Gefördert durch:



Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft

aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages BMVEL-Eiweißpflanzenstrategie

BÖLN

Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft



nano VIR: Neue Viruserkrankungen in Erbsen und Ackerbohnen: Status quo-Analyse und Handlungsempfehlungen

New virus diseases in field pea and faba beans: Status quo-analysis and recommendations

FKZ: 15EPS023, 15EPS070, 12OE012, 12OE035

Koordination des Verbundvorhabens

Universität Kassel, Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften, Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz, Nordbahnhofstr. 1a, 37213 Witzenhausen

Tel.: +49 5542 981561

Fax: +49 5542 981564

http://www.uni-kassel.de/fb11agrar/fachgebiete-einrichtungen/oekologischer-pflanzenschutz/startseite.html

Autoren:

J.N. Seeger; K. H. Amari; T. Astor; E. Grüner; B. Sturm; L. Shrestha; H. Ziebell; C. Then; H. Böhm; H. Saucke.

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen der Eiweißpflanzenstrategie und des BÖLN.

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

Dieses Dokument steht unter www.orgprints.orgxxxxxxx/ zum Herunterladen zur Verfügung.

Abschlussbericht

BMEL – Eiweißpflanzenstrategie BÖLN

Forschungsprojekt 15EPS023, 15EPS070 Forschungsprojekt 12OE012, 12OE035

Ausführende Stellen:

Universität Kassel, Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften

Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz Nordbahnhofstraße 1a D-37213 Witzenhausen J.N. Seeger; H. Saucke

Fachgebiet Grünlandwissenschaft und Nachwachsende Rohstoffe T. Astor; E. Grüner

Fachgebiet Agrartechnik B. Sturm; L. Shrestha

JKI Braunschweig

Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik Messeweg 11/12 38104 Braunschweig H. Ziebell; K.H. Amari; C. Then

Thünen-Institut für Ökologischen Landbau Trenthorst 32 23847 Westerau H. Böhm

Projektlaufzeit:

20.04.2017- 31.12.2018 gefördert von der BMEL-Eiweißpflanzenstrategie

01.01.2019-31.11.2020 gefördert vom BÖLN

1 Danksagung

Die Verbundpartner bedanken sich bei allen Betriebsleitern in den Modellregionen. Durch deren Bereitschaft ihre Praxisflächen für umfängliche Probennahmen über vier Anbaujahre zur Verfügung zu stellen und in zahlreichen Interviews und Ortsterminen aktiv mitzuwirken, ist die Realisierung des Vorhabens erst möglich geworden. Auch die tatkräftige Mithilfe seitens der studentischen Hilfskräfte an der Universität Kassel bei den Bestimmungen der fast unzähligen Blattläuse und den aufwändigen Probenaufbereitungen, sowie das unermüdliche Engagement der AG-Pathogendiagnostik am JKI-Braunschweig durch Carolin Heidler, Jonas Hartrick und Khalid Amari, soll an dieser Stelle ausdrücklich erwähnt sein.

Besonderer Dank gilt dem BMEL für die Bereitstellung der Fördermittel sowie der BLE und ihren Angestellten in der BMVEL-Eiweißstrategie und im BÖLN für die durchweg konstruktive Unterstützung bei der fachlich-, administrativen Betreuung in alphabetischer Reihenfolge durch Judith Braun, Hubert Ostbomke, René Schug und Lea Wünn.

Kurzfassung

Das Projekt war mit der neuen Viruserkrankung PNYDV (Pea necrotic yellow dwarf virus) in Ackerbohnen (Vicia faba) und Erbsen (Pisum sativum) befasst. An drei Standorten der Projektpartner Universität Kassel-FÖP, JKI Braunschweig und TI-OL Trenthorst wurden fern- und pathogendiagnostisch begleitete Felderhebungen zur Befallssituation durchgeführt. Ergänzende Gewächshaus- und Feldversuche werteten sowohl Rein- und Mischinfektionseffekte für PNYDV und PEMV (Pea enation mosaic virus) auf Pflanzenparameter aus. Das Gelbschalen-Monitoring zur und PNYDV-Virusfracht 2017-2019 Vektor-Phänologie ergab in allen fünf nach Leguminosenbindung eingeteilten Blattlausuntergruppen PNYDV-Nachweise, bis auf Megoura viciae, jedoch mit erheblichen örtlichen und jährlichen Schwankungen und ohne erkennbares Muster in Bezug auf die ebenfalls sehr unterschiedliche PNYDV-Präsenz auf Praxisflächen. Punktinfektionen auf Versuchsflächen der Uni-Kassel und JKI-BS lieferten nur teilweise verwertbare Ergebnisse. Das PNYDV-typische, sekundäre Nesterwachstum um Infektorpflanzen trat oft nur unvollständig, aber bei zwei Ackerbohnensorten unterschiedlich auf. So waren beide Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' PNYDV- und PEMV anfällig. Aber nur bei 'Fuego' trat nennenswerte PNYDV-Sekundärausbreitung bei Nachbarpflanzen auf. Labortests am JKI-BS gingen auf mögliche epidemiologische Sortenunterschiede für den Hauptvektor A. psium ein, ergaben aber in der Wirtseignung kein eindeutiges Ergebnis. Die hyper- und multispektralen Reflektionsmuster PNYDV-infizierter und nicht-infizierter Ackerbohnen ergaben deutliche Unterschiede im sichtbaren und insbesondere im Nahinfrarotbereich. Dabei verhielten sich PNYDV- und PEMV-Reininfektionen sehr unterschiedlich, während Mischinfektionen eher PNYDV-Reininfektionen nahestanden. Insgesamt wirkte sich PNYDV in Rein- und PEMV-Mischinfektion in allen Gewächshaus-, Feld- und on-farm Erhebungen signifikant mindernd auf Wurzelknöllchenbesatz, Luftstickstoffbindung, Kornertrag und Rohproteingehalt bei Ackerbohne und Erbse aus. Die umfänglichen Vegetationsindex-Berechnungen mit multispektralen on-farm Bilddaten von Infektionsherden im Kern-, Rand- und Referenzbereich, ergaben für GNDVI (Green Normalized Difference Vegetationsindex) die signifikantesten Ernteverlust-Korrelationen für beide Zielkulturen. Da GNVDI bereits früh und signifikant auf latente PNYDV-Infektionen bei Ackerbohnen und Erbsen ansprach, scheint die Perspektive einer "PNYDV-Frühdiagnostik" bei entsprechenden Weiterungen gegeben zu sein. Welche abiotischen und biotischen Rahmenbedingungen Stark- und Schwachbefallsjahre ausmachen, bleibt zunächst offen. Rückblickend auf das Praxismonitoring 2017-2019 scheint PNYDV auch bei erheblichen Statusschwankungen in den Anbaugebieten fest etabliert zu sein. Kontakt:

Universität Kassel, Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften 15EPS023 Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz Nordbahnhofstraße 1a D-37213 Witzenhausen

hsaucke@uni-kassel.de

Abstract

"nano VIR: New viral diseases in peas and faba beans: Status quo-analysis und recommendations for the agricultural practice"

The project gathered basic information concerning the epidemiology and pest status of PNYDV (Pea necrotic yellow dwarf virus) in field pea (Pisum sativum) and faba bean (Vicia faba) in four consecutive years 2017-2020. Three partner institutions, namely University Kassel-FÖP, JKI Braunschweig and TI-OL Trenthorst conducted on-farm field surveys accompanied by UAV-remote sensing techniques and viral diagnostics. In parallel, greenhouse- and field experiments investigated the effects of PNYDV and PEMV (Pea enation mosaic virus) in sole and mixed infections. A yellow water pan-trap monitoring distinguished vector flight in 5 distinct leguminous aphid groups and the respective PNYDV-loads. Trap catches fluctuated widely within location, year and vector group. PNYDV-detection occurred in all groups, except in Megoura viciae and these phenological patterns were not consistent in relation to the annual PNYDV-presence, which was also variable at the respective field sites. Point infections in experimental plots at University Kassel and at JKI-BS provided only partially usable results. The expected PNYDV-typical secondary nest growth around infector plants was low, but differently in two faba bean varieties. Basically, both varieties 'Fuego' and 'GL Sunrise' were susceptible to PNYDV and PEMV. However, only 'Fuego' showed significant secondary spread of PNYDV to neighbouring plants. Laboratory tests at the JKI-BS addressed possible varietal effects in the main vector A. pisum, but did not yield a clear result in differing host suitability traits. Hyper- and multispectral reflection patterns in PNYDV-infected and non-infected faba beans differed clearly in the visible and especially in the near-infrared range. PNYDV and PEMV sole infections behaved very differently, while mixed infections were more similar to PNYDV sole infected plants. Overall, PNYDV in pure and mixed infections with PEMV significantly reduced root nodulation, atmospheric nitrogen fixation, grain yield and crude protein content in faba bean and field pea in all greenhouse-, field- and on-farm surveys. Vegetation indices obtained from multispectral images of infected on-farm sites revealed for GNVDI (Green Normalized Difference Vegetation Index) the most significant yield loss correlations in the focal core-, periphery and reference in both target crops. Since GNVDI already responded to latently PNYDV-infected faba beans and peas, remote sensing of early PNYDV-infections seems to be realistic in case of further refinements. Which abiotic and biotic conditions are decisive for a severe or weak PNYDVon-farm status remains to be seen. In view of the field monitoring 2017-2019 PNYDV status fluctuated considerably, however, it seems to be firmly established within the areas investigated. Contact:

Universität Kassel, Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften 15EPS023, 12OE012 Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz Nordbahnhofstraße 1a D-37213 Witzenhausen

hsaucke@uni-kassel.de

2 Inhalt

1	Dar	Danksagung3						
2	Inh	Inhalt6						
3	Einf	Einführung						
	3.1	1 Gegenstand des Vorhabens						
	3.2	Ziele	e und Aufgabenstellungen des Projektes	13				
	3.3	Bezı	ug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen (z.B. Förderprogramm)	14				
4	Wis	sens	chaftlicher und technischer Stand	15				
5	Mat	erial	und Methoden	16				
	5.1	Vekt	torphänologie	20				
	5.2	Viru	sdiagnostik bei Pflanzen und Blattläusen	21				
	5.3	Allge	emeines zum Versuchsaufbau mit Virus-Infektionen	21				
	5.4	Vor	versuch zur Inokulationsmethode	22				
	5.5	Aus	wirkungen von Virosen auf die Nodulation	22				
	5.5	.1	Nodulation im Gewächshausversuch Ackerbohne, Erbse 2017	23				
	5.5	.2	Nodulation im Feldversuch Ackerbohne 2018	23				
	5.5	.3	Nodulation & Luftstickstoffbindung auf Praxisflächen, Uni KS, 2018	24				
	5.5	.4	Nodulation im Feldversuch Ackerbohne, Uni-KS, 2019 (Käfig)	24				
	5.5	.5	Nodulation & Luftstickstoffbindung im Praxisversuch Ackerbohne, Uni-KS, 2	2019				
	5.5	.6	Nodulation & Lufstickstoffbindung im Feldversuch Ackerbohne, Uni-KS, 2020	0.25				
	5.6	hype	erspektrale Aufnahmen	25				
	5.6	.1	Gewächshausversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 2017	26				
	5.6.2 Gewächshausversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 20			26				
	5.6	.3	Feldversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 2019	26				
	5.6	.4	Praxis-Sortenversuch mit hyperspektralen Aufnahmen, Uni-KS, 2019	27				
	5.7	Mult	tispektralen UAV-Aufnahmen	27				
	5.7	.1	Verwendete Indices und Texturparameter	27				
	5.7	.2	Feldversuch zur Symptomatik an Ackerbohne, Uni-KS, 2017	28				
	5.7	.3	Feldversuch zur Symptomatik an Ackerbohne, Uni-KS, 2018	28				
	5.7	.4	Feldversuch zur Symptomatik an Erbse, JKI-BS, 2018	29				
	5.7	.5	Praxisversuch zur Symptomatik an Ackerbohne, Uni-KS, 2019	29				
	5.7	.6	Feldversuch zur Symptomatik an Erbse, JKI-BS, 2019	29				
	5.8	PNY	DV-Monitoring auf Praxisflächen	30				
	5.8	.1	On-farm Monitoring 2017	30				
	5.8	.2	On-farm Monitoring 2018	30				
	5.9	Sort	enunterschiede in Gewächshausversuchen	31				
	5.10	St	tatistische Auswertungen	33				
6	Aus	führl	liche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	35				
	6.1	Vekt	torphänologie	35				
	6.2	Viru	s-Nachweis	39				

6.2.1 Infektions-Wiederfunde und -Ausbreitung in Feldversuchen
6.2.2 PNYDV-Monitoring auf Praxisflächen 2017, 2018, 2019
6.3 Nodulation und symbiontische N-Bindung44
6.3.1 Gewächshausversuch zur Nodulation an Ackerbohne und Erbse, 201744
6.3.2 Feldversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS, 2018
6.3.3 Praxisversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS, 201845
6.3.4 Feldversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS, 2019
6.3.5 Praxisversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS, 201947
6.3.6 Feldversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS 2020
6.4 Hyperspektrale Fernoptik51
6.4.1 Gewächshausversuche für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 2017 & 2018.51
6.4.2 Feldversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 201853
6.4.3 Feldversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 201954
6.5 Multispektrale Fernoptik55
6.5.1 Feldversuche 2017 und 201855
6.5.2 Monitoring auf Praxisflächen 201755
6.5.3 Monitoring auf Praxisflächen 201855
6.5.4 Monitoring auf Praxisflächen 201958
6.6 Ertragsparameter
6.7 Korrelation Fernoptik und Ertrag70
6.8 Saugverhalten von <i>A. pisum</i> auf verschiedenen Ackerbohnensorten71
6.9 Sortenabhängige Virusübertragungseffizienz73
7 Diskussion der Ergebnisse
7.1 Vektorphänologie und PNYDV-Monitoring75
7.2 Infektions-Nachweise und -Ausbreitung in Feldversuchen
7.3 Nodulation
7.3.1 Luftstickstoffbindung:79
7.4 Hyperspektrale Fernoptik80
7.5 Multispektrale Fernoptik80
7.6 Frühdiagnostik81
7.7 Pflanzen- und Ertragsparameter81
8 Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse
9 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen84
10 Literaturverzeichnis
11 Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierter Veröffentlichungen

Abkürzungen:

Forschungsprojekte:

CYDNIGPRO	Entwicklung eines computergestützten Entscheidungshilfemodells zur Prävention von Erbsenwicklerschäden in Körnerleguminosen
EPS	Eiweißpflanzenstrategie des BMEL
nano VIR	Neue Viruserkrankungen in Erbsen und Ackerbohnen: Status quo-Analyse und Handlungsempfehlungen
WP1	Work Package 1: Präventive Anbauplanung im Umgang mit der Schädlingsgilde in Ackerbohnen und Erbsen zur Schadensvermeidung und Ertragssicherung
<u>Standorte:</u>	
JKI-BS	Julius Kühn-Institut Braunschweig, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Niedersachsen
TI-OL	Thünen-Institut für Ökologischen Landbau Trenthorst, Schleswig-Holstein
Uni-KS	Universität Kassel, Witzenhausen, Ökologische Agrarwissenschaften, FB11 Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz, Hessen
<u>Viren:</u>	
BLRV	Bean leaf roll virus
PEMV	Pea enation mosaic virus
PNYDV	Pea necrotic yellow dwarf virus
TuYV	Turnip yellows virus
Virus-Variante	en der Inokulationen:
MIX1	Mischinfektion aus PEMV und PNYDV, inokuliert mit je fünf Blattläusen
MIX2	Mischinfektion aus PEMV und PNYDV, inokuliert mit je zehn Blattläusen
PEMV	Pea enation mosaic virus
PNYDV	Pea necrotic yellow dwarf virus
<u>Versuchsaufba</u>	au:
GS	<u>G</u> elb <u>s</u> chalen für das Monitoring der Blattlausphänologie
t1 – t5	erster bis fünfter Bonitur-Zeitpunkt
TP1 – 4	erster bis vierter Transektpunkt
Analytische Verf	ahren:
DAS-ELISA	Double-Antibody-Sandwich-ELISA
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
RT-PCR	Reverse-Transkriptase-PCR
TAS-ELISA	Triple-Antibody-Sandwich-ELISA
TKG	Tausendkorngewicht
Fernoptische Be	griffe:
CI	Chlorophyll Index
GNDVI	Green Normalized Difference Vegetationsindex
NIR	nahinfraroter Wellenlängenbereich

"nanoVIR: Neue Viruserkrankungen in Erbsen und Ackerbohnen: Status quo-Analyse und Handlungsempfehlungen" 15EPS023, 15EPS070, 12OE012, 12OE035

Abbildungsverzeichnis:

Abbildung 1: eine von drei Gelbschalen für Blattlaus-Fänge; (Neu-Eichenberg, 2017)
Abbildung 2: Inokulation der Ackerbohnen mit dem Vektor Acyrthosiphon pisum im Nylonstoff; (Neu-Eichenberg, 2017)
Abbildung 3: Vektorphänologie 2017, 2018 und 2019, Uni-KS JKI-BS, TI-OL: Anzahl Blattläuse pro Gelbschale (GS);
Sterne entsprechen PNYDV-Nachweisen der einzelnen Chargen, der grüne Pfeil markiert die Kalenderwoche
mit der ersten gefangenen A. pisum in GS. Unterschiedliche Y-Skalen der Standorte beachten! (ID-B)
Abbildung 4: Vektorphänologie 2017 , 2018 und 2019 , Uni-KS : Besiedlungsverlauf (als Anteil blattlausbefallener Pflanzen in %) an der Ackerhohnensorte (Eugan' sowie 2019 auch an (GL Suprise' (ID-C) 38
Abbildung 5: Virus-Wiederfund (%) von PNVDV- und PEMV-Inokulationen an Ackerbohnen in drei Varianten:
'Fuego' früh in BBCH 13 inokuliert, 'Fuego' spät in BBCH 59, 6.5 Wochen später inokuliert, 'GL Sunrise' früh inokuliert; drei Beprobungs-Zeitpunkte: A) t1, 2 bzw. 4 Wochen nach Inokulation, Beprobung der primärinfizierten Pflanze, B) t2, 5 bzw. 7 Wochen nach Inokulation, Beprobung von drei direkten
Nachbarnflanzen c) t3 9 hzw 11 Wochen nach Inokulation Mischnrobe aus ½ m ² zur Ernte (Uni-KS 2018 ID-
0) 40
Abbilduna 6: mittlere Knöllchenmasse des Gewächshausversuchs 2017. an A) Erbse. 'Astronaute' B) Ackerbohne
'Fuego' Fehlerbalken ≙ Standardabweichung (Uni-KS 2017, ID-D)
Abbildung 7: Mittlere Anzahlen der Knöllchen nach Farbkategorien des Knöllcheninhalts des
Gewächshausversuchs 2017, an A) Erbse, B) Ackerbohne (Uni-KS 2017 ID-D)
Abbildung 8: Mittlere Anzahlen der Knöllchen nach Farbkategorien des Knöllcheninhalt aus Kern, Rand und
Referenz von Praxisflächen, (Uni-KS 2018, ID-F)
Abbildung 9: Mittlere Wert von DELTA Luft (‰) der Bereiche Kern, Rand und Referenz von PNYDV-Nestern an
Ackerbohne 'Fuego' auf Praxisflächen; Fehlerbalken <i>≙</i> Standardfehler (nach emmeans) (Uni-KS 2018, ID-F). 47
Abbildung 10: Färbungszustand aufgeschnittener Knöllchen aus Kern, Rand und Referenz von Praxisflächen, (Uni -
KS 2019, ID-H)
Abbildung 11: Mittlere Werte von DELTA Luft (‰) der Bereiche Kern, Rand und Referenz von PNYDV-Nestern bei
Ackerbonne 'Fuego' auf Praxisfiachen; Fenierbaiken ≅ Standardfenier (nach emmeans) (Uni-KS 2019, ID-H). 49
Abbildung 12: Mittelwert von links: Knolichenmässe in mg und rechts: Del 1A Lujt-Wert der dent varianten mit
den zwei Sorten Fuego und GL Sunnse, jewens jrun und Spal Injiziert und mit der jewens zugenöngen Kontrolle: unterschiedliche Ruchstaben stehen für signifikante Unterschiede. Die DELTA Luft %. Werte für
'Eueno' der frühen und snäten PNVDV-Infektion sind wegen möglicher methodischer Artefakte unsicher und
schattiert dargestellt ⁻ Fehlerhalken – Standardfehler (nach emmeans) (Uni-KS 2020, ID-I) 50
Abbilduna 13: mittlere relative Reflektion von Fiederblättchen der Ackerbohne 'Fuego' in den Varianten
Mischinfektion (PNYDV+PEMV), PNYDV und Kontrolle; Aufnahme mit festinstallierter Specim
Hyperspektralkamera, Fehlerbalken 🖴 Standardabweichung, (Uni-KS 2017, ID-J)
Abbildung 14: mittlere relative Reflektion von Fiederblättchen der Ackerbohne 'Fuego' in den Varianten
Mischinfektion (PNYDV+PEMV), PNYDV, PEMV, sowie nach Blattlausbesatz ohne Virusfracht (Kontrolle 1) und
ganz ohne Blattlausbesatz (Kontrolle 2); Aufnahme mit mobiler Specim IQ Hyperspektralkamera, Fehlerbalken
<i>≙</i> Standardabweichung, (Uni-KS 2018, ID-L)
Abbildung 15: PCA der relative Reflektion von Fiederblättchen der Ackerbohne 'Fuego' in den Varianten
Mischinfektion (PNYDV+PEMV), PNYDV, PEMV, sowie nach Blattlausbesatz ohne Virusfracht (Kontrolle 1) und
ohne Blattlausbesatz (Kontrolle 2); A : Score Plot der Proben, B : Loadings Plot der Wellenlängen, C :
vereinfachter Loadings Plot exemplarisch ausgewählter Wellenlängen; Aufnahme mit mobiler Specim IQ
Hyperspektralkamera, (Uni-KS 2018, ID-L)
Abbilaung 16: relative Reflektion von Einzelpflanzen der Ackerbonnensorten "Fuego" und "GL Sunrise" in den
varianten Kontrolle una PElviv-Infiziert; links: jrune infektion in BBCH 13 una rechts: spate infektion in BBCH
33/30, (UIII-KS 2019, ID-IVI)
'ADDiluung 17. Score Piols der PCAS der Peldive Rejiektion von Einzeipjidizen der Ackerbonnensonen Fuego und 'GL Suprise' in den Varianten Kontrolle und PEMV-infiziert: links: frühe Infektion in BBCH 12 und rechts: späte
Infektion in BBCH 33/50 (IIni-KS 2019 ID-M)
Abbildung 18: RGB-I uftbild der Drohne Phantom 3 mit Segunia Multisnektralkamera. Orthomosaik erstellt mit
Agisoft Photoscan: Ackerbohne 'Fuego'. BBCH 75. 07.07.2018. Pfeil weist auf das in Abhilduna 19 näher
betrachtete PNYDV-Nest (Uni-KS 2018, ID-V)
Abbildung 19: PNYDV-symptomatisches Nest in Ackerbohne 'Fuego', BBCH 75, am 07.07.2018, (Uni-KS 2018, ID-
V)

"nanoVIR: Neue Viruserkrankungen in Erbsen und Ackerbohnen: Status quo-Analyse und Handlungsempfehlungen" 15EPS023, 15EPS070, 12OE012, 12OE035

Abbildung 20. mittlens salating Deflation day $0.25 m^2$ Aussels itte van multispalitetelen Auforburge day
Abbildung 20: mittlere relative Reflektion der 0,25 m ⁻ -Ausschnitte von multispektralen Aufnahmen der Praxisflächen mit Ackerbohne, differenziert in Kern und Referenz von PNYDV-symptomatischen Nestern, (Uni- KS 2019, IN V)
Abbildung 31, CNDV/ (Croon Normalized Difference Vegetationindey) der Askerbahne (Euses' BBCU ZE, am
Abbildung 21: GNDVY (Green Normalized Dijjerence vegetationindex) der Ackerbonne Fuego, BBCH 75, um 07.07.2018 mit 0.25 m ² Quadraten von Kern, Rand und Referenz jeweils 1.5 m voneinander entfernt (n = 51)
(Uni-KS 2018 ID-V)
Abhildung 22:1 ufthilder in jeweils links: RGB und rechts: GNDVI: A : Ackerhohnen Sortenveraleich mit 'Euego' & 'GI
Sunrise', BBCH 80, B : Ackerbohne 'Fuego', BBCH MS7, C: Erbse 'Astronaute', BBCH MS7; (Uni-KS 2019, ID- Y&X)
Abbildung 23: PCA von multisnekralen Aufnahmen zum Zeitnunkt t1 (BBCH 62) von 0.25 m ² -Ausschnitten von
Kern. Rand und Referenz der Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise': links: Score Plot der Proben. rechts:
Loadinas Plot der einzelnen Kanäle. Indices (Tabelle 7) und Texturparameter. (Uni-KS 2019. ID-Y)
Abbildung 24: PCA von multispekralen Aufnahmen zum Zeitpunkt t5 (BBCH 80) von 0,25 m ² -Ausschnitten von
Kern, Rand und Referenz der Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise'; links: Score Plot der Proben, rechts:
Loadings Plot der einzelnen Kanäle, Indices (Tabelle 7) und Texturparameter, (Uni-KS 2019, ID-Y)
Abbildung 25: PCA von multispekralen Aufnahmen zum Zeitpunkt t2 (BBCH MS7) von 0,25 m ² -Ausschnitten von
Kern, Rand und Referenz der Praxisflächen Erbse Astronaute; links: Score Plot der Proben, rechts: Loadings
Plot der einzelnen Kanäle, Indices (Tabelle 7) und Texturparameter, (Uni-KS 2019, ID-X)
Abbildung 26: PCA von multispekralen Aufnahmen zum Zeitpunkt t2 (BBCH MS7) von 0,25 m ² -Ausschnitten von
Kern, Rand und Referenz der Praxisflächen Ackerbohne 'Fuego'; links : Score Plot der Proben, rechts : Loadings
Plot der einzelnen Kanäle, Indices (Tabelle 7) und Texturparameter, (Uni-KS 2019, ID-X)
Abbildung 27: Mittelwert und Standardfehler (nach emmeans) von GNDVY (Green Normalized Difference
Vegetationindex) der Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' von 0,25 m ² Quadraten von Kern, Rand und
Referenz, zu den Zeitpunkten t1 in BBCH 62, t2 in BBCH 68, t3 in BBCH 78 und t5 in BBCH 80; Fehlerbalken ≙
Standardfehler (nach emmeans), (Uni-KS 2018, ID-V)63
Abbildung 28 Mittelwert und Standardfehler (nach emmeans) von GNDVY (Green Normalized Difference
Vegetationindex) der Praxisflächen Erbse und Ackerbohnen von 0,25 m² Quadraten von Kern, Rand und
Referenz, zu den Zeitpunkten t1 in BBCH MS6, t2 in BBCH MS7; Fehlerbalken ≙ Standardfehler (nach
emmeans), (Uni-KS 2018, ID-V)
Abbildung 29: mittlerer Kornertrag pro Pflanze (g) von PNYDV-infizierten Pflanzen und Kontrolle aus dem
Gewächshäusversuch an A) Erbse, B) Ackerbonne; Fenierbäiken ≅ Standardabweichung, (n = 8), (Uni KS 2017, D)
Abbildung 30: Mittlerer Kornertrag pro Pflanze (g) des Feldversuchs an Ackerbohne der verschiedenen
Infektionsvarianten sowie der jeweiligen Umgebungspflanzen; Fehlerbalken ≙ Standardabweichung, (n = 25),
(Uni-KS 2017, ID-N)
Abbildung 31: A) Mittlerer Kornertrag (g) B) mittlerer Rohprotein-Gehalt (%) pro ¼ m² der Bereiche Kern, Rand
und Referenz von PNYDV-Nestern an Ackerbohne 'Fuego' auf Praxisflachen; Fehlerbalken \triangleq Standardfehler
(nach emmeans), (n = 51), (Uni-KS 2018, ID-V)
Abbilaung 32: Niitteiwert von Kornertrag una Konproteingenalt aus naturiichen infektionsnerden; Fenierbaiken \Rightarrow
Stunuurujenier (nuch emineuris), (Uni-KS 2019, ID-Y)
Abbindung 55. Willerwerte der Komertruge und Komproteinigendite vom Ackerbonnen-Proxisjiachen das
Abbildung 31: Mittelwerte der Kornerträge und Rohnroteingehalte von Erhsen -Pravisflächen aus natürlichen
Infektionsherden 'Astronaute' Fehlerhalken \triangle Standardfehler (nach emmeans) (Uni-KS 2019 ID-X) 67
Abbildung 35: Erträge und Rohnroteingehalte im Sortenvergleich Ackerhohnen unter Feldhedingungen
<i>Eehlerbalken</i> \triangleq Standardfehler (nach emmeans). (Uni KS 2020. ID-I).
Abbilduna 36: Verteiluna der Erträge und Rohproteingehalte auf Ernte- und Kümmerkornfraktion.
Sortenveraleich unter Feldbedingungen. (Uni-KS 2020. ID-I)
Abbildung 37: Korrelation von Kornerträgen in Infektionsherden von 'Fuego' 2018 (Uni KS 2018, ID-V) und 'Fuego
& 'GL Sunrise' auf Praxisschlägen, (Uni KS 2019, ID- X)
Abbildung 38: Zusammenfassung der für das Saugverhalten von A. pisum untersuchten EPG-Parameter nach
Verweildauer, (JKI-BS 2020)
Abbildung 39: Zusammenfassung der für das Saugverhalten von A. pisum untersuchten EPG-Parameter nach
Häufigkeit, (JKI-BS 2020)

