: Fernerkennung von Apfeltriebsucht und Birnenverfall

Digital fruit growing: remote sensing of apple proliferation and pear decline

Apfeltriebsucht (apple proliferation, AP) und Birnenverfall (pear decline, PD) sind wirtschaftlich bedeutende Phytoplasma-Krankheiten von Apfel und Birne. Für diese im europäischen Obstanbau weit verbreiteten Quarantänekrankheiten gibt es jedoch keine direkte Bekämpfungsmöglichkeit. Um eine weitere Ausbreitung dieser Phytoplasmen zu verhindern, helfen nur prophylaktische Maßnahmen, wie eine Bekämpfung der übertragenden Insekten mit Insektiziden sowie die Rodung befallener Bäume. Eine Rodung ist allerdings nur dann wirtschaftlich sinnvoll, wenn weniger als 10% der Bäume befallen sind. Darüber hinaus erfordert die Eindämmung der Erkrankungen ein koordiniertes regionales Vorgehen. Für den Anbauer ist es daher sehr wichtig, die Krankheit frühzeitig zu erkennen.

In einem von RLP AgroScience koordinierten Verbundprojekt mit dem Fraunhofer Institut für Fabrikbetrieb und – automatisierung IFF sowie der Spatial Business Integration GmbH (SBI) sollte daher ein Diagnoseverfahren entwickelt werden, dass die Krankheiten in Luft- und Satellitenbildern sowohl frühzeitig als auch großflächig erkennen kann. Die durch die Phytoplasmen verursachte biochemische Veränderung in der Pflanze, die sich z.B. in einer spezifischen Rotfärbung äußert, wurde hierfür genutzt. Multi- und hyperspektrale Daten wurden mit Hilfe der Methoden des maschinellen Lernens analysiert und für eine spezifische Fernerkennungsmethode von Apfeltriebsucht und Birnenverfall genutzt. Die Fernerkennung auf Basis von Drohnen- oder Satellitendaten soll in einem Entscheidungshilfesystem als Dienstleistung in verschiedener Form für einzelne Anbauer, Genossenschaften oder auf regionaler Ebene für Pflanzenschutzdienste angeboten werden. Im Idealfall kann die Methode die

Apple proliferation (AP) and pear decline (PD) are economically important phytoplasma diseases of apple and pear. However, there is no direct control option for these quarantine diseases, which are widespread in European fruit production. To prevent further spread of these phytoplasma diseases, only prophylactic measures can help, such as control of the transmitting insects with insecticides and uprooting of infected trees. However, clearing is only economically viable if less than 10% of the trees are infected. In addition, disease containment requires a coordinated regional approach. It is therefore very important for the grower to detect the disease at an early stage.



Abb. 1: Rotlaubigkeit eines Apfeltriebsucht-infizierten Apfels

Fig. 1: Reddening of apple proliferation infected apple tree

In a joint project coordinated by RLP AgroScience with the Fraunhofer Institute for Factory Operation and Automation IFF and Spatial Business Integration GmbH (SBI), a diagnostic procedure was therefore to be developed that can detect the diseases in aerial and satellite images both at an early

arbeitsintensive visuelle Bonitur vor Ort ersetzen und die Diagnosezuverlässigkeit speziell bei Birne verbessern.

Von RLP AgroScience wurde zunächst untersucht, in wie weit die spektral erkennbare Rotfärbung tatsächlich mit dem Befall mit AP oder PD korreliert ist. Hierzu wurden in den Jahren 2019 – 2022 in der Pfalz mehr als 20.000 Apfelbäume und mehr als 6.300 Birnbäume bonitiert. Der Nachweis eines Befalls mit *Candidatus* Phytoplasma mali, dem Erreger der Apfeltriebsucht, oder mit *Candidatus* Phytoplasma pyri, dem Erreger des Birnenverfalls, erfolgte zunächst molekular mittels PCR. AP verursacht spezifische Symptome wie Hexenbesen und vergrößerte Nebenblätter, die zu 100% mit dem PCR-Nachweis korreliert waren. Die Rotlaubigkeit beim Apfel war zu 96% mit diesen spezifischen Symptomen korreliert. Auch in rotlaubigen Bäumen, die keine spezifischen AP-Symptome zeigten, wurden in 82% der Fälle Phytoplasmen molekular nachgewiesen. Die Rotlaubigkeit beim Apfel ist daher ein sehr zuverlässiges Symptom von AP, das gut zur Fernerkennung genutzt werden kann.

