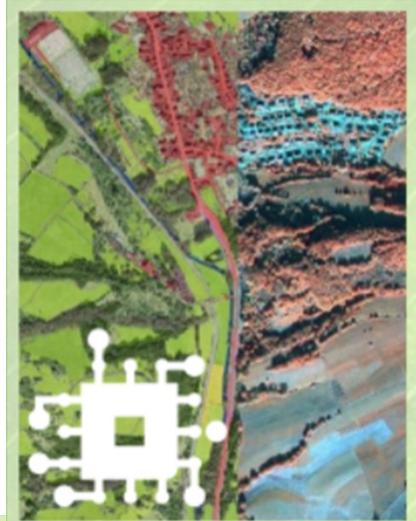


RLP AgroScience



Jahresbericht 2020/2021

Vorwort

Preface



Prof. Dr. Gabriele Krczal
Geschäftsführung
Management

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

Sehr geehrte Leserinnen und Leser,

wir freuen uns, Ihnen den Jahresbericht 2020/21 der RLP AgroScience GmbH präsentieren zu können.

Die beiden vergangenen Jahre waren geprägt durch die Covid 19-Pandemie und wir mussten lernen, unsere Arbeitsvorgänge an diesen neuen Bedingungen auszurichten. Durch die schnelle Umsetzung von Hygiene- und Vorsichtsmaßnahmen und auch das umsichtige Handeln aller Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen ist es uns jedoch gelungen, unsere Forschungs- und 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.

Aber nicht nur von außen, auch von innen hat die RLP AgroScience Veränderungen erfahren: Wir hatten in 2020 eine Umstrukturierung geplant, die zu Beginn 2021 zu einem Zusammenschluss der beiden Institute AlPlana – Institut für Pflanzenforschung und IfA – Institut für Agrarökologie führte, um die Kompetenzen der Mitarbeiter/innen beider Geschäftsfelder noch besser zu nutzen und



Prof. Dr. Roland Kubiak
Geschäftsführung
Management

Tel.: +49 (0) 1783563273
roland.kubiak@agroscience.rlp.de

Dear Readers,

we are pleased to present you the annual report 2020/21 of RLP AgroScience GmbH. The last two years were marked by the Covid 19 pandemic and we had to learn to adapt our operations to these new conditions. However, due to the quick implementation of hygiene and precautionary measures and also the prudent actions of all employees, we succeeded in maintaining our research and development work, as well as our activities in the field of training of young scientists, so that we can also present exciting research projects to you in this issue of our annual report.

But RLP AgroScience has not only undergone changes from the outside, but also from the inside: We had planned a restructuring in 2020, which led to the merger of the two institutes AlPlana - Institute for Plant Research and IfA - Institute for Agroecology at the beginning of 2021, in order to make even better use of the competencies of the employees of both business units and to strengthen synergies. The employees of AgroScience are now continuing their research and development work in the core topics of "Applications of digitalization", "Climate and stress resilience", "BioEconomy", "Alternatives to che-

Synergien zu stärken. Die Mitarbeiter/innen der AgroScience führen nun ihre Forschungs- und Entwicklungsarbeiten in den Kernthemen „Anwendungen der Digitalisierung“, „Klima- und Stressresilienz“, „Bioökonomie“, „Alternativen zum chemischen Pflanzenschutz“ und „Umweltverhalten von Pflanzenschutzmitteln“ fort. Bei der Digitalisierung arbeiten wir mit, die rheinland-pfälzische Geobox zu einem erfolgreichen Teil der landwirtschaftlichen Digitalisierung zu entwickeln.

Das große Thema der AgroScience ist weiterhin die „Nachhaltige Landwirtschaft“: Als nachhaltige Landwirtschaft verstehen wir die zukunftsorientierte Bewirtschaftung landwirtschaftlicher Nutzfläche. Nachhaltige Landwirtschaft soll Land, Wasser und genetische Ressourcen für künftige Generationen bewahren, in dem sie die natürliche Regenerationsfähigkeit dieser Ressourcen schützt und sowohl Strategien verfolgt, die Anwendungssicherheit von Pflanzenschutzmitteln weiter zu verbessern als auch Pflanzenschutzmittel durch nebenwirkungsarme und nicht-toxische Alternativen zu ersetzen, um den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln zu minimieren, auch durch die Umgestaltung/Erneuerung landwirtschaftlicher Produktionsprozesse. In diesem Zusammenhang unterstützen wir auch die Eiweißpflanzenstrategie des Landes Rheinland-Pfalz.

Auch im Bereich innovativer Pflanzenzüchtung sind wir durch unsere Projekte zu Genome Editing weiter aktiv und Mitarbeiter, vor allem die Geschäftsführerin zeigen durch die Verfassung von Stellungnahmen und Positionspapieren zusammen mit anderen Akteuren aus der Szene sowie der Moderation von Informationsveranstaltungen in diesem Bereich wissenschaftspolitisches Engagement

Die AgroScience ist eingebunden in nationale und internationale Gremien. Weiterhin ist es an Masterstudiengängen der Hochschule Mannheim beteiligt, sowie mit Vorlesung und Praktika an den Universitäten Heidelberg und Koblenz-Landau aktiv. Zusammen mit den Universitäten erfolgt auch die Ausbildung von Bachelor- und Masterstudenten, sowie Doktoranden, die mit ihrer Arbeitskraft auch Projekte des Instituts voran bringen.

mical plant protection" and "Environmental behavior of plant protection products". In the field of digitalization, we are working to develop the Rhineland-Palatinate Geobox into a successful part of agricultural digitalization. The major topic of AgroScience will continue to be "sustainable agriculture": We understand sustainable agriculture as the future-oriented management of agricultural land. Sustainable agriculture aims to preserve land, water and genetic resources for future generations by protecting the natural regenerative capacity of these resources and by pursuing strategies to further improve the safety of pesticide use and to replace pesticides with low side-effect and non-toxic alternatives in order to minimize the use of pesticides, also by redesigning/renewing agricultural production processes. In this context, we also support the protein crop strategy of the state of Rhineland-Palatinate.

We also continue to be active in the field of innovative plant breeding through our projects on genome editing, and employees, especially the managing director, show their commitment to science policy by writing statements and position papers together with other actors from the scene and by moderating information events in this field.

AgroScience is involved in national and international committees. Furthermore, it is involved in Master's programs at the Mannheim University of Applied Sciences and is active with lectures and internships at the Universities of Heidelberg and Koblenz-Landau. Together with the universities, the institute also trains bachelor and master students, as well as doctoral students, who also advance the institute's projects with their work.

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

With the year 2021 coming to an end, Prof. Dr. Krczal will be the sole managing director, because Prof. Dr. Kubiak has retired.

Unsere Erfolge werden durch den außergewöhnlichen Einsatz unserer Mitarbeiter und die vertrauensvolle Kooperation mit unseren Partnern in Forschung und Entwicklung möglich.

Mit dem zu Ende gegangenen Jahr 2021 liegt die alleinige Geschäftsführung bei Frau Prof. Dr. Krczal, weil Herr Prof. Dr. Kubiak in den Ruhestand gewechselt ist.

Wir möchten allen unseren Mitarbeitern und Kooperationspartnern für die hervorragende Zusammenarbeit in den beiden letzten Jahren danken.

We would like to thank all our employees and cooperation partners for the excellent collaboration in the last two years.

Neustadt an der Weinstraße, den 01.02.2022

The image shows two handwritten signatures. The top signature is "Roland Krczal" written in a cursive script. Below it is another signature, which appears to be "J. Krczal".

Anwendungen der Digitalisierung



Anwendungen der Digitalisierung

Applications of digitization

Erstauftreten von Flavescence dorée in Deutschland

First detection of flavescence dorée in Germany

Die Flavescence dorée (FD; Goldgelbe Vergilbung) ist eine Quarantänekrankheit der Weinrebe, die durch Flavescence dorée-Phytoplasmen (FDp) hervorgerufen wird. Aufgrund ihres hohen Schadpotentials und ihrer epidemischen Ausbreitung ist sie eine der wichtigsten Rebkrankheiten in Europa. Ausgehend vom Südwesten Frankreichs breitete sich die FD zunächst in südeuropäische Weinbauregionen aus und tritt mittlerweile in zwölf europäischen Ländern auf. Deutschland war bislang noch frei von der FD. Benachbarte Weinbauregionen (Schweiz: Genfer See; Frankreich: Jura und Burgund) sind jedoch bereits befallen.

In den Weinbergen wird die FD von Rebe zu Rebe durch die Amerikanische Rebzikade, *Scaphoideus titanus*, übertragen, die ausschließlich an Reben lebt und die Krankheitserreger so effektiv verbreitet, dass sich ohne Gegenmaßnahmen innerhalb weniger Jahre ein flächendeckender Befall entwickelt. Die aus Nordamerika eingeschleppte Zikade hat sich in letzter Zeit immer weiter nach Norden verbreitet und wird seit 2016 im Elsass regelmäßig gefunden. In Deutschland wurde die Zikade bislang noch nicht nachgewiesen.

FDp gehört zu der Gruppe der 16Sr V Phytoplasmen, die nicht nur im Wein sondern auch in Wildpflanzen wie z.B. Erlen vorkommen. Unsere Arbeiten konnten zeigen, dass in Deutschland Erlen natürliche symptomlose Wirtspflanzen sind, die zu einem relativ hohen Prozentsatz mit FDp-verwandten Phytoplasmen befallen sind. Erlenzikaden können diese FDp-Isolate in seltenen Fällen auch auf angrenzenden Wein übertragen. Wenn die eingewanderte Rebzikade *S. titanus* FDp von diesen befallenen

Flavescence dorée (FD; grapevine yellows) is a quarantine disease of grapevine caused by flavescence dorée phytoplasmas (FDp). Due to its high pest potential and epidemic spread, it is one of the most important grapevine diseases in Europe. Starting in south-western France, FD first spread to southern European wine-growing regions and is now present in twelve European countries. Germany has so far been free of FD. However, neighbouring wine-growing regions (Switzerland: Lake Geneva; France: Jura and Burgundy) have already been affected.

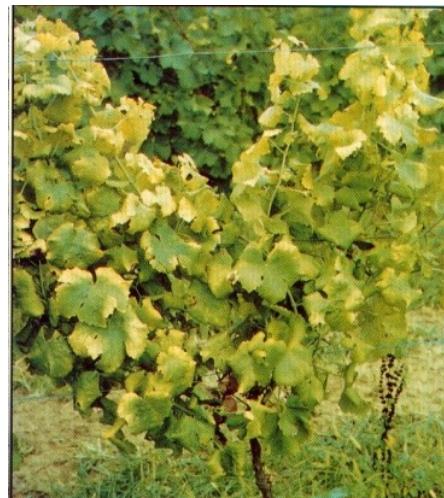


Abb. 1: Symptome von Flavescence dorée
Fig. 1: Symptoms of Flavescence dorée
(Foto: X. Foissac, M. Maixner, COST FA0807 (2013))

In vineyards, FD is transmitted from vine to vine by the American grapevine leafhopper, *Scaphoideus titanus*, which lives exclusively

Rebstöcken aufnimmt, droht auch in Deutschland ein epidemischer Ausbruch der Krankheit. In der neuesten Quarantäneschadreger-Verordnung von 2019 schreibt die EU darüber hinaus für solche Risikogebiete wie Deutschland ein Monitoring auf FD-Befall in Weinreben vor.

Da in Deutschland die Gefahr eines FD-Ausbruchs von aus Erlen übertragenen FDp ausgeht, hat RLP AgroScience eine Risikokarte für Weinberge in der Nähe von potentiellen Erlenstandorten erstellt. Die Analyse wurde zuerst für die Weinanbaugebiete in Rheinland-Pfalz erstellt, da hierfür die nötigen Geodaten vorlagen: der von RLP AgroScience generierte Landbedeckungsdatensatz, der ALKIS-Datensatz sowie der SAGA Wetness Index. Zudem wurden in einem Vorgänger-Projekt in der Pfalz über 500 tatsächliche Erlenstandorte durch Feldbegehungen identifiziert. Diese Daten dienten als Grundlage für den Einsatz von Methoden des maschinellen Lernens, um potentielle Erlenstandorte in der Nähe von Weinbergen in ganz Rheinland-Pfalz zu bestimmen. Diese Daten wurden durch Feldbegehungen in allen Weinbauregionen in Rheinland-Pfalz überprüft. Die neuen Daten wurden in einer zweiten Runde des maschinellen Lernens analysiert, um die finale Risikokarte (Abb. 2) zu erstellen. Diese Karte wurde 2020 in einem geschützten Bereich der Geobox des Landes Rheinland-Pfalz den mit dem FD-Monitoring betrauten Wissenschaftlern und Beratern zur Verfügung gestellt.

Auf Basis dieser Risikokarte konnte im Herbst 2020 von Wissenschaftlern des Julius Kühn-Instituts für Pflanzenkrankheiten im Obst- und Weinbau (Siebeldingen) der erste FD-Fall in einem Rebstock in Deutschland identifiziert werden. Der Rebstock in einer Altanlage in Rheinhessen in unmittelbarer Nähe von einem Erlenstandort zeigte die typischen Symptome eines FD-Befalls (Abb. 1): Vergilbung und ein Einrollen der Blätter, Vertrocknen, Schrumpfen und Abfallen der Beeren, sowie fehlende Verholzung der Triebe. Der Nachweis von FDp im Rebstock erfolgte am JKI mittels verschiedener molekularer Methoden. RLP AgroScience konnte in den benachbarten Erlen FDp-verwandte

on vines and spreads the pathogens so effectively that, without countermeasures, a widespread infestation develops within a few years. The cicada, which was introduced from North America, has recently spread further and further north and has been found regularly in Alsace since 2016. The cicada has not yet been detected in Germany.

FDp belongs to the group of 16Sr V phytoplasmas, which are not only found in wine but also in wild plants such as alders. Our work could show that in Germany alders are natural asymptomatic host plants, which are infested to a relatively high percentage with FDp-related phytoplasmas. Alder leafhoppers can, in rare cases, also transmit these FDp isolates to adjacent vines. If the immigrant grapevine leafhopper *S. titanus* picks up FDp from these infested vines, there is a threat of an epidemic outbreak of the disease in Germany as well. In the latest quarantine pest regulation of 2019, the EU also prescribes monitoring for FD infestation in vines for such risk areas as Germany.

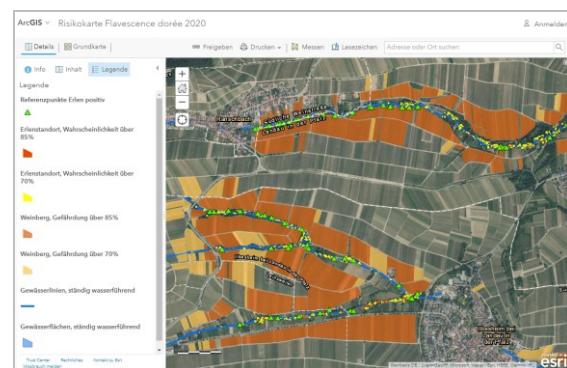


Abb. 2: Risikokarte von Weinbergen in der Südpfalz

Fig. 2: Risk map of vineyards in South Palatinate

Since in Germany the risk of an FD outbreak is posed by FDp transmitted from alders, RLP AgroScience has produced a risk map for vineyards in the vicinity of potential alder sites. The analysis was first produced for the vineyard areas in Rhineland-Palatinate, as the necessary geodata were available for this: the land cover dataset generated by RLP AgroScience, the ALKIS

Phytoplasmen nachweisen. Diese Ergebnisse wurden gemeinsam in einer Disease Note veröffentlicht.

Dieser erste Fund eines FD-Befalls im Wein in Deutschland zeigt das Potential der Risikokarte für das FD-Monitoring. Deshalb wird diese Analyse z.Z. in dem laufenden Projekt „PhytoMo“ auf Weinanbaugebiete in Württemberg und Franken ausgedehnt.



Kontakt

Contact



Dr. Wolfgang Jarausch

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1307

wolfgang.jarausch@agroscience.rlp.de

dataset and the SAGA Wetness Index. In addition, in a previous project in the Palatinate, more than 500 actual alder sites were identified through field inspections. This data served as the basis for using machine learning methods to determine potential alder locations near vineyards throughout Rhineland-Palatinate. These data were verified by field visits in all vineyard regions in Rhineland-Palatinate. The new data was analysed in a second round of machine learning to create the final risk map (Fig. 2). This map was made available in 2020 in a protected area of the Geobox of the state of Rhineland-Palatinate to the scientists and consultants entrusted with FD monitoring.

Based on this risk map, scientists from the Julius Kühn Institute for Plant Protection in Fruit Crops and Viticulture (Siebeldingen) were able to identify the first FD case in a vine in Germany in autumn 2020. The vine in an old plantation in Rheinhessen in the immediate vicinity of an alder site showed the typical symptoms of FD infestation (Fig. 1): yellowing and curling of the leaves, withering, shriveling and dropping of the berries, as well as lack of lignification of the shoots. The detection of FDp in the vine was carried out at the JKI using various molecular methods. RLP AgroScience was able to detect FDp-related phytoplasmas in the neighbouring alders. These results were jointly published in a Disease Note.

This first finding of FD infestation in wine in Germany shows the potential of the risk map for FD monitoring. Therefore, this analysis is currently being extended to wine-growing areas in Württemberg and Franconia in the ongoing project "PhytoMo".

Anwendungen der Digitalisierung

Applications of digitization

Einzugsgebietsbezogene Betrachtung der Kolmation

Catchment area based analysis of colmation

Einleitung

Unter Kolmation versteht man den Prozess, bei dem die Lückensysteme in den Sanden, Kiesen und Schottern der Gewässersohle von Bächen oder Flüssen, der sogenannten hyporheischen Zone (HZ), verstopfen. Erhöhte Feinsedimentfrachten, die v. a. aus anthropogen überprägten Einzugsgebieten in die Gewässer gelangen, verstärken oft diese Prozesse. Beim Abbau von Schadstoffen und organischem Material spielt die HZ eine zentrale Rolle. Hier findet ein erheblicher Anteil der Selbstreinigung eines Fließgewässers statt. Darüber hinaus ist die HZ ein wertvoller Lebensraum und Refugium für aquatische Tiere. Ist die Gewässersohle dauerhaft kolmatiert, kann das schwerwiegende Auswirkungen auf die Lebensgemeinschaften und Stoffumsätze und somit den ökologischen Zustand eines Fließgewässers haben.

Obwohl es vermehrt Hinweise darauf gibt, dass die Kolmation eine große Rolle bei der Degradation von Biozönosen spielt, wird sie bei der Zustandsbewertung der Fließgewässer nach EG-Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) bisher nicht berücksichtigt.

Im Zeitraum Juli 2018 bis August 2021 wurden im von der DBU geförderten Forschungsprojekt "Einzugsgebietsbezogene Betrachtung der Kolmation" (AZ 34435/01 – 33/2) mögliche Einflüsse des Einzugsgebiets auf den Kolmationsgrad an 25 ausgewählten Gewässerstandorten in Rheinland-Pfalz untersucht. Die Projektleitung lag beim Institut für Grundwasserökologie (IGÖ – eine Ausgründung aus der Universität Koblenz-Landau). Die Messungen der Kol-

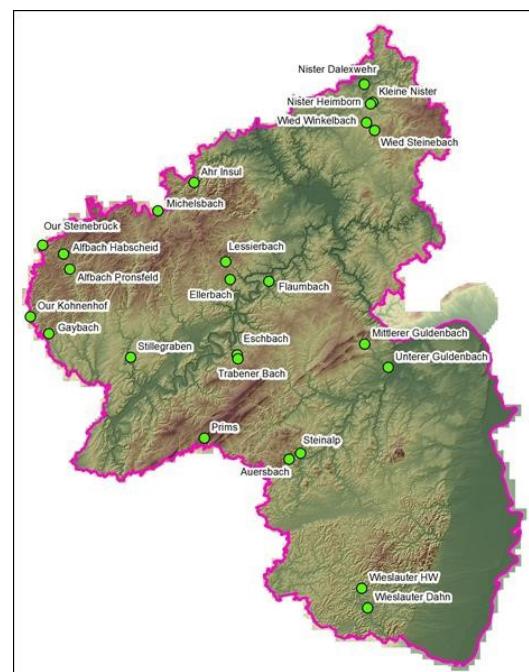


Abb. 1: 25 ausgewählte Probenahmestandorte an rheinland-pfälzischen Gewässern
Fig. 1: 25 selected sampling locations at Rhineland-Palatinate waterbodies

Introduction

Colmation is defined as the clogging process of the gap system in sands, gravels and angular rocks at the bed of streams or rivers, the so called hyporheic zone (hz). Increased amounts of fine sediment mainly originating from anthropogenically superimposed catchment areas often reinforce this process. During the degradation of pollutants and organic material the hz plays a central role. Here a considerable share of the self-cleaning of a

mation im Gelände mit dem Kolmameter und die gewässerökologischen Untersuchungen lagen beim IGÖ und dem Projekt-partner ProLimno, die geodatenbasierte Auswertung verschiedener Einzugsgebiets-eigenschaften (wie bspw. Landnutzung, Niederschlags-mengen, Hangneigung) im GIS erfolgte durch die RLP AgroScience. Die Analyse des Gewässersediments hin auf Pflanzen-schutzmittelrückstände wurde vom DLR-Rheinpfalz übernommen.



