

Untersuchungen zu den Pathosystemen Echter Mehltau/Petersilie und Falscher Mehltau/Petersilie und Entwicklung einer Screening- methode für die Resistenzzüchtung

Laufzeit:	01.11.2010 - 31.10.2013
Forschungsstelle 1	Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinland Lehr- und Versuchsbetrieb Queckbrunnerhof Queckbrunnerhof 67105 Schifferstadt
Projektbearbeitung	Dr. Gabriele Leinhos
Forschungsstelle 2	Julius Kühn-Institut Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI) Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst Stahnsdorfer Damm 81 14532 Kleinmachnow
Projektbearbeitung	Dr. Peggy Marx
Projektleitung	Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP) Kaufmannstraße 71 53115 Bonn
Projektkoordination	Stefan Lütke Entrup
Förderung	Innovationsprogramm des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL), Projekt GHG 15/10 IF



Problemstellung/Zielsetzung

In den vergangenen Anbaujahren konnte an Petersilie eine starke Ausbreitung des Falschen Mehltaus durch den Erreger *Plasmopara petroselini* (Syn.: *Plasmopara crustosa*, *Plasmopara umbelliferarum*, *Plasmopara nivea*) im Freilandanbau (1.843 ha in 2011) sowie des Echten Mehltaus in der Unter-Glas-Kultur in allen wichtigen Anbauregionen Deutschlands festgestellt werden.

Um zukünftig über gezielte Gegenmaßnahmen zu verfügen, wurden im Rahmen des Innovationsprogramms des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) in einem 3-jährigen Verbundprojekt der Gemeinschaft zur Förderung der Privaten Deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP), des Dienstleistungszentrums Ländlicher Raum (DLR) Rheinland und des Julius Kühn-Instituts Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI) umfangreiche Untersuchungen zu beiden Wirt-Pathogen-Systemen durchgeführt. Mit dem Ziel, eine Methode zum Screenen von Zuchtmaterial auf Resistenz zu entwickeln, beinhalteten die Unter-

suchungen Arbeiten zur Erregerbiologie und Epidemiologie, zur taxonomischen Zuordnung der Erreger und zu möglichen weiteren Wirten von Gemüsekulturen und Kräutern aus der Familie der *Apiaceae*.

Ergebnisse

Für beide Wirt-Pathogen-Systeme wurden deutschlandweit Isolate aus Praxisbeständen und Versuchsanlagen gesammelt und Systeme für ihre Erhaltung und Vermehrung entwickelt.

Für Arbeiten zur Identifizierung der Erreger wurden sowohl klassische taxonomische als auch molekularbiologische Verfahren in Zusammenarbeit mit der Firma IDENTXX GmbH genutzt.

Die Untersuchungen zur Morphologie des Echten Mehltaus zeigten, dass alle Isolate Merkmale aufwiesen, die mit denen von *Erysiphe heraclei* übereinstimmten. Mit Hilfe der PCR-basierten Analyse der ITS-Region konnten diese Ergebnisse zunächst bestätigt werden. Der Abgleich mit aus Datenbanken bekannten ITS-Sequenzen zeigte jedoch auch, dass sich die als *E. heraclei* bezeichneten Referenzsequenzen in drei Gruppen aufteilen lassen. Die sequenzspezifischen Unterschiede zwischen diesen Gruppen sind signifikant. Verschiedene Isolate, die von der Petersilie stammen und eine nahezu identische ITS-Sequenz aufwiesen, zeigten in einer alternativen Genregion deutliche Unterschiede. Diese Beobachtung legt die Vermutung nahe, dass die genetische Diversität der als *E. heraclei* bezeichneten Isolate wesentlich größer ist als ursprünglich angenommen. Somit ist zwar eine Zuordnung des Echten Mehltau Erregers der Petersilie zur Gattung *Erysiphe* gegeben, die Bestimmung der Art bedarf aber weiterer Untersuchungen.

