



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,
Bildung und Forschung WBF

Agroscope

Projekt «HealthyStart»: Nachweis von samen- und bodenbürtigen Getreidekrankheiten zur Reduzierung von Pflanzenschutzmitteln und zur Förderung von unbehandeltem Saatgut

Karen Sullam und Cecilia Panzetti

FG Molekulare Ökologie

19 September 2024

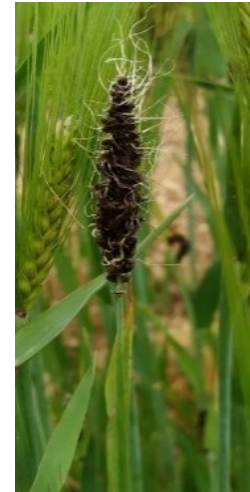


Traktanden

- Projektziele
- Zeitlicher Ablauf
- Projektstand und neue Ergebnisse
- Nächste Schritte
- Feedback und Diskussion



Cecilia Panzetti
Doktorandin



Cecilia Panzetti, Agroscope



Cecilia Panzetti, Agroscope



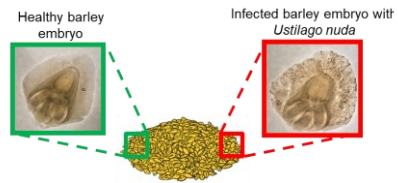
Gabriela Brändli, Agroscope

Einführung und Projektziele



Synthetische
Pflanzenschutzmittel

Strikt samenbürtige Krankheiten



Bodenbürtige Krankheiten



Molekular
Nachweisen

Ziele

- Entwicklung und Optimierung von molekularen Methoden (quantitativ PCR) von Flugbrand, Stink- und Zwergbrand, und Schneeschimmel
- Anwendung der Tools

Die in diesem Projekt erarbeiteten Tools tragen dazu bei, dass

- 1) die im Getreide vorhandenen Krankheiten und auch das Infektionspotential reduziert werden und dass
- 2) der Getreideanbau ohne den Einsatz von chemischen PSM gefördert wird

Methodenentwicklung

- Optimieren von molekular Methoden (quantitative PCR) von:
 - Flugbrand:
 - Keimling – Fokus im 2022-2023 ✓
 - Saatgut – Fokus im 2022-2024 ✓
- Methodenoptimierung zur Extraktion **IB** von Brandsporen aus dem Boden
 - Zwerg- und Stinkbrand (vom Boden)
 - Schneeschimmel (vom Boden)

Implementierung

- Was bedeuten die molekularen Messungen?
 - Schwellenwertbestimmung (Vergleich mit Infektion im Feld)
 - Flugbrand:
 - Keimling – Fokus in 2022-2023 ✓
 - Saatgut – Fokus in 2022-2024 ✓
 - Rès0sem Ernte **IB**
- Einfluss von biotischen und abiotischen Faktoren auf die epidemiologische Entwicklung und deren molekularen Nachweis
 - Zwerg- und Stinkbrand (vom Boden) **IB**

Stand – Teil 1



Ziel	Jahr															
	1				2				3				4			
	Monat															
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48
1) Entwicklung neuer Nachweismethoden (Diagnostik)																
a) Neue qPCR Optimierungsmethoden und Identifizierung optimaler Zielgene / Primerdesign																
Analysieren von Gensequenzen samenbürtiger Pathogene zur Identifizierung der besten Primer																
Test neuen Primers																
Optimierungsmethoden für Bodenproben mit Topfversuchen																

- Tests für Flugbrand wurden in unseren (Saatgut- und Keimlings) Versuchen angewandt.

Zertifiziertes Saatgut und Flugbrandbefall

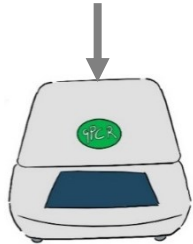
Feldbesichtigungen



5 $\frac{\text{befallene Ähren}}{100 \text{ m}^2}$



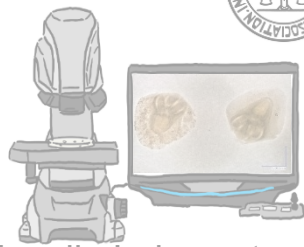
geerntetes
Saatgut



Zertifizierungsbestätigung mit
molekularem Nachweis auf Saatgut



Visuelle Laboruntersuchung
mit Embryotest



1 $\frac{\text{befallener Embryo}}{1000}$

- Schwierig nachzuweisen
- Zeitaufwändig
- Umwelteinfluss (z. B. abgewaschene Teliosporen, Infektion von umliegenden Feldern)

Ziele

- Optimierung der Nachweismethode: Zeitaufwand und Fehler reduzieren
- Entwicklung eines Protokolls, das in der Praxis und im grossen Massstab anwendbar ist

Flugbrand Saatgutversuch

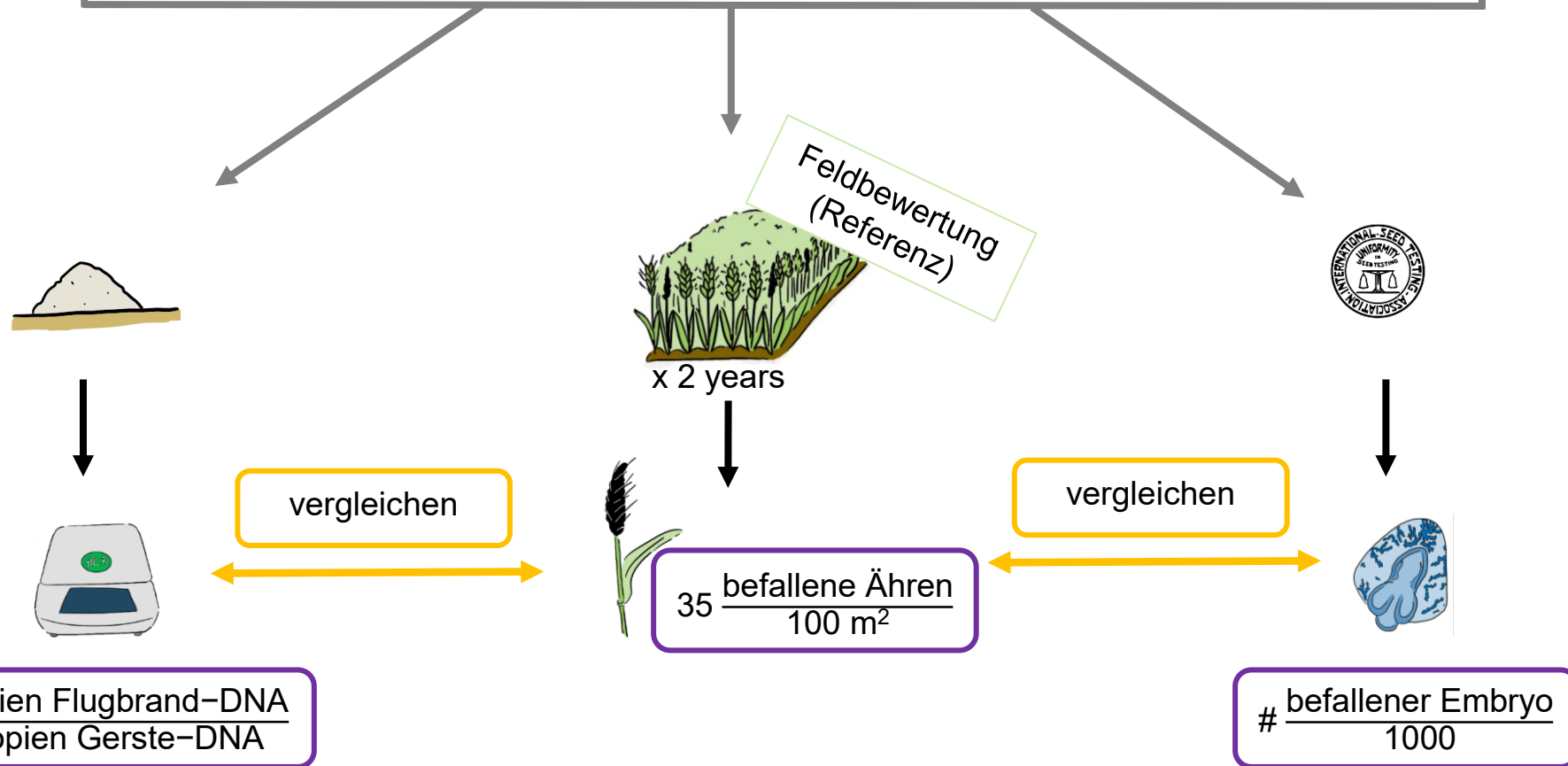
gesunder Posten befallener Posten 10% bef. + 90% gesund. 1% bef. + 90% gesund.