Abb. 2: Messung der Kolmation: Erfassung der Durchlässigkeit der Gewässersohle

Fig. 2: Measurement of colmation: assessment of the permeability of the water bed

water stream is taking place. Furthermore the hz is a valuable habitat and refuge for aquatic animals. If the bed of water body is permanently clogged this may cause severe impact on the biotic communities and the metabolism and therefore the ecological state of a water stream.

Even though there is increased evidence that colmation plays a major role during the degradation of biocenosis it is not considered at the state evaluation of flowing waters according to the EU Water Framework Directive (WFD) yet.

In the period July 2018 to August 2021 the possible influence of the catchment area on the grade of colmation was analysed at 25 selected stream locations in Rhineland-Palatinate in course of the project “Catchment area based analysis of colmation” (AZ 34435/01 -33/2) sponsored by the DBU. The project leadership was done by the Institute of Groundwaterecology (IGÖ – a spin-off of the University Koblenz-Landau). The measurements of colmation with the Kolmameter in field and the water ecological investigations were conducted by IGÖ and the project partner ProLimno, the geodata based analysis of different catchment attributes (like for example landuse, precipitation amounts or slope) in GIS were made by RLP AgroScience. The analysis of the water bodies’ sediment regarding the pesticide residues was conducted by the DLR-Rheinpfalz.



Results

The measurements of colmation revealed distinct stream type specific differences and showed the necessity to define reference conditions for the natural state of the particular stream water type (according to LAWA 2000) as an evaluation base for the colmation. Locations evaluated worse according to the EU Water Frame Directive (WFD) generally showed a stronger degree of colmation.

Distinct negative coherences with the col-

Ergebnisse

Die Messungen der Kolmation ergaben deutliche gewässertypspezifische Unterschiede und zeigen die Notwendigkeit auf, Referenzzustände für den naturgemäßen Zustand der jeweiligen Fließgewässertypen (nach LAWA 2000), als Bewertungsgrundlage für die Kolmation, zu definieren. Eine stärkere Kolmatierung wiesen i. d. R. Standorte auf, die nach EG-

Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) schlechter bewertet waren.

Deutlich negative Zusammenhänge mit der Kolmation zeigten die Tiergemeinschaften. Kolmatierte Standorte wiesen, insbesondere in der hyporheischen Zone, eine geringere Diversität und höhere Anteile von Feinsedimentbesiedlern auf. Dieser negative Zusammenhang zeigte sich auch bei der Makrozoobenthosbesiedlung, war insgesamt aber weniger ausgeprägt.

Eine ausgeprägte zeitliche Dynamik der Kolmationsprozesse wurde am „Dauerstandort Unterer Guldenbach“ (hier wurde über ein ganzes Jahr hinweg jeweils monatlich beprobt) festgestellt, die stark an das Abflussverhalten gekoppelt war. Die interstitielle Meiofauna spiegelte die wechselnde Kolmationssituation deutlich wider. Dies bedeutet, dass ein biologischer Bewertungsansatz für die Kolmation anhand der interstitiellen Meiofauna als Kolmationsindikator möglich ist.

Standorte, deren EZG stärker landwirtschaftlich genutzt wird, waren tendenziell auch stärker kolmatiert und wiesen einen tendenziell schlechteren ökologischen Zustand und Allgemeine Degradation sowie eine schlechtere Besiedlung auf. Das Sediment solcher Gewässerabschnitte zeigte außerdem höhere Konzentrationen an Pflanzenschutzmitteln (PSM) und eine größere Anzahl von Wirkstoffen. Auch die Nitratkonzentrationen im Interstitial- und Oberflächenwasser dieser Gewässer war deutlich höher. Ein signifikanter Einfluss der Konzentrationen von Pflanzenschutzmitteln auf die Makro- und Meiofauna war aber nicht erkennbar.

mation were showed by animal communities. Clogged locations had a lower diversity, especially in the hyporheic zone and a higher fraction of fine sediment colonizers. This negative coherence was also revealed for macrozoobenthos colonization, but was less distinct.

A pronounced temporal dynamic of the colmation processes was observed at the permanent sampling location “Unterer Guldenbach” (here it was sampled monthly within a whole year), which was strongly coupled to the water outlet behaviour. The interstitial meiofauna clearly reflected the changing colmation situation. That means that a biological evaluation approach based on the interstitial meiofauna is possible.

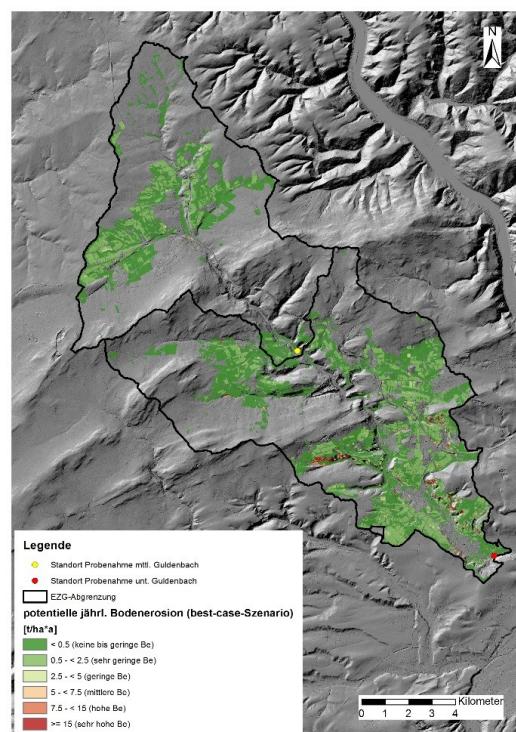


Abb. 3: Simulation der potentiellen jährlichen Bodenerosion im Einzugsgebiet des Unteren Guldenbachs (best-case-Szenario)
Fig. 3: Simulation of the potential annual soil erosion in the catchment area Unterer Guldenbach (best-case-scenario)

Locations with a stronger agricultural landuse in the catchment area were tendentially more colmated and showed a tendency

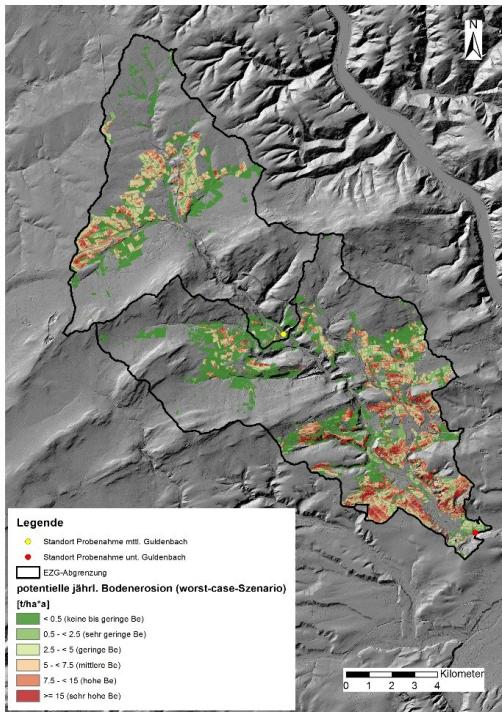


Abb. 4: Simulation der potentiellen jährlichen Bodenerosion im Einzugsgebiet des Unteren Guldenbachs (worst-case-Szenario)
Fig. 4: Simulation of the potential annual soil erosion in the catchment area Unterer Guldenbach (worst-case-scenario)

Da die Bodenerosion als maßgeblicher Treiber für den Eintrag von Feinsediment in Gewässer gilt und somit zur Kolmation beiträgt, wurden an fünf Beispielstandorten erosionsmindernde Maßnahmen in verschiedenen Szenarien im GIS modelliert (vgl. Abb. 3 und 4). Diese Simulationen zeigten, dass der größte erosionsmindernde Effekt durch eine Änderung der Fruchtfolge im Ackerbau hin zu mehr Getreideanbau und Zeilenbegrenzung im Weinbau zu erreichen wäre. Eine weitere wirkungsvolle Maßnahme zur Minderung des Oberflächenabflusses und somit einer damit einhergehenden Minderung des Bodenabtrags stellt die Anlage von sogenannten Agroforstsystmen dar. Dabei werden Baumreihen auf Ackerflächen angelegt, die beispielsweise zur Gewinnung von Energieholz genutzt werden können. Der abflussmindernde Effekt solcher Agroforstsystme wurde in zwei Teileinzugsgebieten am Unteren und Mittleren Guldenbach im GIS simuliert (vgl. Abb. 5)

tial worse ecological state and general degradation and also a worse colonization. The sediment of such stream segments furthermore showed higher concentrations of pesticides and a higher number of active substances. Also the nitrate concentration in the interstitial and surface water of these water streams was distinctly higher. A significant impact of the pesticide concentrations on the macro- and meiofauna was not recognisable. Since soil erosion is regarded as a substantial driver for the discharge of fine sediment into water streams and therefore contributes to colmatation, erosion decreasing measures were modelled scenario based in GIS for five example locations (see fig. 3 and 4). These simulations showed that the greatest erosion decreasing effect could be achieved by a change of the crop rotation within arable land by planting more cereals and in winegrowing by a complete greening of the plant rows. A further effective measure for the mitigation of surface runoff and the associated mitigation of soil loss is the installation of so called agroforestry systems. Thereby tree rows are planted on arable land, which can be used for the production of wood fuel. The runoff decreasing effect of such agroforestry systems was simulated for two parts of the catchment area of the Unterer and Mittlerer Guldenbach (see fig. 5)

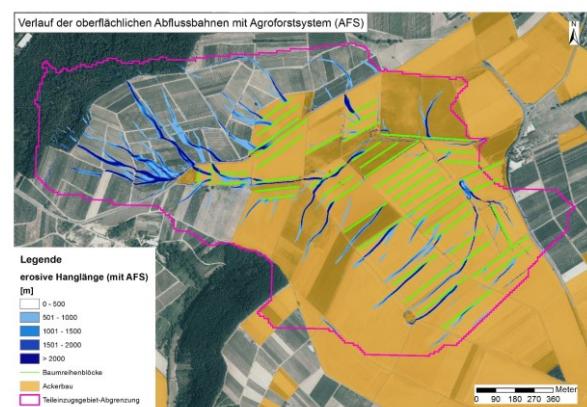


Abb. 5: Simulation eines Agroforstsystms im GIS
Fig. 5: Simulation of an agroforestry system in GIS



Ausblick/Fazit

Weiterer Forschungsbedarf besteht hinsichtlich der Definition von gewässertypspezifischen Referenz-zuständen für die Kolmationsbewertung. Die Untersuchungen am Guldenbach verdeutlichen außerdem, dass eine repräsentative Erfassung der Kolmation mehrmalige Messungen im Jahr erfordert. Außerdem sollten der Zeitpunkt der Untersuchungen, die Vergleichbarkeit der Untersuchungsgebiete, die Messtiefe und die Verteilung der Messstellen innerhalb eines Abschnittes weiterentwickelt und angepasst werden.

Generell bestätigen die Untersuchungen die Auffassung, dass die Erfassung und Bewertung der Kolmation, als ergänzender Teil der Fließgewässerbewertung es ermöglichen kann, zielgerichtete Maßnahmen vor allem auch im Einzugsgebiet zur Erreichung des guten ökologischen Zustands zu definieren.



Abb. 5: Schnappschuss der im Rahmen des Projektes erstellten Storymap (<https://arcg.is/nH100>)
Fig. 5: Snapshot of the storymap developed in course of the project (<https://arcg.is/nH100>)

Lookout/conclusion

Further need of research exists concerning the definition of water type specific reference states for the evaluation of colmation. The investigations at the Guldenbach made clear, that a representative assessment of the colmation require repeated measurements during the year. Moreover the moment of the investigations, the comparability of the study areas, the measurement depth and the distribution of the Measurementt points within one segment should be refined and adjusted.

In general the investigations confirm the opinion that the assessment and evaluation of colmation as an additional part of the evaluation of flowing waters could enable to define goal-driven measures especially in the catchment area to achieve the good ecological status.

Kontakt

Contact



Kai Thomas

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 551

kai.thomas@agroscience.rlp.de

Anwendungen der Digitalisierung

Applications of digitization

Querschnittsaufgabe Starrflügler- und Multicopter-Drohne *Cross-sectional task fixed-wing and multicopter UAS*

In den beiden zurückliegenden Jahren gelang der RLP AgroScience durch die projektassoziierte Anschaffungen zweier Drohnen ein umfassendes Ausstattungsupdate mit modernster Sensortechnologie im Bereich der Fernerkundung. 2020 konnte im Rahmen des Projekts „Etablierung digitaler Indikatoren der Bienenvitalität in Agrarlandschaften“ (ViBee) die Starrflügler-Drohne „eBee X“ des Herstellers „Sensefly“ (vgl. Abb. 1) erworben werden. 2021 gelang die Beschaffung des Quadrocopters „Phantom 4 Multispektral“ des Herstellers „DJI“ (vgl. Abb. 2) im Rahmen des Projekts „Digitaler Obstbau“.

Wesentliche Unterschiede zwischen diesen beiden Drohnen-Typen sind die Reichweite sowie die Wendigkeit: Starrflügler schaffen Flugzeiten von bis zu einer Stunde ohne Unterbrechung, während Multicopter mit einer Akkuladung i.d.R. nur 20min fliegen können. Demgegenüber sind Multicopter deutlich wendiger, können in der Luft stehen bleiben und sind Senkrechtstarter und – lander, brauchen also im Vergleich zu Starrflüglern keine Start- und Landebahn.

Starrflügler-Drohne in den Projekten „ViBee“ und „CRICETUS“

Die Starrflügler-Drohne mit einem Gesamtgewicht von 1,7 kg hat eine Reichweite von bis zu 500 ha. Ihre Ausstattung umfasst einen Multispektralsensor (inkl. Infrarot-Kanal) mit einer Auflö-

In the past two years, RLP AgroScience succeeded in comprehensively updating its equipment with the latest sensor technology in the field of remote sensing through the project-associated acquisition of two drones.

In 2020, the fixed-wing drone "eBee X" from the manufacturer "Sensefly" (cf. Fig. 1) was acquired as part of the project "Establishment of digital indicators of bee vitality in agricultural landscapes" (ViBee). In 2021, the procurement of the quadrocopter „Phantom 4 Multispectral“ of the manufacturer "DJI" (cf. Fig. 2) succeeded within the scope of the project "Digital Orchards".

The main differences between these two types of drones are their range and maneuverability: fixed-wing drones can fly for up to one hour without interruption, while multicopters can usually only fly for 20 minutes on one battery charge. In contrast, multicopters are much more maneuverable, can stop in mid-air and are vertical take-off and landing aircraft, so they don't need a runway compared to fixed-wing aircrafts.



Abb. 1: Starrflügler-Drohne « eBee X »
Fig. 1: Fixed-wing drone « eBee X »

sung bis 3 cm sowie einen Thermalsensor mit RGB-Sensor, jeweils mit Auflösung von bis zu 2 cm.

Erste Testflüge wurden auf dem Versuchsgelände „Nussacker“ durchgeführt. Erste Anwendungen erfolgten im „EFA-Projekt Südpfalz“, wo der Grünstreifen entlang des Otterstädter Wegs Ende 2020 multispektral und thermal beflogen wurde, um die vorhandene Vegetation (in 2D und 3D) zu erfassen (vgl. Abb. 3).

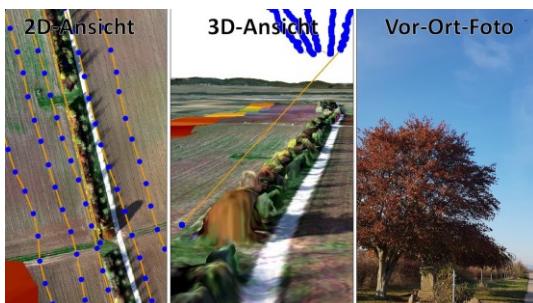


Abb. 1: Grünstreifen im UG Lössriegel in 2D (links), 3D-Ansicht (mittig) und in Realität (rechts)

Fig. 3: Green strip in the Lössriegel UG in 2D (left), 3D view (center) and in reality (right).

Der zentrale Anwendungsbereich der Starrflügler-Drohne liegt im Verbundprojekt ViBee. Dessen Laufzeit ist von 2020 bis 2023, der Förderer die Landwirtschaftliche Rentenbank und der Träger die BLE (ptble). Die AgroScience hat darin die geodatenbasierte Erfassung von Trachtflächen für Honigbienen an drei bundesweiten Monitoringstandorten mit anschließender Landschaftsanalyse als Hauptaufgaben.

Link:

https://service.ble.de/ptdb/index2.php?detail_id=20942408&site_key=141&sLfd=lau-fend&zeilenzahl_zahler=1816&NextRow=1210#newContent

(Bild: <https://allnav.com/produkte/drohnen/ebee-x>)

Fixed-wing drone in the "ViBee" and "CRICETUS" projects

The fixed-wing drone with a total weight of 1.7 kg has a range of up to 500 ha. Its equipment includes a multispectral sensor (incl. infrared channel) with a resolution of up to 3 cm and a thermal sensor with RGB sensor, each with a resolution of up to 2cm.

First test flights were performed at the "Nussacker" test site. First applications took place in the „EFA project Südpfalz“, where the green belt along the Otterstädter Weg was flown multispectrally and thermally at the end of 2020 to record the existing vegetation (in 2D and 3D) (cf. Fig. 3).

The central area of application of the fixed-wing drone is in the ViBee joint project. Its duration is from 2020 to 2023, the sponsor is the Landwirtschaftliche Rentenbank and the executing agency is the BLE (ptble). In it, AgroScience has as its main tasks the geo-data-based recording of honey bee foraging areas at three nationwide monitoring sites with subsequent landscape analysis.

Link:

https://service.ble.de/ptdb/index2.php?detail_id=20942408&site_key=141&sLfd=lau-fend&zeilenzahl_zahler=1816&NextRow=1210#newContent



Main application areas in the hamster project:



Anwendungsschwerpunkte im Hamster-Projekt:

Entwicklung von neuen Monitoring-Methoden zur Erfassung und Quantifizierung von Hamsterpopulationen.

Link:

<https://snu.rlp.de/de/projekte/feldhamster/interreg-cricetus/das-projekt/>



Quadroptereinsatz im Projekt „Digitaler Obstbau“ und „PhenoTruck“

Die Copter-Drohne hat einem Gesamtgewicht von 1,48 kg und trägt 6 Sensoren. Einen RGB-Sensor für Echtfarbenbilder und 5 Sensoren für die Spektren blau, grün, rot, red-edge und nahes infrarot, mit 2,12 Megapixel. Sie ist geeignet für einen Betriebsbereich von bis zu 63 ha und erreicht eine Auflösung von 0,27 cm

Anwendungsschwerpunkte im Projekt „Digitaler Obstbau“:

Entwicklung eines digitalen Diagnoseverfahrens für die Apfeltriebsucht und den Birnenverfall, die sich durch die spezifische Rotfärbung des Laubs im Herbst manifestiert.

<https://www.innovationstage-digital.de/fachsektionen/digitalisierung-in-der-land-und-ernaehrungswirtschaft/frueherkennung->

Development of new monitoring methods to detect and quantify hamster populations.

Link:

<https://snu.rlp.de/de/projekte/feldhamster/interreg-cricetus/das-projekt/>



Abb. 2: Quadrocopter « Phantom 4 Multispectral »

Fig. 2: Quadrocopter « Phantom 4 Multispectral »

(Bild: <https://www.dji.com/de/p4-multispectral>)

Quadrocopter use in the project "Digital Orchard" and "PhenoTruck".

The copter drone has a total weight of 1.48 kg and carries 6 sensors. One RGB sensor for true color images and 5 sensors for blue, green, red, red-edge and near infrared spectra, with 2.12 Megapixel. It is suitable for an operating area of up to 63 ha and achieves a resolution of 0.27 cm.

Main applications in the „Digital orchard“ project:

Development of a digital diagnostic method for apple proliferation disease and pear decline, manifested by the specific red coloration of the foliage in autumn.

