

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft



Projektträger Bundesanstalt
für Landwirtschaft und Ernährung

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Schlussbericht zum Thema “Präventive Anbauplanung im Umgang mit der Schädlingsgilde in Ackerbohnen und Erbsen zur Schadensvermeidung und Ertragssicherung (WP1)“

FKZ: 2815EPS023, 2815EPS070

**Projektnehmer: Universität Kassel
Julius Kühn-Institut**

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen der BMEL Eiweißpflanzenstrategie.

Abschlussbericht

BMEL - Eiweißpflanzenstrategie

Forschungsprojekt 2815EPS023, 2815EPS070

**„nano V/R: Neue Viruserkrankungen in Erbsen und Ackerbohnen:
Status quo-Analyse und Handlungsempfehlungen“**

als Weiterung im bestehenden Projektverbund

**„Präventive Anbauplanung im Umgang mit der Schädling Gilde
in Ackerbohnen und Erbsen zur Schadensvermeidung und
Ertragssicherung („WP1“)**

FKZ 2815EPS023, 2815EPS056, 2815EPS057

Ausführende Stellen:

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

JKI Braunschweig 15EPS070
Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik
Messeweg 11/12
38104 Braunschweig

Thünen-Institut für Ökologischen Landbau 15EPS070
Trenthorst 32
23847 Westerau

Projektlaufzeit:

20.04.2017- 31.12.2018

Kurzfassung

Das Projekt war mit Untersuchungen zum wirtschaftlichen Status der neuen Viruserkrankung PNYDV (*Pea necrotic yellow dwarf virus*) in Erbsen (*Pisum sativum* L.) und Ackerbohnen (*Vicia faba* L.) befasst. An drei Standorten der Projektpartner Universität Kassel-FÖP, JKI Braunschweig und TI-OL Trenthorst wurden ferndiagnostische Verfahren zur Früherkennung und Schadenserfassung auf Praxisflächen und im Parzellenversuch erprobt. Bei Ackerbohnen wurden die Reflektionsmuster einzelner infizierter Pflanzen im Vergleich zu unsymptomatischen Kontrollpflanzen vermessen. Erstere waren entweder im Gewächshaus mittels virusinfizierter Erbsenblattläuse (*Acyrtosiphon pisum*) entweder PNYDV-, PEMV- (*Pea enation mosaic virus*), bzw. mischinfiziert, oder aus dem Kern natürlicher Infektionsnester. Hyper- und multispektrale Bildauswertungen früh PNYDV-infizierter Ackerbohnen ergaben gegenüber der Kontrolle Reflektionsunterschiede im sichtbaren und insbesondere im Nahinfrarotbereich. Erste Vegetationsindex-Berechnungen, wie GNDVI, ließen sich mit Ernteverlusten auf Praxisflächen schwach, aber signifikant korrelieren. Die Ergebnislage aller analogen Versuche zur fernoptischen Symptomerfassung mit Erbsen war insgesamt weniger konsistent. Das Gelbschalen-Monitoring zur Vektor-Phänologie und PNYDV-Virusfracht ergab für die in 5 Untergruppen eingeteilten Fänge von Erbsen-, Wicken- (*Megoura viciae*), Pflirschblattlaus (*Myzus persicae*), *Aphis*-sp.-Gruppe, und Sonstige, in allen Gruppen PNYDV-Nachweise, bis auf *M. viciae*, jedoch mit erheblichen Schwankungen und ohne erkennbares Muster. Die Punktinfektions-Methode lieferte reproduzierbare Primärinfektionen in Ackerbohnen und teilweise auch in Erbsen. Beide Ackerbohnen Sorten 'Fuego' und 'GL-Sunrise' erwiesen sich als PNYDV und PEMV anfällig. Aber nur bei 'Fuego' ließ sich nach 7 Wochen sekundäre PNYDV-Ausbreitung auf Nachbarpflanzen bestätigen, während die sekundäre Ausbreitung bei 'GL-Sunrise' gänzlich fehlte, was auf mögliche epidemiologische Sortenunterschiede bezüglich PNYDV hinweist. Im Gegensatz dazu, trat PEMV-Sekundärverbreitung bei beiden Sorten, sowohl rein- als auch mischinfiziert, auf. Insgesamt führten PNYDV-Einflüsse in Rein- und Mischinfektion zu signifikant geminderter Bildung intakter Wurzelknöllchen und geringerer Ertragsbildung in allen Gewächshaus- und Feldexperimenten sowie den on-farm Erhebungen in Ackerbohnen 2018. Alle genannten Aspekte sind weiter Untersuchungsgegenstand einer Projektverlängerung in 2019 und finden innerhalb des BÖLN (12OE012, 12OE035) statt.

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 and 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* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.). Three partner institutions, namely University Kassel-FÖP, JKI Braunschweig and TI-OL Trenthorst, employed UAV-remote sensing techniques to detect PNYDV-incidence by analyzing reflection patterns of symptomatic PNYDV-fields and experimental plots. In the latter, single infector-plants were inoculated by viruliferous pea aphids (*Acyrtosiphon pisum*) carrying either PNYDV or PEMV- (*Pea enation mosaic virus*). The sole and mixed PNYDV-/PEMV infected plants were arranged in a randomized 6 m x 6m grid embedded in faba bean and pea sites. In faba bean, hyper- and multispectral imagery of early PNYDV infections revealed differing reflection patterns in comparison to non-infected controls within the visible as well as the near infrared spectrum. Based on these data, calculated vegetation indices like GNDVI correlated with yield loss data at on-farm sites 2018, offering some potential for aerial assessments. For field pea however, results of analogous field inoculations and remote symptom-detection were less consistent in all trials. Yellow pan trap vector monitoring divided catches into 5 subgroups as pea-, vetch aphid (*Megoura viciae*), *Aphis*-sp. group, *Myzus persicae* and others, showing PNYDV-detections in all groups, except for *M. viciae*. However, fluctuating virus loads were without consistent patterns. Field inoculations achieved reproducible primary infections in faba bean and partially in pea. Both faba bean varieties 'Fuego' and 'GL-Sunrise' turned out to be susceptible to PNYDV and PEMV. However, 7 weeks after inoculation, secondary virus spread of PNYDV to neighboring plants was confirmed in 'Fuego' only. The absence of any secondary spread in 'GL-Sunrise' is probably an indication for differing epidemiological traits towards PNYDV. In contrast, secondary virus spread for sole and mixed infected PEMV occurred in both varieties. Significantly distorted root nodule formation as well as declining yield parameters in general, were consistently associated with PNYDV sole- and mixed infections in all greenhouse- and field experiments in faba bean and pea and on-farm surveys 2018 in faba bean. All research aspects are subject to a further investigation period in 2019 within the BÖLN program.

Contact:

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

hsaucke@uni-kassel.de

Inhalt

1	Einführung.....	9
1.1	Gegenstand des Vorhabens.....	9
1.2	Ziele und Aufgabenstellungen des Projektes	9
1.3	Bezug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen (z.B. Förderprogramm).....	10
2	Wissenschaftlicher und technischer Stand	10
3	Material und Methoden.....	12
3.1	Versuchsaufbau Virus-Infektionen.....	12
3.2	Vektorphänologie	12
3.3	PNYDV-virus-Monitoring auf Praxisflächen 2017	14
3.4	Gewächshausversuch zur Nodulation an Ackerbohne und Erbse, 2017	14
3.5	Feldversuch zur Symptomatik an Ackerbohne, Uni-KS, 2017	15
3.6	PNYDV-Monitoring auf Praxisflächen 2018	16
3.7	Feldversuch zur Nodulation an Ackerbohne, Uni-KS, 2018.....	17
3.8	Feldversuch für hyperspektrale Aufnahmen, 2018	17
3.9	Gewächshausversuch für hyperspektrale Aufnahmen, 2018	18
3.10	Feldversuch zur Symptomatik an Ackerbohne, Uni-KS, 2018	18
3.11	Feldversuch zur Symptomatik an Erbse, JKI-BS, 2018	19
3.12	Virusanalytik.....	21
3.13	Statistische Auswertungen	21
4	Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse.....	23
4.1	Vektorphänologie	23
4.2	PNYDV-Monitoring 2017, 2018	24
4.3	Infektions-Wiederfunde und -Ausbreitung in Feldversuchen	25
4.4	Nodulation.....	28
4.5	Hyperspektrale Fernoptik	30
4.6	Multispektrale Fernoptik.....	31
4.7	Ertragsparameter	34

4.8	Korrelation Fernoptik und Ertrag	36
4.9	Synopse	36
5	Diskussion der Ergebnisse.....	38
5.1	Vektorphänologie und PNYDV-Monitoring	38
5.2	Infektions-Nachweise und -Ausbreitung in Feldversuchen	39
5.3	Nodulation.....	41
5.4	Hyperspektrale Fernoptik	42
5.5	Multispektrale Fernoptik.....	43
5.6	Ertragsparameter	44
5.7	Frühdiagnostik	44
6	Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse	46
7	Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen	46
8	Literaturverzeichnis	48
9	Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen	51

Abkürzungen:

Forschungsprojekte:

nanoVIR	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
CYDNIGPRO	Entwicklung eines computergestützten Entscheidungshilfemodells zur Prävention von Erbsenwicklerschäden in Körnerleguminosen

Standorte:

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

Virus-Varianten:

PEMV	<i>Pea enation mosaic virus</i>
PNYDV	<i>Pea necrotic yellow dwarf virus</i>
MIX1	Mischinfektion aus PEMV und PNYDV, inokuliert mit je fünf Blattläusen
MIX2	Mischinfektion aus PEMV und PNYDV, inokuliert mit je zehn Blattläusen

Versuchsaufbau:

t1 – t3	erster bis dritter Bonitur-Zeitpunkt
TP1 – 4	erster bis vierter Transektpunkt

Analytische Verfahren:

TKG	Tausendkorngewicht
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
RT-PCR	Reverse-Transkriptase-PCR
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
DAS-ELISA	Double-Antibody-Sandwich-ELISA
TAS-ELISA	Triple-Antibody-Sandwich-ELISA

Fernoptische Begriffe:

NIR	nahinfraroter Wellenlängenbereich
CI	Chlorophyll Index
GNDVI	Green Normalized Difference Vegetationindex

Abbildungsverzeichnis:

Abbildung 1: eine von drei Gelbschalen für Blattlaus-Fänge; (Neu-Eichenberg, 2017).....	13
Abbildung 2: Inokulation der Ackerbohnen mit dem Vektor <i>Acyrtosiphon pisum</i> im Nylonstoff; (Neu-Eichenberg, 2017).....	15
Abbildung 3: Vektorphänologie 2017 : A) Besiedlungsverlauf (als Anteil blattlausbefallener Pflanzen in %) in Uni-KS; sowie Anzahl Blattläuse pro Gelbschale in B) Uni-KS; C) JKI-BS; D) TI-OL.	23
Abbildung 4: Vektorphänologie 2018 : A) Besiedlungsverlauf (als Anteil blattlausbefallener Pflanzen in %) in Uni-KS; sowie Anzahl Blattläuse pro Gelbschale in B) Uni-KS; C) JKI-BS; D) TI-OL.	24
Abbildung 5: Drei Ackerbohnen-Varianten: ‘Fuego’ früh in BBCH 13 inokuliert, ‘Fuego’ spät in BBCH 59, 6.5 Wochen später inokuliert, ‘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 $\frac{1}{4}$ m ² zur Ernte; Uni-KS 2018.	27
Abbildung 6: mittlere Knöllchenmasse des Gewächshausversuchs 2017, an A) Erbse, B) Ackerbohne; Fehlerbalken \triangleq Standardabweichung, (n = 8).....	28
Abbildung 7: mittlerer Knöllchen-Inhalt des Gewächshausversuchs 2017, an A) Erbse, B) Ackerbohne.....	28
Abbildung 8: mittlere Verfassung der Knöllchen der Praxisflächen 2018.	29
Abbildung 9: Mittlere Luftstickstoffanteile als DELTA Luft (‰) der Bereiche Kern, Rand und Referenz von PNYDV-Nestern an Ackerbohne ‘Fuego’ auf Praxisflächen; Fehlerbalken \triangleq Standardfehler (berechnet mit emmeans), (n = 51).....	30
Abbildung 10: mittlere relative Reflektion von Fiederblättchen der Ackerbohne <i>Vicia faba</i> ‘Fuego’, nach Mischinfektion (PNYDV+PEMV), Infektion mit PNYDV sowie ohne Infektion; Aufnahme mit festinstallierter Specim Hyperspektralkamera, 2017; Fehlerbalken \triangleq Standardabweichung, (n = 18).	31
Abbildung 11: mittlere relative Reflektion von Fiederblättchen der Ackerbohne <i>Vicia faba</i> ‘Fuego’, nach Mischinfektion (PNYDV+PEMV), Infektion mit PNYDV und PEMV, sowie nach Blattlausbesatz ohne Virusfracht (Kontrolle 1) und ohne Blattlausbesatz (Kontrolle 2); Aufnahme mit mobiler Specim IQ Hyperspektralkamera, 2018; Fehlerbalken \triangleq Standardabweichung, (n = 40).	31
Abbildung 12: 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 13 näher betrachtete PNYDV-Nest.	32
Abbildung 13: PNYDV-symptomatisches Nest in Ackerbohne ‘Fuego’, BBCH 75, am 07.07.2018.	32
Abbildung 14: mittlere relative Reflektion der 0,25 m ² -Ausschnitte von multispektralen Aufnahmen der Praxisflächen mit Ackerbohne, 2018, differenziert in Kern und Referenz von PNYDV-symptomatischen Nestern.	33
Abbildung 15: GNDVY (Green Normalized Difference Vegetationindex) der Ackerbohne ‘Fuego’, BBCH 75, am 07.07.2018, mit 0,25 m ² Quadraten von Kern, Rand und Referenz jeweils 1,5 m voneinander entfernt, (n = 51).	33

Abbildung 16: mittlerer Kornertrag pro Pflanze (g) von PNYDV-infizierten Pflanzen und Kontrolle aus dem Gewächshausversuch 2017, an A) Erbse, B) Ackerbohne; Fehlerbalken $\hat{=}$ positiver Standardabweichung, (n = 8)..... 34

Abbildung 17: mittlerer Kornertrag pro Pflanze (g) des Feldversuchs 2017 an Ackerbohne der verschiedenen Infektionsvarianten sowie der jeweiligen Umgebungspflanzen; Fehlerbalken $\hat{=}$ Standardabweichung, (n = 25). 35

Abbildung 18: 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 $\hat{=}$ Standardfehler (berechnet mit emmeans), (n = 51). 35

Abbildung 19: Korrelation nach Spearman von GNDV gegen Kornertrag (g) der on-farm-Untersuchung, 2018, (n = 51)..... 36

Tabellensverzeichnis:

Tabelle 1: Übersicht über die angestellten Versuche und Monitorings in den Jahren 2017 und 2018. D & F Versuche zur Nodulation; B-E & G-L: mittels multispektraler UAV-Kamera durchgeführte Untersuchungen.... 20

Tabelle 2: Ergebnisse des ELISA-Tests auf PNYDV und PEMV von Pflanzenproben (Ackerbohne) aus PNYDV-symptomatischen Nestern, entlang eines Transektivom Kern nach außen mit Beprobungsabstand von 1,5 m. 25

Tabelle 3: Punktinfektion (Uni-KS, 2017) mit verschiedenen Virus-Varianten; Blattproben von i) der inokulierten Pflanze (s0), sowie ii) in 50 cm Entfernung (s50); Code: - = kein Nachweis, + = Nachweis, o = uneindeutiges Ergebnis. 26

Tabelle 4: Übersicht der Ergebnisse des Einflusses von PNYDV auf Nodulation, N-Gehalte und Ertrag sowie dessen multispektrale Detektion durch Vegetationsindices; ↓: signifikanter, bzw. bezogen auf Knöllchenaktivität deutlicher negativer Einfluss; (-): kein signifikanter Einfluss; n.a.: nicht auswertbar; *: signifikanter Unterschied der Vegetationsindices. 37

1 Einführung

1.1 Gegenstand des Vorhabens

Das Projekt nanoVIR befasste sich mit einer neuen Viruserkrankung PNYDV (*Pea necrotic yellow dwarf virus*) in Ackerbohnen und Erbsen und sollte bestehende Wissensdefizite zum Infektions- und 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 vorliegende Projekt wurde für eine weitere Feldsaison 2019 ins BÖLN-Projekt überführt. Der vorliegende Bericht umfasst die Ergebnislage der BMEL Eiweißpflanzenstrategie-Förderphase 2017-2018.