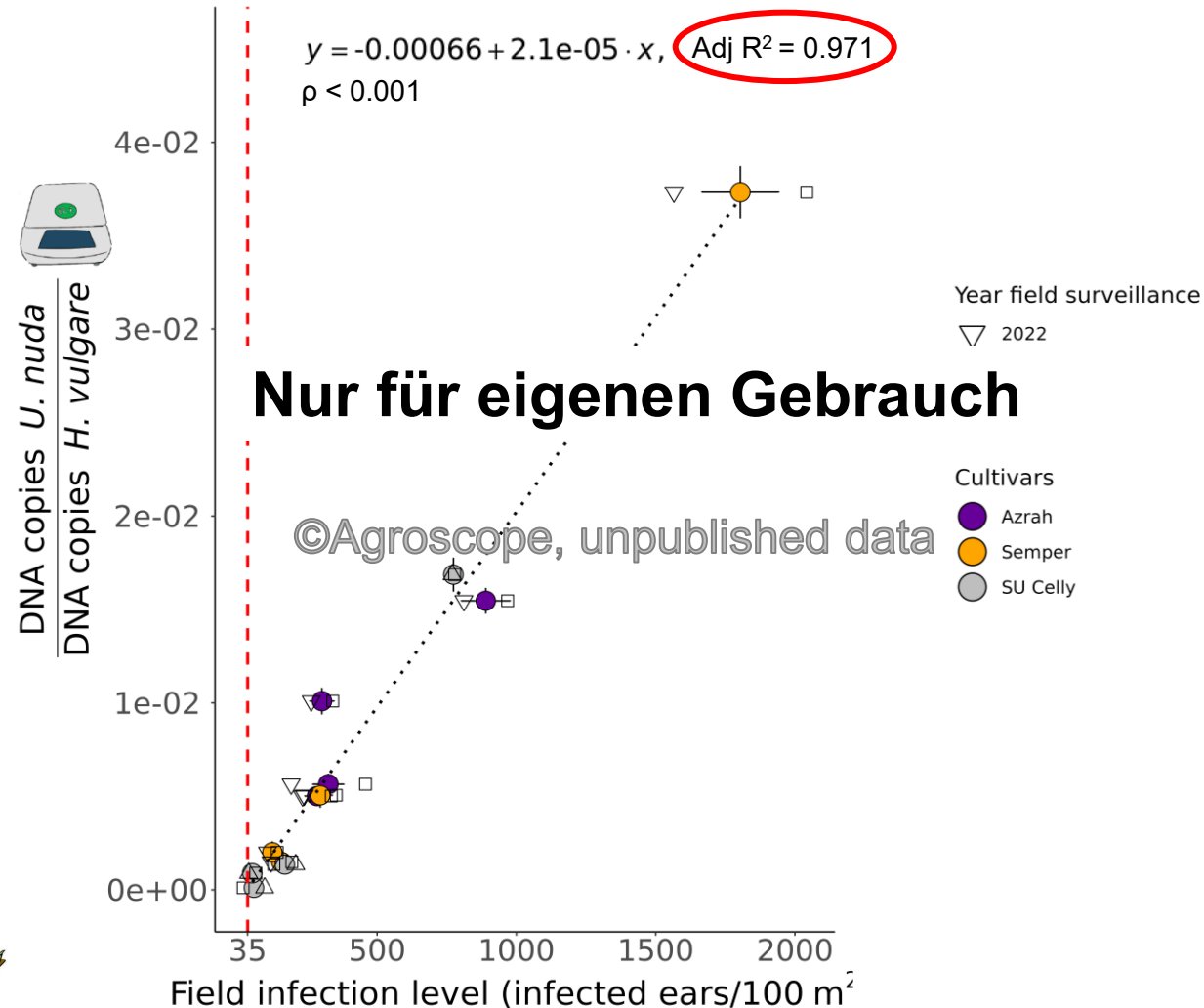
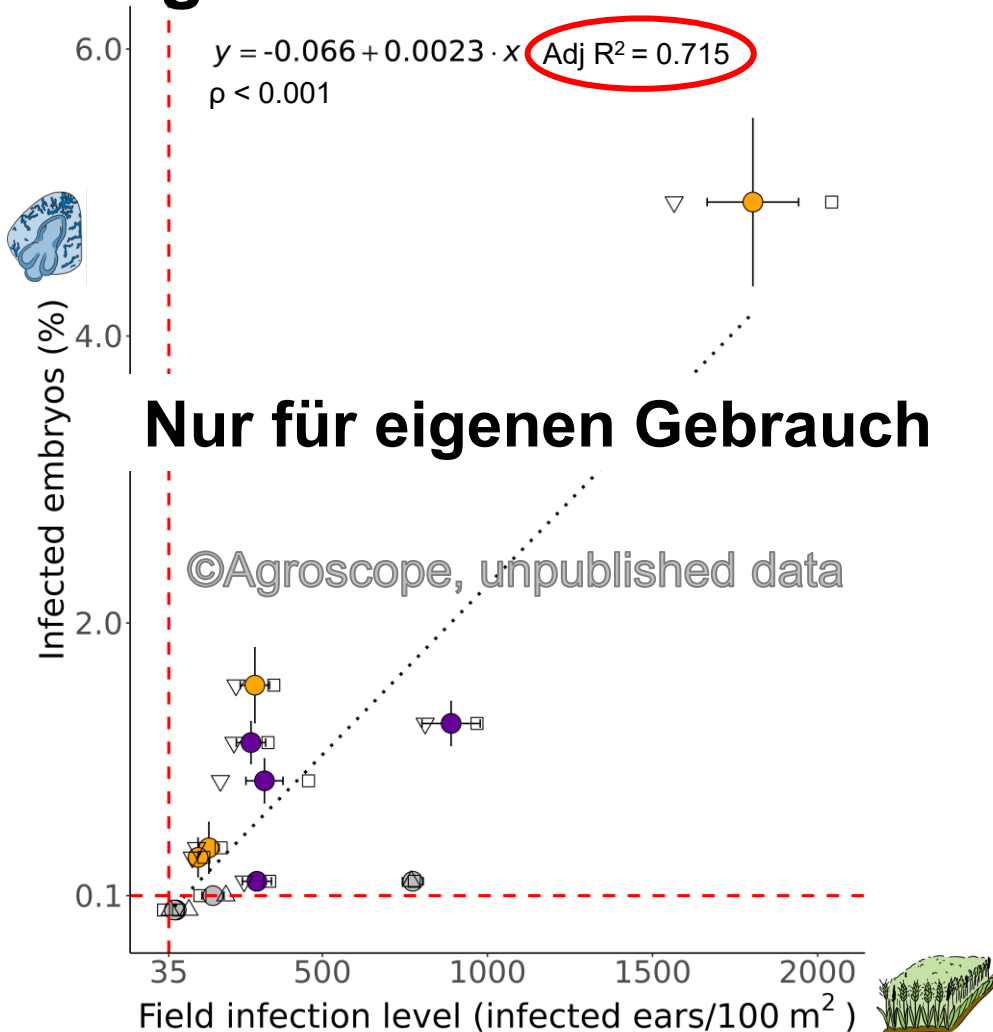
3 Sorten getestet

