

# RLP AgroScience



Jahresbericht 2023

## Vorwort

## *Preface*



**Prof. Dr. Gabriele Krczal**  
**Geschäftsführerin RLP AgroScience**  
**GmbH**

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

Sehr geehrte Leserinnen und Leser,

ich freue mich, Ihnen den Jahresbericht 2023 der RLP AgroScience GmbH präsentieren zu können.

Die Ausgliederung der ehemaligen Kernthemen „Klima- uns Stressresilienz“ und „Umweltverhalten von Pflanzenschutzmitteln“ in das DLR Rheinpfalz wurde bereits im letzten Quartal 2022 erfolgreich umgesetzt und die Struktur der AgroScience in 2023 neu aufgestellt. Aus den verbliebenen Kernthemen wurden drei Abteilungen geformt: Anwendungen der Digitalisierung, Pflanzenforschung und Forschungsdienstleistungen. Diese

Veränderungen machten verwaltungstechnische und organisatorische Neuerungen notwendig, wie z. B. die Erstellung eines neuen Raumkonzepts, Umorganisation des Strahlenschutzes, Ausgliederung der GLP-Prüfeinrichtung und des GLP-Archivs, Neuaufstellung der Kostenstellen in der Buchhaltung u.a. Die Umsetzung dieser Maßnahmen begann bereits in 2022, wurde 2023 fortgeführt und wird voraussichtlich in 2024 abgeschlossen sein.

Dear Readers,

we are pleased to present you the annual report 2023 of RLP AgroScience GmbH.

The transfer of the former core topics ‘Climate and stress resilience’ and ‘Environmental behaviour of crop protection products’ to the DLR Rheinpfalz was successfully implemented in the last quarter of 2022 and the structure of AgroScience was reorganised in 2023. Three departments were formed from the remaining core topics: Applications of Digitalisation, Plant Research and Research Services. These changes necessitated administrative and organisational innovations, such as the creation of a new space concept, reorganisation of radiation protection, outsourcing of the GLP test facility and the GLP archive, reorganisation of cost centres in accounting, etc. The implementation of these measures began in 2022, continued in 2023 and is expected to be completed in 2024. The organisation of this restructuring represented an additional burden to the ongoing ‘day-to-day business’, but this was successfully managed, as was the inspection of AgroScience’s genetic engineering facility by the responsible supervisory authority in 2023. In the fourth quarter of 2023, the shareholder then decided on a further structural change at AgroScience: In a further step, the employees of the ‘Applications of Digitalisation’ department will be integrated into the Technical Centre at the Service Centre for

Die Organisation dieser Neustrukturierung stellte zum laufenden „Tagesgeschäft“ eine zusätzliche Belastung dar, die aber, wie auch Begehung der gentechnischen Anlage der AgroScience durch die zuständige Kontrollbehörde erfolgreich bewältigt wurde. Im 4. Quartal 2023 erfolgte dann der Beschluss des Gesellschafters einer weiteren Strukturänderung der AgroScience: In einem weiteren Schritt werden die Mitarbeitenden der Abteilung „Anwendungen der Digitalisierung“ zur Verstärkung der Technischen Zentralstelle am Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinhessen – Nahe – Hunsrück im zweiten Quartal 2024 in diese integriert, um die digitalen Angebote für die Praxis in landesweiter Zuständigkeit weiter zu entwickeln und in diesem Bereich auch hoheitliche Aufgaben übernehmen zu können. Ab diesem Zeitpunkt wird die AgroScience dann ausschliesslich aus der Abteilung Pflanzenforschung bestehen

Durch die hohe Motivation aller Mitarbeiter und die schnelle Anpassung an die neue Struktur ist es gelungen, die Forschungs- und Entwicklungsarbeiten, sowie Aktivitäten im Bereich der Fortbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses in 2023 erfolgreich aufrecht zu erhalten

Das große Thema der AgroScience ist weiterhin die „Nachhaltige Landwirtschaft“, auch im Sinne eines Beitrags zur Erreichung der Ziele der Farm-to-Fork Strategie der EU Kommission, deren wichtigstes Ziel die Gewährleistung einer nachhaltigen Lebensmittelproduktion unter Reduktion des Inputs chemischer Pflanzenschutzmittel und Düngemittel ist. Daher sind wir stetig dabei, ein Anwendungsgebiet der RNAi Kompetenzen der Mitarbeiter der Pflanzenforschung weiter zu entwickeln, den Einsatz von RNA Molekülen zur Bekämpfung von Schaderregern wie Pilzen und Insekten. Werden diese Moleküle optimal designt und appliziert, können sie gezielt diese Schaderreger abtöten und damit chemische Pflanzenschutzmittel ersetzen. Dieser „RNA-Pflanzenschutz“ ist nachhaltig und umweltfreundlich, da diese Moleküle viel gezielter wirken können als chemische Pflanzenschutzmittel und nicht toxisch und leicht abbaubar sind.

Auch bei den für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln zuständigen Behörden

Rural Areas Rheinhessen - Nahe - Hunsrück in the second quarter of 2024 in order to further develop the digital offerings for practitioners with state-wide responsibility and to be able to take over sovereign tasks in this area.

From this point onwards, AgroScience will consist exclusively of the Plant Research department

Thanks to the high motivation of all employees and the rapid adaptation to the new structure, it has been possible to successfully maintain research and development work as well as activities in the area of further training for young scientists in 2023

The major topic of AgroScience continues to be ‘sustainable agriculture’, also in the sense of contributing to achieving the goals of the EU Commission’s Farm-to-Fork Strategy, whose most important goal is to ensure sustainable food production while reducing the input of chemical pesticides and fertilisers. We are therefore constantly working to further develop one area of application for the RNAi expertise of our plant research staff: the use of RNA molecules to combat pathogens such as fungi and insects. If these molecules are optimally designed and applied, they can specifically kill these pathogens and thus replace chemical pesticides. This ‘RNA plant protection’ is sustainable and environmentally friendly, as these molecules can have a much more targeted effect than chemical pesticides and are non-toxic and easily degradable.

AgroScience is involved in national and international committees. Furthermore, it is involved in master’s degree courses at the Mannheim University of Applied Sciences and is active with lectures and practical courses at the University of Heidelberg and the Weincampus Neustadt. Together with the universities, the institute also trains bachelor’s and master’s students, as well as doctoral students, who use their work to advance projects of the AgroScience.

The authorities responsible for the authorisation of plant protection products have also already begun to consider which procedures could be used to simplify the authorisation process for ‘RNA plant protection products’. Prof Krczal was invited by the Federal Office of Consumer Protection and Food Safety (BVL) at the beginning of

haben bereits Überlegungen begonnen, nach welchen Verfahren „RNA-Pflanzenschutzmittel“ einen erleichterten Zulassungsprozess durchlaufen können. Frau Prof. Krczal wurde Anfang November vom Bundesamt für Verbraucher und Lebensmittelsicherheit (BVL) eingeladen, als Expertin diese Überlegungen zu begleiten.

Auch im Bereich Genome Editing sind Mitarbeiter der AgroScience weiter im Rahmen von Forschungsprojekten aktiv. Darüber hinaus liegt nun seit Juli 2023 ein Entwurf der Europäischen Kommission für eine Neuregulierung von Pflanzen, die mittels „Neuer Genomischer Techniken“ (NGTs) entwickelt wurden, vor. AgroScience war in Person von Prof. Krczal in diese Diskussionen involviert und auf nationaler und internationaler Ebene zusammen mit weiteren biologischen Fachgesellschaften wissenschaftspolitisch aktiv, vor allem durch die Moderation von Veranstaltungen vor allem mit Politikern und Journalisten, aber auch durch das Verfassen und Publizieren von Stellungnahmen zum gesetzgeberischen Kontext. Auch das hat die Sichtbarkeit der AgroScience wesentlich erhöht und ermöglicht dem Gesellschafter jederzeit auf eine kompetente Politikberatung in diesem Bereich zuzugreifen.

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

Vom Land Rheinland-Pfalz beauftragte Projekte zur Entwicklung von Anwendungen für die GeoboxInfrastruktur (GBI) und zur Unterstützung des Landes bei den EU Berichtspflichten waren auch in 2023 ein wichtiger Teil der eingeworbenen Projekte. Daneben gibt es eine wachsende Vernetzung mit anderen Einrichtungen, die zu einer Reihe von national geförderten Konsortium-Projekten geführt haben. Weiterhin ist das Thema der Erhöhung der Biodiversität in Agrarlandschaften weiter präsent und mit einer ganzen Reihe von Kommunen wurden Projekte zur Biodiversitätsverbesserung durchgeführt.

Ein weiterer Schwerpunkt in 2023 war die Integration LoRa-WAN-fähiger Sensoren für Lufttemperatur, Luftfeuchtigkeit und Bodenfeuchte als ein Baustein für den

November to accompany these considerations as an expert.

AgroScience employees also continue to be active in research projects in the field of genome editing. In addition, since July 2023, the European Commission proposed a draft for the new regulation of plants developed using ‘New Genomic Techniques’ (NGTs). AgroScience, in the person of Prof Krczal, was involved in these discussions and was active in science policy at national and international level together with other biological societies, primarily by moderating events, especially with politicians and journalists, but also by writing and publishing statements on the legislative context. This has also significantly increased the visibility of AgroScience and enables the shareholder to access competent political advice in this area at any time.

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

Projects commissioned by the state of Rhineland-Palatinate to develop applications for the geobox infrastructure (GBI) and to support the state with EU reporting obligations were also an important part of the projects acquired in 2023. In addition, there is growing networking with other institutions, which has led to a number of nationally funded consortium projects. The topic of increasing biodiversity in agricultural landscapes continues to be present and biodiversity improvement projects were carried out with a number of municipalities.

Another focus in 2023 was the integration of LoRa WAN-capable sensors for air temperature, humidity and soil moisture as a building block for the further development of a resilient infrastructure. Overall, the department has succeeded in utilising research projects at federal level and generating information, methods, data and resources for the GBI RLP.

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

weiteren Aufbau einer resilienten Infrastruktur. Insgesamt ist der Abteilung gelungen, Forschungsprojekte auf Bundesebene zu nutzen und daraus Informationen, Methoden, Daten und Ressourcen für die GBI RLP zu generieren.

Die AgroScience ist eingebunden in nationale und internationale Gremien. Weiterhin ist sie an Masterstudiengängen der Hochschule Mannheim beteiligt, sowie mit Vorlesung und Praktika an der Universität Heidelberg sowie dem Weincampus Neustadt aktiv. Zusammen mit Universitäten erfolgt auch die Ausbildung von Bachelor- und Masterstudenten, sowie Doktoranden, die mit ihrer Arbeitskraft auch Projekte der AgroScience voran bringen.

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

Wir möchten allen unseren Mitarbeitern und Kooperationspartnern für die hervorragende Zusammenarbeit im Jahr 2023 danken.

We would like to thank all our employees and cooperation partners for the excellent cooperation in 2023.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "J. Kretzschmar".

Neustadt an der Weinstraße, den 17.06.2024

# Translational Plant Epigenetics

Die Beherrschung der Entwicklung nachhaltiger Pestizide durch RNA-Interferenz.

The mastery of developing sustainable pesticides by RNA interference.

## RNAi- vermittelte Bekämpfung vom Eschentriebsterben

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 Die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (**FNR**) untersuchen wir, im Rahmen des FraxPath-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 (AGO) 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.

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

## RNAi-mediated control of ash dieback

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 dieback through a parasitic lifestyle in the tissue of the ash tree.

In the FraxForFuture collaborative project of the Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (**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 (AGO). 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.

At the beginning of the study, it was verified that the essential enzymes of the RNAi 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 (Abb.1) [1].

einer schwedischen Arbeitsgruppe veröffentlicht, die unsere Ergebnisse bestätigen [1].



Abb. 2: 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. 2: 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.

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

Im nächsten Schritt wurde die Stamm-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.

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

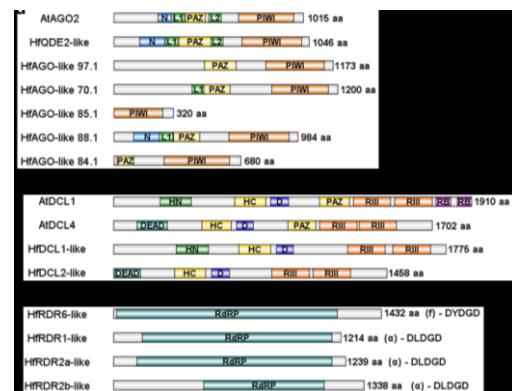


Abb.1 Die Domänenstrukturen von *Hymenoscyphus fraxineus* und ausgewählten RNAi-Enzymen von *Arabidopsis thaliana* wurden mithilfe der InterPro-Datenbank vorhergesagt und mit DOG2.0 visualisiert N: N-terminale Domäne; L1, L2: Linker-Domäne; HN: N-terminale Helikase-Domäne; HC: C-terminale Helikase-Domäne; D: Dicer-Dimerisierungsdomäne; RIII: Ribonuklease III-Domäne; RB: dsRNA-Bindungsdomäne; DEAD: DEAD/DEAH-Box-Helikasedomäne.

**Fig.1 Domain structures of *Hymenoscyphus fraxineus* and selected *Arabidopsis thaliana* RNAi enzymes were predicted using the InterPro database and visualized with DOG2.0** N: N-terminal domain; L1, L2: linker domain; HN: Helicase domain N-terminal; HC: Helicase domain C-terminal; D: Dicer dimerization domain; RIII: Ribonuclease III domain; RB: dsRNA binding domain; DEAD: DEAD/DEAH box helicase domain.

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.

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). 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. 3A). Diese müssen aus einem aktiven Prozess entstanden sein, da man bei nicht-selektiven Degradationsprodukten 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.

Die Applikation der dsRNA hat viel Potenzial 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 einen großen Maßstab skalieren, z. B. für den Einsatz in Baumschulen mit mehreren Hundert Sämlingen. Dafür ist die ökono-misch effiziente Herstellung von dsRNA notwendig. Zudem bietet sich eine Nutzung von automatisierten Applikations-Robotern an.

Unsere jüngsten Arbeiten über das durch Haarnadel-RNA (hpRNA) induzierte Gen-Silencing bei *H. fraxineus* haben gezeigt, dass die hpRNA zu sRNAs verarbeitet werden. Wir untersuchen, ob diese sRNAs auf Endogene abzielen können und auf welcher Ebene das Targeting stattfindet. Die qPCR-basierte Quantifizierung des Zielgens zeigt, dass die mRNA nicht abgebaut wird. Da es für das Zielgen keinen kommerziellen Antikörper gibt, sammeln wir Proben für LC-MS-Experimente, um die Wirkung der hpRNA auf die Genfunktion zu bestimmen.

Darüber hinaus haben wir gezeigt, dass die exogen applizierten dsRNAs von *H. fraxineus*

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

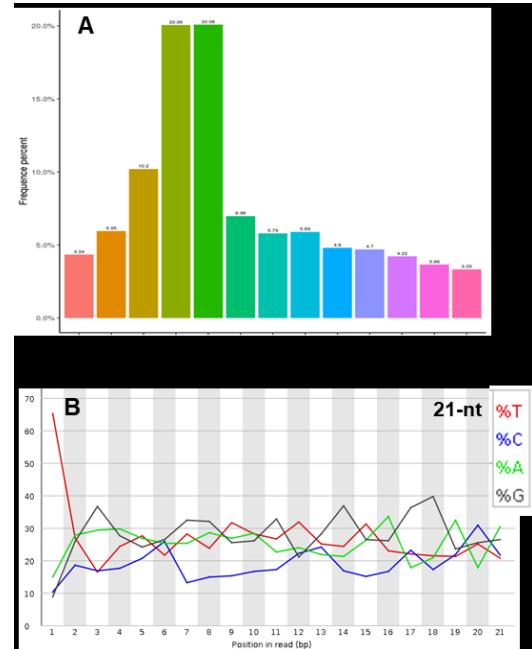


Abb. 3: Die Sequenzierung der kleinen RNAs aus zwei *H. fraxineus* Isolaten gibt Aufschluss über die Charakteristiken der endogenen siRNA. A) Längenverteilung der gesamten Reads. B) Pro Base Nukleotidverteilung der 21-nt langen Reads.

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-nt long reads.

The application of exogenous 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 stem injection 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.

aufgenommen werden. Daher sind dsRNA-basierte Formulierungen vielversprechende Ansätze, um das Eschensterben zu stoppen. Wir haben unsere Ergebnisse zur Veröffentlichung eingereicht, aber es sind noch weitere Forschungen erforderlich, um die RNA-Verabreichung für Feldanwendungen zu optimieren.

Um die Pflanzenkrankheiten, auf die wir mit der RNAi-Strategie abzielen, über *H. fraxineus* hinaus zu erweitern, arbeiten wir mit verschiedenen pathogenen Pilzen, darunter *Neofusicoccum parvum*, das Weinreben und Erdbeeren infiziert, *Magnaporthe oryzae* und *Fusarium graminearum*, die Monokotyledonen wie Weizen und Gerste infizieren, sowie *Botrytis*-Arten, die Zierpflanzen wie Hortensien befallen. Zusätzlich zu den Pilzen haben wir begonnen, Drahtwürmer von Kartoffelfeldern in Rheinland-Pfalz zu sammeln, um den RNAi-Ansatz zu testen. Drahtwürmer sorgen in vielen Kartoffelregionen für massive Probleme, sowohl im konventionellen als auch im ökologischen Anbau. Drahtwürmer fressen Bohränge in Knollen und die so geschädigten Partien können nicht mehr als Speise-, Veredelungs- oder Pflanzkartoffeln vermarktet werden und sind darüber hinaus kaum lagerfähig. Drahtwürmer sind die schwer zu bekämpfenden Larven von Schnellkäfern (*Agriotes* spp.). Im nächsten Jahr planen wir, wichtige Gene in Drahtwürmern durch RNAi zu beeinflussen, um die Anwendungsmöglichkeiten von exogener RNA zu erweitern.

#### Literatur

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

Our latest work on hairpin RNA induced gene silencing on *H. fraxineus* demonstrated that the hairpin RNA were processed into sRNAs. We are addressing whether these sRNAs can target endogenes and at which level the targeting takes place. The qPCR-based quantification of the target gene shows that the mRNA is not degraded. Since the target gene does not have a commercial antibody, we are collecting samples for LC-MS experiment to determine the effect of hpRNA on gene function.

In addition, we have shown that the exogenously applied dsRNAs are taken up by the *H. fraxineus*. Therefore, dsRNA-based formulations are promising approaches to stop ash dieback. We have submitted our results for publication but deeper research is required and is carried out for optimization of the RNA delivery for field applications.