Tabellensverzeichnis:

Tabelle 1: Versuch zur Inokulationsmethode "Punktinfektionen" unter Feldbedingungen
Tabelle 2: Viruseintragspfade mit Übersicht über die angestellten Versuche zur Vektorphänologie in den Jahren 2017 bis 2019; (Teilziel 2).
Tabelle 3: PNYDV-Schadwirkungen mit Übersicht über die angestellten Versuche über Auswirkungen von Virosen
auf die Nodulation in den Jahren 2017 bis 2020: (Teilziel 1).
Tabelle 4: Übersicht über die anaestellten Versuche mit hyperspektralen Aufnahmen von Virosen in den Jahren
2017 bis 2019; (Teilziel 3 und 4)
Tabelle 5: Übersicht über die angestellten Versuche zur Symptomatik mit multispektralen Aufnahmen von Virosen
in den Jahren 2017 bis 2019; (Teilziel 3)
Tabelle 6: Übersicht über die angestellten Monitorings natürlicher Virus-Infektionen in den Jahren 2017 bis 2019;
(Teilziele 1,3,4,5)
Tabelle 7: Für multispektrale Bildauswertungen berechnete Indices
Tabelle 8: Übersicht der Varianten zum Saugverhaltensvergleich mittels Elektro-Penetro-Gramm (EPG) mit der
Erbsenblattlaus (A. pisum) auf unterschiedlichen Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' mit
verschiedenem Virusstatus am JKI 2020; (Teilziel 5)
Tabelle 9: Übersicht der Varianten zur Virusübertragungseffizienz bei zwei Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL
Sunrise' mittels Vakuum
Tabelle 10: ELISA-Nachweis (%) von PNYDV und PEMV nach Punktinfektion im Versuch für multispektrale
Aufnahmen (Uni-KS 2019, ID-Q)
Tabelle 11: ELISA-Nachweis (%) von PNYDV und PEMV nach Punktinfektion zweier Gemüseerbsensorten im
Versuch für multispektrale Aufnahmen (JKI-BS, 2019, ID-R)
Tabelle 12: ELISA-Nachweis (%) von PNYDV und PEMV an Ackerbohne 'Fuego' aus PNYDV-symptomatischen
Nestern von Praxisflächen, entlang eines Transekts vom Kern nach außen mit Beprobungsabstand von 1,5 m,
(Uni-KS 2018, ID-V & TI-OL 2018, ID-W)
Tabelle 13: ELISA-Nachweis (%) der Viren PNYDV, PEMV, BLRV und TuYV an den Ackerbohnensorten 'Fuego' und
'GL Sunrise' in Kern, Rand und Referenz von acht PNYDV-symptomatischen Nestern je Sorte, (Uni-KS 2019, ID -
YJ
Tabelle 14: ELISA-Nachweis (%) der Viren PNYDV, PEIVIV, BLRV und TuYV an den Ackerbonnensorten "Fuego" und
GL SUNFISE [®] IM VIRUSSIVEY, (UNI-KS 2019, ID-Y)
Tabelle 15: ELISA-Nachweis (%) von PNYDV, PENV, BLRV und TuYV an Ackerbonne "Fuego" in Kern, Rand und
Rejerenz von PNYDV-symptomatischen Nestern von Praxisjiachen (Uni-KS 2019, ID-X & Ti-OL, 2019, ID-2) 43 Taballa 16: EUSA Machuneis (%) von PNYDV, PENV, PLAV, PLAV, an Erbes (Astronauts) in Korn, Band und
Tubelle 10: ELISA-Nucliweis (%) von PNYDV, PEIVV, BLRV und TuYV un Elise Astronoulle in Kern, Kund und
Rejerenz von PNTDV-symptomatischen Nestern von Praxisjiachen (Uni-KS 2018, ID-K)
Tubelle 17. Willelwert und Standardubweichung in Klammern von Sprossiange in chi, Anzani Kholichen und
Punktinfaktionsversuch zur Nodulation (Ini-KS 2018 ID_E)
Tabelle 18: Mittelwert und Standardfehler (nach emmegns) in Klammern von Sprosslänge in cm. Sprossmasse in
a Anzahl Hülsen und Trackenmasse der Knöllchen in ma in den Variante Mix DNVDV DEMV und Kontrolle im
g, Anzam Haisen and Hockenmasse der Knonchen in rig in den Vanance witz, FNTDV, FLWV and Koncone in Punktinfektionsversuch zur Nodulation (IIni-KS 2018 ID-E)
Tahelle 19: Mittelwert und Standardahweichung in Klammern von Sprosslänge in cm. Anzahl Knöllchen und
Trockenmasse in ma der Knöllchen der Varianten Mix (Mischinfektion) PNYDV PEMV und Kontrolle. Die vier
Virusvarianten wurden jeweils im offenen Freiland und im Käfia untersucht (Uni-KS 2019 ID-G) 47
Tabelle 20: Mittelwert und Standardfehler von Sprosslänge in cm. Anzahl Knöllchen und Trockenmasse in ma der
Knöllchen der Varianten Kern. Rand und Referenz: unterschiedliche Buchstahen stehen für sianifikante
Unterschiede (Uni-KS 2019 ID-H) 48
Tabelle 21: Mittelwert von Anzahl Seitensprosse. Wurzellänge in cm und Anzahl Knöllchen der acht Varianten mit
den zwei Sorten 'Euego' und 'GL Sunrise', ieweils früh und spät infiziert (I) und mit der ieweils zugehörigen
Kontrolle (K): unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede. (Uni-KS 2020, ID-I)
Tabelle 22: Mittelwert und Standardfehler in Klammern zu Pflanzenbaramtern in natürlicher Infesktionsherden
bei 'Fuego' und 'GL Sunrise' im Sortenversuch. (Uni-KS 2019. ID-O)
Tabelle 23: Mittelwerte und Standardfehler in Klammern zu Pflanzenparametern von Ackerbohnen-Praxisflächen
aus natürlichen Infektionsherden 'Fuego', (Uni-KS 2019, ID-X).
Tabelle 24: Mittelwerte und Standardfehler in Klammern zu Pflanzenparametern von Erbsen -Praxisflächen aus
natürlichen Infektionsherden 'Astronaute', (Uni-KS 2019, ID-X)67

"nanoVIR: Neue Viruserkrankungen in Erbsen und Ackerbohnen: Status quo-Analyse und Handlungsempfehlungen" 15EPS023, 15EPS070, 12OE012, 12OE035

Tabelle 25: Mittelwerte von Pflanzenparametern der Gemüeserbsensorten 'Ambassador' und 'Rainer' aus	dem
Infektionsversuch, (JKI-BS 2019, ID-R)	68
Tabelle 26: Pflanzenparameter im Sortenvergleich unter Feldbedingungen bei zum Boniturzeitpunkt t2	
entnommenen Pflanzen, (Uni-KS 2020, ID I)	68
Tabelle 27: Signifikanzen und roh-Werte der Korrelationen nach Spearman der Regressionen aus Abbildur	ng 37,
für beide Ackerbohnensorten und Erbsen	71
Tabelle 28: Wiederholung 1 der Übertragungseffizienz, (JKI-BS 2020)	73
Tabelle 29: Wiederholung 2 der Übertragungseffizienz, (JKI-BS 2020)	73
Tabelle 30: Wiederholung 3 der Übertragungseffizienz, (JKI-BS 2020)	74

3 Einführung

3.1 Gegenstand des Vorhabens

Das Projekt nano *VIR* befasste sich mit einer neuen Viruserkrankung PNYDV (*Pea necrotic yellow dwarf virus*) in Ackerbohnen und Erbsen und sollte bestehende Wissensdefizite zum Infektionsund Schadhergang aufarbeiten und neue Techniken zur Schadensbewertung und Frühdiagnose anwenden und weiterentwickeln. Auf Grundlage dieser Status-quo Analyse sollten konkrete Ansatzpunkte und Handlungsempfehlungen zur Befallsvermeidung und -reduktion für Beratung und Anbaupraxis herausgearbeitet werden.

Das Projekt war als ergänzendes Arbeitspaket im Projektverbund 12OE012 CYDNIGRO und WP1 15EPS023 konzipiert, unter Einbeziehung des pflanzenvirologischen Instituts des JKI-BS (Julius Kühn-Institut Braunschweig, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik) (15EPS070). Das JKI-BS stellte dabei die Infrastruktur für die gesamte Pflanzenvirenanalytik und koordiniert weiterhin die Durchführung und Abwicklung des Monitoringprogramms an zwei zusätzlichen Versuchsstandorten, dem JKI-eigenen Versuchsstandort Sickte und dem TI-OL (Thünen-Institut für Ökologischen Landbau)-eigenen Versuchsstandort Trenthorst.

Das von der BMVEL-Einweißpflanzenstrategie geförderte Verbundvorhaben "nanoVIR" bestehend aus 15EPS023 und 15EPS070 konnte für zwei weitere Anbauzyklen im BÖLN unter den Förderkennzeichen 12OE012, 12OE035 fortgeführt werden. Der vorliegende Bericht umfasst sowohl die Ergebnislage der BMEL Eiweißpflanzenstrategie-Förderphase 2017-2018 und der Verlängerung im BÖLN 2019-2020.

3.2 Ziele und Aufgabenstellungen des Projektes

Der erste Förderzeitraum in der BMVEL-Eiweißpflanzenstrategie April-Dez 2017 war zunächst als reines Praxismonitoring konzipiert. Im Zuge verschiedener Aufstockungen und dem Transfer ins BÖLN, ergaben sich inhaltliche Weiterungen. Insgesamt wurden fünf Teilziele bearbeitet:

- 1. **PNYDV-Schadwirkungen** bezüglich Pflanzenentwicklung, Knöllchenfunktion und Luftstickstoffbindung, sowie Ertragsparameter unter experimentellen Gewächshaus- und Feldbedingungen, sowie in der Anbaupraxis.
- 2. **PNYDV-Eintragspfade** als mehrortiges Gelbschalenmonitoring zur Flugaktivität und Virusfracht der Vektoren, sowie der Blattlausbesiedelung in ökologisch geführten Versuchs-, bzw. Praxisflächen.

- 3. **Fernoptische Erfassungen** auf Praxisflächen mit Erbsen, bzw. Ackerbohnen in Nordhessen, Niedersachsen und Schleswig-Holsteins zur Virus-Präsenz
- 4. **Evaluation von PNYDV-Reflektionsindices** mit dem Fernziel einer fernoptischen Frühdiagnostik am Beispiel Ackerbohnen
- Charakterisierung von Sortenunterschieden am Beispiel zweier Ackerbohnensorten bezüglich a) PNYDV-Anfälligkeit unter Feldbedingungen und ergänzend b) unterschiedlicher Virusübertragung und/oder Wirtseignung für die Erbsenblattlaus in Laborversuchen.

3.3 Bezug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen (z.B. Förderprogramm)

Da zwei Zielkulturen der BMEL-Eiweißpflanzenstrategie von der PNYDV-Epidemie in 2016 empfindlich betroffen waren, bestand Verunsicherung und Untersuchungsbedarf zum wirtschaftlichen Status und der Eruierung ferndiagnostischer Verfahren zur Früherkennung und Schadenserfassung. Weiterhin waren grundsätzliche Kenntnislücken für den phytomedizinischen Umgang für Beratung und Praxis anzugehen, sodass direkte und indirekte Bezüge zu mehreren Förderprogrammen bestanden wie folgt:

- Bekanntmachung Nr. 09/14/31 "EPS", Forschungs- und Entwicklungsvorhaben (FuE-Vorhaben) zur "Ausweitung und Verbesserung des Anbaus und der Verwertung von Leguminosen mit Schwerpunkt Bohnen und Erbsen in Deutschland" vom 27.03.2015;
- Ausschreibung "innovativen Vorhaben für einen nachhaltigen Pflanzenschutz vom 28. Juli 2015 und zur Bekanntmachung Nr. 09/14/31 "EPS"
- Nationaler Aktionsplan Pflanzenschutz (NAP; http://www.nap-pflanzenschutz.de/)
- BÖLN Ausschreibung <u>http://www.bundesprogramm.de/forschungsmanagement/programm-des-bmelv/</u> "Programm des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL), zur Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer im ökologischen Landbau (D und E)^{*}.

4 Wissenschaftlicher und technischer Stand

Das Nanovirus PNYDV (*Pea necrotic yellow dwarf virus*) ist als neue Viruserkrankung beschrieben (Vetten et al. 2012) und tritt mittlerweile auch in verschiedenen europäischen Nachbarländern in Körnerleguminosen auf (Grigoras et al. 2010; Gaafar et al. 2016; Ziebell 2016, 2017; Gaafar et al. 2017). Wie andere bekannte Nanoviren ist PNYDV nicht samenübertragbar und wird von leguminosenbesiedelnden Blattläusen persistent übertragen (Vetten et al. 2012). Der PNYDV-Lebenszyklus ist bisher unverstanden, insbesondere welche PNYDV-Winterwirtspflanzen mit welchen Vektoren als "Grüne Brücke" fungieren könnten (Gaafar et al. 2020). Als begünstigend für PNYDV-Epidemien in Deutschland werden auch biotisch-/abiotische Rahmenbedingungen diskutiert, wie häufigere Abfolgen milder Winter und damit häufigere anholozyklische Überwinterung, als auch der eher einsetzende Frühjahrsflug der Vektoren (Froehlich 1962; Harrington et al. 2007; Habekuß et al. 2009; Hullé et al. 2010; Krüssel, pers. com. 2017; Ziebell 2017).

In der Anbaupraxis bestand Verunsicherung, wie das seit 2016 praktisch bundesweite Auftreten der neuen Viruserkrankung in Erbsen- und Ackerbohnen einzuschätzen war. Auch wurden mögliche abträgliche Auswirkungen für die generelle Akzeptanz der BMVEL Eiweißstrategie und die Attraktivität legumer Zwischenfüchte als Greening-Option diskutiert (Grausgruber-Gröger und Moyses 2017).

Aufgrund der ungleichmäßigen, nesterweisen Verteilung der PNYDV-Schadsymptome in der Fläche, stellen fernoptische Erfassungsmethoden einen grundsätzlich gangbaren Weg dar, die Ertragswirksamkeit von Pflanzenpathogenen auf Praxisflächen abzuschätzen (Teng 1990; Jones 2004; Nutter et al. 2010; Sankaran et al. 2015). In einem ersten Probelauf wurden praxisübliche RGB-Digitalbilder mittels Drohne in Kombination mit Erntestichproben in PNYDV-Schadnestern versus Referenzbereichen und entsprechender Virusdiagnostik ausgewertet (Saucke et al. 2019). Gleichzeitig war auch das weit verbreitete PEMV (*Pea enation mosaic virus*) zu berücksichtigen, welches von den gleichen Vektoren wie PNYDV übertragen werden kann und sich zusammen mit PNYDV in Rein- und Mischinfektion auf Symptomatik und Ertragsbildung auswirkt. Die dafür benötigten pathogendiagnostischen Vorarbeiten, PNYDV in Abgrenzung von verwandten und vergesellschafteten Pflanzenviren nachzuweisen, sind am JKI entwickelt und nutzbar geworden (Abraham et al. 2000; Grigoras et al. 2014; Gaafar et al. 2017).

5 Material und Methoden

In den Jahren 2017 bis 2020 wurden an Ackerbohne (*Vicia faba* L.) und Erbse (*Pisum sativum* L.) verschiedene Gewächshaus- und Feldversuche mit kontrolliert gesetzten Virus-Infektionen, sowie ein on-farm -Praxismonitoring an drei Standorten durchgeführt:

- <u>Uni-KS</u>: Universität Kassel, Witzenhausen, Ökologische Agrarwissenschaften, FB11 Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz, Hessen
- <u>JKI-BS</u>: Julius Kühn-Institut Braunschweig, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Niedersachsen
- <u>TI-OL</u>: Thünen-Institut für Ökologischen Landbau Trenthorst, Schleswig-Holstein

In den folgenden Tabellen 1-6 sind für alle Versuche die Versuchsjahr, der Untersuchungsgegenstand, Teilziele, Standort, Sorte und in der 2. Spalte "ID" mit laufender Codierungen von A-Z für spätere Querverweise angegeben. Die Versuche sind aufgrund der vielschichtigen Ergebnisverwertung mehrfach aufgeführt. Die Laboruntersuchungen am JKI_BS zum Saugverhalten von *A. psium* bei Ackerbohnensorten aus 2020 sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 1:	Versuch zur	Inokulationsmethode	"Punktinfektionen"	unter Feldbedinaunaen
rubene 1,	Ci Sucri Zur	inoralationsinctroac,		uncer relabedingungen

Jahr	ID	Untersuchung	Standort	Pflanze	Sorte	Virus-Inokulat	Erhebung
2019	А	Methodenversuch	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego'	-	Ertrag

Tabelle 2: Viruseintragspfade mit Übersicht über die angestellten Versuche zur Vektorphänologie in den Jahren 2017 bis 2019; (Teilziel 2).

Jahr	ID	Untersuchung	Standort	Blattläuse	Erhebung
2017 2018 2019	В	Gelbschalenmonitoring	Uni-KS, JKI-BS TI-OL	Acyrthosiphon pisum, Aphis fabae, Myzus persicae, Megoura viciae, sonstige	Anzahl Blattläuse, Virusfracht
2017 2018 2019	С	Blattlaus-Besiedlung	Uni-KS,	Acyrthosiphon pisum, Aphis fabae, Myzus persicae, Megoura viciae	% befallene Pflanzen

Tabelle 3: PNYDV-Schadwirkungen mit Übersicht über die angestellten Versuche über Auswirkungen von Virosen auf die Nodulation in den Jahren 2017 bis 2020; (Teilziel 1).

Jahr	ID	Untersuchung	Standort	Pflanze	Sorte	Virus-Inokulat	Erhebung
2017	D	D Cowächshaus		Ackerbohne	'Fuego'		Nodulation,
2017		Gewachshaus	0111-13	Erbse	'Alvesta'	rivido, relivio	Ertrag
2019	E	Punktinfektion	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego'	PNYDV, PEMV, Mischinfektion	Nodulation
2018	F	Praxis	Uni-KS, Nordhessen	Ackerbohne	'Fuego'	natürliche Infektion	Nodulation
2010	G	Punktinfektion	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego'	PNYDV, PEMV, Mischinfektion	Nodulation, Ertrag
2019	Н	Praxis	Uni-KS, Nordhessen	Ackerbohne	'Fuego'	natürliche Infektion	Nodulation
2020	I	Punktinfektion	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego' & 'GL Sunrise'	PNYDV	Nodulation, Ertrag

Jahr	ID	Untersuchung	Standort	Pflanze	Sorte	Virus-Inokulat	Erhebung
2017		Gewächshaus	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego'	PNYDV, PEMV	hyperspektrale
2017	J			Erbse	'Alvesta'		Aufnahmen
	к	Punktinfektion	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego'	PNYDV, PEMV,	hyperspektrale
2019						Mischinfektion	Aufnahmen
2018	L	L Gewächshaus	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego'	PNYDV, PEMV,	hyperspektrale
						Mischinfektion	Aufnahmen
2010	N/	M Punktinfektion L	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego'	PNYDV, PEMV,	hyperspektrale
2019	IVI				'GL Sunrise'	Mischinfektion	Aufnahmen

Tabelle 4: Übersicht über die angestellten Versuche mit hyperspektralen Aufnahmen von Virosen in den Jahren 2017 bis 2019; (Teilziel 3 und 4).

Tabelle 5: Übersicht über die angestellten Versuche zur Symptomatik mit multispektralen Aufnahmen von Virosen in den Jahren 2017 bis 2019; (Teilziel 3).

Jahr	ID	Untersuchung	Standort	Pflanze	Sorte	Virus-Inokulat Erhebung		Anzahl Flächen	Anzahl Flüge
2017	N	Punktinfektion	Uni-KS	Ackerbohne	Ackerbohne 'Fuego'		multispektrale UAV- Aufnahmen, Ertrag	1	3
2010	0	Punktinfektion	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego'	PNYDV, PEMV, Mischinfektion	multispektrale UAV- Aufnahmen, Ertrag	1	4
2018	Р	Punktinfektion	JKI-BS	Gemüseerbse	'Rainer' & 'Ambassador'	PNYDV, PEMV, Mischinfektion	multispektrale UAV- Aufnahmen, Ertrag	1	1
2010	Q	Punktinfektion Uni-KS		Ackerbohne	'Fuego' & 'GL Sunrise'	PNYDV, PEMV, Mischinfektion	multispektrale UAV- Aufnahmen, Ertrag	1	5
2019	R	Punktinfektion	JKI-BS	Gemüseerbse	'Rainer' & 'Ambassador'	PNYDV, PEMV, Mischinfektion	multispektrale UAV- Aufnahmen, Ertrag	1	2

Jahr	ID	Untersuchung	Standort	Pflanze	Sorte	Erhebung	Anzahl Flächen	Anzahl Flüge
	S	Monitoring	Uni-KS, Nordhessen	Ackerbohne, Erbse	verschiedene	multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen, Ertrag	13	3
2017	т	Monitoring	JKI-BS	Gemüseerbse	'Rainer' & 'Ambassador'	multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen, Ertrag	1	2
	U	Monitoring	TI-OL	Gemüseerbse	'Alvesta'	multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen, Ertrag	1	1
2019	v	Monitoring Uni-KS, Nordhessen Ackerbohne 'Fuego' multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen, Ertrag			multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen, Ertrag	5	2	
2018	w	Monitoring	TI-OL	Ackerbohne	'Fuego'	multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen, Ertrag	1	1
	х	Monitoring	Uni-KS,	Ackerbohne	'Fuego'	multispektrale UAV-Aufnahmen,	5	2
		wonitoring	Nordhessen	Erbse	'Astronaute'	PNYDV-Vorkommen, Ertrag	5	2
2019	Y	Praxis- Sortenvergleich	Uni-KS	Ackerbohne	'Fuego' 'GL Sunrise'	multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen, Ertrag, Virus-Survey	1	5
	Z	Monitoring	TI-OL	Ackerbohne	'Fuego'	multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen, Ertrag	1	1

Tabelle 6: Übersicht über die angestellten Monitorings natürlicher Virus-Infektionen in den Jahren 2017 bis 2019; (Teilziele 1,3,4,5).

5.1 Vektorphänologie

In den drei Versuchsjahren wurde an allen drei Standorten der Blattlausflug mit praxisüblichen Gelbschalen (GS), Syngenta Agro GmbH, L 33,5 x B 26 X T 7 cm)) überwacht Tabelle 2: ID-B). Es wurden jeweils drei GS in einem Dreieck mit 1,5 m Abstand zueinander auf umgekehrte schwarze Anzuchtschalen zur Vereinheitlichung des optischen Hintergrundes gestellt (Kirchner et al. 2014). In einem Abstand von 2 m um die Schalen herum wurde ein Schwarzbrache vegetationsfrei erhalten (Abbildung 1). Die Gelbschalen wurden mit frischem Leitungswasser und Detergenzzusatz (Tween 20[®]), zur Herabsetzung der Oberflächenspannung, befüllt und zweimal die Woche geleert und die gepoolten Fänge wöchentlich ausgewertet.



Abbildung 1: eine von drei Gelbschalen für Blattlaus-Fänge; (Neu-Eichenberg, 2017).

Dazu wurden die Blattläuse unter dem Binokular nach (Taylor 1984; Thieme und Heimbach 1996) bestimmt und in fünf Gruppen sortiert:

- a) Acyrthosiphon pisum, Grüne Erbsenblattlaus
- b) Megoura viciae, Wickenblattlaus
- c) *Aphis*-Gruppe: *A. fabae*, Schwarze Bohnenlaus & *A. craccivora*, Kuhbohnenlaus; wegen schwieriger Unterscheidbarkeit wurden alle "gestreiften *Aphis* sp." als Sammelgruppe ausgewertet.
- d) Myzus persicae, Pfirsichblattlaus
- e) sonstige, alle übrigen Blattläuse

Die Diagnostik auf Virusfracht am JKI-BS erfolgte ebenfalls in wöchentlichen Abständen getrennt für jede der fünf Blattlausgruppen.

Am Standort Uni-KS wurde daneben der Besiedlungsverlauf in Ackerbohnenbeständen ermittelt (Tabelle 2: ID-C). 2017 wurden in wöchentlich wechselnden Transekten jeweils 100 Pflanzen über eine leere Gelbschale geschüttelt (Klopfprobe). 2018 wurde diese Methode der Vorgehensweise der Warndienste (Krüssel, pers. com. 2017) angepasst. An fünf unterschiedlichen Stellen auf einem Schlag wurden an jeweils fünf Pflanzen Klopfproben durchgeführt.