Ziele:

- 1) Die Beziehung zwischen den Feld- und den Labormethoden herstellen
- 2) Ableitung eines qPCR-Schwellenwerts



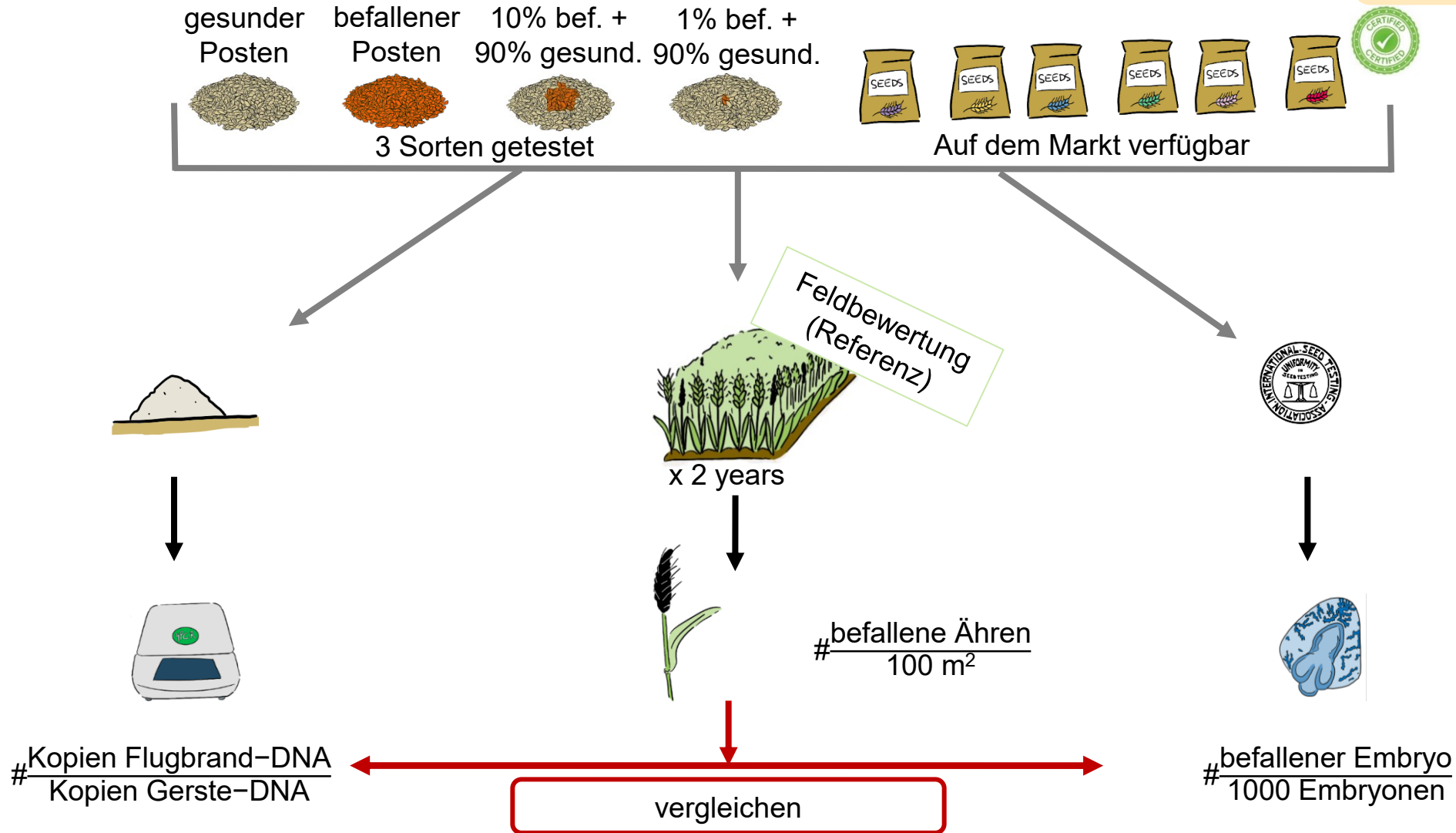
Ergebnisse



Der Nachweis von Flugbrand mit qPCR korreliert stärker mit den Ergebnissen im Feld als der Embryotest.