Laboruntersuchungen und Freilanddaten zeigten, dass die Rotlaubigkeit bei infizierten Apfelbäumen Ende September durch tiefe Nacht- und hohe Tagtemperaturen ausgelöst wird. Es kann somit ein konkretes Zeitfenster für die Durchführung der Fernerkennung vorgegeben werden.

Der Birnenverfall induziert keine spezifischen Symptome und ist daher durch visuelle Bonitur nicht sicher nachzuweisen. Die PCR-Ergebnisse von RLP AgroScience zeigten jedoch, dass eine vorzeitige Rotlaubigkeit bei Birne zu über 80% mit dem molekularen PCR-Nachweis korreliert ist. Diese Rotlaubigkeit wird allerdings nicht wie bei AP durch kalte Nächte induziert sondern tritt bereits im Sommer ab August auf. Das beste Zeitfenster für die Fernerkennung ist der September.

Rotlaubige infizierte und grüne gesunde Blätter von Apfel und Birne wurden spektral mit den Hyperspektralkamera-Systemen HySpex VNIR-1800 und HySpex SWIR-384

stage and over a large area. The biochemical change in the plant caused by the phytoplasmas, which manifests itself e.g. in a specific red coloration, was used for this purpose. Multi- and hyperspectral data were analyzed using machine learning methods and used for a specific remote detection method of apple proliferation and pear decline. Remote detection based on drone or satellite data will be offered in a decision support system as a service in various forms for individual growers, cooperatives, or at the regional level for crop protection services. Ideally, the method can replace labor-intensive on-site visual assessment and improve diagnostic reliability, especially for pear.



Abb. 2: Multispektraldrohne über Pear decline-infizierten Birnen

Fig. 2: Multispectral drone over pear decline infected pears

RLP AgroScience first investigated to what extent the spectrally detectable red coloration is actually correlated with infestation with AP or PD. For this purpose, more than 20,000 apple trees and more than 6,300 pear trees were evaluated in the Palatinate region in the years 2019 - 2022. Detection of infection with *Candidatus* Phytoplasma mali, the causal agent of apple proliferation, or with *Candidatus* Phytoplasma pyri, the causal agent of pear decline, was first performed molecularly by PCR. AP causes specific symptoms such as witches' broom and enlarged stipules, which were 100% correlated with PCR detection. Reddening in

in den Wellenlängenbereichen 400-1000nm und 950-2500nm analysiert. Die Auswertung der Daten erfolgte durch den Projektpartner IFF mit Hilfe von Methoden des Maschinellen Lernens. In den Spektren von gesunden und kranken Blättern konnten spezifische Unterschiede gefunden werden, aus denen sich nun informative spektrale Signaturen für einen multispektralen Einsatz ableiten lassen.

Die Fernerkennung von AP und PD erfolgt im lokalen Maßstab mit Hilfe von Drohnen, die mit speziellen Multispektralkameras ausgestattet sind. RLP AgroScience hat hierzu mit einer eigenen Drohne eine Vielzahl von Befliegungen von Apfel- und Birnenanlagen durchgeführt. Die Auswertung der Flugdaten erfolgt zurzeit noch durch den Projektpartner IFF – soll aber automatisiert werden. Die Fernerkennung kranker Bäume hängt stark davon ab, wie viele Blätter am Baum rotlaubig sind und wie gut sie sich in den Aufnahmen vom Hintergrund unterscheiden.