1.2 Ziele und Aufgabenstellungen des Projektes

Da für ein Praxismonitoring visuell erkennbare Schadsymptome eine unabdingbare Voraussetzung darstellen und die Ausprägung von Viruserkrankungen erfahrungsgemäß von Jahr zu Jahr sehr stark schwanken kann, wurden zusätzlich Parzellenversuche mit künstlich infizierten Pflanzen auf Versuchsflächen im Freiland und parallel zum ersten Probelauf 2017 analoge Infektionsvarianten auch im Gewächshaus zur weiteren Absicherung angelegt.

Das Projekt gliederte sich dementsprechend in drei Teilziele:

- **Teilziel 1:** Die Weiterentwicklung der Methodik zur Luftbildauswertung an Standorten in Nordhessen, Niedersachsen und Schleswig-Holsteins zur Virus-Präsenz, Schadfläche und Ertragsparametern (Uni-KS, JKI-BS, TI-OL).
- **Teilziel 2:** Begleitende Erhebungen zur Vektorphänologie an je einem Versuchsstandort Nordhessens (Uni-Kassel, Neu-Eichenberg), Niedersachsens (JKI-BS, Sickte) und Schleswig-Holsteins (TI-OL, Trenthorst) als kontinuierliches Gelbschalenmonitoring und

Blattlausbesiedelung in ökologisch geführten Versuchsflächen, sowie die Auswertung der Blattläusfänge auf mögliche Virusfracht.

- **Teilziel 3:** Am Standort Uni-Kassel sollten die Möglichkeiten einer fernoptischen Detektion mit dem Fernziel der Frühdiagnose, differenziert nach PNYDV, PEMV und PNYDV/PEMV-Mischinfektion zunächst für Ackerbohnen erprobt und entwickelt werden, als zusätzliches Werkzeug für Warndienste und Entscheidungshilfe für die Anbaupraxis. Die Methodik soll als Fernziel auch auf Erbsen übertragbar sein.

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

Da zwei Zielkulturen der BMEL-Eiweißpflanzenstrategie von der PNYDV-Epidemie in 2016 betroffen waren, sollte bestehendem Untersuchungsbedarf zum wirtschaftlichen Status und der Eruiierung ferndiagnostischer Verfahren zur Früherkennung und Schadenserfassung nachgegangen werden. Weiterhin waren grundsätzliche Kenntnislücken für den phytomedizinischen Umgang für Forschung, Beratung und Praxis zu schließen, 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 <http://www.bundesprogramm.de/forschungsmanagement/programm-des-bmelv/> *„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)“*.

2 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 wird auch PNYDV persistent übertragen, wobei leguminosenbesiedelnde Blattläuse als Vektoren angegeben werden (Vetten

et al. 2012). Der Lebenszyklus ist bisher unverstanden, insbesondere welche Winterwirtspflanzen als Grüne Brücke fungieren könnten. Als begünstigend für PNYDV-Epidemien in Deutschland werden biotisch-/abiotische Rahmenbedingungen für wahrscheinlich gehalten. Diskutiert werden häufigere Abfolgen milder Winter, 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 neuer Viruserkrankungen in Erbsen- und Ackerbohnen einzuschätzen war. Auch wurden mögliche abträgliche Auswirkungen auf die generelle Akzeptanz von Erbsen/Bohnen als anbauwürdige Greening-Option diskutiert.

Aufgrund der ungleichmäßigen, nesterweisen Verteilung der PNYDV-Schadsymptome in der Fläche, stellen fernoptische Erfassungsmethoden einen grundsätzlich gangbaren Weg dar, auch die Ertragswirksamkeit von PNYDV auf Praxisflächen abzuschätzen (Teng 1990; Jones 2004; Nutter et al. 2010; Sankaran et al. 2015). In einem ersten Probelauf wurden 2016 praxisübliche Digitalbilder mittels Drohne in Kombination mit Erntestichproben in Schadnestern versus Referenzbereichen und entsprechender Virusdiagnostik ausgewertet (Saucke et al. 2018). Gleichzeitig waren auch die etablierten Virose in Ackerbohnen zu berücksichtigen, insbesondere das verbreitete PEMV (*Pea enation mosaik virus*), das von den gleichen Vektoren wie PNYDV übertragen werden kann und sich in Rein- und Mischinfektion mit PNYDV-Einflüssen hinsichtlich Symptom- und Ertragswirkungen überlagern kann. Die dafür benötigten diagnostischen Vorarbeiten, PNYDV in Abgrenzung von verwandten und vergesellschafteten Pflanzenviren nachzuweisen, sind von Abraham et al. (2012a) und Grigoras et al. (2014) und Gaafar et al. (2017) entwickelt und nutzbar geworden.

3 Material und Methoden

PNYDV-Infektionen wurden in den Jahren 2017 und 2018 an Ackerbohne (*Vicia faba* L.) und Erbse (*Pisum sativum* L.) untersucht. Es wurden Gewächshaus- und Feldversuche mit kontrolliert gesetzten PNYDV-Infektionen sowie on-farm Untersuchungen als Praxismonitoring an drei Standorten durchgeführt:

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

3.1 Versuchsaufbau Virus-Infektionen

In Gewächshaus und Feld wurden Infektionsversuche angestellt, die durchgehend die Grüne Erbsenblattlaus (*Acyrtosiphon pisum*) als Vektor einsetzten und vom JKI-BS mit jeweils definierter Virusfracht bereitgestellt wurden. Die Vermehrung der Blattläuse erfolgte im Forschungsgewächshaus der Uni-KS an der praxisüblichen Ackerbohnesorte 'Fuego'. Es wurden je zwei vorgekeimte Bohnen pro Topf gesät. Jede Woche fanden neue Aussaaten statt. Das Substrat bestand zu drei Teilen aus handelsüblicher Nullerde, einem Teil Ackerboden (aus einer Ackerbohnen-Fruchtfolge) und einem Teil Sand. Die Pflanzen wuchsen zunächst bei geringen Temperaturen zwischen 8-16°C. Vier Wochen nach der Saat wurden die jungen Ackerbohnen mit den Vektoren des JKI-BS besetzt und in Chrispac-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 wurden 7 Tage Saugtätigkeit angesetzt. Die Infektionsversuche 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)

3.2 Vektorphänologie

In den zwei Versuchsjahren wurde an allen drei Standorten der Blattlaufflug mit praxisüblichen Gelbschalen (Syngenta Agro GmbH) überwacht. Es wurden jeweils drei Gelbschalen

(Außenmaße: L 33,5 x B 26 x T 7 cm) in einem Dreieck mit 1,5 m Abstand zueinander auf umgekehrte schwarze Anzuchtschalen gestellt. 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, zur Herabsetzung der Oberflächenspannung, befüllt. Zweimal die Woche wurden sie geleert.



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

Die Gelbschalenfänge wurden wöchentlich ausgewertet. Dazu wurden die Blattläuse unter dem Binokular in fünf Gruppen sortiert:

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

Von diesen Gruppen wurden wöchentlich Virusanalysen zur Detektion auf mögliche Virusfracht durchgeführt (s.u. Pkt. 3.12).

Am Standort Uni-KS wurde daneben der Besiedlungsverlauf in Ackerbohnenbeständen ermittelt. 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); Arbeitskreis „Schädlinge in Getreide, Mais & Leguminosen“ der DPG (Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e.V.) angepasst. An fünf unterschiedlichen Stellen auf einem Schlag wurden an jeweils fünf Pflanzen Klopfproben durchgeführt.

3.3 PNYDV-virus-Monitoring auf Praxisflächen 2017

An den drei Standorten Uni-KS, JKI-BS und TI-OL wurden Erbsen- und Ackerbohnenbestände auf Nanovieren hin untersucht (Tabelle 1: A-C). Repräsentative Schläge mit PNYDV-Verdacht wurden zunächst mittels UAV (unmanned aerial vehicle) multispektral fotografiert. Die multispektralen UAV-Aufnahmen und deren Prozessierung wurden von der Firma Luftfotos24 durchgeführt. Die Befliegung erfolgte mit der Drohne Phantom 3 bzw. mit einem selbstgebauten Modellflugzeug. Die Fotos wurden mit der Parrot Sequoia Multispektralkamera aufgenommen und mit dem Programm PIX4D prozessiert.

Anschließend wurden die Schläge begangen, um explizit nach PNYDV-symptomatischen Pflanzen zu suchen, welche dann mittels ELISA getestet wurden (s.u. Pkt. 3.12). Es wurden keine auffälligen Nester, sondern nur Einzelpflanzen gefunden. Von diesen wurden Ertragsproben genommen. Es wurden 5 Erbsen- und 11 Ackerbohnenflächen, darunter 18 Beprobungspunkte von Erbse und 34 von Ackerbohne untersucht.

3.4 Gewächshausversuch zur Nodulation an Ackerbohne und Erbse, 2017

An Erbse, *Pisum sativum*, und Ackerbohne, *Vicia faba*, wurde der Einfluss von PNYDV und PEMV auf die Nodulation untersucht, welche nach ersten Beratermeldungen aus der Anbaupraxis unter PNYDV-Einfluss beeinträchtigt sei (Tabelle 1: D) (Lenz, pers. com. 2016). Für jede der vier Varianten (s. Pkt.3.1) 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 Crispac-Bags verschlossen. Eine Woche nach Inokulation wurden die Blattläuse mit Naturpyrethrum („Schädlingsfrei CAREO Konzentrat“ (10 ml/ l) als Tropfnaßspritzung) abgetötet und die Crispac-Bags entfernt. Um die Befruchtung der Ackerbohnen zu gewährleisten, wurden die Blüten händisch mit Pinsel bestäubt. Knöllchenbonituren fanden als erste Bonitur zu Beginn der Blütenbildung, sechs (Ackerbohne) bzw. sieben (Erbse) Wochen nach Inokulation, die zweite während der Fruchtbildung, neun Wochen nach Inokulation als gepoolte Proben pro Topf statt. Es wurde jeweils die Sprosslänge gemessen und die vorsichtig von Erde und Wurzeln befreiten Knöllchen wurden mit Wasser gereinigt und gezählt. Anschließend wurde das Trockengewicht (2 Tage bei 105°C) ermittelt. Bei der 2. Knöllchenbonitur wurden die frischen, 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 Färbung des Inhalts wurde als rot-, rosa- und weiß beurteilt. 17 Wochen (Erbse) bzw. 23 Wochen (Ackerbohne) nach der Aussaat erfolgten die Ertragserhebungen als Anzahl der Hülsen, Anzahl und Trockengewicht (5 Tage bei 105°C) der Körner.

Zwischenzeitlich, am 06.07.2017, sechs Wochen nach der Inokulation, wurden hyperspektrale Aufnahmen einzelner Fiederblättchen gemacht. Je Infektionsvariante wurden sechs Fiederblättchen ausgewählt und mit einer festinstallierten Specim Hyperspektralkamera gescannt. Dieses Kamerasystem erstellt über die Fläche integrierte Aufnahmen, so dass sich pro Blättchen ein gemittelttes Spektrum im Wellenlängenbereich von 400 bis 1000 nm ergab.

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

Zur Untersuchung der für PNYDV-typischen nestartigen Virusausbreitung im Bestand wurde ein Punktinfektionsversuch auf den Versuchsflächen der Universität Kassel in Neu-Eichenberg angelegt und mit multispektralen Drohnen-Aufnahmen fernoptisch begleitet (Tabelle 1: E). 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 unter Punkt 3.1 genannten Varianten 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. Um die Sprossspitzen wurden vorsichtig Nylonstoffe gebunden, in welche die Blattläuse gesetzt wurden (Abbildung 2). Drei Tage nach der Inokulation wurden die Nylonstoffe entfernt.



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

Zu drei Terminen (14.06., 13.07. und 09.08.2017) wurden multispektrale Luft-Aufnahmen, wie unter Punkt 3.3 beschrieben, erstellt. Am 12.08.2017 wurden die Erntepflanzen genommen. Da sich keine Virusnester entwickelt hatten, wurde anstatt der Beprobung entlang von Transektpunkten eine andere Methode entwickelt. Jeder Beprobungspunkt wurde in drei Chargen untergliedert: i) direkt inokulierte Pflanze und symptomatische Nachbarn, ii) deren 0,25

m²-Umgebung und iii) 0,25 m² Referenz in 1 m Entfernung. Erhoben wurden, Anzahl Pflanzen, Sprosslänge, Anzahl Hülsen, Anzahl, Trockengewicht (5 Tage 80°C) und Stickstoffgehalt der Körner, letzterer Wert wurde auch zur Bestimmung des Rohproteingehalts verwendet.