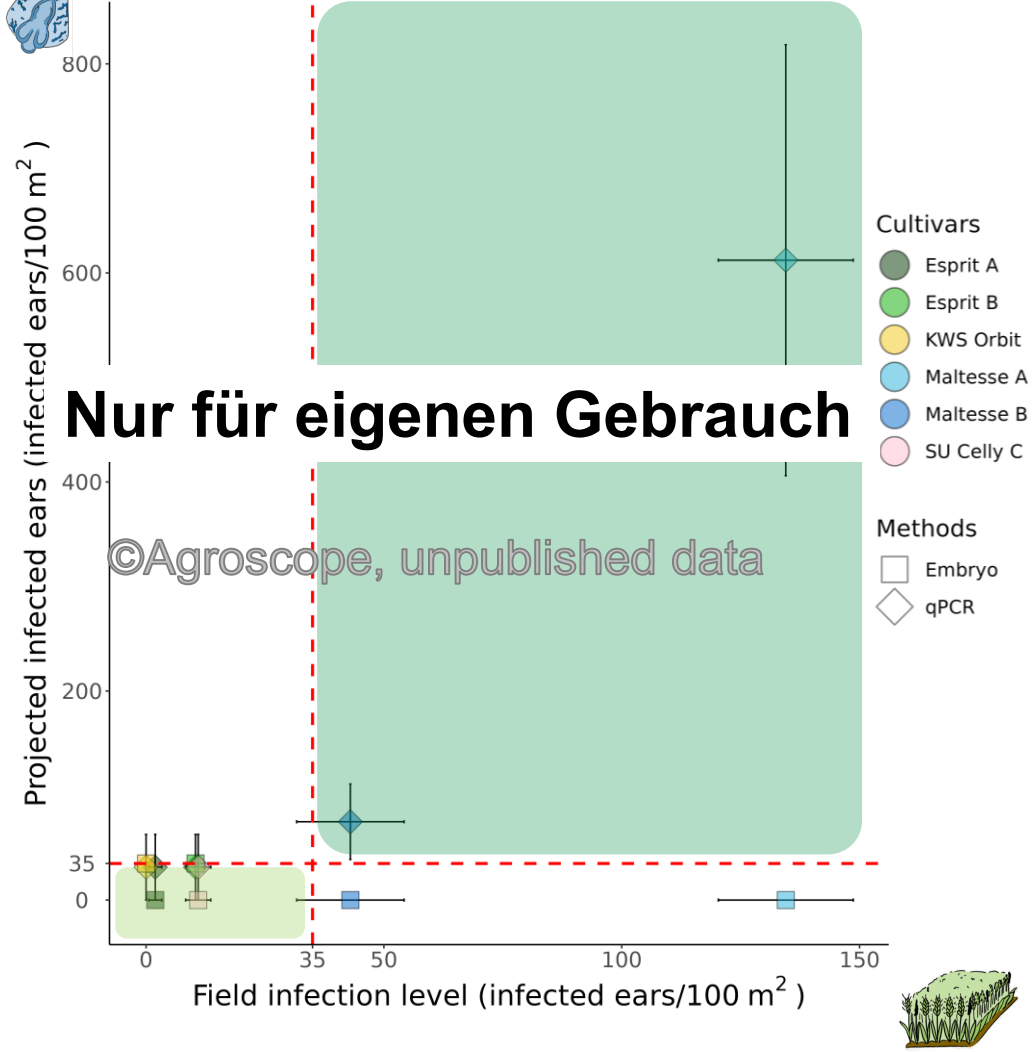
Flugbrand Saatgutversuch

Ziel: Bestimmung der besten Labormethode

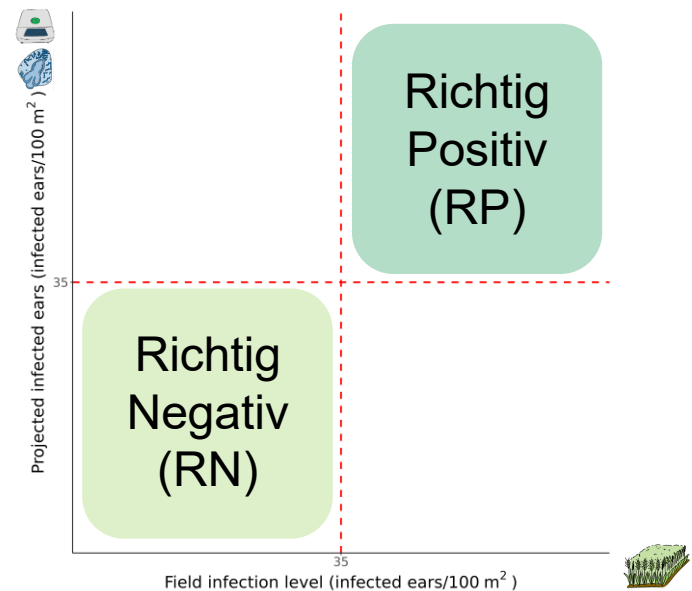




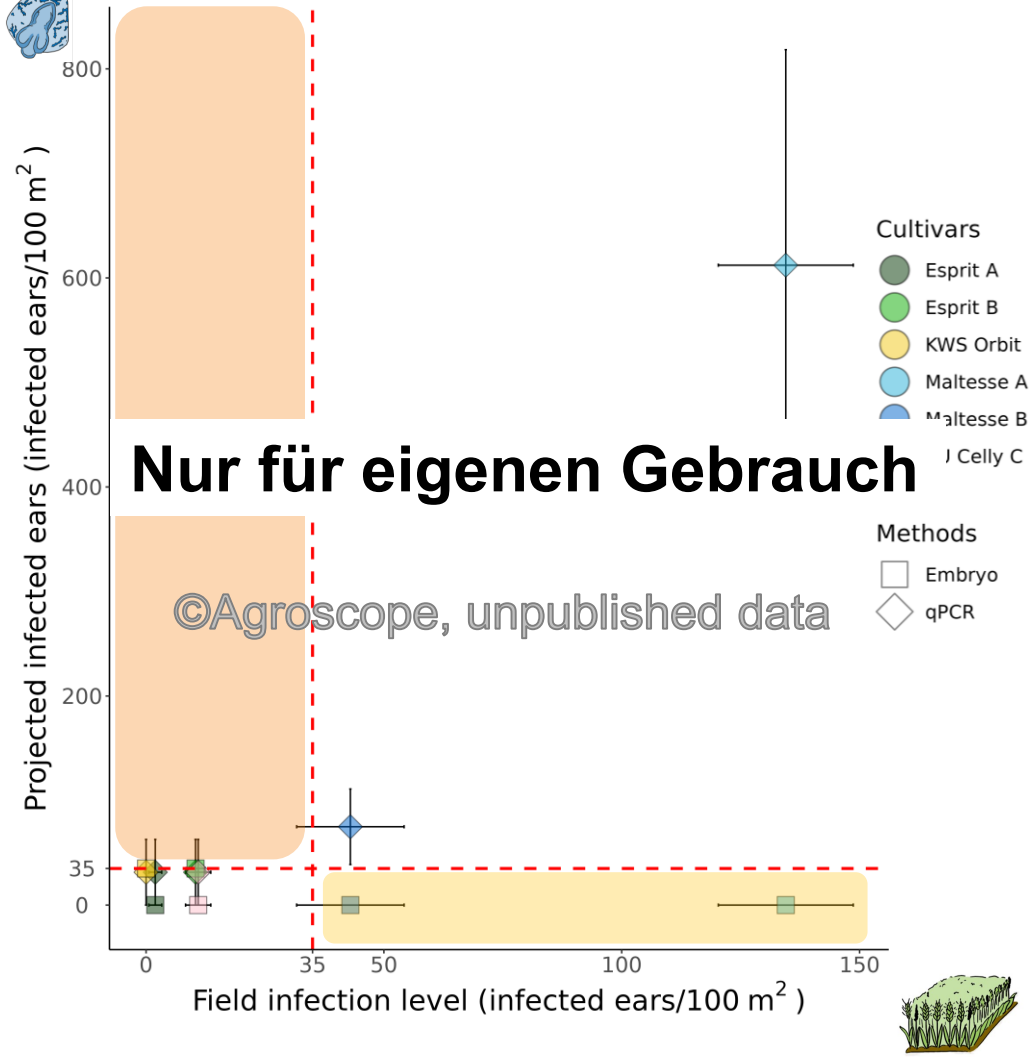
Flugbrandsaatgut: Testergebnisse



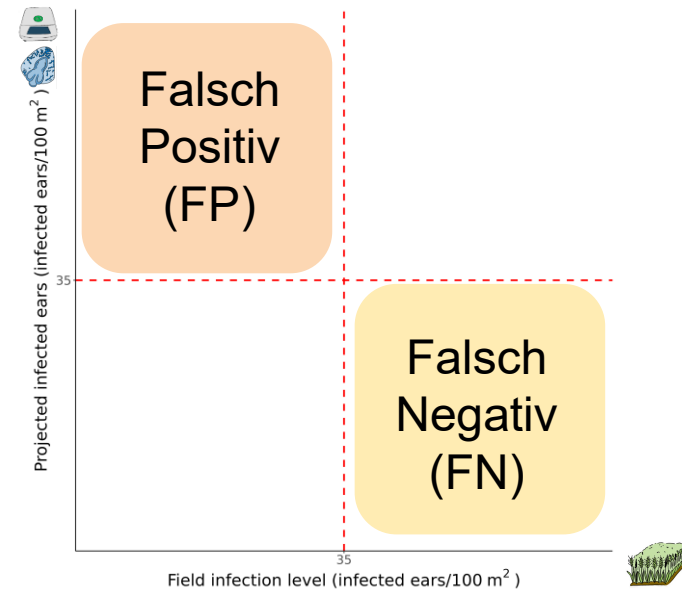