Die Strategie der großflächigen Fernerkennung von AP und PD in ganzen Anbaugebieten verfolgt der Projektpartner SBI. Hierzu werden multispektrale Bilddaten von Satelliten ausgewertet. Diese wurden von den Satelliten PlanetScope und SkySat sowie WorldView-2 und -3 erhalten. Auf Basis der von RLP AgroScience ermittelten Ground Truth-Daten konnten zunächst Apfel- und Birnenanlagen mit hoher Wahrscheinlichkeit in den Satellitenbildern identifiziert werden. In Satellitenbildern mit einer räumlichen Auflösung von 3m konnten in den von RLP AgroScience bonitierten Anlagen Bereiche erkannt werden, in denen infizierte Bäume stehen. Einzelne kranke Bäume konnten in Satellitenbildern identifiziert werden, die eine räumliche Auflösung von nur 15cm haben.

In dem Projekt konnte gezeigt werden, dass eine zuverlässige Fernerkennung von AP und PD mittels spezifischer spektraler Signaturen möglich ist. Eine praktische Anwendung kann mit Hilfe von Multispektraldrohnen sowie in Satellitenbildern erfolgen.

apple was 96% correlated with these specific symptoms. Even in red-leaved trees that did not show specific AP symptoms, phytoplasmas were detected molecularly in 82% of cases. Reddening in apple is therefore a very reliable symptom of AP that can be used well for remote detection.

Laboratory studies and field data showed that reddening in infected apple trees is triggered by low night and high day temperatures at the end of September. Thus, a concrete time window can be given for the implementation of remote detection.

Pear decline does not induce specific symptoms and therefore cannot be reliably detected by visual inspection. However, PCR results from RLP AgroScience showed that premature reddening in pear is correlated to over 80% with molecular PCR detection. However, this reddening is not induced by cold nights as in AP but occurs already in summer from August onwards. The best time window for remote detection is September.

Red-leaved infected and green healthy leaves of apple and pear were spectrally analyzed with the HySpex VNIR-1800 and HySpex SWIR-384 hyperspectral camera systems in the wavelength ranges 400-1000nm and 950-2500nm. The data was analyzed by the project partner IFF using machine learning methods. Specific differences were found in the spectra of healthy and diseased leaves, from which informative spectral signatures can now be derived for multispectral use.

Remote sensing of AP and PD is carried out on a local scale using drones equipped with special multispectral cameras. RLP AgroScience has carried out a large number of aerial flights of apple and pear orchards with its own drone. The evaluation of the flight data is currently still carried out by the project partner IFF - but is to be automated. The remote sensing of diseased trees depends heavily on how many leaves on the tree are red-leaved and how well they are distinguishable from the background in the images.

The strategy of large-scale remote sensing of AP and PD in entire fruit growing regions is

Kontakt

Contact



Dr. Wolfgang Jarausch

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1307

wolfgang.jarausch@agrosience.rlp.de

being pursued by the project partner SBI. For this purpose, multispectral image data from satellites are analysed. These were obtained from the PlanetScope and SkySat satellites as well as from WorldView-2 and -3. Based on the ground truth data obtained by RLP AgroScience, apple and pear orchards could first be identified with high probability in the satellite images. In satellite images with a spatial resolution of 3m, areas where infected trees were located could be detected in the orchards monitored by RLP AgroScience. Individual diseased trees could be identified in satellite images that have a spatial resolution of only 15cm.

In the project it could be shown that a reliable remote sensing of AP and PD is possible by means of specific spectral signatures. A practical application can be done with the help of multispectral drones as well as in satellite images.