5.2 Virusdiagnostik bei Pflanzen und Blattläusen

Die vorgruppierten Blattläuse aus den Gelbschalen (GS) wie auch die Blattproben aus Versuchen oder des Praxisflächen-Monitorings wurden auf Viren hin untersucht. Je nach Anzahl der Blattläuse innerhalb einer sortierten Gruppe, wurde ELISA oder (RT)PCR verwendet. Bestand eine Gruppe aus 16 oder mehr Individuen wurde sie mit DAS-ELISA auf PNYDV und PEMV und mit TAS-ELISA auf Poleroviren und Luteoviren analysiert. Waren es weniger als 16 Blattläuse wurde mittels PCR auf PNYDV und RT-PCR auf PEMV getestet. Alle erwähnten Analysen wurden nach den am JKI in Braunschweig entwickelten und modifizierten Standardprotokollen durchgeführt (Grigoras et al. 2010; Abraham et al. 2012). Um PNYDV zu detektieren, wurde ein spezifischer DAS-ELISA eingesetzt, der zwischen diesem Virus und dem nahe verwandten *Faba bean necrotic stunt virus* und *Faba bean necrotic yellows virus* differenziert (Gaafar et al. 2017). Für die Analyse mit ELISA wurden die Blattläuse mit einer Pufferlösung homogenisiert (1 ml/100 Blattläuse, mit einem Minimum von 1 ml Homogenisierungspuffer). Für die PCR und RT-PCR wurde eine Extraktions-Methode angewandt, durch die sowohl DNA als auch RNA gleichzeitig von allen Blattläusen einer Gruppe extrahiert wird.

Für die Analyse der Pflanzenproben wurden 0,1 g Blatt- und/oder Stängelproben in 2 ml Homogenisierungspuffer gemahlen und mittels ELISA auf das Vorhandensein von PNYDV und PEMV analysiert.

5.3 Allgemeines zum Versuchsaufbau mit Virus-Infektionen

In allen Infektionsversuchen wurde durchgehend die Grüne Erbsenblattlaus (*Acyrthosiphon pisum*) als Vektor einsetzten, welche vom JKI-BS mit jeweils definierter Virusfracht bereitgestellt wurden. Die Vermehrung der Blattläuse erfolgte im Forschungsgewächshaus der Uni-KS an Ackerbohnen ('Fuego'). Es wurden wöchentlich je zwei vorgekeimte Bohnen pro Topf gesät und in handelsüblicher Nullerde mit Ackerbodenzusatz aus einer Ackerbohnen-Fruchtfolge und Sandzusatz bei 8-16°C angezogen. Vier Wochen nach der Saat wurden die jungen Ackerbohnen mit den Vektoren des JKI-BS besetzt und in transparenten Chrisp-bags blattlausdicht eingeschlossen. Die nun auf infizierten Pflanzen bei 20°C vermehrten Blattläuse wurden alle 1,5 Wochen auf neue Ackerbohnenjungpflanzen gesetzt. Für die Virusakquise waren aufgrund der Vorerfahrungen am JKI-Bs 7 Tage Saugtätigkeit angesetzt. Die Infektionsversuche bei Ackerbohne/Erbse erfolgten stets in den vier Varianten:

- i) PNYDV
- ii) PEMV
- iii) Mischinfektion (Mix aus Blattläusen mit einfacher Virusfracht PNYDV oder PEMV)
- iv) Kontrolle (Blattläuse ohne Virusfracht)

Alle Feldversuche wurden zu praxisüblichen Terminen im Frühjahr angesät. Die Feldinokulationen erfolgten als temporäre Einhausung von mindestens 10 Blattläuse pro Pflanze in Schläuchen aus Nylonstoff für mindestens drei Tage. Nach Entfernen der Nylongewebe erfolgte i.d.R. eine Pyrethrinbehandlung der Infektorpflanzen, um eine etwaige Überlagerung der Infektionsverläufe mit möglichen Saugschadeneffekten zu umgehen.



Abbildung 2: Inokulation der Ackerbohnen mit dem Vektor Acyrthosiphon pisum im Nylonstoff; (Neu-Eichenberg, 2017).

5.4 Vorversuch zur Inokulationsmethode

Mögliche Einflüsse der 3 tägigen Einhausung der Vektoren mit Nylongewebe auf die Pflanzenentwicklung und Ertrag waren abzuprüfen (Tabelle 1: ID-A). In 2019 wurde auf einem Versuchsfeld der Uni-KS in Witzenhausen ein Versuch mit folgenden Varianten in acht Wiederholungen mit Ackerbohnen im BBCH 13 (Meyer 1997):

- Ackerbohne ohne Blattläuse, ohne Nylonstoff
- Ackerbohne ohne Blattläuse, mit Nylonstoff für drei Tage
- Ackerbohne mit Blattläusen, mit Nylonstoff für drei Tage

Zum Zeitpunkt der Reife wurden die Pflanzen einzeln geerntet und die Ertragsparameter Anzahl der Hülsen sowie Anzahl und Gewicht der Körner, separiert nach gesunden und Kümmerkörnern, erhoben. Der Ertrag wurde gesiebt; Ackerbohnenkörner mit einem Durchmesser geringer als 0,5 cm galten als Kümmerkörner.

5.5 Auswirkungen von Virosen auf die Nodulation

Anlässlich erster Beratermeldungen zu geringem Knöllchenansatz (Nodulation) in PNYDVinfizierten Ackerbohnenbeständen (Lenz, pers. com. 2016), waren solche Einflüsse zunächst unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus 2017 zu überprüfen. In dem Zuge wurde auch die grundsätzliche Möglichkeit einer PNYDV-Weitergabe über Wurzelkontakt auf Nachbarpflanzen im Topfversuch bei Erbsen und Ackerbohnen abgeprüft und konnte verworfen werden (Braunmiller und Hand 2019; Franke und Bissinger 2019). Der Aspekt Nodulation wurde auch in Feld- und Praxiserhebungen der Folgejahre mitgeführt und später auch auf und "Lufstickstoffbindung" und Sortenaspekte ausgeweitet:

5.5.1 Nodulation im Gewächshausversuch Ackerbohne, Erbse 2017

Zunächst wurde der Einfluss von PNYDV und PEMV in Rein- und Mischinfektion auf die Nodulation bei Erbse, Pisum sativum, und Ackerbohne, Vicia faba, im Vergleich zu nicht infizierten Kontrollvarianten untersucht (Tabelle 3: ID-D). Die für jede der vier Erbsen-, bzw. Ackerbohnen-Varianten wurden am 04.05.2017 12 Töpfe (4 L) vorgekeimte Erbsen 'Alvesta' und Ackerbohnen 'Fuego', in Ackerboden (aus einer Ackerbohnen-Fruchtfolge) auf drei Pflanzen pro Topf pikiert. Die Inokulation der Pflanzen erfolgte drei Wochen später mit je 13 A. pisum je Topf (3-4 Individuen je Pflanze). Für die Mischinfektion wurden die gleiche Zahl virusinfizierter A. pisum additiv aufgesetzt und jeder Topf einzeln mit Crisp-bags verschlossen. Eine Woche nach Inokulation wurden die Blattläuse mit Naturpyrethrum abgetötet und die Crisp-bags entfernt. Um hinreichenden Hülsenansatz bei Ackerbohnen zu gewährleisten, wurde ab Blüte regelmäßig händisch mit Pinsel bestäubt. Alle 4 Varianten in 4 Wiederholungen wurden in 3 parallelen, randomisierten Topfansätzen angezogen. Mit den ersten beiden Kohorten wurden zu Beginn der Blütenbildung destruktive Knöllchenbonituren durchgeführt: Knöllchenbonitur a) zu Beginn der Blütenbildung, b) während der Fruchtbildung, neun Wochen nach Inokulation, jeweils als gepoolte Einzelpflanzenprobe je Topf. Ausgewertet wurden Sprosslänge in cm, Anzahl gereinigte Knöllchen und deren Trockenmasse (2 Tage bei 105°C). Zusätzlich wurden bei der Knöllchenbonitur b) die jeweils größten Knöllchen stichprobenartig bei 10 Knöllchen je Topf bei Ackerbohne, aufgrund der geringen Größe bei 5 Knöllchen je Topf bei Erbse, vor der Trocknung mit einem Skalpell aufgeschnitten und die Leghämoglobin-Färbung wurde in den Kategorien rot-, rosa- und weiß beurteilt (Pommersche und Hansen 2017). Die Beerntung der letzten 3. Kohorte nach 17 Wochen (Erbse) bzw. 23 Wochen (Ackerbohne) berücksichtigte Hülsen-, Kornzahl und TKG (5 Tage bei 105°C) der Körner.

5.5.2 Nodulation im Feldversuch Ackerbohne 2018

Der Folgeversuch unter Feldbedingungen auf Versuchsflächen der Uni Kassel in Neu Eichenberg konzentrierte sich auf die vier Varianten PNYDV- und PEMV-Reininfektionen, PNYDV-PEMV-Mischinfektion und Kontrolle bei der Ackerbohnensorte 'Fuego' (Tabelle 1: ID-E). Die Aussaat erfolgte in je drei alternierenden Streifen je Sorte á 36 m Länge am 09.04.2018. Die Inokulation einzelner Pflanzen in den oben genannten Varianten (s. 5.3) erfolgten mit vier Wiederholungen voll randomisiert in jeweils 6 m Abständen, 6,5 Wochen nach der Aussaat (BBCH 59). An jedem Infektionspunkt wurden zwei Pflanzen inokuliert, eine zur destruktiven Entnahme für die Knöllchenbonitur und eine reifte bis zur Erhebung der Ertragsparameter aus.

Vier Wochen nach Inokulation (BBCH 67) wurden die Pflanzen für die Knöllchenbonitur mit einem Spaten ausgegraben und intakte Knöllchen analog der Vorgehensweise unter Punkt 5.5.3 bonitiert. Das Verhältnis abgestorbener und geschädigter, versus intakte Knöllchen wurden ebenfalls festgehalten.

5.5.3 Nodulation & Luftstickstoffbindung auf Praxisflächen, Uni KS, 2018

Auf Praxis-Flächen in Nordhessen wurde die Nodulation von PNYDV-symptomatischen Nestern untersucht Tabelle 3: ID-F). Es wurden fünf Nester von drei Schlägen im BBCH <u>Makros</u>tadium 7 (BBCH MS7) beprobt. Die Nester wurden auf Basis der Symptomausprägung in Kern, Rand und Referenz eingeteilt. Je Beprobungspunkt wurden drei Pflanzen als Pseudoreplikate ausgegraben.

Die oberirdische Sprossmasse wurde bei 60°C getrocknet, gewogen und in mehreren Mahlgängen zur ¹⁴N ¹⁵N-Isotopenanalyse vorbereitet (Shearer und Kohl 1986). Die homogenisierten Proben wurden neben einem Standard (Acetanilid) in Zinnkapseln eingewogen und am Kompetenzzentrum Stabile Isotopen, Universität Göttingen, mit dem Elementaranalysator auf das Verhältnis von ¹⁴N zu ¹⁵N untersucht.

Die Wurzeln der drei Pflanzen wurden vorsichtig von Erde befreit und gewaschen. Um ein einheitliches Bild ohne Fremdwurzeln zu erlangen, wurden die Seitenwurzeln bis auf 2 cm von der Pfahlwurzel abgeschnitten. Alle Knöllchen wurden abgezupft, gezählt, getrocknet und gewogen. Jeweils 50 zufällig gewählte Knöllchen wurden mit einem Skalpell aufgeschnitten um die Farbe bzw. Beschaffenheit des Inhalts folgenden Kategorien zuzuordnen: i) \leq 2mm, ii) Inhalt weiß, iii) Inhalt rosa, iv) Inhalt rot, v) Inhalt grün, vi) Inhalt braun, vii) offen (Pkt. 5.5.2).

5.5.4 Nodulation im Feldversuch Ackerbohne, Uni-KS, 2019 (Käfig)

Aufgrund der Ergebnislage Pkt. 5.5.2 wurde der Versuch im Jahr 2019 wiederholt und um den Faktor Infektionszeitpunkt in den Varianten früh und spät erweitert (Tabelle 3: ID-G). Die vier Virusvarianten entsprachen der Vorgehensweise unter Pkt. 5.5.2. Die Versuchsanlage war als lateinisches Quadrat konzipiert. Pro Parzelle à 2 m x 3 m wurden vier Reihen von Ackerbohnen im Abstand von 30 cm gesät. Jede Reihe bestand aus 14 Pflanzen im Abstand von 10 cm. Die zwölf Pflanzen in der Mitte der Parzelle dienten der Beprobung und wurden in zuvor eingegrabene Töpfe von 7 cm Kantenlänge und 20 cm Höhe in Ackerboden als Füllung gesät. Die Töpfe besaßen einen Gitterboden und breite, durchwurzelbare 15 cm lange Schlitze an der Seite. Sie dienten der genaueren Definition eines Wurzelraumes, der zur Knöllchenbonitur herangezogen wurde. Alle Versuchsglieder wurden zusätzlich als Käfigvarianten angelegt, zum Ausschluss natürlichen Viruseintrages und zur Ausblendung des zusätzlichen Knöllchenschäden durch Blattrandkäferlarven. Die frühe Inokulation erfolgte 3,5 Wochen nach der Aussaht in BBCH

13, wie unter Punkt 5.3 beschrieben. Die späte Inokulation erfolgte 2 Wochen später in BBCH 34 außerhalb und BBCH 35 innerhalb der Käfige. Nach jeweils drei Tagen wurden die Infektorlblattläuse mit einer Pyrethrinbehandlung entfernt.

7 Wochen nach der frühen und 5 Wochen nach der späten Inokulation (BBCH 69) wurden die Topfpflanzen für die Knöllchenbonitur ausgegraben. Die Wurzeln innerhalb der Töpfe wurden vorsichtig gewaschen; die Knöllchen abgezupft, gezählt, getrocknet und gewogen. Jeweils 30 zufällig ausgewählte Knöllchen wurden analog der Vorgehensweise unter Punkt 5.5.2 auf ihren Inhalt hin bonitiert.

5.5.5 Nodulation & Luftstickstoffbindung im Praxisversuch Ackerbohne, Uni-KS, 2019

Auf einer Praxisfläche in Witzenhausen wurden natürliche PNYDV-Nester an Ackerbohne, 'Fuego' auf die Nodulation der Pflanzen in den jeweiligen Bereichen Kern, Rand und Referenz hin untersucht (Tabelle 3: ID-H). Die Beprobungen und Erhebungen von oberirdischer Sprossmasse, ¹⁴N- ¹⁵N-Verhältmis, Knöllchenmasse und –Inhalt erfolgte analog zum Vorjahr (Kap. 5.5.3).

5.5.6 Nodulation & Lufstickstoffbindung im Feldversuch Ackerbohne, Uni-KS, 2020

Der Feldversuch sollte die Datenlage zur Nodulation, Lufstickstoffbindung und Ertragsbildung der Sorten 'GL Sunrise' bei einer frühen, sowie späten PNYDV-Infektion im Vergleich zu 'Fuego' komplettieren (Tabelle 3: ID-I). Diese vier Varianten (2 Sorten x 2 Infektionszeitpunkte) wurden mit fünf Wiederholungen im randomisierten Blockdesign angelegt. Die Inokulationsmethode ist unter Punkt 5.3 beschrieben. Jede dieser 20 Parzellen war 1,5 x 6,0 m und enthielt je fünft Infektionspflanzen und als verbundene Stickprobe fünf Kontrollpflanzen. Von diesen fünf Pflanzen dienten zwei als Pseudoreplikate für die Knöllchenbonitur und zwei für die Ernteproben. Die frühe Infektion fand 6,5 Wochen nach der Aussaat bei BBCH 13, und die späte 2 Wochen später bei BBCH 62 statt. Die Knöllchenbonitur erfolgte weitere 3 Wochen später bei BBCH 69. Die Erhebungen von Knöllchenmasse und –Inhalt sowie ¹⁴N- ¹⁵N-Verhältmis erfolgte analog zum Praxisversuch Uni-KS, 2018 (Pkt. 5.5.3). Die abreifenden Pflanzen wurden geerntet. Sprosslänge, Anzahl Hülsen sowie Anzahl, Trockengewicht (5 Tage 80°C) und Stickstoffgehalt der Körner wurden ermittelt.

5.6 hyperspektrale Aufnahmen

Mit dem Fernziel, PNYDV-Infektionen mit praxisüblichen Drohnenbildern fernoptisch zu erfassen, wurden zunächst hyperspektrale Reflektionsspektren virusinfizierter und virusfreier Pflanzen aus dem Gewächshaus und Freiland evaluiert (Tabelle 4: ID-J-M). Bei den Vortests kamen drei am Standort verfügbare Kamerasysteme zum Einsatz. Der Infektionsstatus aller Testpflanzen war zuvor virusdiagnostisch bestätigt.

5.6.1 Gewächshausversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 2017

Einzelne Fiederblättchen von Pflanzen aus dem Gewächshausversuch zur Nodulation (s. Pkt. 5.5.1) wurden sechs Wochen nach der Inokulation für hyperspektrale Aufnahmen genutzt. Je Infektionsvariante wurden sechs Fiederblättchen ausgewählt und mit einer festinstallierten *Specim Hyperspektralkamera* gescannt (www.specim.fi). Dieses Labor-Kamerasystem erstellt bei Kunstlicht über die Fläche integrierte Aufnahmen, so dass sich pro Blättchen ein gemitteltes Spektrum im Wellenlängenbereich von 400 bis 1000 nm ergab.

5.6.2 Gewächshausversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 2018

Im Spätsommer 2018 erfolgten Messungen mit der portablen und damit auch feldtauglichen Hyperspektralkamera *"Specim IQ*[•] des Herstellers *Specim Spectral Imaging Ltd.* im visuellen und nahinfraroten Wellenlängenbereich zwischen 400-1000 nm und 7 nm Auflösung (Tabelle 4: ID-K). Die Kamera integriert die Spektren nicht über die Fläche, sondern erstellt Spektren für jedes der insgesamt 512 Pixel pro Aufnahme. Zur Untersuchung wurden am JKI-BS Ackerbohnenpflanzen im entsprechenden Infektionsstatus obiger Variante plus eine Variante ohne Blattlausbesatz als zweite Kontrolle bereitgestellt und nach 4 Wochen Inkubationszeit bei Tageslicht/Freiland hyperspektral fotographiert. Für die weitere Auswertung, wurden je Aufnahme 8 Pixel von plan liegenden Blattbereichen gewählt.

Um eine Zeitreihe hyperspektraler Aufnahmen von Fiederblättern im Feld gewachsener Pflanzen zu erhalten, wurde auf den Versuchsflächen der Universität Kassel in Neu-Eichenberg der Punktinfektionsversuch Ackerbohne 'Fuego' genutzt (Tabelle 3: ID-E, bzw. Tabelle 4). Ab der ersten Woche nach der Inokulation wurde je eine Pflanze je Variante und Wiederholung mit Wurzeln ausgegraben, um die Blätter auf dem Weg ins Labor frisch zu erhalten. Insgesamt wurden von je zwei einzelnen Fiederblättchen pro Pflanze 5 Aufnahmen im wöchentlichen Abstand gemacht. Hierzu wurden wie unter Punkt 5.6.1 beschrieben, hyperspektrale Aufnahmen gemacht.

5.6.3 Feldversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 2019

Am Feldversuch zur PNYDV-Symptomatik, Uni-KS, 2019 (s. Pkt. 5.5.4), wurden zu zwei Zeitpunkten bei BBCH 55 und BBCH 62, hyperspektrale Aufnahmen von den inokulierten Pflanzen (PNYDV, PEMV, Mischinfektion, Kontrolle mit je vier Wiederholungen) der zwei Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' gemacht. Das *TEC5*, ein portables Feldspektrometer der Firma *HandySpec Field*, misst integral über die Fläche im Wellenlängenbereich von 350-1690 nm, mit einer spektralen Auflösung von 1 nm. Der Aufnahmewinkel beträgt 25° und der Seite 26 von 90 Sensor wurde 20 cm über die Pflanze gehalten, so dass die vermessene Fläche einen Kreis von ca. 9 cm Durchmesser bildete.

5.6.4 Praxis-Sortenversuch mit hyperspektralen Aufnahmen, Uni-KS, 2019

Im Praxis-Sortenvergleich Uni-KS, 2019 (Pkt. 5.5.5), wurden für beide Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise') in jeder der jeweils acht Parzellen 10 symptomatische und 10 symptomlose, benachbarte Einzelpflanzen hyperspektral untersucht (Tabelle 6: ID-M). Die Methode erfolgte mit dem TEC5 analog Pkt. 5.6.3. Zusätzlich wurden die einzelnen Pflanzen im Labor mit Stativ (Abstand 30 cm) fotografiert und mittels ELISA auf weitere übliche Ackerbohnenviren (PNYDV, PEMV, BLRV, TuYV, PSTV) hin untersucht.

5.7 Multispektralen UAV-Aufnahmen

5.7.1 Verwendete Indices und Texturparameter

Für die multispektralen Aufnahmen mit den Kanälen grün (530-570 nm), rot (640-680 nm), rededge (730-740 nm) und nir (770-810 nm) wurden zehn Indices berechnet (Tabelle 7).

Kürzel	Name	Formel
CI	Chlorophyll Index	NIR GREEN
SR	Simple Ratio	NIR RED
J1	J1	REDEDGE – GREEN REDEDGE + GREEN
J2	J2	REDEDGE – RED REDEDGE + RED
J3	J3	$\frac{RED - GREEN}{RED + GREEN}$
GNDVI	Green Normalized Difference Vegetation Index	NIR – GREEN NIR + GREEN
NDVI	Normalized Difference Vegetation Index	NIR – RED NIR + RED
NDRE	Normalized Difference Rededge	NIR – REDEDGE NIR + REDEDGE
J6	J6	NIR * NIR GREEN * RED
J7	J7	$\frac{NIR + NIR}{GREEN + RED}$

Tabelle 7: Für multispektrale Bildauswertungen berechnete Indices.

Für die Kanäle und Indices wurden jeweils acht Texturparameter nach (Haralick et al. 1973) mit dem Programm QGIS berechnet. Hierbei werden nicht nur einzelne Pixel, sondern auch Differenzen zu Nachbarpixel in die Analyse miteinbezogen. Dadurch können Strukturmerkmale aufgedeckt werden. Die Berechnung erfolgte mit einem Radius von vier Pixeln.

5.7.2 Feldversuch zur Symptomatik an Ackerbohne, Uni-KS, 2017

Der Punktinfektionsversuch (Tabelle 5: ID-N) diente der fernoptischen Erfassung von PNYDV-Nestern mit multispektralen Drohnen-Aufnahmen. Die Ackerbohnen der Sorte 'Fuego' wurden mit einer Arbeitsbreite von 3 m auf einen Reihenabstand von 25 cm am 03.04.2017 gesät. Die Inokulation der einzelnen Pflanzen geschah voll randomisiert in einem Raster von jeweils 6 m Abständen, fünf Wochen nach der Aussaat (BBCH 13). Mit fünf Wiederholungen wurden die PNYDV und PEMV Virosen als Rein- und Mischinfektionen mit zehn Blattläusen pro Pflanzen inokuliert. Für die Mischinfektion gab es eine zusätzliche Variante: Mix1 wurde mit je fünf, Mix2 mit je zehn Blattläusen pro Virusart inokuliert.

Zu drei Terminen (14.06., 13.07. und 09.08.2017) wurden multispektrale Luft-Aufnahmen, wie unter Punkt 5.8 beschrieben, erstellt. Zur Erhebung der Ernteparameter wurden für jeden Infektionspunkt und dessen Umgebung insgesamt drei Chargen definiert: i) direkt inokulierte Pflanze und symptomatische Nachbarn, ii) deren nächstgelegene, nicht-symptomatische 0,25 m²-Umgebung und iii) 0,25 m² Referenz in 1 m Entfernung. Erhoben wurden, Anzahl Pflanzen, Sprosslänge, Anzahl Hülsen, Kornzahl und Trockengewicht (5 Tage 80°C), sowie Rohproteingehalt der Körner (VDLUFA 1997).

5.7.3 Feldversuch zur Symptomatik an Ackerbohne, Uni-KS, 2018

2018 wurde ebenfalls ein Punktinfektionsversuch für multispektrale Erhebungen auf den Versuchsflächen der Universität Kassel in Neu-Eichenberg angelegt (Tabelle 5: ID-O). Der Versuch an Ackerbohne bestand aus einer Streifenanlage mit je zwei Streifen 'Fuego' und einem Streifen 'GL Sunrise', à 42 m Länge, welche am 09.04.2018 mit 3 m Arbeitsbreite und 12,5 cm Reihenabstand ausgesät wurden. Die einzelnen Pflanzen wurden in den oben genannten Varianten mit fünf Wiederholungen voll randomisiert in jeweils 6 m Abständen inokuliert (Pkt. 5.3). Je Virusfracht wurden zehn Blattläuse verwendet. Die frühe Infektion von 'Fuego' und 'GL Sunrise' erfolgte 4,5 Wochen (BBCH 13), die späte der Sorte 'Fuego' 6,5 Wochen (BBCH 59) nach der Aussaat.

An vier Terminen (05.06., 25.06. und 24.07.2017) wurden multispektrale Aufnahmen wie unter Punkt 5.8.2 beschrieben, erstellt. Am selben bis spätestens zwei Tage nach der Befliegung wurden Blattproben zur Virusanalyse (s. Pkt. 5.2) genommen. Von der Punktinfektion (Transektpunkt = TP1) ausgehend wurden alle 0,5 m zwei weitere Beprobungspunkte (TP2 & TP3) angelegt. An TP1 wurde zum ersten Boniturzeitpunkt t1 die künstlich primär infizierte Pflanze beprobt. Bei t2 wurden drei direkte Nachbarn der primär infizierten Pflanze beprobt und zu t3 wurden Proben aus 0,25 m² genommen. An TP2 & TP3, in jeweils 0,5 m Entfernung voneinander, wurden jeweils drei Pflanzen gepoolt beprobt bzw. zu t3 ebenfalls Proben aus 0,25 m² genommen. Zum Erntezeitpunkt t3 wurden außer den Blattproben, Ertragsdaten in Form von Anzahl Pflanzen, Sprosslänge, Anzahl Hülsen, Anzahl und Trockengewicht (5 Tage 80°C) der Körner erhoben.

5.7.4 Feldversuch zur Symptomatik an Erbse, JKI-BS, 2018

Am JKI-BS wurde 2018 ein Punktinfektionsversuch für multispektrale Aufnahmen an Erbse auf den ökologisch bewirtschafteten Versuchsflächen in Ahlum durchgeführt (Tabelle 5: ID-P). Es wurden die Sorten 'Rainer' und die PEMV-resistente 'Ambassador' am 10.04.2018 in zwei sich abwechselnde Streifen gesät. Fünf Wochen nach der Saat wurden die Pflanzen in den oben genannten Varianten mit vier Wiederholungen inokuliert (Pkt. 5.3). Die Blattläuse wurden für eine Woche in Crisp-Bags auf den Pflanzen (BBCH 15) gehalten und mit Spruzit entfernt. Da bei Abnahme der Crisp-Bags kaum Blattläuse wiederzufinden waren und ein somit der Inokulationserfolg angezweifelt wurde, wurde vom 29.05-01.06.2018 (BBCH 19) nachinokuliert. Die Blattläuse wurden mit Nylonstoff auf den Pflanzen gehalten und ebenfalls mit Spruzit entfernt.