In order to expand the diseases that we target with RNAi strategy beyond *H. fraxineus*, we work with various pathogenic fungi. The fungus cultures that we work with include *Neofusicoccum parvum*, which infects grapevine and strawberries, *Magnaporthe oryzae* and *Fusarium graminearum*, which infect monocots like wheat and barley, *Botrytis* species, which infect ornamental plants like *Hydrangea*. In addition to fungi, we have begun collecting wire worm from potato fields in Rhineland Palatinate to test the RNAi approach. Wireworms are causing massive problems in many potato regions, both in conventional and organic cultivation. Wireworms eat holes in tubers and the damaged batches can no longer be marketed as table, grafting or seed potatoes and are also barely storable. Wireworms are difficult to control larvae of click beetles (*Agriotes* spp.). In the next year, we are planning to target vital genes in these pathogens by RNAi to widen the possible applications of exogenous RNA.

*Große Entdeckungen zu den Grundlagen der RNAi-Mechanismen stehen kurz bevor*

*On the verge of big discoveries on the fundamentals of RNAi mechanisms*

## **RNA DEPENDENT RNA POLYMERASE**

RNA-unabhängige RNA-Polymerasen (RDRs) spielen eine Schlüsselrolle bei der Verbreitung des Gen-Silencing und der Virusabwehr. Wenn ein einzelnes sRNA-Molekül auf ein Transgen, ein Endogen oder ein virales Gen zielt, produzieren RDR-Proteine dsRNA aus dem Zielmolekül und verstärken das Silencing-Signal. Die Verstärkung (auch als transitives Silencing bezeichnet) ist der Schlüssel für die Anwendung exogener RNA, denn dank dieses Mechanismus müssen wir nicht die ganze Pflanze besprühen. Vielmehr kann das Besprühen einiger Blätter zum Silencing in den anderen Teilen der Pflanze führen.

RDR1, RDR2 und RDR6 sind bekannte Komponenten des transitiven Silencing, aber die Funktion der ältesten Form von RDR, auch bekannt als RDR3, die noch in Pilzen und Pflanzen erhalten ist, war aufgrund technischer Herausforderungen bisher unbekannt. In unseren jüngsten Experimenten haben wir die technischen Probleme überwunden und die ersten Hinweise darauf erhalten, dass RDR3 ein Teil des uralten Ribosomen-Qualitätskontrollmechanismus (RQC) ist. Wenn dies vollständig bewiesen ist, wird das Lehrbuchwissen über die RDR-Maschinerie neu geschrieben werden.

Es ist schwierig, Erkenntnisse aus der Pflanzenforschung ins Feld zu übertragen. *A. thaliana* ist ein sehr nützlicher Modellorganismus für das Verständnis von Pflanzen, aber die zellulären Mechanismen und die Genfunktionen können sich von denen anderer Kulturpflanzen unterscheiden. Neben den RDRs sind beispielsweise ARGONAUTE (AGO)-Proteine eines der Schlüsselmoleküle für das transkriptionelle Gen-Silencing. Es gibt auffällige Unterschiede in den AGO-Funktionen zwischen *A. thaliana* und *N. benthamiana*. Die Entdeckung neuer/nebenläufiger Funktionen dieser lebenswichtigen Gene wird die RNAi-Anwendungen bei Nutzpflanzen verbessern und die Brücke zwischen Labor und Feldanwendung stärken

## **RNA-DEPENDENT-RNA POLYMERASE**

### **RNA-DEPENDENT-RNA**

POLYMERASES (RDRs) play a key role in the spread of gene silencing and viral defence. When a single sRNA molecule targets a transgene, an endogene or a viral gene, RDR proteins produce dsRNA from the target molecule and amplify the silencing signal. The amplification (also known as transitive silencing) is key for exogenous RNA applications because thanks to this mechanism we do not need to spray the whole plant. Rather, spraying a few leaves can lead to silencing in the other parts of the plant.

RDR1, RDR2 and RDR6 are well known components of the transitive silencing but the function of the most ancient form of RDR, also known as RDR3, which is still preserved in fungi and plants, had remained to be unknown due to technical challenges. In our latest experiments, we overcame the technical problems and got the first indications that it RDR3 is a part of the ancient Ribosome Quality Control (RQC) mechanism. When full proven, the text book knowledge on RDR machinery will be rewritten.

It is still challenging to transfer knowledge from fundamental plant science to the field. *Arabidopsis thaliana* is a very useful model organism for understanding plants but the metabolism, cellular mechanisms, and the gene functions may differ from other crop plants. For example, beside RDRs one of the key molecules of transcriptional gene silencing is ARGONAUTE (AGO) proteins. There are striking differences in AGO functions between *A. thaliana* and *N. benthamiana*. Discovery of new/side functions of these vital genes will improve RNAi applications in crop plants and strengthen the bridge between the lab and the field applications.

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

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

### Klimawandel und die Zukunft der Kartoffeln

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

### Epigenetik

Pflanzen bewältigen ungünstige Umweltbedingungen oft durch epigenetische Genregulierung, die DNA- und Histonmodifikationen umfasst. Diese Modifikationen verändern die Chromatinarchitektur und wirken sich auf die Zugänglichkeit bestimmter Regionen des Genoms für die Transkriptionsmaschinerie aus. Die Methylierung und Demethylierung von Cytosinen (Cs) sind die wichtigsten DNA-Modifikationen, wobei die de novo-DNA-Methylierung in Pflanzen durch RNA-gesteuerte DNA-Methylierung (RdDM) ausgelöst wird. RdDM zielt auf spezifische Regionen des Genoms für die Cytosin-Methylierung (5mC) mit Hilfe von doppelsträngiger RNA (dsRNA) ab und kann in

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

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

### Climate change and the future of potatoes

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

### Epigenetics

Plants often cope with unfavorable environmental conditions through epigenetic gene regulation, which involves DNA and histone modifications. These modifications alter the chromatin architecture, and affect the accessibility of specific regions of the genome to the transcriptional machinery. The methylation and demethylation of cytosines (Cs) are the primary DNA modifications, with de novo DNA methylation triggered by RNA-directed DNA methylation (RdDM) in plants. RdDM targets specific regions of the

Pflanzenzellen künstlich durch die Einführung von dsRNA über Transgene oder Viren induziert werden.

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

### RNA für Pflanzenschutz

Die Verwendung von Viren oder die Schaffung transgener Pflanzen zur Einführung von dsRNA in Pflanzen hat sich als wirksam erwiesen, aber diese Methoden haben Nachteile, wenn es um landwirtschaftliche Anwendungen geht. So können beispielsweise Virusvektoren schwerwiegende Auswirkungen auf die Nutzpflanzen haben, oder genetische Veränderungen an Nutzpflanzen unterliegen rechtlichen und praktischen Beschränkungen. Die oben erwähnten RNA-Sprühexperimente mit niedrigem Druck zum Schutz vor Pilzen und Insekten reichen nicht aus, um die RNA in die Pflanzenzellen zu bringen. Um diese Einschränkung zu überwinden, haben wir die 'High Pressure Spraying Technique' (HPST) als wirksame dsRNA-Transportmethode in Pflanzen entwickelt. Die RNAs werden unter einem Druck von 3-6 bar mit einer einfachen, an einen tragbaren Luftkompressor angeschlossenen Spritzpistole auf Blätter oder Meristemgewebe gesprührt. Mit HPST konnten wir zeigen, dass die RNA von den Pflanzenzellen aufgenommen und verarbeitet wird.

Zunächst haben wir 22nt siRNAs gesprührt, die auf ein GFP-Transgen abzielen. Je nach Zielort der RNA konnten wir bis zu hundert Prozent lokales und systemisches Silencing erreichen. Wir konnten zeigen, dass bei der Übertragung von Blätter mit systemischen Silencing in die Gewebekultur das Silencing bis zum Kallusstadium erhalten blieb und aus neu wachsenden Sprossen Pflanzen mit vollstän-

genome for cytosine methylation (5mC) using double-stranded RNA (dsRNA), and can be artificially induced in plant cells through the introduction of dsRNA via transgenes or viruses.

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

### RNA for plant protection

Using viruses or creating transgenic plants to introduce dsRNA to plants have been proven to be effective but these methods have disadvantages when it comes to agricultural applications. For example, virus vectors may have severe effects on the crop plants or genetic modifications on crop plants have legal and practical restrictions. The low pressure RNA spraying experiments, mentioned above for protection against fungi and insects, is not enough to deliver the RNAs into plant cells. In order to overcome this limitation, we developed 'High Pressure Spraying Technique' (HPST) as an effective dsRNA delivery method *in planta*. The RNAs are sprayed onto leaves or meristem tissues under 3-6 bar pressure using a simple airbrush connected to a portable air compressor. Using HPST, we showed that the RNA is taken up and processed by plant cells.

First of all, we sprayed 22nt siRNAs targeting a GFP transgene. Depending on the target site of the RNA, we could obtain up to hundred percent local and systemic silencing. We showed that when the systemically silenced leaves were transferred into the tissue culture, the silencing was kept through the callus stage and newly growing shoots gave rise

digem Silencing des Transgens entstanden. Das Silencing wurde nicht durch eine umfassende Methylierung der Promotorsequenz verursacht, da es in der nächsten Generation nicht aufrechterhalten wurde. Wir konnten also nachweisen, dass die Genexpression nur durch posttranskriptionelles Gen-Silencing über kleine interferierende RNAs gesteuert werden kann. Derzeit optimieren wir die Verwendung von 22nt siRNAs zur Kontrolle der Expression eines Endogens. Wenn dies gelingt, wird es ein neues Feld der Pflanzenzüchtung eröffnen, das eine Kontrolle der Genexpression ermöglicht, die bei der vegetativen Vermehrung ohne jegliche genetische oder epigenetische Manipulation vererbbbar ist.

### Epigenetische Modifikationen durch RNA

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

Zusammen mit der DNA-Methylierung hat sich gezeigt, dass die Histon-Methylierung eine wichtige Rolle bei der stabilen Vererbung von Genregulationsinformationen spielt. Wir haben ein Chromatin-Immunpräzipitationsexperiment an den mit 24nt siRNA besprühten *N. benthamiana*-Proben durchgeführt und gezeigt, dass die Einführung von siRNAs auch zu einem leichten Anstieg der Histon-Methylierung an der Zielstelle führt. Die mit 24nt siRNA besprühten Proben zeigten jedoch keinen vererbaren Silencing-Phänotyp, was darauf hindeutet, dass die Menge der Histon-Methylierung unter einem bestimmten Schwellenwert liegt.

to fully silencing plants. The silencing was not driven by extensive methylation of the promoter sequence, as it was not maintained in the next generation. Therefore, we proved that the gene expression could be controlled only by triggering post-transcriptional gene silencing via small interfering RNAs. Currently, we are optimizing the use of 22nt siRNAs to control the expression of an endogene. When succeeded, it will be open up a new field of plant breeding, which allows gene expression control, which is heritable upon vegetative reproduction without any genetic or epigenetic manipulation.

### Modifying Epigenetics via RNA

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

Together with DNA methylation, it has been shown that histone methylation plays an important role in stable inheritance of gene regulatory information. We performed a chromatin immunoprecipitation experiment on the 24nt siRNA sprayed *N.benthamiana* samples and we have shown that the introduction of siRNAs also lead to mild increase in the histone methylation at the target site. However, the 24nt siRNA sprayed samples did not show heritable

Unser Ziel ist es, die HPST-Methode auf Kartoffelpflanzen anzuwenden, um die endogene Expression zu verändern und die Kartoffelpflanzen hitzeresistenter zu machen. Dazu sprühen wir 22nt, 24nt siRNAs und große dsRNAs, die auf Reportergene oder Endogene in der Kartoffel abzielen.

---

silencing phenotype, suggesting that the amount of histone methylation is below a certain threshold.

Our aim is to apply the HPST method on potato plants to be able to modify endogene expression for making potato plants heat resilient. Therefore, we spray 22nt, 24nt siRNAs and large dsRNAs, targeting reporter genes or endogenes in potato.

---

### Kontakt/Contact



Translational Plant Epigenetics Group  
Dr. Veli Vural Uslu  
Fon: 06321 671 1330  
Email: [velivural.uslu@agroscience.rlp.de](mailto:velivural.uslu@agroscience.rlp.de)

# Proteomics

## Proteomics

### Phytoplasma-Wirt Interaktion und Pflanzenviren für die Nanobiotechnologie

*Phytoplasma-Host Interactions and Virus Particles for Nanobiotechnology*

#### Einleitung

Phytoplasmen sind pflanzenpathogene Gram-positive Eubakterien, die zur Klasse der Mollicutes gehören und der neuen provisorischen Gattung "*Candidatus Phytoplasma*" zugeordnet wurden. Phytoplasmen leben im Phloem infizierter Pflanzen und verursachen verschiedene Krankheiten bei mehreren hundert Pflanzenarten. Sie werden durch phloemfressende hemipteröse Insekten übertragen, hauptsächlich durch Blatthüpfer (Cicadellidae), Heuschrecken (Fulgoroidea) und Psylliden (Psyllidae). Phytoplasmen verursachen weltweit Ertragseinbußen bei Nutzpflanzen wie Apfelbäumen, indem sie die Frucht-, Blüten- und Samenbildung beeinträchtigen. Die Apfeltriebsucht ist eine der wichtigsten Apfelkrankheiten, die durch '*Candidatus Phytoplasma mali*' ('*Ca. P. mali*') verursacht wird und fast alle Apfelsorten befällt. Die befallenen Pflanzen zeigen die Hexenbesen-Krankheit (zunehmende Anzahl von Trieben mit buschigen, verzweigten, verzweigten Merkmalen) und vergrößerte Nebenblätter. Die Früchte der befallenen Pflanzen nehmen in Größe (bis zu 50 %), Gewicht (bis zu 70 %) und Fruchtqualität ab, was zu massiven Ertragseinbußen und ökologischen Schäden in der Apfelproduktion führt.

#### Proteomik von '*Ca. P. mali*'

In der vorliegenden Studie untersuchten wir die funktionellen Eigenschaften des Immunodomiant-Proteins (Imp), das auf der Phytoplasma-Membran lokalisiert ist und möglicherweise seine Bewegung in den Pflanzen- oder Insektenwirtszellen erleichtert, genauer. Da die Lage einer mutmaßlichen Aktin-bindenden Region innerhalb des Imp-Proteins unbekannt ist, haben wir die Imp-Proteinsequenzen verschiedener '*Ca. P. mali*'-Stämme abgeglichen und eine Aktin-bindende

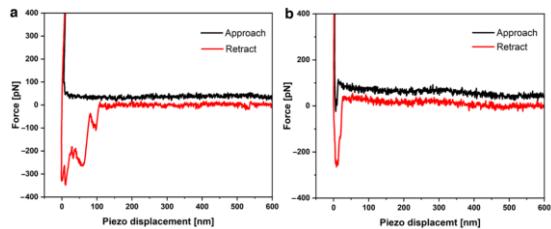
#### Introduction

Phytoplasmas are plant pathogenic Gram-positive eubacteria belonging to the class Mollicutes and were assigned to the novel provisional genus '*Candidatus Phytoplasma*'. Phytoplasmas reside in the phloem of infected plants and cause various diseases in several hundreds of plant species. They are transmitted by phloem-feeding hemipterous insects, mainly leafhoppers (Cicadellidae), planthoppers (Fulgoroidea), and psyllids (Psyllidae). Phytoplasmas cause yield losses in crops, such as apple trees, worldwide by affecting fruit, flower, and seed formation. Apple proliferation is one of the most important apple diseases caused by '*Candidatus Phytoplasma mali*' ('*Ca. P. mali*') and affects almost all apple cultivars. The infected plants show witches' broom disease (increasing number of shoots with bushy, dwarfed, branching features) and enlarged stipule. The fruits of infected plants decrease in size (up to 50%), weight (up to 70%), and fruit quality, thus leading to massive yield losses and economic damage in apple production.

#### Proteomics of '*Ca. P. mali*'

In the present study, we examined the functional properties of Immunodomiant protein (Imp) which is localized on the phytoplasma membrane and possibly facilitates its movement in the plant or insect host cells in more detail. Since the location of a putative actin-binding region within the Imp protein is unknown, we aligned the Imp protein sequences of different '*Ca. P. mali*' strains and identified an actin-binding region *in vivo* and *in vitro* by confocal microscopy and a co-sedimentation assay. Additionally, we applied single-molecule force spectroscopy (SMFS) to the most promising Imp mutant (missing actin-binding site) compared to the Imp wildtype to show the

Region *in vivo* und *in vitro* durch konfokale Mikroskopie und einen Co-Sedimentationstest identifiziert. Zusätzlich wendeten wir Einzelmolekül-Kraftspektroskopie (SMFS) auf die vielversprechendste Imp-Mutante (fehlende Aktin-Bindungsstelle) im Vergleich zum Imp-Wildtyp an, um die reduzierte Interaktion zu zeigen. Wir stellen fest, dass die aktinbindende Domäne von Imp-PM19 ein stark positiv geladenes Aminosäurecluster enthält. Außerdem zeigen wir, dass Imp an das Aktin von Apfel (*Malus x domestica*) bindet, der Wirtspflanze von '*Ca. P. mali*' ist. Unser Ergebnis könnte es ermöglichen, eine mögliche Korrelation zwischen Imp-Varianten und der Infektiosität der entsprechenden '*Ca. P. mali*'-Isolate zu untersuchen.



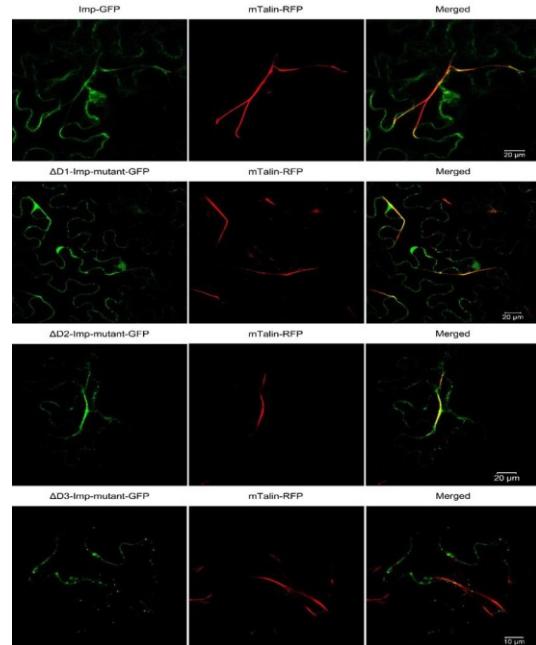
**Figure 2.** Single molecule force distance curves of an Imp-PM19/ΔD3-Imp-PM19 mutant functionalized SMFS-tip on the F-actin/rabbit surface measured by SMFS. The interactions of F-actin/rabbit with the Imp-PM19 (a) and the ΔD3-Imp-PM19 mutant (b) are represented.

**Abbildung 2.** Mit SMFS gemessene Einzelmolekül-Kraft-Abstandskurven einer mit Imp-PM19/ΔD3-Imp-PM19-Mutanten funktionalisierten SFM-Spitze auf der F-Aktin-Kaninchenoberfläche. Dargestellt sind die Wechselwirkungen von F-Aktin-Kaninchen mit dem Imp-PM19 (a) und der ΔD3-Imp-PM19-Mutante (b).

