

VitiSmart: Sensor-gestützte Erfassung biotischer und abiotischer Stressfaktoren in der Rebenzüchtung

Rebecca HÖFLE

Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen

VitiSmart ist ein vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL), durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), gefördertes Projekt. Das Vorhaben, das in den vergangenen drei Jahren gefördert wurde, vereinte ein interdisziplinäres europäisches Team aus:

- (1) Deutschland: JKI Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof;
- (2) Frankreich: Université Reims Champagne-Ardenne (URCA), Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers (ESA Angers Loire), Institut National de la Recherche Agronomique (INRA);
- (3) Belgien: Universität Ghent;
- (4) Italien: Council for Agricultural Research and Economics (CREA), Fondazione Edmund Mach, MERUMALIA Soc. Agr. Semplice, Prosecco DOCG Produzentengemeinschaft Conegliano und Valdobbiadene;
- (5) Spanien: Universität der Balearischen Inseln, Cistus Mora, S. A.;
- (6) Niederlande: Groen Agro Control, Reichsuniversität Groningen;
- (7) Polen: Warschauer Naturwissenschaftliche Universität (SGGW);
- (8) Zypern: Technische Universität Zypern; (9) Vereinigtes Königreich: Fera Science Limited of Sand Hutton.

Das Verbundprojekt VitiSmart verfolgte als Hauptziel die Entwicklung eines flexiblen Weinbausystems, das in der Lage ist, sich schnell von abiotischem und biotischem Stress zu regenerieren. Um dieses Ziel zu erreichen, wurde in stetiger Zusammenarbeit mit den europäischen Partnern ein breites Spektrum an klassischen Sorten, pilzwiderstandsfähigen Sorten und Zuchtstämmen auf ihre Stresstoleranz untersucht.

Gemäß den Vorhersagen des Weltklimarates steigt die durchschnittliche globale Temperatur um 3-5 °C bis zum Ende des Jahrhunderts. Auf Grund dieses Klimawandels werden sich die Frequenz und die zeitliche und räumliche Ausdehnung von Extremwetterereignissen verändern. Agrarökosysteme, und damit auch der Weinbau, werden häufiger mit Extremwetterereignissen wie langanhaltenden Hitze- und Trockenperioden, sowie anschließendem Starkregen konfrontiert sein. Daraus resultieren zum einen abiotische Stresseinwirkungen auf die Pflanzen, zum anderen sind Pflanzenpathogene wie der Echte und Falsche Mehltau der Rebe, auf Grund ihrer kürzeren Generationszeit in der Lage, sich schneller an veränderte Bedingungen anzupassen und zeigen auf Grund dessen eine erhöhte Aggressivität gegenüber ihrer Wirtspflanze. Die Anpassung der europäischen Weinbausysteme an die sich ändernden Umweltbedingungen fordert von der Rebenzüchtung die Weiterentwicklung und Verbesserung klassischer Rebsorten, Evaluierung neuer Rebsorten und möglicherweise die Nutzung weiterer genetischer Ressourcen. Diese Anforderungen an die Rebenzüchtung erfordern

schlagkräftige Methoden zur Bewertung der Merkmalsausprägung und der damit zeiteffizienten Selektion geeigneter Genotypen.

Der Projektbeitrag des JKI umfasste hauptsächlich die Entwicklung zerstörungsfreier Methoden zur Erkennung verschiedener biotischer und abiotischer Schadbilder. Die sensor-gestützten Analysen erfolgten neben der Erfassung und Auswertung von digitalen Farbbildern (RGB), hauptsächlich mittels hochauflösender Hyperspektralkameras, mit denen die Reflektion der Blätter bzw. Beeren erfasst wird. Die Analysen beruhen auf der Erkennung von Unterschieden zwischen dem Reflektionsspektrum gesunder Blätter und im Unterschied dazu kranker/gestresster Blätter. In Abb. 1 ist dieser Unterschied in der Blattreflektion schematisch dargestellt.