3.6 PNYDV-Monitoring auf Praxisflächen 2018

Wie im Jahr zuvor wurden Praxisflächen gezielt nach PNYDV-Symptomen überwacht (Tabelle 1: F-H). Da die Erbsen, auf Grund der extrem trockenen Verhältnisse in diesem Jahr sehr früh abreifen und sich flächendeckend und einheitlich ohne Symptomausprägung notreif umfärbten, konnten hier keine Erhebungen mehr gemacht werden. Hingegen wurden multispektrale Aufnahmen von 6 Ackerbohnen-Schlägen sowie dem Landessortenversuch für Ackerbohne Versuchsgut Domäne Frankenhausen der Uni-KS erstellt.

Die 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.

Es wurden 24 PNYDV-symptomatische Nester (20 Uni-KS, 4 TI-OL) auf Virusgehalt und Ertragsparameter bonitiert. Diese wurden in drei Kategorien: Kern, Rand und Referenz eingeteilt. Hierzu wurden Beprobungspunkte entlang eines Transektes vom Mittelpunkt des Nestes nach außen hin gewählt, die jeweils im Abstand von 1,5 m zueinander lagen. War der dritte Punkt, der die Referenz repräsentiert ebenfalls symptomatisch, wurde weitere 1,5 m in Transekt-Richtung ein weiterer Punkt beprobt. Von den Beprobungspunkte wurden die GPS-Daten aufgenommen. Jeweils zum Zeitpunkt der Luftbildaufnahmen wurden Blattproben zur Virusdiagnostik gesammelt. Zum Erntezeitpunkt wurden Quadrate von 0,25 m² um den Beprobungspunkt gelegt und alle enthaltenen Pflanzen geerntet. Es wurden Sprosslänge, Anzahl von Hülsen und Körnern, sowie die Trockenmasse (5 Tage bei 80°C) und Stickstoffgehalt der Körner bestimmt.

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

Zudem wurde die Nodulation an PNYDV-symptomatischen Nestern von Praxis-Flächen in Nordhessen untersucht (Tabelle 1: F). Es wurden fünf Nester von drei Schlägen im BBCH

Makrostadium 7 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 ^{14}N ^{15}N -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 ^{14}N zu ^{15}N untersucht. Die Wurzeln wurden vorsichtig von Erde befreit und gewaschen. Um ein einheitliches Bild ohne Fremdwurzeln zu erlangen, wurden die Seitenwurzeln bis auf 1 cm von der Pfahlwurzel abgeschnitten. Alle Knöllchen wurden abgezupft, gezählt und die Größe bestimmt. Jeweils 50 zufällig gewählte Knöllchen wurden mit einem Skalpell aufgeschnitten um die Inhaltsfarbe folgenden Kategorien zuzuordnen: i) $\leq 2\text{mm}$, ii) Inhalt weiß, iii) Inhalt rosa, iv) Inhalt rot, v) Inhalt grün, vi) Inhalt braun, vii) offen.

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

Zur Untersuchung der Einflüsse von PNYDV und PEMV auf die Nodulation (Knöllchenbildung) der Ackerbohnsorten 'Fuego' und 'Sunrise' wurde ein Punktinfektionsversuch im Feld auf den Versuchsflächen der Universität Kassel in Neu-Eichenberg angelegt (Tabelle 1: I). Die Aussaat der Sorten 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. Pkt.3.1.) erfolgten mit vier Wiederholungen voll randomisiert in jeweils 6 m Abständen, 6,5 Wochen nach der Aussaat (BBCH 59). Das Aufsetzen der Vektoren geschah analog der Vorgehensweise in den Feldversuchen I und K (s. Pkt. 3.5). An jedem Infektionspunkt wurden zwei Pflanzen inokuliert, eine zur destruktiven Entnahme für die Knöllchenbonitur und eine reife 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 3.6 bonitiert. Das Verhältnis abgestorbener und geschädigter, versus intakte Knöllchen wurden ebenfalls festgehalten.

3.8 Feldversuch für hyperspektrale Aufnahmen, 2018

Um eine Zeitreihe hyperspektraler Aufnahmen von Feldpflanzen zu erhalten, wurde auf den Versuchsflächen der Universität Kassel in Neu-Eichenberg ein Punktinfektionsversuch an Ackerbohne 'Fuego' angelegt (Tabelle 1: J). Fünf Wochen nach der Aussaat wurde in den vier

genannten Varianten (s. Pkt.3.1.) mit vier Wiederholungen, in Parzellen mit jeweils sechs Pflanzen mit Parzellen-Abstand von 6 m inokuliert. Die Inokulation erfolgte analog dem Feldversuch 2017 (Pkt. 3.5). Ab der ersten Woche nach der Inokulation wurden wöchentlich, zu fünf Terminen Aufnahmen gemacht. Hierzu wurde je eine Pflanze der vier Wiederholungen der vier Varianten ausgegraben, um die Blätter auf dem Weg ins Labor frisch zu erhalten. Es wurden wie unter Punkt 3.4 beschrieben, hyperspektrale Aufnahmen von je zwei einzelnen Fiederblättchen pro Pflanze gemacht.

3.9 Gewächshausversuch für hyperspektrale Aufnahmen, 2018

Im Spätsommer 2018 ergab sich die Möglichkeit die Hyperspektralkamera „Specim IQ“ des Herstellers Specim Spectral Imaging Ltd. auszuleihen (Tabelle 1: K). Es handelt sich hierbei um eine portable Kamera, die auch im Feld eingesetzt werden kann. Sie nimmt elektromagnetische Strahlung im visuellen und nahinfraroten Bereich von 400-1000 nm Wellenlänge, mit einer spektralen Auflösung von 7 nm, auf. Die Spektren werden nicht über die Fläche integriert, sondern sind für jedes der insgesamt 512 Pixel pro Aufnahme abrufbar.

Zur Untersuchung wurden am JKI-BS Ackerbohnenpflanzen in den oben genannten Varianten (plus eine Variante ohne Blattlausbesatz als zweite Kontrolle) infiziert und bereitgestellt. Von diesen wurden einen Monat nach der Infektion hyperspektrale Aufnahmen unter Sonnenlicht gemacht. Für die weitere Auswertung, wurden je Aufnahme 8 Pixel von Blättern gewählt, die weder im Schatten lagen, noch besonders stark das Sonnenlicht reflektierten.

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

2018 wurde ebenfalls ein Punktinfektionsversuch für multispektale Erhebungen auf den Versuchsflächen der Universität Kassel in Neu-Eichenberg angelegt (Tabelle 1: L). Der Versuch an Ackerbohne bestand aus einer Streifenanlage mit je zwei Streifen 'Fuego' und einem Streifen '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 (s. Pkt. 3.1) mit fünf Wiederholungen voll randomisiert in jeweils 6 m Abständen inokuliert. Je Virusfracht wurden zehn Blattläuse auf die Pflanzen gesetzt und für drei Tage mit Nylonstoff an Ort und Stelle gehalten. Die frühe Infektion von 'Fuego' und '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 multispektale Aufnahmen wie unter Punkt 3.6 beschrieben, erstellt. Am selben bis spätestens zwei Tage nach der Befliegung wurden

Blattproben zur Virusanalyse (s. Pkt. 3.12) 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 infizierte 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.

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

Am JKI-BS wurde 2018 ein Punktinfektionsversuch für multispektrale Aufnahmen an Erbse auf den Versuchsflächen in Ahlum durchgeführt (Tabelle 1: M). 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 (s. Pkt.3.1) mit vier Wiederholungen inokuliert. Die Blattläuse wurden für eine Woche in Crispac-Bags auf den Pflanzen (BBCH 15) gehalten und mit Spruzit entfernt. Da bei Abnahme der Crispac-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 3.6 erstellt und anschließend wurden Blattproben zur Virusanalyse (s. Pkt. 3.12) genommen (Pflanzen BBCH 67). Zum Erntezeitpunkt wurden die Ertragsparameter Anzahl Pflanzen, Sprosslänge, Anzahl Hülsen, Anzahl und Trockengewicht (5 Tage 80°C) der Körner erhoben.

Tabelle 1: Übersicht über die angestellten Versuche und Monitorings in den Jahren 2017 und 2018. D & F Versuche zur Nodulation; B-E & G-L: mittels multispektraler UAV-Kamera durchgeführte Untersuchungen.

Jahr	ID	Untersuchung	Standort	Pflanze	Sorte	Erhebung	Anzahl Flächen	Anzahl Flüge
2017	A	Monitoring	Uni-KS, Nordhessen	Ackerbohne, Erbse	verschiedene	multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen	13	3
	B	Monitoring	JKI-BS	Ackerbohne, Gemüseerbse	‘Rainer’ & ‘Ambassador’	multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen	2	2
	C	Monitoring	TI-OL	Gemüseerbse		multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen	1	1
	D	Gewächshausversuch	Uni-KS	Ackerbohne, Erbse	‘Fuego’ & ‘Alvesta’	Ertrag, Nodulation hyperspektrale Aufnahmen	-	-
	E	Punktinfektionsversuch	Uni-KS	Ackerbohne	‘Fuego’	Ertrag, multispektrale UAV-Aufnahmen	1	3
2018	F	Monitoring	Uni-KS, Nordhessen	Ackerbohne	‘Fuego’	Ertrag, Nodulation multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen	5	2
	G	Monitoring	TI-OL	Ackerbohne	‘Fuego’	Ertrag, multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen	1	1
	H	Monitoring	Uni-KS, Frankenhausen	Ackerbohne	LSV	multispektrale UAV-Aufnahmen, PNYDV-Vorkommen	1	1
	I	Punktinfektionsversuch	Uni-KS	Ackerbohne	‘Fuego’	Ertrag, Nodulation	1	-
	J	Punktinfektionsversuch	Uni-KS	Ackerbohne	‘Fuego’	Hyperspektrale Aufnahmen	1	-
	K	Gewächshausversuch	Uni-KS	Ackerbohne	‘Fuego’	Hyperspektrale Aufnahmen	-	-
	L	Punktinfektionsversuch	Uni-KS	Ackerbohne	‘Fuego’	Ertrag, multispektrale UAV-Aufnahmen	1	4
M	Punktinfektionsversuch	JKI-BS	Gemüseerbse	‘Rainer’ & ‘Ambassador’	Ertrag, multispektrale UAV-Aufnahmen	1	1	

3.12 Virusanalytik

Die Blattläuse aus den Gelbschalen wie auch die Blattproben aus Versuchen oder 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 PCR auf PNYDV und RT-PCR auf PEMV hin untersucht. Alle erwähnten Analysen wurden nach den am JKI in Braunschweig entwickelten Standardprotokollen durchgeführt (Grigoras et al. 2010; Abraham et al. 2012a). Um PNYDV zu detektieren, wurde ein spezifischer DAS-ELISA eingesetzt, welcher zwei verwandte Viren *Faba bean necrotic stunt virus* und *Faba bean necrotic yellows virus* ausschließt (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 (Amari et al., unveröffentlicht)

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

3.13 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).

4 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

4.1 Vektorphänologie

In beiden Jahren, 2017 und 2018, war die Aktivität leguminosen-affiner Blattläuse in Westerau, Schleswig-Holstein geringer als an den anderen beiden Standorten (**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**, Abbildung 4). Allerdings wurden hier 2018 mit 4888 Blattläusen pro Gelbschale in Kalenderwoche (KW) 28 ausgesprochen viele Blattläuse der Gruppe „sonstige“ gefunden. In 2018 war die Aktivität der Blattläuse insgesamt stärker, als in 2017. Ein Vergleich der Dominanzstruktur von Gelbschalenfängen im Vergleich zu den Besiedlungswerten im Bestand am Standort Uni-KS zeigte, dass proportional deutlich mehr *Acyrtosiphon pisum* und *Megoura viciae* auf den Pflanzen anzutreffen waren, als in den Gelbschalen.

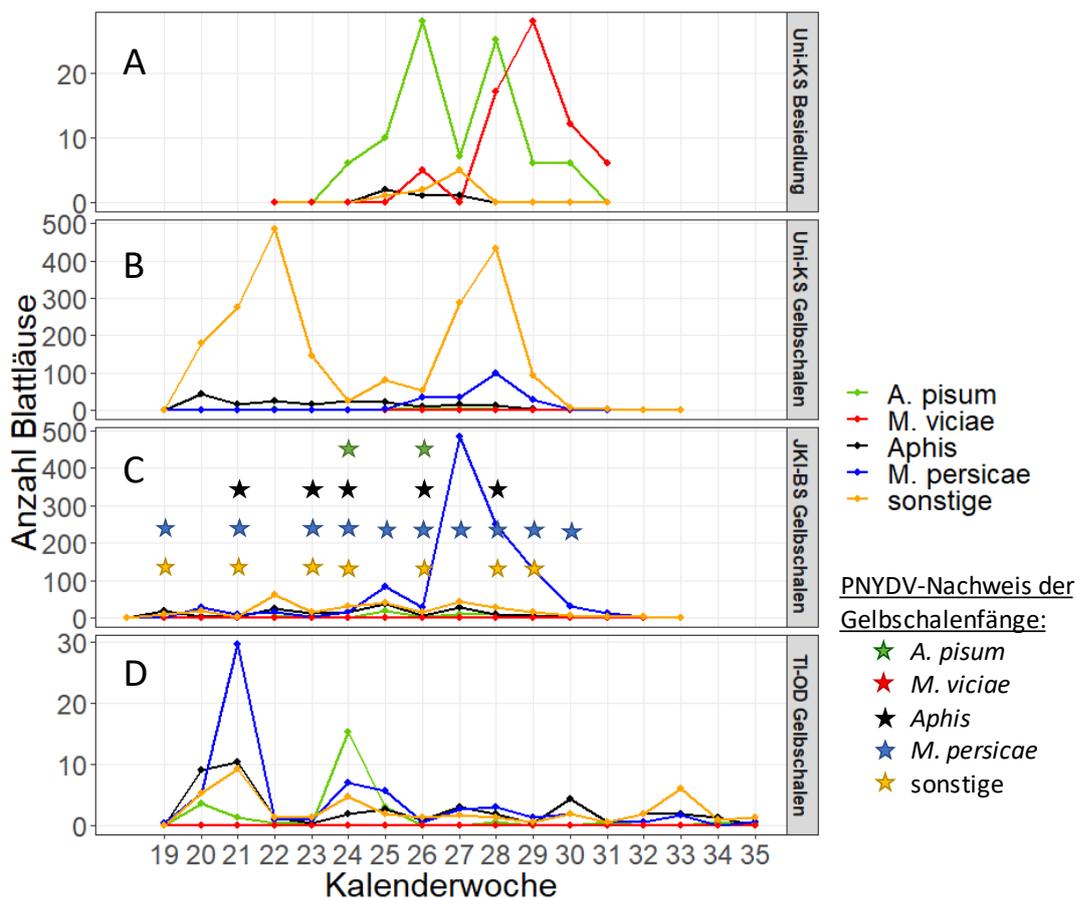


Abbildung 3: Vektorphänologie **2017**: A) Besiedlungsverlauf (als Anteil blattlausbefallener Pflanzen in %) in Uni-KS; sowie Anzahl Blattläuse pro Gelbschale in B) Uni-KS; C) JKI-BS; D) TI-OL.