Am 15.06.2018 wurden multispektrale Drohnen-Aufnahmen analog zu Punkt 5.8.2 erstellt und anschließend wurden im BBCH 67 Blattproben zur Virusanalyse (s. Pkt. 5.2) genommen. Zum Erntezeitpunkt wurden die Ertragsparameter Anzahl Pflanzen, Sprosslänge, Anzahl Hülsen, Anzahl und Trockengewicht (5 Tage 80°C) der Körner erhoben.

5.7.5 Praxisversuch zur Symptomatik an Ackerbohne, Uni-KS, 2019

Auf einer Praxisfläche in Witzenhausen (Uni-KS) wurde die Ackerbohnen-Standardsorte 'Fuego' im Vergleich zu 'GL Sunrise' in alternierenden Streifen von 6 x 36 m und je Sorte 8 Wiederholungen ausgesät (Tabelle 3: ID-H). Das natürliche Infektionsgeschehen wurde mit einer Zeitreihe von insgesamt 5 multispektraler Luftaufnahmen verfolgt, begleitet von Erhebungen zur N-Fixierung und Ertragsparametern. Die Luftaufnahmen fanden statt am t1: 04.06.2019 im BBCH 62, t2: 18.06.2019 im BBCH 68, t3: 03.07.2019 im BBCH 78, t4: 11.07.2019 im BBCH 79 und t5: 17.07.2019 im BBCH 80.

Zusätzlich wurde ein Virus-Survey angestellt, wobei in jedem der acht Streifen pro Sorte, zehn Pflanzen einzeln mittels ELISA auf PNYDV, PEMV, BLRV und TuYV getestet wurden.

5.7.6 Feldversuch zur Symptomatik an Erbse, JKI-BS, 2019

Der Versuchsaufbau erfolgte analog zum Vorjahr (s. Pkt. 5.7.4).

5.8 PNYDV-Monitoring auf Praxisflächen

5.8.1 On-farm Monitoring 2017

Die multispektralen UAV-Aufnahmen und deren Prozessierung wurden von der Firma Luftfotos24 durchgeführt. Die Befliegung erfolgte mit der Drohne Phantom 3, bzw. bei großen Schlägen mit einem firmeneigenen Modellflugzeug. Die Fotos wurden mit der Parrot Sequoia Multispektralkamera aufgenommen und mit dem Programm PIX4D prozessiert. Alle Flächen wurden zunächst mittels UAV (unmanned aerial vehicle) multispektral fotografiert (Tabelle 6: ID-S-U). Anschließend wurden die Schläge begangen, um explizit nach PNYDV-symptomatischen Pflanzen zu suchen, welche dann mittels ELISA getestet wurden (s.u. Pkt. 5.2).

An den drei Standorten Uni-KS, JKI-BS und TI-OL wurden Erbsen- und Ackerbohnenbestände auf Nanovieren hin untersucht (Tabelle 1: ID-A und Tabelle 2: ID-B, C). Beim JKI-BS wurde das Punktinfektions-Erbsenfeld mit den Sorten 'Rainer' und der PEMV-resistente 'Ambassador' fernoptisch erfasst (Tabelle 6: ID-T). Beim TI-OL wurde ein Erbsenschlag der Sorte 'Alvesta' untersucht (Tabelle 6: ID-U). In Werra Meißner-Kreis Nordhessen (Uni-KS) wurden repräsentative Erbsen- und Ackerbohnen-Schläge mit PNYDV-Verdacht ausgesucht (Tabelle 6: ID-S). Es wurden keine auffälligen Nester, sondern nur Einzelpflanzen gefunden. Von diesen wurden Ertragsproben genommen. Es wurden 5 Erbsenflächen mit insgesamt 18 Beprobungspunkten und 11 Ackerbohnenflächen mit insgesamt 34 Beprobungspunkten analysiert.

5.8.2 On-farm Monitoring 2018

Die multispektralen Aufnahmen wurden von der Uni-KS, in Kooperation mit dem Fachgebiet Grünlandwissenschaften und Nachwachsende Rohstoffe, gemacht. Es wurde ebenfalls die Phantom 4 mit Parrot Sequoia Multispektralkamera verwendet. Die Prozessierung, bei der mehrere 100-1000 einzelne Fotos zu einem Orthomosaik zusammengefügt und georeferenziert werden, wurde mit dem Programm Agisoft PhotoScan durchgeführt.

Wie im Jahr zuvor wurde in Nordhessen (Uni-KS) sowie am TI-OL Praxisflächen gezielt nach PNYDV-Symptomen überwacht (Tabelle 6: ID-V, W). Da sich die Erbsen am Standort JIK-BS auf Grund der extremen Trockenheit 2018 schlagartig sehr früh und flächendeckend ohne Symptomausprägung notreif umfärbten, waren hier keine Bild- und Ertragserhebungen mehr sinnvoll durchführbar. Hingegen wurden multispektrale Aufnahmen von 5 Ackerbohnen-Schlägen ('Fuego') in Nordhessen (Uni-KS) erstellt. Es wurden 24 georeferenzierte PNYDV-symptomatische Nester (20 Uni-KS, 4 TI-OL) auf Virusgehalt und Ertragsparameter bonitiert. Auch hier erfolgte das Einteilungsschema den drei Kategorien Kern- und Randbereich in 1,5m Abstand, sowie dem nächstgelegenen symptomlosen Referenzbereich. Zu jedem Luftbildtermin wurden Blattproben zur Virusdiagnostik gesammelt. Die jeweiligen Symptomkategorien wurden als 0,25 m² Schnitte zur Bestimmung der Sprosslänge, Anzahl von Hülsen und Körnern, sowie die Trockenmasse (5 Tage bei 80°C) und Rohproteingehalt der Körner bestimmt.

Die georeferenzierten Orthomosaike wurden mit dem Programm QGIS bearbeitet. Um die GPS-Punkte der Nester inklusive der drei Kategorien (Kern, Rand, Referenz), wurden jeweils entsprechend der Ertragserhebung, Quadrate von 0,25 m² gelegt und ausgeschnitten. Die Ausschnitte wurden in RStudio geladen und es wurden anhand der Reflektionsbänder verschiedene Vegetationsindices berechnet (vergl. 5.7.1).

On-farm Monitoring 2019

In Nordhessen (Uni-KS) wurden jeweils 5 Praxisschläge mit Ackerbohne 'Fuego' und mit Erbse 'Astronaute' und innerhalb dieser Flächen jeweils fünf natürlich entstandene PNYDV-Nester genauer untersucht (Tabelle 6: ID-X,Y). Dazu kam eine Fläche mit Ackerbohnen 'Fuego' am TI-OL (Tabelle 6: ID -Z). Entsprechend der Durchführung im Jahr 2018 (s. Pkt. 5.8.2), wurden multispektrale Aufnahmen erstellt. Von Praxisflächen in Nordhessen wurden zu zwei Terminen multispektrale Aufnahmen gesichert, in BBCH MS6 zwischen dem 07.06. und 12.06.2019 und zu BBCH MS7 zwischen dem 29.06. und 04.07.2019.

Die Virus-Nester wurden in die Kategorien Kern, Rand und Referenz eingeteilt. Da teilweise viele Nester sehr nah neben einander lagen oder überlappten, orientierte sich die Abstände der Probenpunkte an der PNYDV-Symptomatik, bzw. nächstgelegenen Referenzbereich. Die Bonitur auf Virusgehalt und Ertragsparameter, sowie die weitere Prozessierung der Luftaufnahmen und Berechnung von Vegetationsindices erfolgte ebenfalls analog zu den Erhebungen im Jahr 2018.

5.9 Sortenunterschiede in Gewächshausversuchen

Das Saugverhalten von Blattläusen wurde anhand des Hauptvektors von PNYDV, der grünen Erbsenblattlaus *Acyrthosiphon pisum* mittels electrical penetration graphs (EPG) untersucht. Dazu wurden acht verschiedene Varianten erstellt, die Sortenunterschiede, Virusstatus der Pflanze und Virusstatus des Vektors widerspiegeln sollten (Tabelle 8). Für sämtliche Versuche wurden Ackerbohnen der Sorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' unter Gewächshausbedingungen aufgezogen (16/8 h Licht/Dunkelheit; natürliches Tageslicht komplementiert mit Kunstlicht in den Wintermonaten mit Phillips IP65, 400 W bei 22°C).

Tabelle 8: Übersicht der Varianten zum Saugverhaltensvergleich mittels Elektro-Penetro-Gramm (EPG) mit der Erbsenblattlaus (A. pisum) auf unterschiedlichen Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' mit verschiedenem Virusstatus am JKI 2020; (Teilziel 5).

	Varianten/ Komponenten			3lattlausart	Pflanzenart 1	Virusstatus Pflanze		Virusstatus Blattlaus
	Variante 1	A	1	Acyrthosiphon pisum	: Fuego	gesund		. ohne
• •	Variante 2	в		Acyrthosiphon pisum	Fuego	····· PNYDV infiziert	· · ·	ohne'
	Variante 3	c		Acyrthosiphon pisum	Fuego	gesund		PNYDV-beladen
	Variante 4	D	:	Acyrthosiphon pisum	: Fuego	PNYDV infiziert	:	PNYDV-beladen
	Variante 5	E		Acyrthosiphon pisum	GL Sunrise	gesund		ohne
	Variante 6	۰F	:	Acyrthosiphon pisum	GL Sunrise	PNYDV infiziert		ohne
	Variante 7	G		Acyrthosiphon pisum	GL Sunrise	gesund		PNYDV-beladen
	Variante 8	H		Acyrthosiphon pisum	GL Sunrise	PNYDV infiziert		PNYDV-beladen
		•			· ·			

Für die Variante "PNYDV infiziert" wurden die Pflanzen für 3 Tage mit virusbeladenen A. pisum besetzt; die Verwendung für die EPG-Untersuchungen erfolgte 3 bis 4 Wochen nach Inokulation. Für die Varianten "A. pisum PNYDV-beladen" wurden nicht virus-beladene Blattläuse für 3 Tage auf PNYDV-infizierte Ackerbohnenpflanzen platziert. Eine Stunde vor den EPG-Messungen wurden adulte Apteren von den jeweiligen Pflanzen entfernt und ohne Nahrungsaufnahme gelassen. Jede Blattlaus wurde mittels Vakuum auf einer Platte unterhalb eines Binokulars fixiert. Ein Golddraht (18µm Durchmesser, 3cm Länge) wurde mit einem Silberklebstoff (EPG Systems, Wageningen, Niederlande) fixiert und mit der EPG-Elektrode verbunden (EPG Systems). Die Pflanzenelektrode bestand aus einem 10cm langen Kupferdraht (0,2cm Durchmesser) und wurde in die Nähe der Pflanzenwurzel in der Erde platziert. Beide Elektroden wurde an einem 8-Kanal GIGA-8 Amplifier (EPG Systems) befestigt. Das verkabelte Insekt wurde auf die abaxiale Blattoberfläche der Ackerbohnenpflanzen gesetzt. Das gemessene Signal wurde digitalisiert (100 Hz) durch ein DI-710 Board (Dataq Instruments, Akron, OH, USA) und mittels der Stylet+ d software (EPG Systems, Wageningen, The Netherlands) analysiert. Die Experimente wurden innerhalb eines Faraday'schen Käfig bei einer Raumtemperatur von 22°C durchgeführt. Die Messungen wurden für >9 Stunden durchgeführt und die Daten für eine Minimumanzahl von 15 Blattläusen pro Variante erhoben. Die analysierten Parameter werden im Ergebnisteil erläutert. Nachträglich wurde der Virusstatus der Pflanzen und Blattläuse mittels ELISA und PCR-Tests bestätigt.

Die Virusübertragungseffizienz wurde ebenfalls in Gewächshausexperimenten untersucht. Auch hier wurden verschiedene Kombinationen von Ackerbohnensorte der Donor- und Akzeptorpflanzen sowie des Virusstatus der Donorpflanzen untersucht (Tabelle 9).

Tabelle 9: Übersicht der Varianten zur Virusübertragungseffizienz bei zwei Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' mittels Vakuum.

						- - - - - - - - - - - - - - - - - - -					nze	çen
			Blattlausart		Donor- Pflanzenart			Virusstatus Donor-Pflanze		Rezeptor- Pflanzenart	Virusstatus Rezeptor-Pfla	Wiederholung
Variante 1 – CTRL	SS	A	cyrthosiphon pisum	GL Su	Inrise		G	esund	÷	GL Sunrise	ohne	4
Variante 2	SS	A	cyrthosiphon pisum	GLSu	Inrise	-	PNYDV ir	fiziert	-	GL Sunrise	ohne	4
Variante 3 – CTRL	FF	: A	cyrthosiphon pisum	F	uego	:	G	esund	:	Fuego	ohne	4
Variante 4	FF	A	cyrthosiphon pisum	F	uego	:	PNYDV ir	fiziert	:	Fuego	ohne	4
Variante 5 – CTRL	FS	A	cyrthosiphon pisum	F	uego		G	esund	÷	GL Sunrise	ohne	: 4
Variante 6	FS	A	cyrthosiphon pisum	F	uego		PNYDV ir	fiziert	÷	GL Sunrise	ohne	4
Variante 7 – CTRL	SF		cyrthosiphon pisum	GL Su	inrise		G	esund		Fuego	ohne	
Variante 8	SF	A	cyrthosiphon pisum	GL Su	Inrise	:	PNYDV ir	fiziert		Fuego	ohne	4

Zur Produktion PNYDV-infizierter Donorpflanzen wurden je Pflanze im BBCH-Stadium 9-11 10 viruliferöse Blattlause für 4 Tage exponiert und anschließend mit Spruzit abgetötet. Für 30 Rezeptorpflanzen wurden jeweils 5 Donorpflanzen genutzt. Die Verwendung der Donorpflanzen erfolgte 16 bis 28 dpi. Für die Bestimmung der Übertragungseffizienz wurde nicht-virusbeladene *A. pisum* für 3 Tage auf den Donorpflanzen exponiert. Jeweils drei Blattläuse wurden danach auf nicht-infizierte Rezeptorpflanzen (BBCH 9-11) überführt und nach 3 Tagen mittels ELISA und PCR auf Virusgehalt hin überprüft. Die Pflanzen wurden prophylaktisch mit Spruzit behandelt und nach 36-41 Tagen bonitiert und mittels ELISA auf Virusgehalt hin überprüft.

5.10 Statistische Auswertungen

Die statistische Datenauswertung erfolgte mit dem Programm RStudio, Version 1.1.463. Die Daten aus Gewächshaus- und Feldversuchen wurden auf die Voraussetzungen der ANOVA geprüft. Die Varianzhomogenität wurde graphisch mittels "Residueplot" und mit dem Levene-Test untersucht. Die Normalverteilung der Residuen wurde mit dem "qq normal Plot" und dem Shapiro-Wilk-Test eingeschätzt. Waren die Voraussetzungen erfüllt, wurde eine ANOVA mit anschließendem Tukey-Test durchgeführt. Im anderen Fall wurde ein Kruskal-Wallis-Test mit dem Post-hoc-Test Multiple Comparison Test nach Kruskal-Wallis mit dem R-Paket pgirmess (Giraudoux et al. 2019) durchgeführt.

Die Daten aus der on-farm Erhebung waren verbunden und von hierarchischer Struktur, so dass eine Analyse signifikanter Unterschiede mittels mixed-effects-models stattfand. Zunächst wurde mittels ANOVA, auf Basis von AIC und BIC, das passendste Modell unter denen mit den verschiedenen Zufallseffekten "Feld" und "Nest" (random effects) evaluiert. Dieses wurde, ebenfalls mit einer ANOVA, gegen ein Null-Modell ohne Einflussfaktor (fixed effect) getestet. Zur Berechnung der Kontraste wurden die geschätzten Mittelwerte (estimated marginal means = EMMs) paarweise verglichen, unter Benutzung des Pakets "emmeans" (Lenth et al. 2019).

6 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

6.1 Vektorphänologie

In den Jahren, 2017, 2018 und 2019 wurden an den Standorten Uni-KS, JKI-BS und TI-OL wöchentlich Gelbschalenfänge ausgewertet und Blattläuse (BL) in die Gruppen *Acyrthosiphon pisum, Megoura viciae, Aphis*-Gruppe, *Myzus persicae* als potenzielle PNYDV-Vektoren und "sonstige" sortiert. Jede Charge wurde auf PNYDV hin untersucht (Abbildung 3).

Am **JKI-BS** war neben der Gruppe "sonstige" vor allem *M. persiae* aktiv, mit maximal 484 BL pro Gelbschale (GS) in KW27 in 2017, 503 in KW25 und 697 in KW29 in 2018, sowie 2.493 in KW25 in 2019. Am **TI-OL** wurden deutlich weniger BL als an den anderen beiden Standorten gefangen. Eine Ausnahme bilden die Kalenderwochen (KW) 26-28 in 2018. Hier wurden mit bis zu 4888 BL pro GS in KW 28 ausgesprochen viele Blattläuse der Gruppe "sonstige" gefunden.

An der **Uni-KS** überwog meist die Gruppe "sonstige". Eine der wenigen Ausnahmen bildet ein Peak von *M. persicae* in KW27 in 2018 mit 1568 BL pro GS. Die *Aphis*-Gruppe war mit 376 BL pro GS in KW24, 2018 und 294 in KW25, 2019 an der Uni-KS stärker vertreten als an den anderen Standorten.

Mit Ausnahme des Peaks von *M. persicae* 2019 am JKI-BS, wurden 2018 an allen Standorten mehr BL gefangen als in 2017 und 2019. Auch die PNYDV-Fracht war hier deutlich höher. 2017 konnte kein PNYDV in den BL der Gelbschalenfänge nachgewiesen werden. 2018 hingegen, wurde am JKI-BS PNYDV in *M. persicae* zu zehn Zeitpunkten zwischen KW20 und 31 nachgewiesen; in der Gruppe sonstige zu sieben Zeitpunkten zwischen KW20 und 30; in der *Aphis*-Gruppe zu fünf Zeitpunkten zwischen KW22 und 29 sowie in *A. pisum* zu zwei Zeitpunkten in KW25 und 27. Am TI-OL wurde kein PNYDV nachgewiesen. An der Uni-KS wurde nur in einer Charge, an *A. pisum* in KW27 PNYDV nachgewiesen. Im Jahr 2019 wurde PNYDV wiederum nur zu zwei Zeitpunkten am JKI-BS nachgewiesen: KW26 und 27 an *A. pisum* und KW27 ebenfalls in der Gruppe "sonstige".



Abbildung 3: Vektorphänologie 2017, 2018 und 2019, Uni-KS JKI-BS, TI-OL: Anzahl Blattläuse pro Gelbschale (GS); Sterne entsprechen PNYDV-Nachweisen der einzelnen Chargen, der grüne Pfeil markiert die Kalenderwoche mit der ersten gefangenen A. pisum in GS. Unterschiedliche Y-Skalen der Standorte beachten! (ID-B).
Der Beginn des Frühjahrsfluges, verzeichnet als erster GS-Nachweis von *A. pisum*-Individuen sowie mindestens 10 leguminosen-affinen BL pro GS, stellte sich für die drei Untersuchungsjahre 2017-2019 folgendermaßen dar:

- Im Jahr **2017** wurden am JKI-BS die erste *A. pisum* mit 0,3 BL pro GS in KW21 gesichtet; in KW19 wurden 17 BL der *Aphis*-Gruppe gefangen.
- Am TI-OL (2017) waren es erstmalig 3,6 *A. pisum* pro GS in KW20; in KW20 wurden 4
 A. pisum, 9 BL der *Aphis*-Gruppe und 5 *M. persicae* gezählt.
- An der Uni-KS (2017) wurden zunächst 1,3 *A. pisum* pro GS in KW22 und 42 BL aus der *Aphis*-Gruppe in KW20 gesichtet.
- **2018** startete der BL-Flug am JKI-BS mit 0,6 *A. pisum* pro GS in KW18 und mit 13 *M. persicae* in KW20.
- am TI-OL (2018) waren es in KW23 15 *A. pisum* und 19 *M. persicae* (wobei der genaue Flug-Beginn nicht aufgezeichnet wurde).
- an der Uni-KS (2018) begann der Flug in KW18 mit 0,3 *A. pisum* pro GS und in KW22 mit 15 *A. pisum*, 81 der *Aphis*-Gruppe, 21 *M. viciae* und 8 *M. persicae*.
- Im Jahr **2019** war der Flugbeginn am JKI-BS in KW21 mit 1 *A. pisum*, 4 *Aphis*, 1 *M. viciae* und 41 *M. persicae* pro GS.
- am TO-OL (2019) wurden in KW23 6 *A. pisum*, 15 *Aphis*, 4 *M. viciae* und 26 *M. persicae* pro GS gesichtet.
- An der Uni-KS (2019) startete *A. pisum* mit 2 Tieren pro GS in KW23 und die *Aphis*-Gruppe mit 24 BL in KW22.

An der Uni-KS wurde in den Jahren 2017-2019 qualitative Blattlausbesiedelung über Zeit an der Ackerbohnensorte 'Fuego' und in 2019 zusätzlich an 'GL Sunrise' verfolgt (Abbildung 4). Es wurden wöchentlich jeweils 100 Pflanzen auf das Vorhandensein von *A. pisum*, *M. viciae*, der *Aphis*-Gruppe und "sonstige" BL untersucht. 2017 begann die Besiedlung mit 6 *A. pisum* in KW24 später als der durch die GS ermittelte Flug der BL; das Maximum wurde mit 28% befallener Pflanzen in KW26 erreicht. In den anderen beiden Jahren begann die Besiedlung jeweils zwei Wochen vor den ersten GS-Funden. 2018 startete die Besiedlung in KW20 mit 4 *A. pisum* und 2019 an 'Fuego' in KW20 mit 2 *A. pisum* und an 'GL Sunrise' in KW21 mit 2 *A. pisum*. Ein Vergleich der Dominanzstruktur von Gelbschalenfängen und Besiedlungswerten im Bestand zeigte, dass proportional deutlich mehr *A. pisum* und *M. viciae* auf den Pflanzen anzutreffen waren, als in den Gelbschalen.



Abbildung 4: Vektorphänologie **2017**, **2018** und **2019**, **Uni-KS**: Besiedlungsverlauf (als Anteil blattlausbefallener Pflanzen in %) an der Ackerbohnensorte 'Fuego', sowie 2019 auch an 'GL Sunrise', (**ID-C**).

6.2 Virus-Nachweis

6.2.1 Infektions-Wiederfunde und -Ausbreitung in Feldversuchen

In den Jahren 2017 bis 2019 wurden insgesamt neun Punktinfektionsversuche im Feld durchgeführt.

Im ersten Testlauf in Neu-Eichenberg, Uni-KS, **2017** (Tabelle 5: N), funktionierte die Methode der Punktinfektion in den Varianten Kontrolle, PEMV, PNYDV und Mix2 (10 BL pro Virusart) mit hoher Nachweisrate. Einzig in der Variante Mix1, mit je 5 Blattläusen der jeweiligen Virusfrachten, konnten nur 3 von 5 Pflanzen erfolgreich infiziert werden. Allerdings kam es in diesem Versuch zu keiner Ausbreitung der Nester: in 50 cm Abstand zur Infektorpflanze gab es, außer einer PEMV-positiven Proben, keinen Virus-Nachweis.

Im Feldversuch in Neu-Eichenberg, Uni-KS, **2018** (Tabelle 5: ID-O) ließen sich die mit derselben Methodik gesetzten Punktinfektionen weniger häufig bestätigten (Abbildung 5), mit 70 % PNYDV-positiven Pflanzen 4 Wochen (t1) nach dem frühen Infektionstermin. An unmittelbar angrenzenden Nachbarpflanzen der früh- und spätinfizierten 'Fuego' war PNYDV zum zweiten Boniturtermin t2 nach 5 (spät inokuliert) bzw. 7 Wochen (früh inokuliert) in jeweils 20 % der Proben nachweisbar. Bei 'GL Sunrise' waren, außer an der primärinfizierten Pflanze, PNYDV-Befunde sowohl zu t2 als auch in der 0,25 m² Sammelprobe zu t3 gänzlich ausblieben. Zu t3 waren nur bei der spätinfizierten 'Fuego' 10% der Sammelproben PNYDV-positiv. PEMV zeigte zu t1 einen insgesamt geringen Infektionserfolg von maximal 20 %. Die Infektionswerte der Nachbarpflanzen nahmen jedoch für 'Fuego' über die Zeit zu (30-40%). Für 'GL Sunrise' zeigten sich mit 0% bzw. 20% PEMV-positiven Pflanzen zu t2 und t3 stagnierende bis leicht rückläufige Tendenzen. Neben den positiven Virusbefunden der künstlich infizierten Pflanzen gab es aber auch "falsch-positive" Ergebnisse: Von 30 Pflanzen, die nicht mit dem entsprechenden Virus inokuliert wurden, waren sechs PNYDV-positiv und elf PEMV-positiv.



Abbildung 5: Virus-Wiederfund (%) von PNYDV- und PEMV-Inokulationen an Ackerbohnen in drei Varianten: 'Fuego' früh in BBCH 13 inokuliert, 'Fuego' spät in BBCH 59, 6.5 Wochen später inokuliert, 'GL Sunrise' früh inokuliert; drei Beprobungs-Zeitpunkte: A) t1, 2 bzw. 4 Wochen nach Inokulation, Beprobung der primärinfizierten Pflanze, B) t2, 5 bzw. 7 Wochen nach Inokulation, Beprobung von drei direkten Nachbarpflanzen, c) t3, 9 bzw. 11 Wochen nach Inokulation, Mischprobe aus ¼ m² zur Ernte (**Uni-KS 2018, ID-O**).

Auch der benachbart angelegte Feldversuch zur destruktiven Entnahme von Einzelpflanzen zur Bestimmung des Nodulationszustandes 2018 (Tabelle 3: ID-E) zeigte eine deutlich geringere Nachweisrate nach dem Setzten der Infektionspunkte. Von den acht Wiederholungen war eine PNYDV- und zwei PEMV-Infektionen, sowie der PEMV-Anteil einer Mischinfektion nachweisbar. Daneben gab es einen PNYDV-positiven Befund der nicht auf die künstliche Infektion zurückging. Ähnlich sah es im Feldversuch für die hyperspektralen Aufnahmen aus (Tabelle 4: ID-K). Von 20 wiederholten Infektionen je Virusvariante konnten zwei als PNYDV-positiv und drei als PEMV-positiv nachgewiesen werden. Bei drei Mischinfektionen konnte nur der PEMV-Anteil bestätigt werden. Daneben gab es je einen positiven Befund für PNYDV und PEMV als nicht-erwarteten positiven Befund, wahrscheinlich als natürlichen Eintrag.