Outreach

Öffentlichkeitsarbeit

Publikationen

Publications

- Ben-Amar, A., **Boonrod, K., Krczal, G.** *et al.* (2022). Unraveling the role of arabinogalactan proteins in promoting embryogenic cultures and enhancing transient gene expression in grapevine. *Plant Cell Tiss Organ Cult.*, **151**, pages 579–591
- Çalışır K, **Krczal G, Uslu VV.** Data in Brief. (2022). Small RNA-seq dataset of wild type and 16C *Nicotiana benthamiana* leaves sprayed with naked dsRNA using the high-pressure spraying technique. *Data Brief*, 45:108706. doi: 10.1016/j.dib.2022.108706. eCollection 2022 Dec.
- Boonrod, K.,** Strohmayr, A., **Schwarz, T., Braun, M.,** Tropf, T. and **Krczal, G.** (2022). Beyond destabilizing activity of SAP11 like effector of *Candidatus Phytoplasma mali* PM19, *Microorganisms*, 10, 1406
- Dong Y*, **Uslu VV***, Berr A, Singh G, Papdi C, Steffens VA, Heitz T, Ryabova LA. (2022). TOR represses stress responses through global regulation of H3K27 trimethylation in plants. *J Exp Bot.*, erac486. doi: 10.1093/jxb/erac486. (*corresponding author)
- Ebrahimi S,** Eini O, **Babler A, Yildirim Z, Wassenegger M, Krczal G, Uslu VV** (2022) Beet curly top Iran virus Rep and V2 gene work as suppressors of post-transcriptional gene silencing through separate mechanisms. bioRxiv. DOI: 10.1101/2022.08.25.505242.
- Hatteland, Bjørn Arild, Brede, Åsne, Brurberg, May Bente, Tedeschi, Rosemarie, **Jarausch, B, Jarusch, W,** Blystad, Dag-Ragnaret (2022): *Cacopsylla melanoneura* as a vector of apple proliferation in Norway. In: PheroFruits 2022: Joint Meeting of the IOBC/WPRS Working Groups, 25-29 September 2022; Girona, Spain, *Abstract book*. S. 156.
- Künast, C.; **Deubert, M.** (2022): Das Eh da-Konzept: ein Weg zu mehr Lebensräumen in der Landschaft. In: VDI (Hrsg.): Wildbienenschutz gemeinsam gestalten – Tagungsband zum Expertenforum. Internet: [Tagungsband-zum-VDI-Expertenforum-BienABest-Wildbienenschutz-gemeinsam-gestalten.pdf](#).
- Reuter, Ch., Eberz-Eder, D., Kuntke, F., **Trapp, M.** (2022): RSF-Lab'22: Resilient Smart Farming Laboratory: Für eine widerstandsfähige und intelligente Landwirtschaft. In: Demmler, D., Krupka, D. & Federrath, H. (Hrsg.), INFORMATIK 2022. Gesellschaft für Informatik, Bonn. (S. 931-934). DOI: 10.18420/inf2022_78
- Reuter, Ch., Kuntke, F., **Trapp, M.,** Wied, Ch., Brill, G., Müller, G., Steinbrink, E., Franken, J., Eberz-Eder, D., Schneider, W. (2022). AgriRegio: Infrastruktur zur Förderung von digitaler Resilienz und Klimaresilienz im ländlichen Raum am Beispiel der Pilotregion Nahe-Donnersberg. In: Demmler, D., Krupka, D. & Federrath, H. (Hrsg.), INFORMATIK 2022. Gesellschaft für Informatik, Bonn. (S. 961-972). DOI: [10.18420/inf2022_81](#)

Tacke R., Ecke W., **Höfer M.**, Sass O., Link W. (2022). Fine-mapping of the major locus for vicine and convicine in faba bean (*Vicia faba* L.) and marker-assisted breeding of a novel, low vicine and convicine winter faba bean population. *Plant Breeding*, 141, 644 – 657

Trapp, M., Kubiak, R. Guerniche, D., Eberz-Eder, D. Weimper, J. (2022). The Role of Geo-Based Data and Farm-Specific Integration: Usage of a Resilient Infrastructure in Rhineland Palatinate, Germany, Handbook Digital Farming, S. 162-170, Springer.