Der *A. pisum* Erstbefall 2017 begann in KW24 und erreichte mit 28 % befallenen Pflanzen das Maximum in KW26. 2018 war *A. pisum* stärker vertreten mit Erstbefall in KW20 und bereits

knapp 100 % in KW 23. Die Gruppen der Blattläuse aus den Gelbschalen wurden auf ihre Virusfracht hin untersucht. 2017 wurde an der Uni-KS und am TI-OL kein PNYDV gefunden. AM JKI-BS hingegen wurden zwischen KW 20 und KW 31 Nanoviren nachgewiesen und zwar in allen Blattlausgruppen, außer bei *Megoura viciae*. In 2018 ergaben sich am JKI-BS und am TI-OL keine PNYDV-Nachweise, an der Uni-KS wurde einmal in KW 27 PNYDV an *A. pisum* nachgewiesen.

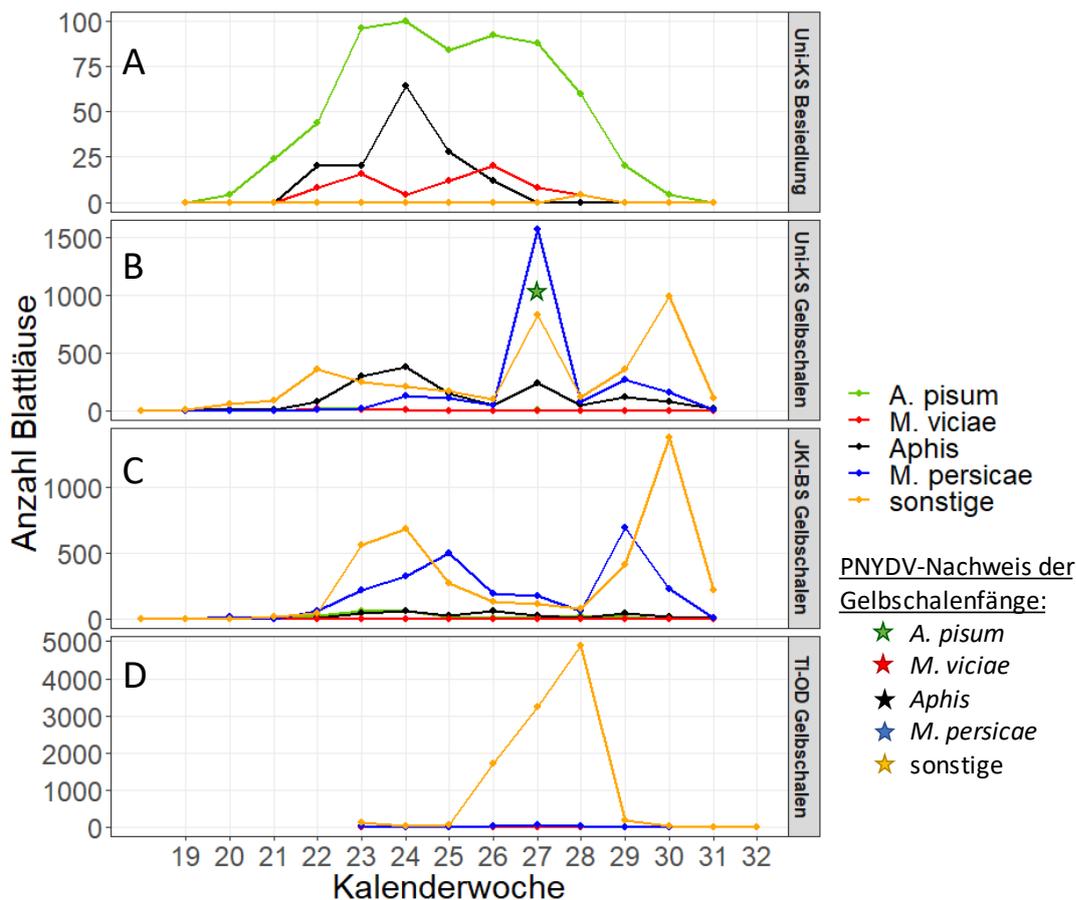


Abbildung 4: Vektorphänologie **2018**: A) Besiedlungsverlauf (als Anteil blattlausbefallener Pflanzen in %) in Uni-KS; sowie Anzahl Blattläuse pro Gelbschale in B) Uni-KS; C) JKI-BS; D) TI-OL.

4.2 PNYDV-Monitoring 2017, 2018

2017 wurden an der Uni-KS in Nordhessen, am JKI-BS und am TI-OL Pflanzenproben von 5 Erbsen- und 11 Ackerbohnenflächen 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.

Tabelle 2: Ergebnisse des ELISA-Tests auf PNYDV und PEMV von Pflanzenproben (Ackerbohne) aus PNYDV-symptomatischen Nestern, entlang eines Transekts vom Kern nach außen mit Beprobungsabstand von 1,5 m.

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

2018 war die Situation eine andere. An der Uni-KS in Nordhessen und am TI-OL wurden mehr PNYDV-symptomatische Nester entdeckt, als aufgenommen werden konnten. Insgesamt wurde von einer Auswahl von 24 Nestern (20 Uni-KS, 4 TI-OL) jeweils Kern, Rand und Referenz beprobt. Tabelle 2 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 typischen Symptome mehr aufwiesen. PEMV war über den gesamten Bereich mit 10-22% gleichmäßiger, ohne erkennbar räumliches Muster, vertreten.

4.3 Infektions-Wiederfunde und -Ausbreitung in Feldversuchen

In den Jahren 2017 und 2018 wurden insgesamt fünf Punktinfektionsversuche im Feld durchgeführt (Tabelle 1: E, I, J, L, M). Im Feldversuch in Neu-Eichenberg, Uni-KS, 2017, funktionierte die Methode der Punktinfektion mit hoher Nachweisrate (Tabelle 3). Einzig in der Variante Mix1, mit je 5 Blattläusen der jeweiligen Virusfrachten, konnten nur 3 von 5 Pflanzen erfolgreich infiziert werden.

In 2018 ließen sich die mit derselben Methodik gesetzten Punktinfektionen weniger häufig bestätigten, mit 70 % PNYDV-positiven Pflanzen 4 Wochen (t1) nach dem frühen Infektionstermin. An unmittelbar angrenzenden Nachbarpflanzen der früh- und späthininfizierten 'Fuego' war PNYDV zum zweiten Boniturtermin t2 nach 5 (spät inokuliert) bzw. 7 Wochen (früh inokuliert) in 20 % der Proben nachweisbar, während bei 'Sunrise' außer an der primärinfizierten Pflanze PNYDV-Befunde sowohl zu t2 als auch in der 0,25 m² Sammelprobe zu t3 gänzlich ausblieben (Der benachbarte Feldversuch zur Nodulation 2018 (Uni-KS) zeigte eine deutlich geringere Nachweisrate nach dem Setzen 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 1: J). 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.

Abbildung 5). 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%) und zeigten mit 10-20% PEMV-positiven Pflanzen zu t2, t3 stagnierende bis leicht rückläufige Tendenz für 'Sunrise'.

Tabelle 3: Punktinfektion (Uni-KS, 2017) mit verschiedenen Virus-Varianten; Blattproben von i) der inokulierten Pflanze (s0), sowie ii) in 50 cm Entfernung (s50); Code: - = kein Nachweis, + = Nachweis, o = uneindeutiges Ergebnis.

Virus	s0		s50	
	PNYDV	PEMV	PNYDV	PEMV
ohne Virus	-	-	-	-
	-	-	-	-
	-	-	-	-
	-	-	-	-
	-	-	-	-
PEMV	-	+	-	-
	-	+	-	-
	-	+	-	-
	-	+	-	-
	-	+	-	-
PNYDV	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
	+	-	-	-
Mix1	+	-	-	-
	+	+	-	-
	+	+	-	-
	+	+	-	-
	-	-	-	-
Mix2	+	+	-	-
	+	+	-	-
	O	+	-	-
	+	+	-	+
	+	+	-	-

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.

Der benachbarte Feldversuch zur Nodulation 2018 (Uni-KS) zeigte eine deutlich geringere Nachweisrate nach dem Setzen 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 1: J). 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.

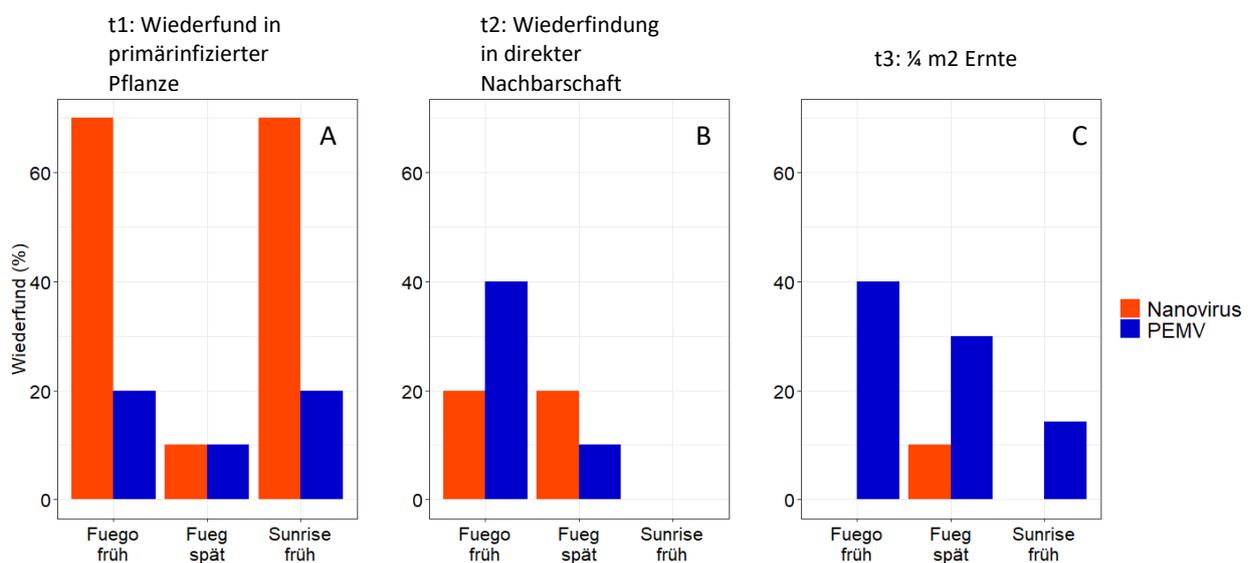


Abbildung 5: Drei Ackerbohnen-Varianten: 'Fuego' früh in BBCH 13 inokuliert, 'Fuego' spät in BBCH 59, 6.5 Wochen später inokuliert, 'Sunrise' früh inokuliert; drei Beprobungs-Zeitpunkte: A) t1, 2 bzw. 4 Wochen nach Inokulation, Beprobung der primärinfizierten Pflanze, B) t2, 5 bzw. 7 Wochen nach Inokulation, Beprobung von drei direkten Nachbarpflanzen, c) t3, 9 bzw. 11 Wochen nach Inokulation, Mischprobe aus 1/4 m² zur Ernte; Uni-KS 2018.

Der Punktinfektionsversuch an Erbsen 2018 am Standort JKI-BS war ebenfalls nicht erfolgreich (Tabelle 1: M). 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.

4.4 Nodulation

Im Gewächshausversuch 2017 (Tabelle 1: D) wurden die Knöllchen von Erbsen und Ackerbohnen untersucht. Die Masse der Knöllchen streute bei Erbse stark und zeigt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten. An Ackerbohne hingegen ist sie, zu beiden Boniturzeitpunkten, bei den PNYDV-infizierten Pflanzen signifikant geringer gegenüber der Kontrolle (Abbildung 6).

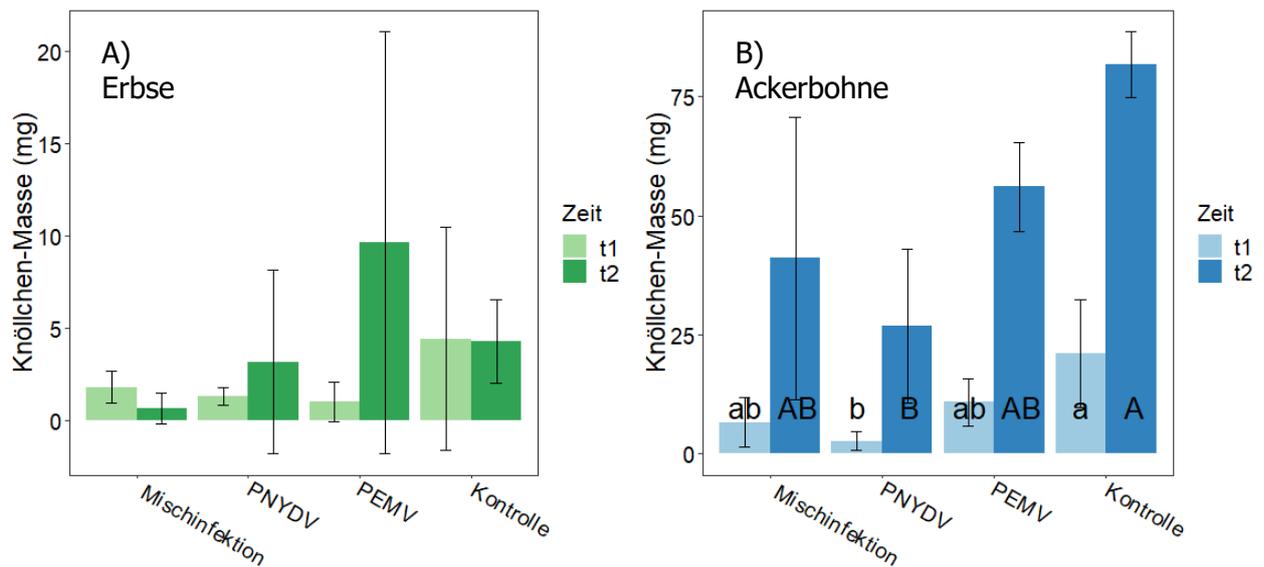


Abbildung 6: mittlere Knöllchenmasse des Gewächshausversuchs 2017, an A) Erbse, B) Ackerbohne; Fehlerbalken \pm Standardabweichung, (n = 8).