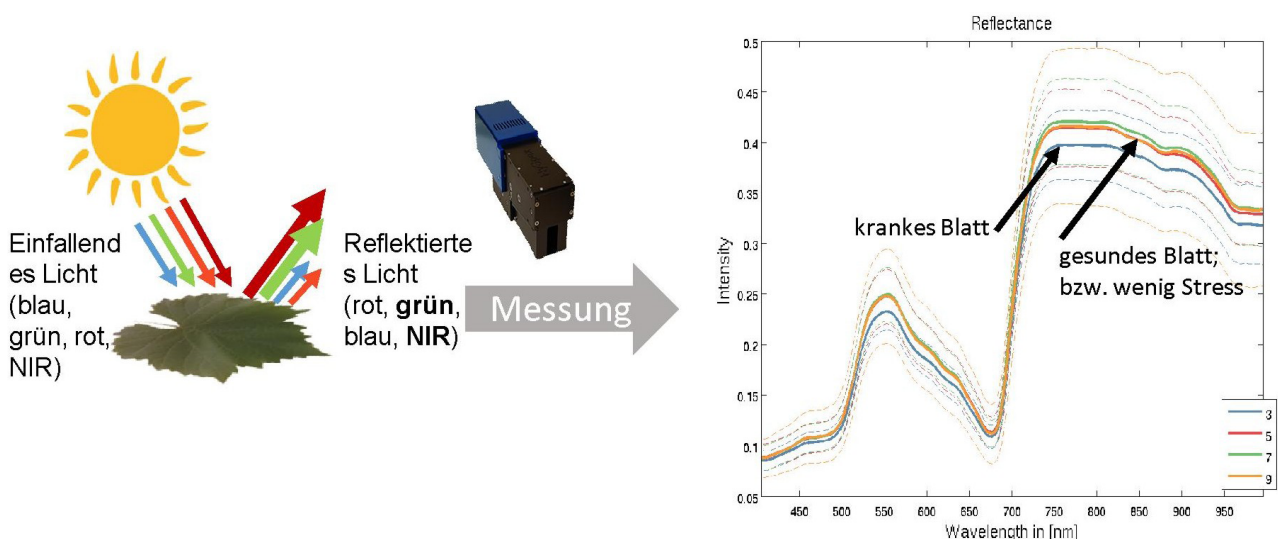


Abb. 1: Spektrale Signaturen (400 – 950 nm) von gesunden Blättern (orange; Klasse 9) und im Vergleich dazu von Blättern, die mit Falschem Mehltau inokuliert wurden (blau; Klasse 3 und Klasse 5, unterscheiden sich nicht).

Im Rahmen des Projektes konnte die methodische Grundlage für eine Aufnahme- und Auswerteroutine zur Detektion mit Falschem und Echtem Mehltau geschaffen werden. Die Entwicklung der Auswerteroutinen erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer-Institut für Fabrikbetrieb und - automatisierung (IFF) in Magdeburg. Im Zuge dieser Entwicklung wurden zahlreiche Rebsorten und Zuchtstämme mittels Infektionstests auf ihre Resistenz gegenüber Echtem und Falschem Mehltau untersucht. Die Hyperspektralmessungen erfolgten in regelmäßigen Abständen bis zum Zeitpunkt $t_7 = 7$ Tage nach Inokulation mit dem Pathogen. Die Untersuchungen wurden im Labormaßstab durchgeführt, der Aufbau der Versuche ist in Abb. 2 beispielhaft für die Blattscheibentests mit *Plasmopara viticola* (Falscher Mehltau) dargestellt. Zur Evaluierung der Sorten bzw. Zuchtstämme, wurden jeweils acht Blattscheiben untersucht, denen zur Zuordnung der Spektraldaten ein eindeutiger Name (ID) zugewiesen wurde (Abb. 2, oben rechts). Mit Hilfe der IDs konnten die Informationen in den Hyperspektralbildern den entsprechenden Blattscheiben zugeordnet werden. Zusätzlich zur Bildaufnahme wurden alle Blattscheiben visuell evaluiert. Zum einen erfolgte eine Resistenzbonitur nach OIV-Deskriptor 452-1 (Falscher Mehltau) bzw. 455-1 (Echter Mehltau), zum anderen jeweils mittels einer binoskopischen Bewertung des Befalls. Die erhobenen Boniturdaten wurden mit den Hyperspektraldaten verknüpft und dienten zur Erstellung eines Tools zur Erkennung der beiden Krankheiten.