Labor-Methoden	Sensitivität	Spezifität	Präzision
Embryo			
qPCR			



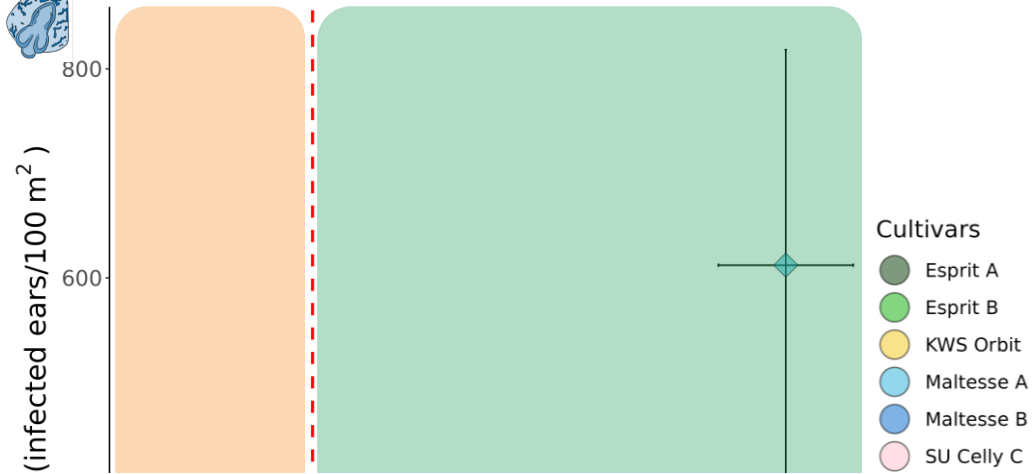
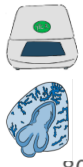
Flugbrandsaatgut: Testergebnisse



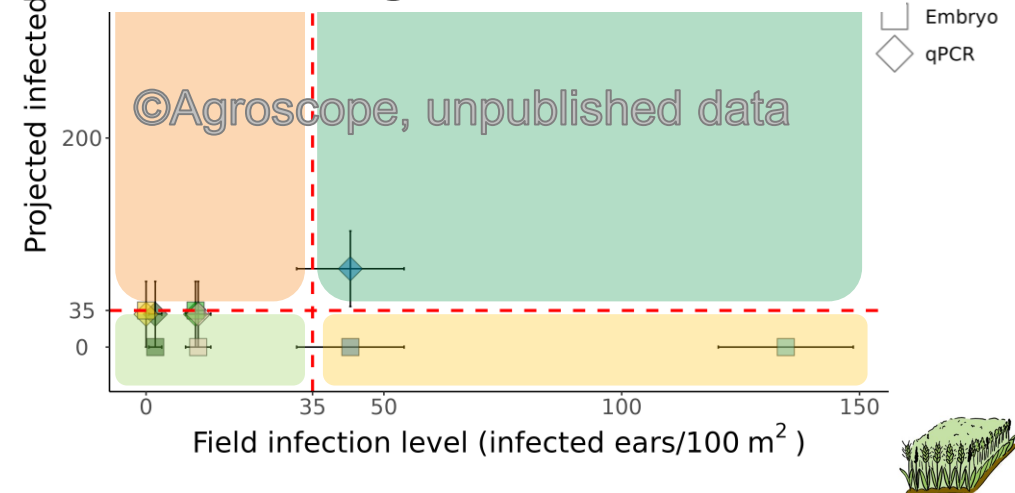
Labor-Methoden	Sensitivität	Spezifität	Präzision
Embryo 			
qPCR 			