Die aufgeschnittenen Knöllchen der Kontrolle wiesen eine deutlich rötere Färbung als Indiz für Fixierungsaktivität auf, als jene der infizierten Pflanzen (Abbildung 7).

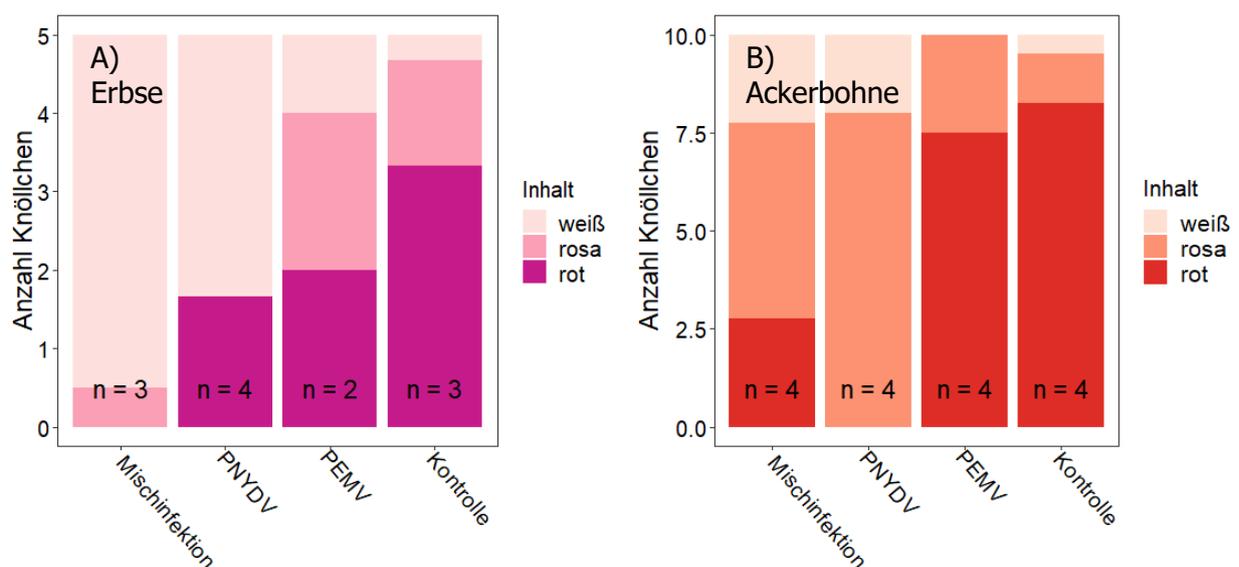


Abbildung 7: mittlerer Knöllchen-Inhalt des Gewächshausversuchs 2017, an A) Erbse, B) Ackerbohne.

Von den Praxisflächen 2018 (Tabelle 1: F) wurden im BBCH 75 ebenfalls Wurzelproben genommen. Der ELISA-Test bestätigte PNYDV für alle untersuchten Nester. Hier war die Knöllchenmasse der Pflanzen aus dem Kern des Nestes signifikant geringer als jene der Pflanzen aus Rand und Referenz (Daten nicht dargestellt).

Pro PNYDV-Nest und Bereich wurden je 50 Knöllchen nach Methodik 3.6 ausgewertet. 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).

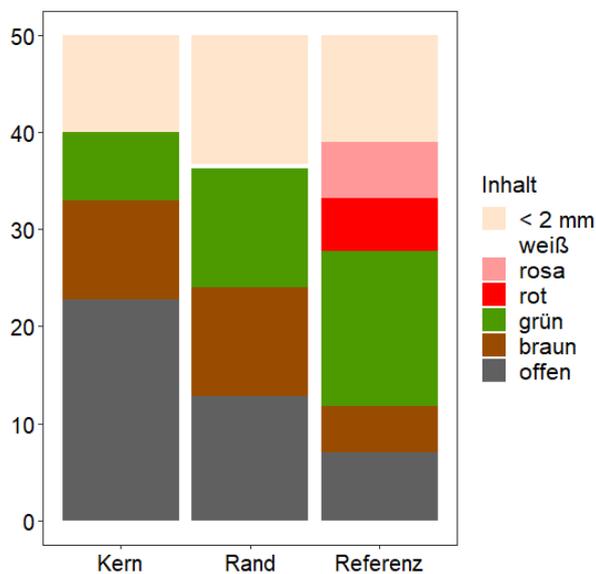


Abbildung 8: mittlere Verfassung der Knöllchen der Praxisflächen 2018.

Die oberirdische Sproßmasse ergab in der N-Isotopenanalyse ein signifikant weiteres ^{15}N zu ^{14}N Verhältnis als 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.

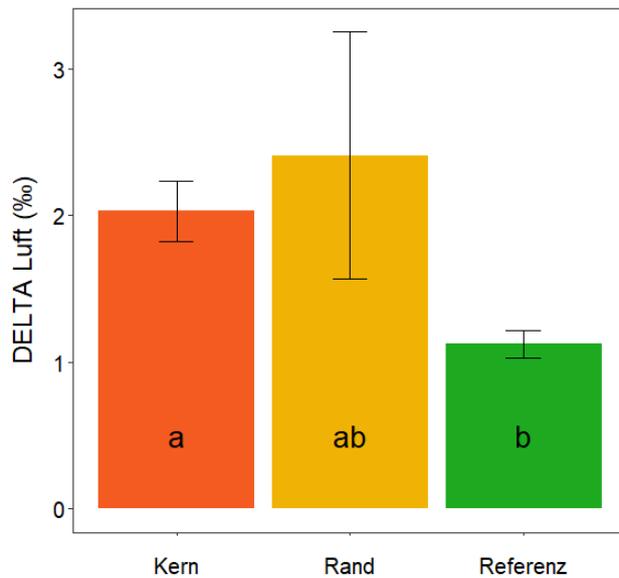


Abbildung 9: Mittlere Luftstickstoffanteile als DELTA Luft (%) der Bereiche Kern, Rand und Referenz von PNYDV-Nestern an Ackerbohne 'Fuego' auf Praxisflächen; Fehlerbalken \triangleq Standardfehler (berechnet mit emmeans), ($n = 51$).

4.5 Hyperspektrale Fernoptik

Im Vergleich zu den nicht infizierten Ackerbohnen-Fiederblättchen der Kontrolle, zeigten PNYDV- und PNYDV/PEMV-Mischinfektionen einander ähnliche Reflektionsmuster, die mit beiden Kamerasystemen qualitativ ähnlich ausfielen (Abbildung 10 (Versuch D) und Abbildung 11 (Versuch K)). Die Hauptunterschiede konnten bei den Reflektionsausprägungen der Infektionsvarianten festgestellt werden: 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% geringer als die der Mischinfektion), war sie in allen anderen Bereichen sichtbar niedriger (Abbildung 11). Die in 2017 mitangelegte PEMV-Infektionsvariante konnte leider wegen eines technischen Defektes der Kamera nicht abgespeichert werden und

war nach verbrauchten Pflanzenproben auch nicht mehr im Kontext der Vergleichsvarianten nachholbar und ist für den geplanten Durchlauf in 2019 vorgesehen.

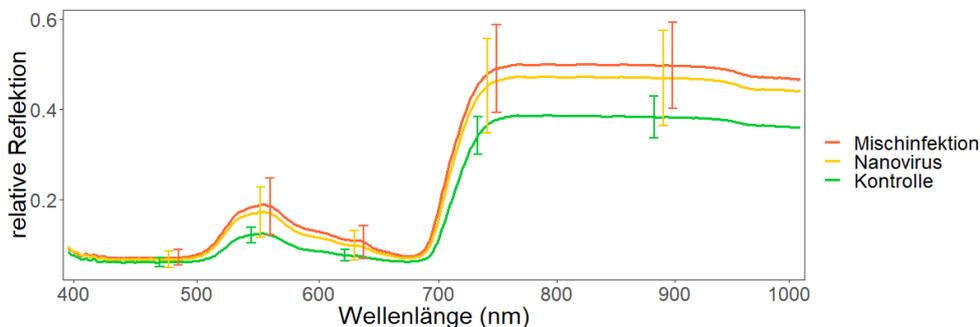


Abbildung 10: mittlere relative Reflexion von Fiederblättchen der Ackerbohne *Vicia faba* 'Fuego', nach Mischinfektion (PNYDV+PEMV), Infektion mit PNYDV sowie ohne Infektion; Aufnahme mit festinstallierter Specim Hyperspektralkamera, 2017; Fehlerbalken $\hat{=}$ Standardabweichung, ($n = 18$).

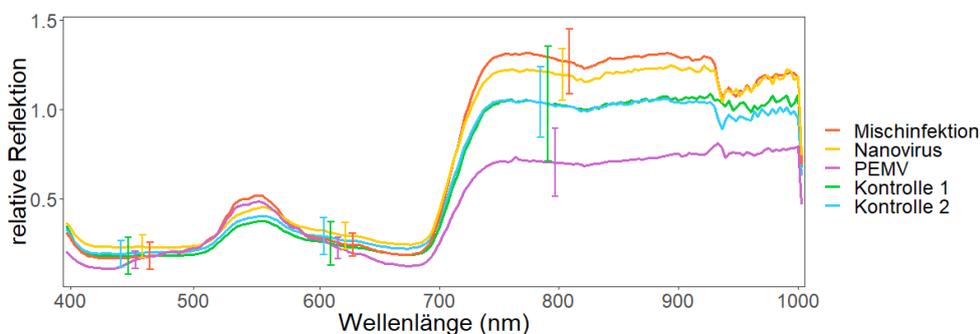


Abbildung 11: mittlere relative Reflexion von Fiederblättchen der Ackerbohne *Vicia faba* 'Fuego', nach Mischinfektion (PNYDV+PEMV), Infektion mit PNYDV und PEMV, sowie nach Blattlausbesatz ohne Virusfracht (Kontrolle 1) und ohne Blattlausbesatz (Kontrolle 2); Aufnahme mit mobiler Specim IQ Hyperspektralkamera, 2018; Fehlerbalken $\hat{=}$ Standardabweichung, ($n = 40$).

4.6 Multispektrale Fernoptik

Die drei Punktinfektionsversuche für multispektrale Erhebungen 2017 und 2018 (Tabelle 1: E, L, M) führten nicht zu flächigen Infektionsnestern. Im Laufe des Monitorings auf Praxisflächen in Nordhessen, Uni-KS, sowie am TI-OL (Tabelle 1: F, G) konnten 2018 jedoch einige Virusnester multispektral erfasst und ausgewertet werden. Abbildung 12 zeigt den Ausschnitt eines RGB-Orthomosaiks eines Ackerbohnenfeldes. Im Bereich oben rechts sind Trockenschäden zu sehen. Darunter befinden sich einige schwach gelbliche Flecken. Der rote Pfeil weist beispielhaft auf ein PNYDV-Nest hin, mit den typischen Symptomen: Vergilbung, Zwergenwuchs, harte, aufgerichtete Fiederblättchen (Abbildung 13). Auf vier Ackerbohnenflächen wurden 17 Nester genauer untersucht. PNYDV-Präsenz in den jeweiligen Nestern wurde durch ELISA bestätigt.



Abbildung 12: 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 13 näher betrachtete PNYDV-Nest.



Abbildung 13: PNYDV-symptomatisches Nest in Ackerbohne 'Fuego', BBCH 75, am 07.07.2018.

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 14 zeigt die mittlere relative Reflektion der einzelnen Bänder 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 red-edge und nir geringere Werte auf.

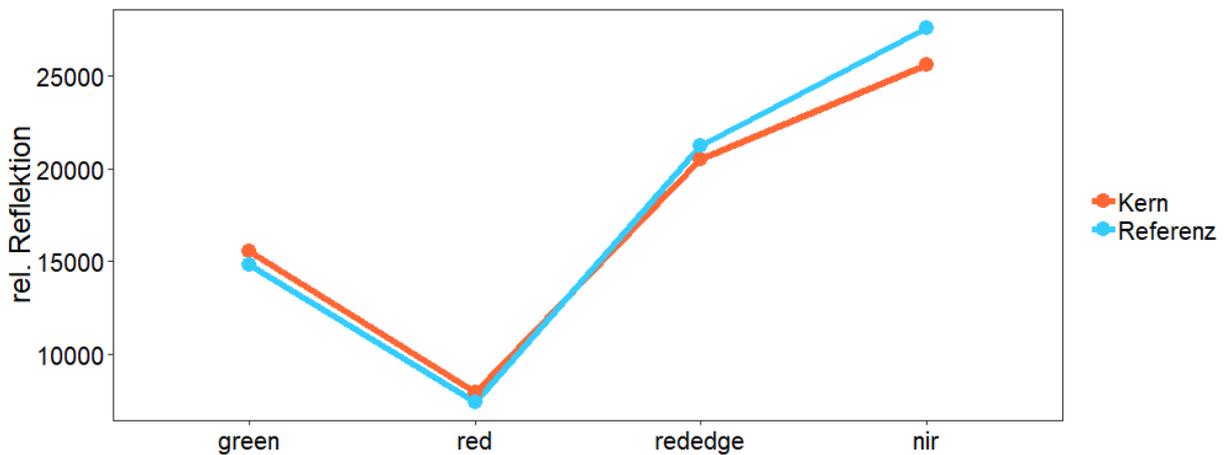


Abbildung 14: mittlere relative Reflektion der 0,25 m²-Ausschnitte von multispektralen Aufnahmen der Praxisflächen mit Ackerbohne, 2018, differenziert in Kern und Referenz von PNYDV-symptomatischen Nestern.

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 15). Der GNDVY (Green Normalized Difference Vegetationindex) und der CI (Chlorophyll Index) ergaben mit $p < 0,001$ den höchsten signifikanten Unterschied zwischen dem Kern des Nestes und der Referenz.