Link:

[von-apfeltriebsucht-und-birnenverfall/](https://www.innovationstage-digital.de/fachsektionen/digitalisierung-in-der-land-und-ernaehrungswirtschaft/frueherkennung-von-apfeltriebsucht-und-birnenverfall/)



Anwendungsschwerpunkte im Projekt „PhenoTruck“:
Identifizierung von Quarantäneschaderregern durch Drohnenbefliegung und molekulare vor Ort Analyse von Verdachtsproben in einem mobilen Labor.

Mittlerweile haben u.a. die Autor*innen des Artikels erfolgreich die Fernpilotenprüfungen der European Union Aviation Safety Agency (EASA) für die Kategorien A1, A2 & A3 absolviert und sind für die laufenden und kommenden Drohnenflugmanöver zur Erforschung der Agrarlandschaft umfänglich aufgestellt.



Kontakt

Contact



Annette Fuchs, Mark Deubert, Kai Thomas

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 580

annette.fuchs@agroscience.rlp.de

<https://www.innovationstage-digital.de/fachsektionen/digitalisierung-in-der-land-und-ernaehrungswirtschaft/frueherkennung-von-apfeltriebsucht-und-birnenverfall/>



Main applications in the „PhenoTruck“ project:
Identification of quarantine pathogens by drone flight and on-site molecular analysis of suspect samples in a mobile laboratory.

In the meantime, the authors of this article have successfully passed the remote pilot examinations of the European Union Aviation Safety Agency (EASA) for the categories A1, A2 & A3 and are fully prepared for the current and upcoming drone flight maneuvers for the investigation of the agricultural landscape.

Anwendungen der Digitalisierung

Applications of digitization

Experimentierfeld Südwest – Smart Data von Logistikketten im Weinbau

Experimentation Field Southwest - Smart Data of Logistics Chains in Viticulture

Als einer der neun Anwendungsfälle des Projekts "Experimentierfeld Südwest" des BMEL sollen im Rahmen des dritten Anwendungsfalls "Smart Data von Logistikketten im Weinbau" erstmals die vielfältigen Logistikprozesse in der Weinwirtschaft erhoben werden. Da es in diesem Bereich viel Potenzial gibt, um die Wirtschaftlichkeit zu erhöhen und die Nachhaltigkeit zu verbessern, ist es Ziel des Projekts, Lösungen mit Hilfe von Smart Data Management zu entwickeln. Das Team besteht aus Mitarbeitern des DLR Rheinpfalz, der RLP AgroScience GmbH und des Weincampus Neustadt.

Seit dem Start des Projekts im Jahr 2020 hat sich viel getan, zuletzt mit den Erhebungen im Herbst 2021. Innerhalb der Traubenlogistik lag der Fokus im vergangenen Jahr insbesondere auf den Prozessen bei und vor der Traubenannahme. Dazu bereitete das Team seit Anfang des Jahres die Datenerhebung bei Partnerbetrieben vor, um einen möglichst umfassenden Einblick in alle relevanten Prozesse zu erhalten. Zu diesem Zweck sollten auch Geodaten erhoben werden. Die Akquisition von Partnerbetrieben nahm einen erheblichen Teil der Arbeit in Anspruch. Für eine aussagekräftige Erhebung war es nämlich notwendig, dass immer Mitarbeiter bei der Traubenannahme in den Winzergenossenschaften bzw. bei den Winzern zur Datenerfassung anwesend waren. So mussten die Partner tiefe Einblicke in

As one of the nine case studies of the BMEL project "Experimentation Field Southwest", the diverse logistics processes in the wine industry are to be surveyed for the first time as part of the third case study "Smart Data of logistics chains in viticulture". Since there is a lot of potential in this area to increase profitability and improve sustainability, the aim of the project is to develop solutions using smart data management. The team consists of staff from DLR Rheinpfalz, RLP AgroScience GmbH and Weincampus Neustadt.

A lot has happened since the project started in 2020, most recently with the surveys in the fall of 2021. Within grape logistics, the focus last year was particularly on the processes during and before grape reception. To this end, since the beginning of the year the team has been preparing the data collection at partner companies in order to gain as comprehensive an insight as possible into all relevant processes. Geodata were also to be collected for this purpose. The acquisition of partner companies took up a considerable part of the work. For a meaningful survey, it was necessary that team members were always present at the grape reception in the wine cooperatives or at the wineries for data collection. Thus, the partners had to grant deep insights into their internal structures and take the time during their work to answer the questions of the team members. In the end, five partner companies

ihre internen Strukturen gewähren und sich während ihrer Arbeit die Zeit nehmen, die Fragen der Mitarbeiter zu beantworten. Schließlich konnten fünf Partnerbetriebe gewonnen werden, vier Winzergenossenschaften und ein Winzer, die zusammen rund 1900 Hektar bewirtschaften.

In der ersten Jahreshälfte wurden für die Untersuchungen im Herbst 2021 also zwei Fragebögen entworfen. Ein Mitglied des Teams hat diesem Thema auch seine Masterarbeit im Projekt gewidmet. So wurde ein Fragebogen mit Fragen an die Winzer und Fahrer entwickelt, in dem Zeiten (z.B. Erntebeginn und -ende), Fahrtwege und andere Details zur Ernte und den Transporten abgefragt wurden. Der zweite Fragebogen diente der Erfassung quantitativer Werte an der Annahmestelle, darunter Ankunftszeit, Mostgewicht, sowie Beginn und Ende des Entladevorgangs. Darüber hinaus wurde auch die Erfassung anderer Parameter vorbereitet. Um Geodaten zu sammeln, mussten geeignete GPS-Tracker angeschafft werden. Wichtige Kriterien waren hierbei, dass diese batteriebetrieben und robust sein sollten, damit sie auf allen Fahrzeugtypen eingesetzt werden können und dass sie auf Bewegungen reagieren sollten. Auch Thermometer wurden für den Einsatz während der Erhebungen angeschafft.

Die Erhebung bei den Partnern fand schließlich im Herbst 2021 statt, genauer gesagt zwischen dem 21. September und dem 16. Oktober. Sechs Mitarbeiter sammelten an 21 Tagen Daten. Insgesamt wurden in diesem Zeitraum 245 Stunden an Befragungen und Beobachtungen vor Ort durchgeführt, und es wurden mehr als 690 Annahmen erhoben. Darüber hinaus wurden an 36 Tagen zehn GPS-Tracker an verschiedenen Fahrzeugen wie Erntemaschinen, Traubenträgerwagen und anderen Transport-

agreed to participate, being four wine cooperatives and one winery, who together cultivate around 1900 hectares.

So, in the first half of the year, two questionnaires were drafted for the fall 2021 surveys. One member of the team is also currently dedicating his Master's thesis to this topic in the project. Thus, a questionnaire was developed with questions for the winegrowers and drivers, in which times (e.g. start and end of harvest), travel routes and other details about the harvest and the transports were queried. The second questionnaire was used to collect quantitative values at the reception point, including arrival time, must weight, and start and end of unloading. In addition, the collection of other parameters was prepared. In order to collect geodata, suitable GPS trackers had to be purchased. Important criteria were that they should be battery-powered and robust so that they could be used on all types of vehicles and that they should respond to movements. Thermometers for measuring grape temperature were also purchased for use during the surveys.

Finally, the survey of partners took place in the fall of 2021, more precisely between September 21st and October 16th. Six staff members collected data over 21 days. A total of 245 hours of on-site interviews and observations were conducted during this period, and more than 690 grape receptions were collected. In addition, ten GPS trackers were attached to various vehicles such as harvesters, grape delivery trucks and other transport vehicles on 36 days so that their locations could be recorded at all times. Finally, the temperature of the grapes was measured upon arrival at the reception point.

Before optimization analyses could be carried out, all data had to be digitized

fahrzeugen angebracht, so dass deren Standorte jederzeit erfasst werden konnten. Schließlich wurde die Temperatur der Weintrauben bei ihrer Ankunft an der Annahmestelle gemessen.



Abb. 1: Abladeprozess eines Traubenzwagens mittels Hubfunktion mit Kippvorrichtung

Fig. 1: Unloading process of a grape truck by means of lifting function with tilting device

Bevor Optimierungsanalysen durchgeführt werden können, mussten alle Daten nach der Erfassungsphase zunächst digitalisiert und validiert werden. Auf diese Weise war es dann möglich, einige Parameter zu berechnen, darunter die Wartezeit an der Annahmestelle vor dem Entladen und die Liegezeit der Trauben nach der Ernte. Die von den Trackern aufgezeichneten Standorte ermöglichten es, zusätzlich zu den bei den Erhebungen gewonnenen Informationen über Fahrzeiten und Entfernung, die zurückgelegte Strecke zu ermitteln. Die Zeit nach den Erhebungen am Ende des Jahres wurde also vor allem für die Aufbereitung des Datenmaterials genutzt. Abbildung 2 zeigt das Ergebnis eines ersten Vergleichs von vier der fünf Partner im Hinblick auf die durchschnittliche Dauer der einzelnen Schritte der Traubenannahme. Dabei ist zu beachten, dass die

and validated after the collection phase. In this way, it was then possible to calculate some parameters, including the waiting time at the reception point before unloading and the lying time of the grapes after harvesting. The locations recorded by the trackers made it possible to determine the distance traveled, in addition to the information on travel times and distances obtained during the surveys. The time after the surveys at the end of the year was thus used primarily for digitalizing and carrying preliminary analyses on the collected data.

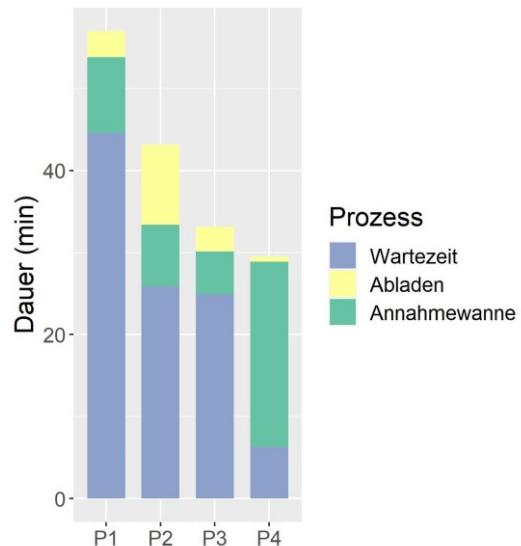


Abb. 2: Vergleich der durchschnittlichen Dauer der einzelnen Schritte der Traubenannahme bei vier der fünf Projektpartner (P1-P4)

Fig. 2: Comparison of the average duration of the individual steps of grape acceptance in four of the five project partners (P1-P4).

Figure 2 shows the result of a first comparison of four of the five partners with regard to the average duration of the individual steps of grape reception. It should be noted that the "Wartezeit" refers to the time between arrival at the reception point and the actual unloading of the grapes into the reception vat (step: "Abladen"). Finally, the "Annahmewanne" step refers to the process of

"Wartezeit" die Zeit zwischen der Ankunft an der Annahmestelle und dem tatsächlichen Abladen der Trauben in die Annahmewanne meint (Schritt: "Abladen"). Der Schritt "Annahmewanne" bezieht sich schließlich auf den Prozess des Abpumpens der Trauben aus der Wanne.

Ausblick

Die Ergebnisse dieser Auswertungen sollen den Partnern im Frühjahr 2022 präsentiert werden. Eine anstehende Aufgabe wird auch der Abgleich der erhobenen Daten mit Geodaten als Grundlage für die Wegenetzoptimierung sein. Optimierungsansätze durch lineare Programmierung auf der Basis von Literaturarbeit werden ein wesentlicher Bestandteil der Projekttätigkeit im kommenden Jahr sein. Eine weitere Masterarbeit zu diesem Thema soll ebenfalls im Rahmen des Projekts geschrieben werden. Schließlich ist für Herbst 2022 eine zweite Erhebung geplant, die durch die Beobachtungen und Erfahrungen aus der ersten Erhebungsphase entsprechend optimiert werden soll.



Kontakt

Contact



Gwendolyn Karsch

Fon: +49 (0) 6321 671-481
gwendolyn.karsch@agroscience.rlp.de

pumping the grapes out of the vat.

Outlook

The results of these evaluations are to be presented to the partners in spring 2022. An upcoming task will also be the comparison of the collected data with geodata as a basis for path network optimization. Optimization approaches by linear programming on the basis of literature work will be an essential part of the project activity in the coming year. Another Master thesis on this topic will also be written as part of the project. Finally, a second survey is planned for fall 2022, which will be optimized accordingly based on the observations and experiences from the first survey phase.

Alternativen zum chemischen Pflanzenschutz



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 Stickstoff-eintrags durch Aktionsprogramme vor. In Deutschland begrenzt die neue Düngungsverordnung die maximal zulässige Stickstoffdüngung.

Neben einer effizienten Pflanzenzüchtung sind daher alternative Methoden zur Ertragsteigerung notwendig. Pflanzenwachstumsfördernde 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 Pflanzenwachstumsfördernde Produkte auf Basis von Mikroorganismen und Bio-Produkte für landwirtschaftliche Zwecke entwickelt, herstellt und vertreibt.

Im Projekt werden erstmals mittel-europäische (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 (Abbildung 1 und Tabelle 1).

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 micro-organisms 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 (Figure 1 and Table 1). After pre-selecting in egg-glutamate media, reddish-brown colour bacteria culture were obtained (Fig. 1). The red-brown colour of the bacte-

Nach Vorselektion in Ei-Glutamat-Medien wurden rötlich-braune Bakterienkulturen erhalten (Abb. 1).



Probe Nr.	Herkunft	Ges. Daten	Bild vom 4.11.2020 Eier Medium	Probe Nr.	Herkunft	Ges. Daten	Bild vom 4.11.2020 Eier Medium	Probe Nr.	Herkunft	Ges. Daten	Bild vom 4.11.2020 Eier Medium
1	Gut Karsdorf	B:479205,87% L: 479180,77%		9	Tongellen	B: 479173,39% L: 479173,39%		17	Guthmann	B:479180,87% L: 479180,87%	
2	Hausen am Rhein	B:479223,23% L: 479284,87%		10	Horbachweiler	B: 479170,87% L: 479170,87%		18	Immerseel	B:479146,87% L: 479146,87%	
3	Naturschutzstation Hausen am Rhein	B:479124,87% L: 479124,87%		11	Engersweiler	B: 479136,37% L: 479136,37%					
4	Ahr	B: 479121,87% L: 479121,87%		12	Alt Engers	B: 479148,87% L: 479148,87%					
5	Hausen am Rhein/Hausen am Horbach	B:479115,87% L: 479115,87%		13	Gartenweiler	B: 479136,37% L: 479136,37%					
6	AH Hausen am Rhein	B: 479121,87% L: 479121,87%		14	Königsberg	B: 479136,37% L: 479136,37%					
7	Graben bei Hausen am Rhein	B:479124,87% L: 479124,87%		15	Sulmetz	Neuerplatz/Kapelle					
8	AH Amphause	B:479156,87% L: 479157,87%		16	AHR Offenbach	B:479136,3000% L: 479136,3000%					

Figure 1. Geographical map of the natural water resources in the southwest of Rhineland-Palatinate. The yellow pins show the location of the natural water resources.

Abbildung 1. Geografische Karte der natürlichen Wasserressourcen im Südwesten des Rheinland-Pfalz. Die gelben Pins zeigen die Ortslage der natürlichen Wasserressourcen an.

Table 1: PNSBs culture isolated from water reservoir found in Rhineland Palatinate.

Tabelle. 1: Nachweis von PNSBs in einer Wasserprobe aus Rheinland-Pfalz:

Die rotbraune Farbe der Bakterienzell-suspension zeigt an, dass die gemischte Bakterienkultur PSB enthält. Die als Gemisch kultivierten Bakterien wurden durch serielle Verdünnung weiter subkultiviert. Mit dieser Technik wird eine einzelne Bakterienart selektiert und kultiviert. Eine einzelne Bakterienkolonie auf einer selektiven Agarplatte wurde dann gepickt und der Genotyp mittels PCR untersucht. Zur Bestimmung der phylogenetischen Verwandtschaft wurde die 16S rRNA Gensequenz des isolierten Bakterienstammes mit 16S rRNA Gen-spezifischen Universalprimern amplifiziert und die Amplifikationsprodukte sequenziert. Die 16S-rRNA-Gensequenz jedes isolierten

rial cell suspension is indicating that the mixed bacterial culture contains PSB. The in a mix cultured bacteria were further subcultured by serial dilution. With this technique, a single bacterial species will be selected and cultivated. A single colony bacterium on a selective agar plate was picked and its genotype confirmed using PCR. To determine the phylogenetic relationship, the 16S rRNA gene sequence of the isolated bacterial strain was amplified with 16S rRNA gene-specific universal primers and the amplification products were sequenced. The 16S rRNA gene sequence of each isolated strain was then analysed using the NCBI GenBank. The result showed that 18 of 20 collected water sample contained *Rhodopseudomonas palustris* (Table 2).

PSB	Ergebnis fullsequenzierung	Query Cover	Per. Ident
2	Rhodopseudomonas palustris strain RCB100	97%	97,15%
	Rhodopseudomonas palustris strain RCB100	94%	99,93%
2-1			
3	Rhodopseudomonas palustris strain MX01 16S ribosomal RNA gene	77%	99,58%
4	Rhodopseudomonas palustris strain RCB100	95%	99,31%
5	Rhodopseudomonas palustris strain RCB100	97%	96,64%
6	Rhodopseudomonas palustris strain RCB100	95%	99,86%
7	Rhodopseudomonas sp. enrichment...	95%	98,91%
8	Rhodopseudomonas sp. enrichment...	94%	99,93%
9	Rhodopseudomonas strain GJ-22	94%	99,24%
10	Rhodopseudomonas sp. enrichment...	94%	100%
11	Rhodopseudomonas palustris strain RCB100	95%	99,86%
12	Rhodopseudomonas palustris gene for 16S rRNA	94%	99,86%
13	Rhodopseudomonas palustris gene for 16S rRNA	95%	99,86%
14	Citerobacter freundii	95%	99,47%
15	Rhodopseudomonas palustris strain MX01 16S ribosomal RNA gene	95%	99,79%
16	Stenotrophomonas maltophilia strain	95%	99,93%
17	Rhodopseudomonas palustris strain RCB100	88%	99,89%
19	Stenotrophomonas maltophilia strain	73%	97,06%

Tabelle 2. Sequencing of PNSB isolated from various natural water resources in Rhineland-Palatinate. A single bacterial colony from an RHD agar plate was picked and colony PCR performed. The PCR products were sent for sequencing. Sequencing results were aligned using the NCBI nucleotide blast (N-blast) program.

Tabelle 2. Sequenzierung von PNSB, die aus verschiedenen natürlichen Wasserressourcen in Rheinland-Pfalz isoliert wurden. Eine einzelne Bakterienkolonie von einer RHD-Agarplatte wurde gepickt und eine Kolonie-PCR durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden zur Sequenzierung geschickt. Die Sequenzierungs-ergebnisse wurden unter Verwendung des NCBI-Nukleotid-Blast-(N-Blast)-Programms abgeglichen.

It has been reported that PNSB can produce auxin indole-3-acetic acid (IAA), a growth-

Stamms wurde dann in der NCBI GenBank analysiert. Das Ergebnis zeigt, dass 18 von 20 gesammelten Wasserproben *Rhodopsuedomonas palustris* enthielten (Tabelle 2). Es wurde berichtet, dass PNSB Auxin Indol-3-essigsäure (IAA), ein Wachstum stimulierendes Pflanzenhormon, produzieren kann. Um zu prüfen, ob unsere PNSB IAA produzieren, wurde jede einzelne Kolonie von PNSB aus verschiedenen Wasserproben in einem tryptophanhaltigen Medium kultiviert (Tryptophan ist ein Vorläufer von IAA). Nach 2 Wochen Kultivierung wurde der Überstand der Bakterienkultur mit Salkowski-Reagenz getestet. Das Ergebnis in Abbildung 2 zeigt, dass unsere PNSB IAA in unterschiedlichen Konzentrationen produzieren können. Die am stärksten IAA produzierenden Kulturen PSB6 und -17 (mehr als 250 µM/50 µl oder 5 M/ml) erzeugen 3-mal mehr IAA als der Standard-DMSZ-Stamm.

Weitere Planung

Weitere zwei Tests zur N-Fixierung und P-Solubilisierung werden 2022 durchgeführt. PSB6 und -17 werden derzeit auf ihre Auswirkungen auf das Pflanzenwachstum getestet, und die Datenanalyse hierzu wird Ende 2021 durchgeführt.