## Pflanzenviruspartikel als Bausteine für Nanomaterialien

Pflanzenviren sind perfekte Kandidaten für die Konstruktion von nanobiotechnologischen Geräten. Für den Einsatz in komplizierten 2D- oder 3D-Architekturen ist eine stabile, geordnete Virusschicht als Basisebene eine Voraussetzung. In einem von der DFG geförderten Kooperationsprojekt mit der Universität Kaiserslautern (Prof. Ziegler) haben wir herausgefunden, dass die Immobilisierung von TBSV-Viruspartikeln mittels Coulomb-gestützter Selbstorganisation auf einer Matrix eine Instabilität bei der weiteren Verarbeitung in einer Lösung

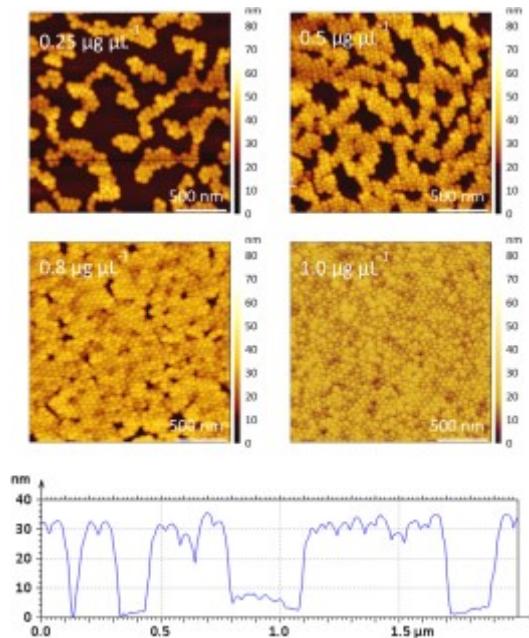
reduziert. We find that the actin-binding domain of Imp-PM19 contains a highly positively charged amino acid cluster. Moreover, we show that Imp binds to the actin of apple (*Malus x domestica*), which is the host plant of '*Ca. P. mali*'. Our result could allow investigating a possible correlation between Imp variants and the infectivity of the corresponding '*Ca. P. mali*' isolates.



**Figure 1.** Co-expression of Imp-PM19, its mutants and mTalin in planta. Imp-PM19 and its mutants were fused with GFP and co-transiently expressed with mTalin fused to RFP to mark the plant actin. The localization of expressed proteins were analyzed by visualizing the infiltrated leaves mesophyll under confocal microscopy using GFP and RFP filters. The F-actin can be clearly seen as a long stretch filament (Red colour) in the middle panel. Co-localization of Imp-GFP and mTalin-Red is indicated by yellow colouring in the merger.

**Abbildung 1.** Koexpression von Imp-PM19, seinen Mutanten und mTalin in planta. Imp-PM19 und seine Mutanten wurden mit GFP fusioniert und gemeinsam mit mTalin, das mit RFP fusioniert ist, exprimiert, um das Pflanzenaktin zu markieren. Die Lokalisierung der exprimierten Pro-Teine wurde durch Visualisierung des infiltrierten Blattmesophylls unter konfokaler Mikroskopie mit GFP- und RFP-Filtern analysiert. Das F-Actin ist in der mittleren Abbildung deutlich als langgestrecktes Filament (rote Farbe) zu erkennen. Die Ko-Lokalisierung von Imp-GFP und mTalin-Red wird durch gelbe Färbung in der Fusion angezeigt.

darstellt. In dieser Studie haben wir eine innovative Strategie zur Immobilisierung von TBSV-Nanopartikeln durch spezifische Bindung angewandt. Gentechnisch hergestellte TBSV-Nanopartikel mit Strep-Tag II Seitenketten werden mit Hilfe von oberflächenimmobilisiertem Strep-Tactin verankert. Strep-Tactin, ein Streptavidin-Typ mit einer starken spezifischen Wechselwirkung mit dem Strep-Tag II-Protein, wird durch 3-Aminopropyltriethoxylan- und Maleimid-Funktionalisierung auf einem Silizium-Wafer immobilisiert. Dabei geht es um die Optimierung der Viruskonzentration und der pH-Werte der viralen Lösung, um eine optimale Verteilung der viralen Nanopartikel ohne Leerstellen während der Immobilisierung zu erreichen. Das Strep-Tactin/Strep-Tag II-System verbessert die Abdeckung der viralen Partikel auf dem Siliziumsubstrat im Vergleich zur direkten Immobilisierung auf dem unbehandelten Siliziumsubstrat deutlich. Die gebildeten Schichten weisen eine bemerkenswerte Stabilität auf, selbst unter Beschallung. Zur Validierung der Ergebnisse wurde die Rasterkraftmikroskopie als wichtiges Werkzeug für die Bildgebung.



**Figure 3.** SMFS height images of the Strep-Tag II TBSV connected to Strep-Tactin on the Si substrate: 0.2, 0.5, 0.8, and 1.0  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , respectively. The scanprofile at the bottom was taken along the line in the upper left image.

**Abbildung 3.** SMFS-Höhenbilder des Strep-Tag II TBSV in Verbindung mit Strep-Tactin auf dem Si-Substrat: 0,2, 0,5, 0,8 bzw. 1,0  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . Das Scanprofil unten wurde entlang der Linie im oberen linken Bild aufgenommen.

For more detail, please see Boonrod et al., 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24020968>

## Developing plant virus particles as building blocks for nano-materials

Plant viruses are perfect candidates for the construction of nano-biotechnological devices. When employed in intricate 2D or 3D architectures, a stable, ordered virus layer, as the foundational plane, is a prerequisite. In a cooperated project with the University Kaiserslautern (Prof. Ziegler) granted by DFG, we found that immobilizing TBSV virus particles using Coulomb-force-assisted self-assembly on a matrix is instability in further processing in a solution. In this study, we applied an innovative strategy for immobilizing tomato bushy stunt viral (TBSV) nanoparticles through specific binding. Genetically engineered TBSV nanoparticles with Strep-Tag II side chains are anchored using surface-immobilized Strep-Tactin. Strep-Tactin, an engineered type of streptavidin with a strong specific interaction with the Strep-Tag II protein, is immobilized on a silicon wafer through 3-aminopropyltriethoxylan and maleimide functionalization. Herein, the investigation involves optimizing the viral concentration and the pH values of the viral solution, facilitating the achievement of an optimal distribution of viral nanoparticles without vacancies during immobilization. The Strep-Tactin/Strep-Tag II system significantly improves the coverage of viral particles on the silicon substrate compared to the direct immobilization onto the untreated silicon substrate. The formed layers exhibit remarkable stability, even under sonication. To validate the findings, scanning force microscopy serves as a critical tool for imaging.

These stable, nearly perfect Strep-Tag II TBSV monolayers are now used as templates for complex 3D structures involving other viruses, aiming to generate functional components for nano-devices.

For more detail please see He et al., 2024.  
<https://doi.org/10.1002/pssa.202300864>



**Dr. Kajohn Boonrod**

Tel.: +49 (0)6321 / 671-1333

Kajohn.boonrod@agroscience.rlp

# Molekulare Pflanzenzüchtung

## *Molecular Plant Breeding*

### Die Riegelung des Holzes

#### *Wavy grain in timber*

„Die Riegelung des Holzes“, so lautet der Titel eines Artikels, der Ende 2023 im Holz-Zentralblatt erschien. Verfasst wurde der Artikel von dem Forschungsverbund WERTHOLZ, welcher von der RLP AgroScience koordiniert wird. Unter Federführung von Volker Haag vom Thünen-Institut für Holzforschung in Hamburg entstand so ein Übersichtsartikel über die Riegelahorn-Forschung in Deutschland.

Seit Dekaden beschäftigen sich Wissenschaftler unterschiedlichster Disziplinen mit einer besonderen Wuchseigenschaft einer Vielzahl von Hölzern, der Riegelung. Neben der charakteristischen Ästhetik, die die „wellenförmige“ Holzstruktur hervorbringt, werden den Hölzern auch spezielle physikalische und technische Qualitäten wie die Unterstützung der akustischen Eigenschaften und besonders hohe Festigkeiten zugesprochen. Bereits vor über 300 Jahren hatte Antonio Giacomo Stradivari (1648–1737) die Besonderheiten des Riegelahorns erkannt und nutzte sie für den Bau seiner Instrumente. Während die Ursachen der Wuchseigenschaft immer noch weitestgehend ungeklärt sind, bemüht sich seit 2015 ein Team aus Wissenschaftlern und Pflanzenzuchtxperten um die Vermehrung von Riegelahornbäumen und sucht nach Erklärungen des Phänomens. Nach acht Jahren Projektarbeit glaubt man nun, erste richtungsweisende Anhaltspunkte gefunden zu haben.

Die „Riegelung“ ist aber nur eines einer ganzen Reihe unterschiedlicher wertsteigernder Strukturmerkmale, die in bestimmten Gruppen von Holzarten teilweise

“Wavy grain in timber” is the title of an article that was published in the Holz-Zentralblatt at the end of 2023. The article was written by the WERTHOLZ research network, which is coordinated by RLP AgroScience. Under the leadership of Volker Haag from the Thünen Institute of Wood Research in Hamburg, an overview article on curly maple research in Germany was written.



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

For decades, scientists from a wide range of disciplines have been studying a special growth characteristic of a large number of woods, namely wavy grain. In addition to the characteristic aesthetic appearance that the "wavy" wood structure produces, the woods are also said to have special physical and technical qualities such as supporting acoustic properties and particularly high

regelmäßig, teilweise unregelmäßig auftreten. Was sie alle eint, ist, dass sie im Vergleich zu schlicht gewachsenem Holz eine weitaus individuellere Ästhetik besitzen, und es gilt: je seltener, desto kostbarer.

Jedoch sind die Ursachen, die für das Auftreten der Riegelung verantwortlich sind noch völlig unbekannt. Auch über die Vor- und Nachteile der Riegelung für den betroffenen Baum, beispielsweise für die Statik des lebenden Baumes, den Nährstofftransport oder die Wasserleitung resultieren, weiß man noch sehr wenig. Ein Grund für die wenigen bekannten Daten ist, dass es sehr schwierig ist, klärende Studien durchzuführen, da man es einem lebenden Baum von außen nicht ansehen kann, ob und wie stark eine Riegelung ausgeprägt ist. Bekannt ist lediglich, dass das Phänomen selten ist und der „Riegelahorn“ im gesamten geografischen Verbreitungsgebiet von beispielsweise dem Bergahorn (*A. pseudoplatanus*) mit einer Häufigkeit von bis zu 7 % beobachtet werden kann, manchmal mit lokalen Konzentrationen, die von den Standortbedingungen unabhängig zu sein scheinen.

Die Frage nach den Ursachen und der Vererbbarkeit der Riegelung ist für zukünftige Züchtungsbestrebungen von hoher Relevanz. Bereits in den 1950er-Jahren wurde das Potenzial geriegelter Bäume erkannt und von 1959 bis 1964 eine Samenplantage aus Ppropflingen von Bergahorn zur Gewinnung hochwertigen Saatgutes an der NW-FVA im Forstamt Reinhardshagen angelegt. Die Kriterien zur Auswahl der Plus-Bäume umfassten verschiedene Parameter wie Geradschaftigkeit, Wuchsleistung oder Besonderheiten des Holzes. Unter den insgesamt 21 ausgewählten Plus-Bäumen befanden sich auch einige mit Riegelung sowie ein Vogelaugenahorn. Aus der Samenplantage wurde im Jahr 1983 Saatgut von elf Klonen geerntet. Die aus dem Saatgut angezogenen Sämlinge wurden 1986 in einer Nachkommenschaftsprüfung zur späteren Bewertung der Wuchseigenschaften und holzanatomischen Merkmale auf zwei Flächen in Hessen angepflanzt, im Forstamt

strength. Antonio Giacomo Stradivari (1648-1737) recognised the special characteristics of curly maple over 300 years ago and used them to build his instruments. While the causes of the growth characteristic are still largely unexplained, a team of scientists and plant breeding experts have been endeavouring to propagate curly maple trees since 2015 and are looking for explanations for the phenomenon. After eight years of project work, they now believe they have found the first clues that point the way forward. However, "wavy grain" is only one of a whole series of different value-enhancing structural features that occur in certain groups of wood species, sometimes regularly, sometimes irregularly. What they all have in common is that they have a far more individual aesthetic compared to simply grown wood, and the rarer they are, the more valuable they are.

However, the causes responsible for the occurrence of blockages are still completely unknown. Little is also known about the advantages and disadvantages of blockages for the affected tree, for example for the statics of the living tree, the transport of nutrients or the flow of water. One reason for the little known data is that it is very difficult to carry out clarifying investigations, as it is not possible to see from the outside of a living tree whether and to what extent the blockage is pronounced. All that is known is that the phenomenon is rare and that "locking maple" can be observed with a frequency of up to 7 % throughout the entire geographical distribution area of the sycamore maple (*A. pseudoplatanus*), for example, sometimes with localised concentrations that appear to be independent of the site conditions.

The question of the causes and heritability of locking is highly relevant for future breeding endeavours. The potential of wavy grain trees was recognised as early as the 1950s and a seed plantation of sycamore maple grafts was established at the NW-FVA in the Reinhardshagen forest from 1959 to 1964 to obtain high-quality seed. The criteria for selecting the Plus trees included various parameters such as straightness, growth performance and special features of the wood. The total of 21 Plus trees selected

Romrod und in Schotten. Die inzwischen fast 40-jährigen Nachkommenschaften erlauben eine Bewertung des Holzes hinsichtlich der Riegelung. Somit besteht die Chance, anhand der bekannten Samenplantageneltern die mögliche Vererbung der Riegelung nachzuverfolgen und daraus weitere Erkenntnisse zu gewinnen. Somit steht dem Forschungsverbund weltweit einmaliges Material zur Untersuchung der genetischen Ursachen zur Verfügung.



**Abb. 1: Der Riegelahorn-Baum Me6 (mitte) von der Samenplantage Jungviehweide diente als Grundlage für die Transkriptomanalyse.**  
**Fig. 1: The wavy grain sycamore tree Me6 (centre) from the seed orchard Jungviehweide served as the source for the transcriptome analysis.**

Im Rahmen des aktuellen Wertholz-Projekts konnten durch „Fenstern“ an lebenden Bäumen Kambium-Proben von geriegelten und schlüchten Vollgeschwistern entnommen werden, die eine geriegelte Mutter und einen schlüchten Vater hatten. Aufgrund der Verwandtschaftsverhältnisse ist dieses zu vergleichende Material relativ wenig genetisch divers. Das Konsortium erwartet, mit der Analyse dieses Untersuchungsmaterials einen wesentlichen Schritt in Richtung Ursachenaufklärung der Riegelung zu machen. Hierzu führt die RLP AgroScience eine vergleichende Trans-

included some with wavy grain and a bird's eye maple. Seeds from eleven clones were harvested from the seed orchard in 1983. The seedlings grown from the seed were planted in 1986 in a progeny test for later evaluation of the growth characteristics and wood anatomical features on two areas in Hesse, in the Romrod and Schotten forestry offices. The progeny, which are now almost 40 years old, make it possible to evaluate the wood with regard to locking. This gives us the opportunity to trace the possible inheritance of the barring on the basis of the known seed orchard parents and to gain further insights from this. This provides the research network WERTHOLZ with globally unique material for analysing the genetic causes of the wavy grain phenomenon.

As part of the current Wertholz project, cambium samples from wavy-grained and plain full siblings with a wavy-grained mother and a plain father were taken by sampling living trees. Due to the relationship, this material to be compared is relatively less genetically diverse. The consortium expects to take a significant step towards clarifying the causes of barring by analysing this test material. To this end, RLP AgroScience is carrying out a comparative transcription analysis. In order to take epigenetic aspects into account, the status of miRNA accumulation will also be analysed.

The consortium, a team of 6 project partners, has worked on 2 collaborative projects on "curly-leaved corn maple" over the last 9 years: The "Riegeahorn" project, which ran from 2015 to 2019, was funded by the Landwirtschaftliche Rentenbank. The follow-up project "Wertholz", which runs from 2021 to 2024, is funded by the Agency for Renewable Resources (FNR). In addition to RLP AgroScience, the project partners are the Thünen Institute of Forest Genetics, the Thünen Institute of Wood Research, the Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Reinholt Hummel GmbH + Co KG and the Institut für Pflanzenkultur GmbH + Co KG.

riptionsanalyse durch. Um epigenetische Aspekte auch zu berücksichtigen, wird der Status der miRNA-Akkumulation mituntersucht.

---

Das Konsortium, ein Team aus 6 Projektpartnern, hat in den letzten 9 Jahren 2 Verbundprojekte zu dem Thema Riegelahorn bearbeitet: Das Projekt „Riegeahorn mit der Laufzeit von 2015 bis 2019 wurde von der Landwirtschaftlichen Rentenbank gefördert. Das Nachfolge-Projekt „Wertholz“ mit der Laufzeit von 2021 bis 2024 wird von der Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe (FNR) gefördert. Projektpartner sind neben der RLP AgroScience das Thünen Institut für Forstgenetik, das Thünen Institut für Holzforschung, die Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Reinholt Hummel GmbH + Co. KG und das Institut für Pflanzenkultur GmbH + Co KG.

Der im Rahmen des diesjährigen Jahresbericht beschriebene Fachartikel ist unter folgender Zitation zu finden:

The technical article described in this year's annual report can be found under the following citation:

*Volker Haag, Cornelia Bäucker, Andreas Meier-Dinkel, Anne-Mareen Eisold, Annette Fuchs, Imke Hutter, Vitalina Karfik, Tim Lewandrowski, Heike Liesebach, Mona Quambusch, Lothar Schatz, Volker Schneck und Michael Wallbraun (2023): Die Riegelung des Holzes (Teil I). Holz-Zentralblatt 49 817-819*

---

## Kontakt

## Contact



**Dr. Michael M. Wallbraun**

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1350

[michael.wallbraun@agroscience.rlp.de](mailto:michael.wallbraun@agroscience.rlp.de)

# Genomics

## Genomics

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

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

### Vicin/Convicin-arme Ackerbohnen

Die Ackerbohne (*Vicia faba* L.) enthält in Ihren reifen Samen zwei unerwünschte Inhaltsstoffe, Vicin und Convicin (Abk. „V/C“). Bei der Verwendung als Tierfutter führt die Anwesenheit dieser Antinutritive zu Leistungsverlusten und für den menschlichen Verzehr kann dies -bei gleichzeitigem Vorhandensein eines erblich bedingten Mangels an Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase- eine ernsthafte gesundheitliche Bedrohung darstellen.