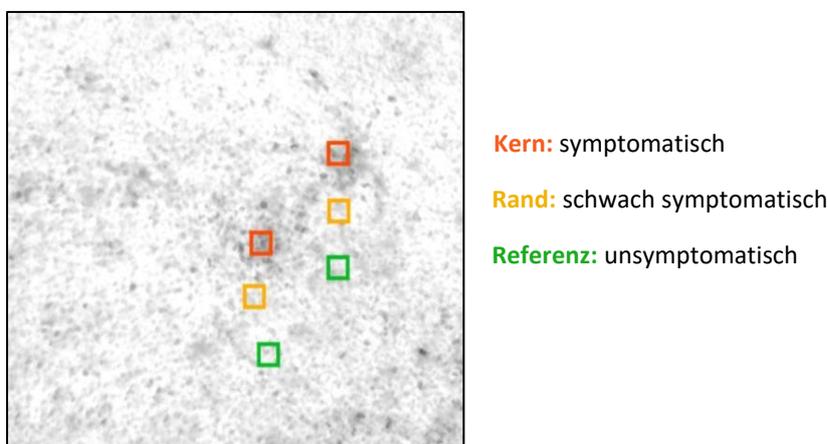


Abbildung 15: GNDVY (Green Normalized Difference Vegetationindex) der Ackerbohne 'Fuego', BBCH 75, am 07.07.2018, mit 0,25 m² Quadraten von Kern, Rand und Referenz jeweils 1,5 m voneinander entfernt, (n = 51).

4.7 Ertragsparameter

Der Kornertrag pro Pflanze wurde 2017 im Gewächshaus an Erbse und Ackerbohne (Tabelle 1: D), sowie im Feldversuch an Ackerbohne (Tabelle 1: E) erhoben. In allen Fällen war der Ertrag der PNYDV-infizierten Pflanzen signifikant geringer gegenüber der Kontrolle (Abbildung 17).

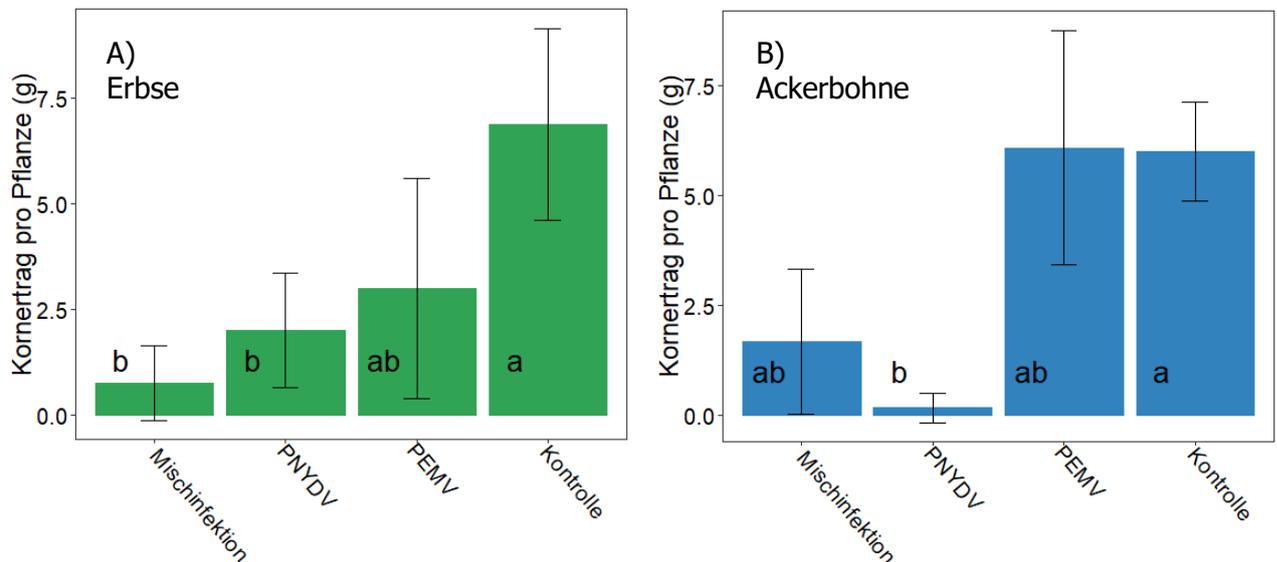


Abbildung 16: mittlerer Kornertrag pro Pflanze (g) von PNYDV-infizierten Pflanzen und Kontrolle aus dem Gewächshausversuch 2017, an A) Erbse, B) Ackerbohne; Fehlerbalken \pm positiver Standardabweichung, ($n = 8$).

Darüber hinaus ergab die Mischinfektion im Feldversuch ein sehr ähnliches Ergebnis wie die PNYDV-Infektion. Die Erträge der jeweiligen Umgebungspflanzen, sowie die Kontrolle waren nicht signifikant verschieden.

Tausend-Korn-Gewicht (TKG) und Sprosslänge zeigten ein ähnliches Muster wie der Kornertrag, mit geringeren Werten für PNYDV-infizierte Pflanzen, wenn auch nicht immer in so deutlicher und signifikanter Ausprägung. Der Stickstoffgehalt in den Körnern war in Gewächshaus- und Feldinfektionen nicht signifikant unterscheidbar (Daten nicht dargestellt). Die Ertragsdaten aus dem Punktinfektionsversuch 2018 (Tabelle 1: L) wurden für die Untersuchung des Einflusses der Virose sortiert. Nur Beprobungspunkte, an denen die Inokulation (TP1) nachweislich funktioniert hatte und in deren Referenz (TP3) kein Virus nachzuweisen war, wurden in die Betrachtung aufgenommen. Auf diese Weise blieben von 60 ursprünglichen Punktinfektionen, 22 übrig. Da sich diese auf vier Virusvarianten und drei Ackerbohnen-Varianten aufteilten, waren die Stichproben für eine angemessene statistische Analyse zu klein. Für die Erbsenfeldinokulationen am JKI lagen in 2018 ebenfalls nur 3 bestätigte Infektionen vor, sodass auch hier keine Ertragsparameter statistisch absicherbar waren.

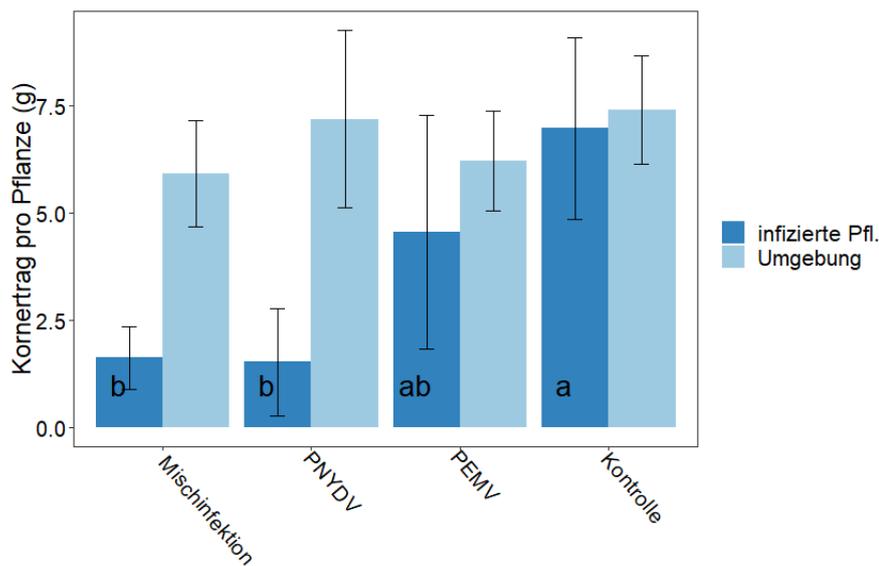


Abbildung 17: mittlerer Kornertrag pro Pflanze (g) des Feldversuchs 2017 an Ackerbohne der verschiedenen Infektionsvarianten sowie der jeweiligen Umgebungspflanzen; Fehlerbalken \triangleq Standardabweichung, ($n = 25$).

In der on-farm Untersuchung 2018 (Tabelle 1: F, G) dienten dieselben $\frac{1}{4}$ m² Quadrate, die fernoptisch analysiert wurden, auch der Ertragsbonitur. Von der Referenz zum Kern hin nahm der Ertrag stark und signifikant ab (Abbildung 18, A). Ebenso, wenn auch in geringerem Ausmaß, nahm der prozentuale Gehalt an Rohprotein signifikant ab (Abbildung 18, B).

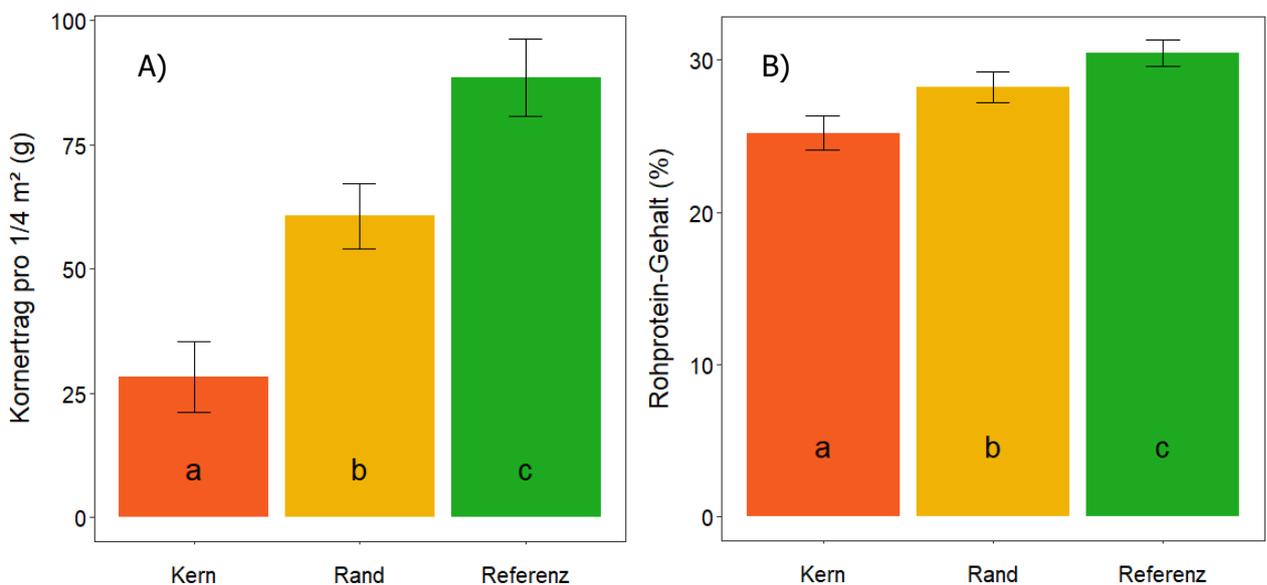


Abbildung 18: A) mittlerer Kornertrag (g) B) mittlerer Rohprotein-Gehalt (%) pro $\frac{1}{4}$ m² der Bereiche Kern, Rand und Referenz von PNYDV-Nestern an Ackerbohne 'Fuego' auf Praxisflächen; Fehlerbalken \triangleq Standardfehler (berechnet mit emmeans), ($n = 51$).

4.8 Korrelation Fernoptik und Ertrag

Aus den Daten der on-farm Untersuchung, 2018 (Tabelle 1: F, G) wurde der GNDVI gegen den Kornertrag korreliert. Die Korrelation ist mit $p = 0,04$ signifikant, mit einem $\rho = 0,29$ jedoch schwach (Abbildung 19).

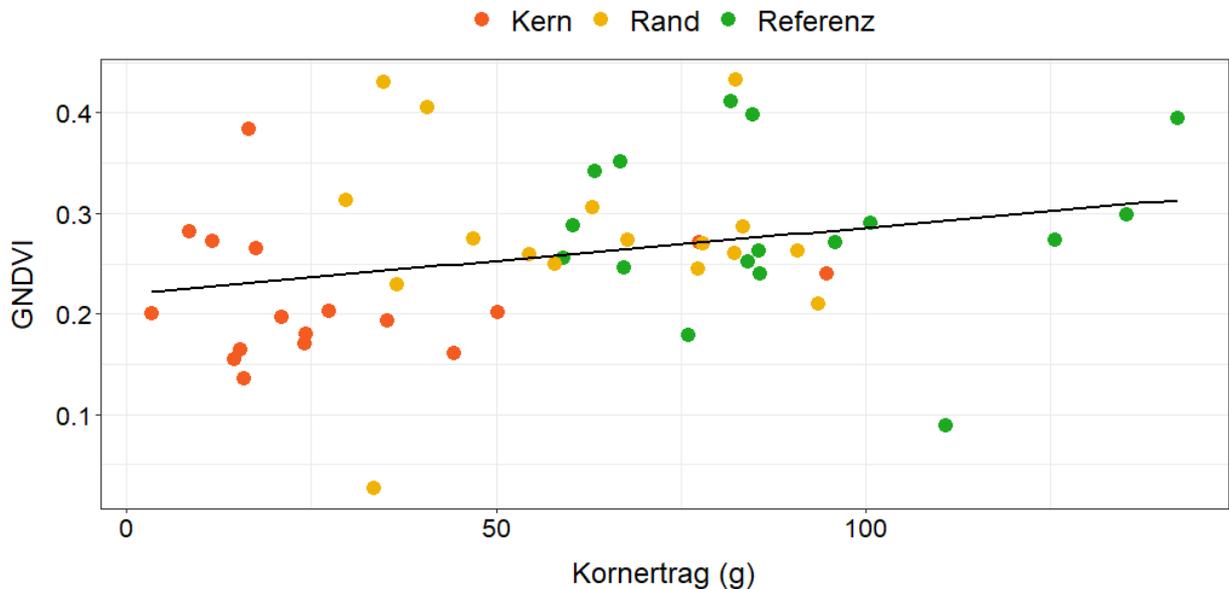


Abbildung 19: Korrelation nach Spearman von GNDVI gegen Kornertrag (g) der on-farm-Untersuchung, 2018, ($n = 51$).

4.9 Synopse

Tabelle 4 gibt eine Übersicht aller angestellten Versuche und Monitorings mit deren Ergebnissen. PNYDV-Ertragseinflüsse waren mit wenigen Ausnahmen signifikant abträglich. Ein großer Teil der Versuche und des Praxismonitorings 2017 brachte mangels PNYDV-Symptomatik keine auswertbaren Ergebnisse. Dies änderte sich in 2018, wo die multispektralen on-farm Erhebungen signifikante Unterschiede für Vegetationsindices-Berechnungen ergaben.

67). Zum Erntezeitpunkt wurden die Ertragsparameter Anzahl Pflanzen, Sprosslänge, Anzahl Hülsen, Anzahl und Trockengewicht (5 Tage 80°C) der Körner erhoben.

Tabelle 4: Übersicht der Ergebnisse des Einflusses von PNYDV auf Nodulation, N-Gehalte und Ertrag sowie dessen multispektrale Detektion durch Vegetationsindices; ↓: signifikanter, bzw. bezogen auf Knöllchenaktivität deutlicher negativer Einfluss; (-): kein signifikanter Einfluss; n.a.: nicht auswertbar; *: signifikanter Unterschied der Vegetationsindices.