Uslu VV, Dalakouras A, Steffens VA, Krczal G, Wassenegger M. Plant J. (2022). High-pressure sprayed siRNAs influence the efficiency but not the profile of transitive silencing. *Plant J.*, Mar;109(5):1199-1212. doi: 10.1111/tpj.15625. Epub 2022 Jan 19.

Wald, L., Eberz-Eder, D., **Trapp, M.**, Weimper, J., Kuhl, M. (2022): Smart Soil Information for Farmers (SoFI) - Öffentliche Bereitstellung von Mess- und Simulationsdaten der Bodenfeuchte in der GeoBox-Infrastruktur, 42.GIL-Jahrestagung: Informatik in der Land-, Forst- und Ernährungswirtschaft, S. 79-84, Gesellschaft für Informatik e.V.

Walz M, Hohenwarter L, Krczal G, Wassenegger M, Uslu VV (2022). Induction of promoter methylation and transcriptional gene silencing upon high pressure spraying of 24-nt small RNAs in *Nicotiana benthamiana*. bioRxiv; 2022. DOI: 10.1101/2022.03.14.484340

Vorträge

Oral presentations

Deubert, M. Eh da-Flächen in Keltern - Flächenerfassung & Maßnahmenplanung. Öffentliche Ergebnispräsentation im Rathaus Keltern, 22.06.2022.

Deubert, M. Das Eh da-Konzept für mehr Artenvielfalt in Kommunen. Infoabend der VG Leiningerland in Wattenheim, 05.10.2022

Ebrahimi S, Eini O, Wassenegger M, Krczal G, Uslu VV Beet curly top Iran virus *RepS* gene is a silencing suppressor with a distinct mode of action 53. Jahrestagung des Arbeitskreises Viruskrankheiten der Pflanze - Hybrid-Veranstaltung, Dossenheim, 22.03.2022

Fuchs, A. Drohneneinsatz im Interreg-Projekt CRICETUS - Lösungsansätze zur Identifizierung von Feldhamsterbauen, Fachtagung an der Hochschule Anhalt: Fernerkundung und Drohneneinsatz im Naturschutz und Grünlandmanagement, 07.09.2022.

Krczal, G. Innovative Züchtung – Genome Editing und RNA Moleküle als Pflanzenschutzmittel. Veranstaltung in der Landesvertretung RLP in Brüssel „Innovativer Pflanzenschutz – Reduktion durch Innovation am 26.10.2022

Krczal, G. Hat Genome Editing eine Zukunft in Europa ? Wissenschaftliches Symposium der GDCh, Dechema „Grüne Gentechnik – ja aber wie ? am 03.11.2022 in Frankfurt am Main

Hohenwarter, L. Biochemische Stressreaktionen und differenzielle Transkriptionsanalysen bei Lindenklonen unter Wassermangel, 7. Sektionstagung „Forstgenetik/Forstpflanzenzüchtung“ am 12.09.2022 in Ahrensburg

Hohenwarter, L., *Der Verbund FraxPath (Phytopathologie) im Demonstrationsvorhaben FraxForFuture*, Waldklimafonds-Kongress der FNR am 11. und 12. Oktober 2022 in Göttingen

Sonnewald U, Lübeck J, **Krczal G**, **Uslu VV** (2022) EpiPotato, BMBF-Berlin (30.03.2022)

Trapp, M; Karsch, Gwendolyn (2022): Regionalkonferenz Experimentierfeld Südwest, Neumühle, 15.09.2022.

Trapp, M. Klimasymposium MWVLW (durchgeführt von Jörg Wagner, 20.09.2022).

Trapp, M. Rheinkonferenz der angrenzenden Bundesländer in der Landtagsfraktion der CDU, Mainz, 23.09.2022.