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 soll erhalten bleiben und gleichzeitig eine

stimulating plant hormone. To test whether our PNSB produce IAA, each individual colony of PNSB from different water samples was cultured in a medium containing tryptophan (tryptophan is a precursor of IAA). After 2 weeks of cultivation, the supernatant of the bacterial culture was tested with Salkowski's reagent. The result in Figure 2 shows that our PNSB can produce IAA in different concentrations. The highest IAA producing cultures PSB6 and -17 (greater than 250 µM / 50 µl or 5 M / ml) produce 3 times more IAA than the standard DMSZ strain.

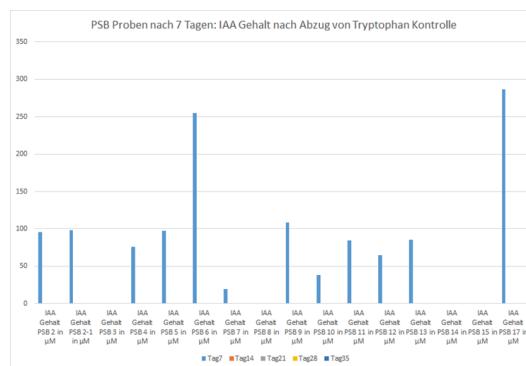


Figure 4. IAA concentration found in PSB cultures. IAA from the supernatant of PNSB cultures was identified using Salkowski's reagent. The IAA concentrations were calculated by comparing them to a standard curve of pure IAA at various concentrations. IAA was only identified in the culture media containing tryptophan, indicating that the PNSB use tryptophan as a precursor for IAA production.

Abbildung 4. IAA-Konzentration in PSB-Kulturen gefunden. IAA aus dem Überstand von PNSB-Kulturen wurde mit Salkowski-Reagenz identifiziert. Die IAA-Konzentrationen wurden berechnet, indem sie mit einer Standardkurve von reinem IAA bei verschiedenen Konzentrationen verglichen wurden. IAA wurde nur in den Tryptophan enthaltenden Kulturmedien identifiziert, was darauf hinweist, dass die PNSB Tryptophan als Vorläufer für die IAA-Produktion verwenden.

Further planning

Another two tests for N fixation and P solubilization will be carried out in 2022. The PSB6 and -17 are currently being tested

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@agroscience.rlp.de

PSB6 and -17 are currently being tested for their effects on plant growth and data analysis on this will be carried out at the end of 2021.

A new product for environmentally friendly agriculture

As a product, we want to develop an innovative microbiological fertilizer and bio-stimulator 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 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.

Reben-Biotechnologie

Grapevine Biotechnology

Entwicklung und Optimierung von Quarz-Nano-Schichten zum Schutz von Reben und Obstgehölzen gegen pilzliche Schaderreger und UV-Schäden

Development and optimization of quartz nano-layers for the protection of vines and fruit trees against fungal pathogens and UV damage.

Der Wein- und Obstbau ist mit verschiedenen biotischen und abiotischen Stressfaktoren konfrontiert, die zu einem hohen Pestizideinsatz und potenziellen Ernteverlusten führen. Im Rahmen eines von der EU finanzierten Projekts (Eurostars) soll ein umwelt- und verbraucherfreundliches Produkt für die Anwendung im Feld und im Regal entwickelt werden. Dafür sollten sprühbare Formulierungen auf Wasserbasis entwickelt werden, in die wirksame Verbindungen eingebettet werden können und nach Applikation zu Siliziumdioxid-Nanoschichten als Matrix auf Pflanzenoberflächen führen, die gegen Pilzinfektionen und Sonnenbrand wirksam sind.

Der Weinbau weist von allen landwirtschaftlichen Produktionsformen den höchsten Fungizideinsatz auf. Nur etwa 5 % der landwirtschaftlichen Fläche in der EU sind mit Reben bepflanzt, die mit fast 60 % aller eingesetzten Fungizide besprüht werden (Quelle: EUROSTAT 2007). Dies ist auf die Bedrohung durch Pilzerreger wie Falscher und Echter Mehltau (Krankheiten: Peronospora bzw. Oidium), die aus Nordamerika eingeschleppt wurden, und *Botrytis cinerea* (Grauschimmelfäule) zurückzuführen. Im ökologischen Weinbau, in dem organisch-chemische Fungizide nicht zugelassen sind, wird die Peronospora hauptsächlich mit Kupfersalzen behandelt. Kupfersalze reichern sich im Boden von Weinbergen an und haben negative Auswirkungen auf nützliche Bodenorganismen.

Grape and fruit growing is challenged with various biotic and abiotic stress factors that lead to high pesticide use and potential crop losses. An EU-funded project (Eurostars) aims to develop an environmentally and consumer-friendly product for use in the field and on the shelf. For this purpose, sprayable water-based formulations should be developed in which effective compounds can be embedded and, after application, lead to silica nano-layers as a matrix on plant surfaces that are effective against fungal infections and sunburn.

Viticulture has the highest fungicide use of all forms of agricultural production. Only about 5% of the agricultural area in the EU is planted with vines, which are sprayed with almost 60% of all fungicides used (source: EUROSTAT 2007). This is due to the threat of fungal pathogens such as Downy mildew and Powdery mildew, introduced from North America, and Botrytis cinerea (gray mold rot). In organic viticulture, where organic chemical fungicides are not allowed, Downy mildew is mainly treated with copper salts. Copper salts accumulate in the soil of vineyards and have negative effects on beneficial soil organisms.

The aim of the project is to develop and prove the concept of a new silicon dioxide nanolayer spray to improve the yield, quality and shelf life of grapes, apples and pears.

The main outcomes of the project are considered to be, first, the development of a versatile silica (SiO_2) polymer matrix for various applications in viticulture and orcharding to increase the production, quality and extend

Das Ziel des Projekts ist die Entwicklung und der Nachweis des Konzepts eines neuen Siliziumdioxid-Nanoschichtsprays zur Verbesserung von Ertrag, Qualität und Haltbarkeit von Trauben, Äpfeln und Birnen.

Als die wichtigsten Ergebnisse des Projekts gelten erstens die Entwicklung einer vielseitigen Siliziumdioxid (SiO_2)-Polymer-Matrix für verschiedene Anwendungen im Wein- und Obstbau zur Steigerung der Produktion, Qualität und Verlängerung der Haltbarkeit von Tafeltrauben, Äpfeln und Birnen. Zweitens eine optimierte Pflanzenschutzstrategie, um organisch-chemische und kupferhaltige Fungizide zu reduzieren, basierend auf den bereits erzielten Erfahrungen mit SiO_2 -Oberflächen-beschichtungen für verschiedene technische Zwecke und drittens der Nachweis der Funktionsfähigkeit des Konzepts für dieses neue Produkt in Freilandversuchen.

Vom Industriekooperationspartner Fa. nanopool GmbH wurde basierend auf der zu Beginn des Projekts erstellten Formulierung nach Sprühfähigkeits- und Lösungsversuchen von Prototypen für den UV-Schutz die aktuell verwendete Formulierung entwickelt. In Versuchen der Fa. Agrofield (La Rioja, Spanien) wurde die Formulierung versetzt mit einem Fluoreszenzfarbstoff mit Hilfe der elektrostatischen Applikation und mit einem herkömmlichen Drucksprühgerät auf Frucht-oberflächen aufgebracht. Die eigenen fluoreszenzmikroskopische Analysen erbrachten, daß sowohl die Drucksprüh-applikation als auch die elektrostatische Applikation eine genügende Abdeckung erreichte. Die Erzeugung einer vollständigen Nanoschicht auf Rebenblättern nach Besprühen mit einem Drucksprühgerät konnte dann mittel cryo-Rasterelektronen-mikroskopie verifiziert werden (durchgeführt im nanoimaging lab der Uni Basel) (Abb. 2). Es konnten mit der dieser Formulierung keine phytotoxischen Effekte festgestellt werden.

Damit war die Basis gelegt, um in der Saison 2020 mit Freilandversuchen im Weinberg zu beginnen (Abb. 1). Diese umfassten sowohl

the shelf life of table grapes, apples and pears. Second, an optimized crop protection strategy to reduce organic chemical and copper fungicides, based on the experience already obtained with SiO_2 surface coatings for various technical purposes, and third, to demonstrate the functionality of the concept for this new product in field trials.

Based on the formulation created at the beginning of the project, the currently used formulation was developed by the industrial cooperation partner nanopool GmbH after sprayability and solution tests of prototypes for UV protection. In trials conducted by Agrofield (La Rioja, Spain), the formulation was mixed with a fluorescent dye and applied to fruit surfaces using electrostatic application and a conventional pressure sprayer. Our own fluorescence microscopic analyses showed that both the pressure spray application and the electrostatic application achieved sufficient coverage. The generation of a uniform nanolayer on grapevine leaves after pressure spray application could then be verified by cryo-scanning electron microscopy (performed at the nanoimaging lab of the University of Basel) (Fig. 2). No phytotoxic effects could be detected with this formulation.



Abb.1: Parzellen-Sprühgerät für die Applikation der Formulierung im Rahmen der Mittelpflichtigungen.

Fig. 1: Plot sprayer for the application of the formulation during the compound tests.

This laid the base to start field trials in the vineyard in the 2020 season. These included experiments on plant protection against fungi (Fig. 1) as well as UV protection of ripening grapes, e.g. after foliage work.

Experimente zum Pflanzenschutz gegen Pilze, als auch den UV-Schutz der reifenden Trauben z.B. nach Laubarbeiten.

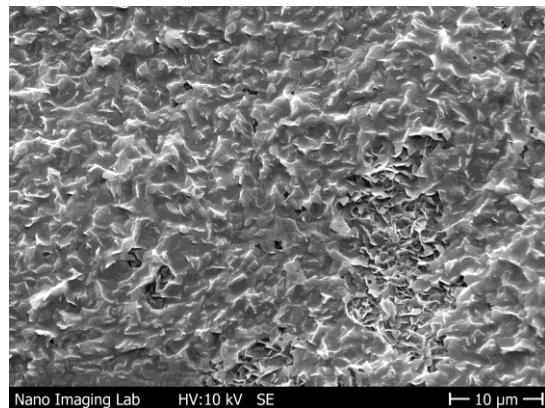


Abb. 2: Cryo-REM-Aufnahme der Oberfläche einer reifen Weinbeere (Wachsschicht) mit teilweiser Bedeckung durch die Formulierung erzeugter Siliziumdioxidschicht.

Fig. 2: Cryo-SEM image of the surface of a ripe grape berry (wax layer) with partial coverage by the formulation generated silica nanolayer.

■ ■ ■

Field experiments

For the 2020 field experiments, two potential plant-strengthening agents were selected for embedding in the matrix for testing. In laboratory experiments, spray behavior and phytotoxicity were previously tested with different preparations and concentrations of the selected agents. Aqueous ethanolic fractions of licorice root extract (saponins as active ingredients) and of Leonardite (humic and fulvic acids) were tested in preliminary trials for their efficacy against downy mildew (*Plasmopara viticola*) infections on leaves of greenhouse grapevines and on unripened berries from the field. In each case, an effective concentration was selected for the experiments in the vineyard.

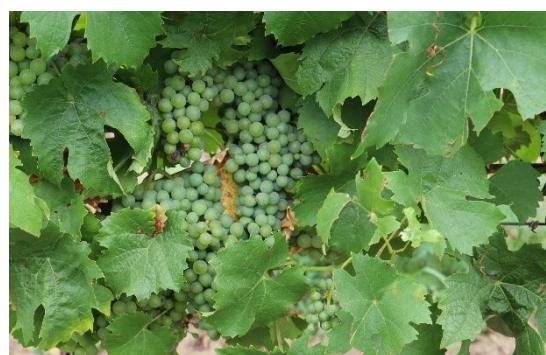


Abb. 3: Oben: Unbehandelte Kontrolle mit Befall von Echtem Mehltau (Oidium; *Erysiphe necator*). 4 August 2020.

Unten: Behandelter Rebstock mit wässrig ethanolischem Leonardit-Extrakt in die SiO₂-Matrix eingebettet.

Fig. 3: Top: Untreated control with Powdery mildew (*Erysiphe necator*) infestation August 4, 2020.

Bottom: Treated vine with aqueous ethanolic leonardite extract embedded in SiO₂ matrix.

Schadpilz für die Auswertung der Wirksamkeit herangezogen werden konnte Abb.3). Im Endergebnis fanden sich sowohl die Befallsstärke als auch die Befallshäufigkeit für beide Schadorganismen deutlich reduziert verglichen mit der unbehandelten Kontrolle. Das Ergebnis des Freilandexperiments zeigt das Potential dieser neuen Strategie der alternativen Bekämpfung von Mehltau-Pilzen auf, wo durch eine mechanische Barriere in Kombination mit Naturstoffen auf protektive Weise die Infektion deutlich reduziert wurde.

Due to the dry and warm weather, the infection pressure of downy mildew in the 2020 vintage was relatively low despite artificial humidification in the vineyard for the medium test. On the other hand, the infection pressure of powdery mildew was comparatively high, so that this important harmful fungus could also be used for the evaluation of efficacy. In the final result, both the infestation intensity and the infestation frequency for both pests were significantly reduced compared to the untreated control.

The result of the field experiment shows the potential of this new strategy of alternative control of mildew fungi, where a mechanical barrier combined with natural products in a protective way significantly reduced infection.



Kontakt

Contact



Dr. Günther Buchholz
Tel.: +49 (0)6321 / 671 – 1351
guenther.buchholz@agroscience.rlp.de

Bioökonomie



Epigenetics

Epigenetics

Innovative RNA Interferenz (RNAi)- vermittelte Bekämpfung von *Hymenoscyphus fraxineus*, dem Erreger des Eschentriebsterbens

Innovative RNA interference (RNAi)-mediated control of Hymenoscyphus fraxineus, the causal agent of ash dieback.

Die Gemeine Esche (*Fraxinus excelsior*) ist in ganz Deutschland und in weiten Teilen Europas durch den aus Ostasien stammende Schlauchpilz Eschen-Stängelbecherchen (*Hymenoscyphus fraxineus*) bedroht. Der Pilz verursacht das Eschentriebsterben durch eine parasitäre Lebensweise im Gewebe der Esche.

In dem FraxForFuture-Verbundprojekt des FNR untersuchen wir, im Rahmen des Frax-Path-Unterverbunds, ob RNA-Interferenz als Bekämpfungsmethode gegen den Pilz eingesetzt werden kann. Es werden verschiedene Doppelstrang-RNAs (dsRNAs) hergestellt, die durch Stamminjektion in die Esche appliziert werden und sich über die Leitbahnen in der ganzen Pflanze bis in die Blätter verteilen.

Das Eschen-Stängelbecherchen sollte bei Befall von derart behandelten Eschen die dsRNA aufnehmen wodurch der RNA-Interferenz (RNAi) Mechanismus im Pilz aktiviert wird. Dabei wird die dsRNA durch DICER-like (DCL) Enzyme in kleine interferierende RNA (siRNA) prozessiert, die dann zusammen mit ARGONAUTE Proteinen (AGOes) den RNA-induzierten Silencing Komplex (RISC) bilden. RISC steuert dann den gezielten Abbau komplementärer RNAs. Die applizierte dsRNA wird so entworfen, dass lebensnotwendige Gene im Pilz stillgelegt werden, und infolgedessen eine Infektion gestoppt werden könnte.

The common ash tree (*Fraxinus excelsior*) is threatened throughout Germany and in large parts of Europe by the tubular fungus *Hymenoscyphus fraxineus*, which originates from East Asia. The fungus causes ash die-back through a parasitic lifestyle in the tissue of the ash tree.

In the FraxForFuture collaborative project of the FNR, we are investigating, as part of the FraxPath sub-collaboration, whether RNA interference can be used as a control method against the fungus. Different double-stranded RNAs (dsRNAs) are produced, which are applied to the ash tree by stem injection and spread throughout the plant via the vasculature up to the leaves.

When ash trees treated in this way are infected, *Hymenoscyphus fraxineus* should take up the dsRNA, which activates the RNA interference (RNAi) mechanism in the fungus. In this process, the dsRNA is processed by DICER-like (DCL) enzymes into small interfering RNA (siRNA), which then form the RNA-induced silencing complex (RISC) together with ARGONAUTE proteins (AGOes). RISC then leads to the targeted degradation of complementary RNAs. The applied dsRNA is designed to silence essential genes in the fungus, and as a result, infection could be stopped.

Results

At the beginning of the study, it was verified that the essential enzymes of the RNAi



Abb. 1: Schematische Darstellung der Stammapplikation von Doppelstrang-RNA. In ein Bohrloch wird die dsRNA-Lösung in die Wasserleitbahnen (Xylem) eingebracht. Die Moleküle werden dann systemisch im Pflanzengewebe transportiert und gelangen so auch zu den Pilzen in den Blättern. Die Aufnahme der dsRNA von dem Pilz führt zum Abbau lebensnotwendiger Gene. So könnte eine Infektion gestoppt bzw. gemindert werden.

Schema: L. Hohenwarter; **Foto oben:** FVA; **Foto unten:** Robert Vidéki, Doronicum Kft., Bugwood.org (Nr. 5395833).

Fig. 1: Schematic representation of the stem application of double-stranded RNA. The dsRNA solution is introduced into the vasculature (xylem) in a borehole. The molecules are then transported systemically in the plant tissue and thus reach the fungi in the leaves. Uptake of the dsRNA by the fungus leads to the degradation of vital genes. Thus, infection could be stopped or mitigated.

Schema: L. Hohenwarter; photo top: FVA; bottom photo: Robert Vidéki, Doronicum Kft, Bugwood.org (no. 5395833).

Ergebnisse

Zu Beginn der Untersuchung wurde überprüft, ob die essentiellen Enzyme des RNAi-Mechanismus in *Hymenoscyphus fraxineus* vorhanden sind. Dies wurde mittels Reverse-Transkriptase Polymerase Ketten-reaktion (RT-PCR) durchgeführt. Es wurden sowohl die wichtigsten Enzyme AGO und DCL, als auch mitwirkende Enzyme, RNA-abhängige RNA Polymerasen, und die Zielgene RNA Polymerase II Untereinheit B und Lanosterol-Demethylase nachgewiesen (Daten nicht gezeigt). Zudem wurden Transkriptomdaten von einer schwedischen Arbeitsgruppe veröffentlicht, die unsere Ergebnisse bestätigen [1].

Im nächsten Schritt wurde die Stamm-

mechanism were present in *H. fraxineus*. This was done by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). Major enzymes (AGO and DCL), as well as contributing enzymes (RNA dependent RNA polymerase) and the target genes (RNA polymerase II subunit B and lanosterol-demethylase) were detected (data not shown). In addition, transcriptome data have been published by a Swedish research group confirming our results [1].

In the next step, stem injection was tested in ash seedlings using a dsRNA without a target gene. For this purpose, a 4 mm hole was drilled into the stem and the dsRNA-containing solution (1 ml, 3.7 mg) was injected into the stem using a needleless syringe. The dsRNA was detected in the leaves by Northern blot analysis. There is an accumulation of dsRNA as early as 24 h, with an increase in subsequent samples at 48 h and 72 h (Fig. 2).

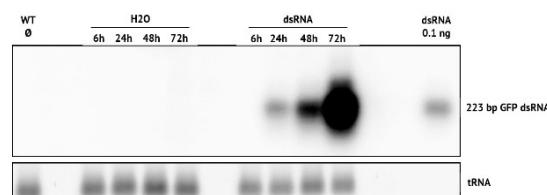


Abb. 2: Überprüfung der Stamminjektionsmethode in Eschensämlingen. Es wurde eine GFP-dsRNA ohne Zielgen appliziert und mit Northernblot Analyse in den Blättern nachgewiesen.

WT-Ø: Negativkontrolle (Wildtyp Esche ohne Behandlung); **H2O:** Injektion mit Wasser und Probenahme nach 6, 24, 48, und 72 Stunden; **dsRNA:** Injektion mit 3,7 mg dsRNA und Probenahme nach 6, 24, 48, und 72 Stunden; **dsRNA 0.1 ng:** Positivkontrolle (GFP-dsRNA ohne Behandlung).

Fig. 2: Evaluation of the stem injection method in ash seedlings. GFP-dsRNA without target gene was applied and detected in leaves by Northern blot analysis.

WT-Ø: negative control (wild-type ash without treatment); **H2O:** injection with water and sampling at 6, 24, 48, and 72 hours; **dsRNA:** injection with 3.7 mg dsRNA and sampling at 6, 24, 48, and 72 hours; **dsRNA 0.1 ng:** positive control (GFP-dsRNA without treatment).