Daher ist es ein Bestreben der Ackerbohnenzüchtung, den Gehalt der beiden Inhaltsstoffe maximal zu reduzieren bzw. möglichst komplett zu eliminieren. V/C-arme Sorten werden zunehmend angebaut. Es ist nur eine züchterisch relevante Mutation für einen genetisch bedingt sehr niedrigen V/C-Gehalt von Ackerbohnen-Samen beschrieben, die in alle aktuell auf dem Markt verfügbaren Niedrig-V/C-Sorten eingekreuzt wurde. Dieser im Vergleich zum Wildtyp um 95% reduzierte V/C-Gehalt vererbt sich nach den Mendel'schen Regeln monogen rezessiv mit intermediärer Ausprägung bei Heterozygotie. Vieles deutete daher seit längerem auf die Existenz eines sog. „V/C-Gens“ hin.

Das „VC1“-Gen auf Chromosom 1 von *V.faba* wurde identifiziert und seine enzymatische Funktion aufgeklärt (Abb.1). Dieses Gen war überraschenderweise seit langem in der Literatur als „RIBA1“ bekannt, ein essentielles Enzym der Riboflavin-Biosynthese. Was bisher nicht bekannt war, dass RIBA1/VC1 auch das Schlüsselenzym der V/C-Biosynthese ist auch die erste essentielle Vorstufe von insgesamt 4 postulierten Schritten hin zu den beiden Pyrimidin-Glykosiden Vicin und Convicin synthetisiert.

Die molekulargenetische Ursache der V/C-Armut wurde in einer zwei Basen umfassenden „AT“-Insertion in dem Leseraster für RIBA1 lokalisiert, welche exklusiv in der Genvariante

### Vicine/convicine depleted faba beans

The field bean (*Vicia faba* L.) contains two undesirable substances in its ripe seeds, vicine and convicine (abbr. 'V/C'). When used as animal feed, the presence of these antinutrients leads to loss of performance and for human consumption this can pose a serious health threat in the presence of a hereditary deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase.

It is therefore an endeavour of field bean breeding to reduce the content of both ingredients as much as possible or to eliminate them completely. Low V/C varieties are increasingly being cultivated. Only one breeding-relevant mutation has been described for a genetically very low V/C content of field bean seeds, which has been crossed into all low-V/C varieties currently available on the market. This V/C content, which is reduced by 95% compared to the wild type, is inherited according to Mendelian rules in a monogenic recessive manner with intermediate expression in heterozygotic progeny. There have therefore been many indications for some time that a so-called 'V/C gene' exists.

• Genom-Modell VC1-*V.faba* var. Hedin Chr1L- Überblick (Blastn-Treffer)

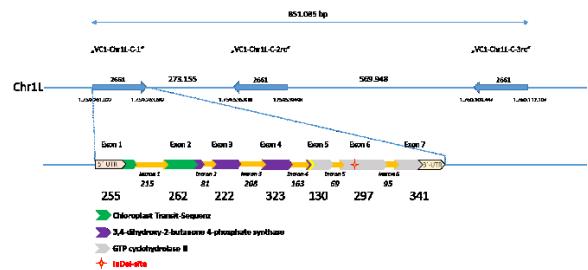


Abb. 1: VC1-Gen Modell  
Fig. 1: VC1 gene model

The 'VC1' gene on chromosome 1 of *V.faba* has been identified and its enzymatic function elucidated (Fig.1). Surprisingly, this gene had long been known in the literature as 'RIBA1', an essential enzyme in riboflavin biosynthesis. What was previously unknown was that RIBA1/VC1 is also the key enzyme of V/C biosynthesis and synthesises the first essential

des Niedrig-V/C-Genotyps „Mélodie“ nachgewiesen wurde. Durch eine Leseraster-Verschiebung führt diese Insertion letztlich zu einem vorzeitigen Abbruch der RIBA1/VC1-Proteinsynthese und letztlich zu einem nicht-funktionierenden Enzym.

Wir wollen einen molekularen Marker entwickeln, der auf dieser AT-Insertion direkt ansetzt und den Selektionsprozess der Vorlauf- und Sorten-Züchtung von V/C-armen Sommer- und Winterbohnen zu möglichst 100% absichern kann.

Nach Analysen des Anfang März 2023 publizierten *V.faba* Genoms für die Sorte Hedin (hoher V/C-Gehalt) und die Sorte Tiffany (V/C-arm) ist mit bis zu fünf untereinander sehr ähnlichen VC1 Gensequenzen je Genom für das VC1 Gen auf Chromosom 1 zu rechnen (Jayakodi et a. 2023). Welche dieser VC1-Kopien die aktive und damit auch der AT-Mutation Unterliegende ist, kann anhand der publizierten Genomdaten nicht entschieden werden. Dazu bedürfte es einer umfangreichen, molekulargenetischen und funktionellen Charakterisierung aller VC1-Genvarianten über NGS-Sequenzierung in verschiedenen genetischen *V.faba*-Herkünften.

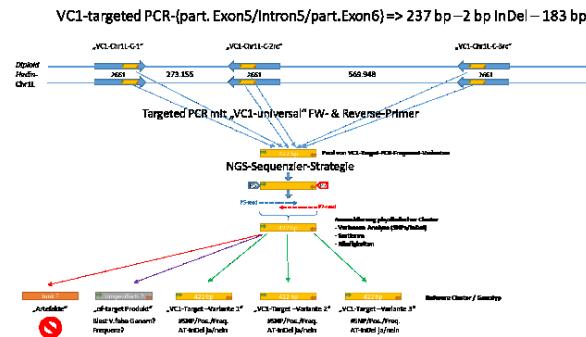


Abb. 2: PCR-basierte Genotypisierungsstrategie  
Fig. 2: PCR-base Genotyping strategy

Wir haben daher eine fokussierte Genotypisierung (Abb.2) im Bereich von ca. 200 Basen vor und hinter der Mutationsstelle auf der genetischen DNA bei 228 unterschiedlichen Genotypen durchgeführt, um variable und konservierte Sequenzbereiche um die potentielle Mutationsstelle herum zu identifizieren. Dabei nutzen wir die hohe Ähnlichkeit unter den unterschiedlichen VC1-Genkopien aus, amplifizierten über PCR einen Pool an 420 bp großen DNA-Abschnitten, welche anschließend über NGS sequenziert wurden.

precursor of a total of 4 postulated steps towards the two pyrimidine glycosides vicine and convicine. The molecular genetic cause of V/C poverty was localised in a two-base ‘AT’ insertion in the reading frame for RIBA1, which was exclusively detected in the gene variant of the low V/C genotype *V.faba* Mélodie. Due to a reading frame shift, this insertion ultimately leads to a premature termination of RIBA1/VC1 protein synthesis and ultimately to a non-functioning enzyme.

We want to develop a molecular marker that is based directly on this “AT” insertion and can ensure the selection process of the pre-breeding and variety breeding of low-V/C spring and winter beans as 100% as possible.

According to analyses of the *V.faba* genome published at the beginning of March 2023 for the Hedin variety (high V/C content) and the Tiffany variety (low V/C content), up to five very similar VC1 gene sequences per genome can be expected for the VC1 gene on chromosome 1 (Jayakodi et a. 2023). Which of these VC1 copies is the active one and therefore also the one underlying the AT mutation cannot be decided on the basis of the published genome data. This would require a comprehensive molecular genetic characterisation of all VC1 gene variants via NGS sequencing in different genetic *V.faba* origins.

We therefore carried out a focused genotyping (Fig.2) in a region spanning 200 bases upstream and downstream of the mutation site on the genomic DNA in 228 different genotypes to identify variable and conserved sequence regions around the potential mutation site. Taking advantage of the high sequence similarity between the different VC1 gene copies, we amplified a pool of 420 bp DNA segments via PCR, which were subsequently sequenced via Illumina Sequencing.

A total of 28 variants of this VC1 sequence segment were diagnosed, including two with the AT mutation that causes V/C poverty. However, the evaluation of the genotyping also revealed a characteristic ratio of AT mutation to wild-type sequence in those genotypes whose phenotype is described as V/C-poor. This means that the original idea

Es wurden insgesamt 28 Varianten dieses VC1-Sequenzabschnittes diagnostiziert, darunter zwei mit der V/C-Armut bedingenden AT-Mutation. Die Auswertung der Genotypisierung hat aber auch ein charakteristisches Verhältnis von AT-Mutation zu Wildtypsequenz in denjenigen Genotypen ergeben, deren Phänotyp als V/C-arm beschrieben ist. D.h. die ursprüngliche Idee eines einfachen qualitativen Nachweises der AT-Mutation über die An- oder Abwesenheit der Zweibasen-AT-Mutation musste in einen quantitativen Ansatz modifiziert werden, der das in der Genotypisierung gemessene Verhältnis abbilden kann. Wir testen aktuell unterschiedliche PCR-basierte Verfahren mit Allel-spezifischen Primern, über digital Droplet PCR und Taqman-Sonden (die letzten beiden Verfahren über einen erfahrenden Dienstleister).

Das bisherige Pflanzenmaterial bestand allerdings aus rein homozgoten Wildtypen oder homozgoten vc1-Mutanten (Niedrig-V/C-Phänotyp). Es ist notwendig, heterozygotes Material in die Assay-Entwicklung mit hineinzunehmen, wie es in Züchtungsprogrammen entsteht. Dazu werden entsprechende Proben aus der Züchtung benötigt. In heterozygoten Material wird sich das Verhältnis von Wildtypsequenz zu „AT“-Mutation im VC1-Gen ändern. Der Assay sollte in der Lage sein, diese Veränderungen abzubilden bzw. homozgot (Wildtyp oder Mutante) und heterozygot (Wildtyp und mutantes Allel) eindeutig zu unterscheiden

#### Referenz:

Jayakodi, M., Golicz, A.A., Kreplak, J. et al. (2023) The giant diploid faba genome unlocks variation in a global protein crop. *Nature* 615, 652–659. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05791-5>.

of a simple qualitative detection of the AT mutation via the presence or absence of the two-base AT mutation had to be modified into a quantitative approach that can map the ratio measured in the genotyping. We are currently testing different PCR-based methods with allele-specific primers, via digital droplet PCR and Taqman probes (the last two methods via an experienced service provider). However, the previous plant material consisted of purely homozygous wild types or homozygous vc1 mutants (low V/C phenotype). It is necessary to include heterozygous material in the assay development, as it arises routinely in breeding programmes. This requires appropriate samples from the current breeding programmes. In heterozygous material, the ratio of wild-type sequence to ‘AT’ mutation in the VC1 gene will change. The assay should be able to map these changes and clearly differentiate between homozygous (wild type or mutant) and heterozygous (wild type and mutant allele).

#### Kontakt

#### Contact



**Dr. Michael Höfer**

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

[michael.hofer@agroscience.rlp.de](mailto:michael.hofer@agroscience.rlp.de)

# Obstkrankheiten

## Fruit tree diseases

**Psyllid-Repell: Repellentstrategien gegen Phytoplasma-übertragende Psylliden**

**Psyllid-Repell: Repellent strategies against phytoplasma-vectoring psyllids**

Im europäischen Anbau von Apfel, Birne und Steinobst (vor allem Aprikose und Pfirsich) verursachen durch Phytoplasmen hervorgerufene Krankheiten große wirtschaftliche Schäden. Es gibt keine direkte Bekämpfungsmöglichkeit gegen diese im Phloem der Pflanzen lebenden zellwandlosen Bakterien. Sie werden durch phloemsaugende Psylliden der Gattung *Cacopsylla* übertragen. Die aktuelle Bekämpfung richtet sich daher gegen diese übertragenden Insekten.

Beim Apfel wird die Apfeltriebsucht (AT), verursacht durch *Candidatus Phytoplasma mali*, sehr effizient durch *Cacopsylla picta*, im Steinobst wird die Europäische Steinobstvergilbung (European stone fruit yellows, ESFY; Erreger: *Candidatus Phytoplasma prunorum*) durch *Cacopsylla pruni* übertragen. Beide Arten sind univoltin und haben einen vergleichbaren biologischen Zyklus. Sie infizieren sich als Larven oder Jungtiere an befallenen Bäumen und wandern im Frühsommer zu Koniferen, um Sommer und Winter dort zu verbringen. Während dieser Zeit vermehren sich die Phytoplasmen in den Insekten. Im zeitigen Frühjahr kommen die Psylliden als hoch-infektiöse Tiere in die Anlagen zurück (Remigrants) und übertragen die Phytoplasmen auf gesunde Bäume. Ziel des Projektes war es daher, mit einer umweltfreundlichen Methode die Psylliden von den Obstbäumen zu vergrämen und sie an Probestichen, die zu einer Übertragung der Krankheitserreger führen können, zu hindern.

Dieser Wechsel von Überwinterungswirt zu Reproduktionswirt wird durch pflanzenbürtige Duftstoffe beeinflusst. Bei der Suche nach Reproduktionswirtspflanzen wirken Koniferenduftstoffe daher repellent auf die Remigrants. Dies konnte durch double

In the European cultivation of apple, pear and stone fruit (especially apricot and peach), diseases caused by phytoplasmas cause major economic damage. These phloem-limited cell wall-less bacteria cannot be controlled by direct means. They are transmitted by phloem-sucking psyllids of the genus *Cacopsylla*. Current control measures are therefore directed against these transmitting insects.



**Abb. 1: *Cacopsylla pyri* Weibchen**

**Fig. 1: female of *Cacopsylla pyri***

In apple, apple proliferation (AP), caused by *Candidatus Phytoplasma mali*, is transmitted very efficiently by *Cacopsylla picta*; in stone fruit, European stone fruit yellows (ESFY; pathogen: *Candidatus Phytoplasma prunorum*) is transmitted by *Cacopsylla pruni*. Both species are univoltine and have a comparable biological cycle. They acquire the phytoplasma as larvae or emerging adults on infected trees and migrate to conifers in early summer to spend the summer and winter there. During this time, the phytoplasmas multiply in the insects. In early spring, the psyllids return to the orchards as highly infectious insects (remigrants) and transmit the phytoplasmas to healthy trees. The aim of the project was therefore to use an environmentally friendly method to repell the psyllids from the fruit trees and prevent them

choice-Versuche im Gewächshaus mit Koniferenextrakten sowohl für *C. picta* als auch für *C. pruni* gezeigt werden. Dabei sind Extrakte aus Tannennadeln wirksamer als Extrakte aus anderen Koniferenarten. Sie müssen allerdings zum Zeitpunkt der Migration der Psylliden gewonnen werden, um wirksam zu sein.

Der Birnenverfall (Pear decline, PD) wird durch *Candidatus Phytoplasma pyri* verursacht. Dieses Phytoplasma kann durch drei verschiedene Birnblattsauger-Arten übertragen werden. Dabei sind die beiden polyvoltinen Arten *Cacopsylla pyri* und *Cacopsylla pyricola* selbst direkte Schädlinge im Birnenanbau, die mit Insektiziden bekämpft werden. Sie kommen in hohen Populationsdichten vor. Jedoch haben unsere epidemiologischen Untersuchungen gezeigt, dass von der am weitesten verbreiteten Art *C. pyri* nur 0,4-4% der Tiere mit Phytoplasmen infiziert sind und davon nur ca. 40% als infektiös zu betrachten ist. Dies konnte durch quantitative PCR-Analysen gezeigt werden.

Unsere epidemiologischen Untersuchungen haben weiterhin gezeigt, dass die eher aus Nordamerika und England bekannte Art *C. pyricola* sich in Südwestdeutschland stark ausbreitet hat. Dies könnte ein Grund für die in den letzten Jahren beobachtete starke Ausbreitung von PD in Deutschland sein, da diese Art mit 2,9 – 9,4% einen wesentlich höheren Infektionsgrad mit *Ca. P. pyri* aufweist. Allerdings zeigten unsere quantitativen PCR-Analysen, dass von den infizierten Tieren nur ca. 40% als infektiös – und damit als Risiko – zu betrachten sind.

Die univoltine Art *Cacopsylla pyrisuga* wandert im zeitigen Frühjahr von ihren Überwinterungswirten in die Birnenanlagen zurück. Sie wurde bei unseren Untersuchungen in der Pfalz nur in geringen Populationsdichten gefunden und wies mit 0,7% auch nur einen geringen Infektionsgrad auf.

Das größte Risiko einer Phytoplasma-Übertragung besteht bei allen drei Birnblattsauger-Arten durch überwinternde, hoch-infektiöse Tiere im Spätwinter bzw. zeitigen Frühjahr. Eine Vergrämung der

from carrying out test bites that could lead to transmission of the pathogens.

This change from overwintering host to reproduction host is triggered by plant-borne volatiles. When searching for reproduction host plants, conifer volatiles therefore have a repellent effect on the remigrants. This was demonstrated by double choice experiments in the greenhouse with conifer extracts for both *C. picta* and *C. pruni*. Extracts from fir needles are more effective than extracts from other conifer species. However, they must be obtained at the time of migration of the psyllids in order to be effective.

Pear decline (PD) is caused by *Candidatus Phytoplasma pyri*. This phytoplasma can be transmitted by three different pear sucker species. The two polyvoltine species *Cacopsylla pyri* and *Cacopsylla pyricola* are themselves direct pests in pear growing that are controlled with insecticides. They occur in high population densities. However, our epidemiological investigations have shown that of the most widespread species *C. pyri* only 0.4 - 4% of the insects are infected with phytoplasmas and of these only approx. 40% can be considered infectious. This could be shown by quantitative PCR analyses.

Our epidemiological studies have also shown that the species *C. pyricola*, which is better known from North America and England, has spread rapidly in southwest Germany. This could be one reason for the heavy spread of PD observed in Germany in recent years, as this species has a significantly higher infection rate with *Ca. P. pyri* of 2.9 - 9.4%. However, our quantitative PCR analyses showed that only approx. 40% of the infected insects can be considered infectious - and thus a risk.

The univoltine species *Cacopsylla pyrisuga* migrates from its overwintering hosts back to the pear orchards in early spring. During our investigations in the Palatinate, it was only found in low population densities and only had a low infection rate of 0.7%.

migrierenden Tiere kann somit eine Infektion der Obstbäume verhindern. Gegen die Birnblattsauger wird bereits erfolgreich das Tonmineral Kaolin zur Vergrämung und Verhinderung der Eiablage eingesetzt. Die Behandlung hinterlässt allerdings unansehnlich weiße Bäume und der Belag ist nicht regenfest. Deshalb wurden in Zusammenarbeit mit einem großen Westerwälder Tonmineral-Produzenten neun verschiedene erdfarbene Tone getestet, die vor Blatt- und Blütenaustrieb auf die kahlen Äste von Kern- und Steinobst appliziert wurden und einen unauffälligen Belag bildeten. Alle Tone stammen aus Westerwälder Tongruben, weisen unterschiedliche Tonmineralzusammensetzungen und Partikelgrößenverteilungen auf und wurden mineralogisch-physikalisch-chemisch charakterisiert.