Trapp, M. Anhörverfahren der Enquete-Kommission 18/1 „Zukunftsstrategien zur Katastrophenvorsorge“ hier: „Technischer Hochwasserschutz, Natürliche Hochwasservorsorge, Erosionsschutz, Wasserrückhalt und Retention, 11.10.2022.

Trapp, M. Beratertag an der TH Bingen im Rahmen des EF Südwest, Anwendung digitalisierter Prozesse in der Landwirtschaft, 09.11.2022.

Uslu VV (2022) H3K27me3 as a key regulator of environmental stress. IBMP-Strasbourg (10.3.2022) France

Uslu VV (2022) ExoRNA delivery for dissecting TGS and PTGS pathways in planta. Epiplant 2022, (24.06.2022) France

Uslu VV (2022) Translational Plant Epigenetics – perspectives for using RNAi in the field, Uni-Bilkent (16.11.2022) Turkey

Uslu VV (2022) HPST applications for epigenetic plant breeding. International Symposium for Horticultural Plant Biology and Biotechnology (17.11.2022) Beijing China (online)

Beiträge in Medien, Öffentlichkeitsarbeit *Contributions in media*

Feldtag des BWV RLP Süd e.V., in Kooperation mit der Stiftung Kulturlandschaft RLP am 08.06.2022 in Herxheim, Präsentation des Projektes EFA durch **Thomas, K.**

Deubert, M. ; Wolf, C. (2022): Vielfaltsflächen nach dem Ehda-Konzept in Kleinheubach & Seeheim-Jugenheim, Umsetzungsberatung in Webinar-Form, 16.02.2022.

Veranstaltung des VBIO und des WGG: **Genome Editing im Gespräch**: Wissenschaft trifft Politik. *Moderiertes Expertenpodium bietet Information und Dialog*; Moderation: Prof. Dr. G. **Krczal**, 28.11.2022, Berlin, Tagungszentrum der Bundespressekonferenz

Krczal, G. Teilnahme am Podcast „Genome Editing - WieWasWozu? *Ein Podcast, der Wissen schafft*, Folge „Häufig gestellte Fragen“, verfügbar ab Februar 2022.

Krczal, G. Teilnahme im Haus der Parlamentarischen Gesellschaft in Berlin am Parlamentarischen Abend der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fachgesellschaften zum Thema Klima und Energie als Expertin für innovative Pflanzenzüchtungsmethoden.

Krczal, G. Moderation und Teilnahme am virtuellen Gespräch mit Ministerin Frau Stark-Watzinger (Bundesministerin für Bildung und Forschung) und dem parlamentarischen Staatssekretär M. Brandenburg zum Thema Genome Editing am 04.10.2022

Uslu VV. RNA für Pflanzen –Live TV Sendung Quasiklar –RNF- 7.12.2022

Ausbildung

Education and training

Uslu, VV. University Seminars:

- RNAi, how to tame a gene at Uni-Heidelberg, MAPS M.Sc Focus Lecture 2022 May 12
- Peer Review Seminar at Uni-Heidelberg, MAPS M.Sc Focus Lecture 2022 June 3
- Plant Virus Resistance, how to tame a virus at Uni-Heidelberg, MAPS M.Sc Focus Lecture 2022 June 28
- Grant Writing Seminar at Uni-Heidelberg, MAPS, July 22
- Science Communication Training for Academics at Charite-Berlin October 19
- High Pressure Spraying Training for IMBP-Strasbourg (at AgroScience) November 2
- Science Communication for Plant Biology at Uni-Heidelberg, MAPS, Series of Lectures
- Science Communication Training for Academics at HIRI-Würzburg November 10-11

Uslu VV, Krczal, G. Vertiefungskurs für Heidelberger Studenten: *Anwendung des RNA interference zur Funktionsaufklärung pflanzlicher Gene*. Neustadt, 01.08. – 05.08.2022