To determine the characteristics of endogenous siRNA from *H. fraxineus*, the small RNAs with a length of 18 to 30 nucleotides (nt) were sequenced. In *H. fraxineus*, the 21 and 22 nt long RNAs are enriched (Fig. 3A).

injektion in Eschensämlingen mit einer dsRNA ohne Zielgen überprüft. Dafür wurde ein 4 mm Loch in den Stamm gebohrt und die dsRNA-haltige Lösung (1 ml, 3,7 mg) mit einer nadellosen Spritze in den Stamm injiziert. Die dsRNA wurde mittels Northern-Blot Analyse in den Blättern nachgewiesen. Es findet eine Ansammlung der dsRNA schon nach 24h statt, mit einem Anstieg in den folgenden Proben nach 48h und 72h (Abb. 2).

Um die Charakteristiken der endogenen siRNA aus *H. fraxineus* zu bestimmen, wurden die kleinen RNAs mit einer Länge von 18 bis 30 Nukleotiden (nt) sequenziert. In der Probe sind die 21 und 22-nt langen RNAs angereichert (Abb. 3A). Diese müssen aus einem aktiven Prozess entstanden sein, da man bei nicht-selektiven Degradations-produkten eine Gleichverteilung über die verschiedenen Sequenzlängen erwarten würde. Dies lässt vermuten, dass diese spezifischen RNAs durch die Prozessierung der DICER-like Enzyme aus dem RNAi Mechanismus entstanden sind, da auch in anderen Organismen die 21 und 22-nt RNA als RNAi-Signalmoleküle fungieren.

Weiterhin wurde aus diesem Datensatz festgestellt, dass das erste Nukleotid der 21 und 22-nt RNA mit jeweils knapp 70% überproportional ein Uracil ist (Abb. 3B). Aufgrund dieser Informationen über die endogenen siRNAs in *H. fraxineus* können spezifische siRNAs hergestellt werden, die für den gezielten Abbau der Zielgen-mRNA geeignet wären.

Ausblick

Die Applikation der dsRNA hat viel Potential langfristig und nachhaltig zum Erhalt der Esche beizutragen, da es ein therapeutischer, kurzfristig wirksamer Ansatz ist und es zurzeit keine geeignete Methode zur direkten Bekämpfung des Erregers des Eschentriebsterbens gibt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen können auch auf andere Wirt-Pathogen-Systeme übertragen werden. Dafür wäre nur die Anpassung der dsRNA-Sequenz an die neuen Zielgene der Pathogene notwendig.

Die Stamminjektion lässt sich zudem auf

These must have arisen from an active process, as nonselective degradation products would be expected to be equally distributed across the different sequence lengths. This suggests that these specific RNAs arose from the processing of DICER-like enzymes from the RNAi mechanism, since 21 and 22 nt RNA also function as RNAi signalling molecules in other organisms.

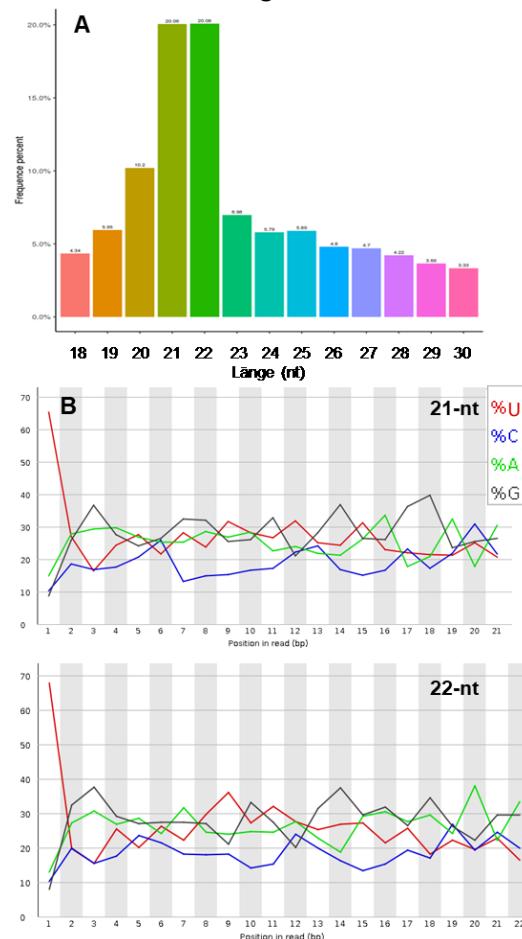


Abb. 3: Die Sequenzierung der kleinen RNAs aus zwei *H. fraxineus* Isolaten gibt Aufschluss über die Charakteristiken der endogenen siRNA. A) Längen-verteilung der gesamten Reads. B) Pro Base Nukleotid-verteilung der 21 und 22-nt langen Reads.

Fig. 3: Sequencing of small RNAs from two *H. fraxineus* isolates provides information on the characteristics of siRNA. A) Length distribution of all reads. B) Nucleotide distribution of the 21 and 22-nt long reads.

Furthermore, from this data set, it was found that the first nucleotide of 21 and 22-nt RNA is disproportionately a uracil at just under 70% each (Fig. 3B). Based on this information about the endogenous siRNAs in *H. fraxineus*, specific siRNAs can be produced

einen großen Maßstab skalieren, z. B. für den Einsatz in Baumschulen mit mehreren Hundert Sämlingen. Dafür ist die ökonomisch effiziente Herstellung von dsRNA notwendig. Zudem bietet sich eine Nutzung von automatisierten Applikations-Robotern an.

Offen ist derzeit noch, ob die dsRNA effektiv von *H. fraxineus* aufgenommen werden kann und ob dies zum Stilllegen der Zielgene führt. Diese Fragestellung soll zuerst mit *in-vitro* Pilzkulturen und danach in infizierten Eschensämlingen getestet werden.

Kontakt

Contact



Linus Hohenwarter

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1335

linus.hohenwarter@agroscience.rlp.de

Literatur

- [1] Elfstrand, M., Chen, J., Cleary, M. et al. *BMC Genomics* **22**, 503 (2021).

that would be suitable for targeted degradation of the target gene mRNA.

Outlook

The application of dsRNA has a great potential to contribute to the conservation of ash trees in the long term, as it is a therapeutic approach that is effective in the short term and there is currently no suitable method for directly combating the causal agent of ash dieback.

The results of the investigations can also be transferred to other host-pathogen systems. This would only require the adaptation of the dsRNA sequence to the new target genes of the pathogens.

The steminjection can also be scaled up to a large scale, e.g. for use in tree nurseries with several hundred seedlings. This requires the economically efficient production of dsRNA. In addition, the use of automated application robots is a possibility.

Currently, it is still unclear whether the dsRNA can be effectively taken up by *H. fraxineus* and whether this leads to the silencing of the target genes. This question will first be tested with *in-vitro* fungal cultures and then in infected ash seedlings.

Genomics

Genomics

Genomweite Expressionsanalysen zur Identifizierung von molekularen Markern
Genome-wide expression analyses for the identification of molecular markers

Vicin/Convicin-arme Ackerbohnen

In dem BLE-Verbundprojekt „Abo-Vici“ (FKZ2815EPS066) versuchen wir, molekulare Marker zu identifizieren, die eine maximale Koppelung mit der Eigenschaft niedriger Vicin- und Convicin-Gehalt besitzen („VC“) und die ein effizientes Auslesewerkzeug für die Ackerbohnenzüchtung darstellen können. Feldstudien anderer Arbeitsgruppen in Abo-Vici mit unterschiedlichen Ackerbohnensorten lassen den Schluss zu, dass ein niedriger VC-Gehalt keinen negativen Einfluss auf die Erträge der Ackerbohnen hat (Abb.1).



Abb. 1: *V.faba* im Feldversuch

Fig. 1: *V.faba* in field trial (c.o. Prof. W. Link)
Die Ackerbohne, bekannt auch als Faba-Bohne (*Vicia faba* L.) ist eine großkörnige, einjährige Körnerleguminose. Sie wird wegen ihres hohen Proteingehalts von etwa 30% als regionale pflanzliche Proteinquelle und als alternative Kulturpflanze zur Verbesserung der Bodenfruchtbarkeit und zur Unterbrechung der Fruchfolge von Schädlingen und Krankheiten geschätzt. Faba-Bohnen werden in Deutschland mit steigender Tendenz derzeit auf etwa 50.000 ha als Nahrungs- und Futtermittel angebaut. Neben standortabhängigen Problemen wie der Anfälligkeit gegenüber Wassermangel ist ein wichtiger limitierender Faktor der Gehalt an den Sameninhaltsstoffen Vicin und Convicin, zweier „antinutritiver“ Pyrimidin-Glykoside, die in den Ackerbohnensamen mit ca. 0,3 bis

Vicine/convicine depleted faba beans

In the BLE collaborative project "Abo-Vici" (FKZ2815EPS066), we are trying to identify molecular markers that have a maximum coupling with the trait low vicine and convicine content ("VC") and that can be an efficient selection tool for faba bean breeding. Field studies conducted by other research groups in Abo-Vici with different faba bean varieties suggest that low-VC content has no negative effect on faba bean yield (Fig.1).

Faba bean, also known as field bean (*Vicia faba* L.) is a large-seeded annual grain legume. It is valued for its high protein content of about 30% as a regional vegetable protein source and as an alternative crop to improve soil fertility and break crop rotation from pests and diseases. Faba beans are currently grown as food and feed on about 50,000 ha in Germany with an increasing tendency. In addition to site-dependent problems such as susceptibility to water deficiency, an important limiting factor is the content of the seed constituents vicine and convicine, two "antinutritive" pyrimidine glycosides present in faba bean seeds at about 0.3 to 1.5% by weight in dry matter. This variation has a strong genetic component. Wild-type faba beans contain VC in all parts of the plant; for the maturing seed, the seed coat is the critical site of biosynthesis. Both substances have a potential to be hazardous to human and animal health when ingested through food.

Over 400 million people can potentially develop hemolytic anemia, known as favism, after ingesting VC via consumption of faba beans. VC negatively affect the performance of laying hens and broilers, for example. As a result, faba beans are currently significantly limited in their use as a major component in animal forage.

1,5% Gewichtsanteil in der Trockenmasse vorkommen. Diese Schwankungsbreite hat eine starke genetische Komponente. Wildtyp-Ackerbohnen enthalten VC in allen Teilen der Pflanze; für den reifenden Samen ist die Samenschale der entscheidende Ort der Biosynthese. Beide Stoffe besitzen bei Aufnahme durch die Nahrung ein gesundheitsgefährdendes Potential auf Mensch und Tier.

Über 400 Millionen Menschen können potentiell nach der Aufnahme von VC über den Verzehr von Ackerbohnen an einer hämolytischen Anämie erkranken, was als Favismus bekannt ist. VC wirken sich z.B. auf die Leistung von Legehennen und Masthühnern negativ aus. Dadurch ist die Ackerbohne in Ihrer Anwendung als eine Hauptkomponente beim Tierfutter derzeit deutlich begrenzt.

VC-haltige Winter-Ackerbohnen besitzen im Vergleich zu den in der Landwirtschaft derzeit dominierenden Sommer-Ackerbohnen bessere ackerbauliche Eigenschaften, u.a. eine erhöhte Frosthärtung und eine geringere Anfälligkeit gegenüber Pflanzenkrankheiten. Kombinierte man züchterisch durch Kreuzung die Eigenschaften der Winterackerbohne mit ausgewählten Merkmalen V/C-armer Sommer-Ackerbohnen, so könnten die daraus resultierenden neuen Sorten den Anbau von Ackerbohnen äußerst positiv beeinflussen. Bisher ist aber nur in den anfälligeren Sommer-Ackerbohnen eine einzige, oben schon erwähnte Mutation nutzbar, die zu einem bis zu 20fach reduzierten VC-Gehalt im reifen Samen führt. Diese Mutation verhält sich monogen und ist auf dem terminalen Abschnitt von Chromosom 1 von *V. faba* lokalisiert. Die Züchtung VC-armer, attraktiver Sorten könnte durch eine Marker-gestützte Selektion für diese Mutation erheblich beschleunigt werden. Bisher bekannte, molekulare Marker liefern aber nur eine unzureichende Koppelung mit dem Merkmal VC -Armut.

Aus *V. faba*-Züchtungsmaterial wurden insgesamt fünf Genotypen-Paare ausgewählt, welche sich für den VC-Gehalt maximal unterscheiden und es wurden mit deren RNA aus Samenschalen (Abb.2) Transkriptom-analysen durchgeführt. Ein Vergleich über alle Daten filterte in der Schnittmenge auf die wahrscheinlichsten SNP- und Expressions-Kandidaten.

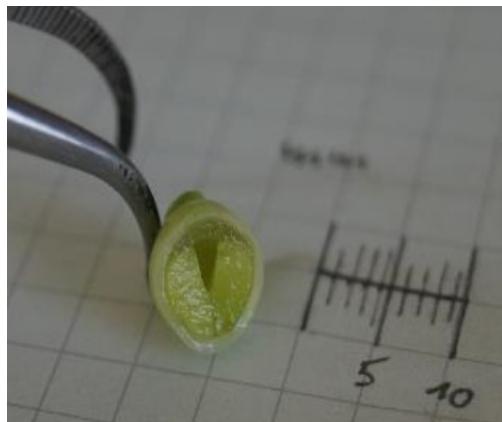


Abb. 2: *V.faba* unreifer Samen

Fig. 2: *V.faba* immature seed (c.o. R. Tacke)

VC-containing winter faba beans have better agronomic properties than the summer field beans that currently dominate agriculture, including increased frost hardiness and lower susceptibility to plant diseases. If the traits of the winter faba bean were combined with selected traits of low-VC summer faba beans through breeding, the resulting new varieties could have an extremely positive influence on the cultivation of faba beans. So far, however, only in the more susceptible summer faba beans is it possible to exploit a single mutation already mentioned above, which leads to an up to 20-fold reduction in VC content in the mature seed. This mutation behaves as a single gene and was located on the terminal segment of chromosome 1 of *V. faba*. Breeding low-VC, attractive cultivars could be accelerated significantly by marker-assisted selection for this particular mutation. However, molecular markers known so far provide only an insufficient linkage with the VC-poverty trait.

A total of five genotype pairs were selected from *V. faba* breeding material that differed maximally for VC content and transcriptome analyses were performed using their seed coat RNA (Fig.2). A comparison across all data filtered to the most likely SNP and expression candidates in the intersection. Ultimately, 91 SNP candidates were identified that exhibited similar patterns in all of these high/low VC pairings.

The most informative SNP markers were successfully used for QTL fine mapping of the VC gene locus in three genetic backgrounds. The region on chromosome 1 containing the VC

Letztlich wurden 91 SNP-Kandidaten identifiziert, die in allen diesen Hoch-/Niedrig-VC-Paarungen gleiche Muster aufweisen.

Die informativsten SNP-Marker wurden erfolgreich für eine QTL-Feinkartierung des VC-Genlocus in drei genetischen Hintergründen eingesetzt. Der Bereich auf Chromosom 1, in dem das VC-Gen liegt, wurde so von ursprünglich 3,6 cM auf einen Intervall von ca. 0,3 cM eingeengt.

Die besten SNP-Marker wurden von Prof. Dr. Link und Mitarbeitern in ein Züchtungsprogramm VC-armer Winter-Ackerbohnen integriert. Es erfolgte damit eine Selektion, die über Rückkreuzungen zu einer neuen, experimentellen niedrig-VC Winter-Ackerbohnen-Populationssorte führte. Diese Population dient als Genpool, um mithilfe dieser neuen Marker weitere VC-armen Linien zu entwickeln.

Analog zur SNP-Kandidatensuche sollten unter diejenigen Genen, die über das gesamte Spektrum der unterschiedlichen Genotypen konstant eine differentielle Expression zwischen Niedrig- und Hoch-VC -Pflanzen aufweisen, hypothetisch diejenigen sein, die für die VC-Biosynthese benötigt werden.

Primär wurden 41 Kandidatengene identifiziert, die in den Niedrig-VC Genotypen mindestens zweifach schwächer exprimiert wurden als in den Wildtyp-VC -Genotypen. 18 Kandidaten wiesen in den Niedrig-VC-Genotypen eine mindestens zweifach stärkere Expression auf. Unter diesen wurden viele aussortiert wegen fehlender Annotation oder weil sie eindeutig keinen Bezug zur Thematik aufwiesen. Außerdem lagen für einige der Gene die „read-Zahlen“ weit unter der Nachweisgrenze für einen qPCR-Nachweis. Durch qPCR-Experimente an weiteren, nicht für die Transkriptomanalysen verwendeten *V. faba*-Genotypen konnte letztlich die Anzahl der Kandidatengene auf 4 Gene eingeengt werden. Zwei davon (zwei Glykosyltransferasen) weisen in den niedrig-VC-Genotypen eine durchweg höhere Expression auf als in den Hoch-VC-Genotypen. Die beiden restlichen Gene sind dagegen im Wildtyp durchgängig stärker exprimiert, von denen ein einziger, Contig14304 (Gen RibA), auch in der SNP-Kandidatenliste auftauchte und somit zum Hauptverdächtigen wurde (Abb.3). Eine For-

gene was thus narrowed from an original 3.6 cM to an interval of approximately 0.3 cM.

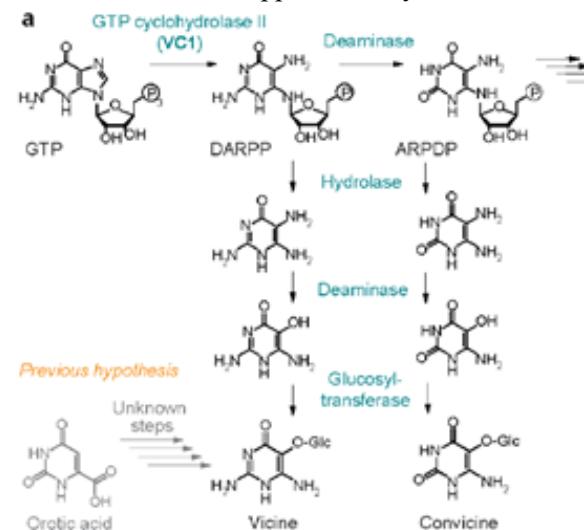


Abb.4: Hypothetischer V/C-Biosyntheseweg

Fig. 4: V/C-biosynthesis pathway (by Björnsdotter et al. 2020)

The best SNP markers were integrated by Prof. Dr. Link and colleagues into a breeding program of VC-poor winter faba beans. Selection was thus performed, resulting in a new experimental low-VC winter faba bean population variety via backcrossing. This population serves as a gene pool to develop further low VC lines using these new markers.

Analogous to the SNP candidate search approach, the essential genes required for VC biosynthesis should be found among those genes that consistently show differential expression between low- and high-VC plants across the spectrum of different genotypes.

Primarily, 41 candidate genes were identified that were expressed at least twofold less abundantly in the low-VC genotypes than in the wild-type VC genotypes. 18 candidates showed at least twofold stronger expression in the low-VC genotypes. Among these, many were rejected because of lack of annotation or because they were clearly unrelated to the topic. In addition, for some of the genes, the corresponding "read counts" were well below the detection limit for qPCR detection. qPCR experiments on additional *V.faba* genotypes not used for the transcriptome analyses ultimately narrowed the number of candidate genes down to 4. Two of these (two glycosyltransferases) consistently show higher expression in the low-VC geno-

schergruppe des NORFAB-Konsortiums veröffentlichte zeitnah Ergebnisse, welches unser Kandidatengen RibA/Contig14304 als Ursache der VC-Armut in Ackerbohne bestätigten. Die von uns bis dato nur hypothetisch formulierte biochemische Aktivität des nun als VC1 bezeichneten Gens wurde über einen funktionalen Assay nachgewiesen. Die Ursache der VC-Armut liegt an einer Frameshift-Insertion in der GTP-Cyclohydrolase II-Domäne des bi-funktionellen Enzyms RIBA1, die exklusiv in der Genvariante der Niedrig-VC -Sorte Mélodie nachgewiesen wurde.

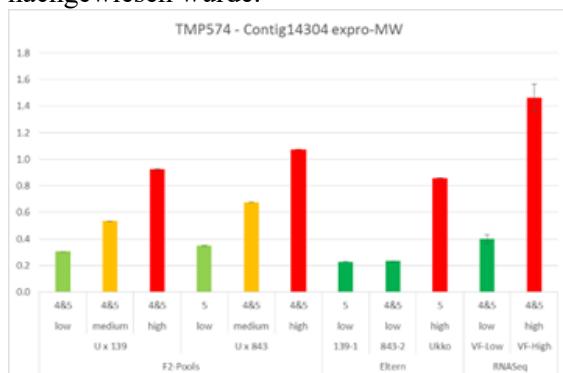


Abb.3: RibA1/VC1 Genexpression, qPCR

Fig. 3: RibA1/VC1 gene expression, qPCR.