Der Punktinfektionsversuch an Erbsen **2018** am Standort JKI-BS (Tabelle 5: ID-P) war ebenfalls nicht zuverlässig erfolgreich. Von den fünf Wiederholungen war eine PNYDV- und eine PEMV-Infektion, sowie der PEMV-Anteil einer Mischinfektion nachweisbar. Aufgrund ausbleibender Niederschläge waren Pflanzen verdorrt, sodass eine PNYDV-Weitergabe auch bei negativem Analyseergebnis nicht ausgeschlossen werden kann, bzw. bei trockenem Pflanzengewebe nicht anspricht.

In Jahr **2019** wurde an der Uni-KS ein Punktinfektionsversuch zur Nodulation an Ackerbohne im offenen Freiland, sowie im Freilandkäfig angestellt (Tabelle 3: ID-G). Hier konnte in den insgesamt je Virus 32 inokulierten Pflanzen nur einmal PNYDV und neunmal PEMV bestätigt werden. Zum Nodulationsverhalten im Freiland mit natürlichen Viruseintrag und gleichzeitigem Knöllchenschaden durch Blattrandkäferlarven im Vergleich zu den Käferausschlussvarianten, konnte leider keine Aussagen getroffen werden.

Ähnlich verhielt es sich im Punktinfektionsversuch für multispektrale Aufnahmen an den Ackerbohnensorten `Fuego` und `GL Sunrise` an der Uni-KS, **2019** (Tabelle 5: Q). PNYDV konnte in keiner der inokulierten Pflanzen nachgewiesen werden; PEMV hingegen zu 80% bei `Fuego` bzw. 70% bei `GL Sunrise` (Tabelle 10). Die PNYDV negativen Mischvarianten wurde daher bei positivem PEMV-Befund der PEMV-Variante zugeordnet.

Tabelle 10: ELISA-Nachweis (%) von PNYDV und PEMV nach Punktinfektion im Versuch für multispektrale Aufnahmen (**Uni-KS 2019, ID-Q**)

	ELISA-Nachweis (%)						
Ackerbohne	Fu	ego	GL Sunrise				
Sontenversuch	früh	spät	früh	spät			
PNYDV inokuliert	0	0	0	0			
PNYDV nicht inokuliert	20	0	0	0			
PEMV inokuliert	80	10	70	0			
PEMV nicht inokuliert	0	0	0	0			

Der Punktinfektionsversuch an zwei Erbsensorten, **2019** am Standort JKI-BS (Tabelle 5: ID-R) zeigte eine 100%ige Nachweisrate von PNYDV an den inokulierten Pflanzen der Sorte `Ambassador` (Tabelle 11). Bei der Sorte `Rainer` waren immerhin 87,5% der PNYDV-Inokulationen nachweisbar positiv. PEMV war an `Ambassador` wie zu erwarten nicht nachzuweisen, da diese Sorte als PEMV-resistent gilt. Bei `Rainer` wurde PEMV an der Hälfte der inokulierten Pflanzen nachgewiesen. In 50 und 100 cm Entfernung vom Infektionspunkt verliefen sich die Nachweisraten. Zudem waren aber auch nicht-inokulierte Kontrollpflanzen Virus-positiv.

	ELISA-Nachweis (%)							
Erbse Sortenversuch	A	Ambassado	or	Rainer				
	0 cm	50 cm	100 cm	0 cm	50 cm	100 cm		
PNYDV inokuliert	100	0	12.5	87.5	12.5	0		
PNYDV nicht inokuliert	0	12.5	12.5	12.5	12.5	0		
PEMV inokuliert	0	0	0	50	37.5	12.5		
PEMV nicht inokuliert	0	0	0	0	25	0		

Tabelle 11: ELISA-Nachweis (%) von PNYDV und PEMV nach Punktinfektion zweier Gemüseerbsensorten im Versuch für multispektrale Aufnahmen (**JKI-BS, 2019, ID-R**).

Im Jahr **2020** wurde ein weiterer Feldversuch zur Nodulation an den Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' an der Uni-KS, 2019 (Tabelle 3: ID-I) durchgeführt. Diesmal waren alle Punktinfektionen erfolgreich und die Kontrollen waren virusfrei.

6.2.2 PNYDV-Monitoring auf Praxisflächen 2017, 2018, 2019

2017 wurden an der Uni-KS in Nordhessen (Tabelle 6: ID-S), am JKI-BS (Tabelle 6: ID-T) und am TI-OL (Tabelle 6: ID-U) Pflanzenproben von 5 Erbsen- und 11 Ackerbohnenflächen Blattproben genommen. Darunter 18 Erbsen- und 34 Ackerbohnenproben. Die Untersuchung mittels ELISA ergab lediglich zwei PNYDV-positive Proben: eine an Erbse am JKI-BS und eine an Ackerbohne in Nordhessen. Für PEMV gab es insgesamt acht Nachweise: je drei an Erbse am JKI-BS und in Nordhessen und zwei an Ackerbohne in Nordhessen.

2018 war die PNYDV-Symptomatik vergleichsweise wesentlich stärker ausgeprägt. An Standorten Uni-KS, Nordhessen (Tabelle 6: ID-V) und am TI-OL (Tabelle 6: ID-W) wurde eine Auswahl von 24 PNYDV-symptomatischen Nestern (20 Uni-KS, 4 TI-OL) jeweils Kern, Rand und Referenz beprobt. Tabelle 12 zeigt, dass im Kern der Nester (Transektpunkt 1) alle Pflanzen mit dem PNYDV infiziert waren. Nach außen hin nahmen PNYDV-Nachweise bis auf die Hälfte der Proben ab, obwohl diese Pflanzen an Transektpunkt 4 keine sichtbaren Symptome mehr aufwiesen. PEMV war über den gesamten Bereich mit 10-22% gleichmäßiger, ohne erkennbar räumliches Muster, vertreten.

Tabelle 12: ELISA-Nachweis (%) von PNYDV und PEMV an Ackerbohne 'Fuego' aus PNYDV-symptomatischen Nestern von Praxisflächen, entlang eines Transekts vom Kern nach außen mit Beprobungsabstand von 1,5 m, (**Uni-KS 2018**, **ID-V & TI-OL 2018**, **ID-W**).

Transektpunkt	ELISA-Nachweis (%)			
(1,5 m Abstand)	PNYDV	PEMV		
1	100	20		
2	75	10		
3	65	20		
4	56	22		

Im Jahr **2019** wurde an der Uni-KS eine Streifenanlage mit je acht alternierenden Streifen der Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' angelegt. Nachdem die gesetzten Punktinfektionen nicht erfolgreich waren, wurden hier natürliche PNYDV-symptomatische Nester untersucht (Tabelle 6: ID-Y). Es erschienen sehr viele PNYDV-symptomatische Nester, von denen je Streifen eines exemplarisch mittels ELISA auf verschiedene Viren hin untersucht wurde (Tabelle 13). PNYDV wurde an beiden Sorten in 100% der Proben von Kern und Rand der Nester nachgewiesen. An 'GL Sunrise' konnten zu jedem Nest Referenzpflanzen ohne PNYDV gefunden werden. An `Fuego' hingegen war auch die Referenz zu 62,5% befallen.

PEMV verteilt sich ohne erkennbares räumliches Muster über die Nester. 'Fuego' war jedoch mehr als doppelt so häufig befallen als 'GL Sunrise'.

Die weiteren blattlausübertragenen Viren BLRV und TuYV waren nur bei 'Fuego' und ohne deutlich differenziertes räumliches Muster anzutreffen, 'GL Sunrise' war ohne jeden Befund.

Ackerbohne	ELISA-Nachweis (%)							
Sortenversuch	PNYDV		PEMV		BLRV		TuYV	
	Fuego	Sunrise	Fuego	Sunrise	Fuego	Sunrise	Fuego	Sunrise
Kern	100	100	87,5	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Rand	100	100	100	50,0	12,5	0,0	12,5	0,0
Referenz	62,5	0,0	87,5	25,0	12,5	0,0	0,0	0,0

Tabelle 13: ELISA-Nachweis (%) der Viren PNYDV, PEMV, BLRV und TuYV an den Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' in Kern, Rand und Referenz von acht PNYDV-symptomatischen Nestern je Sorte, (**Uni-KS 2019, ID-Y**).

Zusätzlich wurde im Sortenversuch 2019 (Tabelle 6: ID-Y) ein Virussurvey durchgeführt. In den acht Streifen pro Sorte wurden jeweils zehn Pflanzen einzeln mittels ELISA auf PNYDV, PEMV, BLRV und TuYV untersucht. 'GL Sunrise' wurde von allen vier blattlausübertragbaren Viren deutlich weniger stark befallen als 'Fuego' (Tabelle 14).

Tabelle 14: ELISA-Nachweis (%) der Viren PNYDV, PEMV, BLRV und TuYV an den Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' im Virussrvey, (**Uni-KS 2019, ID-Y).**

Ackerbohne	ELISA-Nachweis (%)					
Sortenversuch	PNYDV	PEMV	BLRV	TuYV		
Fuego	44,4 (35,2)	39,7 (27,8)	2,5 (7,1)	7,5 (13,8)		
Sunrise	12,5 (13,8)	2,5 (4,6)	1,3 (3,5)	0		

2019 wurden in Nordhessen an der Uni-KS fünf Praxisflächen (Tabelle 6: ID-X) und am TI-OL eine Praxisfläche (Tabelle 6: ID-Z) mit Ackerbohne 'Fuego' betrachtet. Je Fläche wurden fünf Nester untersucht (Tabelle 15). PNYDV war in Kern und Rand der Nester zu 100% und in der Referenz nur zu 10% nachweißbar. PEMV nahm vom Kern (35%) zur Referenz (27%) stetig aber schwach ab.

Tabelle 15: ELISA-Nachweis (%) von PNYDV, PEMV, BLRV und TuYV an Ackerbohne 'Fuego' in Kern, Rand und Referenz von PNYDV-symptomatischen Nestern von Praxisflächen (**Uni-KS 2019, ID-X & TI-OL, 2019, ID-Z**).

Ackerbohne	ELISA-Nachweis (%)				
Praxis	PNYDV	PEMV	BLRV	TuYV	
Kern	100	35	0	0	
Rand	100	27	0	0	
Referenz	10	23	0	0	

Neben Ackerbohnen wurden 2019 in Nordhessen auch Erbsen der Sorte 'Astronaute' auf fünf Praxisflächen untersucht (Tabelle 6: ID-X). In den je Fläche fünf PNYDV-symptomatischen Nestern wurde PNYDV in Kern und Rand mittels ELISA zu 100% nachgewiesen (Tabelle 16). Von der Referenz waren noch 24% der Proben befallen. PEMV verhielt sich analog zu den Ackerbohnen mit einem stetigen, aber schwachen Rückgang von Kern (68%) zu Referenz (40%).

Erbse		ELISA-Nachweis (%)					
Praxis	PNYDV	PEMV	BLRV	TuYV	PSTV		
Kern	100	68	4	0	0		
Rand	100	52	0	8	0		
Referenz	24	40	0	4	0		

Tabelle 16: ELISA-Nachweis (%) von PNYDV, PEMV, BLRV und TuYV an Erbse 'Astronaute' in Kern, Rand und Referenz von PNYDV-symptomatischen Nestern von Praxisflächen (**Uni-KS 2018, ID-X**)

6.3 Nodulation und symbiontische N-Bindung

Die folgenden Ergebnisse schildern die Auswirkungen von Virusinfektionen auf Parameter des Knöllchenbesatzes und Knöllchenfunktionalität als Färbung des Knöllcheninhalts, sowie relative Luftstickstoffanteile in Pflanzenproben als Summenindikator für die symbiontische N-Fixierung.

6.3.1 Gewächshausversuch zur Nodulation an Ackerbohne und Erbse, 2017

Im Gewächshausversuch 2017 an der Uni-KS (Tabelle 3:ID-D) wurden die Knöllchen von Erbsen und Ackerbohnen untersucht. Die Masse der Knöllchen streute bei Erbse stark und zeigt bei PNYDV-Beteiligung lediglich tendenziell geringe Werte der infizierten Varianten, die nicht signifikant absicherbar waren. Bei Ackerbohne hingegen war die Knöllchenmasse zu beiden Boniturzeitpunkten bei den PNYDV-infizierten Pflanzen signifikant geringer gegenüber der Kontrolle (Tabelle 6).



Abbildung 6: mittlere Knöllchenmasse des Gewächshausversuchs 2017, an A) Erbse, 'Astronaute' B) Ackerbohne 'Fuego' Fehlerbalken ≙ Standardabweichung (**Uni-KS 2017, ID-D**).

Die aufgeschnittenen Knöllchen der Kontrolle wiesen eine deutlich rötere Färbung auf, als Indiz für Leghämoglobinbildung und Fixierungsaktivität, als jene der infizierten Pflanzen und insbesondere bei Pflanzen unter PNYDV-Einfluss (Abbildung 7).



Abbildung 7: Mittlere Anzahlen der Knöllchen nach Farbkategorien des Knöllcheninhalts des Gewächshausversuchs 2017, an A) Erbse, B) Ackerbohne (**Uni-KS 2017 ID-D**).

6.3.2 Feldversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS, 2018

Die Inokulation zeigte mit vier nachweisbaren von 32 Inokulationen keinen Erfolg. Entsprechend

waren die Ergebnisse aller Parameter nicht signifikant voneinander unterscheidbar (Tabelle 17).

Tabelle 17: Mittelwert und Standardabweichung in Klammern von Sprosslänge in cm, Anzahl Knöllchen und Trockenmasse der Knöllchen in mg in den Variante Mix, PNYDV, PEMV und Kontrolle im Punktinfektionsversuch zur Nodulation (**Uni-KS 2018, ID-E**)

Variante	Sprosslänge (cm)	Anzahl Knöllchen	TM Knöllchen (mg)
Mix	67,1 (15,0)	69,8 (35,5)	0,061 (0,047)
PNYDV	63,2 (12,8)	51,5 (31,0)	0,045 (0,035)
PEMV	70,4 (7,2)	53,0 (26,2)	0,061 (0,048)
Kontrolle	67,8 (10,4)	39,0 (34,2)	0,036 (0,029)

6.3.3 Praxisversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS, 2018

Von den Praxisflächen 2018 (Tabelle 3: F) wurden in BBCH 75 ebenfalls Wurzelproben der Sorte 'Fuego' genommen. Hier waren die Parameter Sprosslänge, Sprossmasse, Anzahl Hülsen und Knöllchenmasse der Pflanzen aus dem Kern der Nester signifikant geringer als jene der Pflanzen aus der Referenz (Tabelle 18).

Tabelle 18: Mittelwert und Standardfehler (nach emmeans) in Klammern von Sprosslänge in cm, Sprossmasse in g, Anzahl Hülsen und Trockenmasse der Knöllchen in mg in den Variante Mix, PNYDV, PEMV und Kontrolle im Punktinfektionsversuch zur Nodulation (**Uni-KS 2018, ID-F**).

Variante	Sprosslänge	(cm)	Sprossmasse (g)		Anzahl Hülsen		TM Knöllchen (mg)	
Kern	65,1 (6,9)	А	6,5 (1,2)	а	3,1 (0,8)	а	182,4 (90,5)	А
Rand	82,3 (7,2)	В	16,3 (1,6)	b	7,4 (1,2)	b	395,1 (93,4)	В
Referenz	97,9 (7,8)	С	19,8 (2,2)	b	11,4 (1,7)	b	484,8 (84,6)	В

Pro PNYDV-Nest und Bereich wurden je 50 Knöllchen aufgeschnitten und auf ihren Inhalt hin untersucht. In Kern und Rand konnten, im Gegensatz zur Referenz, keine Knöllchen mit rotem oder rosafarbenem Inhalt ausgemacht werden. Auch grün gefärbte Knöllchen waren in der Referenz deutlich häufiger. Im Kern stärker ausgeprägt als im Rand waren vor allem beschädigte d.h. offene oder braune Knöllchen zu finden (Abbildung 8).



Abbildung 8: Mittlere Anzahlen der Knöllchen nach Farbkategorien des Knöllcheninhalt aus Kern, Rand und Referenz von Praxisflächen, (**Uni-KS 2018, ID-F**).

Der Wert DELTA Luft (‰) beschreibt die Differenz zwischen dem weltweit stabilen ¹⁵N-¹⁴N-Verhätnis der Luft und dem Isotopenverhältnis der jeweiligen Probe. Je kleiner dieser Differenzwert in Pflanzenproben zum ¹⁵N-¹⁴N-Verhätnis der Luft, desto mehr Stickstoff stammt aus symbiontischer N-Fixierung als aus dem Boden N_{min} mit anderem Isotopenverhältnis und umgekehrt. Die oberirdische Sprossmasse ergab in der N-Isotopenanalyse ein signifikant weiteres ¹⁵N-¹⁴N-Verhältnis zu DELTA Luft für den Kern als in der Referenz (Abbildung 9). Im Randbereich war das Verhältnis im Mittel am weitesten, jedoch war die Streuung so groß, dass hierzu keine absicherbaren signifikanten Unterschiede vorlagen.



Abbildung 9: Mittlere Wert von DELTA Luft (‰) der Bereiche Kern, Rand und Referenz von PNYDV-Nestern an Ackerbohne 'Fuego' auf Praxisflächen; Fehlerbalken ≙ Standardfehler (nach emmeans) (**Uni-KS 2018, ID-F**).

6.3.4 Feldversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS, 2019

Die Inokulation im Feldversuch zur Nodulation (Tabelle 3: ID-G) zeigte mit zehn nachweisbaren von 64 Inokulationen leider kein zuverlässiges Resultat. Entsprechend waren die jeweiligen vier Virusvarianten in keinem Parameter signifikant voneinander unterscheidbar (Tabelle 19).

Tabelle 19: Mittelwert und Standardabweichung in Klammern von Sprosslänge in cm, Anzahl Knöllchen und Trockenmasse in mg der Knöllchen der Varianten Mix (Mischinfektion), PNYDV, PEMV und Kontrolle. Die vier Virusvarianten wurden jeweils im offenen Freiland und im Käfig untersucht, (**Uni-KS 2019, ID-G**).

Varianta	Sprosslänge (cm)		Anzahl K	nöllchen	TM Knöllchen (mg)		
variante	offen	Käfig	offen	Käfig	offen	Käfig	
ΜΙΧ	92 (10)	122 (10)	252 (119)	238 (86)	404 (95)	420 (167)	
PNYDV	93 (6)	122 (7)	264 (77)	281 (92)	324 (100)	450 (154)	
PEMV	92 (4)	126 (11)	233 (89)	318 (111)	373 (100)	407 (109)	
Kontrolle	91 (7)	126 (15)	257 (74)	356 (130)	452 (191)	529 (170)	

6.3.5 Praxisversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS, 2019

Die Pflanzenparameter des beprobten Praxisschlages 'Fuego' bezüglich Sprosslänge, und masse, sowie Trockenmasse der Knöllchen, waren im Kern der Infektionsherde durchgehend und signifikant geringer als im jeweiligen Referenzbereich, während die Werte der Randbereiche eine Mittelstellung zwischen Kern und Referenzbereich einnahmen (Tabelle 20).

Tabelle 20: Mittelwert und Standardfehler von Sprosslänge in cm, Anzahl Knöllchen und Trockenmasse in mg der Knöllchen der Varianten Kern, Rand und Referenz; unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede, (**Uni-KS 2019 ID-H**)

Variante	Sprosslänge	Sprosslänge (cm)		e (g)	TM Knöllchen (mg)		
Kern	74,1 (9,7)	а	18,2 (3,3)	а	31,6 (9,1)	А	
Rand	102,4 (7,8)	b	61,6 (9,9)	b	193,4 (44,6)	В	
Referenz	116,1 (7,8)	С	75,6 (13,3)	b	244,3 (32,6	В	

Bezüglich der Knöllchenfunktionalität als Rotfärbung konnten im Kern und im Gegensatz zur Referenz keine Knöllchen mit rotem oder rosafarbenem Inhalt ausgemacht werden. Auch grün gefärbte Knöllchen fehlten im Kernbereich fast gänzlich. In Rand- und Referenzbereichen waren hohe Knöllchenanteile mit schwarzem und braunem Inhalt zu verzeichnen (Abbildung 10).



Abbildung 10: Färbungszustand aufgeschnittener Knöllchen aus Kern, Rand und Referenz von Praxisflächen, (Uni-KS 2019, ID-H).

Die Abweichung zum atmosphärischen ¹⁵N-¹⁴N-Verhältnis war in der oberirdischen Sproßmasse des Kernbereichs mit knapp 3 ‰ DELTA Luft signifikant am höchsten (Abbildung 11). Für die Randfraktion war der Differenzwert mit 2,2 immer noch höher als in der Referenz, aber nicht mehr signifikant verschieden von 1,2 ‰ DELTA Luft der Referenzpflanzen.



Abbildung 11: Mittlere Werte von DELTA Luft (‰) der Bereiche Kern, Rand und Referenz von PNYDV-Nestern bei Ackerbohne 'Fuego' auf Praxisflächen; Fehlerbalken ≙ Standardfehler (nach emmeans) (**Uni-KS 2019, ID-H**).

6.3.6 Feldversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS 2020

Im Feldversuch zur Nodulation an der Uni-KS, 2020 (Tabelle 3: ID-I) wurden im BBCH 69 die früh und spät infizierten Ackerbohnen der Sorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' bonitiert (Tabelle 21). Bei Anzahl der Seitensprosse unterscheiden sich die Varianten wenig, einzig die früh-infizierte 'GL Sunrise' hob sich mit durchschnittlich 5,3 Seitensprossen pro Pflanze ab. Das sind signifikant mehr als die 2,5 Seitensprosse pro Pflanze bei der Kontrolle der spät infizierten 'GL Sunrise'. Die Wurzellänge zeigt keine signifikanten Unterschiede. In der Anzahl der Knöllchen unterscheiden sich die Varianten, wobei abermals die frühinfizierte 'GL Sunrise' mit 60,1 Knöllchen pro Pflanze heraussticht. Dies sind signifikant weniger als in den anderen Varianten, außer der frühinfizierten 'Fuego' (97,7 Knöllchen) und einer der 'GL Sunrise'-Kontrollen (178,5 Knöllchen), wobei letztere eine sehr hohe Standardabweichung aufweist. Die spätinfizierten Pflanzen unterschieden sich nicht von den Kontrollen.

Tabelle 21: Mittelwert von Anzahl Seitensprosse, Wurzellänge in cm und Anzahl Knöllchen der acht Varianten mit den
zwei Sorten 'Fuego' und 'GL Sunrise', jeweils früh und spät infiziert (I) und mit der jeweils zugehörigen Kontrolle (K);
unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede, (Uni-KS 2020, ID-I).

Sorte	IZ	V	N Seitens	or.	Wurzellänge (cm)		N Knöllchen	
Fuego	früh	Ι	3.4	ab	16.7	а	97.7	ab
Fuego	spät	-	2.6	ab	18.4	а	158.1	bc
Fuego	früh	К	3.2	ab	18.7	а	150	bc
Fuego	spät	К	2.8	ab	18.0	а	205.2	bc
Sunrise	früh	Ι	5.3	b	17.9	а	60.1	а
Sunrise	spät	Ι	3.6	ab	18.3	а	206.2	С
Sunrise	früh	К	3.2	ab	18.3	а	178.5	abc
Sunrise	spät	К	2.5	а	19.6	а	209	bc

Auch bei den Knöllchenmassen (Abbildung 12) schnitten beide frühinfizierten Ackerbohnensorten signifikant schlechter ab als die Kontrollen. Die Knöllchenmassen waren bei 'Fuego' um den Faktor 0,25, bei 'GL Sunrise' sogar um das 0,07-fache reduziert. Auch die Knöllchengewichte der spätinfizierten Pflanzen lagen durchweg unter denen der Kontrollpflanzen, unterschieden sich aber nicht mehr signifikant.



Abbildung 12: Mittelwert von links: Knöllchenmasse in mg und rechts: DELTA Luft-Wert der acht Varianten mit den zwei Sorten 'Fuego' und 'GL Sunrise', jeweils früh und spät infiziert und mit der jeweils zugehörigen Kontrolle; unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede. Die DELTA Luft ‰ Werte für 'Fuego' der frühen und späten PNYDV-Infektion sind wegen möglicher methodischer Artefakte unsicher und schattiert dargestellt; Fehlerbalken ≙ Standardfehler (nach emmeans), (**Uni-KS 2020, ID-I**).

Die ‰ DELTA Luft Werte (Abbildung 12) früh und spätinfizierter Pflanzen der Sorte 'GL Sunrise' lagen durchgehend über den Werten der Kontrolle und waren für den frühen Infektionstermin signifikant veschieden. Die Mittelwerte der Kontrollpflanzen von Sorte 'Fuego' und 'GL Sunrise' lagen in einem vergleichbaren Bereich zwischen 1,5 und 1,7 ‰ DELTA Luft. Im Unterschied zu 'GL Sunrise' blieben die auch für 'Fuego' erwarteten Differenzen im ‰ DELTA Luft Wert der Infektor- und Kontrollpflanzen aus. Wegen vermuteter, bisher ungeklärter methodischer Artefakte beim Abwiegen und der Messung, sind die 'Fuego' Werte in Abbildung 12 zunächst vorbehaltlich und in farblich abweichender Schattierung dargestellt.

6.4 Hyperspektrale Fernoptik

6.4.1 Gewächshausversuche für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 2017 & 2018

In zwei Gewächshausversuchen an der Uni-KS wurden hyperspektrale Aufnahmen gemacht (Tabelle 4; J&L). Im Vergleich zu den nicht infizierten Ackerbohnen-Fiederblättchen der Kontrolle, zeigten PNYDVund PNYDV/PEMV-Mischinfektionen einander ähnliche Reflektionsmuster, die mit beiden Kamerasystemen gualitativ ähnlich ausfielen (Abbildung 13; Pflanzen aus Versuch ID-D und Abbildung 14 mit Pflanzen aus Versuch ID-K). Die Hauptunterschiede lagen in den Reflektionsausprägungen der Infektionsvarianten: Blätter der Mischinfektion wiesen im grünen und nahinfraroten Bereich die stärkste Reflektion auf, dicht gefolgt von den PNYDV-infizierten Blättern. Letztere wiesen im grünen Bereich bei 554 nm eine um 8,4% (2017) bzw. 12,7% (2018) und im NIR um 5,4% (2017) bzw. 6,2% (2018) geringere relative Reflektion gegenüber der Mischinfektion auf. Die Kontrollen zeigen jeweils eine deutlich geringere relative Reflektion. Bei 554 nm war sie um 33% (2017) bzw. ca. 25% (2018) und im NIR um 22,7% (2017) bzw. ca. 20% (2018) geringer als die der Mischinfektion. Eine Ausnahme dieser Übereinstimmung bildeten die mischinfizierten Fiederblättchen im blauen (um 450 nm) und roten Wellenlängenbereich (um 650 nm). PEMV-infizierte Ackerbohnen unterschieden sich deutlich von anderen Varianten. Während die relative Reflektion im grünen Bereich um 550 nm vergleichsweise hoch war (6,7% geringerer als die der Mischinfektion), war sie in allen anderen Bereichen sichtbar niedriger (Abbildung 14). Die in 2017 mitangelegte PEMV-Infektionsvariante fehlt leider in Abbildung 13, weil wegen eines technischen Defektes der Kamera diese Werte nicht abgespeichert wurden. Dies war bei verbrauchten Pflanzenproben auch nicht mehr im Kontext der Vergleichsvarianten nachholbar.