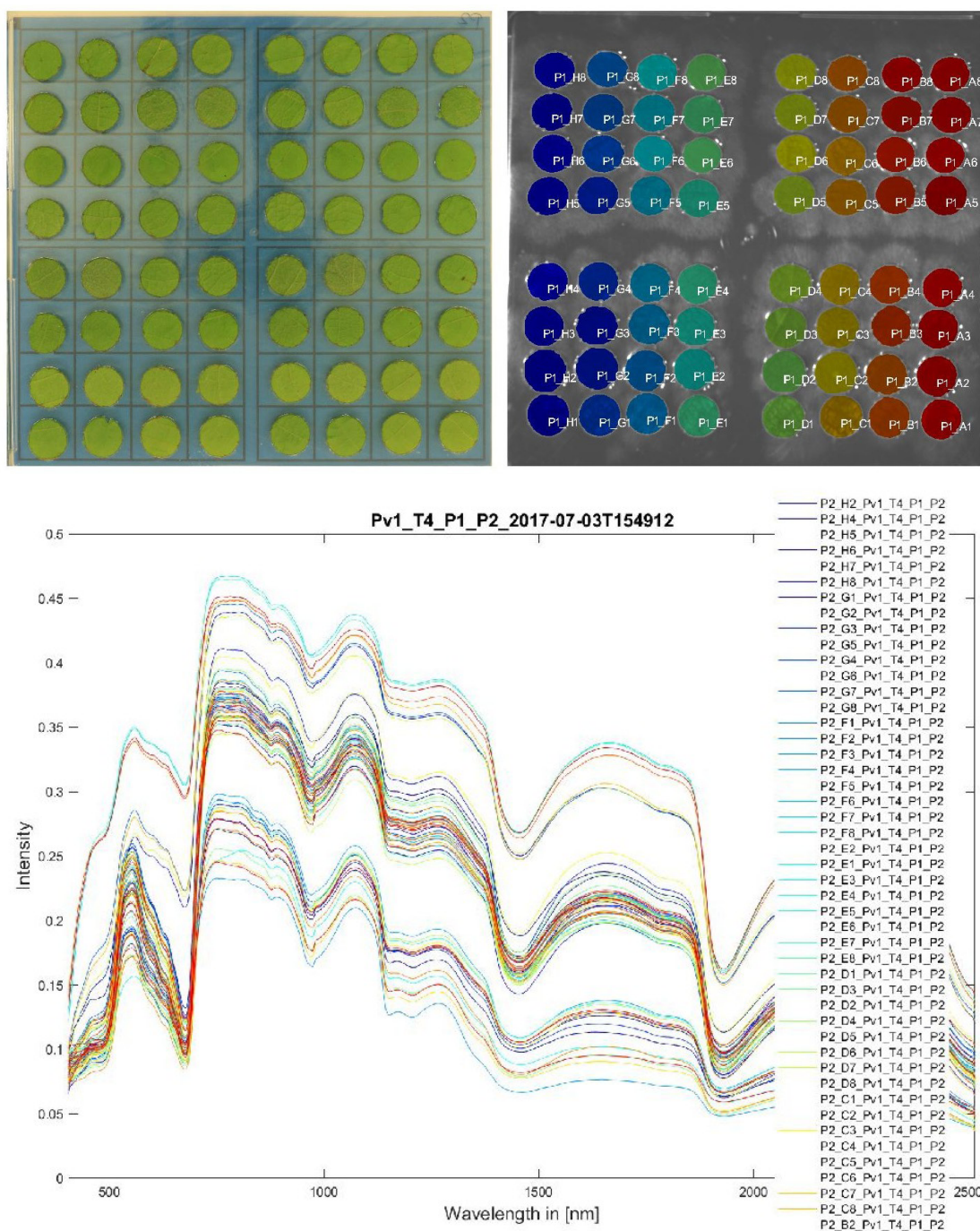


Abb. 2: Anordnung der Blattscheiben auf Wasser-Agar zur Inokulation mit Falschem Mehltau und Hyperspektralanalyse des Infektionsverlaufs (oben links). Zuweisung von IDs zu den einzelnen Blattscheiben (oben rechts) und den spektralen Signaturen der gekennzeichneten Blattscheiben (unten).

