



ELISA zur gezielten Bekämpfung der *Septoria*-Blattdürre

Effi JENNY, Josiane AMIET, Andreas HECKER und Hans-Rudolf FORRER Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau, Reckenholz (FAL), CH-8046 Zürich

Auskünfte: Effi Jenny, e-mail: eveline.jenny@fal.admin.ch, Fax +41 (0) 1 377 72 01, Tel. +41 (0) 1 377 71 11

Die *Septoria-tritici*-Blattdürre ist in den letzten zehn Jahren zu einer der wichtigsten Weizenkrankheiten in Mitteleuropa geworden. Mit Hilfe eines immunologischen Tests (ELISA) kann sie schon in der latenten Phase zuverlässig erfasst und quantifiziert werden. Bekämpfungsschwellen aufgrund von ELISA-Messungen erlauben eine gezielte Behandlung schon vor dem Auftreten eindeutiger Symptome.

Auch in der Schweiz verursacht *Septoria tritici* ungefähr jedes zweite Jahr grössere Schäden. Da der Befallsdruck lokal und von Jahr zu Jahr stark schwankt, ist eine optimale Bekämpfungsstrategie wichtig. Voraussetzung dafür sind eine sichere Diagnose und Angaben über die Stärke des Befalls. Aufgrund dessen können Massnahmen getroffen und der optimale Bekämpfungszeitpunkt ausgewählt werden.

1997 entwickelten wir für die gezielte Bekämpfung von *Septoria tritici* bei Weizen die Wirtschaftliche Schadschwelle und darauf basierend zwei Bekämpfungs-

schwellen (Forrer *et al.* 1998). Dazu wurden Befallshäufigkeiten (Anzahl Blätter mit Befall) zu einem definierten Zeitpunkt auf einer bestimmten Blatttage in Beziehung gebracht zur Befallsstärke auf dem zweitobersten Blatt im Stadium der Teigreife. Das Modell schätzte 30 von 33 Situationen richtig ein und empfahl nur in einem Drittel der Fälle eine Fungizidbehandlung.

Septoria tritici hat eine für Pilze sehr lange Latenzperiode von 17 bis 35 Tagen (Shaw 1990), so dass bereits infizierte Blätter noch lange keine Symptome zeigen und visuell nicht von gesunden zu unterschei-

den sind, obwohl sich der Pilz im Blatt bereits ausbreitet. «Latenzperioden von bis zu fünf Wochen verlangen manchmal eine Bekämpfung der Krankheit bevor ernsthafte Symptome auftreten!» (Shaw 1990). Mit Hilfe eines ELISA-Tests kann der Pilz schon in der latenten Phase zuverlässig erfasst und quantifiziert werden (Joerger *et al.* 1992). Um diesen Vorteil zu nutzen, versuchten wir Bekämpfungsschwellen aufgrund von ELISA-Messungen zu definieren.

Feldversuche als Basis zur...

In den Jahren 1993 bis 1998 wurden zwölf Feldversuche mit je 1 bis 6 Sorten in vier Wiederholungen angelegt. So wurde der natürliche Befall mit *Septoria tritici* bei insgesamt 13 Winterweizensorten verschiedener Anfälligkeiten an drei Standorten geprüft. Für die Entwicklung der Bekämpfungsschwellen wurde die Krankheit vom Zweiknotenstadium (DC 32) bis zur Teigreife (DC 85) genau erfasst. In den unbehandelten Parzellen wurden je 30 bis 40 Haupttriebe gesammelt, das Entwicklungsstadium (DC) bestimmt und – separat für jede Blattlage – die *Septoria-tritici*-Befallsstärke (BS) geschätzt (BS = befallene Blattfläche in %). Dieselben Proben wurden mit Extraktionspuffer (0,833 ml pro Blatt) mechanisch aufgeschlossen, filtriert und eingefroren. Dann wurden sie in Duplikaten mit einem ELISA Kit der Novartis (Mittermeier *et al.* 1990) getestet. Im Photospektrometer wurde die Farbreaktion gemessen und mit Hilfe von Standards in Antigeneinheiten umgerechnet.

