

Vorhaben
Verbundprojekt: Vor-Ort Monitoringsystem für samenbürtige
Schaderreger im Gemüsebau
(MONITOR) – Teilprojekt BIORON

Gefördert durch



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

Projektträger



Bundesanstalt für
Landwirtschaft und Ernährung

Sachbericht zum Verwendungsnachweis
Teil I: Kurzbericht

Förderkennzeichen (FKZ): 2818801A19 PT
Laufzeit des Vorhabens: 11.10.2021 – 31.12.2024

Zuwendungsempfänger: BIORON GmbH
In den Rauhweiden 20 - 67354 Römerberg
Projektleiter: Dr. Herbert Hermann / Dr. Irina Kiprijanova
E-Mail: hermann@bioron.net

08.07.2025



Kurze Darstellung zu Aufgabenstellung, Voraussetzungen, Stand der Wissenschaft und Technik, Planung und Ablauf des Vorhabens, wesentlichen Ergebnissen sowie Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Hauptaufgabe im Verbund war die Entwicklung einer automatisierten molekularbiologischen Methode im Gemüseanbau (Nutzpflanzen: Tomate, Kohl, Zwiebel) zur Probenvorbereitung und DNA/RNA-Aufreinigung sowie die Etablierung einer Multiplex-PCR zum Nachweis von samenbürtigen Krankheitserregern (Bakterien, Pilze, Viren). Grundlage des Systems ist ein mikrofluidischer Einwegtestträger („LabDisc“) in denen die oben beschriebenen Prozessschritte wie Probenvorbereitung als auch Schaderreger-Detektion stattfinden, um eine Analyse von Saatgutproben am Ort der Probenahme zu ermöglichen. Ein vergleichbares Nachweissystem stand zum Zeitpunkt der Antragstellung nicht zur Verfügung.

Die Planung des Vorhabens sah eine Aufteilung in sechs Arbeitspakete (AP) vor, an welchen jeweils mehrere Verbundpartner beteiligt waren. Das Vorhaben wurde in einem Verbund aus akademischen Partnern und Industriepartnern durchgeführt. Beteiligt waren die Projektpartner BIORON GmbH, Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) – Rheinpfalz, Johann Hofer & Sohn GmbH & Co.KG, Hahn-Schickard und myPOLS Biotec GmbH. Unter diesen Rahmenbedingungen herrschten ideale Voraussetzungen, um Erkenntnisse aus der akademischen Vorlaufforschung unmittelbar in die anwendungsorientierte Forschung und Entwicklung zu überführen und gezielt Produktentwicklungen vorzubereiten.

Der Fokus seitens BIORON lag in der Entwicklung von Verfahren zur simultanen Anreicherung und Extraktion von DNA und RNA aus Phytopathogenen und Pflanzenmaterial (samenbürtiges Gemüse), in der Optimierung eines real-time Multiplex-PCR basierenden Systems inkl. PCR Master Mixen (tauglich für die Lyophilisierung) zum Nachweis von Phytopathogenen und die Integration des Extraktions- und Nachweissystems in die mikrofluidische Kartusche (Arbeitspaket AP5 von HS).

BIORON verfügt über besondere Erfahrungen in der Nukleinsäure Extraktion (siehe auch verschiedene Kitystems) als auch in der Entwicklung von Real-Time PCR basierende Detektions Systeme. Dies war Voraussetzung für die erfolgreiche Bearbeitung der Arbeitspakete und für den Abschluss des Projektes.

Die Kooperation mit den vier Projektpartnern erwies sich als äußerst konstruktiv und erfolgreich. Durch regelmäßige Videokonferenzen im Vier-Wochen-Rhythmus sowie persönliche Projekttreffen konnte eine enge Abstimmung und effiziente Zusammenarbeit sichergestellt werden. Zum Projektende wurde eine 2,5-monatige, kostenneutrale Verlängerung des Vorhabens in Anspruch genommen, um wichtige ausstehende Arbeiten abzuschließen. Zuarbeit für myPols: Bereitstellung von Real-Time PCR Master Mixen (Prototypen für die Lyophilisierung und für Hahn-Schickard: DNA/RNA Extraktionskomponenten inkl. Detektionskontrollen.

Ergebnisse

Die von BIORON bearbeiteten Arbeitspakete wurden erfolgreich abgeschlossen. Es wurde ein Einfaches und effektives (Wiederfindungsraten > 90%) Magnetic-Beads basiertes **DNA/RNA-Extraktionssystem** entwickelt, das ohne Enzyme auskommt. Die Extraktionseffizienz wurde mit synthetischer Nukleinsäuren (verdünnte DNA und RNA-Markergene der Schaderreger: gespikt in Tomate, Kohl und Zwiebel), Extraktionskontrollen (Tomate mit GAPDH, Kohl mit Brassica ITS-Gen und Zwiebel mit Markergen) als auch mit Realproben (Tomate gespikt mit: Tomatenvirus, Xanthomonas vesicatoria, Fusarium oxysporum. Kohl gespikt mit: Xanthomonas c. und Alternaria brass.; Zwiebel gespikt mit Fusarium oxysp. und Alternaria porri), erfolgreich durchgeführt. Die Extraktionseffizienz wurden mit dem Goldstandard in der Agardiagnostik für Nukleinsäure Extraktion als auch mit anderen Konkurrenzprodukten erfolgreich gegen getestet .

Zur **Detektion** wurden ein real-time PCR-basierender Master Mix (2x und 5x) für die Reverse Transkription und Real-time PCR-Amplifikation entwickelt mit dem die oben beschriebenen Schaderreger im „One-Tube“- Mono-Duplex oder Triplex-Verfahren nachgewiesen werden konnte. Die Empfindlichkeit lag im Monoplex bei 10^2 und im Multiplex bei 10^3 Kopien. Nahezu fast alle Anforderungen bzw. Spezifikation konnten nach Bearbeitung der Arbeitspakete erreicht werden.

Verwertbarkeit als Verkaufsprodukt

- Simultanes magnetbasiertes DNA/RNA Extraktionssystem speziell für samenbürtigen Pflanzen Tomate Kohl und Zwiebel (siehe auch Verkaufsprodukt auf BIORON Homepage)
- Das entwickelte Extraktionssystem ist so universell, dass es für andere Pflanzen und Schaderreger eingesetzt werden kann (Plattformsystem).
- Multiplex-Real-time PCR-Nachweissystem von phytopathogenen Erregern (Tomatenvirus; Xanthomonas vesic./campestris; Fusarium oxysp.; Alternaria Brassic.; Alternaria porri) in samenbürtigen Nutzpflanzen (Tomate, Kohl, Zwiebel) kann nach weiterer Validierung für die manuelle Routinediagnostik zur Verfügung stehen
- Das manuelle Kitsystem kann als Alternative zum automatisiertes Lab-Disk-System verwendet werden. Die Marktfähigkeit als manueller Kit wird noch geprüft.
- Real-Time PCR-basierender Master Mix: neben dem BIORON Master Mix (Bestehendes BIORON Produkt) kann der im MONITOR entwickelte 2x und 5x Master Mix als zweite BIORON-Alternative angeboten werden. Beide MM können Glycerin frei hergestellt werden. Flyer und Anbindung in die BIORON Homepage werden anvisiert.