Ihre Wirksamkeit gegen die verschiedenen Psylliden-Arten wurde in mehrjährigen double choice-Gewächshausversuchen geprüft. Hierzu wurden Freilandfänge von *C. pyri*, *C. pyricola*, *C. pruni* sowie *C. picta* in Käfigzelten mit je einer behandelten und einer unbehandelten Pflanze gesetzt. Die Präsenz der einzelnen Tiere auf behandelter oder unbehandelter Pflanze wurde eine Woche lang morgens, mittags und abends bonitiert. Die statistische Auswertung der Daten zeigte, dass die Wirkung der verschiedenen Tone auf das Verhalten der Psylliden gänzlich unterschiedlich war. Das als Kontrolle eingesetzte Kaolin wirkte immer repellent, während einzelne Tonminerale sogar eine attraktive Wirkung hatten. Einzig ein Ton (TMG) hatte eine reproduzierbar hohe Repellenz gegen alle Psylliden-Arten mit Wirkungsgraden nach Abbot von über 90%. Es wirkte damit effizienter als das Referenzprodukt Kaolin. Der Belag mit TMG ist stammfarben, so dass eine Behandlung der Bäume nicht auffällt.

In ersten Freilandversuchen mit TMG in einer Birnenanlage des DLR Rheinpfalz konnte eine repellente Wirkung sowohl auf *C. pyri* als auch auf *C. pyrisuga* festgestellt werden (Abb. 2). Neben der Repellenz gegen die Psylliden wurde auch die Auswirkung auf Bestäuber und Nützlinge untersucht. Bislang wurden keine Beeinträchtigungen gefunden. Der neu ausgewählte Ton kann somit als reines Naturprodukt sowohl im



**Abb. 2: TMG-behandelte Birnenbäume**  
**Fig. 2: Application of TMG to pear trees**

The greatest risk of phytoplasma transmission for all three pear psyllid species is due to overwintered, highly infectious insects in late winter or early spring. Therefore, repelling the migrating insects can prevent infection of the fruit trees. The clay mineral kaolin is already being used successfully against pear psyllids to repel them and prevent them from laying eggs. However, the treatment results in ugly white trees and the coating is not rainproof. Therefore, in cooperation with a large Westerwald clay mineral producer, nine different earth-colored clays were tested, which were applied to the bare branches of pome and stone fruit before leaf and blossom emergence and formed an unnoticeable coating. All clays originate from Westerwald clay mines, have different clay mineral compositions and particle size distributions and were characterized mineralogically, physically and chemically.

Their efficacy against the various psyllid species was tested in multi-year double choice greenhouse trials. For this purpose, field catches of *C. pyri*, *C. pyricola*, *C. pruni* and *C. picta* were placed in cages with one treated and one untreated plant each. The presence of the individual insects on the treated or untreated plant was assessed for one week in the morning, at midday and in the evening. The statistical analysis of the data showed that the effect of the different clays on the behavior of the psyllids was completely different. The kaolin used as a control always had a repellent effect, while individual clay minerals even had an attractive effect. Only one clay (TMG) had a reproducibly high repellency against all psyllid species with Abbot efficiencies of

konventionellen als auch im biologischen Anbau eingesetzt werden und eine Bekämpfungslücke im zeitigen Frühjahr schließen.

---

## Kontakt

## Contact



**Dr. Wolfgang Jarausch**

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1307

[wolfgang.jarausch@agroscience.rlp.de](mailto:wolfgang.jarausch@agroscience.rlp.de)

over 90%. It was therefore more efficient than the reference product kaolin. The coating with TMG is trunk-colored, so that treatment of the trees is not noticeable.

In first field trials with TMG in a pear orchard of the DLR Rheinpfalz, a repellent effect on both *C. pyri* and *C. pyrisuga* was observed (Fig. 2). In addition to repellency against the psyllids, the effect on pollinators and beneficial insects was also investigated. So far, no adverse effects have been found. The newly selected clay can therefore be used as a purely natural product in both conventional and organic cultivation and close a control gap in early spring.

# Rebenbiotechnologie

## Grapevine biotechnology

Host-induced Gene silencing(HIGS) als Strategie zur Bekämpfung von Oomyceten bei Tomate und Weinrebe *Host-induced gene silencing(HIGS) as a strategy to control oomycetes in tomato and grapevine*

### Fungizideinsatz im Weinbau

Nutzpflanzen werden sowohl in der Vorernte- als auch in der Nacherntephase ständig von Krankheitserregern und Schädlingen heimgesucht, was weltweit zu einem Verlust von ca. 30 % der Ernten führt. Derzeit werden diese Krankheiten und Schädlinge weitgehend mit chemischen Pestiziden bekämpft, die schädliche Rückstände in der Umwelt hinterlassen können. Auch hat der häufig notwendige Einsatz von Fungiziden zur Entwicklung resistenter Pilzstämme gegen viele wichtige Fungizide geführt, die in der Landwirtschaft eingesetzt werden.

Der Weinbau weist den höchsten Fungizideintrag aller landwirtschaftlichen Produktionsformen auf. Auch der ökologische Weinbau steht aufgrund von Kupfereinträgen aufgrund der Bekämpfung des Falschen Mehltaus (*Plasmopara viticola*) in der Kritik. Aufgrund dieser Gegebenheiten wird nach wirksamen Alternativen gesucht.

### RNA Interferenz (RNAi) als Alternative zum Einsatz von Fungiziden

Eine natürliche „Wirkstoffklasse“ welche die Expression von Genen der Pflanze oder des Pathogens spezifisch beeinflussen kann, sind RNA-Spezies, die in verschiedenen Längen, Konformationen und spezifischen Sequenzen wirksam sein können: Der Prozeß, bezeichnet als RNA interference (RNAi), vermittelt das posttranskriptionale Gen-Silencing (PTGS) durch kleine RNA (sRNA). PTGS wird durch doppelsträngige RNA-Moleküle (dsRNA) ausgelöst, die von Dicer-like Proteinen (DCLs) zu kleinen interferierenden RNAs (siRNAs) mit einer Länge von 21-24 Nukleotiden (nt) verarbeitet werden. Diese werden auf Argonaut (AGO)-

### Fungicide use in viticulture

Crops are constantly attacked by pathogens and pests in both the pre-harvest and post-harvest phases, resulting in a loss of around 30% of harvests worldwide. Currently, these diseases and pests are largely combated with chemical pesticides, which can leave harmful residues in the environment. Also, the frequent need to use fungicides has led to the development of resistant strains of fungi to many of the major fungicides used in agriculture.

Viticulture has the highest fungicide input of all forms of agricultural production. Organic viticulture is also criticised for copper inputs due to the control of downy mildew (*Plasmopara viticola*). Due to these circumstances, effective alternatives are being sought.

### RNA interference (RNAi) as an alternative to the use of fungicides

RNA species, which can be effective in different lengths, conformations and specific sequences, are a natural "active ingredient class" that can specifically influence the expression of genes of the plant or the pathogen: The process, called RNA interference (RNAi), mediates post-transcriptional gene silencing (PTGS) by small RNA (sRNA). PTGS is triggered by double-stranded RNA molecules (dsRNA), which are processed by Dicer-like proteins (DCLs) into small interfering RNAs (siRNAs) with a length of 21-24 nucleotides (nt). These are loaded onto Argonaut (AGO) proteins thereby switching off genes with sequences complementary to this siRNA. In plants in particular, RNAi plays a crucial role in regulating gene expression in response to infection with pathogens and pests.

In addition to endogenous regulation, sRNAs are also transported between interacting

Proteine geladen und schalten so Gene mit komplementären Sequenzen zu dieser siRNA ab. Speziell bei Pflanzen spielt RNAi eine entscheidende Rolle bei der Regulierung der Genexpression als Reaktion auf eine Infektion mit Pathogenen und Schädlingen. Neben der endogenen Regulierung werden sRNAs auch zwischen interagierenden Organismen ausgetauscht, in einem Mechanismus, der als "Cross-Kingdom RNAi" bezeichnet wird.

Cross-kingdom RNAi ist Teil der pflanzlichen Abwehrreaktionen, bei denen Pflanzen sRNAs produzieren und übertragen, um Gene angreifender pathogener Pilze oder Oomyceten zu hemmen und so die Infektion zu stoppen. Umgekehrt sind aber auch phytopathogene Pilze in der Lage durch Sekretion von RNA in die Wirtszelle die pflanzliche Abwehrreaktion spezifisch zu schwächen.

Prinzipiell sind zwei Strategien für den Einsatz von RNA als fungizides Mittel denkbar. Zum einen durch klassische Sprühapplikation auf die Pflanzenoberfläche (spray induced gene silencing [SIGS]), wo die keimenden Sporen bzw. die Myzelien der Pilze oder Oomyceten wirksame RNA-Moleküle aufnehmen und diese dann den oben beschriebenen Mechanismus des gene silencing auslösen. Voraussetzung für eine effektive Wirksamkeit ist jedoch zum einen die effektive Aufnahme und zum anderen die Stabilisierung des chemisch instabilen Wirkstoffs. Des Weiteren ist die Auswahl der Ziel-Gene essentiell für die effektive Hemmung der Pathogenentwicklung. Diese Parameter sind aktuell im Zentrum der Forschung im Bereich von Fungizid-Ersatzstoffen. Im Hinblick auf den Green Deal der Europäischen Union, der bis 2030 eine 50-prozentige Reduktion von Pestiziden anstrebt, könnte der Einsatz von RNA dazu beitragen, den absehbaren Engpass in der Lebens- und Futtermittelproduktion zu verringern.

### Host induced gene silencing (HIGS)

Eine Alternative zur Ausbringung von RNA um vor Pilzen oder Oomyceten zu schützen ist die Expression wirksamer RNA in der

organisms in a mechanism known as "cross-kingdom RNAi".

Cross-kingdom RNAi is part of plant defence responses in which plants produce and transfer sRNAs to inhibit genes of attacking pathogenic fungi or oomycetes to stop infection. Conversely, phytopathogenic fungi are also able to specifically weaken the plant's defence response by secreting RNA into the host cell.

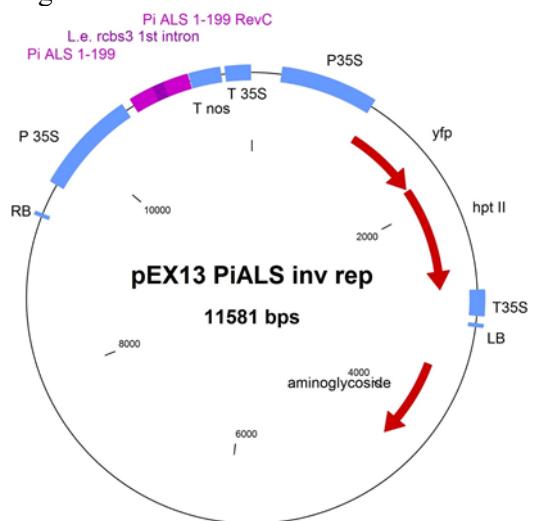
In principle, two strategies for the use of RNA as a fungicidal agent are conceivable. On the one hand, by conventional spray application to the plant surface (spray induced gene silencing [SIGS]), where the germinating spores or mycelia of the fungi or oomycetes take up effective RNA molecules and these then trigger the gene silencing mechanism described above. However, a prerequisite for effective efficacy is, on the one hand, effective uptake and, on the other hand, stabilisation of the chemically unstable active ingredient. Furthermore, the selection of target genes is essential for the effective inhibition of pathogen development. These parameters are currently at the centre of research in the field of fungicide substitutes. In view of the European Union's Green Deal, which aims to achieve a 50% reduction in pesticides by 2030, the use of RNA could help to reduce the foreseeable bottleneck in food and feed production.

### Host induced gene silencing (HIGS)

An alternative to the application of RNA to protect against fungi or oomycetes is the expression of effective RNA in the plant itself (transgenic approach). Here it is important to address relevant target genes in the pathogen whose silencing prevents the infection process or growth. Genes whose gene products are also fungicide targets are particularly suitable for this purpose. HIGS can be induced most effectively by dsRNA-producing transgene constructs (usually hairpin RNA). However, it is not clear whether double-stranded RNA or small RNAs that can be taken up by the pathogen are effective.

Stahl & Temme (2014) developed a HIGS approach to generate resistance in potatoes to the pathogen that causes late blight *Phytophthora infestans*. The target was the gene coding for acetolactate synthase (ALS), which is essential for the biosynthesis of

Pflanze selbst (transgener Ansatz). Eine Alternative zum Einsatz von RNA zum Schutz gegen Pilze oder Oomyceten ist die Expression wirksamer RNA in der Pflanze selbst (transgener Ansatz). Dabei ist es wichtig, relevante Zielgene im Erreger zu adressieren, deren Silencing den Infektionsprozess oder das Wachstum verhindert. Dazu bieten sich vor allem Gene an deren Genprodukte auch Fungizidtargets sind. HIGS kann am effektivsten durch dsRNA-produzierende Transgenkonstrukte (in der Regel Hairpin-RNA) induziert werden. Wobei aber nicht klar ist ob Doppelstrang-RNA oder aber auch um kleine RNAs wirksam sind, die vom Pathogen aufgenommen werden können.



**Abb. 1/FIG. 1: Binary vector based on pCambia 1300 . PiALS 1-199: sense arm of inverted repeat; L.e. rcb3 1st intron: tomato RUBISCO 1st intron; Pi ALS 1-199 RevC: antisense arm**

Stahl & Temme (2014) entwickelten einen HIGS-Ansatz, um bei Kartoffeln eine Resistenz gegen den Erreger der Kraut- und Knollenfäule *Phytophthora infestans* zu erzeugen. Ziel war das Gen das für die Acetylactat-Synthase (ALS) codiert, ein Enzym das für die Biosynthese aliphatischer Aminosäuren wie Alanin, Valin, Leucin oder Isoleucin essentiell ist. Auch Tomaten und andere Arten aus der Gattung Solanum können *P. infestans* als Wirt dienen.

Auf der Basis dieses Ansatzes wurde geprüft, ob auch in Tomaten eine Resistenz gegen diesen Schadorganismus erzeugt werden kann. Dazu wurde ein inverted repeat konstruiert, der eine 199bp stem Struktur und einen 100 bp loop des 1. Introns des rbcS-Gens von Tomate enthielt (Abb.1). Ein

aliphatic amino acids such as alanine, valine, leucine and isoleucine. Tomatoes and other species from the Solanum genus can also serve as hosts for *P. infestans*.

Based on this approach, it was tested whether resistance to this harmful organism can also be generated in tomatoes. For this purpose, an inverted repeat was constructed that contained a 199 bp stem structure of ALS and a 100 bp loop of the 1st intron of the rbcS gene of tomato. A comparable construct was generated with the homologous sequence of ALS from *Plasmopara viticola*, the pathogen of downy mildew of grapevine related with *P. infestans*. Both constructs were used for the transformation of tomato and also for the transformation of Chardonnay grapevines. The vector without inverted repeat was used as a control.

As part of a bachelor's thesis for the University of Mainz, the T2 generations of selfed tomatoes were tested for susceptibility to the late blight pathogen (Fig. 2).

The inoculation of leaflets of these transgenic tomato lines showed a significant reduction in the spread of infection in the leaf tissue in the approaches with the *P. infestans*-specific inverted repeat of ALS. Infection progress was also reduced in approaches with the IR-ALS construct specific for the downy mildew pathogen compared to the control.

The result confirms the high potential of the HIGS strategy for the control of oomycete pathogens. It also points to the high sequence specificity of their efficacy (the sequence homology of the *P. infestans* and *P. viticola* ALS inverted repeats is 70%) and thus to the low probability of negative off-target effects in the transgenic plants or even in humans. In addition to tomatoes, Chardonnay vines were also produced with the identical constructs in current trials. The general potential of this method will therefore also be tested on the woody model plant vine with the pathogen downy mildew, which is important for viticulture.

vergleichbares Konstrukt wurde mit der homologen Sequenz der ALS aus *Plasmopara viticola*, dem verwandten Erreger des Falschen Mehltaus der Weinrebe erzeugt. Beide Konstrukte wurden für die Transformation von Tomate verwendet, und ebenso für die Transformation von Chardonnay Reben.

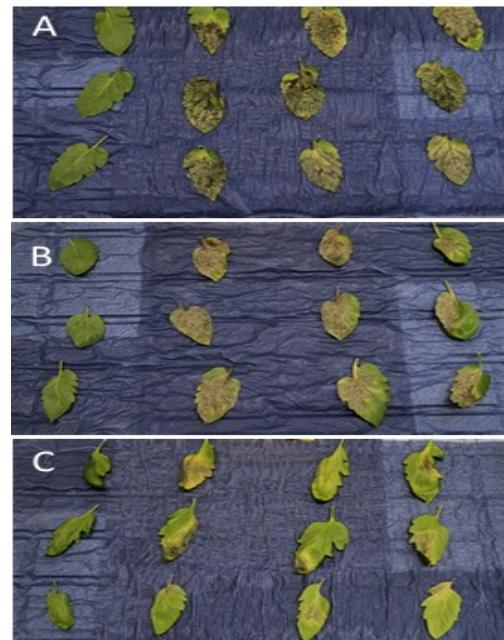
Im Rahmen einer Bachelor-Arbeit für die Universität Mainz, wurden die T2-Generationen geselbststeter Tomaten bezüglich der Empfindlichkeit gegenüber dem in bei der Tomate die „Braunfäule“ erzeugenden Erreger getestet (Abb.2).

Die Inokulation von Blattfiedern dieser transgenen Tomatenlinien zeigten bei den Ansätzen mit dem *P. infestans* spezifischen Inverted Repeat der ALS eine signifikante Reduktion der Ausbreitung der Infektion im Blattgewebe. Auch in Ansätzen mit dem für den Erreger des Falschen Mehltaus spezifischen IR-ALS Konstrukt war der Infektionsfortschritt im Vergleich zur Kontrolle reduziert.

Das Ergebnis bestätigt das hohe Potential der HIGS-Strategie für die Bekämpfung von Schaderregern aus dem Bereich der Oomyceten. Es weist auch auf die hohe Sequenzspezifität ihrer Wirksamkeit (die Sequenzhomologie der *P. infestans* bzw. *P. viticola* ALS inverted repeats beträgt 70%) und damit auf die geringe Wahrscheinlichkeit negativer off-target Effekte bei den transgenen Pflanzen oder gar dem Menschen. Neben Tomaten wurden in aktuellen Versuchen auch Chardonnay-Reben mit den identischen Konstrukten erzeugt. Das generelle Potential dieser Methode soll daher auch an der holzigen Modellpflanze Rebe mit dem für den Weinbau wichtigen Pathogen Falscher Mehltau getestet werden.

#### Literatur/References:

Stahl, D., & Temme, N. (2014). *Transgene Pflanze der Art Solanum tuberosum mit Resistenz gegenüber Phytophthora*. <https://www.google.com/patents/DE102012016009A1?cl=de>.