... Entwicklung der ELISA-Schwellen

Im Fahnenblattstadium (DC 37-39), beim Ährenscheiden (DC 39-45) und beim Ährenschieben (DC 55-59) sowie – zur Endbonitur – in der Milchreife (DC



ELISA-Kit: Gesunde Proben sind farblos, je dunkler die Färbung desto stärker ist die Probe mit *Septoria tritici* befallen. (Foto: FAL Zürich-Reckenholz)

Tab. 1. *Septoria-tritici*-Behandlungsempfehlungen aufgrund der visuell ermittelten Befallshäufigkeiten (BH) und von ELISA-Messungen (AgE) im Stadium DC 39-45 und DC 55-59 sowie bei Kombination der beiden Beobachtungszeitpunkte

	1. Schwelle: DC 39-45		2. Schwelle: DC 55-59		Kombination 1. + 2. Schwelle	
	BH ¹ % (n)	AgE ² % (n)	BH ³ % (n)	AgE ⁴ % (n)	BH % (n)	AgE % (n)
Anzahl Fälle total	100 (49)	100 (47)	100 (46)	100 (42)	100 (38)	100 (36)
Behandlung empfohlen	22	45	28	31	33	46
Beh. nicht empfohlen	78	55	72	69	67	54
zu viel gespritzt	4	11	2	5	7	11
zu wenig gespritzt	16	4	4	2	5	3
Empfehlung richtig	80	85	93	93	88	86

¹ 15 % der F-3 Blätter (viertoberstes Blatt) mit Befall

² 1 AgE auf F-3

³ 15 % der F-2 Blätter (drittoberstes Blatt) mit Befall

⁴ 5 AgE's auf F-2

n = Anzahl untersuchte Fälle

75) und in der Teigreife (DC 83-85) wurde die *Septoria-tritici*-Befallsstärke auf den Blättern F-3, F-2, F-1 (viert-, dritt-, zweitoberstes Blatt) und zum Teil auf der Fahne (F) visuell und in Antigeneinheiten (AgE's) bestimmt. Die Korrelationen der Befälle von DC 37-59 auf den verschiedenen Blattetagen mit der visuellen Endbonitur im DC 75 und DC 83-85 wurden berechnet und die besten Beziehungen für das Modell verwendet. Für die Voraussage des Endbefalls zu DC 83-85 auf F-1 durch ELISA-Messungen eignete sich das viertoberste Blatt (F-3) im DC 39-45 und das drittoberste (F-2) im DC 55-59 am besten. Es sind die selben Blattlagen und Stadien, die auch für die visuellen Bekämpfungsschwellen die besten Korrelationen zur Endbonitur aufwiesen (Forrer *et al.* 1998).

Für das Stadium des Ährenschwellens (DC 39-45) und beim Ährenschieben (DC 55-59) wurden die ELISA-Werte (AgE's) in je einem Diagramm eingetragen und ihre Beziehung zur Endbonitur dargestellt. Zudem wurde die Wirtschaftliche Schadschwelle eingezeichnet, die bei 10 % Befallsstärke auf dem zweitobersten Blatt (F-1) erreicht wird. Mit Hilfe dieses graphischen Ansatzes wurden die Bekämpfungsschwellen ermittelt: Für möglichst viele der Fälle, die gemäss Endbonitur nur einen Befall unterhalb der Wirtschaftlichen Schadschwelle erreichten, sollten auch die entsprechenden ELISA-Werte unterhalb der AgE-Bekämpfungsschwelle liegen. Gleichzeitig wurde die Bekämpfungsschwelle so positioniert, dass für möglichst alle Fälle, in denen die Wirtschaftliche Schadschwelle überschritten wurde, die entsprechenden AgE-Messwerte oberhalb der Bekämpfungsschwelle zu liegen kommen (Abb. 1 und 2).