Flugbrandsaatgut: Testergebnisse





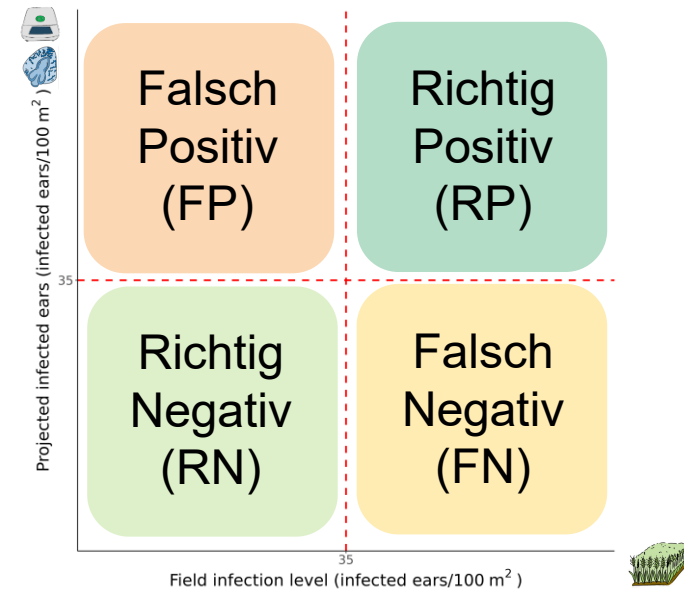
Nur für eigenen Gebrauch



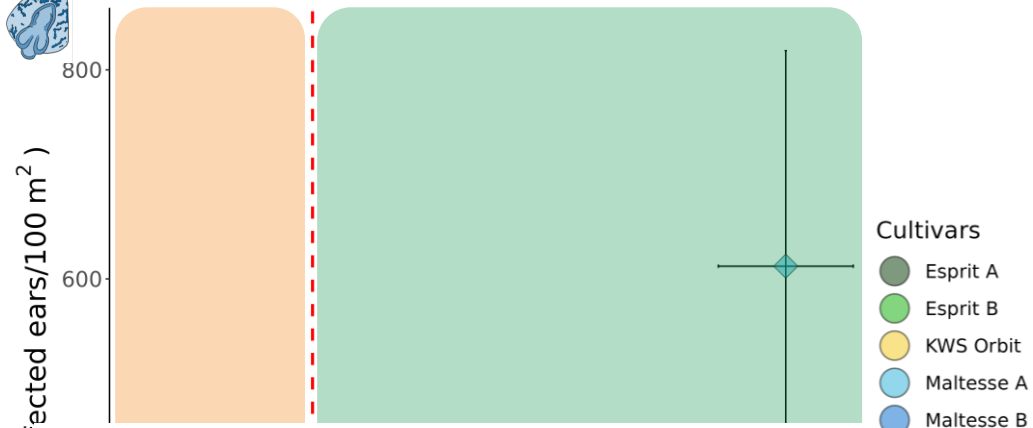
$$\frac{RP}{(RP + FN)}$$

$$\frac{RN}{(RN + FP)}$$

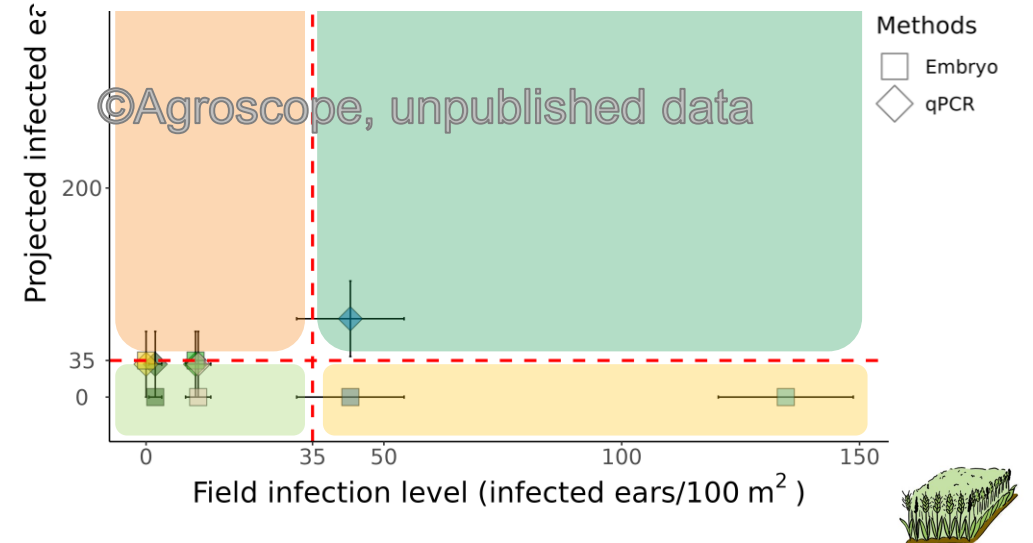
Labor-Methoden	Sensitivität	Spezifität	Präzision
Embryo 	0	100%	
qPCR 	100%	100%	



Flugbrandsaatgut: Testergebnisse



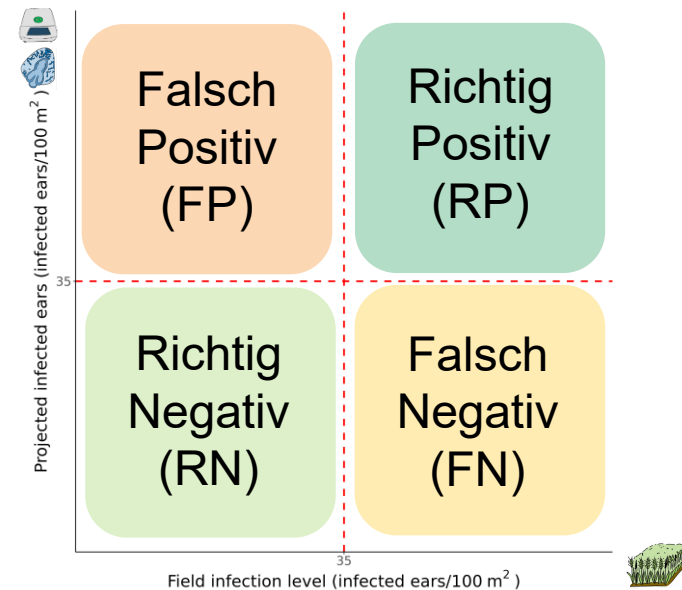
Nur für eigenen Gebrauch



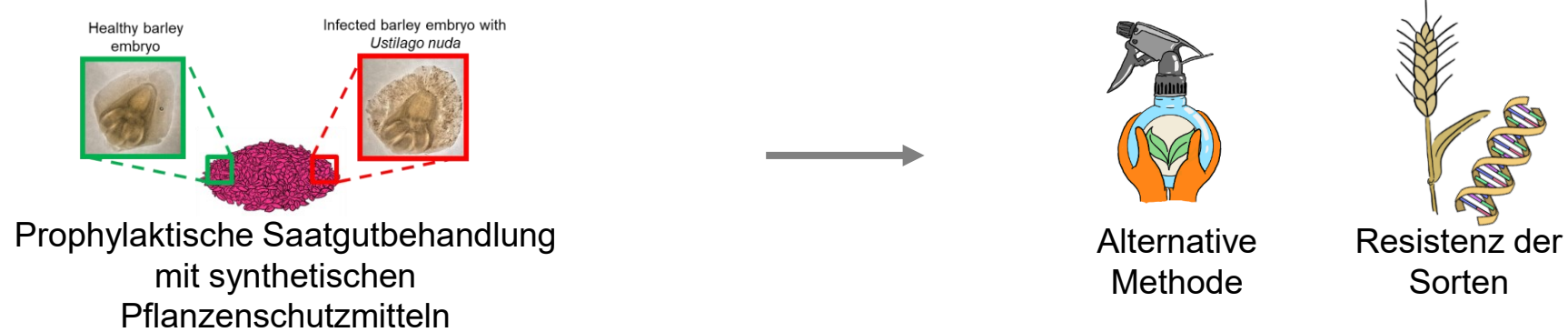
$$\begin{array}{c}
 \text{RP} \\
 \hline
 (\text{RP} + \text{FN})
 \end{array}
 \qquad
 \begin{array}{c}
 \text{RN} \\
 \hline
 (\text{RN} + \text{FP})
 \end{array}
 \qquad
 \begin{array}{c}
 \text{RP} \\
 \hline
 (\text{RP} + \text{FP})
 \end{array}$$

Labor-Methoden	Sensitivität	Spezifität	Präzision
Embryo 	0	100%	-
qPCR 	100%	100%	100%

Molekulare Methode identifiziert erfolgreich positive und negative Proben.

