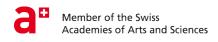


Les principes de sélection et de production des pommes de terre

Brice Dupuis¹, Ruedi Schwaerzel¹, Theodor Ballmer² Agroscope, Institut des sciences en production végétale IPV, Nyon¹ et Zürich²

Le mildiou de la pomme de terre (Phytophtora infestans) est un champignon pathogène qui provoque des symptômes de pourriture sur le feuillage et sur les tubercules de pomme de terre (Solanum tuberosum). Il s'agit de la maladie la plus dommageable pour la production de pommes de terre au niveau mondial. Si les conditions sont favorables au développement de la maladie, celle-ci peut réduire à néant la récolte des variétés les plus sensibles. Par conséquent, les sélectionneurs de variétés de pommes de terre proposent dans leur assortiment des variétés résistantes à ce pathogène. Parmi ces variétés, on trouve des variétés adaptées à tous les types d'utilisation, des variétés à chairs fermes et farineuses destinées au marché du frais et également des variétés dites industrielles pouvant être transformées en frites ou en chips. Toutefois, on constate que ces variétés sont assez peu cultivées en Suisse et ceci, même en agriculture biologique. Par conséquent, la production de variétés sensibles nécessite l'application répétée de fongicides pour prévenir le développement de la maladie. Le faible taux de pénétration de ces variétés sur le marché suisse trouve son origine dans le fait que les caractéristiques de ces variétés ne correspondent pas aux exigences du marché et des industries de transformation. Les sélectionneurs doivent donc redoubler d'efforts afin de pouvoir proposer des variétés résistantes au mildiou qui satisfassent aux exigences du marché. Cette tâche est d'autant plus complexe que les résistances peuvent être contournées en raison de l'apparition de nouvelles souches de mildiou particulièrement virulentes. Actuellement, les programmes de sélection de variétés résistantes au mildiou sont encore modestes et représentent moins de 10% des investissements en sélection dans les pays de l'Union Européenne. Le processus de sélection est relativement lent car il faut plus de 10 ans avant qu'un sélectionneur puisse mettre sur le marché une nouvelle variété de pomme de terre. La recherche développe actuellement de nouveaux outils permettant d'accélérer ce processus, comme par exemple la sélection assistée par marqueurs moléculaires, l'utilisation de variétés hybrides produites à partir de parents diploïdes ou l'utilisation de la cisgenèse qui permet d'introduire un ou plusieurs gènes de résistance au mildiou dans le génome d'une variété sensible. Si l'utilisation des marqueurs moléculaires est désormais répandue, la technologie des variétés hybrides nécessite encore des investissements en recherche et les variétés issues de la cisgenèse se heurtent à une vive opposition de la société civile européenne. En conclusion, la production de pommes de terre en Suisse est encore largement dépendante de l'utilisation de fongicides chimiques. Cette dépendance ne pourra être levée que grâce à l'arrivée de nouvelles variétés résistantes adaptées au marché ou grâce au développement de nouveaux fongicides sans effets néfastes sur l'environnement et sur la santé humaine.





Science and Policy Platform of the Swiss Academy of Sciences

Forum for Genetic Research

Die Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel - Geschichte, Biologie und **Epidemiologie**

Tomke Musa, Hans-Rudolf Forrer Agroscope, Institut für Nachhaltigkeitswissenschaften INH, Zürich

Als in der Mitte des 19. Jahrhunderts Kartoffeln aus den USA importiert wurden, kam nicht nur ein wichtiges Grundnahrungsmittel nach Europa, sondern unbemerkt auch der Erreger der Kraut- und Knollenfäule Phytophthora infestans (Mont.) de Bary. 1845 trat die Krautund Knollenfäule zum ersten Mal in Belgien auf und breitete sich von dort rasant bis nach Grossbritannien und Irland aus. Zwischen 1845-1852 führte die Krankheit in Irland aufgrund der wirtschaftlichen und politischen Lage zu einer der grössten Hungersnöte ("Great Famine") infolge derer rund 1 Million Iren starben und 2.5 Millionen nach Nordamerika auswanderten. Diese Krankheit ist noch heute weltweit die wichtigste im Kartoffelanbau (Fry und Goodwin, 1997, Fisher et al., 2012) und kann bei für den Erreger günstigen Witterungsbedingungen und ohne Gegenmassnahmen zum vollständigen Ernteverlust führen.