Die Bekämpfungsschwelle für das Fahnenblattstadium (DC 39-45) auf dem viertobersten Blatt (F-3) liegt bei 1 AgE, diejenige für das Stadium des Ährenschiebens (DC 55-59) auf dem drittobersten Blatt (F-2) bei 5 AgE's.

Weist eine Stichprobe von Blättern einen durchschnittlichen Befall von mehr als einer respektive 5 AgE's auf, so ist die Wahrscheinlichkeit gross, dass die Befallsstärke in der Teigreife (DC 83-85) auf dem zweitobersten Blatt (F-1) die Wirtschaftliche Schadschwelle überschreiten wird. Eine Fungizidbehandlung ist dann aus wirtschaftlichen Gründen gerechtfertigt. Wird die Bekämpfungsschwelle nicht überschritten, lohnt sich eine Behandlung höchstwahrscheinlich nicht.

Anwendung und Beurteilung der Schwellen

Die Bekämpfungsschwellen für das Ährenschwellen und das Ährenschieben wurden miteinander verglichen und kombiniert (Tab. 1 und 2). Sowohl die auf der Befallshäufigkeit (visuell) basierende als auch die in AgE's gemessene Schwelle im Stadium DC 55-59 erwiesen sich als zuverlässig und führten zu weitgehend übereinstimmenden Empfehlungen. Für ihre Bestimmung eigneten sich die beiden Diagnosemethoden gleichermassen. In etwa 30 % der Fälle wurde eine Behandlung angezeigt und 93 % der Empfehlungen waren richtig (Tab. 1).

Da *Septoria tritici* relativ früh auftreten und schon vor dem Ährenschwellen (DC 45) Schaden verursachen kann, ist eine Bekämpfungsschwelle, die sich für Stadi-

en vor dem Ährenschwellen eignet, wünschenswert. Ideal wäre das Fahnenblattstadium (DC 39), da dann mit einer Fungizidbehandlung alle ertragsrelevanten Blätter optimal geschützt werden könnten. Zu diesem Zeitpunkt wurde die Krankheit mit visueller Bonitur oft unterschätzt (Tab. 1). Durch die lange Latenzperiode von *Septoria tritici* sind im Fahnenblattstadium auf dem viertobersten Blatt (F-3) meist noch keine Symptome sichtbar. Da der Pilz mit ELISA schon in der latenten Phase gemessen werden kann, eignet sich diese Diagnosemethode für eine frühe und zuverlässige Erfassung von *Septoria tritici* besonders gut. Die in AgE's definierte Bekämpfungsschwelle im DC 39-45 ist deutlich zuverlässiger als diejenige in Befallshäufigkeiten im selben Stadium: 85 % der Empfehlungen waren richtig verglichen mit 80 % bei der visuellen Bonitur und nur 4 % anstelle von 16 % der nötigen Behandlungen wurden ver-

Tab. 2. *Septoria-tritici*-Behandlungsempfehlungen aufgrund der Kombination der ersten Bekämpfungsschwelle im Stadium DC 39-45 in Antigeneinheiten (AgE's) mit der zweiten im DC 55-59 in visuell erfassten Befallshäufigkeiten (BH)

	Kombination der Schwellen AgE (DC 39-45) ¹ + BH (DC 55-59) ² % (n)
Anzahl Fälle total	100 (36)
Behandlung empfohlen	49
Beh. nicht empfohlen	51
zu viel gespritzt	12
zu wenig gespritzt	0
Empfehlung richtig	87

¹ 1 AgE auf F-3 (viertoberstes Blatt)

² 15 % der F-2 Blätter (drittoberstes Blatt) mit Befall

n = Anzahl untersuchte Fälle

passt. Andererseits wurde in 11 % statt 4 % der Fälle unnötigerweise eine Behandlung empfohlen (Tab. 1).