Jahr	ID	Untersuchung	Standort	Pflanze	Sorte	Knöllchen- masse	Knöllchen- aktivität	Luft-N- Gehalt	Rohprotein- gehalt	Ertrag	multispektrale Detektion	
2017	A	Monitoring	Uni-KS, Nordhessen	Ackerbohne, Erbsen	verschiedene				n.a.	n.a.	n.a.	
	B	Monitoring	JKI-BS	Ackerbohne, Gemüseerbse	‘Rainer’ & ‘Ambassador’				n.a.	n.a.	n.a.	
	C	Monitoring	TI-OL	Gemüseerbse					n.a.	n.a.	n.a.	
	D	Gewächshaus- versuch	Uni-KS		Erbsen	‘Alvesta’	(-)	↓		(-)	↓	
					Ackerbohne	‘Fuego’	↓	↓		(-)	↓	
E	Punktinfektions- versuch	Uni-KS		Ackerbohne	‘Fuego’				(-)	↓	n.a.	
2018	F	Monitoring	Uni-KS, Nordhessen	Ackerbohne	‘Fuego’	↓	↓	↓	↓	↓	*	
	G	Monitoring	TI-OL	Ackerbohne	‘Fuego’					↓	*	
	H	Monitoring	Uni-KS, Frankenhausen	Ackerbohne	LSV						n.a.	
	I	Punktinfektions- versuch	Uni-KS	Ackerbohne	‘Fuego’	n.a.	n.a.		n.a.	n.a.		
	J	Punktinfektions- versuch	Uni-KS	Ackerbohne	‘Fuego’							
	K	Gewächshaus- versuch	Uni-KS	Ackerbohne	‘Fuego’							
	L	Punktinfektions- versuch	Uni-KS	Ackerbohne	‘Fuego’				n.a.	n.a.	n.a.	
	M	Punktinfektions- versuch	JKI-BS		Gemüseerbse	‘Rainer’ & ‘Ambassador’				n.a.	n.a.	n.a.

5 Diskussion der Ergebnisse

5.1 Vektorphänologie und PNYDV-Monitoring

Der Vergleich des Besiedlungsverlaufs und der Gelbschalenfänge am Standort Uni-KS, in beiden Monitoringjahren, macht deutlich, dass die Grüne Erbsenblattlaus, *Acyrtosiphon pisum*, welche als PNYDV-Hauptüberträgerin gilt (Ziebell 2017), im Ausmaß ihres Auftretens kaum durch Gelbschalen nachzuweisen ist (Abbildung 3, Abbildung 4: A, B). Es ist somit festzuhalten, dass für ein Monitoring von *A. pisum*, zusätzlich eine direkte Untersuchung im Bestand durch Klopfproben oder Sauger zu empfehlen ist. Dasselbe gilt für die Wickenblattlaus, *Megoura viciae*. Da *A. pisum* aufgrund Ihrer im Vergleich zu anderen Blattlausarten abweichenden Landereaktion auf den Farbreiz „gelb“ in Gelbschalenfängen generell numerisch unterrepräsentiert ist (Krüssel pers. Mitt. 2018) könnte bei nur wenigen auswertbaren Individuen auch die Wahrscheinlichkeit von PNYDV-Nachweisen in der *A. pisum* Gruppe gesunken sein. 2018 gab es trotz einiger natürlicher Infektionen, nur einen PNYDV-Nachweis an *A. pisum*. Geringe Individuenzahlen könnten auch bei *M. viciae* ein Grund dafür gewesen sein, dass es keinen PNYDV-Nachweis gab. In Zukunft (Projektverlängerung im BÖLN 2019) sind daher auch von siedelnden Blattläusen Virusanalysen geplant. 2017 wurde PNYDV, außer an *M. viciae*, sehr häufig in allen Blattlausgruppen am JKI-BS nachgewiesen (Abbildung 3: C), obwohl im benachbarten Erbsenfeld (Tabelle 1: B) nur eine natürliche PNYDV-Infektion nachgewiesen wurde. Auch in der Gruppe „sonstige“ wurde in sieben wöchentlich gepoolten Proben PNYDV gefunden. Somit kann anhand der Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden, dass es 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 Viruspartikel aus Blattlausfragmenten verschleppt und in der Analyse sonst virusfreien Blattläusen zugeordnet wurden. Zusammenfassend soll festgehalten werden, dass das Gelbschalenmonitoring mit Virusfracht-Überwachung weiterhin eine wertvolle und nutzbare Methode darstellt. Ein methodisches Erschwernis stellte insbesondere in 2018 die anhaltenden Hochsommertemperatur $>35^{\circ}\text{C}$ mit entsprechender Verdunstung und auch rascher Zersetzungsgefahr für die fragilen Blattlausfänge in den Gelbschalen dar. Häufigerer Wartungs- und Leerungsaufwand könnten den genannten Unwägbarkeiten zwar entgegenwirken, lagen aber außerhalb des leistbaren Rahmens. Somit gilt es weiterhin, verschiedene Leguminosen-

Blattläuse auf mögliche PNYDV-Vektoreignung zu untersuchen und z.B. auch siedelnde Blattläuse im Pflanzenbestand ins Monitoring einzubeziehen.

Die Besiedlungsverläufe von *A. pisum* in den Jahren 2017 und 2018 waren sehr unterschiedlich (Abbildung 3, Abbildung 4: A). In 2018 startet die Besiedlung im Vergleich zu 2017 vier Wochen eher und hatte bereits in KW23 ein Ausmaß von 96%; ein Zeitpunkt zu dem 2017 noch keine Blattlaus an Ackerbohne ausgemacht worden war. Dieser Befund deckt sich mit den Ergebnissen aus dem Monitoring, bei welchem in 2017 kaum, in 2018 jedoch häufig PNYDV-Befall entdeckt und nachgewiesen wurde. Dies kann ein Hinweis darauf sein, dass eine spätere und schwächere Besiedlung durch die Grüne Erbsenblattlaus auch mit einem schwächeren PNYDV-Auftreten im Bestand verbunden sein kann.

2018 wurden in Nordhessen (Uni-KS) und am TI-OL 24 Nester in Ackerbohnenbeständen mit typischen Symptomen des PNYDV untersucht. Bei allen wurde das PNYDV im Kern des Nestes nachgewiesen (Tabelle 2). Mit jeder weiteren Entfernung von 1,5 m nahm die Häufigkeit des PNYDV-Nachweises ab. PEMV hingegen war gleichmäßig über den gesamten Bereich verteilt, was sich mit der ursächlichen Zuordnung der nestartigen Symptome zu PNYDV aus dem Epidemiejahr 2016 in Hessen und Niedersachsen deckt (Saucke et al. 2019).

Ausgehend von den zentralen Infektionspunkten konnten nach 3 m Entfernung, spätestens jedoch nach 4,5 m keine visuellen Symptome mehr beobachtet werden, obwohl PNYDV noch in 56 % der Proben PNYDV nachgewiesen wurde. Es ist also davon auszugehen, dass das Virus weiterhin auf Nachbarpflanzen als Spätinfektion übertragen wurde, es jedoch entweder nicht genügend Zeit oder einsetzende Altersresistenz (im BBCH Makrostadium 7 (Fruchtentwicklung) einer hinreichenden Symptomentwicklung entgegenwirkte (Krüssel und Zahn, pers. Mitteilung 2019).

5.2 Infektions-Nachweise und -Ausbreitung in Feldversuchen

Im Feldversuch 2017 an der Uni-KS (Tabelle 1: E) lieferte die Methodik der Punktinfektionen verwertbare Resultate in Ackerbohnen Tabelle 1. Zehn eingehauste Blattläuse pro Virusart waren hier ausreichend um unter Feldbedingungen sichere Infektionsergebnisse zu erzielen. 5 Blattläuse pro Virusart, wie in der Variante Mix1, lieferten jedoch weniger reproduzierbare Infektionen. Es bildeten sich keine Virusnester, sondern die Infektionen blieben auf die Infektorpflanzen und wenige Einzelpflanzen beschränkt. Schon in 50 cm Entfernung konnte lediglich einmal PEMV nachgewiesen werden. Dies könnte mit den geringen Besiedlungswerten durch Vektoren in Zusammenhang zu stehen, da die Infektorpflanzen im weiteren Vegetationsverlauf praktisch frei von Blattlauskolonien und Einzelläusen blieben.

Zwar wurde die Infektionsmethode in 2018 mit durchgehend zehn Blattläusen pro Virusart und Infektorpflanze fortgeführt, jedoch mit weitaus geringerer Nachweiserate als in 2017. Drei von vier Versuchen an der Uni-KS und am JKI-BS erbrachten in der Porbenauswertung kaum verwertbare Resultate. Dies mag damit zu begründen sein, dass sich unter den Nylonsocken bzw. Crispac-Bags, zu sehr die Hitze gestaut hat und die Blattläuse inaktiv waren oder frühzeitig abgestorben waren. Es könnte aber auch im Allgemeinen mit den extrem trockenen und warmen Wetterverhältnissen zusammenhängen, welche einen Einfluss auf die Virus-Blattlaus-Pflanze-Interaktion haben könnten. Chung et al. (2016) untersuchten den Einfluss von Temperatur auf die Lausübertragung von drei Kartoffelviren durch *Myzus persicae* auf Wirtspflanzen. Es ergab sich, dass die Infektionsrate (zehn Tage nach Inokulation) ihr Maximum bei 20 bzw. 25°C Lufttemperatur während des Testpflanzenwachstums hatte und bei höheren Temperaturen sank. Die gleiche Arbeit zeigte auch eine erniedrigte Infektionsrate, wenn die Virenaufnahme von infizierten Pflanzen bei Temperaturen über 20°C stattfand. Gleichzeitig sank auch die Virenakkumulation in den Überträgerläusen bei höheren Temperaturen. Starke Trockenheit kann ebenfalls zu verminderter Virenübertragung durch Läuse und verminderter Virusfracht in den Läusen führen. So fanden Yvon et al. (2017) 50% Reduktion bei der Übertragung des *Turnip yellows virus* (TuYV) durch *Myzus persicae* auf *Arabidopsis thaliana*. Nachappa et al. (2015) fanden erhöhte Vermehrung der Populationen von Sojabohnen-Läusen auf trockengestressten Sojabohnen und ein signifikant verändertes Saugverhalten, welches zu signifikant verringerter Übertragung des *Sojabohnenmosaikvirus* (SMV) führte. Ähnlich könnte es sich bei der in dieser Studie untersuchten Vektor-Virus-Pflanze-Interaktion unter den extremen Umweltbedingungen von 2018 verhalten haben.

Zum Feldversuch zur Nodulation, Uni-KS, 2018 (Tabelle 1: I) muss angemerkt werden, dass die Inokulation sehr spät stattfand. Der Feldversuch für hyperspektrale Aufnahmen (Tabelle 1: J) wurde früher inokuliert und war auf dem selben Versuchsfeld wie die beiden anderen Punktinfektionsversuche an der Uni-KS des Jahres 2018 (I & I) angelegt. Allerdings befanden sich die Parzellen auf einem leichten Oberhang mit steinigem Boden, wodurch die Bedingungen in der sehr niederschlagsarmen Feldsaison 2018 noch trockener waren. Die extremen Sommertemperaturen in Kombination mit Trockenheit und späterer Inokulation könnten Gründe für die weniger reproduzierbaren Ergebnisse in 2018 sein.

Für den Feldversuch zur Untersuchung der multispektralen Fernoptik und Ertrag (Tabelle 1: L) wurde zum ersten Boniturzeitpunkt (t1) Blattproben von den jeweils inokulierten Pflanzen genommen (Abbildung 5). Beim zweiten Boniturzeitpunkt (t2) wurden jeweils drei direkte Nachbarpflanzen gepoolt untersucht. Bei der dritten Bonitur (t3) wurde ein viertel Quadratmeter um die Punktinfektion herum geerntet und saftige Pflanzenteile gepoolt zur Analyse gegeben.

Vor allem die Infektorpflanzen waren zu diesem Zeitpunkt schon PNYDV-typisch nekrotisch abgestorben und somit für die Virusanalyse unbrauchbar, weshalb diese Ergebnisse bezüglich PNYDV als weniger repräsentativ einzuordnen sind.

Bei t1 unterschieden sich die früh inokulierten Ackerbohnen der Sorten 'Fuego' und 'Sunrise' nicht bezüglich des PNYDV-Nachweises. Beide Sorten waren zu 70% infiziert. Bei t2, sieben Wochen nach der frühen Inokulation, konnte bei 'Sunrise', im Gegensatz zu 'Fuego' keine Übertragung von PNYDV auf Nachbarpflanzen nachgewiesen werden. Die Sorte 'Sunrise' war für den Versuch gewählt worden, da sie im Epidemiejahr 2016 beim Saatgutproduzenten „Saatzucht Gleisdorf“ in Österreich weniger Symptome aufwies und ertraglich besser abschnitt, als andere Sorten. Die hier ermittelten Ergebnisse liefern einen Hinweis darauf, dass für diese Sorte zwar keine Resistenz gegenüber PNYDV vorzuliegen scheint, es aber einen Mechanismus bei der vektorvermittelten Virustransmission von infizierten Pflanze auf Nachbarpflanzen geben könnte, denn bei der Sorte 'Fuego' breitete sich PNYDV bei 20% der Punktinfektionen auf Nachbarpflanzen aus. Eine solch geringe Ausbreitung war in Anbetracht der hohen Besiedlungswerte mit fast 100 *A. pisum* je Pflanze (Abbildung 4-A) nicht zu erwarten, auch nicht im Zusammenspiel mit den besonderen klimatischen Bedingungen (Trockenheit).

Beim späteren Inokulationszeitpunkt der Sorte 'Fuego' stieg die Infektionsrate von t1 zu t2 an. Der besonders geringe PNYDV-Nachweis im Vergleich zu t1, könnte mit der kurzen Zeitspanne zwischen Inokulation und Nachtestung von lediglich 2 Wochen erklärt werden, dass also mehr Zeit bis zu systemischen Infektion benötigt wurde und die spätere Infektion eine schwächere Symptomausprägung und kein vorzeitiges nekrotisches Absterben und/oder Austrocknen hervorrief.