Abbildung 13: mittlere relative Reflektion von Fiederblättchen der Ackerbohne 'Fuego' in den Varianten Mischinfektion (PNYDV+PEMV), PNYDV und Kontrolle; Aufnahme mit festinstallierter Specim Hyperspektralkamera, Fehlerbalken ≙ Standardabweichung, (**Uni-KS 2017, ID-J**).



Abbildung 14: mittlere relative Reflektion von Fiederblättchen der Ackerbohne 'Fuego' in den Varianten Mischinfektion (PNYDV+PEMV), PNYDV, PEMV, sowie nach Blattlausbesatz ohne Virusfracht (Kontrolle 1) und ganz ohne Blattlausbesatz (Kontrolle 2); Aufnahme mit mobiler Specim IQ Hyperspektralkamera, Fehlerbalken Standardabweichung, (**Uni-KS 2018, ID-L**).

Im Score Plot der Hauptkomponentenanalyse (PCA) (Abbildung 15-A) zeigt sich ein Cluster von PEMV, mit Ausnahme einer Probe. Das PEMV-Cluster wird vor allem durch die erste Hauptkomponente von den anderen Proben separiert. Die zweite Hauptkomponente trennt das Cluster zusätzlich von einigen Kontroll-Proben. Die erste Hauptkomponente beschreibt 92,4% der Streuung der Daten und wird in erster Linie durch Wellenlängen oberhalb von 700 nm (rededge und Nahinfrarot) beeinflusst. Die zweite Hauptkomponente beschreibt noch 5,6% der Streuung und wird vorrangig durch Wellenlängen um 545 nm (grüner Bereich) beeinflusst.

Die Proben von Mix und PNYDV konnten durch die PCA nicht von der Kontrolle separiert werden, obwohl die Spektren sich optisch unterscheiden. Eine PCA der Ableitung der Spektren zeigte eine deutliche Clusterung von Mix, PNYDV und Kontrolle. Dies deutet darauf hin, dass Spektren von und Mix und PNYDV parallel zur denen der Kontrollen verlaufen.



Abbildung 15: PCA der relative Reflektion von Fiederblättchen der Ackerbohne 'Fuego' in den Varianten Mischinfektion (PNYDV+PEMV), PNYDV, PEMV, sowie nach Blattlausbesatz ohne Virusfracht (Kontrolle 1) und ohne Blattlausbesatz (Kontrolle 2); **A**: Score Plot der Proben, **B**: Loadings Plot der Wellenlängen, **C**: vereinfachter Loadings Plot exemplarisch ausgewählter Wellenlängen; Aufnahme mit mobiler Specim IQ Hyperspektralkamera, (**Uni-KS 2018**, **ID-L**).

6.4.2 Feldversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 2018

Von den 64 inokulierten Pflanzen, von denen jeweils 16 zu vier Zeitpunkten untersucht wurden, waren nur vereinzelte Pflanzen PNYDV- und PEMV-positiv. Zudem gab es auch nicht inokulierte Virus-positive Befunde. Da davon auszugehen war, dass auch natürliche Infektionen stattgefunden hatten und somit kein einheitlicher Infektionszeitpunkt auszumachen war, wurden die wenigen Virus-positiven Pflanzen nicht in diese Studie integriert.

6.4.3 Feldversuch für hyperspektrale Aufnahmen, Uni-KS, 2019

Es wurden nur die Pflanzenproben für Bildanalyse aufgenommen, die entsprechend der Punktinfektion ein positives ELISA-Ergebnis, d.h. für PEMV versus Kontrolle hatten, da alle PNYDV-Infektionen fehlgeschlagen waren (Tabelle 4: ID-M). Die Spektren wiesen tendenziell niedrigere Werte im nahinfraroten Bereich (800-1300 nm) für PEMV-infizierte Pflanzen gegenüber Kontrollpflanzen auf. Dieser Effekt zeigte sich bei 'Fuego' stärker als bei 'GL Sunrise' und bei frühinfizierten (Abbildung 16, links) stärker als bei spätinfizierten (Abbildung 16, rechts).



Abbildung 16: relative Reflektion von Einzelpflanzen der Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' in den Varianten Kontrolle und PEMV-infiziert; links: frühe Infektion in BBCH 13 und rechts: späte Infektion in BBCH 33/50, (**Uni-KS 2019, ID-M**).

Die Score Plots der PCAs zeigt eine annähernde, aber keine eindeutige Clusterung von PEMV und Kontrolle. Etwas deutlicher erscheint sie bei den frühinfizierten (Abbildung 17, links) als bei spätinfizierten (Abbildung 17, rechts).



Abbildung 17: Score Plots der PCAs der relative Reflektion von Einzelpflanzen der Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' in den Varianten Kontrolle und PEMV-infiziert; links: frühe Infektion in BBCH 13 und rechts: späte Infektion in BBCH 33/50, (**Uni-KS 2019, ID-M**).

6.5 Multispektrale Fernoptik

6.5.1 Feldversuche 2017 und 2018

Die drei Punktinfektionsversuche für multispektrale Erhebungen 2017 und 2018 (Tabelle 5: ID-N, P, O) führten nicht zu flächigen Infektionsnestern und konnten daher nicht weiter spektral analysiert werden.

6.5.2 Monitoring auf Praxisflächen 2017

Der mehrortig geringe PNYDV-Status 2017 ließ keine multispektralen Bildanalysen zu (Tabelle 5: ID-S, T, U). Für spätere Methodenentwicklungen - Latenzbefall & Frühdiagnostik - können die Bilder aber für rückwirkende Bildanalysen genutzt werden.

6.5.3 Monitoring auf Praxisflächen 2018

Das Monitoring der Praxisflächen in Nordhessen, Uni-KS, sowie am TI-OL (

Tabelle 6: ID-V&W) 2018 ergab ein wesentlich stärkeres PNYDV-Auftreten als im Vorjahr. Die multispektral erfassten Infektionsherde waren insgesamt wesentlich kleiner, aber zahlreicher als in 2016. Eine exemplarische Auswahl Virusnester wurde und ausgewertet. Abbildung 18 zeigt den Ausschnitt eines RGB-Orthomosaiks eines Ackerbohnenfeldes. Im Bereich oben rechts sind flächig-bräunliche Trockenschäden zu sehen. Im darunterliegenden grünen Bestand befanden sich einige schwach gelbliche Flecken. Der rote Pfeil weist beispielhaft auf ein PNYDV-Nest hin, mit den typischen Symptomen: Vergilbung, Zwergwuchs, harte, aufgerichtete Fiederblättchen (Abbildung 19). Auf vier Ackerbohnenflächen wurden 17 Nester genauer untersucht. PNYDV-Präsenz in den jeweiligen Nestern wurde durch ELISA bestätigt.



Abbildung 18: RGB-Luftbild der Drohne Phantom 3 mit Sequoia Multispektralkamera, Orthomosaik erstellt mit Agisoft Photoscan; Ackerbohne 'Fuego', BBCH 75, 07.07.2018. Pfeil weist auf das in Abbildung 19 näher betrachtete PNYDV-Nest (**Uni-KS 2018, ID-V**).



Abbildung 19: PNYDV-symptomatisches Nest in Ackerbohne 'Fuego', BBCH 75, am 07.07.2018, (**Uni-KS 2018, ID-**V).

Wie beschrieben wurden die Nester in Kern, Rand und Referenz eingeteilt und für jeden Bereich wurden Quadrate von 0,25 m² aus den multispektralen Orthomosaiken herausgeschnitten. Abbildung 20 zeigt die mittlere relative Reflektion der vier einzelnen Bänder "green, red, rededge und Nnir" für Kern und Referenz der untersuchten Nester. Keines der Bänder wies einen signifikanten Unterschied zwischen Kern und Referenz auf. Die Kernbereiche der PNYDV-symptomatischen Nester wiesen im grünen wie im roten Band höhere, in den Bändern Rededge und NIR geringere Werte auf.



Abbildung 20: mittlere relative Reflektion der 0,25 m²-Ausschnitte von multispektralen Aufnahmen der Praxisflächen mit Ackerbohne, differenziert in Kern und Referenz von PNYDV-symptomatischen Nestern, (**Uni-KS 2018, ID-V**).

Um die symptomatischen Nester von der Referenz abzugrenzen, wurden verschiedene Vegetationsindices berechnet und mit mixed effects models statistisch ausgewertet. Dazu wurden aus Kern, Rand und Referenz jeweils 0,25 m² ausgeschnitten (Abbildung 21). Der GNDVY (Green Normalized Difference Vegetationsindex) und der CI (Chlorophyll Index) ergaben mit p < 0,001 den höchsten signifikanten Unterschied zwischen dem Kern des Nestes und der Referenz.



Abbildung 21: GNDVY (Green Normalized Difference Vegetationindex) der Ackerbohne 'Fuego', BBCH 75, am 07.07.2018, mit 0,25 m² Quadraten von Kern, Rand und Referenz jeweils 1,5 m voneinander entfernt, (n = 51), (**Uni-KS 2018 ID-V**).

6.5.4 Monitoring auf Praxisflächen 2019

2019 wurden Monitorings auf Praxisflächen in Nordhessen, Uni-KS, sowie am TI-OL durchgeführt (Tabelle 6: ID-X, Y, Z). In Nordhessen wurden fünf Ackerbohnenflächen der Sorte 'Fuego' und fünf Erbsenflächen der Sorte 'Astronaute' fotografiert und beprobt. Hinzukam der Sortenvergleich mit je acht alternierenden Streifen von 'Fuego' und 'GL Sunrise' (ID-Y). In Schleswig-Holstein, am TI-OL wurde eine Ackerbohnenfläche mit 'Fuego' (ID-Y) untersucht. Exemplarische Ausschnitte der Flächen sind in Abbildung 22 dargestellt.

6.5.4.1 Bildauswertungen zum Infektionshergang als Zeitreihen

Der Sortenvergleich von 'Fuego' und 'GL Sunrise' wurde zu fünf Zeitpunkten multispektral fotografiert. In die PCA flossen als Faktoren neben den einzelnen Kanälen grün, rot, rededge und nir, sowie den Indices (Tabelle 7) auch die Haralick-Texturparameter ein (Haralick et al. 1973). Die PCA der ersten Aufnahme zum Zeitpunkt t1 bei BBCH 62 zeigt lediglich eine Clusterung der Sorten 'Fuego' und 'GL Sunrise', jedoch nicht von Kern, Rand und Referenz (Abbildung 23). Die PCAs t2, t3, t4 (nicht dargestellt) bis t5 (BBCH 80) separierte Kern und

Referenz, insbesondere bei 'Fuego' Abbildung 24). Dies geschah hautsächlich auf der ersten Hauptkomponente, welche 33,8% der Streuung des Datensatzes erklärt und besonders durch die Indices beschrieben wird.

Die PCAs der Praxisflächen Erbse (Abbildung 25) und Ackerbohne (Abbildung 26) zum Zeitpunkt t2 im BBCH MS7 zeigten eine teilweise Clusterung von Kern und Referenz. Die Kategorie Rand lag dazwischen und überlappt mit den beiden anderen Bereichen. Insbesondere bei der Ackerbohne ist jedoch zu sehen, dass auch die einzelnen der fünf Flächen einen Einfluss auf die Verteilung haben. So sonderten sich die Flächen mit den Kürzeln A und E von der Gruppe ab.



Abbildung 22:Luftbilder in jeweils links: RGB und rechts: GNDVI; **A**: Ackerbohnen Sortenvergleich mit 'Fuego' & 'GL Sunrise', BBCH 80, **B**: Ackerbohne 'Fuego', BBCH MS7, C: Erbse 'Astronaute', BBCH MS7; (**Uni-KS 2019, ID-Y&X**).



Abbildung 23: PCA von multispekralen Aufnahmen zum **Zeitpunkt t1** (BBCH 62) von 0,25 m²-Ausschnitten von Kern, Rand und Referenz der Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise'; **links**: Score Plot der Proben, **rechts**: Loadings Plot der einzelnen Kanäle, Indices (Tabelle 7) und Texturparameter, (**Uni-KS 2019, ID-Y**).



Abbildung 24: PCA von multispekralen Aufnahmen zum **Zeitpunkt t5** (BBCH 80) von 0,25 m²-Ausschnitten von Kern, Rand und Referenz der <u>Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise</u>'; **links**: Score Plot der Proben, **rechts**: Loadings Plot der einzelnen Kanäle, Indices (Tabelle 7) und Texturparameter, (**Uni-KS 2019, ID-Y**).



Abbildung 25: PCA von multispekralen Aufnahmen zum Zeitpunkt t2 (BBCH MS7) von 0,25 m²-Ausschnitten von Kern, Rand und Referenz der Praxisflächen <u>Erbse Astronaute</u>; **links**: Score Plot der Proben, **rechts**: Loadings Plot der einzelnen Kanäle, Indices (Tabelle 7) und Texturparameter, (**Uni-KS 2019, ID-X**).



Abbildung 26: PCA von multispekralen Aufnahmen zum Zeitpunkt t2 (BBCH MS7) von 0,25 m²-Ausschnitten von Kern, Rand und Referenz der Praxisflächen <u>Ackerbohne 'Fuego'</u>; **links**: Score Plot der Proben, **rechts**: Loadings Plot der einzelnen Kanäle, Indices (Tabelle 7) und Texturparameter, (**Uni-KS 2019, ID-X**).



Abbildung 27: Mittelwert und Standardfehler (nach emmeans) von **GNDVY** (Green Normalized Difference Vegetationindex) der Ackerbohnensorten 'Fuego' und 'GL Sunrise' von 0,25 m² Quadraten von Kern, Rand und Referenz, zu den Zeitpunkten t1 in BBCH 62, t2 in BBCH 68, t3 in BBCH 78 und t5 in BBCH 80; Fehlerbalken Standardfehler (nach emmeans), (**Uni-KS 2018, ID-V**).



Abbildung 28 Mittelwert und Standardfehler (nach emmeans) von GNDVY (Green Normalized Difference Vegetationindex) der Praxisflächen Erbse und Ackerbohnen von 0,25 m² Quadraten von Kern, Rand und Referenz, zu den Zeitpunkten t1 in BBCH MS6, t2 in BBCH MS7; Fehlerbalken ≙ Standardfehler (nach emmeans), (**Uni-KS** 2018, ID-V).

In Abbildung 27 ist die Veränderung der GNDVY Werte von Infektionsherden zwischen BBCH 62 bis 80, mit zunehmender Differenzierung der Kern- und Randbereiche von der Referenz ab t3 für beide Sorten 'Fuego' und 'GL-Sunrise' dargestellt. Inbesondere im Kern sanken die GNYDV-Werte im Vergleich zur Referenz signifikant bis in den negativen Bereich, bei 'Fuego' bis BBCH 80, bei 'GL-Sunrise' fiel dieser Effekt weniger stark aus und war auf BBCH 78 beschränkt. Die rückwirkende Anwendung der GNYDV-Berechnungen auf Bildmaterial des Praxismonitorings 2018 ergab sowohl für Ackerbohne als auch für Erbse ein qualitativ ähnliches Muster mit signifikant geringeren GNYDV-Werten innerhalb der Infektionsherde im Vergleich zur Referenz zu t2 in BBCH MS7 (Abbildung 28).

6.6 Ertragsparameter

Der Kornertrag pro Pflanze wurde **2017** im Gewächshaus an Erbse und Ackerbohne (Tabelle 3: D), sowie im Feldversuch an Ackerbohne (Tabelle 3: E) erhoben. In allen Fällen war der Ertrag der PNYDV-infizierten Pflanzen signifikant geringer gegenüber der Kontrolle (Abbildung 29). Darüber hinaus ergab die Mischinfektion im Feldversuch ein sehr ähnliches Ergebnis wie die **PNYDV-Infektion**. Die Erträge der jeweiligen Umgebungspflanzen, sowie die blattlausexponierten Kontrollen ohne Virusfracht, waren nicht signifikant verschieden. Tausend-Korn-Gewicht (TKG) und Sprosslänge zeigten ein ähnliches Muster wie der Kornertrag, mit geringsten Werten für PNYDV-infizierte Pflanzen (Abbildung 29), wenn auch nicht immer in so deutlicher und signifikanter Ausprägung.



Abbildung 29: mittlerer Kornertrag pro Pflanze (g) von PNYDV-infizierten Pflanzen und Kontrolle aus dem Gewächshausversuch an A) Erbse, B) Ackerbohne; Fehlerbalken \triangleq Standardabweichung, (n = 8), (**Uni KS 2017**, **D**).



Abbildung 30: Mittlerer Kornertrag pro Pflanze (g) des Feldversuchs an Ackerbohne der verschiedenen Infektionsvarianten sowie der jeweiligen Umgebungspflanzen; Fehlerbalken \triangleq Standardabweichung, (n = 25), (**Uni-KS 2017, ID-N**).

Die Rohproteingehalte des Kornertrages war in Gewächshaus- und Feldinfektionen in den Infektionsvarianten nicht signifikant verschieden von den Kontrollen (Daten nicht dargestellt). Für die Ertragsdatenauswertung des Punktinfektionsversuches **2018** (Tabelle 5: ID-O) konnten nur diagnostisch bestätigte Infektionspunkte und deren Referenzen einbezogen werden. Da sich die verbleibenden 22 von ursprünglichen 60 Punktinfektionen auf vier weitere Versuchsglieder verteilten, war eine angemessene statistische Analyse nicht sinnvoll.



Abbildung 31: A) Mittlerer Kornertrag (g) B) mittlerer Rohprotein-Gehalt (%) pro $\frac{1}{4}$ m² der Bereiche Kern, Rand und Referenz von PNYDV-Nestern an Ackerbohne 'Fuego' auf Praxisflächen; Fehlerbalken \triangleq Standardfehler (nach emmeans), (n = 51), (**Uni-KS 2018, ID-V**).

Auch für die Erbsenfeldinokulationen am JKI lagen in 2018 nur insgesamt 3 bestätigte Infektionen vor (ID-P), sodass auch hier keine Ertragsauswertung der Versuchsglieder sinnvoll auswertbar war. In der on-farm Untersuchung 2018 (Tabelle 3: ID-V) dienten dieselben ¹/₄ m² Quadrate, die fernoptisch analysiert wurden, auch der Ertragsbonitur. Von der Referenz zum Kern hin nahmen der Ertrag und Rohproteingehalt signifikant ab (Abbildung 31, A, B).

Die Auswertung der Sprosslänge, Anzahl Hülsen und Anzahl Körner in natürlichen Infektionsherden versus nächstgelegener Referenz im Sortenvergleich **2019** (ID-Q) ergaben für beide Sorten ein qualitativ ähnliches Bild eingeschränkter Leistungsfähigkeit, aber nur bei der Sproßlänge 'Fuego' signifikant abweichend zur Referenz (Tabelle 22). Insgesamt brachen Kornertrag und Rohproteingehalt in Infektionskern und Randbereich bei 'Fuego' stärker ein, als bei ,'Gl Sunrise' (Abbildung 32).

Tabelle 22: Mittelwert und Standardfehler in Klammern zu Pflanzenparamtern in natürlicher Infesktionsherden bei 'Fuego' und 'GL Sunrise' im Sortenversuch, (**Uni-KS 2019, ID-Q**).

Sorte	Variante	Sprosslänge (cm)		Anzahl Hü	lsen	Anzahl Körner	
Fuego	Kern	91.4 (3.9)	а	46.9 (8.8)	А	104.3 (23.4)	а
Fuego	Rand	101.8 (2.5)	ab	82.4 (15.2)	Ab	204.7 (30.6)	ab
Fuego	Referenz	115.2 (2.9)	с	64.1 (9.8)	Ab	172.5 (24.4)	ab
Sunrise	Kern	103.7 (3.9)	abc	80.6 (8.8)	Ab	147.8 (23.4)	ab
Sunrise	Rand	114.4 (2.4)	bc	103.8 (14.3)	В	214.5 (28.6)	ab
Sunrise	Referenz	118.3 (2.9)	с	93.8 (9.8)	В	216.9 (24.4)	b



Abbildung 32: Mittelwert von Kornertrag und Rohproteingehalt aus natürlichen Infektionsherden; Fehlerbalken *≜* Standardfehler (nach emmeans), (**Uni-KS 2019, ID-Y**).

Die Ernteproben aus dem on-farm Monitoring der Praxisflächen Ackerbohne und Erbsen (Tabelle 6): ID X) ergaben für die natürlichen Infektionsherde in Ackerbohnen und Erbsen ein qualitativ ähnliches Bild, d.h. eingeschränkte Leistungsparameter im Pflanzenwachstum, die für Erbsen wiederum stärker ausfielen als in Ackerbohnen (Tabelle 23, Tabelle 24).

Tabelle 23: Mittelwerte und Standardfehler in Klammern zu Pflanzenparametern von **Ackerbohnen**-Praxisflächen aus natürlichen Infektionsherden 'Fuego', (**Uni-KS 2019, ID-X**).

Variante	Variante Sprosslänge (cm)			sen
Kern	92.7 (3.5)	А	77.7 (6.5)	А
Rand	106.7 (2.9)	В	100.7 (5.6)	В
Referenz	122.8 (4.8)	С	99.3 (4.9)	В



Abbildung 33: Mittelwerte der Kornerträge und Rohproteingehalte von **Ackerbohnen**-Praxisflächen aus natürlichen Infektionsherden 'Fuego'; Fehlerbalken ≙ Standardfehler (nach emmeans), (**Uni-KS 2019, ID-X**).

Tabelle 24: Mittelwerte und Standardfehler in Klammern zu Pflanzenparametern von **Erbsen**-Praxisflächen aus natürlichen Infektionsherden 'Astronaute', (**Uni-KS 2019, ID-X**).

Variante	Sprosslänge	Anzahl Hülsen			
Kern	50.6 (10.1)	а	52.6 (10.3)	А	
Rand	65.8 (10.1)	b	114.4 (11.1)	В	
Referenz	86.0 (10.0)	с	171.4 (10.6)	С	



Abbildung 34: Mittelwerte der Kornerträge und Rohproteingehalte von **Erbsen**-Praxisflächen aus natürlichen Infektionsherden 'Astronaute'; Fehlerbalken ≙ Standardfehler (nach emmeans), (**Uni-KS 2019, ID-X**).

Die deutlichen Minderungen im Kornertrag und den Rohproteingehalten der Kernbereiche im Vergleich zur Referenz waren bei Ackerbohnen und Erbsen signifikant. Die Randbereiche nahmen eine teils signifikante Mittelstellung zwischen Kern und Referenzbereich ein (Abbildung 33, Abbildung 34).

Der Punktinfektionsversuch am JKI-BS, **2019** (Tabelle 5: ID-R) lieferte für beide Gemüseerbsensorten 'Ambassador' und 'Rainer' keine signifikant absicherbaren Unterschiede zwischen PNYDV- und Kontrollvarianten, auch wenn bei der PEMV-sensitiven 'Ambassador' die Hülsenzahl in den PEMV- und PNYDV-Varianten im Vergleich zur Kontrolle stärker reduziert waren als bei der PEMV-resistenten Sorte 'Rainer'.

Tabelle 25: Mittelwerte von Pflanzenparametern der Gemüeserbsensorten 'Ambassador' und 'Rainer' aus dem Infektionsversuch, (**JKI-BS 2019, ID-R**).

Sorte	Variante	Sprosslänge (cm)		Anzahl Hülsen pro ¼ m ²		Anzahl Körner pro ¼ m ²		Korngewicht pro ¼ m²	
Ambassador	PNYDV	82.0 (3.3)	b	7.2 (0.3)	а	30.0 (3.1)	а	3.6 (0.3)	а
Ambassador	PEMV	81.4 (4.3)	b	7.7 (1.1)	а	36.5 (6.3)	а	5.3 (1.0)	а
Ambassador	Kontrolle	76.8 (4.4)	b	8.0 (10.8)	а	35.9 (2.8)	а	4.9 (0.4)	а
Rainer	PNYDV	52.6 (4.4)	а	6.9 (0.5)	а	23.4 n(4.2)	а	4.1 (0.4)	а
Rainer	PEMV	58.2 (6.0)	а	8.6 (1.5)	а	39.5 (8.9)	а	5.0 (1.5)	а
Rainer	Kontrolle	52.5 (5.0)	а	27.5 (12.5)	а	27.4 (3.2)	а	3.4 (0.5)	а

Im Sortenvergleich **2020** 'Fuego' versus 'GL Sunrise' im Punktinfektions-Feldversuch Uni-Kassel Neu-Eichenberg (Tabelle 3: ID-I) waren die Pflanzenparameter Sprosslänge, Hülsenzahl und Kornzahl unter PNYDV-Einfluss deutlich reduziert, teils signifikant (Tabelle 26, Zahlen in fettem Schriftsatz). Sekundärer Basaltriebe traten nur bei den Infektionen von Sorte 'Fuego' häufiger auf, bei 'GL Sunrise' weniger und für beide Sorten war der Effekt nicht signifikant.

Tabelle 26: Pflanzenparameter im Sortenvergleich unter Feldbedingungen bei zum Boniturzeitpunkt t2 entnommenen Pflanzen, (**Uni-KS 2020, ID I**).

Sorte	IZ	V	Sprosslänge (cm)		N Seitenspr.		N Hülsen		N Körner	
Fuego	früh	Ι	69.8	ab	2.4	а	10	а	19.4	а
Fuego	spät	Ι	78.7	bc	1.3	а	13.8	ab	20.0	а
Fuego	früh	К	89.8	bc	2.2	а	27.1	b	64.2	b
Fuego	spät	К	94.8	С	1	а	25	ab	59.0	b
Sunrise	früh	Ι	45.7	а	1.7	а	3.8	а	4.8	а
Sunrise	spät	Ι	82.1	bc	2	а	29.5	b	48.5	b
Sunrise	früh	К	86.8	bc	1.9	а	33.8	b	80.4	b
Sunrise	spät	К	84.3	bc	2.1	а	37.6	b	84.9	b



Abbildung 35: Erträge und Rohproteingehalte im Sortenvergleich Ackerbohnen unter Feldbedingungen, Fehlerbalken *≙* Standardfehler (nach emmeans), (**Uni KS 2020, ID-I**).

Die Kornerträge sanken bei früh-infizierten Pflanzen beider Sorten auf mindestens 20% der Kontrollwerte ab. Dieser Einbruch war bei den spätinfizierten 'GL Sunrise' weniger stark. Infizierte Pflanzen realisierten zwischen 85% und 74% der Rohproteingehalte der jeweiligen Kontrollpflanzen. Insgesamt schienen früh-infizierte 'GL Sunrise' bereits in der Kornzahl (Tabelle 24) und auch den Mengenanteilen voller Körner versus Kümmerkörner stärker PNYDV-sensitiv zu reagieren als 'Fuego' (Abbildung 36).



Abbildung 36: Verteilung der Erträge und Rohproteingehalte auf Ernte- und Kümmerkornfraktion. Sortenvergleich unter Feldbedingungen, (**Uni-KS 2020, ID-I**).