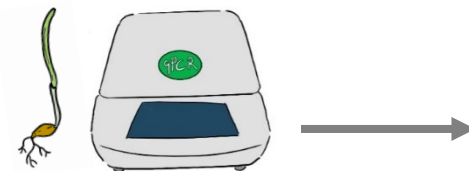


Methodenentwicklung an Keimlingen



Unser entwickelter PCR-Nachweis kann auch auf Keimlingen angewendet werden, um z.B. alternative Saatgutbehandlungen oder resistente Sorten zu testen.

Vorselektion mit molekularem Nachweis bei Keimlingen



Feldversuch



Stand – Teil 1

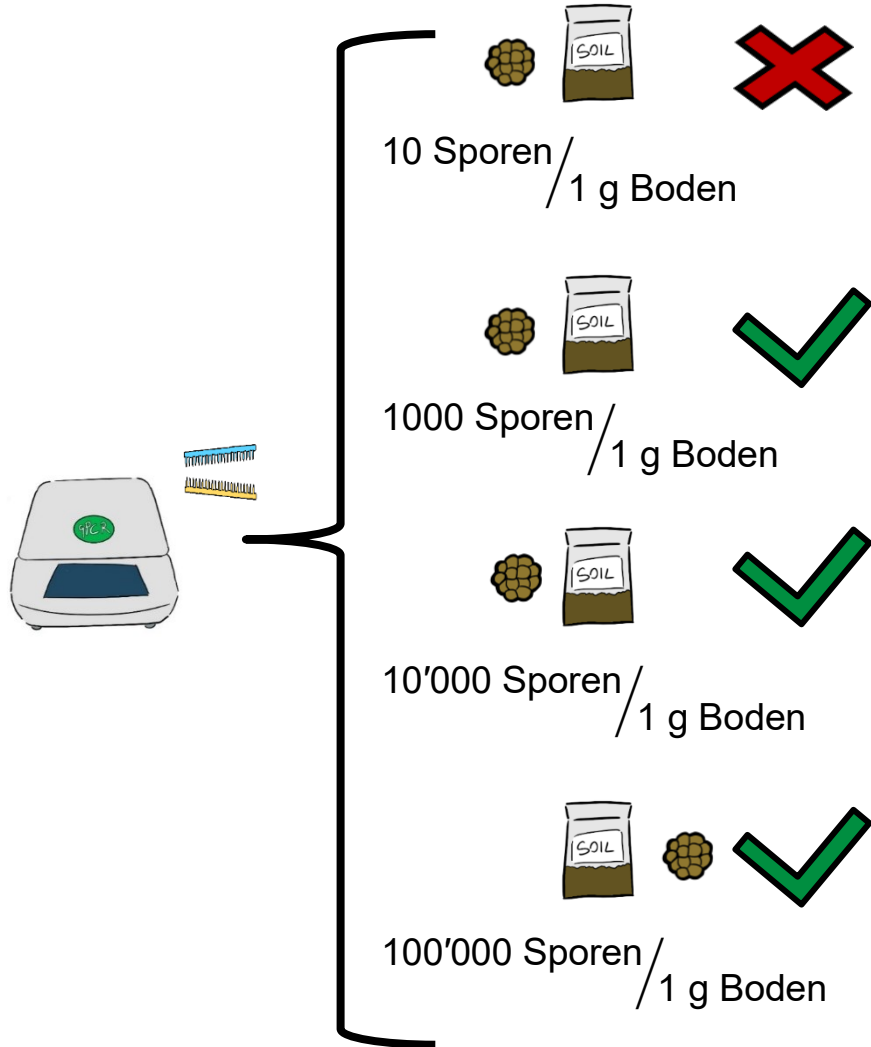


Ziel	Jahr															
	1				2				3				4			
	Monat															
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48
1) Entwicklung neuer Nachweismethoden (Diagnostik)																
a) Neue qPCR Optimierungsmethoden und Identifizierung optimaler Zielgene / Primerdesign																
Analysieren von Gensequenzen samenbürtiger Pathogene zur Identifizierung der besten Primer																
Test neuen Primers								IB								
Optimierungsmethoden für Bodenproben mit Topfversuchen				IB												

- Tests für Flugbrand wurden in unseren (Saatgut und Keimling) Versuchen angewandt.
- Wir testen derzeit gute Kandidaten für Stinkbrand-Primer.
- Schneeschnitz-Primer werden untersucht.

Neuer Test zu Zwerg- und Stinkbrand-Primern

eine befallene Ähre \approx
25'000 Sporen



nächster Schritt



Proben aus einem befallenen
Feld testen

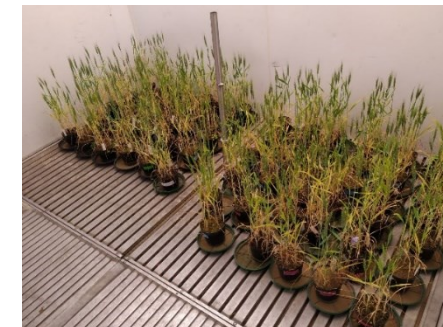


Stand – Teil 2.1



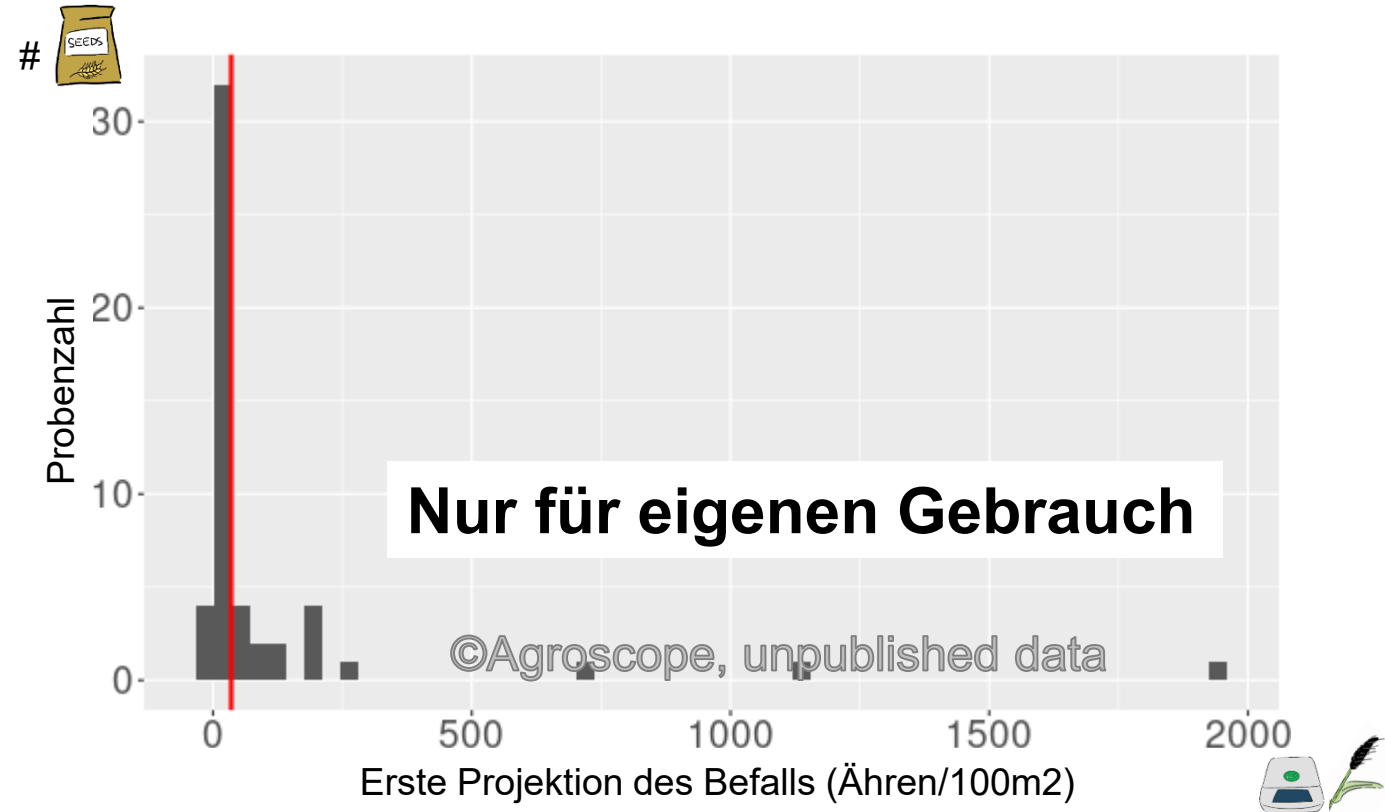
Ziel	Jahr																	
	1				2				3				4					
	Monat																	
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48		
2) Implementierung der Diagnostik																		
a) Quantifizierung von <i>Tilletia</i> , <i>Microdochium</i> und <i>Ustilago</i> mit den entwickelten Methoden																		
Abgleich der molekularen Methoden mit den bestehenden visuellen Methoden (Topf- und Feldproben). Einfluss von abiotischen und biotischen Faktoren.								✓ / IB										