Am sichersten ist es, das Resultat der ELISA-Messung zu DC 39-45 mit der visuell ermittelten Befallshäufigkeit im DC 55-59 zu kombinieren. Das heisst: gegen Ende des Fahnenblattstadiums (DC 39-45) wird eine Stichprobe F-3 Blätter mit ELISA getestet. Liegt der Wert über einer AgE, soll eine Fungizidbehandlung durchgeführt werden. Wird der Schwell-

lenwert nicht erreicht, muss beim Ährenschieben eine zweite Probe gesammelt und visuell bezüglich *Septoria-tritici*-Symptomen beurteilt werden. Eine Stichprobe sollte 40 oder besser 50 Blätter von Haupttrieben umfassen, gesammelt über die beiden Felddiagonalen. Alle mit *S. tritici* befallenen F-2 Blätter werden gezählt und die Befallshäufigkeit berechnet. Weisen mehr als 15 % dieser Blätter *Septoria-tritici*-Symptome auf, wird gespritzt. So konnte gut die Hälfte der Spritzungen

eingespart werden, ohne dass eine einzige nötige Behandlung verpasst worden wäre. Allerdings würde immer noch in 12 % der Fälle unnötigerweise gespritzt. Damit erwiesen sich 87 % der Empfehlungen als richtig (Tab. 2).

Wird die erste ELISA-Bekämpfungsschwelle angewendet, ist es möglich, ohne grosses Risiko auf die zweite Erhebung zu verzichten. Bei unseren Versuchen wurden in diesem Fall 4 % der nötigen Behandlungen verpasst, 85 % der Empfehlungen waren richtig (Tab. 1).

Es fällt auf, dass aufgrund der zweiten Bekämpfungsschwellen (visuell und ELISA) allein mehr richtige Entscheidungen getroffen wurden als mit der Kombination der ersten und der zweiten Schwellen. Das Modell geht davon aus, dass auch mit einer Behandlung nach DC 55-59 grössere Verluste verhindert werden können. Für die Bekämpfung früher Epidemien kann es dann jedoch zu spät sein (Habermeier 1993). Diese Fälle kommen in der Tabelle 1 nicht zum Ausdruck. Die Empfehlung des Modells gilt trotzdem als «richtig». Deshalb sieht die zweite Schwelle bei der Bewertung besser aus als sie ist.

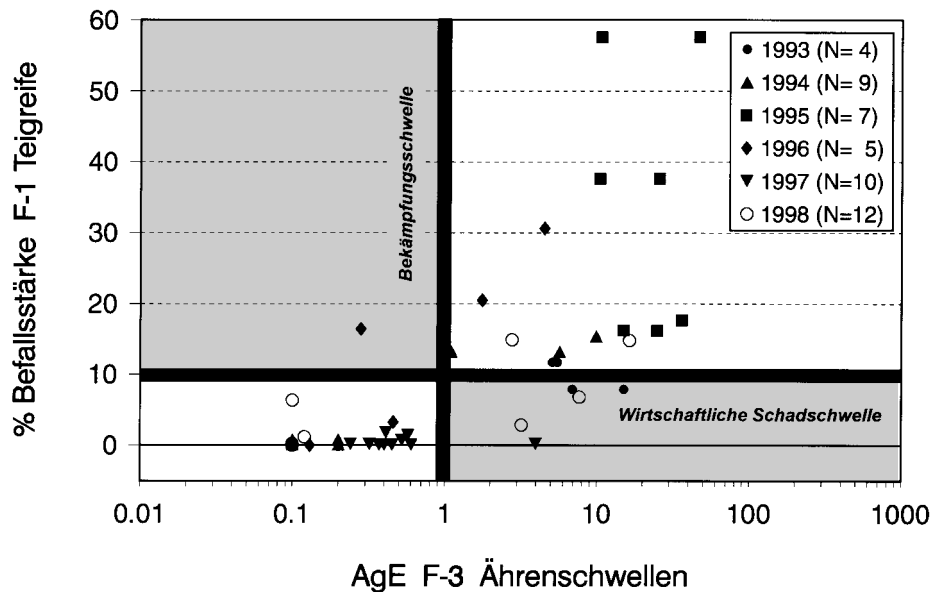


Abb. 1. Beziehung zwischen der Anzahl *Septoria-tritici*-Antigeneinheiten (AgE's) einer Blattprobe viertoberster Blätter (F-3) im Stadium des Ährenscheidens (DC 39-45) und der Befallsstärke auf dem zweitobersten Blatt (F-1) zum Zeitpunkt der Teigreife (DC 83-85).