Phytophthora infestans gehört zu den Oomyzeten (Eipilze) und ist ein facettenreicher Mikroorganismus: er kommt als Paarungstyp A1 und A2 vor, kann sich ungeschlechtlich und geschlechtlich fortpflanzen und befällt sowohl das Kraut als auch die Knollen.

Ursache einer Krautfäule-Epidemie sind meist Primärherde aus latent befallenen Knollen, in denen der Erreger mit Pilzfäden überwintert. Bei der Keimung der Knollen wächst der Scheinpilz im Stängel mit und gelangt in die Blätter. Es können sich aber auch direkt auf der Knollenoberfläche Sporenträger mit zitronenförmigen Sporenbehältern (Sporangien) bilden, die mit dem Oberflächenwasser von einer Knolle zur nächsten gelangen. Mit abprallenden Regenspritzern und Staunässe gelangen Sporangien auch an die unteren Blätter. Aus den Sporangien schlüpfen begeisselte Zoosporen, die sich aktiv im Wasser bewegen können. Die Zoosporen dringen in die Blätter ein und verursachen bereits nach 3 bis 5 Tagen typische Krautfäule-Symptome: dunkelbraune Flecken auf der Blattoberseite und auf der Blattunterseite im Übergang vom gesunden zum kranken Blattmaterial ein typisch weisser Flaum. Sowohl Blätter als auch Stängel werden befallen (Abb. 1). Der weisse Flaum besteht aus zahlreichen Sporenträgern mit Sporangien. Zu ihrer Bildung braucht der Pilz während mehrerer Stunden hohe Luftfeuchtigkeit oder Niederschlag und eine Durchschnittstemperatur über 10°C (Cao et al, 1997; Ruckstuhl und Forrer, 1998).







Abb. 1: Krautfäule-Symptome auf Blattober- und Unterseite, sowie am Stängel. © Agroscope

Bei feuchter Witterung kann sich der Pilz durch solche Sekundärinfektionen schnell vermehren und im Feld rasant ausbreiten. Unter Folien kann das Mikroklima zudem sehr günstig für die Entwicklung des Pilzes sein und fördert speziell das frühe Auftreten von Primärherden. Temperaturen über 30°C hemmen zwar die Entwicklung des Pilzes, jedoch töten erst anhaltende Trockenperioden den Pilz vollständig ab. Sonst überlebt er im Stängelgewebe und breitet sich bei feuchter Witterung erneut aus. Mit dem Regen können Sporangien in den Boden gelangen und dort durch Zoosporen die Knollen befallen. Dieser ungeschlechtliche Zyklus durchläuft sowohl der A1- wie auch der A2- Paarungstyp des Krautfäule-Erregers. Für die geschlechtliche Vermehrung müssen der Paarungstyp A1 und A2 gleichzeitig auf den Blättern oder anderen Pflanzenteilen vorhanden sein und miteinander verschmelzen. Dadurch entstehen Oosporen, die auch im Boden längere Zeit überdauern können. Ein Vorgang, welcher in der Schweiz aber bisher selten von Bedeutung ist.

Vor mehr als 25 Jahren entwickelte Agroscope ein Warn- und Prognosemodell zur Bekämpfung der Kraut- und Knollenfäule. Dazu wurden zahlreiche epidemiologische Feldstudien und Monitorings durchgeführt, um die Faktoren zu bestimmen, welche die Entwicklung sowie Ausbreitung der Krautfäule-Epidemie fördern und somit in einem Prognosemodell berücksichtigt werden müssen. Basierend auf diesen Untersuchungen wurde das PhytoPRE-Modell in Zusammenarbeit mit den Kantonalen Pflanzenschutzstellen, Beratern, der Branche und der Industrie entwickelt (Forrer et al. 1993, Steenblock et al. 2002).