Im Rahmen des Projektes wurde die methodische Grundlage für eine Aufnahme- und Auswerterroutine zur Detektion von Infektionen mit Falschem und Echten Mehltau geschaffen. Die Genauigkeit, mit der mittels Hyperspektralanalytik eine Infektion erkannt werden kann, ist für den Falschen Mehltau in Abb. 3 dargestellt. Das entwickelte Hyperspektraltool ist in der Lage die beiden Gruppen (1) gesund und (2) krank voneinander zu unterscheiden (Abb. 3).

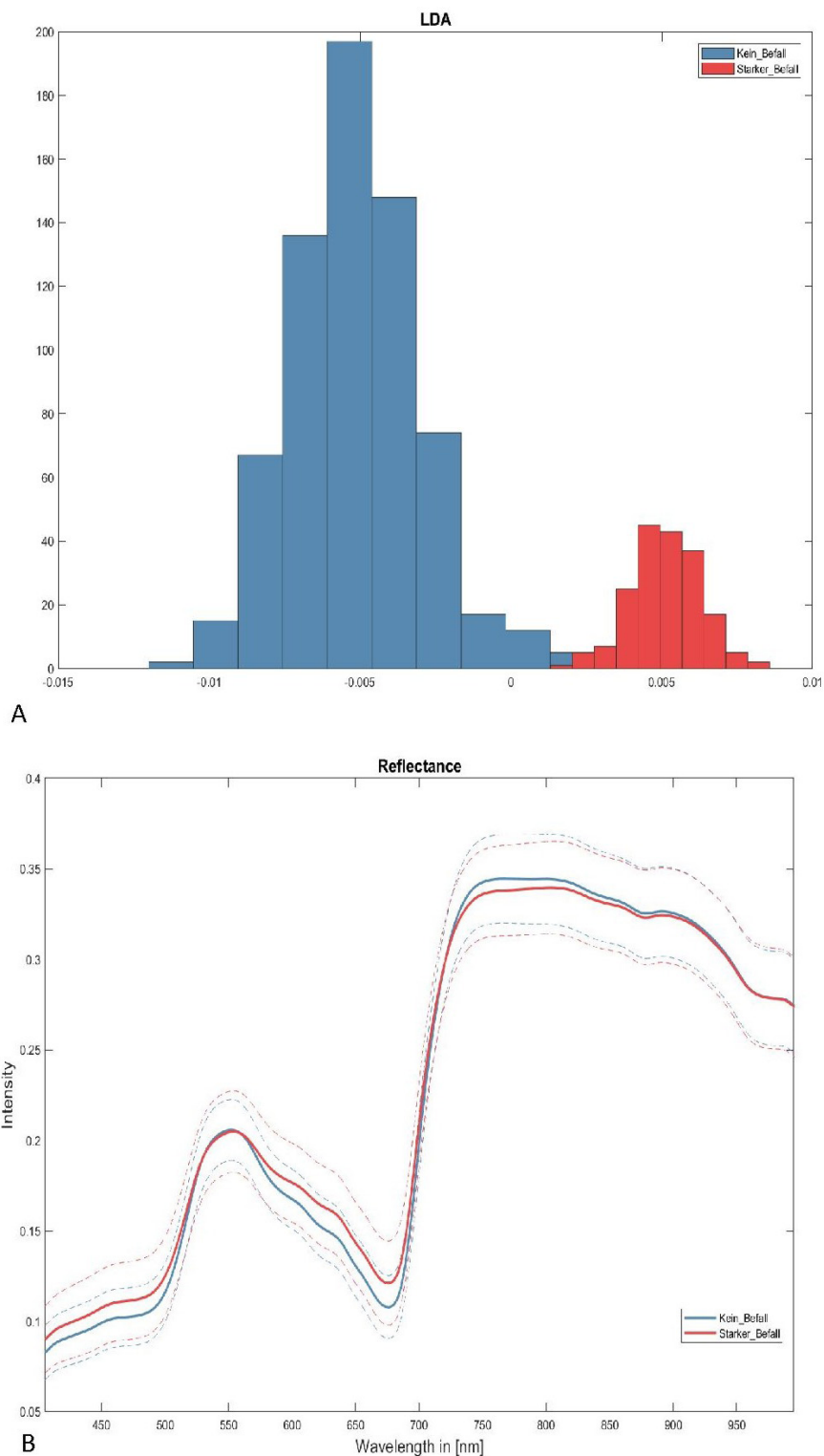


Abb. 3: **(A)**: Lineare Diskripanzanalyse (LDA) = statistisches Verfahren Dimensionsreduzierung komplexer Datensätze und Gruppierung der Daten. **(B)**: mittlere Reflektion der beiden Gruppen: gesunde Blattscheiben (blau) und infizierte Blattscheiben (rot).

Die Tools zur Erkennung von Mehltauinfektionen können nach weiterer Entwicklung und Evaluierung im Rahmen der Rebenzüchtung zur Auswertung künftiger Hyperspektraldaten eingesetzt werden und leisten damit einen wichtigen Beitrag zur zerstörungsfreien, zeitsparenden und objektiven Erfassung von Infektionen

mit Echtem und Falschen Mehltau. Des Weiteren wurde projektübergreifend die Grundlage für die Anwendung der Hyperspektralanalyse im Freiland geschaffen:

- (1) die Hyperspektralkameras wurden auch auf dem Phenoliner, einer Feldsensorplattform, etabliert und
- (2) die gewonnenen Informationen zur Hyperspektralanalyse und –auswertung können genutzt werden, um in weiteren Projekten sensorbasierte Entscheidungshilfen für das Freiland zu erarbeiten.