(Im Diagramm enthalten sind 47 Befalls-Wertepaare aus 12 Feldversuchen von 1993 bis 1998, die Bekämpfungsschwelle für das Ährenscheiden DC 39-45 und die Wirtschaftliche Schadschwelle in der Teigreife zu DC 83-85.)

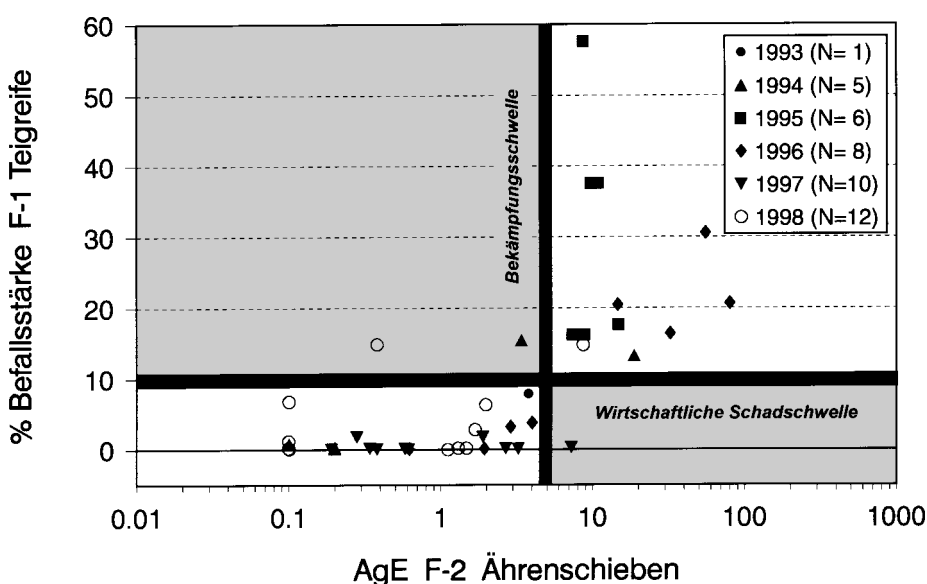


Abb. 2. Beziehung zwischen der Anzahl *Septoria-tritici*-Antigeneinheiten (AgE's) einer Blattprobe drittoberster Blätter (F-2) gegen Ende des Ährenscheidens (DC 55-59) und der Befallsstärke auf dem zweitobersten Blatt (F-1) zum Zeitpunkt der Teigreife (DC 83-85).

(Im Diagramm enthalten sind 42 Befalls-Wertepaare aus 12 Feldversuchen von 1993 bis 1998, die Bekämpfungsschwelle für das Ährenschieben DC 55-59 und die Wirtschaftliche Schadschwelle in der Teigreife zu DC 83-85.)

Vor- und Nachteile des ELISA-Tests

Mit Hilfe von ELISA kann *Septoria tritici* schon während der Latenzperiode und auch im Gemisch mit anderen Pilzen nachgewiesen werden. Da der Test sehr sensitiv und spezifisch ist, eignet er sich bestens zur Früherkennung von *S. tritici* und ermöglicht damit gezielte Behandlungen mit geringem Risiko von Ertragsverlusten.