Dank "PhytoPRE" besteht ein guter Informationsaustausch zwischen den einzelnen Akteuren und es ist möglich, den Verlauf der Krautfäule-Epidemien objektiv zu beurteilen und die Jahre untereinander zu vergleichen.

Durch die Erfassung der Befallssituation mit dem Warn- und Prognosemodell PhytoPRE konnte gezeigt werden, dass der Beginn der Krautfäule-Epidemien auf unterschiedliche Inokulumsquellen zurückzuführen ist: meist sind es Primärherde in Folienfeldern, aber auch Abfalldeponien und Durchwuchskartoffeln spielen eine Rolle. Damit es zum Ausbruch einer Krautfäule-Epidemie kommt, muss zusätzlich zum Vorkommen des Erregers und anfälligen Wirtspflanzen auch die Witterung günstig für den Erreger sein. Wir konnten feststellen, dass das Auftreten und der Verlauf der Krautfäule-Epidemie von Jahr zu Jahr stark variieren und generell nicht immer heftigere Epidemien auftreten. Der Zeitpunkt des Auftretens eines ersten Infektionsherdes und die Witterung während der Kartoffelsaison spielen dabei eine grosse Rolle. Die bestehenden Beobachtungsnetze sind sehr wertvoll, um mögliche Veränderungen in den Erreger-Populationen festzustellen.

Vorbeugende Massnahmen (Saatgutqualität, Sortenwahl, Fruchtfolge, Standortwahl, Vorkeimung und Feldbearbeitung) sind grundlegend, um einen Befall zu mimimieren. Ist das Befallsrisiko dennoch hoch, unterstützt das PhytoPRE-System die Durchführung situationsund termingerechter Pflanzenschutzmassnahmen. Dabei gilt das Motto "so wenig Behandlungen wie möglich, so viele wie nötig". Den Teilnehmenden stehen unter www.phytopre.ch verschiedene Dienstleistungen zur Verfügung, um sich über die Krautfäule-Situation und die Infektionsgefahr in der Schweiz zu informieren. Das System steht sowohl als ÖLN/IP/konventionell-Version wie auch als Version für den biologischen

Kartoffelanbau zur Verfügung. Im Bio-Kartoffelanbau werden zur effizienten Bekämpfung der Kraut- und Knollenfäule v.a. Kupferprodukte verwendet. Kupfer ist ein Schwermetall, reichert sich im Boden an und ist ökotoxikologisch bedenklich. In der EU soll der Einsatz ab 2018 verboten werden (EU-Durchführungsverordnung 2015/232). Um den LandwirtInnen einen Ersatz zu Kupfer anzubieten, suchen wir nach pflanzlichen Alternativen. Mit der Faulbaumrinde und dem Pflanzenstärkungsmittel Phosfik® wurden vielversprechende Ergebnisse im Feld erzielt. Jedoch bedarf es noch weiterer Abklärungen bezüglich Formulierungs- und Applikationsstrategie, um die Wirkung zu optimieren und Rückstände in den Knollen zu vermeiden (Krebs et al., 2013).

Literaturangaben:

- Cao K.Q., Ruckstuhl, M. and Forrer H.R., 1997. Crucial weather conditions for *Phytophthora infestans*: A reliable tool for improved control of potato late blight? In: E. Bouma and H. Schepers (eds.), PAV-Special Report no.1, January 1997, 1, 85-90.
- DURCHFÜHRUNGSVERORDNUNG (EU) 2015/232 DER KOMMISSION vom 13. Februar 2015 zur Änderung und Berichtigung der Durchführungsverordnung (EU) Nr. 540/2011 hinsichtlich der Bedingungen für die Genehmigung des Wirkstoffs Kupferverbindungen.
- Fisher MC, Henk DA, Briggs CJ, Brownstein JS, Madoff LC, McCraw SL., 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystems health. Nature 484:186-94. DOI:10.1038/nature10947.
- Forrer H.R., Gujer H.U. and Fried P.M., 1993. PhytoPRE a comprehensive information and decision support system for late blight of potatoes. SP-Report, Danish Inst. Plant and Soil Sci. 7:173-181.
- Fry W.E. & Goodwin S.B., 1997. Re-emergence of potato and tomato late blight in the United States. Plant Disease, 81, 1349-1357.
- Krebs H., Musa T., Vogelgsang S. und Forrer H.R., 2013. Kupferfreie Bekämpfung der Kraut- und Knollenfäule im Bio-Kartoffelbau? Agrarforschung 4 (5): 238-243.
- Ruckstuhl, M. & Forrer H.R., 1998. Main infection and sporulation periods (misps): towards its use in an event-based DSS to control potato late blight. In: E. Bouma and H. Schepers (eds.), PAV-Special Report no.3, January 1998, 3, 67-76.
- Steenblock T. und Forrer H.R., 2002. Kartoffelanbau: Krautfäule-Beratung via Internet. Agrarforschung 9 (5): 207-214.



Fungizide zur Bekämpfung der Kraut- und Knollenfäule

Helge Sierotzki, Joel Meier, Stefano Torriani Syngenta Crop Protection, Disease Control, Stein

Die Kraut- und Knollenfäule, ausgelöst duch den Oomyceten Phytophthora infestans, war und ist in den meisten Kartoffelanbaugebieten die wichtigste Krankheit. Zur Kontrolle der Krankheit stehen, neben der Sortentoleranz, hygienischen Massnahmen, Kulturrotationen und biologischen Mitteln mehr als 20 chemische Fungizide zur Verfügung. Diese Fungizide stammen aus etwa einem Duzent verschiednen Wirkmechanismengruppen deren wichtigsten Vertreter befinden sich in den Gruppen: Phenylamide (Metalaxyl-M), Carboxylic amid acids (CAA), mit Mandipropamid, QoI (Azoxystrobin, Fenamidone, Famoxadone), QiI (Cyazofamid), Benzamide, wie Zoxamid und Fluopicolid, Uncouplers (Fluazinam), Carbamates (Propamocarb), und Wirkstoffe mit unbekannter Wirkweise wie Cymoxanil oder mit Multi-sites Wirkung (Mancozeb, Chlorothalonil, Kupfer). Die Fungizide, oder besser Oomycetiden, werden einzeln oder in verschieden Kombinationen in einem Programm mit verschieden vielen Appliktionen verwendet. Phytophthora infestans hat eine sehr kurze Inkubationszeit und kann sehr starke Epidemien auslösen. Es scheint, dass es sehr wichtig ist das primäre Inokulum früh genug unter Kontrolle zu halten, damit die Epidemien nachher weiter abzektable niedrig gehalten werden können. Dabei spielt auch der Durchwuchs in der Folgekultur und die "Abfall"kartoffeln in der Nähe von Felder eine Rolle. Der Pathogen an und für sich ist sehr anpassungsfähig und, obwohl hauptsächlich klonal", verändert sich die Populationszusammensetzung über die Jahre. Erfolgreiche Genotypen können sich über mehrer Jahre in grösseren Regionen halten. Die Genotypen sind aber nicht homogen und können leicht, aber entscheidende, Unterschiede, wie zum Beispiel Fungizidresistenz, besiten. Gegen die meisten Fungizide, die zur Kontrolle von Phytophthora infestans eingesetzt werden, wurden bis jetzt keine Resistenzen gefunden. Eine Ausnahme bilden hier die Phenylamide, mit dem wichtigsten Wikstoff Metalaxyl-M. Schon früh wurden Resistenzen festgestellt, aber wegen saisoniale Fluktuationen der Resistenz konnte ein Anwendungschema gefunden werden welches die Verwendung von Metalaxyl-M haltigen Produkten noch immer sinnvoll erscheinen lässt.

In Zukunft muss aber die Sortenresistenz, diagnostische Methoden zur Früherkennung von Epidemien und der Populationszusammensetzung, sowie der Einbau von biologischen Mitteln und neueren Technologien ausgebaut werden. Neue Phytophthora Mittel kommen auf den Markt (Oxathiopiprolin ist in der Registrierungs- und Einführungsphase), die wietere Verbessungen in der Kontrolle von der Kraut- und Knollenfäule bringen werden.