Uslu VV, Hochschul Didaktik Zentrum Universitäten Baden-Württemberg

- Fit for Teaching 1 + 2.Uni-Heidelberg (12.09.2022 - 13.09.2022 - 04.10.2022 - 05.10.2022)
- Service-Learning on European level. Uni-Tübingen (25.11.2022)
- Writing about Teaching: Outlining your Educational Beliefs in a Statement of Teaching Philosophy, Uni-Heidelberg (08.11.2022 - 29.11.2022)

Bachelor

Johannes Nikolas Klein: *Optimierung eines PCR-basierten Nachweises für latenten Maukebefall von Weinreben (Allorhizobium vitis) und Untersuchungen zu möglichen Resistenzen*, Technische Hochschule Mittelhessen, Prüfung 13.09.2022. Betreuer: **G. Buchholz**

Yildirim Zeynep: Investigating the effect of dsRNA contamination on q-RT PCR reaction, Uni-Bilkent, Prüfung: 24.08.2022, 11:00 Betreuer: **VV Uslu**

Caja-Marie Winzer: An Investigation of the Molecular Function of P19 Beyond RNAi Suppression, Uni-Heidelberg, Prüfung 14.09.22, 13:00 Betreuer: **VV Uslu**

Master Thesis

Merle Poon Way: *Genetical modulation of Neofusicoccum parvum genome and RNA silencing to unravel the effect of secondary metabolites on pathogenicity*. Technische Hochschule Mannheim, Prüfung 04.11.2022, Betreuer **G. Krczal** und J. Fischer Schuch (Institut für Biotechnologie und Wirkstoff-Forschung gGmbH (IBWF), Mainz))

Carlsen, H.-M. (2022): Analyse des naturschutzfachlichen Potenzials von „Eh da-Flächen“ der Stadt Selm anhand ihrer Vegetation sowie ausgewählter Landschaftsstrukturmaße und deren Bedeutung für den Biotopverbund zwischen Schutzgebietsflächen. Masterarbeit, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Masterarbeit, Zweitbetreuer **M. Trapp**.

Promotion/PhD

Mitgliedschaften in Fachorganisationen und Gremien *Memberships of Professional Organisations and Bodies*

Die **AgroScience** ist Mitglied bei der Deutschen Agrarforschungsallianz (DAFA)

Höfer M.U.:

- Deutsche Botanische Gesellschaft und deren Sektion Pflanzenphysiologie und Molekularbiologie
- EWRS - European Weed Research Society

Jaraus W.:

- Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft (DPG)
- International Society for Horticultural Science (ISHS)
- Arbeitsgruppe „Apfeltriebsucht“
- Scientific committee „International Phytoplasma Working group (IPWG)

Krczal G.:

- Gesellschaft für Pflanzenbiotechnologie (Vorsitzende)

- Wissenschaftlerkreis Grüne Gentechnik
- Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft (DPG)
- International Society for Horticultural Science (ISHS), Working Group on Fruit Tree Viruses
- Sharka Working Group of ISHS
- American Phytopathological Society
- European Plant Protection Organization (EPPO), Panel on Pathogen-tested Ornamentals (Ers)
- Deutsche Gartenbauliche Gesellschaft (DGG), Arbeitsgruppe „Virus Diseases of Fruit Trees“
- Gesellschaft für Pflanzenzüchtung
- Gesellschaft für Virologie e.V.

Wallbraun, M.

- Gesellschaft für Pflanzenzüchtung
- Gesellschaft für Pflanzenbiotechnologie

Lehraufträge

University teaching

Krczal G.

- *Plant Biotechnology*

Hochschule Mannheim, Fachbereich Biotechnologie (MSc Biotechnology), Sommersemester
Hochschule Mannheim, Department „Biotechnologie (MSc Biotechnology)“, summer term

Wallbraun M.

- *Plant Biotechnology*

Hochschule Mannheim, Fachbereich Biotechnologie (MSc Biotechnology), Sommersemester
Hochschule Mannheim, Department „Biotechnologie (MSc Biotechnology)“, summer term.