Besonders die Saison 2019 machte klar, dass Hitzestress in Form von Sonnenbrandschäden im Zuge des Klimawandels eine immer größere Bedeutung im Weinbau erhält. Die Erkennung von abiotischem Stress, erfolgte im Projekt VitiSmart am Beispiel von Hitzestress. Ziel war es einen Schnelltest für die Züchtung zu entwickeln, der es ermöglicht Züchtungsmaterial auf seine Reaktion gegenüber Hitzestress schnell und einfach zu testen. Zur Entwicklung der sensorbasierten Erkennungsmethode wurden standardisierte Labortests durchgeführt, während denen Einzelbeeren verschiedener Rebsorten einer achtstündigen Temperaturbehandlung von 45 °C ausgesetzt waren. Die Etablierung der Analyse mittels Hyperspektralkameras wurde an Beeren der Rebsorten BACCHUS (anfällige weiße Sorte), CHARDONNAY (unanfällige weiße Sorte), MONASTRELL (Anfälligkeit in Deutschland unbekannt) und CABERNET SAUVIGNON (unanfällige rote Sorte) durchgeführt. Zur Modellierung der Daten wurden die Verbräunungsreaktionen (Symptom des Hitzestresses) visuell erfasst und dokumentiert. Die Ausprägung der Stresssymptome wurde gemäß dem in Abb. 4 dargestellten Schema in fünf Klassen eingeteilt.



Abb. 4: Klassifizierung der Anfälligkeit gegenüber Hitzestress durch visuelle Bonitur. Klasse 9 = keine Läsion, d.h. unanfällig; Klasse 7 = 5 – 20 % Läsion, d.h. geringe Anfälligkeit; Klasse 5 = 21 – 50 % Läsion, d.h. mittlere Anfälligkeit; Klasse 3 = 51 – 75 % Läsion, d.h. starke Anfälligkeit; Klasse 1 = > 76 %, d.h. sehr starke Anfälligkeit.