Diese NORFAB-Daten werden durch Metabolitenstudien untermauert, die beweisen, dass Vicin und Convicin über den Purinstoffwechsel mit GTP als Ausgangssubstrat und nicht -wie ursprünglich vermutet- über den Pyrimidin/Orotsäure-stoffwechsel synthetisiert werden (Abb.4). Für einen kompletten Biosyntheseweg zu den Endprodukten Vicin und Convicin werden aber noch weitere Gene benötigt, u.a. eine Glykosyltransferase-Aktivität. Hier könnten unsere beiden Kandidaten eine Rolle spielen, jedoch bedarf es zur Aufklärung weitergehende Untersuchungen.

Referenz:

Björnsdotter, E. et al. (2020): VC1 catalyzes a key step in the biosynthesis of vicine from GTP in faba bean. In: bioRxiv, 2020.02.26.966523. DOI: 10.1101/2020.02.26.966523

types than in the high-VC genotypes. In contrast, the remaining two genes are consistently more abundantly expressed in the wild type, of which one, Contig14304 (gene RibA), also appeared in the SNP candidate list and thus became a main focus (Fig.3). A group of researchers from the NORFAB consortium promptly published results confirming our candidate gene RibA/Contig14304 as the cause of VC poverty in faba beans. The biochemical activity of the gene now referred to as VC1, which we had previously only formulated hypothetically, was detected via a functional assay. The cause of VC poverty is due to a frameshift insertion in the GTP cyclohydrolase II domain of the bi-functional enzyme RIBA1, which was exclusively detected in the gene variant of the low-VC variety Mélodie.

These NORFAB data are supported by metabolite studies, which prove that vicine and convicine are synthesized via the purine metabolism with GTP as the initial substrate and not - as originally suspected - via pyrimidine/orotic acid metabolism (Fig.4). However, for a complete biosynthetic pathway to the final products vicine and convicine, additional genes are required, including glycosyltransferase activity. Here, our two candidates may play a role, but further studies are needed to elucidate this.



Kontakt

Contact



Dr. Michael Höfer

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

michael.hoefner@agroscience.rlp.de

Molekulare Pflanzenzüchtung

Molecular Plant Breeding

Genom Editierung zur Unterstützung der Ackerbohnen-Züchtung

Genome editing to support faba bean breeding

Leguminosen werden aufgrund ihrer besonderen Eigenschaft der Bodenverbesserung eine immer wichtigere Rolle in der Landwirtschaft der Zukunft einnehmen. In den letzten 10 Jahren hat sich die Anbaufläche für Körnerleguminosen (Süßlupine, Futter-Erbse, Soja und Ackerbohne) in Deutschland mehr als verdoppelt. So wurden im laufenden Jahr 223.000 ha angebaut (www.bmel.de). Damit hat die 2012 ge-startete Eiweißpflanzenstrategie des BMEL bereits Wirkung gezeigt. Jedoch ist noch Luft nach oben: Der Anteil der Körnerleguminosen beträgt an der Ackerfläche in Deutschland nur ca. 2 %.



Argumente für die Ackerbohne

Die Ackerbohne (*Vicia faba* L.) zählt zu den heimischen Körnerleguminosen und ist unter vielen Namen bekannt wie z. B. Saubohne, Pferdebohne, Dicke Bohne und einige mehr. Sie zeichnet sich durch einen eiweiß- und energiereichen Samen aus, unter den Körnerleguminosen hat nur die Sojabohne einen höheren Eiweißgehalt im Samen. Der größte Teil der Ackerbohnenernte geht in den Trog als Futtermittel, jedoch wird dieses eigentlich uralte Grundnahrungsmittel wieder als Nahrungsmittel auch in unseren Breiten entdeckt (www.rheinische-ackerbohne.de/). Als Futtermittel kann die Ackerbohne sowohl in der Geflügelmast als auch in der und Schweine- und Rinderfütterung genutzt werden, wobei je nach Produktionsbereich 5-20% durch Ackerbohne ersetzt werden können. Ackerbohne enthält jedoch deutlich weniger Cystein und Methionin als Sojaschrot, daher ist darauf zu achten die Defizite bei diesen schwefelhaltigen Aminosäuren auszu-gleichen.

Due to their special property of improving the soil, legumes will play an increasingly important role in the agriculture of the future. In the last 10 years, the cultivation area for grain legumes (sweet lupine, fodder pea, soybean and field bean) in Germany has more than doubled. In the current year 223,000 ha were cultivated (www.bmel.de). This means that the BMEL's protein crop strategy launched in 2012 has already had an impact. However, there is still room for improvement: The share of grain legumes in Germany's arable land is only about 2 %.

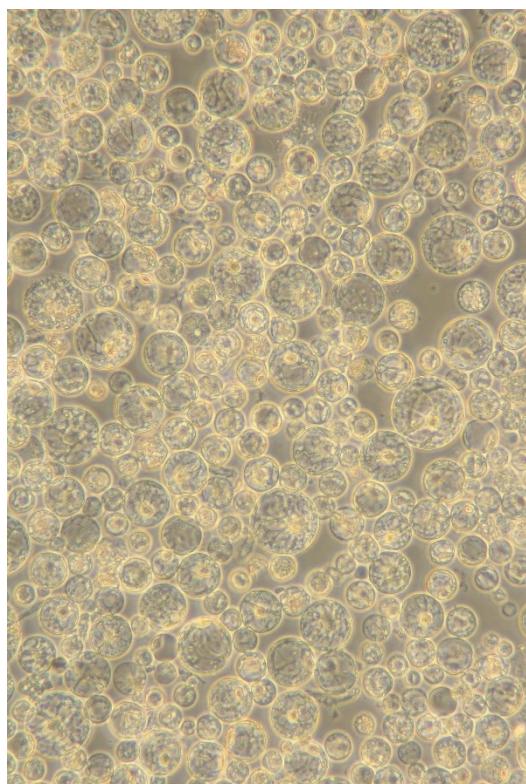


Abb. 1: Aus Epikotyl-Gewebe isolierte Protoplasten der Ackerbohne.

Fig. 1: Field bean protoplasts isolated from epicotyl tissue



Anbau in Deutschland

Aufgrund ihres hohen Ertragspotentials, ihrer Wirkung als ‚break crop‘ in getreidereichen Fruchtfolgen, ihrer günstige Wirkung auf die Bodenfruchtbarkeit und ihrer Symbiose-leistung kann die Ackerbohne durchaus als nachhaltige Kulturpflanze der Zukunft ☺ bezeichnet werden.

Die Anbaufläche von Ackerbohnen zur Ernte 2020 in Deutschland dürfte nach Angaben des Statistischen Bundesamtes rund 59.500 ha betragen. Das entspricht einer Steigerung von 20,9 % gegenüber dem Vorjahr und einem Rekord. Damit hat sich die Acker-bohnen-Fläche in den vergangenen zehn Jahren mehr als verdreifacht (www.proplanta.de). Mit 12.700 ha und einem Zuwachs von 23% die größte Anbau-fläche befindet sich, wie schon im Vorjahr, in Nordrhein Westfalen. Die Anbaufläche in Rheinland-Pfalz konnte von 2019 auf 2020 um 17% auf 700 ha erhöht werden. Damit liegt aber Rheinland-Pfalz im Vergleich aller Bundesländer vor Brandenburg nur auf dem vorletzten Platz.

Viele Gründe sprechen für die Ackerbohne. Aber wie könnte die Attraktivität des Ackerbohnen – Anbaus verbessert werden? Es wird nicht nur ein Weg dorthin führen können. Wichtig sind sicherlich eine weitere Optimierung der Anbautechniken und gesicherte Wertschöpfungsmöglichkeiten, sei es über innerbetriebliche Verwertung oder über eine Vermarktung der Ackerbohnen-ernte. Genauso entscheidend für die Zukunft der Ackerbohne werden aber auch Fort-schritte in der Züchtung klimaangepasster Sorten sein.

Die RLP AgroScience beschäftigt sich in diesem Spannungsfeld mit der Etablierung moderner Züchtungswerkzeuge, die helfen sollen, Züchtungsziele bei der Ackerbohne schneller zu erreichen.

Arguments for faba bean

The field bean (*Vicia faba* L.) is one of the native grain legumes and is known by many names, such as broad bean, horse bean and others. It is characterised by a seed rich in protein and energy. Among the grain legumes, only the soybean has a higher protein content in the seed. Most of the field bean harvest goes into the trough as fodder, but this actually ancient staple food is being rediscovered as a foodstuff in our latitudes as well (www.rheinische-ackerbohne.de/). Field bean can be used as feed in poultry fattening as well as in pig and cattle feeding, whereby 5-20% can be replaced by field bean depending on the production area. However, field bean contains significantly less cysteine and methionine than soybean meal, so care must be taken to compensate for deficiencies in these sulphur-containing amino acids.

Cultivation in Germany

Due to its high yield potential, its effect as a ‚break crop‘ in cereal-rich crop rotations, its favourable effect on soil fertility and its symbiosis performance, the field bean can certainly be described as a sustainable crop of the future ☺.

According to the Federal Statistical Office, the area under field bean for the 2020 harvest in Germany is expected to be around 59,500 ha. This corresponds to an increase of 20.9 % compared to the previous year and a record. This means that the area under field beans has more than tripled in the past ten years (www.proplanta.de). As in the previous year, the largest area under cultivation is in North Rhine-Westphalia with 12,700 ha and an increase of 23%. The cultivation area in Rhineland-Palatinate could be increased by 17% from 2019 to 2020 to 700 ha. However, Rhineland-Palatinate is only in second-to-last place in a comparison of all the federal states, ahead of Brandenburg.

CRISPR/Cas für die Ackerbohne

Die Arbeitsgruppe Molekulare Pflanzen-

Many reasons argue in favour of the field bean. But how could the attractiveness of

züchtung hat gerade ein Projekt abgeschlossen, das im Rahmen des BMEL - Programms „Nutzpflanzen der Zukunft“ über zwei Jahre gefördert wurde. Ziel war es dabei, die Ackerbohne mittels Genom Editierung aber ohne den Einsatz von DNA gezielt durch sequenzspezifische Mutation zu verbessern. Es sollen also keine Gene, sondern nur die Komponenten des CRISPR/Cas Systems als Ribonukleokomplex in die Pflanzenzelle eingebracht werden. Das funktioniert sehr gut in Protoplasten, jedoch ist es nicht möglich, aus den Protoplasten Pflanzen zu regenerieren. Bei der Ackerbohne gelang dies bisher nur einer Forschergruppe Ende der 1980er Jahre – allerdings mit einer Sorte, die es schon seit Jahren nicht mehr gibt. Daher musste auf andere Methoden fokussiert werden. Bei einer Methode wurde der Ribonukleokomplex auf Gold-Nanopartikel aufgetragen und mit der „Paricle Gun“ durch die Zellwand hindurch in die Pflanzenzellen des Zielgewebes geschossen. Auch das Einbringen des Ribonukleokomplexes mit der neuen Technik des Hochdrucksprühens hat funktioniert. In dem behandelten Gewebe konnten durch CRISPR/Cas induzierte Mutationen nachgewiesen werden.



Abb 2: Regeneration von Ackerbohnenn-Pflänzchen aus Explantaten des unreifen Embryos

Fig. 2: Regeneration of field bean plantlets from explants of the immature embryo

Als nächsten Schritt wollen wir mit Hilfe von CRISPR/Cas für Ackerbohne eine Methode zur Herstellung von reinerbigen, 100% homozygoten-Pflanzen etablieren, die

field bean cultivation be improved? There is not only one way to achieve this. It is certainly important to further optimise cultivation techniques and to secure value-added opportunities, be it through on-farm utilisation or through marketing of the field bean harvest. However, progress in breeding climate-adapted varieties will be just as decisive for the future of the field bean.

In this area of conflict, RLP AgroScience is working on the establishment of modern breeding tools that will help to achieve breeding goals for field beans more quickly.

CRISPR/Cas for faba bean

The Molecular Plant Breeding working group has just completed a project that was funded for two years as part of the BMEL's "Crops of the Future" programme. The aim was to improve the common bean by means of genome editing without the use of DNA through sequence-specific mutation. In other words, no genes but only the components of the CRISPR/Cas system are to be introduced into the plant cell as a ribonucleocomplex. This works very well in protoplasts, but it is not possible to regenerate plants from protoplasts. In the case of field bean, only one group of researchers succeeded in doing this at the end of the 1980s - but with a variety that has not existed for years. Therefore, the focus had to be on other methods. In one method, the ribonucleocomplex was applied to gold nanoparticles and shot through the cell wall into the plant cells of the target tissue with the "paricle gun". Introducing the ribonucleocomplex with the new technique of high-pressure spraying also worked. Mutations induced by CRISPR/Cas could be detected in the treated tissue.

As a next step, we want to use CRISPR/Cas for common bean to establish a method for producing pure, 100% homozygous plants, the so-called double haploid (DH) technique. This saves the breeder the time-consuming backcrossing that would otherwise take several years.

However, genome editing is considered genetic engineering under European law, which means that commercial use of the

sogenannte Doppelhaploiden (DH)-Technik. Damit erspart sich der Züchter die aufwändigen Rückkreuzungen, die sonst mehrere Jahre in Anspruch nehmen würden. Genom Editierung gilt jedoch nach europäischem Recht als Gentechnik, wodurch eine wirtschaftliche Nutzung der so erhaltenen Sorten innerhalb der EU kaum möglich ist. Genom Editierung darf aber für Forschungszwecke verwendet werden. So lassen sich Mutationen identifizieren, die für positive Eigenschaften der Pflanze verantwortlich sind. Im nächsten Schritt benutzt man dann die chemische Mutagenese, die nicht als Gentechnik zählen, um genau diese Mutationen „nachzubauen“

CRISPR/Cas ist nur eine technische Möglichkeit im bunten Strauß der Züchtungsmethoden, aber auch eine vielversprechende neue Technik, die man nicht einfach links liegen lassen kann. Man muss im Einzelfall immer genau hinschauen, was sinnvoll ist. Aber wenn man damit Ziele besser und schneller erreichen kann, sollte man es auch machen dürfen. Natürliche Mutationen oder Mutationen durch chemische Mutagenese sind von CRISPR/Cas induzierten Mutationen nicht zu unterscheiden.

Es wäre wünschenswert, dass endlich die Technik der Genom Editierung in Europa lockerer gesehen und anderen Züchtungsverfahren gleichgestellt wird.

varieties obtained in this way is hardly possible within the EU. Genome editing may, however, be used for research purposes. In this way, mutations can be identified that are responsible for positive characteristics of the plant. In the next step, chemical mutagenesis, which does not count as genetic engineering, is used to "re-engineer" precisely these mutations. CRISPR/Cas is just one technical possibility in the colourful bouquet of breeding methods, but it is also a promising new technique that cannot simply be ignored. You always have to take a close look at what makes sense in each individual case. But if you can achieve your goals better and faster, you should be allowed to do it. Natural mutations or mutations caused by chemical mutagenesis are indistinguishable from CRISPR/Cas-induced mutations.



It would be desirable that the technique of genome editing is finally viewed more loosely in Europe and put on an equal footing with other breeding methods.

Kontakt

Contact



Dr. Michael M. Wallbraun

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1350

michael.wallbraun@agroscience.rlp.de

Klima- uns Stressresilienz



Klima- und Stressresilienz

Climate- and Stressresilience

Automatischer, elektrischer Stammapplikator zur Reduktion der Pflanzenschutzmittel- und CO₂-Emissionen im Obstbau

Automatic, electrical stem injection to reduce pesticide and CO₂ emissions in orcharding"

Die Abteilung Klima- und Stressresilienz der RLP AgroScience engagierte sich von 2018 bis 2021 als einer von drei Projekt-partnern in dem KMU-innovativ Verbundprojekt „Automatischer, elektrischer Stammapplikator zur Reduktion der Pflanzenschutzmittel- und CO₂-Emissionen im Obstbau (AutoInjekt)“.



Hintergrund des Verbundprojektes

Obstbau spielt in Deutschland mit ca. 73.000 ha eine wichtige Rolle in der landwirtschaftlichen Produktion von Lebensmitteln, aber auch beim Einsatz von Pflanzenschutzmitteln (PSM). Um Krankheiten und Qualitätsverluste zu begrenzen, werden jährlich große Mengen verschiedenster PSM, i.d.R. Herbizide, Insektizide und Fungizide ausgebracht. Stand der Technik weltweit ist dabei die Ausbringung mittels Sprühgeräten.

Die bei der Sprühapplikation erzeugten feinen PSM-Aerosole setzen sich nur zum Teil wie gewünscht auf den Blattoberflächen der Zielpflanzen ab, ein anderer Teil geht über sogenannte Abdrift verloren und kann die umgebende Umwelt belasten. Eine Möglichkeit diese Abdrift zu vermeiden, ist die Technik der Stammapplikation. Bei diesem Verfahren wird das in Wasser gelöste PSM in kleinem Volumen mit Druck über spezielle Zuleitungen in den Stamm verholzter Pflanzen eingebracht, wo es durch den Saftstrom verteilt wird.

Wegen des aufwändigen Verfahrens und der damit verbundenen Handarbeit ist die Technik relativ langsam, automatisierte Systeme existieren noch nicht. Ziel des Verbundpro-

The Climate- and Stressresilience Department of RLP AgroScience was involved from 2018 to 2021 as one of three project partners in the KMU-innovative joint project "Automatic, electrical stem injection to reduce pesticide and CO₂ emissions in orcharding (AutoInjekt)".



Background of the joint project

In Germany, with around 73,000 hectares, orcharding plays an important role in the agricultural production of food, but also in the use of plant protection products (PPPs). Every year, in order to limit diseases and loss of quality, large amounts of various PPPs, usually herbicides, insecticides and fungicides, are applied. The state of the art worldwide is application by means of spray devices.

The fine PPP aerosols from the spray application are only partially deposit on the leaf surfaces of the target plants. Another part is lost through so-called drift and can contaminate the surrounding environment. One possibility to avoid this drift is the technique of the stem injection. In this process, the PPP is inject as a small volume with pressure via special drain tubes into the stem of woody plants, where it will be distributed by the flow of sap.

Because of the complex process and the manual labor involved, the technology is relatively slow; automated systems do not yet exist. The aim of the joint project "AutoInjekt" was to develop an autonomously working, electrically operated trunk applicator to reduce PPP and CO₂ emissions in

projektes „AutoInjekt“ war die Entwicklung eines autonom arbeitenden, elektrisch betriebenen Stamm-Applikators zur Reduktion der PSM- und CO₂-Emissionen im Obstbau.



Arbeitsschwerpunkte der RLP AgroScience im Verbundprojekt

Arbeitsschwerpunkte der RLP AgroScience waren in den ersten Jahren – zunächst im Labormaßstab, später auch im Freiland – unter anderem die Erprobung der entwickelten Injektionsvorrichtungen, die Ermittlung der optimalen Injektionszeitpunkte sowohl im Jahres- als auch Tagesverlauf (Abb.1), Untersuchungen zur Wundheilung nach Injektion, die Identifikation geeigneter Pflanzenschutzmittel PSM sowie die Überprüfung ihrer Wirksamkeit auf Zielorganismen nach Injektion. Als begleitende Analytik erfolgten Untersuchungen zu PSM-Rückständen in Blättern und Ernteprodukten.



Abb. 1: Farbtest bezüglich Aufnahmeverhalten und Verteilung im Stamm
Fig. 1: Color test concerning absorption behavior and distribution in the stem

PSM-Wirksamkeit nach Stamminjektion

In 2019 erfolgten Datenerhebungen bezüglich der Wirksamkeit verschiedener, per Hand in den Stamm injizierter PSM (Abb.2).

Die Ergebnisse der visuellen Befallsbonituren lassen sich wie folgt zusammenfassen: Bis Anfang Juni 2019 waren die mit Insektizid behandelten Bäume deutlich schwächer

orcharding.



Work priorities of RLP AgroScience in the joint project

RLP AgroScience's work in the first years - initially on a laboratory scale, later also in the field - included testing the injection devices developed, determining the optimal injection times during the year and during the day (Fig.1), investigations for wound healing after injection, the identification of suitable PPPs and the checking of their effectiveness on target organisms after injection. As an accompanying analysis to the field studies, determinations were conducted concerning PPP-residues in leaves and harvested products.

PPP-efficacy after stem-injection

In 2019, data were collected on the effectiveness of various PPPs injected into the stem by hand (Fig.2).