**Abb. 2 Tomatenblattfiedern von transgenen Tomatenpflanzen der T2 Generation, 7 Tage nach Inokulation mit *Phytophthora infestans* Sporangien.**

**A: Ohne inverted Repeat**

**B: Mit inverted repeat gegen *Plasmopara viticola* ALS**

**C: Mit inverted repeat gegen *Phytophthora infestans* ALS.**

**Fig. 2 Tomato leaflets of transgenic tomato plants of the T2 generation, 7 days after inoculation with *Phytophthora infestans* sporangia.**

**A: Without inverted repeat**

**B: With inverted repeat against *Plasmopara viticola* ALS**

**C: With inverted repeat against *Phytophthora infestans* ALS.**

#### Kontakt

#### Contact



Dr. Günther Buchholz

Fon: +49 (0)6321 / 671 – 1351

guenther.buchholz@agroscience.rlp.de

# Anwendungen der Digitalisierung

## *Applications of digitization*

**PlanED** - Entwicklung und Anwendung digitaler **Planungswerzeuge** für ökologische Aufwertungsmaßnahmen von **Eh da-Flächen** auf Landschaftsebene

*PlanED - Development and application of digital planning tools for ecological enhancement measures for Eh da-areas at landscape level*

Seit März 2023 bearbeitet die Abteilung „Anwendungen der Digitalisierung“ der RLP AgroScience das PlanED-Projekt, das von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt (DBU) bis März 2025 gefördert wird. Es ist als Verbundprojekt mit folgenden Kooperationspartnern konzipiert: Die regionale Institution vor Ort stellt das Forschungszentrum Neu-Ulrichstein (FNU) dar, das v.a. für den Wissenstransfer (u.a. für Kommunalbedienstete, Bildungseinrichtungen, Interessierte) und die Vernetzung mit diversen relevanten Akteuren vor Ort zuständig ist. Daneben sind die beiden die Modellregion des Vorhabens darstellenden und unmittelbar nebeneinander liegenden hessischen Städte, Homberg (Ohm) und Kirtorf (beide Vogelsbergkreis), unmittelbare Verbundpartner mit der Hauptaufgabe Maßnahmenumsetzung. Als assoziierte Partner komplettieren das Amt für Bodenmanagement (AfB) Fulda, die Untere Naturschutzbehörde (UNB) Vogelsbergkreis sowie E-SyCon vom Biologen Prof. Dr. Christoph Künast das Verbundprojekt.

Die Aufgaben der RLP AgroScience waren die Projektkoordination, Geodatenanalysen zur Bewertung von Eh da-Flächen (v.a. hinsichtlich ihrer Vernetzungswirkung), die Entwicklung des zentralen Planungswerzeugs, die Planung von Aufwertungsmaßnahmen, Drohnenbefliegungen zur Erfassung des Ausgangs- und Endzustands von Eh da-Flächen sowie die Betreuung von Abschlussarbeiten.

Since March 2023, the ‘Applications of Digitalisation’ department at RLP AgroScience has been working on the PlanED project, which is funded by the German Federal Environmental Foundation (DBU) until March 2025. It is designed as a joint project with the following cooperation partners: The regional institution on site is the Neu-Ulrichstein Research Centre (FNU), which is primarily responsible for knowledge transfer (e.g. for municipal employees, educational institutions, interested parties) and networking with various relevant local stakeholders. In addition, the two neighbouring Hessian towns of Homberg (Ohm) and Kirtorf (both in the Vogelsberg district), which represent the model region of the project, are direct partners with the main task of implementing the measures. The Amt für Bodenmanagement (AfB) Fulda, the Lower Nature Conservation Authority (UNB) Vogelsbergkreis and E-SyCon by biologist Prof. Dr. Christoph Künast complete the joint project as associated partners.



Abb. 1: Auftaktveranstaltung an der FNU in Homberg (Ohm) am 21.09.2023

Fig. 1: Kick-off event at the FNU in Homberg (Ohm) on 21/09/2023

## Zielsetzung

Vielfach nachgewiesen sind in Deutschland einerseits der Rückgang von Insekten und andererseits eine starke Konkurrenz diversester Interessensgruppen um verfügbare Flächen. In Potenzialstudien und bundesweit rund 50 kommunalen Eh da-Projekten hatte die RLP AgroScience vielfach nachgewiesen, dass Eh da-Flächen eine verfügbare Flächenressource sind, die geodatenbasiert erfasst und effizient an die Bedürfnisse der Insekten angepasst werden können. Denn Eh da-Flächen werden weder wirtschaftlich genutzt noch naturschutzfachlich gepflegt und sind i.d.R. in öffentlicher Hand. Durch die geodatenbasierte Herangehensweise mit Hilfe geographischer Informationssysteme (GIS) wird die räumliche Verteilung sämtlicher „biodiversitätsrelevanter“ Flächenkategorien berücksichtigt, so dass Eh da-Flächen mit geeigneten Maßnahmen hinsichtlich ihrer Vernetzungswirkung für die Landschaft priorisiert werden können.

Dies wird durch den zentralen Bestandteil des Vorhabens, der kartenbasierten Webanwendung bzw. des digitalen Planungswerkzeugs, visuell und funktionell am Beispiel der hessischen Modellregion umgesetzt. Das Werkzeug wird allgemeinverständlich ausgelegt, so dass es nicht nur Kommunalbedienstete – die häufig keine freien Ressourcen für zusätzliche Aufgaben haben – sondern auch nicht-fachspezifische Akteure anwenden können. Es wird mit Hilfe von OpenSource-Software umgesetzt, um nach Projektende eine einfache Übertragbarkeit (inkl. Inhalte & Funktionalitäten) zu gewährleisten.

Auf praktischer Ebene werden ausgewählte Aufwertungsmaßnahmen gemeinsam mit durch Workshops

The tasks of RLP AgroScience were project coordination, geodata analyses for the evaluation of Eh da areas (especially with regard to their networking effect), the development of the central planning tool, the planning of enhancement measures, drone flights to record the initial and final condition of Eh da areas and the supervision of final work.

## Objectives

In Germany, the decline in insects on the one hand and strong competition between various interest groups for available land on the other have been proven many times over. In potential studies and around 50 municipal Eh da projects throughout Germany, RLP AgroScience has proven many times that Eh da areas are an available land resource that can be recorded on the basis of geodata and efficiently adapted to the needs of insects. This is because Eh da areas are neither commercially utilised nor maintained for nature conservation purposes and are generally in public ownership. The geodata-based approach using geographical information systems (GIS) takes into account the spatial distribution of all ‘biodiversity-relevant’ area categories, so that Eh da areas can be prioritised with suitable measures in terms of their networking effect for the landscape.

This is realised visually and functionally by the central component of the project, the mapbased webapplication or digital planning tool, using the example of the Hessian model region. The tool is designed to be generally understandable so that it can be used not only by municipal employees - who often have no free resources for additional tasks - but also by non-specialist actors. It will be implemented with the help of open source software to ensure easy transferability (including content and functionalities) after the end of the project.

geschulten relevanten Akteuren (Kommunale, Naturschützende, Landbewirtschaftende) durchgeführt (vgl. Abb. 1), um das Thema der ökologischen und insektenfreundlichen Flächenpflege vor Ort möglichst dauerhaft zu verankern.

## Zwischenergebnisse

Zu Beginn wurden zahlreiche lokale und regionale Akteure der Modellregion vernetzt. Über Workshops und Gespräche vor Ort, vor allem mit Bauhofmitarbeitenden, wurde der Bedarf an unterstützenden landschaftsbezogenen Maßnahmenplanungen verdeutlicht und die spezifischen Belange der Kommunen bzw. des Untersuchungsgebiets erörtert. Unter [www.planed.info](http://www.planed.info) wurde eine projektbegleitende Webseite eingerichtet, innerhalb der das zentrale Planungswerkzeug ausgebaut wird. Durch Geodatenanalysen wurden Flächenpotenziale sämtlicher biodiversitätsrelevanter Kategorien erfasst und verglichen. Das Eh da-Flächenpotenzial umfasst rund 360 ha bzw. 2,1 %. Dabei ist entscheidend zur Biotopvernetzung geeignete Flächen zu lokalisieren und zu priorisieren, was die Kernfunktionalität des Planungswerkzeugs darstellt (vgl. Abb. 2). Durch An- und Abwählen vorselektierter Eh da-Flächen werden darin die Vernetzungs- bzw. Isolationsgrade der Eh da-Flächen on the fly dargestellt. Für den Praxispart, die Konzipierung von Aufwertungsmaßnahmen, wurden mit der Flächenauswahl, Begehungen, Befliegungen und Maßnahmenplanungen bereits wesentliche Grundlagen geschaffen. Die Umsetzung der Maßnahmen steht noch aus. Dabei zeigt die zuständige Untere Naturschutzbehörde (UNB)

On a practical level, selected enhancement measures will be implemented together with relevant stakeholders (local authorities, nature conservationists, land managers) trained through workshops in order to anchor the topic of ecological and insect-friendly land management on site as permanently as possible (see Fig. 1).

## Interim results

At the beginning, numerous local and regional stakeholders in the model region were networked. The need for supporting landscape-related planning measures was clarified through workshops and discussions on site, especially with building yard employees, and the specific concerns of the municipalities and the study area were discussed. A project-accompanying website was set up at [www.planed.info](http://www.planed.info), within which the central planning tool is being expanded.



Abb. 2: Verwendete Quadrocopterdrohne bei der Befliegung am 07.03.2024 in Haarhausen  
Fig. 2: Quadrocopter drone used during the flight on 07/03/2024 in Haarhausen

Land potentials of all biodiversity-relevant categories were recorded and compared using geodata analyses. The Eh da area potential covers around 360 ha or 2.1 %. It is crucial to localise and prioritise areas suitable for biotope connectivity, which is the core functionality of the planning tool (see Fig. 3). By selecting and deselecting

Vogelsbergkreis großes Interesse und bot aktive Unterstützung an. Gemeinsam mit den Kommunen wurde die Netzwerkarbeit etabliert und das Projekt in örtlichen Vereinen und Bildungseinrichtungen vorgestellt. Insgesamt befindet sich das Vorhaben auf einem sehr guten Weg.

**Projektdatenbank der DBU:**  
[www.dbu.de/projektdatenbank/38150-01](http://www.dbu.de/projektdatenbank/38150-01)

**begleitendes StoryBoard:**  
[www.planed.info](http://www.planed.info)

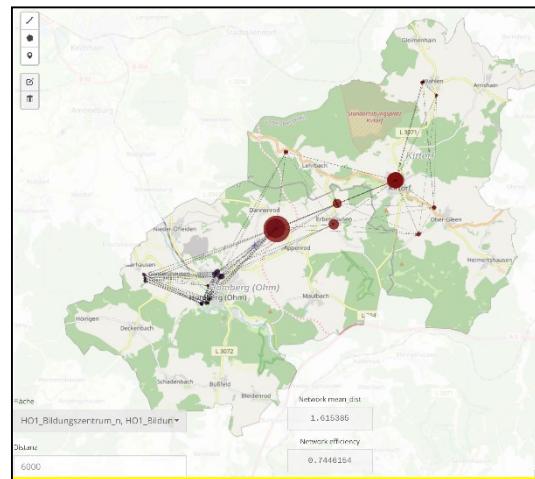
**Hintergrund:**  
[https://hortipendium.de/Eh\\_da\\_Flächen](https://hortipendium.de/Eh_da_Flächen)

**Kontakt/ Contact:**



Mark Deubert  
Fon: +49 (0)6321 / 671 – 430  
[Mark.Deubert@dlr.rlp.de](mailto:Mark.Deubert@dlr.rlp.de)

preselected Eh da areas, the degree of interconnection or insulation of the Eh da areas is displayed on the fly.



**Abb. 3: Vernetzungscluster von Eh da-Flächen in der Modellregion**  
Fig. 3: Networking clusters of Eh da areas in the model region

Essential foundations have already been laid for the practical part, the conceptualisation of enhancement measures, with the selection of areas, inspections, aerial surveys (see Fig. 2) and planning of measures. The measures have yet to be implemented. The Lower Nature Conservation Authority (UNB) of the Vogelsberg district has shown great interest in the project and offered active support.

Networking was established together with the local authorities and the project was presented to local associations and educational institutions.

Overall, the project is making very good progress.

# Anwendungen der Digitalisierung

## *Applications of digitization*

Etablierung digitaler Indikatoren der Bienenvitalität in Agrarlandschaften  
*Establishment of digital indicators of bee vitality in agricultural landscapes*

Im Rahmen des Projektes VIBEE wurden digitale Vitalitätsindikatoren für Honigbienen in Agrarlandschaften etabliert. Die automatisierte Erfassung von Vitalitätsindikatoren ermöglicht das frühzeitige Erkennen von Störfaktoren und gibt somit Imkern ein Tool zur Einleitung von Maßnahmen und Prüfinstituten ein Tool für Risikobewertungen zur Hand. Eine weitere Anwendung besteht in der Ableitung von Risikominderungsmaßnahmen hinsichtlich Trachtlücken und allgemeiner Stressoren in Agrarlandschaften.

Für die Produktivität der Honigbienen ist eine durchgehende Nahrungsversorgung relevant. Oft treten allerdings im Sommer sogenannte Trachtlücken auf, in denen sich die Bienenvölker nur schwer mit Nektar und Pollen versorgen können. Um Störfaktoren wie Trachtlücken, Krankheiten und Belastung durch Pflanzenschutzmittel aufzudecken, werden Bienenvölker im Rahmen dieses Projektes an unterschiedlichen Standorten (Abb. 1) mit Stockwaagen, elektronischen Bienenzählern (BeeCheck) und der Software VI-Soft ausgestattet und so Daten über ein standardisiertes Monitoring erfasst. Vitalitätsindikatoren, an Hand derer sich die Produktivität eines Bienenvolkes feststellen lässt, sind z. B. die Größe des Volkes, die Brutmenge, Futtervorräte, Immunkompetenz und Stresstoleranz. Zur Evaluierung des Systems werden Stressversuche durchgeführt. Ergänzend erfolgt die Erfassung der Landschaft mit UAV (Unbemanntes Luftfahrzeug)-

Digital vitality indicators for honey bees in agricultural landscapes were established as part of the VIBEE project. The automated recording of vitality indicators enables the early detection of disturbance factors and thus provides beekeepers with a tool for initiating measures and testing institutes with a tool for risk assessments. A further application is the derivation of risk reduction measures with regard to food gaps and general stressors in agricultural landscapes.



**Abb. 1: Bienenstöcke am Versuchsstandort bei Neustadt an der Weinstraße**

**Fig. 1: Beehives at the trial location near Neustadt an der Weinstraße**

A continuous food supply is relevant for the productivity of honey bees. However, food supply gaps often occur in summer, where the colonies have difficulty obtaining nectar and pollen. In order to detect disruptive factors such as supply

## Versuchsstandorte und Befliegungen

Vier unterschiedliche Standorte mit verschiedenen Landschaftstypen wurden für das Monitoring ausgewählt (Abb. 2): Ein landwirtschaftlich geprägter Standort im Norddeutschen Tiefland mit Raps und Getreideanbau, das FFH-Gebiet „Wacholderheide der Osteifel“ im Rheinischen Schiefergebirge mit extensiver Beweidung, ein Standort im Südwestdeutschen Mittelgebirgsland mit Weinbau, Getreide und Zuckerrüben und ein Standort in der Oberrheinischen Tiefebene als Wein- und Obstbaugebiet.



Abb. 2: Versuchsstandorte im VIBEE Projekt  
Fig. 2: Trial locations in the VIBEE project

Die Befliegungen wurden mit der Starrflügler Drohne ebee X von SenseFly (Abb. 3) durchgeführt, die mit dem multispektralen Sensor (MicaSense RedEdge MX) ausgestattet wurde. Die Versuchsstandorte umfassen Flächen von 20-75 ha. Die mit einer Auflösung von 3 cm/Pixel abgebildet wurden. Über den ganzen Projektzeitraum hinweg wurden über 500 ha Fläche dokumentiert.

gaps, diseases and exposure to pesticides, bee colonies at different locations are equipped with hive scales, electronic bee counters (BeeCheck) and the VI-Soft software, where data is recorded via a standardized monitoring. Vitality indicators that can be used to determine the productivity of a bee colony are, for example, the size of the colony, the amount of brood, food supplies, immune competence and stress tolerance. Stress tests are carried out to evaluate the system. In addition, the landscape is surveyed using UAV (Unmanned Aerial Vehicle) remote sensing and vegetation monitoring.

## Trial locations and flights

Four different sites with different landscape types were selected for monitoring (Fig. 2): An agricultural site in the Northern German Lowlands with rapeseed and cereal cultivation, the FFH area "Wacholderheide der Osteifel" in the Rhenish Slate Mountains with extensive grazing, a site in the South-West German Low Mountain Range with viticulture, cereals and sugar beet and a site in the Upper Rhine Plain, as a wine and fruit-growing area.

The aerial surveys were carried out with a SenseFly ebee X fixed-wing drone (Fig. 3) equipped with the multispectral sensor (MicaSense RedEdge MX). The test sites cover areas of 20-75 ha. These were imaged with a resolution of 3 cm/pixel. Over 500 ha were documented over the entire project period.



Abb. 3: Starrflügler-Drohne « eBee X »  
Fig. 3: Fixed-wing drone « eBee X »

## Luftbildanalysen

Die Analyse erfolgte mit der unüberwachten (automatisierten) Klassifizierungsmethode ISODATA, die zu den pixelbasierten Analysemethoden zählt. Die ISODATA Klassifizierung ist eine rechenressourcenschonende Methode, die in dieser Anwendung ein sehr robustes Ergebnis liefert.

Durch die Klassifizierung wurden die Blüten automatisch aufgrund der Pixelfarbe eingeordnet, im Anschluss folgte eine statistische Analyse zu Verteilung der Blüten über die Gesamtfläche, die mit dem Ergebnis von Pollenuntersuchungen verglichen wurden.

Am Beispiel in Abbildung 4 sieht man im oberen Ausschnitt das original Luftbild, im mittleren Teil das Ergebnis der ISODATA Klassifizierung, auf dem die Unterscheidung zwischen den Blütenfarben weiß und gelb und deren Abgrenzung vom Hintergrund zu sehen ist und im unteren Teil des Bildes die Überlagerung des originalen Luftbildes mit dem Klassifizierungslayer.

Da die Ausgangsbedingungen für jede Blütenart unterschiedlich sind, müssen je nach Fragestellung bei anderen Anwendungen gegebenenfalls die manuellen Vorarbeiten angepasst werden. Generell eignet sich diese Methode besonders für naturbelassene

## Aerial image analyses

This analysis was carried out using the unsupervised ISODATA classification method, which is one of the pixel based analysis methods. ISODATA classification is a method that conserves computing resources and delivers a very robust result in this application.

The classification automatically classified the flowers based on the pixel color, followed by a statistical analysis of the distribution of the flowers over the total area, which was compared with the result of pollen examinations.