Le microbiome de la pomme de terre comme source pour des méthodes de lutte alternatives

Aurélien Bailly

Universität Zürich, Department of Plant and Microbial Biology, Zürich

Le coûteux impact négatif sur l'agroéconomie et l'environnement causé par la propagation de *Phytophthora infestans* dans les cultures de pommes de terre concerne aussi bien l'agriculture conventionnelle que biologique. Aucune alternative fiable aux produits phytosanitaires synthétiques ou aux préparations de cuivre ne permet aujourd'hui de prévenir l'expansion de l'agent pathogène du mildiou sans corrompre les sols et leur microflore.

Le concept émergeant de bioprospection envisage d'identifier des organismes antagonistes de pathogènes-cible, ou des biomolécules exploitables dans une agriculture durable. L'isolement et la caractérisation de bactéries associées au feuillage ou à la rhizosphère des plants de pommes de terre a permis de tester la capacité de ces souches à limiter la croissance de *P. infestans in vitro*, ainsi que d'inhiber la croissance et le développement de ses spores. En particulier, les composés volatiles et solubles produits par certaines espèces de *Pseudomonas* altèrent directement la capacité du pathogène à infecter des disques foliaires, suggérant un fort potentiel inhibiteur de ces souches encore inexploité. Le séquençage et l'exploration des génomes de ces antagonistes bactériens devraient permettre de sélectionner des souches bactériennes exprimant un large panel d'activités anti-*Phytophthora* à même de coloniser et de protéger les cultures.

Les essais prometteurs entrepris en serre et en plein champ au cours de l'année 2015 encouragent à tester davantage la mise en place de méthodes d'application facilitant le transfert de ces antagonistes du laboratoire au champ. La promesse de traitements biologiques préventifs contre le mildiou, ou garantissant une réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires dédiés, représente une alternative écoresponsable pour la lutte contre ce pathogène.



Pflanzen-basierte Wirkstoffe gegen die Kraut- und Knollenfäule

Lucius Tamm

Forschungsinstitut für Biologischen Landbau, Dep. für Nutzpflanzenwissenschaften, Frick

Pflanzenextrakte werden seit über 6000 Jahren gegen Schädlinge und Krankheiten von Pflanzen eingesetzt. Seit einigen Jahren ist das Interesse an der Entwicklung von Pflanzenextrakten für die Bekämpfung von *Phytophthora infestans, Plasmopara viticola* und *Venturia inaequalis* wieder stark gewachsen, u.a. um dem Biolandbau wirksame Produkte zur Verfügung stellen zu können.

Pflanzenbasierte Fungizide haben bislang bei Kartoffeln ein eher limitiertes Wirkungspotential im Vergleich zu anderen Wirt-/Pathogen Systemen. Anhand von zwei Fallbeispielen wird aufgezeigt, wie potentielle Kandidatensubstanzen identifiziert und im besten Fall bis zur Markreife entwickelt werden können. Neue Wirkstoffe müssen zahlreiche Kriterien erfüllen (Wirksamkeit, Umwelt- und Humantoxizität, Wirtschaftlichkeit), damit sich die kostspielige Entwicklung bis zu Marktreife lohnt.



Nachhaltige KKF-Resistenz dank Übertragung von Resistenzgenen aus Wildkartoffeln mittels Cisgenese

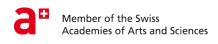
Evert Jacobsen

Wageningen UR Plant Breeding, Wageningen University and Research Centre, Wageningen

