

Nutzung von PCR-Sonden zur Saatgutkontrolle am Beispiel von *Peronospora valerianellae* und *Peronospora swinglei* s.l.

F. BRÄNDLE, H.-J. SCHÄRER, L. PENZKOFER und M. THINES

Trotz intensiver Bemühungen auf den Gebieten der Resistenzzüchtung, Pesticidentwicklung und Optimierung des Anbaus sind die, durch Pflanzenkrankheiten verursachten, Ertragsverluste beachtlich. Häufig werden die Krankheitserreger, infolge des ständig zunehmenden internationalen Warenverkehrs verschleppt und verursachen in bisher befallsfreien Gebieten erhebliche Schäden. Ein typisches Beispiel hierfür ist die Epidemiologie von *Peronospora swinglei* s.l., der Falsche Mehltau des Basilikums. Der saatgutbürtige Erreger wurde in Europa erstmals 2001 in der Schweiz an afrikanischer Importware diagnostiziert. Seit dieser Zeit bereitet sich der Erreger immer weiter aus. Neben Deutschland (Erstauftreten 2002) und Frankreich (Erstauftreten 2003) ist vor allem Italien betroffen (Erstauftreten 2003). Eine Ausbreitung in weitere Anbaugelände wie Nordamerika oder Asien mit entsprechenden Ertragsverlusten ist zu befürchten. Ein weiteres Beispiel ist *Peronospora valerianellae*, der Falsche Mehltau an Feldsalat, der seit den 70er Jahren in Frankreich und seit den 80er Jahren in Deutschland immer wieder für Ertragsausfälle verantwortlich ist.

Risiko:

Grow-out Test und Schütteltest

Im Gegensatz zu Viren, die sich mit Hilfe von Antikörper-basierten Tests gut im Saatgut nachweisen lassen, stehen zur Detektion vieler relevanter Pilze und Bakterien meist nur Grow-out Tests bzw. der Schütteltest zur Verfügung. Beispiel Grow-out beim Feldsalat: 400 Samen werden einzeln zur Keimung gebracht und in der nachfolgenden Jungpflanzenphase unter für das Pathogen optimalen Bedingungen angezogen, bonitiert wird ab dem 17. Tag. Der Test endet mit dem 28. Tag. Beispiel Schütteltest beim

Feldsalat: Es werden jeweils 100 Samen zusammen in Wasser aufgeschüttelt und das Waschwasser wird anschließend unter dem Mikroskop vollständig auf das Vorhandensein von Oosporen untersucht. Diese bisher eingesetzten Methoden zur Saatgutkontrolle sind zeitaufwendig, kostenintensiv und konnten zudem eine weitere Ausbreitung des Erregers nicht verhindern.

Alternative: PCR

Um eine verbesserte Nachweissicherheit zu erreichen, wurde in Vergangenheit die Technik der Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) zur Detektion von Schaderregern eingesetzt. Dieser auf der Vervielfältigung von Erbgut basierten Technologie, genügen schon wenige Moleküle des gesuchten Organismus um eine sichere Aussage erreichen zu können. Die Analyse benötigt darüber hinaus wenig Zeit (max. 3 Tage) und ist durch Automatisierung für die Beprobung größerer Saatgutmengen bestens geeignet. Probleme bereitet jedoch die genaue Differenzierung von genetisch sehr homogenen Gattungen wie z.B. *Xanthomonas campestris*, *Fusarium* aber auch verschiedene Oomyceten. So dass die PCR-Technik trotz der zahlreichen Vorteile gegenüber den beschriebenen klassischen Techniken noch nicht routinemäßig eingesetzt wird.

PathoScan hat ein Verfahren entwickelt mit dem es gelingt dieses Problem zu lösen. Dadurch ist es möglich auch sehr eng verwandte Arten der PCR-Diagnostik zugänglich zu machen. Beispiel *Per. swinglei* s.l.: Mit unserem PCR-basierte Nachweis erhielten wir in einem Vergleichstest mit Erbgutproben von *Ocimum basilicum*, *Peronospora tabacina*, *Pseudoperonospora humuli*, *Phytophthora infestans* und *Botrytis cinerea* nur

mit dem Erbgut von *Per. swinglei* s.l. ein positives Testergebnis. Unser Entwicklungsverfahren ist übertragbar und ermöglicht daher die rasche Entwicklung neuer spezifischer PCR-Nachweise für eine Vielzahl von Erregern. Beispiel *Per. valerianellae*: In einem Vergleichstest wurden, neben zahlreichen weiteren Oomyceten, die oben aufgeführten Erbgutproben eingesetzt. Ergebnis: Nur für *Per. valerianellae* konnte ein positives Testergebnis erhalten werden.

Praxistest Saatgut

Per. swinglei s.l.: Aus der Epidemiologie des Falschen Mehltaus des Basilikums zogen wir den Schluss, dass Saatgutchargen in großem Umfang kontaminiert sein müssen. In der Saison 2006/2007 haben wir daher 25 Saatgutproben unterschiedlicher Herkünfte und Sorten untersucht. Ergebnis: 17 Proben wurden positiv getestet. Mit einer weiteren Ausbreitung des Erregers und den damit verbundenen Ertragsverluste ist daher zu rechnen.

Per. valerianellae: In einem ersten Praxistest wurden zwei Saatgutchargen beprobt, beide zeigten eine Kontamination mit dem Erreger. Im Vergleich dazu zeigte der Grow-out keinen erkennbaren Befall an. Wie das Beispiel zeigt, kann durch den Einsatz der PCR die Nachweisgrenze, die im Fall des Grow-out Tests bei Feldsalat bei 1 infizierter auf 100 gesunde Samen liegt, unterschritten werden.

Ergänzend zur bisherigen qualitativen Aussage ist die Adaption unserer Nachweise auf die Real-Time-PCR Technik geplant. Zielsetzung hierbei ist zum einen eine genaue quantitative Aussage über die Kontamination zu erreichen, zum anderen soll die Vitalität der Erreger erfasst werden.

Autoren: Dr. Frank BRÄNDLE und Dr. Marco THINES, PathoScan GbR, Garbenstraße 30, D-70593 STUTTGART; Dipl.-Ing.agr. Hans-Jakob SCHÄRER, Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL), Ackerstraße, CH-5070 FRICK; Lena PENZKOFER, TU München, Arcisstraße 21, D-80333 MÜNCHEN