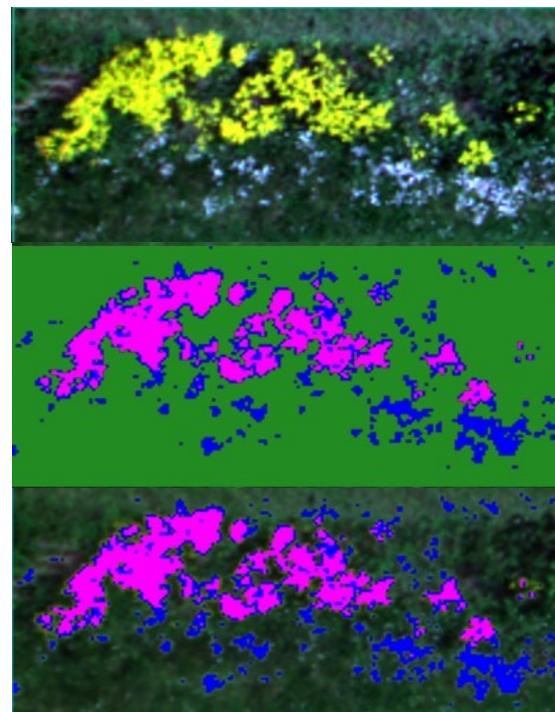


Abb. 4: Klassifizierung von Blüten mit der ISODATA Methode

Fig. 4: Classification of flowers with ISODATA method

The example in Figure 4 shows the original aerial image in the upper section, the result of the ISODATA classification in the middle section, where the distinction between the flower colors white and yellow and their separation from the background can be seen, and the overlay of the original aerial image with the classification layer in the lower section of the image.

Flächen, die unübersichtlich oder nicht gut zu begehen sind.  
Die in diesem Projekt erzeugten Daten können in das Modell BEEHAVE integriert werden.

---

**Förderung:** Dieses Projekt wurde durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aus Mitteln des Zweckvermögens des Bundes bei der Landwirtschaftlichen Rentenbank.

**Verbundpartner:** JKI Braunschweig, UFZ Leipzig, FBI Mayen, IBI Veitshöchheim, Biochem Agrar GmbH, Gero Meßsysteme GmbH, Rifcon GmbH, gaiac e.V. Aachen, Eurofins AgroScience Services Ecotox GmGh.

---

**Kontakt/ Contact:**



Annette Fuchs  
Fon: +49 (0)6321 / 671 – 580

[annette.fuchs@agroscience.rlp.de](mailto:annette.fuchs@agroscience.rlp.de)

Since the requirements for each type of flower are different, the manual preparatory work may have to be adapted depending on the question in other applications. In general, this method is especially suitable for natural areas that are unclear or difficult to access.

The data generated in this project is ready for integration into the BEEHAVE model.

---

**Funding:** This project was supported by the Federal Ministry of Food and Agriculture with funds from the special-purpose assets of the Federal Government at the Landwirtschaftliche Rentenbank.

**Collaborating partners:** JKI Braunschweig, UFZ Leipzig, FBI Mayen, IBI Veitshöchheim, Biochem Agrar GmbH, Gero Meßsysteme GmbH, Rifcon GmbH, gaiac e.V. Aachen, Eurofins AgroScience Services Ecotox GmGh.

---

# Anwendungen der Digitalisierung

## *Applications of digitization*

timeStamp, CopGruen, SenSchiene und Geobox Viewer - Cloud-Computing und Web-Plattformen als Treiber für die Digitalisierung.

*timeStamp, CopGruen, SenSchiene and Geobox Viewer - cloud computing and web platforms as drivers of digitalization.*

Cloudbasierte Technologien nehmen im Rahmen der Digitalisierung von Verwaltungs- und Arbeitsprozessen eine immer wichtigere Rolle ein. Ihr Beitrag zur Bereitstellung und Aufbereitung von Fachinformationen zur Bewältigung von Dokumentations- und Monitoringaufgaben und zur Wahrnehmung von Berichtspflichten kann für die Zukunft nicht überschätzt werden. Bereits seit 2017 widmet sich die Abteilung „Anwendungen der Digitalisierung“ im Rahmen mehrerer Projekte dem Aufbau von Plattformen, die dem Endanwender in Verwaltung und Berufsalltag (Geo-) Informationen zur Verfügung stellen, die direkt in deren Arbeitsprozesse eingebunden und dort für eine Steigerung der Effizienz sorgen können.



Abb. 1: Sentinel 2 – Der Satellit des EU-Copernicus Programms zur Erdbeobachtung liefert seit 2016 weltweit multispektrale Daten mit bis zu 10 m Bodenauflösung (ESA).

Fig. 1: Sentinel 2 - The satellite of the EU Copernicus program for earth observation has been providing multispectral data with a

Cloud-based technologies are playing an increasingly important role in the digitalization of administrative and work processes. Their contribution to the provision and processing of specialist information for the management of documentation and monitoring tasks and the performance of reporting duties cannot be overestimated for the future. Since 2017, the “Applications of Digitalization” department has been working on several projects to develop platforms that provide end users in administration and everyday working life with (geo)information that can be directly integrated into their work processes and increase efficiency.

In the “timeStamp” project, the first member of the CODE-DE-based AgroScience platform family was created by 2023, with the help of which primarily official end users can carry out area-related analyses of satellite image time series from the Copernicus Sentinel missions.

Due to great interest from various specialist communities, the further developments CopGruen and SenSchiene, implemented on a timeStamp basis, were added, which have been developed in projects with cooperation partners from research, administration and the geo-IT industry since 2021. The platforms make it possible for users without the relevant training or previous education to use remote sensing technologies professionally and to effectively incorporate the information obtained from

ground resolution of up to 10 m worldwide since 2016 (ESA).

Im Projekt „timeStamp“ entstand bis 2023 das erste Mitglied der [CODE-DE](#)-basierten Plattform-Familie der AgroScience, mit deren Hilfe vorwiegend behördliche Endanwender\*innen flächenbezogene Analysen von Satellitenbild-Zeitreihen der Copernicus-Sentinel-Missionen durchführen können.

Durch großes Interesse aus unterschiedlichen Fachcommunities kamen die auf timeStamp-Basis implementierten Weiterentwicklungen [CopGruen](#) und [SenSchiene](#) hinzu, die seit 2021 in Projekten mit Kooperationspartnern aus Forschung, Verwaltung und der Geo-IT-Branche entwickelt werden. Die Plattformen ermöglichen es einem Anwenderkreis ohne entsprechende Aus- bzw. Vorbildung fernerkundliche Technologien professionell einzusetzen und die aus aktuellen fernerkundlichen Daten gewonnenen Informationen fachbezogen effektiv in Ihre Arbeit einzubeziehen.

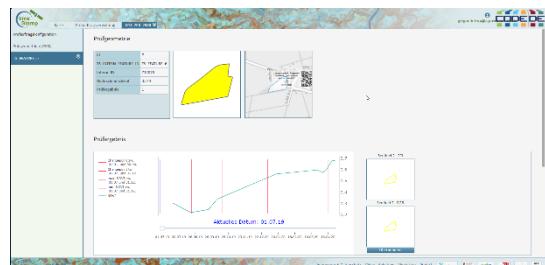


Abb. X: Ergebnisdarstellung mit Zeitreihenverlauf in timeStamp (eigene Abbildung).

Fig. X: Result display with time series progression in timeStamp (own illustration).

Viele Arbeitsabläufe und Prozesse in der Verwaltung haben einen direkten Flächenbezug, vollziehen sich beispielsweise auf Flurstücken des Liegenschaftskatasters, auf landwirtschaftlichen Schlägen oder im verkehrsbegleitenden Raum. Hier helfen aktuelle, aus Erdbeobachtungsdaten gewonnene Informationen des [EU](#)-

current remote sensing data into their areas of expertise.

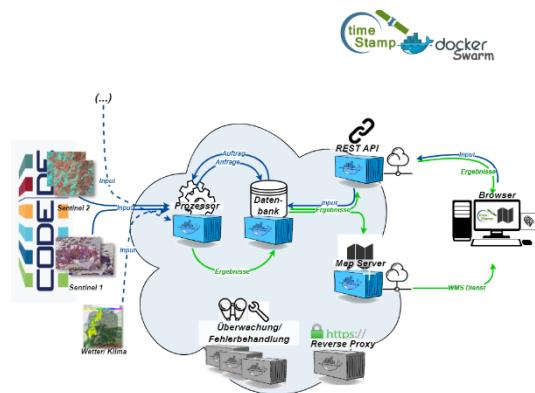


Abb. 2: timeStamp – Schematischer Aufbau der Plattform.

Fig. 2: timeStamp - Schematic structure of the platform.

Many workflows and processes in the administration are directly related to areas, for example on parcels of land in the real estate register, on agricultural fields or in traffic-related areas. Here, up-to-date information from the EU Copernicus program, obtained from earth observation data, helps to make decisions or assess situations. On timeStamp, Cop-Gruen and SenSchiene, users can carry out complex remote sensing analyses with regard to specific questions by simply uploading their surface geometries. The deliberately user-friendly design of the order process requires no prior training in remote sensing and a minimum of practice in using the Internet. Software installations on the local PC are also not necessary thanks to the use of the cloud-based tool as Software-as-a-Service (SaaS) via a web browser. In the background on the CODE-DE cloud, complex algorithms implemented in the context of scientific work carry out the corresponding analysis and generate results fully automatically from the satellite data stored there, making use of e.g. AI-based technology. The results can be explored cartographically on the platforms in web-based GIS and downloaded into the user's own environment for further processing. Examples of analyses include the area-related calculation of time series of

[Copernicus-Programms](#) Entscheidungen zu treffen oder Situationen einzuschätzen. Auf [timeStamp](#), CopGruen und SenSchiene können Nutzer\*innen durch einfachen Upload ihrer Flächengeometrien komplexe fernerkundliche Analysen im Hinblick auf gezielte Fragestellungen durchführen. Die bewusst benutzerfreundliche Gestaltung des Auftragsvorgangs erfordert keine fernerkundliche Vorbildung und ein Minimum an Übung bei der Benutzung des Internets. Auch Software-Installationen auf dem lokalen PC sind durch die Nutzung des Cloud-basierten Tools als Software-as-a-Service (SaaS) per Webbrowser nicht notwendig. Im Hintergrund auf der CODE-DE-Cloud arbeiten komplexe, im Rahmen wissenschaftlicher Arbeiten implementierte Algorithmen und erzeugen, u.a. unter Nutzung KI-basierter Technologie, aus den dort vorgehaltenen Satellitendaten vollautomatisch die entsprechenden Analyseergebnisse. Diese können auf den Plattformen kartographisch im Webgis erkundet und in die eigene Umgebung für die weitere Verarbeitung heruntergeladen werden. Als Beispiele für Analysen ist hier die flächenbezogene Berechnung von Zeitreihen spektraler Indizes zu nennen, die zum Beispiel die zeitliche Dynamik einer Vegetationsdecke erfassen (Vegetationsindex NDVI). Weitere Algorithmen erfassen u.v.a. die Nutzungsintensität von Gleiswegen, die Überstau-Dynamik wiedervernässter Moore, die Mahdhäufigkeit auf Grünland oder Winter-Zwischenfrüchte auf Ackerflächen.

Neben der manuellen Abarbeitung von Analyseaufträgen durch User\*innen am Browser lässt sich die Prozessierungsumgebung der Plattformen, das sogenannte Backend, für automatisiert in regelmäßigen Zyklen ablaufende Berechnungen nutzen. So wird in 2024 die timeStamp-Plattform im Rahmen der Bereitstellung

spectral indices, which, for example, capture the temporal dynamics of a vegetation cover (vegetation index NDVI). Other algorithms record, among other things, the intensity of use of railway tracks, the overflow dynamics of rewetted moors, the frequency of mowing on grassland or winter catch crops on arable land.

In addition to the manual processing of analysis jobs by users on the browser, the processing environment of the platforms, known as the backend, can be used for automated calculations that run in regular cycles. In 2024, for example, the timeStamp platform will be used to provide agriculturally relevant geodata for the Geobox Viewer.



**Abb. X: Der Geobox Viewer RLP – Hier mit hochaktuuellem Infrarot-Satellitenbild (Sentinel 2, eigene Abbildung).**

Fig. X: The Geobox Viewer RLP - here with the latest infrared satellite image (Sentinel 2, own image).

Automatic calculations of the vegetation index for practically all agriculturally used areas in Rhineland-Palatinate will be implemented cyclically at intervals of a few days on the latest satellite images (Sentinel 2). This near-real-time information makes it possible to monitor the status of vegetation development on agricultural land over time. It complements the broad portfolio of agricultural geodata bundled in the Geobox Viewer, the summary of which offers farmers and agricultural companies valuable geoinformation as a basis for planning and information.

landwirtschaftlich relevanter Geodaten für den Geobox-Viewer genutzt werden. Zyklisch im Abstand weniger Tage werden automatische Berechnungen des Vegetationsindex für jeweils praktisch alle landwirtschaftlich genutzten Flächen in Rheinland-Pfalz auf den jeweils aktuellsten Satellitenbildern (Sentinel 2) umgesetzt werden. Diese Near-Real-Time-Infomation erlaubt es, den Status der Vegetationsentwicklung auf landwirtschaftlichen Flächen zeitlich zu monitoren. Sie ergänzt das breite Portfolio der im Geobox-Viewer gebündelt angebotenen landwirtschaftlichen Geodaten, deren Zusammenschau Landwirten und landwirtschaftlichen Unternehmen wertvolle Geoinformation als Planungs- und Informationsgrundlage bietet.

Der Geobox-Viewer ist das zentrale öffentliche Geodaten-Portal für den rheinlandpfälzischen Agrarbereich und die Landwirtschaft in sechs weiteren Bundesländern. Mit dem Geobox Viewer, der sich in die Geobox-Infrastruktur als resiliente, dezentral aufgebaute landwirtschaftliche Daten-Infrastruktur eingliedert, steht eine weitere Geodatenplattform unter maßgeblicher Beteiligung der AgroScience bereit. Auf landeseigenen Servern angesiedelt werden hier bereits weitere landesweite Near-Real-Time-Berechnungen auf der Basis hochaktueller Klima- und Wetterdaten durchgeführt. Diese liefern unter Einbeziehung weiterer Geodaten tagesaktuelle Teilschlag-spezifische Bodenfeuchte-Informationen, die eine wertvolle Planungsinformation beispielsweise für die Befahrbarkeit von Flächen darstellen. In 2024 werden auf hochaktuellen Daten berechnete landesweite Daten zur Wasserversorgung landwirtschaftlicher Standorte hinzukommen, eine Information, der in Zeiten des fortschreitenden Klimawandels essentielle Bedeutung zukommt.

The Geobox Viewer is the central public geodata portal for the Rhineland-Palatinate agricultural sector and agriculture in six other federal states. The Geobox Viewer, which is integrated into the Geobox infrastructure as a resilient, decentralized agricultural data infrastructure, is another geodata platform in which AgroScience plays a key role. Further nationwide near-real-time calculations based on highly up-to-date climate and weather data are already being carried out here on the state's own servers. With the inclusion of further geodata, these provide daily updated soil moisture information specific to individual fields, which represents valuable planning information, for example for the navigability of areas. In 2024, nationwide data on the water supply of agricultural sites calculated on the basis of highly up-to-date data will be added, information that is essential in times of advancing climate change.

Together, the CODE-DE-based platforms for satellite image analysis and the Geobox viewer are key components in providing end users in agriculture and administration with digital information. They make an important contribution to their utilization by organizing data flows and processing the geoinformation scattered in geoportals and sensor networks in a subject-specific manner and bundling it for the end user.

Gemeinsam bilden die CODE-DE basierten Plattformen zur Satellitenbild-Analyse und der Geobox-Viewer zentrale Bausteine bei der Versorgung von Endanwendern in Landwirtschaft und Verwaltung mit digitalen Informationen. Sie leisten eine wichtigen Beitrag bei deren Nutzbarmachung, in dem sie Datenflüsse organisieren und die in Geoportalen und Sensornetzwerken verstreut vorliegenden Geoinformationen fachbezogen weiterverarbeiten und für den Endanwender aufbereitet bündeln.

---

## Kontakt

## Contact



**Gregor Tintrup gen. Suntrup,  
Djamal Guerniche**  
Fon: +49 (0)6321 / 671 – 371

[gregor.tintrup@dlr.rlp.de](mailto:gregor.tintrup@dlr.rlp.de)

# Outreach

## Öffentlichkeitsarbeit

### Publikationen

### Publications

Alexander, S., W. Jarausch, M. Runne, G. Krczal, C. Dippel, S. Schwindt, S. Lokermans-Schwindt (2023): Entwicklung einer Push-and-pull-Strategie zur Bekämpfung von *Drosophila suzukii* (Matsumura) mittels einer sprühfähigen Matrix und Extrakten aus Koniferen. *Julius-Kühn-Archiv*, 475, 521-522.

Boonrod K, Kuaguim L, Braun M, Müller-Renno C, Ziegler C, Krczal G. (2023). Identification of the Actin-Binding Region and Binding to Host Plant Apple Actin of Immunodominant Transmembrane Protein of 'Candidatus Phytoplasma mali'. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 4;24(2):968. doi: 10.3390/ijms24020968.

Dong Y, Uslu VV, Berr A, Singh G, Papdi C, Steffens VA, Heitz T, Ryabova LA. (2023). TOR represses stress responses through global regulation of H3K27 trimethylation in plants. *J Exp Bot.* 2023 Mar 13;74(5):1420-1431. doi: 10.1093/jxb/erac486

Ebrahimi S, Eini O, Baßler A, Hanke A, Yildirim Z, Wassenegger M, Krczal G, Uslu VV. (2023). *Beet Curly Top Iran Virus* Rep and V2 Suppress Post-Transcriptional Gene Silencing via Distinct Modes of Action. *Viruses*, 26;15(10):1996. doi: 10.3390/v15101996

Volker Haag, Cornelia Bäucker, Andreas Meier-Dinkel, Anne-Mareen Eisold, Annette Fuchs, Imke Hutter, Vitalina Karfik, Tim Lewandrowski, Heike Liesebach, Mona Quambusch, Lothar Schatz, Volker Schneck und Michael Wallbraun (2023): Die Riegelung des Holzes (Teil I). *Holz-Zentralblatt* 49 817-819

Hatteland, Bjørn Arild, Brede, Åsne, Brurberg, May Bente, Tedeschi, Rosemarie, Jarausch, Barbara, Jarausch, Wolfgang, Blystad, Dag-Ragnaret (2022): *Cacopsylla melanoneura* as a vector of apple proliferation in Norway. In: *PheroFruits 2022: Joint Meeting of the IOBC/WPRS Working Groups ; Pheromones and other semiochemicals in IP and integrated protection of fruit crops ; IPM in the XXI century: new tools, tactics and strategies to improve sustainability from old and new pests and diseases ; 25-29 September 2022; Girona, Spain ; Abstract book.* S. 156. Online unter: [https://www.openagrар.de/receive/openagrар\\_mods\\_00083411](https://www.openagrар.de/receive/openagrар_mods_00083411).

