

Saatgut-Testmethoden für Falschen Mehltau an Feldsalat

Schaerer, H.J.¹, Penzkofer, M.², Reents, H.-J.³ und Braendle, F.⁴

Keywords: Seed-health-test, Peronospora valerianellae, PCR-detection

Abstract

Peronospora valerianellae is one of the most important pathogens of corn salad. It is seedborne and besides seed treatments there is no possibility to control the disease. The wash-off-test and the grow-out-test are currently in use to test seed lots for the presence of the pathogen. Despite these test methods, there are still seed lots that show infected plants during production of corn salad. This indicates that a low infection rate of a seed lot (< 0.25% - 1%) may lead to serious problems in grower's production units. To allow an improved identification of seed lots with low infection rate, a specific PCR-based detection method for P. valerianellae was developed. Three test methods were compared for their efficacy to detect contaminated seed lots. Six out of seven seed lots not showing contamination in the standard grow-out test were identified as contaminated. With an extended grow-out test, it was possible to confirm these results from the PCR-test. The PCR based test for P.valerianellae on seed offers the possibility to detect the pathogen below the actual detection limits.

Einleitung und Zielsetzung

Befall mit falschem Mehltau an Feldsalat (*Peronospora valerianellae*) tritt in fast allen Produktionsbetrieben regelmässig im Winterhalbjahr auf (Penzkofer 2008). Trotz der Durchführung sämtlicher vorbeugender Maßnahmen, wie Sorten- und Standortwahl, aber auch Hygienemaßnahmen bei der Saatgutgewinnung und -aufbereitung kann selten gewährleistet werden, dass 100 % pathogenfreies Saatgut zur Verfügung steht. Die Ursache hierfür liegt hauptsächlich in der Biologie des Parasiten begründet. Zum einen bringt es die obligat biotrophe Ernährungsweise von *P. valerianellae* mit sich, dass die Infektion über weite Stecken makroskopisch nicht sichtbar ist. Zum anderen ist der Oomycet in der Lage alle Gewebeteile einschliesslich der Früchte zu befallen. Das bedeutet für die Saatgutgewinnung, dass auch von gesund aussehenden Pflanzen kontaminierte Samen geerntet werden können. Die bisher zur Verfügung stehenden Möglichkeiten um Feldsalat-Saatgut auf *Peronospora*-Befall zu testen sind die Oosporen-Abwasch-Methode (ISTA 1984), sowie ein standardisierter Grow-Out-Test (Guenard et al. 2002). Zielsetzung der Untersuchung war es, die bisherigen Methoden zu validieren und sie mit einem neu entwickelten PCR-basierten Nachweissystem zu vergleichen.

Methoden

Im Grow-Out-Test wurden Keimlinge unter standardisierten Bedingungen angezogen und nach 21 d und 28 d auf Sporulation an Keimblättern untersucht. Die Grow-Out-Methode wird als zusätzlicher Test zum Oosporen-Abwasch empfohlen, um die Vitalität der für den Befall mit Falschem Mehltau verantwortlichen Oosporen zu prüfen. Bei der Entwicklung des PCR-gestützten Nachweises wurden Sporangien von

¹ FiBL, Ackerstrasse, 5070 Frick, Schweiz, hans-jakob.schaerer@fibl.org, www.fibl.org.

² Am Bräuberger 8, 85410 Haag a. d. Amper, D, lena.penzkofer@gmx.de

³ Lehrstuhl für Ökologischen Landbau, TU München, 85350 Freising, D, reents@wzw.tum.de

⁴ Pathoscan, Garbenstraße 30, 70593 Stuttgart, D, braendle@pathoscan.de, www.pathoscan.com

verschiedenen Feldisolaten eingesetzt um artspezifische DNA-Marker zu identifizieren. Die Artspezifität der ausgewählten Marker wurde mit naheverwandten Oomyceten sowie verschiedenen Feldsalatproben aus konventionellem Anbau durchgeführt. Da keine Kreuzreaktionen festgestellt wurden, konnte umgehend mit dem Praxistest an Feldsalatsaatgut begonnen werden. Die gesamte Menge je Probe wurde mit Hilfe einer Schüttelmühle homogenisiert und einer DNA-Extraktion unterzogen. Die gewonnenen DNA-Lösungen wurden anschließend auf Quantität und Reinheit geprüft und nachfolgend einer Test-PCR mit Standardmarkern unterzogen. Nach Abschluss der Vorprüfungen konnten die Proben dem eigentlichen PCR-gestützten Nachweis unterzogen werden.

Ergebnisse

Mit dem Grow-Out-Test konnten Posten ab einem Befallsgrad von 5% eindeutig erkannt werden. Ein Befallsgrad von 1% lag an der Nachweisgrenze, in einzelnen Wiederholungen und in einzelnen Testserien konnte kein Befall beobachtet werden. Durch die Versuche mit elf unterschiedlich stark kontaminierten Feldsalat-Saatgutposten mit Hilfe des Grow-Out-Tests konnte festgestellt werden, dass diese Methode für den Nachweis schwach verseuchter Saatgutposten unzureichend ist. Für den PCR-gestützten Nachweis wurden 7 Saatgutposten herangezogen, die im Grow-Out-Test negativ waren (Befallsrate < 1%). Es zeigte sich, dass 6 Posten eindeutig kontaminiert waren.

Diskussion und Schlussfolgerungen

Die vorliegende Untersuchung hatte zum Ziel, verschiedene Methoden der Gesundheitsprüfung von Feldsalatsaatgut hinsichtlich der Nachweisgrenze und Sicherheit der Resultate zu vergleichen. Als einzige Methode konnte mit dem PCR-gestützten Test eine Nachweisgrenze von < 1% Kontamination erreicht werden. Durch die Möglichkeit von Parallelprüfungen und Vergrößerung der eingesetzten Saatgutmenge kann die Aussagesicherheit des Tests zusätzlich erhöht werden. Da für den PCR-gestützten Test DNA eingesetzt wird, kann bisher keine Aussage über die tatsächliche Infektionswahrscheinlichkeit getroffen werden, hier ist der Grow-out-Test deutlich im Vorteil. Diese Lücke soll zukünftig durch die Entwicklung eines ergänzenden molekularbiologischen Aktivitätstest geschlossen werden.

Danksagung

Diese Arbeit wurde vom Coop Fonds für Nachhaltigkeit unterstützt.

Literatur

- ISTA (1984): Handbook on seed health testing. Working sheet No. 51 Corn salad (*Valerianella locusta*), mildew (*Peronospora valerianellae* Fuckel)
- Penzkofer, M. (2008): Falscher Mehltau (*Peronospora valerianella* Fuckel) an Feldsalat (*Valerianella locusta* (L.) Laterr.): Nachweis auf schwach verseuchten Saatgutposten und Einfluss von Anzuchtbedingungen auf den Keimlingsbefall. – Diplomarbeit TU München-Weihenstephan.
- Guenard, M., de Vogel R., Olivier V., Koenraad H., de Koning J., Wijkamp I. and Serandat I. (2002) Detection of viable *Peronospora valerianellae* in corn salad seeds. 4th ISTA-PDC Seed Health Symposium. Wageningen. The Netherlands.