Obwohl gut brauchbar für Behandlungsentscheidungen, sagt der ELISA-Wert in Antigeneinheiten über die gesammelte Probe nur wenig aus. So können zum Beispiel zwei Proben, die eine mit einem stark befallenen, die andere mit mehreren schwach befallenen Blättern den gleichen AgE-Wert aufweisen. Zur Abschätzung des Krankheitspotenzials gibt die Häufigkeit befallener Blätter ein besseres Bild. Auch sind die Antigeneinheiten mit der visuell bonitierten Befallsstärke (BS) nur beschränkt korreliert. Misst man Blätter mit BS > 20 % steigen die AgE's nicht mehr entsprechend der BS an. Stark befallene Proben (BS > 1 %) müssen verdünnt werden, um bezüglich der Eichkurve und der optischen Dichte (OD) in einem vernünftigen Bereich zu messen. Leider verhalten sich die auf der Mikrotiterplatte

integrierten Standards nicht genauso wie der Pilz. Misst man eine Probe mit hohem Befall in verschiedenen Verdünnungen, erhält man oft ganz unterschiedliche Resultate (Faktoren von 1,5-2). Bei hohen Befällen wird der Test ungenau, da das Ergebnis stark von der gewählten Verdünnung abhängt. Die visuelle Bonitur der Befallsstärke ist dann wesentlich genauer. Deshalb haben wir für die Definition der Schwellen den Befall in der Teigreife in BS und nicht in AgE's angegeben. Für Behandlungsentscheidungen ist diese Schwäche des *Septoria-tritici*-ELISAs nicht von Bedeutung, da bereits geringe AgE-Werte eine Behandlung indizieren! Für eine zuverlässige Anwendung der Bekämpfungsschwellen sollten die Messungen verschiedener Jahre vergleichbar sein. Dies war in den letzten Jahren nicht immer der Fall. ELISA-Kits sind nicht sehr lange haltbar und müssen jedes Jahr neu bezogen werden.

Die Messungen können nicht vom Landwirt oder der Landwirtin selbst, sondern müssen von einem zentralen Labor durchgeführt und interpretiert werden. Zum Beispiel so wie im Pilotprojekt «Septoria-Watch» (Meyer 1996), bei dem Landwirte ihre Proben nach genauen Anweisungen gesammelt und zur Untersuchung möglichst schnell an ein zentrales Labor eingeschickt haben. Die Ergebnisse und eine kurze Interpretation lagen den Teilnehmenden spätestens 48 Stunden nach Eintreffen der Probe im Labor vor. So konnten diese in Abhängigkeit von der Witterung über allfällige Massnahmen entscheiden.

ELISA-Tests eine Lösung für die Praxis?

Um den Einsatz von Spritzmitteln weiter zu reduzieren ist es wichtig, anstelle der ausschliesslichen Orientierung an Pflanzenstadien, befallsbezogen zu handeln. Für die routinemässige Anwendung in der Praxis eignen sich zurzeit sorgfältig durchgeführte Zählungen eher besser als teurere ELISA-Messungen. Sie können von geschulten Landwirtinnen und Landwirten gut selbst erhoben werden, haben den Vorteil, dass auch andere Krankheiten wie Roste und Mehltau miterfasst werden können und erfordern weder Laborerfahrung noch -Infrastruktur. Die Diagnose aufgrund der Symptome ist meistens rechtzeitig, die Befallshäufigkeit genau genug für eine erfolgreiche Bekämpfung. Voraussetzung ist die zweimalige Durch-

führung der Bonitur in den beschriebenen Stadien und eine Schulung in Symptombonitur durch Fachleute.

Die aktuelle Entwicklung in der Landwirtschaft mit höherem Preisdruck und gesteigerten Effizienzanforderungen steht einer aktiven zeitraubenden Befallserhebung im Feld immer mehr im Wege. Wenig zeitaufwendige Verfahren, wie PC-Programme, die allein aufgrund von Wetterdaten eine Empfehlung generieren, dürften hier in die Bresche springen.

Um unnötige Behandlungen zu vermeiden, sind auch in diesem Fall Hinweise über den effektiven Befall im Feld beziehungsweise das Infektionspotenzial wichtig. Hierfür und - für Messungen von frühen und latenten Befällen - könnte die *S. tritici*-Diagnose mittels ELISA von grossem Nutzen und bei einem regionalen Einsatz durch Pflanzenschutzstellen auch kostengünstig sein.