Kartoffeln sind in den Niederlanden eine wichtige Kulturpflanze. Eines der Hauptprobleme im Kartoffelbau ist die übermäßige Empfindlichkeit vieler Sorten für *Phytophthora infestans*, den Verursacher der Kraut- und Knollenfäule (KKF). Die Statistik der Sortenvermehrung in den Niederlanden zeigt, dass in 2015 zwar 496 Sorten angebaut wurden. Allerdings betrug der Anbau nur bei sechs Sorten zwischen 1000-5000 Hektar und diese waren alle anfällig für die KKF. Von diesen sechs Sorten waren drei frei von Sortenschutzrechten. Dies bedeutet, dass mit Verbesserungen vorhandener und beliebter Sorten sehr viel bewirkt werden könnte. Der Zusatz von KKF-Resistenzgenen kann kurzfristig eine erhebliche Reduktion der im Kampf gegen diese Krankheit eingesetzten Pestizide bewirken. Derzeit gibt es drei Methoden, welche die direkte Einführung von Resistenzen ermöglichen: 1. Einführen geklonter *R* Gene (Resistenzgene) mittels Cisgenese; 2. Ausschalten ausgewählter *S* Gene (Suszeptibilitätsgene) mittels RNAi; 3. Induktion tetra-alleler Mutationen in *S* Genen mittels CRISPR / Cas9-Technologie. In diesem Beitrag werde ich nur die Cisgenese mit geklonten *R*-Genen diskutieren.

Trans-Gene sind Gene, die zwischen Organismen transferiert werden und in der Empfängerart fremd sind. Oft haben sie ihren Ursprung in Viren oder Mikroorganismen oder kommen in der Art hybrid vor. Die aktuelle EU-Gesetzgebung für gentechnisch veränderte Organismen (GVO) wurde auf Trans-Genen basierend formuliert. Die Molekularbiologie machte später das Klonen von Pflanzengenen möglich. Für arteigene Gene wurde daraufhin der Begriff Cis-Gen eingeführt. Dies sind natürliche Gene derselben oder von kreuzbaren Arten und gehören zum traditionellen " Züchter-Genpool". Eine cisgene Pflanze enthält daher nur Cis-Gene und ist das Ergebnis einer Marker-Gen-freien Transformation.

Durch das DuRPh- und andere Projekte sind aus verschiedenem Wildkartoffel- Arten viele cisgene *R*-Gene und passende *Avr*-Gene aus *Phytophthora infestans* geklont worden. Durch Selektion auf Kanamycin-Resistenz konnte mit Hilfe von *Agrobacterium* in einem Schritt drei *R*-Gene in Kartoffeln eingeführt werden, wobei in fast jedem Transformant alle drei biologisch aktiv waren. Diese Pflanzen waren daraufhin resistent gegen alle getesteten KKF-Isolate und lieferten eine Kreuzreaktion mit den entsprechenden *Avr*-Genen. In mehrjährigen Feldstudien sowohl in den Niederlanden wie auch in Belgien, Irland und der Schweiz waren diese Transformanten, die *R*-Gene enthielten, resistent gegen die KKF. Via cisgene Transformation ist es möglich, dass nur ein oder zwei unterschiedlichen *R*-Gene gleichzeitig eingebaut werden. Dies wurde bei verschiedenen Sorten gemacht. Die Transformationsrate schwankte zwischen 0,2 bis 3,7 % für zwei *R*-Gene und betrug 8,6 % für ein *R*-Gen. Dieser Prozentsatz hängt sowohl vom Kartoffel-Genotyp wie dem individuellen *R*-Gen ab. Molekula-



re Analysen zeigten, dass eine ausreichende Zahl von Transformanten als eigene Pflanze betrachtet werden konnten. Sie enthielten kein Vektorgerüst und eine oder nur wenige Kopien der gewünschten R-Gene. Sequenzanalysen zeigten, dass es möglich ist cisgene Pflanzen auszuwählen, die keine "Fremd-DNA" oder nur eine sehr begrenzten Anzahl fremder Basenpaare (< 19 bp) enthalten. Damit wurde demonstriert, dass es möglich ist cisgene Pflanzen zu erzeugen, deren hinzugefügte funktionellen R-Gene ausschliesslich aus dem "Züchter-Genpool" stammen. Wir plädieren daher dafür, cisgene Pflanzen (molekular) richtig zu definieren und sie von der GVO-Regulierung auszunehmen oder als Nicht-GVO zu bezeichnen.