Neben der spezifischen Erkennung von Hitzestress bzw. Sonnenbrandsymptomen an Beeren war neben der Abgrenzung von anderen Schadbildern, die frühe Erkennung der Symptome zu prüfen. Deshalb erfolgten die Messungen während der achtstündigen Temperaturbehandlung im Abstand von zwei Stunden. Parallel zur Hyperspektralanalyse wurden RGB-Bilder aufgenommen und mit einem bereits bestehendem Matlab-basierten Tool ausgewertet. Die Ergebnisse dieser Bildauswertungen zeigen einen deutlichen Sortenunterschied bei der Anfälligkeit gegenüber Hitzestress. Wie in Abb. 5 gezeigt, treten die ersten Verbräunungsreaktionen bereits nach zwei Stunden auf (Abb. 5 A). Insbesondere die Sorten BACCHUS und MONASTRELL zeigten bereits nach zwei Stunden Beeren, die zu über 50 % von braunen Läsionen betroffen waren. Demgegenüber waren die Beeren der Sorte CHARDONNAY auch nach acht Stunden bei 45 °C zu weniger als 50 % von Läsionen betroffen. Die Sorte CABERNET SAUVIGNON zeigte im Labortest erhebliche Symptome, jedoch erst nach sechs Stunden bei 45 °C (Abb. 5 B). Die statistische Auswertung bestätigte, dass sich die Sorten BACCHUS und MONASTRELL nicht signifikant voneinander unterscheiden, während sich sowohl CHARDONNAY, als auch CABERNET SAUVIGNON signifikant von allen anderen Sorten in ihrer Hitzestresstoleranz unterscheiden (Abb. 5 C).

Die Übertragbarkeit des standardisierten Labortests auf die Sonnenbrandanfälligkeit im Freiland, konnte unter den besonderen klimatischen Bedingungen 2019 geprüft werden. Teilweise zeigten sich in benachbarten Rebzeilen erhebliche Unterschiede, die auf die Sorte zurückzuführen sind, wie in Abb. 6 für die Sorten