Abb. 2: Stamm-Injektion 2019 von Hand
Fig. 2: Stem-injection 2019 by hand

The results of the visual infestation ratings can be summarized as follows: Until the beginning of June 2019, the trees treated with insecticide were significantly less infected with aphids than the untreated trees. From June 2019, the aphid infestation increased significantly in all test variants. In the trees treated with insecticide, an average of 2.7 shoots/ half of tree were infested with aphids; in the “control” variant, an average

mit Blattläusen befallen als die unbehandelten Bäume. Ab Juni 2019 stieg in allen Testvarianten der Blattlausbefall deutlich an. Bei den mit Insektizid behandelten Bäumen waren im Durchschnitt 2,7 Triebe/Baumhälfte mit Blattläusen befallen, in der Variante „Kontrolle“ waren im Durchschnitt 4,7 Triebe/Baumhälfte befallen.

Im Frühjahr 2021 fand in einer Versuchsanlage für Freilandstudien des DLR Rheinpfalz ein erfolgreicher Testlauf mit dem Prototyp des Stamm-Applikators statt.

Die Erkennung der Baumstämme sowie die Positionierung des Roboters erfolgten hierbei automatisch mittels Sensoren. Nachfolgend umschloss die Injektionseinheit den Stamm ca. 30 cm über dem Boden.

Anschließend erfolgte vollautomatisch von zwei Seiten ein Anbohren des Stammes und das Setzen der Injektionsnadeln in die Bohrlöcher.

Danach wurde aus einem Vorratsbehälter automatisch eine vorher festgelegte Menge PSM in das Xylem der Pflanze injiziert.

Nach erfolgter Injektion fuhr die Injektionseinheit in ihre Ausgangsposition zurück und positionierte sich automatisch am nächsten Stamm. Dort wiederholte sich der Injektions-Ablauf.

Die eingesetzte Aufwandmenge des im Testlauf 2021 injizierten, eigentlich für die Sprühapplikation vorgesehenen, vollsystemischen Insektizids orientierte sich an den Vorgaben des PSM Herstellers.

PSM-Rückstände in Blättern und Ernteprodukten

Für die spätere Rückstandsanalytik wurden im Rahmen des für den Testlauf in 2021 erstellten Versuchsplanes zu festen Terminen aus den Kontroll- und Injektionsvarianten Blatt- und Apfelproben entnommen.

of 4.7 shoots/ half of tree were infected.



In spring 2021, a successful test run with the prototype of the stem-injector took place in a test facility for field-studies of the DLR Rheinpfalz.

The detection of the tree stems and the positioning of the robot took place automatically by means of sensors. The injection unit then enclosed the trunk approx. 30 cm above the ground.

The stem was then drilled fully automatically from two sides and the injection needles were placed in the drill holes.

A predetermined amount of PPP was then automatically injected into the xylem of the plant from a storage container.

After the injection, the injection unit moved back to its starting position and automatically positioned itself on the next stem. The injection process was repeated there.

The application rate of the systemic insecticide injected in the 2021 test run, actually intended for spray application, was based on the specifications of the PPP manufacturer.

PPP residues in leaves and harvested products

For the subsequent residue analysis, leaf and apple samples were taken from the control and injection variants as part of the study plan, made for the test run in 2021.

The residue analysis can be summarize as follows: Immediately before the injection the active ingredient or one of its metabolites could not be detected in any variant; on day 28 after the injection, detections were made both in the leaves and in the apples, on the day 91 after the injection, again no residues could be detected (Fig.3).

Die Rückstandanalytik lässt sich wie folgt zusammenfassen: Unmittelbar vor der Injektion konnte in keiner Variante der aktive Wirkstoff bzw. einer seiner Metabolite nachgewiesen werden, am Tag 28 nach der Injektion erfolgte ein Nachweis sowohl in den Blättern als auch in den Äpfeln, am Tag 91 nach der Injektion konnten wiederum keine Rückstände nachgewiesen werden (Abb.3).



Fazit und Ausblick

Die Stamminjektion hat viel Potenzial langfristig und nachhaltig zum Erhalt des konventionellen Apfelanbaus in Deutschland beizutragen. Die Ergebnisse der Untersuchungen können auch auf andere Obstbaukulturen und deren Schadorganismen übertragen werden.

Das Projekt fand mit seiner Demonstration der erfolgreichen und funktionierenden Stamminjektion einen sehr guten Abschluss (Abb.4).

Nachfolgend müssen in Kooperation mit Zulassungsinhabern geeignete PSM für dieses Verfahren entwickelt bzw. identifiziert und notwendige Zulassungsstudien durchgeführt werden.



Abb. 4: Apfelpflanzung der Feilandstudien
Fig. 4: Apple plantation of the field studies



Abb. 3: Tiefgefrorene Äpfel, 28 Tage und 91 Tage nach Injektion geerntet
Fig. 3: Frozen apples harvested 28 days and 91 days after injection



Conclusion and outlook

The stem injection has a lot of potential to preserve long-term and sustainable conventional apple cultivation in Germany. The results of the investigations can also be transferred to other fruit-growing crops and their harmful organisms.

The project came to a very good end with its demonstration of the successful and functioning stem injection (Fig.4).

In the following, in cooperation with the marketing authorization holders suitable PPPs for this process must be developed or identified and the necessary trials for registration have to be carried out.



Kontakt

Contact

Sandra Siemoneit-Gast
Fon: +49 (0)6321 / 671 – 257
Sandra.Siemoneit@agroscience.rlp.de

Umweltverhalten von Pflanzenschutzmitteln



Umweltverhalten von Pflanzenschutzmitteln (PSM) ***Environmental Fate of Plant Protection Products (PPP)***

Labor-Windkanal zur Untersuchung von partikelgebundenem Transport von PSM, Echtzeitmessung von Schwefelwasserstoff

Laboratory scale wind tunnel for the investigation of particle-bound transport of PPPs, real-time measurement of hydrogen sulphide

Die RLP AgroScience untersucht den Verbleib und Transport von PSM unter Freiland-, Gewächshaus- und Laborbedingungen. Darunter befinden sich auch zahlreiche kleinskalige Labortestsysteme, um Haupteinflussfaktoren auf umweltrelevante Prozesse unter reproduzierbaren Versuchsbedingungen identifizieren zu können.

In Ergänzung zur bestehenden Ausstattung wurde ein neues Testsystem zur Untersuchung von windinduziertem Partikeltransport entwickelt, sowie ein bestehendes Labor-Verflüchtigungssystem um eine sensorbasierte Echtzeitmessung erweitert, die im Folgenden kurz beschrieben werden.

Verlagerung von PSM durch windinduzierten Partikeltransport

Der unerwünschte PSM-Transport von Ziel- auf Nichtzielflächen oder -Kulturen kann beispielsweise durch Abdrift während Sprüh-Applikation und/oder durch verflüchtigungsbedingte Deposition erfolgen. Daneben kann der Transport auch über Bodenpartikel stattfinden, an die der Wirkstoff nach Ausbringung gebunden ist und die durch Winderosion verfrachtet werden. Neben Witterungsbedingungen, Pflanzenbestand und Relief sind Bodenfeuchte und Bodenart wichtige Einflussfaktoren, die unter Freilandbedingungen einer hohen zeitlichen und räumlichen Variabilität unterliegen.

Grundvoraussetzung zur Identifizierung von Einflussfaktoren ist ein Versuchssystem, bei dem ein quantifizierbarer und reproduzierbarer Partikeltransport durch ein Windereignis induziert werden kann.

RLP AgroScience investigates the fate and transport of PPPs under field, greenhouse and laboratory conditions. This includes numerous small-scale laboratory test systems to identify the main factors influencing environmentally relevant processes under reproducible test conditions. In addition to the existing equipment, a new test system was developed for investigating wind-induced particle transport, and an existing laboratory volatilisation system was expanded to include a sensor-based real-time measurement, which are described briefly below.

Displacement of PPPs through wind-induced particle transport

Undesired PPP transport from target to non-target areas or crops can occur, for example, through drift during spray application and/or through gaseous volatilisation and subsequent deposition. In addition, transport can also take place via soil particles to which the active ingredient is bound after application and are transported by wind erosion. In addition to weather conditions, vegetation and relief, soil moisture and soil type are important influencing factors that are subjected to high temporal and spatial variability under field conditions.

The basic prerequisite for identifying influencing factors is an experimental system in which quantifiable and reproducible particle transport can be induced by a wind event.

Soil trays of approx. 50 cm × 25 cm are placed in the developed innovative laboratory wind tunnel (Figure 1). The soil moisture can be adjusted in advance by defined moistening, and desired soil type



Abb. 1: Labor-Windkanal mit Ventilatoren, Bodenschale und PU-Filterstreifen
Fig. 1: Laboratory wind tunnel with fans, soil tray and PU filter strips

In den entwickelten Labor-Windkanal werden Bodenschalen von ca. 50 cm × 25 cm eingebracht (Abbildung 1). Die Bodenfeuchte lässt sich im Vorfeld durch definierte Befeuchtung einstellen, die Bodenart ist beliebig wählbar. In ersten Versuchen wurde ein luftgetrockneter, auf 2 mm gesiebter LUFA Standardboden verwendet, der wegen seinem hohen Anteil an Feinpartikeln besonders anfällig für Winderosion ist. Die Bodenoberfläche wird einem 10-minütigen Starkwindereignis ausgesetzt. Am Auslass des Testsystems werden durch den Luftstrom transportierte Bodenpartikel von einem Polyurethan-Filtersystem (PU) zurückgehalten (Abbildung 2). Nach Beendigung wird das Gewicht der gefilterten Bodenpartikel gravimetrisch bestimmt und es besteht die Möglichkeit, zuvor applizierte PSM durch Extraktion und Analytik quantitativ und qualitativ zu bestimmen.

Durch das kompakten Testsystem und die relativ einfache Handhabung lassen sich Versuche in mehreren Wiederholungen durchführen, dadurch ist eine statistische Absicherung der Ergebnisse möglich.

Exemplarisch sind hier erste Ergebnisse zur Quantifizierbarkeit und Reproduzierbarkeit des wind-induzierten Partikel-Transports dargestellt. In 15 Wiederholungen wurde die Masse an Bodenpartikeln bestimmt, die durch das Windereignis verfrachtet wurden. In Abbildung 3 sind Einzelwerte und Mittelwert graphisch dargestellt und belegen eine akzeptable Variabilität beziehungsweise Reproduzierbarkeit.

can be selected. In initial trials, an air-dried LUFA standard soil sieved to through 2 mm was used, which is particularly susceptible to wind erosion due to its high content of fine particles. The soil surface applied with PPP is exposed to strong wind event for 10 minutes. At the outlet of the test system, soil particles transported by the air flow are retained on a polyurethane (PU) filter system (Figure 2). After 10 minutes, the mass of the filtered soil particles is determined gravimetrically and it is possible to quantitatively and qualitatively determine applied PPPs by extraction and analysis.

Due to the compact test system and the relatively simple handling, tests can be carried out in several replicates, making it possible to statistically validate the results.



Abb. 2: PU-Schaumfilter mit vom Luftstrom verlagerten Bodenpartikeln im Testsystem
Fig. 2: PU filters with soil particles displaced by the air flow in the test system

The first results on the quantifiability and reproducibility of wind-induced particle transport are presented here. The mass of soil particles transported by the wind event was determined in 15 replicates. Figure 3 shows the individual data and the mean value graphically and demonstrates acceptable variability and reproducibility. Based on the initial results, further trials with PPP additives are planned, which may enable a reduction in particle-bound PPP transport.

Operator exposure during the application of sulphur as a PPP

Sulphur-containing fungicides in various formulations are important in both conventional and organic farming. Toxic gases such as hydrogen sulphide (H_2S) can

Auf Grundlage der ersten Ergebnisse sind weitere Versuche mit PSM-Additiven geplant, die eine Reduzierung des partikelgebundenen PSM-Transportes ermöglichen können.

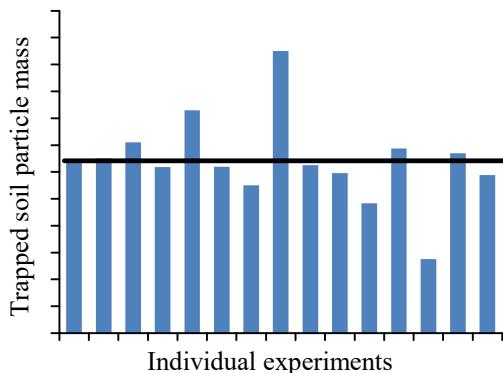


Abb. 3: Windinduzierter Partikeltransport; Masse in 15 Wiederholungen verfrachteten Bodenpartikel (schwarze Linie: Mittelwert)
Fig. 3: Wind induced particle transport; mass of transported soil particles in 15 individual experiments (black line: mean)

Anwender-Exposition bei der Anwendung von Schwefel als PSM

Schwefelhaltige Fungizide in unterschiedlicher Formulierung haben Bedeutung sowohl im konventionellen als auch im ökologischen Landbau. Beim Ansetzen und Ausbringen von schwefelhaltigen PSM können toxische Gase wie Schwefelwasserstoff (H_2S) entstehen. Im Kontext Anwender-, Anwohner- und Umweltschutzschutz ist eine mobile, sensible Echtzeit-Messeinrichtung notwendig, um Grunddaten zur Exposition und Risikoabschätzung zu generieren.

Nach diesen Vorgaben wurde bei der RLP AgroScience ein Messsystem entwickelt, um die H_2S -Konzentration in der Luft mittels elektrochemischer Sensoren über die Zeit zu erfassen und aufzuzeichnen (Abbildung 4). Die Mess-Elemente befinden sich in einer geschlossenen Glas-Kammer (Abbildung 5). Mit Hilfe einer Pumpe und eines Massenflussreglers lässt sich Luft mit einem konstanten Volumenstrom über die Sensoren leiten und so sowohl die Konzentration als auch die Gesamtmasse an H_2S ermitteln.

be formed and released during the preparation and application of PPPs containing sulphur. In the context of operator, resident and environmental protection, a mobile, sensitive real-time measuring device is necessary to generate basic data for exposure and risk assessment.



Abb. 4: H_2S -Messsystem mit Messkammer, Durchflussmesser und Datenlogger
Fig. 4: H_2S measuring system with sensor chamber, flow meter and data logger

According to these requirements, a measuring system was developed at RLP AgroScience to measure and record the H_2S concentration in the air over time using electrochemical sensors (Figure 4). The measuring elements are located in a closed glass chamber (Figure 5). By means of a pump and a mass flow controller, air can be passed over the sensors at a constant volume flow and thus both the concentration and the total mass of H_2S can be determined.



Abb. 5: Elektrochemische H_2S -Sensoren in geschlossener Glaskammer
Fig. 5: Electrochemical H_2S sensors in closed glass chamber

The air inlet can be fixed in the neck region of an operator via a flexible tube to measure

Der Lufteinlass kann über einen flexiblen Schlauch in der Halsregion des Anwenders fixiert werden, um dort die Exposition durch Inhalation während der Arbeiten mit einem schwefelhaltigen PSM zu messen. Aufgezeichnet werden in diesem Fall absolute Luftkonzentrationen. Durch den gleichzeitigen Einsatz von mehreren Sensoren unterschiedlicher Sensitivität kann ein Konzentrationsbereich von 0.05 ppm bis 100 ppm abgedeckt werden.

Für einen anderen Einsatz lässt sich das entwickelte Messsystem mit einer Verflüchtigungskammer kombinieren, in die applizierter Boden oder Pflanzenmatrix (beispielsweise mit Schwefel behandelte Weinblätter) eingesetzt wird und deren gesamtes Luftvolumen kontinuierlich beprobt wird. Über die gemessene Konzentration, die Durchflussrate und die Zeit lässt sich die absolute Menge an H₂S berechnen, die nach der Applikation gebildet wurde und in die Gasphase übergegangen ist. Exemplarisch ist hier der Konzentrationsverlauf über die Zeit nach der Applikation von Boden mit einem schwefelhaltigen PSM gezeigt (Abbildung 6).



Kontakt

Contact

Dr. Gunnar Fent
Fon: +49 (0) 6321 671-244
gunnar.fent@agroscience.rlp.de

H₂S exposure by inhalation during handling with a PPP. In this case, absolute air concentrations are recorded. By using several sensors of different sensitivity in parallel, a concentration range of 0.05 ppm to 100 ppm can be covered.

For another application, the developed measuring system can be combined with a volatilisation chamber into which applied soil or plant matrix (for example grape leaves treated with sulphur) is inserted and whose entire air volume is continuously sampled. Using the measured concentration, flow rate and time, it is possible to calculate the absolute amount of H₂S that has been formed after application and has passed into the gas phase. As an example, the concentration curve over time after the application of soil with a sulphur-containing PPP is shown here (Figure 6).

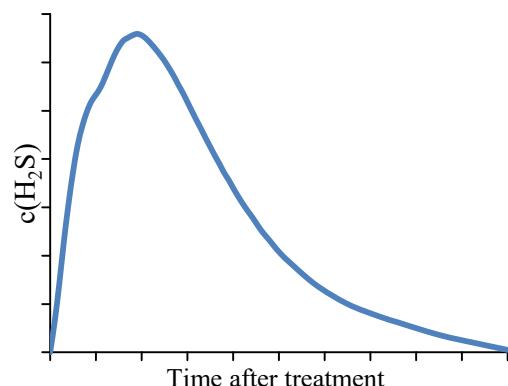


Abb. 6: H₂S-Konzentration in der Luft nach Applikation eines schwefelhaltigen PSM im Labortestsystem

Fig. 6: H₂S concentration in air after application of a sulphur PPP in the laboratory test system

Öffentlichkeitsarbeit



Outreach

Öffentlichkeitsarbeit

Publikationen

Publications

- Barthel, D., Fischnaller, S., Letschka, T., Janik, J., Mittelberger, C., Öttl, S., Panassiti, B., Angeli, G., Baldessari, M., Bianchedi, P.L., Campisano, A., Covelli, L.T., Dallago, G., Ioriatti, C., Mazzoni, V., Moser, M., Pedrazzoli, F., Rota-Stabelli, O., Weil, T., Oppedisano, T., Anfora, G., **Jarausch, W.**, Österreicher, J., Unterthurner, M., Schweigkofler, W., Tedeschi, R., Schuler, H. 2020. Scopazzi del melo: stato attuale della ricerca – Apfeltriebsucht: aktueller Stand der Forschung, herausgegeben von K. Janik, D. Barthel, T. Oppedisano, G. Anfora - San Michele all'Adige (TN) : Fondazione Edmund Mach ; Laimburg : Ora (BZ) : Centro di Sperimentazione Laimburg, 2020. - 153 p. ISBN: 9788878430532
- Bleichner, S., Nagel, A., Wallbraun, M.** 2020. Zur Entwicklung der Doppelhaploiden-Technik bei Johanniskraut. *Z Arznei- und Gewürzpflanzen*, 24(3): 130-132
- Dalakouras, A., **Wassenegger, M.**, Dadami, E., Ganopoulos, I., Pappas, M.L., Papadopoulou K. 2020. Genetically Modified Organism-Free RNA Interference: Exogenous Application of RNA Molecules in Plants. *Plant Physiol.*, 182(1):38-50. doi: 10.1104/pp.19.00570. Epub 2019 Jul 8.
- Deubert, M.; Künast, C; Ullrich, K.; Trapp, M.; Neugebauer, D.** (2020): Umsetzung der Eh da-Initiative in rheinland-pfälzischen Kommunen. In: Gemeinde- und Städtebund (GStB) Rheinland-Pfalz (Hrsg.): Gemeinde und Stadt, 2/2020, 45-46.
- Deubert, M.; Künast, C.; Künast, R.; Trapp, M.** (2021): Mit Eh-da-Flächen die biologische Vielfalt fördern. Entdecken, Planen und Gestalten verfügbarer Flächen. In: *Unterricht Biologie* 465 (45. Jg.), 16–21.
- Eisenmann, B.; Czemmel, S.; Ziegler, T.; **Buchholz, G.**; Kortekamp, A.; Trapp, O.; Rausch, T.; Dry, I.; Bogs, J. 2019. Rpv3-1 mediated resistance to grapevine downy mildew is associated with specific host transcriptional responses and the accumulation of stilbenes. *BMC Plant Biology* 19(1): 343.
- Gallinger, J., Jarausch, B., **Jarausch, W.**, Gross, J. 2020. Host plant preferences and detection of host plant volatiles of the migrating psyllid species *Cacopsylla pruni*, the vector of European Stone Fruit Yellows. *Journal of Pest Science* 93(1), 461-475.
- Koch A. and **Wassenegger M.** (2021) Host-induced gene silencing - mechanisms and applications. *New Phytol* 231:54-59.
- Künast, C.; **Deubert, M.**; Künast, R.; **Trapp, M.** (2020): Das Eh da-Konzept: mehr Platz für biologische Vielfalt in Kulturlandschaften. In: JÄKEL, L.; KIEHNE, U.; FRIEß, S. (Hrsg.): Biologische Vielfalt erleben, wertschätzen, nachhaltig nutzen, durch Bildung stärken. Internet: <https://doi.org/10.2370/9783844072532>
- Künast, C.; **Karsch, G.** (2021): Eh da-Flächen: mehr Platz für Insekten! In: *Kreisjahrbuch Rhein-Pfalz-Kreis 2021*.
- Müller-Renno, C., Rink, V., Ani, M., **Braun, M., Boonrod, K., Krczal, G.**, Ziegler, C. 2020. Bottom-up assembly of a bilayer structure of icosahedral viral nanoparticles. *Biointerphases*. 15(4):041009. doi: 10.1111/6.0000267.
- Müller-Renno, C., Remmel, D., Braun, M., **Boonrod, K., Krczal, G.** Ziegler, Ch. 2021. Producing plant virus patterns with defined 2D structure. *Physica Status Solidi A: Applications and Materials Science*, <https://doi.org/10.1002/pssa.202100259>

Pitzalis, N., Amari, K., Grindorge, S., Pflieger, D., Donaire, L., **Wassenegger, M.**, Llave, C., Heinlein, M. 2020. Turnip mosaic virus in oilseed rape activates networks of sRNA-mediated interactions between viral and host genomes. *M. Commun Biol.*, 23;3(1):702. doi: 10.1038/s42003-020-01425-y.