- Da Zwergbrand-Sporen besondere Bedingungen benötigen, führten wir einen Topfversuch durch, um zu überprüfen, ob Versuche mit Zwergbrand in Klimakammern möglich sind.
- Diesen Winter folgen weitere Infektionsversuche unter kontrollierten Bedingungen mit Stink- und Zwergbrandsporen.



Kooperation mit R  sem (Ernteergebnisse)

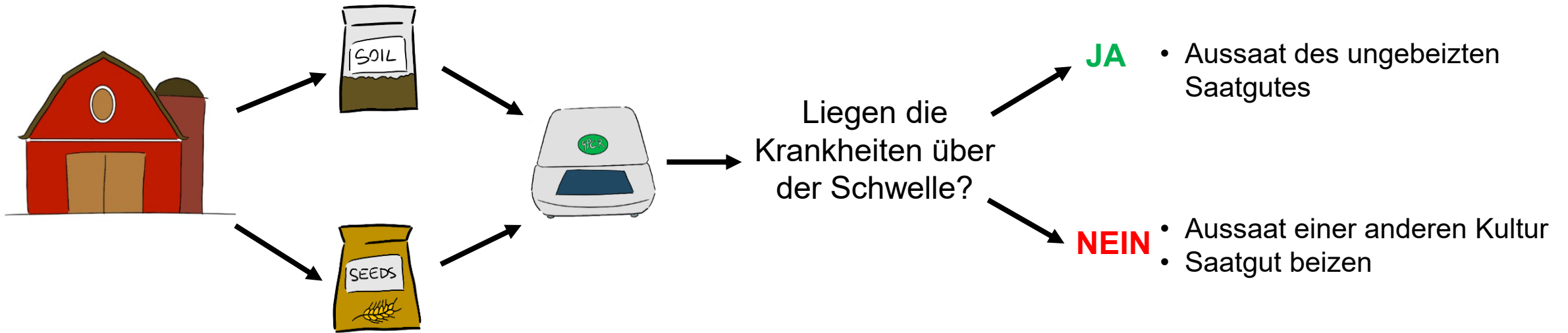
- Derselbe elterliche Saatgutposten wurden uns auf verschiedenen Betrieben ausgesät, um Saatgutbehandlungen zu testen.
- Keine beobachteten befallenen Ähren von Flugbrand
- Das Saatgut wurde geerntet und mit unserem qPCR Verfahren auf Flugbrand untersucht.
- Auf der Grundlage der hochgerechneten infizierten Ähren (sehr vorläufige Einschätzung) lagen die meisten Proben unter dem Schwellenwert, aber einige über dem Schwellenwert
- Nächster Versuch, um festzustellen, ob die in HealthyStart entwickelten Methoden eine genaue Vorhersage der Infektion in der nächsten Generation ermöglichen



Nächste Schritte

- qPCR-Flugbrandnachweis an Ròsem Saatgut
- Weiterentwicklung spezifischer PCR für Stinkbrand und Zwergbrand (aktuelle Arbeit)
- Bodenextraktionsverfahren entwickeln und testen (Proben sind vorbereitet)

Relevanz und Praxisnutzen



- Saatgutbehandlungen nur gezielt anwenden, um den prophylaktischen Einsatz von PSM zu reduzieren.
- Damit wird ein Beitrag zur Erreichung der parlamentarischen Initiative 19.475 im Saatgutbereich geleistet.

Acknowledgements / Verdankungen

Agroscope Forschungsgruppen:



Molekulare Ökologie:

- Franco Widmer
- Jürg Enkerli
- Tabea Koch
- All members



Saagutqualität:

- Thomas Hebeisen
- Nicole Bischofberger
- Damian Amrein



Extension Ackerbau:

- Susanne Vogelgsang
- Irene Bänziger
- Eveline Jenny
- Andreas Kägi
- Francesco Bassi
- Magnus Wagner

Externe Forschungsgruppen :



Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL):

- Peter Büttner



Université Neuchâtel

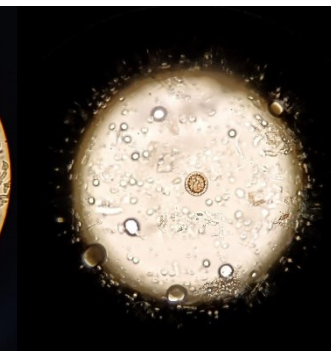
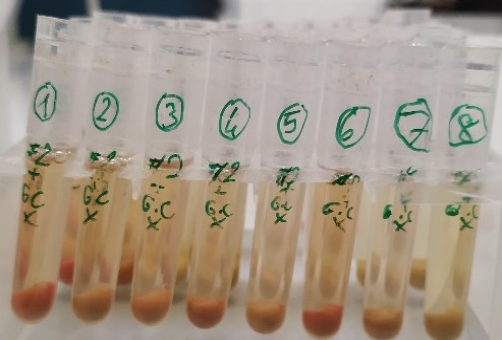
- Daniel Croll

Finanzierung



swisssem





Danke für Ihre Aufmerksamkeit

Karen Sullam

karen.sullam@agroscope.admin.ch

Agroscope gutes Essen, gesunde Umwelt

www.agroscope.admin.ch