6.7 Korrelation Fernoptik und Ertrag

Mit den Daten der on-farm Untersuchung **2017** wurde wegen Schwachbefall keine Evaluierung fernoptischer Daten mit Ertragsparametern vorgenommen. Die von der Versuchskonzeption der Punktinfektionen angedachte fernoptische Dokumentation der Nesterausbreitung mit den Erträgen war ebenfalls mangels Ausbreitung der Infektionsherde nach realisierbar und erfolgte ausschließlich mit Daten von Praxisschlägen 2018, 2019:



Abbildung 37: Korrelation von Kornerträgen in Infektionsherden von 'Fuego' 2018 (**Uni KS 2018, ID-V**) und 'Fuego & 'GL Sunrise' auf Praxisschlägen, (**Uni KS 2019, ID-X**).

Die Korrelation des Kornertrages mit den jeweiligen GNDVI-Werten natürlicher Infektionsherde der 'Fuego'-Praxisschläge ergab in **2018** (Tabelle 6: ID-V) bereits signifikant absicherbare Beziehungen - steigende GNYDV-Werte korrespondierten mit steigenden Ertragswerten (p = 0,04, bei schwachem rho = 0,29 (Tabelle 27, Abbildung 37). Für die Saison **2019** mit

vergleichsweise weiter gestiegenem PNYDV-Status, wurden auf Praxisflächen (Tabelle 6: ID-X) durchgehend und teils hoch signifikante Korrelationsergebnisse sowohl für Ackerbohnen als auch für Erbsen erzielt (Tabelle 27, Abbildung 37).

Tabelle 27: Signifikanzen und roh-Werte der Korrelationen nach Spearman der Regressionen aus Abbildung 37, für beide Ackerbohnensorten und Erbsen.

ID	Jahr	Untersuchung	Art	Sorte	p-Wert	roh
v	2018	Monitoring	Ackerbohne	'Fuego'	0,04	0,29
Х	2019	Monitoring	Ackerbohne	'Fuego'	> 0,001	0,46
Х	2019	Monitoring	Erbse	'Astronaute'	> 0,001	0,86
Y	2019	Sortenvergleich	Ackerbohne	'Fuego'	> 0,001	0,77
Y	2019	Sortenvergleich	Ackerbohne	'GL Sunrise'	0,002	0,61

6.8 Saugverhalten von *A. pisum* auf verschiedenen Ackerbohnensorten

Um das Saugverhalten von *A. pisum* in den verschiedenen Untersuchungsvarianten zu vergleichen, wurden folgende Parameter analysiert:

- Gesamtverweildauer (s_Pr) = Gesamtdauer, bei der Stylets innerhalb des Pflanzengewebes zu finden sind
- Sondierungsphase (s_C) = Stylets bewegen sich zwischen Epidermis- und Mesophyllzellen
- Phloemsaugen (s_E2) = passives Einsaugen von Phloemsaft, Virusacquisition
- Phloemeinspeichelung (s_E1) = Einspeichelung und Virusinokulation
- data\$Sorte : 'Fuego' vs. 'GL Sunrise'
- data\$Pflanze : Kontrolle vs. PNYDV-Infektion + Interaktion

Die erhobenen Parameter wurden mittels einem generalisiertem linearen Model statistisch ausgewertet (likelhood ratio und Chi-Quadrat-Test); keiner der untersuchten Parameter ergab jedoch signifikante Unterschiede (Abbildung 38 und Abbildung 39).



Abbildung 38: Zusammenfassung der für das Saugverhalten von A. pisum untersuchten EPG-Parameter nach Verweildauer, (JKI-BS 2020).



Abbildung 39: Zusammenfassung der für das Saugverhalten von A. pisum untersuchten EPG-Parameter nach Häufigkeit, (JKI-BS 2020).
6.9 Sortenabhängige Virusübertragungseffizienz

Das Verhältnis infizierter Rezeptorpflanzen zu der Gesamtanzahl der Rezeptorpflanzen wurde für drei Wiederholungen berechnet (Tabelle 28 bis Tabelle 30). Auffällig sind insbesondere die positiv getesteten Rezeptorpflanzen in den Kontrollvarianten der zweiten Wiederholung, so dass diese Werte verworfen werden müssen.

_			
Variante	Anzahl	Anzahl infizierter	Prozent infizierter
	Rezeptorpflanzen	Rezeptorpflanzen	Rezeptorpflanzen
Variante 1: GL Sunrise	3	0	0
neg. \rightarrow GL Sunrise			
Variante 2: GL Sunrise	30	30	100
pos. \rightarrow GL Sunrise			
Variante 3: Fuego neg	3	0	0
→ Fuego			
Variante 4: Fuego pos	30	21	70
→ Fuego			
Variante 5: Fuego neg	3	0	0
\rightarrow GL Sunrise			
Variante 6: Fuego pos	30	21	70
→ GL Sunrise			
Variante 7: GL Sunrise	3	0	0
neg → Fuego			
Variante 8: GL Sunrise	30	28	93
pos → Fuego			

Tabelle 28: Wiederholung 1 der Übertragungseffizienz, (JKI-BS 2020).

Tabelle 29: Wiederholung 2 der Übertragungseffizienz, (JKI-BS 2020).

Variante	Anzahl Rezeptorpflanzen	Anzahl infizierter Rezeptorpflanzen	Prozent infizierter Rezeptorpflanzen
Variante 1: GL Sunrise neg. \rightarrow GL Sunrise	6	4	67
Variante 2: GL Sunrise pos. \rightarrow GL Sunrise	30	26	87
Variante 3: Fuego neg \rightarrow Fuego	6	1	17
Variante 4: Fuego pos → Fuego	30	15	50
Variante 5: Fuego neg \rightarrow GL Sunrise	6	3	50
Variante 6: Fuego pos \rightarrow GL Sunrise	30	25	83
Variante 7: GL Sunrise neg \rightarrow Fuego	6	4	67
Variante 8: GL Sunrise pos \rightarrow Fuego	30	16	53

Varianta	Annahl	Annahl infiniantan	Descent infinianter
variante	Rezeptorpflanzen	Rezeptorpflanzen	Rezeptorpflanzen
Variante 1: GL Sunrise neg. \rightarrow GL Sunrise	6	0	0
Variante 2: GL Sunrise pos. \rightarrow GL Sunrise	30	22	73
Variante 3: Fuego neg \rightarrow Fuego	6	0	0
Variante 4: Fuego pos \rightarrow Fuego	30	11	37
Variante 5: Fuego neg \rightarrow GL Sunrise	6	0	0
Variante 6: Fuego pos \rightarrow GL Sunrise	30	23	77
Variante 7: GL Sunrise neg \rightarrow Fuego	6	0	0
Variante 8: GL Sunrise pos → Fuego	30	16	53

Tabelle 30: Wiederholung 3 der Übertragungseffizienz, (**JKI-BS 2020**).

Insgesamt zeigen sich (mit Ausnahme der Variante 8 in der dritten Wiederholung) tendenziell höhere Übertragungsraten, wenn die Donorpflanze eine infizierte Ackerbohne der Sorte 'GL Sunrise' war.

7 Diskussion der Ergebnisse

7.1 Vektorphänologie und PNYDV-Monitoring

Das Monitoring von Blattlausflug/Virusfracht und Blattlausbesiedelung sollte Informationen zur Phänologie des PNYDV Eintrages und möglichen Beteiligung der Vektorgruppen liefern. Gleichzeitig waren die Daten als Interpretationshilfe für das Konzept der Früh- und Spätinfektionen in den Feldversuchen gedacht.

Gelbschalenfänge: Der Auswertung der Gelbschalenfänge nach Erstauftreten und Abundanz der jeweiligen Blattlausgruppen wiesen je nach Jahr und Standort erwartungsgemäß hohe Schwankungsbreiten auf. Dies galt auch für den vermuteter PNYDV-Hauptüberträger, die Grüne Erbsenblattlaus (Acyrthosiphon pisum) (Ziebell 2017). Die Spanne der Erstbefunde war mit bis zu 5 Wochen (KW18-23!, Abbildung 3) weit. Es bestätigte sich auch die methodische Schwäche des Gelbschalenmonitorings in puncto A. pisum- Phänologie, zumal frühe/späte Erstnachweise in GS, weder hoher/geringe Vektorabundanz in Klopfproben wiederspiegelten (Abbildung 4), noch mit dem jeweiligen PNYDV-Status der Jahre 2017-2019 korrelierten. Erklärt wird dies mit der bei A. pisum abweichenden Landereaktion auf den Farbreiz "gelb", sodass diese im Vergleich zu anderen Blattlausarten in Gelbschalenfängen numerisch unterrepräsentiert ist (Krüssel, pers. com. 2017). Die für *A. pisum* mit vertretbarem Aufwand erzielbaren/auswertbaren GS-Fangsummen waren demnach vom Stichprobenumfang zu gering, um damit die Phänologie der Vektoraktivität im Bestand ableiten zu können. Analoges gilt auch für die drei weiteren Vektorengruppen *M. viciae, Aphis*-Gruppe und *M. persicae*.

Virusfracht: PNYDV wurde im Jahr **2018** häufig und in allen Blattlausgruppen am Standort JKI-BS nachgewiesen (Abbildung 3), bis auf *M. viciae* ohne Nachweis. Im Gegensatz dazu gab es im Vorjahr 2017 und auch in 2019 nur sehr wenige PNYDV-Nachweise bei *A. pisum* und wiederum keinen bei *M. viciae.* Wahrscheinlich haben sich auch hier der begrenzte Individuenumfang auf die Nachweiswahrscheinlichkeit ausgewirkt. Dass auch in der numerisch wesentlich umfänglicheren Gruppe "sonstige" in sieben, wöchentlich gepoolten, Proben PNYDV gefunden wurde (2018 am JKI-BS, Abbildung 3), kann drei Gründe gehabt haben, dass a) noch andere Blattlausarten in der Gruppe "sonstige" gab, welche auch als PNYDV-Vektor fungierten. Es wäre jedoch auch möglich, dass b) bei der taxonomischen Einordnung und Gruppenzuweisung Fehler unterlaufen sind, was bei der enormen Anzahl der zu sortierenden Läuse auch bei sehr sorgfältiger Arbeit durchaus vorstellbar ist und/oder, c) dass einzelne

"nanoVIR: Neue Viruserkrankungen in Erbsen und Ackerbohnen: Status quo-Analyse und Handlungsempfehlungen" 2815EPS023, 2815EPS070

Viruspartikel aus Blattlausfragmenten verschleppt und in der Analyse sonst virusfreien Blattläusen zugeordnet wurden. Die zusätzliche Beteiligung von Myzus persicae (Erbsen/Ackerbohnen) und in Ackerbohnen auch M. viciae, A. craccivora als Vektoren von Leguminosenviren (Cockbain und Costa 1973) bleibt auch für das PNYDV-Befallsgeschehen weiter möglich. Schließlich lag häufige PNYDV-Fracht für Myzus persicae und in der Rubrik "sonstige" in 2018 am Standort JK-BS, vor, bzw. die geringen Fangzahlen bei M. viciae ließen keine sichere Bewertung zu (Abbildung 3). Somit ergab auch die differenzierte und mehrortige Betrachtung der Vektorgruppen leider nicht das erhoffte "klare Bild". Grundsätzlich kann Gelbschalenmonitoring gekoppelt mit Virusfracht-Nachweises weiterhin eine wertvolle und nutzbare Methode darstellen. Dies hängt aber von ausreichenden Fangzahlen ab und ist methodisch aufwändig und ressourcenbindend. Insbesondere stellte in 2018 die anhaltenden Hochsommertemperatur >35°C mit entsprechender Verdunstung und auch rascher Zersetzungsgefahr für die fragilen Blattlausfänge in den Gelbschalen ein Erschwernis dar. Gesteigerter Wartungs- und Leerungsaufwand könnte den genannten Unwägbarkeiten zwar entgegenwirken, lag aber außerhalb des leistbaren Rahmens. Deshalb gilt es weiterhin, verschiedene leguminosenaffine Blattläuse auf mögliche PNYDV-Vektoreignung zu untersuchen und grundsätzlich auch immer siedelnde Blattläuse im Pflanzenbestand in Monitoringaktivitäten einzubeziehen (s.u.).

Blattlausbesiedelung im Bestand: Die Klopfproben-Besiedlungsverläufe von A. pisum in den Jahren 2017 und 2018 waren ebenfalls stark unterschiedlich (Abbildung 4). In 2017 startet die Besiedlung im Vergleich zu 2018 vier Wochen später und in 2018 hatten in KW23 bereits 96% A. pisum-Befall. Zu diesem Zeitpunkt war in 2017 noch keine Blattlaus an Ackerbohne gefunden worden. In 2019 wies 'GL Sunrise' anfänglich weniger Initialbefall auf, was als Hinweis auf geringe Attraktivität, bzw. vergleichsweise geringere Vermehrung auf 'GL Sunrise' gedeutet werden könnte (Abbildung 4). Diese Ergebnislage gab den Anlass für die Laborstudie 2020 am JKI-BS auf etwaige Wirtseignungsunterschiede bei 'Fuego' und 'GL Sunrise' einzugehen (Pkt. 6.8, 6.9. Die festgestellten Unterschiede ergaben kein so eindeutiges Ergebnis, als damit die Sortenunterschiede unter Feldbedingungen untermauert würden. Die ursächlichen Sortenunterschiede werden aber weiterhin im vektorvermittelten PNYDV-Infektionsgeschehen vermutet, entweder im vorgelagerten Bereich (Wirtsfindung) und/oder bei der Sekundärverbreitung durch ungeflügelte Tiere im Bestand.

Viruspräsenz Praxismonitoring: Die Abfolge des PNYDV-Status nach dem Epidemiejahr 2016, sank in **2017** unmittelbar auf praktische "Nichtpräsenz" 2017 (Pkt. 6.2.2), trat **2018** in

zerstreuten kleinen Inkektionsherden wieder auf (Abbildung 18, Abbildung 19) und legte in **2019** dann wieder mit sehr vielen kleinen Infektionsherden ohne den für Ackerbohnenbestände typischen schwarzen Kernbereich, deutlich zu (Abbildung 22). **2020** wurde kein eigenes Monitoring mehr durchgeführt, der PNYDV Status in der Praxis war aber laut Berater-Rückmeldungen ähnlich wie im Vorjahr (Lenz pers. Mitt. 2020). Dass in 2018 und 2019 viele kleine Infektionsherde in Ackerbohnenflächen aber ohne schwarzen Kern wie in 2016 auftraten, kann mit vorwiegenden Spätinfektionen erklärt werden. Bei diesem Szenario gilt, dass die späte Herdentwicklung noch bis zur sichtbaren Gelbfärbung fortschritt, hatte aber nicht mehr die vorzeitige Seneszenz und Schwarzfärbung der Pflanzen im Kern zur Folge hatte.

Rückblickend auf das Praxismonitoring 2017-2019 scheint PNYDV trotz von Jahr zu Jahr erheblichen Statusschwankungen in den Anbaugebieten fest etabliert zu sein. Welche biotisch-, abiotischen Rahmenbedingungen für Stark- und Schwachbefallsjahre ausschlaggebend sind, ist bisher noch unzureichend verstanden und wird weiteren Untersuchungsbedarf erfordern.

7.2 Infektions-Nachweise und -Ausbreitung in Feldversuchen

Um bei begrenzter Projektlaufzeit weniger abhängig von schwankendem PNYDV-Befallsdruck in der Anbaupraxis zu sein, wurde parallel zum Praxismonitoring auch mit künstlich gesetzten Infektionspunkten im Feldversuch gearbeitet.

Im ersten Anlauf **2017** an der Uni-KS (Tabelle 3: ID-E) lieferte die Methodik der Punktinfektionen verwertbare Resultate in Ackerbohnen. Zehn eingehauste Blattläuse pro Virusart und Infektorpflanze waren hier ausreichend, um auch unter Feldbedingungen sichere Infektionsergebnisse zu erzielen. 5 Blattläuse pro Virusart, wie in der Variante Mix1 (Pkt. 5.7.2), lieferten jedoch weniger reproduzierbare Infektionen. Auffällig war, dass sich entgegen der Erwartung im gesamten Versuch sowohl für PEMV als auch für PNYDV und Mix keine Virusnester ausbreiteten, sondern die Infektionen blieben auf die Infektorpflanzen und wenige unmittelbar benachbarte Einzelpflanzen in 50cm Entfernung beschränkt.

Dies könnte mit den geringen Blattlaus-Besiedlungswerten sowohl in den eigenen Versuchen als auch allgemein in den Leguminosenbeständen der Anbaupraxis im Zusammenhang gestanden haben, da die Infektor- und Nachbarpflanzen im weiteren Vegetationsverlauf praktisch frei von Blattlauskolonien und Einzelläusen blieben (Abbildung 4).

Zwar wurde die Infektionsmethode in **2018** mit durchgehend zehn Blattläusen pro Virusart und Infektorpflanze fortgeführt. Leider war die Nachweisrate weitaus geringerer als in 2017.

Auch der aufwändig angelegte Parzellenversuch **2019** an der Uni Kassel mit integrierten Käfigvarianten zur Ausgrenzung von Blattrandkäferlarvenbefall (Tabelle 3: ID G) und ebenso die Punktinfektionen im Sortenvergleich als früh- und Spätinfektion (Tabelle 3: ID H) scheiterten bezüglich PNYDV und konnten wenn, dann nur für PEMV ausgewertet werden.

Nachdem drei von vier Versuchen an der Uni-KS und am JKI-BS unbefriedigend abschnitten, ergab auch akribische Fehlersuche kein eindeutiges Ergebnis. Nach Ausschluss verschiedener potenzieller Störgrößen, war der Sortenvergleich 2020 schließlich im Infektionsergebnis wieder erfolgreich (6.2.1). Die Methodik war aber nicht anders als im Jahr 2017, 2018 und 2019. Rückblickend kann festgehalten werden, dass PNYDV ein im Vergleich zu PEMV versuchstechnisch "heikles" Virus einzustufen ist und weiter methodische Aufbauarbeit zur experimentellen Simulation von Feldinfektionen zu leisten sein wird. Die Methodik der frühen-/späten Punktinfektionen führte in keinem der Untersuchungsjahre zu einer flächigen Ausbreitung, die der jeweiligen Praxissituation nahekam. Diese Sekundärverbreitung als Blattläuse an Bestandesnachbarn wird Virusweitergabe von Infektorpflanzen über wahrscheinlich mehr von der natürlichen Dynamik der Blattlauskolonien im Bestand abhängen (Saucke et al. 2019). Vom methodischen Konzept her wurde jedenfalls die Vermehrung der Infektorläuse zur Vermeidung möglicher Saugschäden nach der Einhausung bewusst unterbunden. Ob nun diese Umstände Nesterwachstum gemindert oder unterbunden haben, ist offen. Auch hier wäre zu Klärung und gegebenenfalls zur experimentellen Verbesserung vertiefte Methodenentwicklung zu betreiben, was im gegebenen Budget- und Zeitrahmen nicht leistbar war.

7.3 Nodulation

Virusinfektionen können sich bei Leguminosen negativ auf die Nodulation und damit auf die symbiontische N₂-Fixierung auswirken (Elsheikh & Osman 1995, Rao et al. 2016). Zusätzlich zur gebildeten Knöllchenmasse, gibt auch die innere Färbung des Knöllcheninhaltes Auskunft über deren Funktionszustand. Die rote Farbe, hervorgerufen durch das Leghämoglobin, zeigt N-fixierungsaktive Knöllchen an (Pommersche und Hansen 2017). Die vorliegende Studie konnte erstmals belegen, dass auch PNYDV die Nodulation, die Knöllchenfunktion und im Endergebnis die Fähigkeit zur symbiontischen Bindung von Luftstickstoff schwächte. Während im Gewächshausversuch 2017 die Masse der Knöllchen an Erbse bei starker Streuung nicht signifikant reduziert wurde (Abbildung 6: A), zeigten aufgeschnittene Erbsenknöllchen jedoch, dass PNYDV die Rot- und Rosafärbung funktionaler Knöllchen stärker reduzierte als PEMV oder in Kontrollpflanzen (Abbildung 7: A). An Ackerbohne war auch die Knöllchenmasse PNYDV-infizierter Pflanzen signifikant geringer als bei der Kontrolle (

Abbildung 6: B). Außerdem hatten diese Pflanzen nur rosafarbene und keinerlei rote Knöllcheninhalte ausgebildet, während bei der Kontrolle rund 80% der Knöllchen tief rot gefärbt waren (Abbildung 7: B). PNYDV-Infektionen wirkten sich also negativ sowohl auf Knöllchenmasse als auch auf deren N-Fixierungsaktivität aus.

Die on-farm Untersuchungen an Ackerbohne (Abbildung 8: ID-F) verifizierten diese Beobachtungen. Auch hier nahm die Knöllchenmasse von der Referenz zum Kern der PNYDV-Nester hin signifikant ab. Die Untersuchung des Inhalts, bzw. der Beschaffenheit der Knöllchen, ließ ebenfalls auf eine deutlich geringere Aktivität nach PNYDV-Infektion schließen (Abbildung 8), da nur an den Referenzpflanzen rosafarbene und rote Knöllcheninhalte nachgewiesen wurden. Auch der Anteil grün gefärbter Knöllcheninhalte war hier weitaus höher. Der grüne Farbstoff wird durch Biliverdin, ein Abbauprodukt des Leghämoglobins, hervorgerufen (https://www.facebook.com/spektrumverlag/ 2018). Grüne Knöllchen können somit als ehemals rot, sprich ehemals aktiv, gedeutet werden. Die Knöllchen aus dem Kern waren größtenteils braun oder offen, d.h. im Abbauprozess weiter fortgeschritten, bzw. durch Larvenfraß des Blattrandkäfers geschädigt. Auffallend war, dass die Fraktion "braun-, offen" im Gewächshausversuch bei Ackerbohne und Erbse (Abbildung 8) völlig fehlte. Es ist davon auszugehen, dass sich die wirtschaftliche Bedeutung von PNYDV bei gleichzeitig starkem Blattrandkäferlarvenbefall zusätzlich erhöht.

7.3.1 Luftstickstoffbindung:

Die Auswirkung verminderter Nodulation auf tatsächlich geminderte symbiontische N-Bindung ließ sich erst durch eine Isotopenanalyse nachweisen. In der Atmosphäre besteht weltweit ein stabiles Verhältnis von ¹⁵N zu ¹⁴N. In landwirtschaftlichen Böden treten in der Regel davon abweichende Verhältnisse auf. Der Wert DELTA Luft (‰) gibt den Unterschied des Verhältnisses von ¹⁵N zu ¹⁴N zum atmosphärischen Verhältnis an, welches einen DELTA Luft-Wert von 0‰ hat. Je näher der DELTA Luft-Wert einer Pflanze an 0‰ ist, desto mehr Stickstoff wurde aus der Luft aufgenommen, was einer höheren N₂-Fixierungsleistung entspricht (Klatt 2008). Die Isotopenanalyse der Sprossmasse der vorliegenden Studie zeigte bei positiven Werten einen signifikant geringeren DELTA-Luft-Wert der Referenz gegenüber dem Kern von PNYDV-Nestern (Abbildung 9). Dies bedeutet, dass PNYDV-infizierte Pflanzen weniger symbiontischen Stickstoff im Gewebe assimilieren konnten und stärker auf Boden Nmin angewiesen waren. Bei 'Fuego' 2017-2019 war die symbiontische N-Bindung in allen Versuchsreihen im Innern von Infektionsherden reduziert. Im Sortenvergleich 2020 konnte dieser Effekt auch für infizierte 'GI Sunrise' Pflanzen bestätigt werden. Dass der DELTA Luft (‰) Datensatz 'Fuego' in diesem Jahr aus dem Rahmen der Erwartung fiel, sich das 'Fuego'-Reaktionsmuster zur Knöllchenmasse (Abbildung 12), Pflanzenparametern (Tabelle 24) und Erträgen wiederum eher mit den Erwartungen der Vorjahre deckte, wird bis auf Weiteres als Hinweis auf unsichere Datenverwertbarkeit gedeutet.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass PNYDV-Infektionen einen deutlich negativen Einfluss auf die Nodulation und resultierende Luftstickstoffbindung hatten. Durch welche Mechanismen dies hervorgerufen wird, ist noch unklar. Elsheikh & Osman (1995) vermuten für Virusinfektionen allgemein, dass durch eine virusbedingt geringere Photosyntheseaktivität und Stofftransport die Knöllchen unterversorgt sind.

7.4 Hyperspektrale Fernoptik

In den Jahren 2017 und 2018 wurden zwei hyperspektrale Aufnahmeserien von Ackerbohnen aus dem Gewächshaus mit unterschiedlichen Kamerasystemen erstellt (Tabelle 4: J, K). Die Spektren der Ackerbohnen-Fiederblättchen sind alle typisch für Vegetation (Abbildung 14). Im blauen (um 450 nm) und roten (um 650 nm) Wellenlängen-Bereich herrscht, bedingt durch die Chlorophyll-Absorption, eine geringe Reflektion. Um 550 nm befindet sich der sog. Green Peak und um 700 nm der sog. Red-Edge-Bereich, gefolgt von einem Plateau im nahinfraroten Wellenlängen-Bereich (Abb. 1, 2).

In beiden Durchläufen, bei unterschiedlicher Aufnahmetechnik wurden insgesamt stärkere Reflektionswerte über den gesamten Wellenlängenbereich zwischen 400 und 1000 nm bei PNYDV-infizierten Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen festgestellt. Auch Mischinfektionen verhielten sich im grünen und nahinfraroten (NIR) Bereich ebenfalls nach beiden Methoden vergleichbar: die relative Reflektion war noch etwas stärker als bei PNYDV-Infektion allein. Im blauen und roten Bereich hingegen gab es zwischen den beiden Untersuchungen Unterschiede im Verhältnis der Spektren zueinander. Dies lässt darauf schließen, dass außer dem Infektionsstatus auch noch andere Faktoren hineingespielt haben können, wie das Alter der verwendeten Pflanzen, Virusstatus, die Anzuchtbedingungen u.s.w. die in beiden Durchläufen Unterschiede aufwiesen.

PEMV-Reininfektionen zeigten sowohl im Gewächshausversuch 2018 (Abbildung 14), als auch im Feldversuch 2019 (Abbildung 16) im Vergleich zur PNYDV-Reininfektion und den Kontrollen niedrigere Reflektionswerte im nahinfraroten Bereich. PEMV/PNYDV-Mischinfektionen ähnelten in diesem Reflektionsbereich eher PNYDV und verstärkten sogar die Abweichung vom Kontrollwert (Abbildung 14).

7.5 Multispektrale Fernoptik

Die multispektralen Drohnen-Aufnahmen der Praxisflächen in Nordhessen und am TI-OL in 2018 ergaben, dass es möglich ist, mittels Vegetationsindices PNYDV-Nester signifikant von der Referenz abzugrenzen. Auf den ersten Blick fielen die Unterschiede der Einzelbänder zwischen infektiösen Kern- und Referenzpflanzen geringer und nicht signifikant aus, als es von den hyperspektralen Auswertungen zu erwarten gewesen wäre (Abbildung 20). Dazu ist einschränkend zu beachten, dass die mit unterschiedlichen Kamerasystemen erhobenen hyperspektralen Aufnahmen an Gewächshauspflanzen (Pkt. 5.6) von Feldpflanzen-Spektren abweichen können und die Aufnahmen zudem bei Kunstlicht und im Freiland erfolgten. Hinzu kam, dass bei den Drohnen-Aufnahmen der Boden unter dem Pflanzenbestand, auch nach Reihenschluss noch einen Einfluss auf die Reflektion hat. Dieser ist bei geringerer Pflanzenmasse stärker, unterscheidet sich also zwischen Kern und Referenz eines PNYDV-Nestes. Zudem können auch die Altersunterschiede der Pflanzen an den Abweichungen zwischen hyperspektralen und multispektralen Ergebnissen mitgewirkt haben.