Trapp, M.; Deubert, M.; Streib, L.; Roß-Nickoll, M.; Scholz-Starke, B.; Toschki, A. (2020): Simulating the Effects of Agrochemicals and Other Risk-Bearing Management Measures on the Terrestrial Agrobiodiversity: the RISKMIN Approach. In: Mirschel, W.; Terleev, V.V.; Wenkel, K.-O. (Hrsg.): Landscape Modelling and Decision Support, Springer. Internet: https://doi.org/10.1007/978-3-030-37421-1_23.

Ullrich, K.; Deubert, M.; Wagner, M.; Mackle, L.; Heinz-Fischer, B. (2020): Naturschutz auf Gemeindeflächen. In: GStB RLP, Gemeinde und Stadt, Das Grüne Blatt 2/2020.

Ullrich, K.; HEINZ-FISCHER, B. (2021): Ökologisch wertvolle Grünflächen durch gutes Mahdmanagement. In: Das Grüne Blatt 03/2021.

Uslu, VV., Wassenegger, M. 2020. Critical view on RNA silencing-mediated virus resistance using exogenously applied RNA. *Curr Opin Virol.*, ;42:18-24. doi:10.1016/j.coviro.2020.03.004. Epub 2020 May 1.

Uslu, VV., Bassler, A., Krczal, G., Wassenegger, M. 2020. High-Pressure-Sprayed Double Stranded RNA Does Not Induce RNA Interference of a Reporter Gene. *Front Plant Sci.*, 16;11:534391. doi: 10.3389/fpls.2020.534391. eCollection 2020

Uslu, VV., Dalakouras, A., Steffens, VA., Krczal, G., Wassenegger, M. 2021. High-pressure sprayed siRNAs influence the efficiency but not the profile of transitive silencing. *Plant J.* 2021 Dec 9. doi: 10.1111/tpj.15625. Online ahead of print.

Wassenegger M. and Dalakouras A. (2021) Viroids as a Tool to Study RNA-Directed DNA Methylation in Plants. *Cells* 10:1187.

Poster Posters

Karsch, G.; Wolf, C.; Deubert, M.; Ullrich, K. (2020 & 2021): Infotafeln über Artenvielfalt auf Ehda-Flächen in den Kommunen: Oberndorf, Wingst (beide NI), Kaiserslautern, Otterstadt, Maikammer, VG Maxdorf, Waldsee, Neuhofen (alle RP).

Künast, C.; Deubert, M. (2021): Das Eh da-Konzept: ein Weg zu mehr Lebensräumen in der Landschaft. Posterpräsentation beim Online-Expertenforum "Wildbienenschutz gemeinsam gestalten" im Bundesprogramm Biologische Vielfalt, 03.11.2021.

Vorträge

Oral presentations

Buchholz, B. (2020) „Gentechnik - nein danke? Chancen und Risiken der Gentechnik in der Landwirtschaft“. Vortrag und Diskussionsveranstaltung. 29 Januar 2020 Evangelisches Bildungs- und Tagungszentrum Bad Alexandersbad.

Deubert, M. (2020): Das Eh da-Konzept für mehr Artenvielfalt in Kommunen. Öffentliche Umweltausschusssitzung VG Maxdorf, Fußgönheim, 09.06.2020.

Deubert, M. (2021): Das Eh da-Konzept für mehr Artenvielfalt in Kommunen. Öffentliche Gemeinderatssitzung VG Langenlonsheim-Stromberg, Webvortrag, 01.07.2021.

- Deubert, M.; Ullrich, K.** (2021): Das Konzept der „Eh da-Flächen“ für mehr Artenvielfalt in Maxdorf. Ergebnispräsentation bei öffentlicher Bauausschusssitzung der VG Maxdorf, Mehrzweckhalle Fußgönheim, 02.09.2021.
- Deubert, M.; Ullrich, K.** (2021): Biodiversitätsstrategie auf der Basis von Eh da-Flächen für mehr Artenvielfalt in Kirrweiler. Ergebnispräsentation bei öffentlicher Infoveranstaltung, Edelhof Kirrweiler, 09.09.2021.
- Hohenwarter, L. (2021):** Innovative RNA Interferenz (RNAi)-vermittelte Bekämpfung von *H. fraxineus*, dem Erreger des Eschentriebsterbens, FraxForFuture Tagung, 11.11.21, virtuell
- Jarausch, W., Schell, T., Bischoff, F., Jarausch, B., Runne, M., Trapp, M.** (2021): Risikokarten für das Auftreten der ‚Goldgelben Vergilbung‘ (Flavescence dorée) bei der Weinrebe in Rheinland-Pfalz. 60. Arbeitskreistagung des Forschungsrings des Deutschen Weinbaus (FDW). Online-Veranstaltung 14.-15.06.2021
- Krczal, G. (2020).** "Genome Editing und Biotechnologie bei Reben". Besuch des Studiengangs Oenologie am 23.01.2020 bei AlPlanta.
- Krczal, G. (2021):** Application of exogenous RNA: What is feasible and what is not. Workshop Molekulare Züchtung der Gesellschaft für Pflanzenbiotechnologie, 06.- 07.09.21, virtuell G. Krczal, RNAi-basierte Pflanzenschutzmittel. Mitgliederversammlung des Wissenschaftlerkreis Grüne Gentechnik, 06.10.21, virtuell
- Kubiak R.: (2021):** Ferntransport von Pflanzenschutzmitteln. Deutsche Pflanzenschutztagung im September 2021 Online-Veranstaltung
- Pollatz, T. (2020).** „Sustainable Water Management – Technical opportunities and concepts“. Vortragsveranstaltung der SEQUA gGmbH. Webseminar 14.05.2020
- Pollatz, T. (2020).** „Nachhaltige Landbewirtschaftung unter Wasserstress in Nordost Brasilien“. Vortragsveranstaltung der SEQUA gGmbH. Webseminar 22.10.2020
- Pollatz, T. (2021).** „Grundlagen der anaeroben Fermentation und der Verwertung von Gärresten“. Vortragsveranstaltung der SEQUA gGmbH. Webseminar 15.05.2021
- Pollatz, T. (2021).** „Nachhaltige Abwasserbehandlung im ländlichen Raum“. Vortragsveranstaltung der SEQUA gGmbH. Webseminar 05.06.2021
- Pollatz, T. (2021).** „Entsalzung und Wiederverwertung von Brackwasser“. Vortragsveranstaltung der SEQUA gGmbH. Webseminar 19.06.2021
- Trapp, M. (2020):** Anwendungen der GBI am Beispiel der Modellierung der potentiellen Bodenfeuchte und Spätfrostgefährdung, GeoBox-Ländertreffen 16.01.2020 und 25.11.2020, Berlin
- Trapp, M. (2020):** Digitalisierung im Dienst einer nachhaltigen Landwirtschaft bzw. des Naturschutzes, Transformationsgespräch 30.01.2020, Berlin: Nachhaltigkeit im Ackerbau mit Bundesumweltministerin Svenja Schulze
- Trapp, M (2020):** "Welche Schritte gehen wir hin zu einer Arten- und Klimaschutzoffensive „Grüne Städte, Dörfer und Äcker“ für Klimaoasen in Stadt- und Ortskernen und in ländlichen Regionen? Welche Rolle muss hierbei die Landwirtschaft spielen?", Online- Meeting der Landtagsfraktion der Grünen, 27.06.2020
- Trapp, M (2020):** Möglichkeiten der Geodatenanalysen mit besonderem Blick auf Obstbau / Sonderkulturen, Workshop JKI Dossenheim
- Trapp, M. (2021):** SoFi Smart Soil Information for Farmers, Online- Vortrag, GIL- Jahrestagung (Gesellschaft für Informatik in der Landwirtschaft), 08.03.2021
- Trapp, M. (2021):** Wie wichtig ist die Umsetzung von Biodiversitätsmaßnahmen überbetrieblich? Praxistag der BASF SE, Hayna, 17.05.2021, Präsenzveranstaltung
- Trapp, M. (2021):** Feldtag SoFI mit Vertretern des BMEL, MWVLW RLP, Maschinenring Alzey und Projektbeteiligten, 07.10.2021
- Trapp, M. (2021):** Anwendungen der GBI am Beispiel der Modellierung der potentiellen Bodenfeuchte und Spätfrostgefährdung, GeoBox-Ländertreffen 08. – 09.11.2021, Mainz, Präsenzveranstaltung
- Trapp, M. (2021):** Simulation of Soil Moisture, GIZ- Projekt des MWVLW, Vortrag in Kigali, Rwanda, 17.11.2021

Uslu, VV., Wassenegger, M. (2021) „Exogenous RNAi applications as a promising plant protection approach“ Der Tag der Wissenschaft, Technische Universität Istanbul, 15.04.2021 -virtuell
Uslu, VV. (2021) „Insight Talk: How to bring 60 nerds together on a stage for science communication“ Biannual Conference of Public Communication of Science and Technology 2020 +1, Aberdeen/Schottland 25.05.2021 virtuell

Wallbraun, M., Bleichner, S., Nagel, A. Doppelhaploiden-Technik bei Johanniskraut: Stand der Entwicklung, Tagung der Gesellschaft für Pflanzenzüchtung, AG 17 Arznei- und Gewürzpflanzen 10.06.2021
Wassenegger, M. (2020). "Plant Epigenetics and Plant Breeding". Tagung der GPZ-AG Zierpflanzen, Epigenetik - Zukünftige Einsatzmöglichkeiten in der Zierpflanzenzüchtung, Hochschule Geisenheim, 05. - 06.03.2020.
Wassenegger, M. (2020). Environmental biosafety issues, "Application methods, plant uptake and systemic activity in plants", COST Action 15223, Webinar 2: RNAi based pesticides, 07. 12. 2020

Wassenegger, M. COST Action 15223, Webinar 9: RNA-directed DNA methylation as tool to modify plant epigenetics, 11. 03. 2021
Wolf, C.; Ullrich, K. (2021): Biodiversitätsstrategie auf der Basis von Eh da-Flächen für mehr Artenvielfalt in Kirrweiler. Öffentlicher Workshop zur Umsetzung des Eh da-Flächen-Konzepts, Edelhof Kirrweiler, 23.11.2021.
Wolf, C.; Ullrich, K. (2021): Das Eh da-Konzept für mehr Artenvielfalt in Waldsee. Öffentliche Abschlusspräsentation zur Umsetzung des Eh da-Flächen-Konzepts, Kulturhalle Waldsee, 02.12.2021.

Beiträge in Medien

Contributions in media

ArtenErben e.V. VG Maxdorf: Maßnahmenplanungen für Eh da-Flächen von **Ullrich, K. & Deubert, M.** (2020). Internet: <https://www.artenerben.de/projektideen>

Auszeichnung des Projektes „Effiziente Förderung der Artenvielfalt in ackerbaulich genutzten Landschaften (EFA)“ als offizielles Projekt der „UN-Dekade Biologische Vielfalt 2019“ von Umweltministerin Höfken im Rahmen der EFA-Auftaktveranstaltung bei Herxheimweyher am 07.07.2020

Auszeichnung des Projektes „Das Konzept der Eh da-Flächen“ als offizielles Projekt der „UN-Dekade Biologische Vielfalt 2020“. Internet: <https://www.undeckade-biologischevielfalt.de/projekte/aktuelle-projekte-beitraege/detail/projekt-details/show/Wettbewerb/2370/>

Veranstaltung des VBIO und des WGG: **Genome Editing im Gespräch:** Wissenschaft trifft Politik. *Moderiertes Expertenpodium bietet Information und Dialog*; Moderation: Prof. Dr. G. **Krczal**, 30.03.2020, Berlin, Tagungszentrum der Bundespressekonferenz

Deubert, M.; Ullrich, K. (2020): Eh da Flächen. In: Hortipendium, grünes Lexikon (Wiki) für grüne Berufe und Freizeitgartenbau. Internet: http://www.hortipendium.de/Eh_da_Flächen

Deubert, M.; Karsch, G.; CARLSEN, H. M.; TRAPP, M. (2021): Biodiversitätsplattform LEADER-Region Südpfalz. Internet: <https://arcg.is/THGS>

Deubert, M.; Ullrich, K.; Karsch, G.; Wolf, C. (2020 & 2021): Kartenbasierte Webanwendungen (WebMaps) zur Planung und Dokumentation kommunaler Eh da-Projekte in Oberndorf (NI), Kaiserslautern, VG Maxdorf, Kirrweiler, Waldsee, Neuhofen (alle RP), Obernburg, Kleinheubach (beide BY), Güttersbach, Seeheim-Jugenheim (beide HE).

G. Krczal, Moderation der Veranstaltung „Genome Editing – Züchtungsmethoden der Zukunft – Session des WGG e.V. auf der smartLAB connects, 08.09.21, virtuell

Teilnahme am Podcast „**Genome Editing - WieWasWozu? Ein Podcast, der Wissen schafft**, Folge „Nachweis und Sicherheit“, Prof. Dr. G. Krczal

Interview Kurzstudie BMU „Digitalisierung in der Landwirtschaft“ mit Dr. Matthias Trapp, RLP AgroScience gGmbH, Anlage zur Kurzstudie „Klima-, Natur- und Umweltschutz in der Landwirtschaft: Chancen durch Digitalisierung“, EY

forschungsfelder Ausgabe 1 — März 2020, Bundesministerin für Ernährung und Landwirtschaft Interview "Die Forschungsfrage: Wie sehen Satelliten unsere Böden?" mit Dr. Trapp, M.

Pressestelle der BLE veröffentlicht Pressemeldung zum Vorhaben „SOFI“ anlässlich des Weltboden-tages am 05.12.2021:
https://www.ble.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/DE/2021/211203_Bodenfeuchte.html

KlimAgrar – Innovationstage 2020, Videobeitrag und Online- Präsentation, 20.10.2020, Dr. Trapp, M. über das Forschungsvorhaben SoFI – Smart Soil Information for Farmers

Hackathon 2020: RLP rockt resilient (20.11.2020): Mentoren: Eberz, D. (DLR RNH), Kuntke, F. (TU Darmstadt, Trapp, M.: Resilient Smart Farming gewinnt 3. Platz

Uslu, VV. Science Communication Training

- EpiSTEM (8 August 2021)
- European Congress of Immunology (1-3 September 2021)
- Brno International Clinical Research Center, Czech Republic (13 November 2021)
- Würzburg University Helmholtz-Institut für RNA-basierte Infektionsforschung (HIRI) (25-26 November 2021)

Ausbildung

Education and training

Buchholz, G.

Vorlesungen und Laborpraktikum im Dualen Bachelor - Weinbau und Oenologie-Studiengang: Weincampus Neustadt/W.

Themen: *Methoden der genetischen Transformation bei Reben; Fluoreszenz-Mikroskopie*
Vorlesungen und Laborpraktikum im Deutsch-Französischen Masterstudiengang Weinbau und Oenologie (FAVO).

Vorlesung: *Angewandte Biotechnologie und Genome Editing I und II.*

Praktikum: *In vitro Kultur von Reben, Transformation von Pflanzen*

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

Neustadt, 02.08. - 06.08.2021

Pollatz, T. (2021): Weiterbildungskurs Berufsschule SENAR, Brasilien: Grundlagen der anaeroben Fermentation – Bau und Betrieb von Biogasanlagen, 22.-23.05.2021

Pollatz, T. (2021): Weiterbildungskurs Berufsschule SENAR, Brasilien: Nachhaltige Abwasserbehandlung im ländlichen Raum – Bau und Betrieb von Pflanzenkläranlagen, 12.-13.06.2021

Trapp, M. Gastvorlesung Weincampus Neustadt: Digitalisierung und Geodatenmanagement im Weinbau, 01.12.2020

Wassenegger, M., Uslu, VV. Vertiefungskurs für Heidelberger Studenten: *Anwendung des RNA interference zur Funktionsaufklärung pflanzlicher Gene*.
Neustadt, 03.08. - 07.08.2020

Bachelor

Viktoria Dachtler: Mutation analysis of SauCas9 mediated DNA-free genome editing in protoplasts of *Vicia faba*, **Bachelor Thesis**, Hochschule Mannheim, Faculty of Biotechnology (08.09.2020)
Betreuung Dr. M. Wallbraun

Benedikt Eisinger: Characterization of an artificially methylated plant-genome-integrated 35S promoter construct, in Kooperation mit Universität Heidelberg (27.07.2020)
Betreuung Prof. Dr. M. Wassenegger/Dr. VV Uslu

Arvid Hanke: Generation of CRISPR/Cas9 constructs to knock-out domains rearranged methyltransferases in *Solanum lycopersicum*, in Kooperation mit Universität Heidelberg (26.08.2019)
Betreuung Prof. Dr. M. Wassenegger/Dr. VV Uslu

Lisa Sambale: Evaluierung der Effizienz von Carbon Dot-RNA-Komplexen für die Applikation in die Zellen von Pflanzen, Hochschule Mannheim (01.12.2020-15.02.2021) Betreuung Prof. Dr. M. Wassenegger

Erich Müller: Untersuchung zur mikrobiellen Herstellung organischer Säuren und Biotensiden aus weißem Traubentrester als Bestandteil von Reinigungsmitteln, Universität Biberach (01.11.2021).
Betreuung Thorsten Pollatz

Master Thesis

Jens Gruhne: Investigation of CRISPR/Cas mediated sequence-specific induction of mutations in *Vicia faba*, **Master Thesis**, Hochschule Mittweida, Faculty of Applied Computer and Life Sciences (31.08.2020)
Betreuung Dr. M. Wallbraun

Sakinah Taha: Application of the CRISPR/Cas12a system in *Vicia faba*: An approach towards DNA-free gene editing , **Master Thesis**, Hochschule Mannheim, Faculty of Biotechnology (31.10.2020)
Betreuung Dr. M. Wallbraun

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

Jarausch W.:

- Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft (DPG)
- International Society for Horticultural Science (ISHS)
- Arbeitsgruppe "Apfeltriebsucht"
- Scientific committee „International Phytoplasmatologist 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.

Kubiak, R.:

- Fachbeirat Naturhaushalt bei Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL)
- Fachbeirat Nachhaltiger Pflanzenbau beim BVL
- Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft
- Deutsche Bodenkundliche Gesellschaft
- Society for Ecotoxicology and Chemistry Europe and German language branch

Pollatz, T.

- Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e.V. (DWA)
- Fachverband Biogas e.V.

Wallbraun, M.

- Gesellschaft für Pflanzenzüchtung
- Gesellschaft für Pflanzenbiotechnologie

Wassenegger, M.

- Editorial Board of Scientifica and Frontiers in Virology

Lehraufträge

University teaching

Krczal G.:

- *Plant Biotechnology*

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

Kubiak R.:

- Prozesse in Agrarökosystemen

Universität Koblenz-Landau, Umweltwissenschaften

Wallbraun M.

- *Plant Biotechnology*

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

Wassenegger. M.

- Vertiefungskurs für Heidelberger Studenten: Anwendung des RNA interference zur Funktionsaufklärung pflanzlicher Gene.
- Practical course for Heidelberg students: Application of RNA interference for the functional analysis of plant genes. 27.07. - 02.08.2019