5.3 Nodulation

Virusinfektionen können sich bei Leguminosen negativ auf die Nodulation und damit auf die 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 (Adjei et al. 2002). Die vorliegende Studie konnte erstmals belegen, dass auch PNYDV die Nodulation schwächte und massiven Einfluß auf die Funktionen zur N-Bindung nahm. Während im Gewächshausversuch 2017 (Tabelle 1: D) die Masse der Knöllchen an Erbse durch die verschiedenen Behandlungen nicht signifikant reduziert wurde (Abbildung 6: A), was mit der sehr starken Streuung der Daten erklärt werden kann, zeigten aufgeschnittene Erbsenknöllchen jedoch, dass PNYDV die Rot- und Rosafärbung funktionaler

Knöllchen stärker reduziert, als PEMV oder in Kontrollpflanzen (Abbildung 7: A). An Ackerbohne war 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 negativ sowohl auf Knöllchenmasse als auch auf deren N-Fixierung aus.

Die on-farm Untersuchung an Ackerbohne (Tabelle 1: F) verifizierte 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 grüner Knöllchen war hier weitaus höher. Der grüne Farbstoff wird durch Biliverdin, ein Abbauprodukt des Leghämoglobins, hervorgerufen (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.

Die Auswirkung verminderter Nodulation ließ sich auch durch eine Isotopenanalyse nachweisen. In der Atmosphäre besteht weltweit ein stabiles Verhältnis von ^{15}N zu ^{14}N . In landwirtschaftlichen Böden treten in der Regel davon abweichende Verhältnisse auf. Der Wert DELTA Luft (‰) gibt den Unterschied des Verhältnisses von ^{15}N zu ^{14}N 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 N_2 -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 Stickstoff aus der Luft in ihr Gewebe assimiliert hatten, was auf eine geringere N_2 -Fixierung durch die Knöllchen schließen lässt.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass PNYDV-Infektionen einen deutlich negativen Einfluss auf die Nodulation 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.

5.4 Hyperspektrale Fernoptik

In den Jahren 2017 und 2018 wurden zwei hyperspektrale Aufnahmeserien von Ackerbohnen aus dem Gewächshaus mit unterschiedlichen Kamerasystemen erstellt (Tabelle 1: D, K). Die

Spektren der Ackerbohnen-Fiederblättchen sind alle typisch für Vegetation (Abbildung 10, Abbildung 11). 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 alleine. 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.

5.5 Multispektrale Fernoptik

Die multispektralen Drohnen-Aufnahmen der Praxisflächen in Nordhessen und am TI-OL, 2018 (Tabelle 1: F, G), ergaben, dass es möglich ist, mittels Vegetationsindices PNYDV-Nester signifikant von der Referenz abzugrenzen, obwohl die Einzelbänder keine signifikanten Unterschiede aufwiesen (Abbildung 14). Der GNDVI (Green Normalized Difference Vegetationindex) (Abbildung 15) und der CI (Chlorophyll Index) erwiesen sich als die derzeit passendsten Indices, mit den höchsten signifikanten Unterschieden. 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 sein können.

Ein Vergleich der hyperspektralen und multispektralen Befunde zeigt jedoch auch Widersprüche auf. Bei den hyperspektralen Aufnahmen verzeichneten die Pflanzen mit PNYDV-Befall in allen Wellenlängenbereichen eine stärkere Reflektion als die Kontrolle. Bei den multispektralen on-farm Aufnahmen wiesen die PNYDV-infizierten Pflanzen im Rededge- und NIR-Bereich hingegen geringere Reflektionswerte auf. Für diesen Widerspruch kann es verschiedene Gründe geben. Die hyperspektralen Aufnahmen wurden an Gewächshauspflanzen mit definiertem Infektionsstatus durchgeführt, unter anderen Umweltbedingungen als im Feld. Hinzu kam, dass bei den Drohnen-Aufnahmen der Boden unter dem Pflanzenbestand, auch geschlossenem

Bestand einen Einfluss auf die Reflektion hat. Dieser ist bei geringerer Pflanzenmasse stärker, unterscheidet sich also zwischen Kern und Referenz eines PNYDV-Nestes. Aber auch hier können das Alter der Pflanzen und der Virusstatus ursächlich gewesen sein. Spektrale Daten des PNYDV an Ackerbohne lassen sich demnach nicht ohne weiteres vergleichen. Wie sich die spektrale Information über die Zeit entwickelt, wird 2019 in einer Messreihe mittels Feldspektrometer untersucht werden.

5.6 Ertragsparameter

In Gewächshaus- und Feldversuchen, sowie in der on-farm Untersuchung wurde der Kornertrag erhoben. In allen Untersuchungen war der Ertrag von PNYDV-infizierten Pflanzen signifikant geringer, als jener der Kontrolle bzw. Referenz (Abbildung 16, Abbildung 17, Abbildung 18: A). Gewächshaus- und Feldversuch 2017 (Tabelle 1: E) zeigten keine Unterschiede im Rohproteingehalt der Körner, während auf den Praxisflächen (Tabelle 1: F, G) hingegen, der Erwartung entsprechend die Rohproteingehalte von der Referenz zum Rand und Kern hin signifikant abnahmen (Abbildung 18: B). Auf Ebene von Einzelpflanzen sind deshalb durch PNYDV-Einwirkung nicht nur starke Ertragseinbußen sondern zusätzlich auch geringere Rohproteinerträge zu erwarten.

Da bereits mit einfachen, digitalen Echtfarbbildern akzeptable Segmentierungsergebnisse für die Ausweisung von Schadflächen möglich waren (Saucke et al. 2018), sollten multispektrale Aufnahmen die Bildanalysemöglichkeiten wesentlich erweitern. Einen ersten Schritt stellte die Auswahl und Erprobung von Vegetationsindices in Korrelation mit den Kornerträgen dar (Abbildung 19). Mit dem GNDVI ergab sich eine erste, wenn auch schwache signifikante Korrelation. Das Jahr 2018 war zunächst von Spätinfektionen und eher moderaten PNYDV-Ertragseinbußen geprägt. Das Potenzial von GNDVI und anderen zu testenden Indices, soll deshalb weiter als Zeitreihe über den Infektionsverlauf verfolgt werden, um diese Methode weiter zu verbessern und ebenfalls durch Bildsegmentierung schlagbezogene Aussagen über den durch PNYDV-verursachten Ertragsrückgang machen zu können.

5.7 Frühdiagnostik

Die Ausbreitung von Virusinfektionen im Bestand kann, wenn überhaupt, nur durch frühzeitige Bekämpfung der Vektoren verhindert werden. Deshalb wurde der fernoptischen Frühdiagnostik ein besonderer Stellenwert beigemessen.

Allerdings erbrachte die on-farm Situation in 2017 zunächst keine verwertbaren Bilder und auch das Trockenjahr 2018 ließ keine auswertbaren Bilderzeitreihen an den drei Standorten zu (Spätinfektion Ackerbohne lieferte nur „gelbe“ Nester, ohne schwarzen Kern und gelben Rand, bzw. schlagartige (symptomlose) Abreife bei Erbsen). Für die Fortführung 2019 im BÖLN sind weitere Erhebungen on-farm und im Parzellenversuch geplant. Die Perspektiven der Erarbeitung einer PNYDV- „Frühdiagnostik“ als Fernziel hängt von verwertbaren Zeitreihen möglichst unter Feldbedingungen ab. Mit den vorliegenden methodischen Vorarbeiten erscheint die Zielerreichung weiterhin realistisch, vorausgesetzt, dass in der Saison 2019 entsprechende Rahmenbedingungen vorgefunden werden.

6 Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse

Nach der PNYDV-Epidemie im Jahr 2016 konnte das Virus im Folgejahr auf fast allen Praxisflächen nicht nachgewiesen werden; in der Saison 2018 war insbesondere auf Ackerbohenschlägen vermehrt PNYDV-Präsenz zu verzeichnen.

Interviews mit Praktikern im Rahmen der Projekte CYDNIGPRO & WP1 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 (Tabelle 3). Unter dem Eindruck der PNYDV-Epidemie 2016 nahmen in der Modellregion Nordhessen prophylaktische, gegen Virusvektoren und/oder Saugschäden gerichtete Insektizidanwendungen zu (s. Zwischenbericht WP1). Rückblickend lag für die Anbaupraxis aber weder in 2017 noch 2018 zwingende Bekämpfungswürdigkeit vor, bzw. wurden mögliche Ertragseffekte in 2018 von Trockenschäden dominiert. Insgesamt konnte im kontinuierlichen Ergebnisaustausch mit Beratung und Praxis Zurückhaltung bei Insektizidmaßnahmen gegenüber PNYDV-Vektoren kommuniziert werden.

Die Ergebnisverwertung zu allen übrigen Aspekten hängen sowohl von der weiteren Entwicklung der PNYDV-Situation in der Anbaupraxis, als auch von der Ergebnislage der Feldversuche ab. Folglich sollte der Abschluß der Verlängerung im BÖLN 2019 abgewartet werden, bevor weitere Empfehlungen abgeleitet werden.

Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Die Aufarbeitung epidemiologischer Sortenunterschiede zwischen den beiden Ackerbohnsorten 'Fuego' und 'Sunrise' sind teilweise Untersuchungsgegenstand in der Verlängerung 2019 im Rahmen des BÖLN.

7 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

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

Erbsen zu schließen. In Tabelle 4 ist die bisherige Ergebnislage zu allen Untersuchungspunkten für alle Versuchsstandorte qualitativ dargestellt.

- Insgesamt konnten die Versuche zeigen, dass PNYDV-Infektionen in Ackerbohnen zu Ertragsminderungen, beeinträchtigter Funktionalität von Wurzelknöllchen und geminderten luftbürtigen N-Anteilen in Pflanzentrockenmasse führen. Diese Effekte wurden durch die Präsenz von PEMV in Mischinfektion mit PNYDV teilweise verstärkt, aber nicht von PEMV allein hervorgerufen. Tendenziell treffen die Befunde auch für Sommererbsen zu, allerdings ist hier die Datenlage weiter zu vervollständigen.
- Im Sortenvergleich waren beide Sorten 'Fuego' und 'GL-Sunrise' prinzipiell PNYDV-infizierbar, unterschieden sich aber in der sekundären Ausbreitung der Infektion auf Nachbarpflanzen.
- Es konnten über hyper- und multispektrale Bildauswertungen erste Vegetationsindex-Ertrags-Korrelationen für Praxisflächen durchgeführt werden.

8 Literaturverzeichnis

- Abraham, A. D.; Varrelmann, M.; Vetten, J. H. (2012b): Three Distinct Nanoviruses, One of Which Represents a New Species, Infect Faba Bean in Ethiopia. In: *Plant disease* 96 (7), S. 1045–1053. DOI: 10.1094/PDIS-09-11-0734-RE.
- Chung, B. M., Canto, T., Tenllado F., Choi, K. S., Joa, J. H., Ahn, J. J., Kim, C. H., Do, K. S. (2016): The Effects of High Temperature on Infection by *Potato virus Y*, *Potato virus A*, and *Potato leafroll virus*. In: *Plant Pathol.J.* 32(4), S.321-328. DOI: 105423/PPJ.OA.12.2015.0259
- Drechsler, K. (2017): Vergleich der Vektoreignung verschiedener Blattlausarten zur Übertragung des Nekrotischen Erbsengelbverzweigungsvirus (Pea necrotic yellow dwarf virus, PNYDV). Masterarbeit. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- Froehlich, G. (1962): Das Verhalten der Grünen Erbsenblattlaus *Acyrtosiphon 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>.
- Giraudoux, P.; Antonietti, J.-P.; Beale, C.; Pleydell, D.; Treglia, M. (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.
- 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 insect-transmitted viruses in barley – an emerging challenge due to global warming. In: *Journal of Cultivated Plants* 61 (2), S. 53–61.
- 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.; Coeur 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.crv.2010.03.005.
- Klatt, S. (2008): Der Beitrag heimischer Leguminosen zur Stickstoffversorgung artenreicher Wiesen im westlichen Hunsrück (Rheinland-Pfalz). 1st ed. Göttingen: Cuvillier Verlag. Online verfügbar unter <https://ebookcentral.proquest.com/lib/gbv/detail.action?docID=5023381>.
- 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.
- Krüssel, S.; Zahn, V. (pers. com. 2019): Blattläuse als Virusvektoren in Ackerbohnen – Ergebnisse aus Gewächshaus- und Feldversuchen. Berichte aus den Bundesländern zum Auftreten von Schädlingen in Getreide, Mais und Leguminosen. 28. Tagung des Arbeitskreises „Schädlinge in Getreide, Mais und Leguminosen“, Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft. Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt. Braunschweig,, pers. com. 13.02.2019.
- 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 Virose in Körnerleguminosen. Anbau-Sortenempfehlungen & Virusproblematik. Aktuelle Anbauinformationen zu Körnererbse und Ackerbohne. Landwirtschaftliches Zentrum Eichhof. Bad Hersfeld,, pers. com. 14.12.2016.
- Nachappa, P., Culkun, C. T., Saya, P. M., Han, J., Nalam, V. J. (2016): Water Stress Modulates Soybean Aphid Performance, Feeding Behavior, and Virus Transmission in Soybean. In: *Front Plant Sci.* 7, S. 552-567. DOI: 10.3389/fpls.2016.00552
- Shearer, G.; Kohl, D. H. (1986): N₂-Fixation in Field Settings. Estimations Based on Natural ¹⁵N Abundance. In: *Aust J Plant Physio.* 13 (6), S. 699. DOI: 10.1071/PP9860699
- Saucke, H.; Uteau, D.; brinkmann, K.; Ziebell, H. (2018): Symptomology and yield impact of pea necrotic yellow dwarf virus (PNYDV) in faba bean (*Vicia faba* L. minor). In: *European journal of plant pathology* 96 (7), first online 12. Dec 2018. DOI: 10.1007/s10658-018-01643-5.
- 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*, S. 1–17. Online verfügbar unter https://link.springer.com/epdf/10.1007/s10658-018-01643-5?author_access_token=wfkMS8VjRcLg4Kz-NpGp2Pe4RwlQNchNByi7wbcMAY49BqyDszdxIxak-GSCul1dsjLHD4zen551RAC0fHXBIXhS9IPS3iLVV6Mc6kIxSiboc7fxFJ8MOIPry-DbHORlhL3K6wRMJXAM4_S5SBSzwa%3D%3D, zuletzt geprüft am 17.12.2018.

- 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.
- Yvon, M., Vile, D., Brault, V., Blanc, S., van Munster, M. (2017): Drought reduces transmission of *Turnip yellows virus*, an insect-vectored circulative virus. In: Virus Research 241, S. 131-136.
DOI: 10.1016/j.virusres.2017.07.009.
- 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.

9 Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen

2019

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

2018

Praktikertreffen-Witzenhausen – Projektvorstellung für die teilnehmenden Betriebe in Nordhessen:

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

Seeger, J.N.; 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

Seeger, J.N.; 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.