Die Kontrastierung über GNDVI-Berechnungen (Abbildung 21) und auch für CI (Chlorophyll Index) ergab die höchsten Signifikanzen und reproduzierbarsten Differenzierungen von PNYDV-Infektionsherden. Beide Indices verwenden die Parameter "grün" und "NIR" in ihrer Berechnung, was darauf schließen lässt, dass dies die zukünftig wichtigsten Wellenlängenbänder zur Identifikation von PNYDV-infektionen und ein Unterscheidungsmerkmal für PEMV sein können. Dies zeigten die umfänglichen Hauptkomponentenanalysen in denen insbesondere GNYDV sowohl die infektiösen Kern- und Referenzbereiche nach Zeitpunkt und Sorte für 'Fuego' und 'GI Sunrise' am besten differenzierten (exemplarisch für t1 Abbildung 24 und t5 Abbildung 25). Auch auf Praxisschlägen bei Erbsen und Ackerbohnen kontrastierten die GNYDV-Werte die infektiösen Kern- und Referenzbereiche mit den besten Signifikanzen (Erbsen, Abbildung 25; Ackerbohnen, Abbildung 26).

7.6 Frühdiagnostik

Die Darstellung der GNYDV-Werte als Zeitreihe der Kern-, Rand- und Referenzbereiche von Versuchs- und Praxisflächen zeigte sowohl für Ackerbohnen als auch für Erbse, dass GNYDV für beiden Sorten und Kulturarten bereits in der frühen Infektionsphase im Übergang zwischen BBCH 62 (t2 = 18.06.2019) und BBCH 68 (t3 = 03.07.2019) bei latentem Befall signifikant differenzierte (Abbildung 27, Abbildung 28). Die Perspektive einer "PNYDV-Frühdiagnostik" bei visuell noch nicht erkennbaren Symptomen in Ackerbohnen und Erbsen scheint somit, bei entsprechender Weiterung fernoptischer Auswertungsverfahren, gegeben zu sein.

7.7 Pflanzen- und Ertragsparameter

In Gewächshaus- und Feldversuchen, sowie in der on-farm Untersuchung wurden Pflanzenertragsparameter und der Kornertrag erhoben. In allen Punktinfektionsversuchen, in denen sich die PNYDV-Infektionen als nicht erfolgreich herausstellten, ließen sich wenn, dann PEMV-Einflüsse auf Pflanzenparameter absichern. Insgesamt fielen die Untersuchungsjahre in eine Phase schwächerer PNYDV-Präsenz als in 2016. Aufgrund spät einsetzender Symptomatik und vieler, aber kleinerer Infektionsherde, fielen auch die Einflüsse auf Pflanzenhöhe, Vergilbungszeitpunkt u.s.w. geringer aus.

Deshalb konzentrierten sich die Vegetationsindices-Korrelationen zunächst auf Kornerträge. die insbesondere für GNDVI signifikante Korrelation und ein konsistentes Bild abgaben. Pflanzenparameter wie Pflanzenhöhe erweitern dennoch die Beurteilungsmöglichkeit für PNYDV-Symptomatik und Ertragswirkung in Forschung und Praxis.

8 Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse

Nach der PNYDV-Epidemie im Jahr 2016 konnte das Virus im Folgejahr 2017 auf fast allen Praxisflächen nicht nachgewiesen werden; in der Saison 2018 und insbesondere 2019 war sowohl auf Ackerbohnen- und Erbsenschlägen wieder erheblich mehr PNYDV-Präsenz zu verzeichnen.

Interviews mit Praktikern im Rahmen der Projekte CYDNIGPRO & WP1 2815OE012 zur schlaggenauen Pflanzenschutzpraxis der Modellregion Nordhessen ergaben, dass Insektizidanwendungen in Sommererbsen- und Ackerbohnen von jeweils 0% bzw. 10% in 2016 auf 12-21%, bzw. 10-15% in 2017-2018 angestiegen waren. Unter dem Eindruck der PNYDV-Epidemie 2016 nahmen in der Modellregion Nordhessen prophylaktische, gegen Virusvektoren und/oder Saugschäden gerichtete Insektizidanwendungen zu. Rückblickend lag für die Anbaupraxis weder in 2017, 2018, 2019 und auch in eigenen Versuchen 2020 Bekämpfungswürdigkeit vor, zumal in 2018 Trockenschäden dominierten. Insgesamt konnte im kontinuierlichen Ergebnisaustausch mit Beratung und Praxis Zurückhaltung bei Insektizidmaßnahmen gegenüber PNYDV-Vektoren kommuniziert werden, was sich über die gesamte Projektlaufzeit bestätigte.

Die Ergebnisverwertung zur Ferndiagnostik von Viruserkrankungen in Körnerleguminosen sieht grundsätzlich vielversprechend aus, ist in dieser Ausbaustufe noch nicht "gebrauchsfertig". Auch das Nutzungspotenzial gering PNYDV-anfälliger Ackerbohnensorten ist offensichtlich geworden. Es sind aber möglichst weitere Genotypen/Sorten mit regionaler Eignung abzuwarten, um praxisfähige Empfehlungen ableiten zu können.

Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

- Die Aufarbeitung epidemiologischer Sortenunterschiede sollte als grundlegendes Sortenscreening auf tatsächlich PNYDV-Resistenz im Ackerbohnen- und Erbsengenpool betrieben werden. Dabei sind die daran beteiligten Resistenzmechanismen ebenso von praktischem Interesse wie Unterschiede und Wirkmechanismen zur Wirtseignung und Virusübertragungseffizienz der beteiligten Virusvektoren.
- Die Kenntnislücken zum Lebenszyklus und Winterwirten für PNYDV und Vektoren sind zu schließen und könnten wichtige Ansatzpunkte zur Befallsprävention liefern.
- Die Ergebnisse zur fernoptischen Erfassung von Viruserkrankungen in Ackerbohne und Erbsen waren vielversprechend und sollten für Frühdiagnostik und Ertragsmonitoring

weiterentwickelt werden. Da hierfür hinreichender on-farm Infektionsdruck Voraussetzung ist, sollte zur Risikostreuung auch die Methodik künstlich gesetzter Infektionsherde weiterentwickelt werden.

9 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

Das Projekt zielte darauf ab Kenntnislücken zur Epidemiologie und Ertragswirksamkeit in Ackerbohnen und Erbsen zu schließen und ferndiagnostische Verfahren zur Früherkennung und Schadenserfassung von PNYDV-Infektionen auf Praxisflächen und in Parzellenversuchen zu erarbeiten.

- Die vielschichtigen PNYDV-Schadwirkungen sind umfänglich quantifiziert worden. Das onfarm Monitoring und die experimentell herbeigeführte Punktinfektionen boten allerdings nicht die idealen experimentellen Voraussetzungen wie in 2016 (Saucke et al. 2019), um fernoptische Ertragsschätzungen zielführen weiterentwickeln zu können. Analoges gilt auch für die Methodik des sehr aufwändigen Gelbschalenmonitorings zur Flugaktivität und Virusfracht.
- Die PNYDV-Eintragspfade ließen sich bisher keiner der Vektorgruppen eindeutig zuordnen.
- Es konnten erste hyper- und multispektrale Bildauswertungen mit reproduzierbaren Ergebnissen durchgeführt werden. Die Grundlagen für fernoptische Erfassungen auf Praxisflächen konnten somit erarbeitet werden. Auch die Evaluation von PNYDV-Reflektionsindices lieferte vielversprechend Resultate, insbesondere zur Nutzung multispektrale Bildauswertungen für Ertragskorrelationen.
- Weiterhin konnten im Projektverlauf Sortenunterschiede in der PNYDV-Feldsymptomatik zweier Ackerbohnensorten mit Ertragsreaktionen herausgearbeitet werden. Offenbar handelt es sich um keine echte PNYDV-Resistenz, da auch 'GL Sunrise' infizierbar war. Bezüglich der Vektorinteraktion ergaben Labortests zum Saugverhalten von Erbsenblattläusen an beiden Sorten keine eindeutigen interpretierbaren Ergebnisse in Richtung Bervorzugungs-, Meidungsreaktionen. Die ursächlichen Sortenunterschiede werden aber weiterhin im vektorvermittelten PNYDV-Infektionsgeschehen vermutet, entweder im vorgelagerten Bereich (Wirtsfindung) und/oder bei der Sekundärverbreitung durch ungeflügelte Tiere im Bestand.

10 Literaturverzeichnis

- Abraham, A.; Makkouk, K. M.; Gorfu, D.; Lencho, A. G.; Ali, K.; Tadesse, N. et al. (2000): Survey of faba bean (*Vicia faba* L.) virus diseases in Ethiopia. In: *Phytopathologia Mediterranea* 39 (2), S. 277–282.
- Abraham, A. D.; Varrelmann, M.; Vetten, H. J. (2012): Three Distinct Nanoviruses, One of Which Represents a New Species, Infect Faba Bean in Ethiopia. In: *Plant Dis* 96 (7), S. 1045–1053. DOI: 10.1094/PDIS-09-11-0734-RE.
- Braunmiller, V.; Hand, I. (2019): Auswirkungen von Pea necrotic yellow dwarf virus (PYNDV) und Pea enation mosaic virus (PEMV) auf die Nodulation, die Wuchsform und den Ertrag der Erbsen (*Pisum sativum*), sowie Untersuchungen zur Virusübertragung über die Pflanzenwurzel. Projektarbeit. Universität Kassel, FB11 Ökologische Agrarwissenschaften. Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz.
- Cockbain, A. J.; Costa, C. L. (1973): Comparative transmission of bean leaf roll and pea enation mosaic viruses by aphids. In: *Annals of Applied Biology* 73 (2), S. 167–176. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1973.tb01322.x.
- Franke, L.; Bissinger, A.-M. (2019): Auswirkungen von Pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV) und Pea enation mosaic virus (PEMV) auf die Nodulation bei Ackerbohnen (*Vicia faba*). Projektarbeit. Universität Kassel, FB11 Ökologische Agrarwissenschaften. Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz.
- Froehlich, G. (1962): Das Verhalten der Grünen Erbsenblattlaus *Acyrthosiphon pisum* Harris gegenüber verschiedenen Wirtspflanzen und Temperaturveränderungen. In: *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 51, S. 55–68.
- Gaafar, Y.; Grausgruber-Gröger, S.; Ziebell, H. (2016): *Vicia faba, V. sativa,* and *Lens culinaris* as new hosts for *Pea necrotic yellow dwarf virus* in Germany and Austria. In: *New Disease Reports* 34, S. 28.
- Gaafar, Y.; Timchenko, T.; Ziebell, H. (2017): First report of *Pea necrotic yellow dwarf virus* in The Netherlands. In: *New Disease Reports* 35, S. 23. Online verfügbar unter http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2017.035.023.
- Gaafar, Y. Z. A.; Herz, K.; Hartrick, J.; Fletcher, J.; Blouin, A. G.; MacDiarmid, R.; Ziebell, H. (2020): Investigating the Pea Virome in Germany-Old Friends and New Players in the Field(s). In: *Frontiers in microbiology* 11, S. 583242. DOI: 10.3389/fmicb.2020.583242.
- Giraudoux, Patrick; Antonietti, Jean-Philippe; Beale, Colin; Pleydell, David; Treglia, Mike (2019): CRAN - Package pgirmess. Comprehensive R Archive Network (CRAN). Online verfügbar unter https://cran.r-project.org/web/packages/pgirmess/index.html, zuletzt aktualisiert am 22.04.2019, zuletzt geprüft am 26.04.2019.
- Grausgruber-Gröger, S.; Moyses, A. (2017): Nanoviren und Leguminosen in Zwischenfrüchten. *Pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV)*. BOKU Groß-Enzersdorf (Zwischenfrucht Symposium 19.06.2017). Online verfügbar unter https://boku.ac.at/fileadmin/data/H03000/H95000/H95500/1_Grausgruber-Groeger__Nanoviren_und_Leguminosen_in_Zwischenfruechten.pdf, zuletzt geprüft am 04.01.2021.
- Grigoras, I.; Ginzo, A.I.D.; Martin, D. P.; Varsani, A.; Romero, J.; Mammadov, A. C. et al. (2014): Genome diversity and evidence of recombination and reassortment in nanoviruses from Europe. In: *Journal of General Virology* 95, S. 1178–1191. Online verfügbar unter http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.063115-0.
- Grigoras, I.; Gronenborn, B.; Vetten, H. J. (2010): First report of a nanovirus disease of pea in Germany. In: *Plant Disease* 94 (5), S. 642. DOI: 10.1094/PDIS-94-5-0642C.
- Habekuß, A.; Riedel, C.; Schliephake, E.; Ordon, F. (2009): Breeding for resistance to insecttransmitted viruses in barley – an emerging challenge due to global warming. In: *Journal* of *Cultivated Plants* 61 (2), S. 53–61.
- Haralick, R. M.; Shanmugam, K.; Dinstein, I. (1973): Textural Features for Image Classification. In: *IEEE Trans. Syst., Man, Cybern.* SMC-3 (6), S. 610–621. DOI: 10.1109/TSMC.1973.4309314.
- Harrington, R.; Clark, S. J.; Welham, S. J.; Verrier, P. J.; Denholm, C. H.; Hullée, M. et al. (2007): Environmental change and the phenology of European aphids (8), S. 1550–1564.

- https://www.facebook.com/spektrumverlag/ (2018): Knöllchenbakterien. Online verfügbar unter https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/knoellchenbakterien/36459, zuletzt aktualisiert am 04.09.2018, zuletzt geprüft am 30.04.2019.
- Hullé, M.; Cœur d'Acier, A.; Bankhead-Dronnet, S.; Harrington, R. (2010): Aphids in the face of global changes. In: *Comptes Rendus Biologies* 333 (6), S. 497–503. DOI: 10.1016/j.crvi.2010.03.005.
- Jones, R. A. C. (2004): Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies. In: *Virus Research* 100, S. 5–30. Online verfügbar unter doi:10.1016/j.virusres.2003.12.011.
- Kirchner, S. M.; Hiltunen, L. H.; Santala, J.; Döring, T. F.; Ketola, J.; Kankaala, A. et al. (2014): Comparison of Straw Mulch, Insecticides, Mineral Oil, and Birch Extract for Control of Transmission of Potato virus Y in Seed Potato Crops. In: *Potato Res.* 57 (1), S. 59–75. DOI: 10.1007/s11540-014-9254-4.
- Krüssel, S. (pers. com. 2017): Auftreten von Viruskrankheiten und Vektoren in Leguminosen in Niedersachsen. Berichte aus den Bundesländern zum Auftreten von Schädlingen in Getreide, Mais und Leguminosen. 27. Tagung des Arbeitskreises "Schädlinge in Getreide und Mais", Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft. Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt. Braunschweig,, pers. com. 16.02.2017.
- Lenth, R.; Singmann, H.; Love, J.; Buerkner, P.; Herve, M. (2019): CRAN Package emmeans. Comprehensive R Archive Network (CRAN). Online verfügbar unter https://cran.r-project.org/web/packages/emmeans/index.html, zuletzt aktualisiert am 24.04.2019, zuletzt geprüft am 25.04.2019.
- Lenz, M. (pers. com. 2016): Biologie und Auftreten von Virosen in Körnerleguminosen. Anbau-Sortenempfehlungen & Virusproblematik. Aktuelle Anbauinformationen zu Körnererbse und Ackerbohne. Landwirtschaftliches Zentrum Eichhof. Bad Hersfeld,, pers. com. 14.12.2016.
- Meyer, U. (1997): Growth stages of mono- and dicothyledonous plants BBCH-Monograph. Berlin, Oxford: Blackwell.
- Nutter, F.; van Rij, N.; Eggenberger, S. K.; Holah, N. (2010): Spatial and temporal dynamics of plant pathogens. In: E. C. Oerke, R. Gerhards, G. Menz und R. A. Sikora (Hg.): Precision crop protection—the challenge and use of heterogeneity. Dordrecht, Netherlands: Springer, S. 27–50.
- Pommersche, R.; Hansen, S. (2017): Examining root nodules activity on legumes. FIBL, NORSØK. Online im Internet. Online verfügbar unter https://www.fas.scot/downloads/fibltechnical-note-examining-root-nodule-activity-on-legumes/, zuletzt geprüft am [Stand: 27 8 2019].
- Sankaran, S.; Khot, L. R.; Espinoza,C.,Z.; Jarolmasjed, S.; Sathuvalli,V.,R.; Vandemark,G.,J. et al. (2015): Low-altitude, high-resolution aerial imaging systems for row and field crop phenotyping: A review. In: *European Journal of Agronomy* 70, S. 112–123. Online verfügbar unter doi.org/10.1016/j.eja.2015.07.004.
- Saucke, H.; Uteau, D.; brinkmann, K.; Ziebell, H. (2019): Symptomology and yield impact of pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV) in faba bean (*Vicia faba* L. minor). In: *European Journal of Plant Pathology* 153 (4), first online 12. Dec 2018. DOI: 10.1007/s10658-018-01643-5.
- Shearer, G.; Kohl, D. H. (1986): N 2 -Fixation in Field Settings. Estimations Based on Natural 15 N Abundance. In: *Aust J Plant Physio.* 13 (6), S. 699. DOI: 10.1071/PP9860699.
- Taylor, L. R. (1984): A handbook for aphid identification. Harpenden, England: Rothamsted Experimental Station (2).
- Teng, P. S. (1990): Crop loss assessment: a review of representative approaches and current technology. In: International Rice Research Institute (Hg.): Crop Loss Assessment in Rice. International Workshop on Crop Loss Assessment to Improve Pest Management in Rice and Rice-based Cropping Systems in South and Southeast Asia. IRRI, Manila, 11-17 October 1987. International Rice Research Institute. Manila, Philippines, S. 19–38.
- Thieme, T.; Heimbach, U. (1996): Bildschlüssel zur Bestimmung von Blattläusen an ackerbaulich genutzten Leguminosen. In: *Nachrichtenbl.Deut.Pflanzenschutzd.* 48 (8/9), S. 161–172.
- VDLUFA (1997): Methodenbuch III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Darmstadt: Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten e. V. (VDLUFA), VDLUFA-Verlag.

- Vetten, H. J.; Dale, J. L.; Grigoras, I.; Groenenborn, B.; Harding, R.; Randless, J. W. et al. (2012): Part II - Single stranded DNA Viruses. Family Nanoviridae. In: A.M.Q. King, M. J. Adams, E. B. Carstens und E. J. Lefkowitz (Hg.): Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Amsterdam: Elsevier, 395-404.
- Ziebell, H. (2016): Die Virussituation an Leguminosen im Jahr 2016. In: G. F. Backhaus, C. Büttner, F. Cramer, H. B. Deising, B. Märländer, F. Ordon et al. (Hg.): 60. Deutsche Pflanzenschutztagung. "Pflanzenschutz: Effizienz und Vielfalt". Halle/Saale, 20.-23. Sept. Julius Kühn-Institut Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen. Berlin: Arno Brynda GmbH, S. 285.
- Ziebell, H. (2017): Die Virusepidemie an Leguminosen 2016 eine Folge des Klimawandels? In: *Journal für Kulturpflanzen* 69 (2), S. 64–68.

11 Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen

<u>2020</u>

Seeger, J.N.; Berawe, A.; Ziebell, H.; Then, C.; Astor, T.; Böhm, H. Saucke, H. (2020): Sortenvergleich der Ackerbohne (*Vicia faba*) 'GL Sunrise' vs. 'Fuego' bezüglich des Nanovirus PNYDV. Praxis trifft Forschung: Ein Netzwerk für Erbsen und Bohnen, zoom online, 02.12.2020. <u>https://demoneterbo.agrarpraxisforschung.de/index.php?id=281</u>

DPG AK Treffen Schädlinge in Mais, Getreide und Leguminosen JKI Braunschweig

<u>Seeger, J.N.</u>; Ziebell, H.; Then, C.; Astor, T.; Böhm, H.; Saucke, H. (2020): Sortenunterschiede der Ackerbohne (*Vicia faba*) 'GL Sunrise' vs. 'Fuego' bezüglich des Nanovirus PNYDV.
DPG-Tagung des Arbeitskreis Schädlinge in Getreide, Mais und Leguminosen.
Braunschweig, 12.02.2020.

DemoNetErBo (Vorträge)

Seeger, J.N.; Berawe, A.; Ziebell, H.; Then, C.; Astor, T.; Böhm, H.; Saucke, H. (2019): Sortenvergleich der Ackerbohne (*Vicia faba*) 'GL Sunrise' vs. 'Fuego' bezüglich des Nanovirus PNYDV. Treffen des DemoNetzwerks Erbse/Bohne, online, 28.10.2020.

<u>2019</u>

Abschlussarbeiten Uni Kassel

- Braunmiller, V.; Hand, I. (2019): Auswirkungen von Pea necrotic yellow dwarf virus (PYNDV) und Pea enation mosaic virus (PEMV) auf die Nodulation, die Wuchsform und den Ertrag der Erbsen (*Pisum sativum*), sowie Untersuchungen zur Virusübertragung über die Pflanzenwurzel. Projektarbeit. Universität Kassel, FB11 Ökologische Agrarwissenschaften. Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz.
- Franke, L.; Bissinger, A.-M. (2019): Auswirkungen von Pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV) und Pea enation mosaic virus (PEMV) auf die Nodulation bei Ackerbohnen (*Vicia faba*). Projektarbeit. Universität Kassel, FB11 Ökologische Agrarwissenschaften. Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz
- Knopf, A. (2019): Einfluss des *Pea necrotic yellow dwarf virus* (PNYDV) auf die Nodulation der Ackerbohne (*Vicia faba*). Bachelorarbeit. Universität Kassel, FB11 Ökologische Agrarwissenschaften. Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz.
- Leonhardt, K. (2019): Phänologie von Blattläusen als Überträger von PNYDV (*Pea necrotic yellow dwarf virus*) in Ackerbohnen. Praktikumsbericht. Universität Kassel, FB11 Ökologische Agrarwissenschaften. Fachgebiet Ökologischer Pflanzenschutz.

Fachtagungen JKI

Ziebell, H. (2019): Monitoring von Leguminosenviren und deren Blattlausvektoren in Deutschland. 3. Nanoviren Plattform der Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES). Wien, Österreich, 15.02.2019.

- Ziebell, H. (2019): Leguminosenviren Status quo der Situation in Deutschland. Arbeitskreistreffen Viruskrankheiten der Pflanze der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V. (DPG). Göttingen, Deutschland, 26.03.2019.
- Ziebell, H. (2019): Nano goes viral legume-infecting nanoviruses as a novel threat in Central Europe. 1st International Molecular Plant Pathology Congress. Adana, Türkei, 10.04.2019.
- Ziebell, H. (2019): Nano goes viral legume-infecting nanoviruses as a novel threat in Central Europe. XI Annual meeting of Plant Virology and Plant-Pathogen Interaction. Guangzhou, China, 10.10.2019.
- Ziebell, H. (2019): Tomato brown rugose fruit virus and nanoviruses as novel threats to tomato and legume production. Institutskolloquium. Institute of Virology and Biotechnology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences. Hangzhou, China, 15.10.2019

<u>2018</u>

<u>Praktikertreffen-Witzenhausen – Projektvorstellung für die teilnehmenden Betriebe in</u> <u>Nordhessen:</u>

Seeger, J.N.; Ziebell, H.; Amari, K.; Böhm, H.; Saucke, H. (2018): *Neue Erkenntnisse zum Nanovirus PNYDV in Ackerbohne und Erbse*. Projektvorstellung für die teilnehmenden Betriebe in Nordhessen, Universität Kassel, Witzenhausen, den 14.02.2018.

DPG AK Treffen Schädlinge in Mais, Getreide und Leguminosen JKI Braunschweig

Seeger, J.N.; Ziebell, H.; Amari, K.; Böhm, H.; Saucke, H. (2018): *Neue Erkenntnisse zum Nanovirus PNYDV in Ackerbohnen und Erbse*. 28. DPG-Tagung des Arbeitskreis Schädlinge in Getreide, Mais und Leguminosen. Braunschweig, 21.02.2018.

61. Deutsche Pflanzenschutztagung Hohenheim 11.-14.09.2018

<u>Seeger, J.N.</u>; Ziebell, H.; Amari, K.; Then, C.; Möckel, T.; Grüner, E.; Sturm, B.; Nasirahmadi, A.;
Shrestha, L.; Böhm, H.; Saucke, H. (2018): *Neue Erkenntnisse zum Nanovirus Pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV) an Ackerbohne und Erbse*. 61. Deutsche Pflanzenschutztagung, Universität Hohenheim, Julius-Kühn-Archiv, 461: 159–160.

Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften GPW

 <u>Seeger, J.N.</u>; Ziebell, H.; Amari, K.; Then, C.; Möckel, T.; Grüner, E.; Sturm, B.; Nasirahmadi, A.;
Shrestha, L.; Böhm, H.; Saucke, H. (2018): *Charakterisierung der Symptomatik neuartiger Nanovirus-Infektionen (Pea necrotic yellow dwarf virus) in Körnerleguminosen mit Hilfe fernoptischer Methoden*. Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften 30: 61–62.

DemoNetErBo (Vorträge)

- Seeger, J.N.; Ziebell, H.; Amari, K.; Böhm, H.; Saucke, H. (2018): *Neue Erkenntnisse zum Nanovirus PNYDV in Ackerbohnen*. Treffen des DemoNetzwerks Erbse/Bohne, Kassel, den 31.01.2018.
- Saucke H.; Seeger, J.N.; Ziebell, H.; Amari, K.; Then, C.; Möckel, T.; Grüner, E.; Sturm, B.; Nasirahmadi, A.; Shrestha, L.; Böhm, H.; Riemer, N.; Clemenz, C.; Schwabe, K.; Müller, U.;

Schieler, M.; Kleinhenz, B. (2018): *Ergebnisstand Blattrandkäfer, Nanoviren, Erbsenwickler 2018.* Treffen der Verbundpartner und Projektberaterinnen und Projektberater im Projekt DemoNetErBo ein. LLH Kassel, Kölnische Str. 48–50, 27.11.2018.

Fachtagungen JKI

- Ziebell, H. (2018): Leguminosenviren Rückblick und Status quo der Situation in Deutschland. 61. Deutsche Pflanzenschutztagung. Stuttgart-Hohenheim, Deutschland, 11.09.2018.
- Ziebell, H. (2018): Leguminosenviren Rückblick und Status quo der Situation in Deutschland. Besprechung des Unterarbeitskreises Virologie des Arbeitskreises Qualitätsmanagement in der pflanzengesundheitlichen Diagnostik. Kassel, Deutschland, 22.11.2018.
- Ziebell, H. (2018): Leguminosenviren Rückblick und Status quo der Situation in Deutschland. : Sitzung "Proteinpflanzen" der Union zur Förderung von Oel- und Proteinpflanzen (UFOP). Berlin, Deutschland, 29.11.2018.