Jarausch, W., P. Menz, A. Al Masri, M. Runne, B. Thielert, K. Kohler, S. Warnemünde, D. Kilias, B. Jarausch, U. Knauer (2023): Digital Phytoplasmatology: remote sensing of fruit tree phytoplasma diseases. *Phytopathogenic Mollicutes* Vol. 13 (1), June 2023, 135-136. doi: 10.5958/2249-4677.2023.00068.3

Jarausch, B., E. Alisaac, P. Schumacher, P. Gauweiler, R. Gruna, L. Zabawa, L. Klingbeil, S. Rechkemmer, W. Jarausch, M. Maixner, A. Kicherer (2023): Development of multilevel monitoring systems for the identification of phytoplasmoses in German viticultural areas. *Phytopathogenic Mollicutes* Vol. 13 (1), June 2023, 133-135. doi: 10.5958/2249-4677.2023.00067.1

Jarausch, W., M. Runne, N. Schwind, S. Alexander, B. Jarausch (2023): Epidemiology of pear decline in orchards without vector control in Southwest Germany. *Phytopathogenic Mollicutes* Vol. 13 (1), June 2023, 47- 48. doi: 10.5958/2249-4677.2023.00024.5

Jarausch, W., M. Runne, N. Schwind, B. Jarausch (2023): Leaf reddening as suitable symptom of Pear decline for remote sensing. *Phytopathogenic Mollicutes* Vol. 13 (1), June 2023, 137-138. doi: 10.5958/2249-4677.2023.00069.5

- Jarausch, W., P. Menz, A. Al Masri, M. Runne, B. Thielert, K. Kohler, S. Warnemünde, D. Kilias, B. Jarausch, U. Knauer (2023): Digitaler Obstbau: Fernerkennung von Apfeltriebsucht und Birnenverfall. *Julius-Kühn-Archiv*, 475, 438-439
- Jarausch, W., M. Runne, B. Jarausch, S. Alexander, S. Häußer, R. Diedel (2023): Entwicklung eines Tonminerals zur Vergrämung von Psylliden aus Obstanlagen. *Julius-Kühn-Archiv*, 475, 402.
- Jarausch, B., E. Alisaac, P. Schumacher, P. Gauweiler, R. Gruna, L. Zabawa, L. Klingbeil, S. Rechkemmer, W. Jarausch, M. Maixner, A. Kicherer (2023): PhytoMo – Entwicklung von Monitoringverfahren zur Identifizierung von Phytoplasmosen in Weinbauflächen. *Julius-Kühn-Archiv*, 475, 209-210.
- Klein, M.; Klein, J.; Flade, J.; Großmann, D.; Türkowsky, D.; O'Connor, I.; Spycher, S.; Reichenberger, S.; Sittig, S.; Multsch, S. and Thomas, K. (2023): Risk mitigation measures for pesticide runoff: How effective are they?. *Pest Manag Sci*. <https://doi.org/10.1002/ps.7691>
- Kubiak, R.; Peters, A.; Gathmann, A.; Hohgardt, K.; Kula, C.; Marutzky, D.; Streib, L.; Thomas, K. and Trapp, M. (2023): Identification of representative sampling sites for the investigation of aerial longer distances transport of pesticides in Germany. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*. <https://doi.org/10.1007/s00003-023-01448-7>
- Künast, C.; Deubert, M.; Kotremba, C.; Ullrich, K.; Trapp, M. (2023): Klimaschutz, Klimaanpassung und biologische Vielfalt auf Eh da-Flächen. Synergien, Begrenzungen und potenzielle Spannungsbereiche. In: *Naturschutz und Landschaftsplanung* 11/2023.
- Medić, M.; Düker, A.; Narang, A.; Holzhauser, J.; Gockel, S.; Deubert, M.; Trapp, M.; Schurig, J.; Walter, R.; Kortekamp, A. (2023): Raumzeitlich hochauflösende Erfassung mikroklimatischer Parameter im Weinbau zur Optimierung von Prognosemodellen und betriebswirtschaftlichen Abläufen – am Beispiel von rheinland-pfälzischen Weingütern. *Berichte aus der Agrarwissenschaft*, Shaker Verlag, Düren, 2023. ISBN: 9783844093001.
- Runne, M., B. Jarausch, N. Schwind, S. Alexander, W. Jarausch (2023): Aktuelle Untersuchungen zur Ausbreitung von Pear decline durch Birnblattsäuger in Südwestdeutschland. *Julius-Kühn-Archiv*, 475, 648-649

## Poster Posters

- Alexander, S., W. Jarausch, M. Runne, G. Krczal, C. Dippel, S. Schwindt, S. Lokermans-Schwindt, Entwicklung einer Push-and-pull-Strategie zur Bekämpfung von *Drosophila suzukii* (Matsumura) mittels einer sprühfähigen Matrix und Extrakten aus Koniferen. 63. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26. – 29. September 2023, Göttingen
- Hohenwarter, L. Exploring RNA interference in *Hymenoscyphus fraxineus* as a potential management strategy of ash-dieback, 63. Deutsche Pflanzenschutztagung, Göttingen, 27-29.09.23
- Jarausch, W., M. Runne, N. Schwind, B. Jarausch (2023): Leaf reddening as suitable symptom of Pear decline for remote sensing. 5th Meeting of the International Phytoplasmatologist Working Group, Muscat, Sultanate of Oman, May 21-25, 2023
- Kohler, K., A. Al Masri, A. Khan, J. Höhn, S. Warnemünde, P. Menz, B. Thielert, U. Knauer, M. Runne, W. Jarausch (2023): Satellitenbild-basiertes Auffinden von Apfel- und Birnbäumen mit Phytoplasmosen für Anbauer, Pflanzenschutzdienste und Agrochemie. 63. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26. – 29. September 2023, Göttingen
- Runne, M., B. Jarausch, N. Schwind, S. Alexander, W. Jarausch, Aktuelle Untersuchungen zur Ausbreitung von Pear decline durch Birnblattsäuger in Südwestdeutschland. 63. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26. – 29. September 2023, Göttingen.

## Vorträge

### *Oral presentations*

Deubert, M.: Einführung LoRaWAN. Gastvortrag im Lehrblock Technologie und Digitalisierung am Weincampus Neustadt, 07.12.2023.

Deubert, M.: "PlanED" - Ziele und Geodatenanalysen. Projektworkshop in Homberg (Ohm), 21.09.2023.

Deubert, M.: Das Eh da-Konzept für mehr Artenvielfalt. Öffentliche Infoveranstaltung in Knittlingen, 20.04.2023.

Deubert, M.: Das Eh da-Konzept für mehr Artenvielfalt in Kommunen. Gastvortrag im Lehrblock Ökologie und Umweltschutz am Weincampus Neustadt, 31.03.2023.

Deubert, M.; Ullrich, K.: Das Eh da-Konzept für mehr Artenvielfalt im Leiningerland. Öffentliche Abschlussveranstaltung in Laumersheim, 21.03.2023.

Hohenwarter, L. RNAi-vermittelte Bekämpfung von *H. fraxineus* durch Stamm- und Sprühapplikation, FraxForFuture Tagung, 2.-3.5.2023 Freiburg

Hohenwarter, L. Exploring RNA interference in *Hymenoscyphus fraxineus* as a potential management strategy of ash-dieback, FraxForFuture Anschlussveranstaltung, Göttingen, 26.09.2023

Jarausch, W., B. Jarausch, T. Schell, M. Runne, S. Rechkemmer, P. Winterhagen, A. Kortekamp: Nutzung von Risikokarten für das Auftreten von *Flavescence dorée* zum gezielten Monitoring: Ergebnisse aus der Pfalz und Baden-Württemberg. 62. Arbeitstagung des Forschungsrings des Deutschen Weinbaus, 02. bis 03. Mai 2023 in Veitshöchheim

Jarausch, W., P. Menz, A. Al Masri, M. Runne, B. Thielert, K. Kohler, S. Warnemünde, D. Kilias, B. Jarausch, U. Knauer: Digital Phytoplasmology: remote sensing of fruit tree phytoplasma diseases. 5th Meeting of the International Phytoplasmatologist Working Group, Muscat, Sultanate of Oman, May 21-25, 2023

Jarausch, W., M. Runne, N. Schwind, S. Alexander, B. Jarausch: Epidemiology of pear decline in orchards without vector control in Southwest Germany. 5th Meeting of the International Phytoplasmatologist Working Group, Muscat, Sultanate of Oman, May 21-25, 2023

Jarausch, B., S. Rechkemmer, S. Kugler, A. Tsormpatzidou, W. Jarausch, M. Maixner: Aktuelle Untersuchungen zur Epidemiologie der Schwarzholzkrankheit in der Pfalz und Württemberg. 62. Arbeitstagung des Forschungsrings des Deutschen Weinbaus, 02. bis 03. Mai 2023 in Veitshöchheim

Jarausch, W. (2023): Obstbau: aktuelle Situation von Apfeltriebsucht und Birnenverfall in Deutschland. Tagung: Digitale Erkennung von Phytoplasmosen im Obst- und Weinbau, NOI Techpark Bozen, 12.07.2023

Jarausch, W., A. Al Masri, K. Kohler (2023): Fernerkennung von Apfeltriebsucht und Birnenverfall in Satellitenbildern. Tagung: Digitale Erkennung von Phytoplasmosen im Obst- und Weinbau, NOI Techpark Bozen, 12.07.2023

Jarausch, W., M. Michel: PhenoTruck: ein mobiles Labor zur spektralen und molekularen Diagnose vor Ort. Tagung: Digitale Erkennung von Phytoplasmosen im Obst- und Weinbau, NOI Techpark Bozen, 12.07.2023

Jarausch, W. et al. Digitaler Obstbau: Fernerkennung von Apfeltriebsucht und Birnenverfall. 63. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26. – 29. September 2023, Göttingen

Jarausch, W. et al. Entwicklung eines Tonminerals zur Vergrämung von Psylliden aus Obstanlagen. 63. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26. – 29. September 2023, Göttingen

Jarausch, W. et al.: PhytoMo – Entwicklung von Monitoringverfahren zur Identifizierung von Phytoplasmosen in Weinbauflächen. 63. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26. – 29. September 2023, Göttingen

Jarausch, W.: Entwicklung von Repellenzstrategien gegen Birnblattsauger mittels Tonmineralen. 32. Bundesarbeitstagung für Pflanzenschutzberater im Obstbau, 17. – 19. Oktober 2023, Grünberg

Jarausch, W.: Fernerkennung von Apfeltriebsucht und Birnenverfall. 32. Bundesarbeitstagung für Pflanzenschutzberater im Obstbau, 17. – 19. Oktober 2023, Grünberg

Krczal, G.: RNA-Sprays – biologisch, selektiv und rückstandsfrei, Kulturkapelle Limburgerhof, 18.10.2023

Krczal, G.: "High Pressure Spraying Protocol Reveals Unique Mode of Action of Exogenous siRNAs", the 15th International Association for Plant Biotechnology Congress, Daejeon, Südkorea, 10.08.2023

Krczal, G.: Nachhaltiger Pflanzenschutz der Zukunft: Reduktion durch Innovation. Labvolution, 10.05.2023, Hannover

Koller, C.: Vielfaltsflächen nach dem Eh da-Konzept in Modautal. Webinar, 25.02.2023.

Koller, C.: Das Konzept der Eh da-Flächen in Bobenheim-Roxheim. Abschlussvortrag in Bobenheim-Roxheim, 19.01.2023.

Thomas, K.: Effiziente Förderung der Artenvielfalt in ackerbaulich genutzten Landschaften. Infoveranstaltung im Haus der Artenvielfalt in Neustadt, 25.05.2023.

Tintrup gen. Suntrup, G. (2023): Élaboration de nouvelles approches pour identifier et modéliser les habitats adaptés au Hamster et à la biodiversité de plaine - Entwicklung neuer Ansätze zur Identifizierung und Modellierung von biodiversen Feldhamster-Lebensräumen im Tiefland; Abschlussveranstaltung Interreg CRICETUS, Technisches Rathaus Stadt Mannheim, 21.06.2023

Trapp, M.: Abschlussveranstaltung ViBee, JKI Braunschweig: Vortrag Trapp, Fuchs, 24.08.2023

Trapp, M.: Opportunities and Challenges with regard to sustainable and resilient smart agriculture, Wirtschaftsdelegation Indien, BASF, 29-08.2023

Trapp, M.: DISA - Supporting the development of Digital Information System for Agriculture for climate change adaptation in Rwanda, WCRP- Congress, Kigali, Rwanda, 24.10.2023

Ullrich, K.: PraxisWorkshop - Aufwertung von Vielfaltsflächen in Modautal, 30.03.2023.

Uslu, VV. John Kendrew Young Scientist Award Talk (2023) EMBL-Heidelberg

Uslu VV (2023) PRC2 is an integral component of long-term nutrient stress response, Epi-Catch Meeting, Prague, Czechia

## Beiträge in Medien, Öffentlichkeitsarbeit

### *Contributions in media*

**Uslu V.V.** Merging Science and Theater -EMBLetc. (2023)  
<https://www.embl.org/news/embletc/issue-100/merging-science-and-theatre/>

**Krczal, G.:** Moderation des Symposiums auf der Labvolution mit dem Thema „Potentiale neuer genomicscher Techniken (NGT) für eine nachhaltige Landwirtschaft und Lebensmittelproduktion, 10.05.2023, Hannover

**Krczal, G.:** Unter dem Dach von PLANT 2030 bündeln sich die vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Programme der angewandten Pflanzenforschung in Deutschland. Während des Kongresses wurde Prof. Krczal von den Veranstaltern für

Beiträge auf der Plattform LinkedIn und Instagram zum Thema Genome Editing interviewt, um die Reichweite des Kongresses zu erhöhen.

<https://www.instagram.com/p/CqP1QmhDCKC/>

[https://www.linkedin.com/posts/bundesministerium-f%C3%BCr-bildung-und-forschung\\_pflanzenforschung-bmbf-klimawandel-activity-7044982282083794945-poN?utm\\_source=share&utm\\_medium=member\\_desktop/](https://www.linkedin.com/posts/bundesministerium-f%C3%BCr-bildung-und-forschung_pflanzenforschung-bmbf-klimawandel-activity-7044982282083794945-poN?utm_source=share&utm_medium=member_desktop/)

**Krczal, G.:** Interview für die “Agrarzeitung zum Thema Genome Editing, 06.04.2023

**Krczal, G.:** Teilnahme an der Podiumsdiskussion zum Thema Genome Editing anlässlich des 30jährigen Bestehens der Fa. Brain, 15.06.2023, Darmstadt

## Ausbildung

*Education and training*

## Praktikum

Til Birkmeir (RPTU Landau-Kaiserslautern), Pflichtpraktikum vom 24.07. - 22.09.2023, Betreuung W. Jarausch

## Bachelor

Elisa Bertolini, Fachhochschule Mannheim, Thema: Selektion und Funktionsanalyse eines Nanokörpers, der den *Arabidopsis*-Transkriptionsfaktor AtTCP3 bindet, unter Verwendung der Phage Display Technologie. Betreuung KJ. Boonrod

Adem Yelsi; Fachhochschule Mannheim, Thema: Verbesserung der Empfindlichkeit des Immunoassays zum Nachweis von Alkoholdehydrogenase von *Acetobacter*-Bakterien durch kaskadenartige Vervielfältigung des Enzyms unter Verwendung von Phage M13. Betreuung KJ Boonrod

Alisa Basic: Optimization of biolistic gene transfer for transient expression of the BBM transcription factor to induce somatic embryogenesis in wavy grain mapleJuli/2023, Hochschule Mannheim, Fachbereich Biotechnologie, Betreuer M. Wallbraun

## Master

Felix Zeifelder: Approaches to implement genome editing in *Vicia faba*., (Oktober 2023) Masterarbeit, Fachbereich Biotechnologie, Hochschule Mannheim, Betreuer M. Wallbraun

Laura Schütz (Uni-Heidelberg) (August 2023) Genome Editing of Critical Genes in the RNAi pathway in *Nicotiana benthamiana*. Betreuer Veli Vural Uslu

Ben Brick (Uni-Heidelberg) (August 2023) Optimization of dsRNA production and exogenous dsRNA application against *Plasmopara viticula*. Betreuer Veli Vural Uslu

## Lehraufträge

### *University teaching*

#### **Krczal G.**

- *Plant Biotechnology*

Hochschule Mannheim, Fachbereich Biotechnologie (MSc Biotechnology), Sommersemester

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

#### **Wallbraun M.M.**

- *Plant Biotechnology*

Hochschule Mannheim, Fachbereich Biotechnologie (MSc Biotechnology), Sommersemester

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

#### **Uslu, V.V. University Seminars:**

- CRISPR Applications in Plants, Uni-Heidelberg February 1, 2023
- The Economy of Plant Breeding, Uni-Heidelberg, February 7, 2023
- Landmark Papers in Plant Sciences, Uni-Heidelberg, March 10, 2023
- Translational Plant Epigenetics, Uni-Heidelberg, March 17, 2023
- PTGS, How to tame a gene I, Uni-Heidelberg May 11, 2023
- TGS, How to take a gene II, Uni-Heidelberg May 12, 2023
- Peer Review Seminar, Uni-Heidelberg, May 26, 2023
- Plant Virology, How to tame a virus, Uni-Heidelberg, June 28, 2023
- Science Communication Seminar, Charite, Berlin, September 6, 2023
- Science Communication Seminar, Uni-Heidelberg, November 17, 2023

**Uslu V.V., Krczal, G.** Vertiefungskurs für Heidelberger Studenten: *Anwendung des RNA interference zur Funktionsaufklärung pflanzlicher Gene*. Neustadt, 31.07. – 04.08.2023

#### **Uslu V.V., Hochschul Didaktik Zentrum Universitäten Baden-Württemberg**

- Diversity in Teaching - How we can create a diversity-friendly Learning Environment, KIT (January 31, 2023)
- Blended Learning Workshop: Supervising the Doctorate, Uni-Heidelberg (January 30, 2023 bis February 22, 2023)
- Challenging learning steps – How to Help Students Pass Discipline-Specific Learning Bottlenecks (Uni-Konstanz) March 29-30, 2023
- Lecture like a Rock Star: Practical Performance Training for Teaching in English, Uni-Heidelberg (April 24, 2023)
- Teaching Academic Writing, Uni-Mannheim April 25, 2023 and May 9, 2023)

- How To Plan Your Course with Ease, Uni-Konstanz (June 6, 2023)
- Modulbescheinigung Lehren und Lernen I, Hochschul Didaktik Zentrum Universitäten Baden-Württemberg (March 22, 2023)
- Modulbescheinigung Lehren und Lernen II, Hochschul Didaktik Zentrum Universitäten Baden-Württemberg (May 24, 2023)
- Ready, Set, Teach - How To Plan Your Course with Ease (13 June 2023)
- Powerful Präsentation (13-14.11.2023)

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

### **Wallbraun, M.M.**

- Gesellschaft für Pflanzenzüchtung
- Gesellschaft für Pflanzenbiotechnologie