DANK

Für die tatkräftige Unterstützung bei der Feldarbeit und im Labor danken wir Frau A. Dutton und Herrn L. Eriksen (DK). Herzlichen Dank auch Herrn L. Etienne, Novartis, Basel für die uns zur Verfügung gestellten ELISA Kits und die freundliche Beratung.

LITERATUR

■ Forrer H. R., Jenny E. und Hecker A., 1998. Bekämpfungsschwellen für *Septoria tritici* bei Weizen. *Agrarforschung* 5 (5), 249 - 252.

■ Habermeyer J., 1993. Integrierter Pflanzenschutz gegen Erreger von Pilzkrankheiten im Weizenanbau. Überprüfung des WEIZENMODELL BAYERN und Einführung in landwirtschaftliche Betriebe. Dissertation, TU München. 185S.

■ Joerges M.C., Hirata L.T. and Baxter M.A., 1992. Research and development of enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of the wheat pathogens *Septoria nodorum* and *Septoria tritici*. Brighton Crop Protection Conference, *Pests and Diseases*, 689-695.

■ Meyer B., 1996. Septoria-Watch - ein Frühwarnsystem zur gezielten Bekämpfung von *Septoria*-Arten in Weizen. *Gesunde Pflanzen* 4, 135 - 137.

■ Mittermeier L., Dercks W., West S.J.E. and Miller S. A., 1990. Field results with a diagnostic system for the identification of *Septoria nodorum* and *Septoria tritici*. Brighton Crop Protection Conference, *Pests and Diseases*, 757-762.

■ Shaw M.W., 1990. Effects of temperature, leaf wetness and cultivar on the latent period of *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat. *Plant Pathology* 39, 255-268.

RÉSUMÉ

Seuil de tolérance ELISA pour *Septoria tritici* sur blé

En Europe, *Septoria tritici* (ST) est actuellement une des plus importantes maladies du blé. Dans 12 essais réalisés en Suisse de 1993 à 1998 avec différentes variétés de blé, un traitement de fongicide était justifié économiquement dans 1/3 des cas. Cette situation est quasiment idéale pour l'utilisation des seuils de tolérance. Dans ces essais en champ, nous avons déterminé les stades et les feuilles optimaux pour des seuils ELISA. Cette méthode a été choisie parce que le champignon est détectable même au stade latent. Dans le stade CD 39-45 avec des échantillons des feuilles F-3 (F = drapeau) et le stade CD 55-59 avec des feuilles F-2, les kits ELISA ont fourni les meilleures corrélations avec la maladie au stade pâteux (CD 83). Avec des kits ELISA, nous avons déterminé des seuils d'intervention de 1 (CD 39-45) et 5 (CD 55-59) unités antigène. En utilisant ces seuils ELISA, une décision de traitement économiquement justifiée aurait été prise dans 85 ou 93 % des respectivement 47 et 42 cas.

SUMMARY

Control of *Septoria tritici* based on ELISA-thresholds

In Europe *Septoria tritici* (ST) is actually one of the most important diseases in wheat. The data from 12 Swiss field trials from 1993 to 1998 with different cultivars were analyzed. In 1/3 out of the cases a treatment against ST was economically justified. This situation is an ideal prerequisite to use intervention thresholds. From growth stage (GS) 32 to 65 we measured ST on the leaves F-4 to F (flag) with an ELISA kit. The antigen data were correlated with the visually assessed disease severities in GS 83. A strong relation to the disease state in GS 83 was measured with ST antigen data of the leaves F-3 at GS 39-45 and F-2 at GS 55-59. Using 1 (GS 39-45) and 5 (GS 55-59) antigen units as threshold values, in 85 and 93% of the 47 respectively 42 cases an economically right spray decision would have been taken.

KEY WORDS: *Septoria tritici*, *Mycosphaerella graminicola*, leaf blotch, elisa, threshold value, wheat