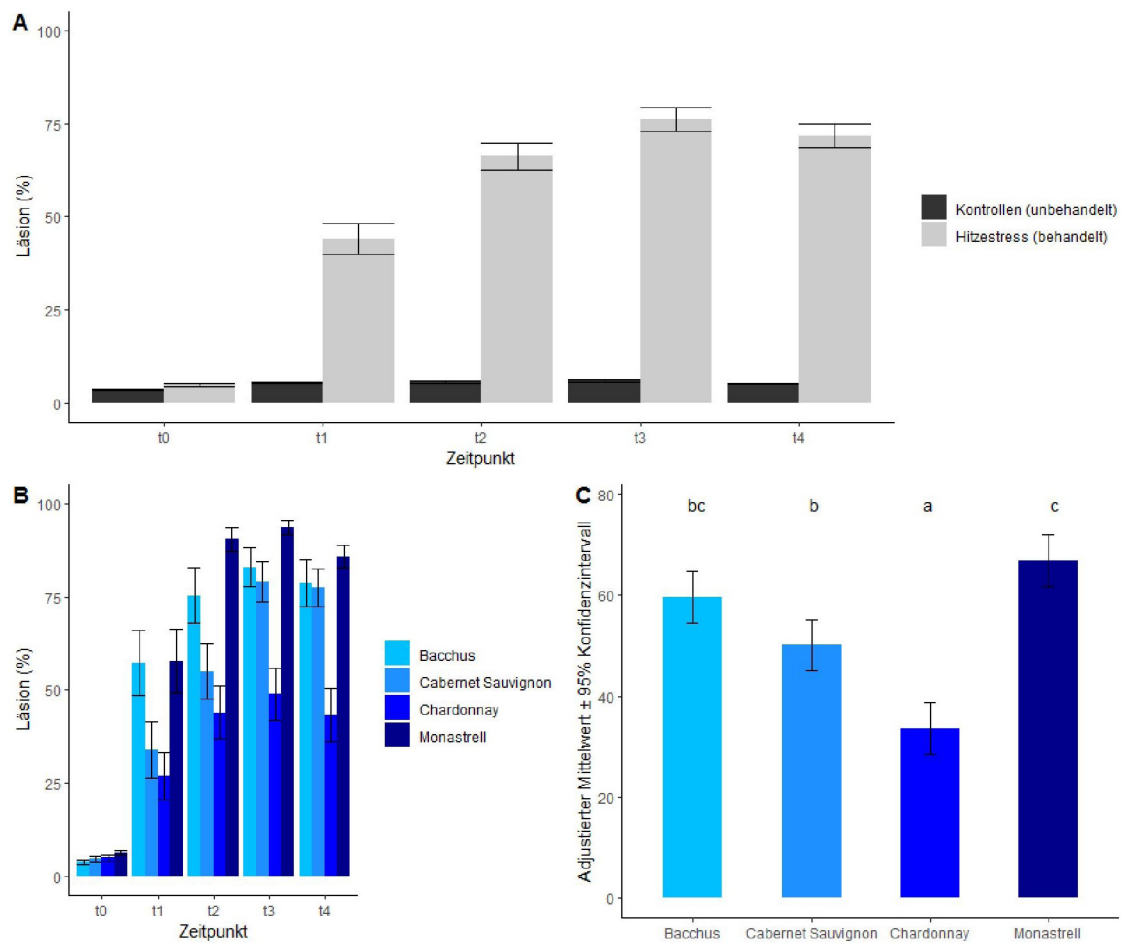


Abb. 5: Ergebnis Auswertung RGB-Bilder, als prozentualer Anteil brauner Läsionen an der gesamten Beerenoberfläche und Standardabweichung. A: Vergleich Kontrollen = nicht-behandelt (Raumtemperatur), und Hitzestress behandelte Varianten. B: Vergleich der vier Sorten zu allen Zeitpunkten; Zeitpunkte: t_0 = vor Behandlung, t_1 = nach 2 Std, t_2 = nach 4 Std, t_3 = nach 6 Std, t_4 = nach 8 Std. Anteil brauner Läsionen an der Beerenoberfläche und Standardabweichung. C: Vergleich der adjustierten Mittelwerte der Anteile an Läsionen an der Beerenoberfläche aller vier Sorten und Konfidenzintervall (95 %), alle Sorten mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.



Abb. 6: Rebzeilen der gleichen Parzelle, mit unterschiedlichen Sorten bestockt. A: CALARDIS BLANC (unanfällig); B: PHOENIX (mittlere Anfälligkeit); C: GF.GA-42-52 (starke Anfälligkeit). (Foto: JKI Siebelingen).

CALARDIS BLANC (kein Sonnenbrand), PHOENIX (30 bis 50 % Sonnenbrand) und GF.GA-42-52 (80 bis 100 % Sonnenbrand) gezeigt.

Die dargestellte Erkennung auf Basis von RGB-Bildern kann lediglich bereits sichtbare Symptome detektieren, die darüber hinaus nicht von anderen Stressfaktoren differenzierbar sind. Um eine spätere Übertragbarkeit der Analysen ins Freiland zu gewährleisten, wurde das Hyperspektraltool zur spezifischen Erkennung von Hitzestresssymptomen entwickelt.

Das Hyperspektraltool zur Erkennung von Hitzestress, ist in der Lage die Stresssymptome zu erkennen. Des Weiteren konnten die Beeren mit Hilfe der Modellierungen zu den fünf Klassen der visuellen Bonituren zugeordnet werden. Die korrekte Zuordnung zu den fünf Klassen (repräsentieren die verbräunte Oberfläche der Beeren) gelingt bereits nach zwei Stunden mit einer Genauigkeit von 90 % (90 % der Beeren wurden vom Tool zur selben Klasse zugeordnet wie bei der visuellen Bonitur – das Tool hat damit korrekt entschieden). Damit könnte der entwickelte Labortest und die Auswerterroutinen für künftige Hitzestresstoleranzprüfungen in der Rebenzüchtung eingesetzt werden.