Für die molekularbiologische Charakterisierung des Falschen Mehltaus anhand von zwei Genregionen standen insgesamt 14 *P. petroselini*-Isolate unterschiedlicher regionaler Herkunft zur Verfügung. Hierbei wiesen alle Isolate bei Abgleich mit der Datenbank GenBank® für die COXII – Region belastbare Unterschiede zu *Plasmopara pimpinellae* auf. Zeigten diese ersten phylogenetischen Analysen, dass es sich bei den untersuchten Isolaten um eine klar von anderen bisher beschriebenen *Plasmopara*-Arten abgegrenzte Gruppe handelt, erwiesen sich die analysierten Isolate untereinander nach derzeitigem Stand - bis auf eine Ausnahme - als homogene Gruppe.

Auf Grundlage der umfangreichen Isolatsammlung der beiden Erreger wurden 13 Pflanzenarten aus der Familie der *Apiaceae* auf ihre Anfälligkeit für Echten und Falschen Mehltau geprüft. Die Untersuchungen erfolgten an getopften Einzelpflanzen in Gewächshaustests und unter für den jeweiligen Erreger optimalen Klimabedingungen.

Bei der Prüfung von acht Isolaten des Echten Mehltaus zeigten neun der 13 geprüften Pflanzenarten Befall, der unterschiedlich stark ausgeprägt war. Bei Wurzelpetersilie, Dill, Gemüsefenchel, Kerbel und Kümmel wiesen alle Pflanzen einen deutlich sichtbaren, weißen Mehltaubelag auf. An Liebstöckel, Möhre, Knollen- und Stangensellerie traten an etwa 60 bis 70% der Pflanzen Infektionen auf, die teilweise nur bei 50facher Vergrößerung mikroskopisch nachweisbar waren. Bei Schnittsellerie, Anis, Koriander und Pastinake waren dagegen alle Pflanzen stets befallsfrei.

Von den vier in die Prüfung einbezogenen Falschen Mehltau Isolaten von Petersilie bzw. Gemüsefenchel erwies sich das Wirtspflanzenspektrum als wesentlich breiter als bisher angenommen. Unter optimalen Infektionsbedingungen konnte Befall an Anis, Dill, Gemüsefenchel, Koriander, Liebstöckel, Pastinake und Wurzelpetersilie nachgewiesen werden. Die Virulenzunterschiede zwischen den vier Isolaten waren gering, nur ein Isolat verursachte keinen oder nur sehr geringen Befall auf Koriander und Liebstöckel. Die weiteren geprüften Arten Kerbel, Kümmel, Möhre sowie Knollen-, Schnitt- und Stangensellerie zeigten keine makroskopisch sichtbaren Symptome (Sporulation oder Nekrosen).

Für die Entwicklung effizienter Methoden für ein Resistenzscreening von Petersiliensorten wurden im Rahmen von Infektionsversuchen für beide Erreger der Einfluss von Klimafaktoren auf die Infektion, Latenzzeit, Sporenceimung und Sporulation ermittelt. Beim Echten Mehltau kam es zu Infektionen im Temperaturbereich von 10 bis 32 °C. Die Temperatur beeinflusste deutlich sowohl die Keimrate, die Latenzzeit als auch die Befallsstärke. Eine relative Luftfeuchte zwischen 60 und 70% förderte die Befallsstärke, hatte aber keinen Einfluss auf die Latenzzeit.

Beim Falschen Mehltau konnten Infektionen im Temperaturbereich von 4 bis 20 °C erzielt werden; eine deutliche Sporulation bei hoher relativer Luftfeuchte erfolgte bei 10 bis 20 °C.

Neben dem Einfluss der Klimafaktoren wurden mögliche Inokulationsmethoden an unterschiedlichen Pflanzenentwicklungsstadien geprüft.

Als optimal für die Inokulation der Versuchspflanzen erwies sich dabei für beide Erreger die Verwendung einer Sporensuspension, die durch Abwaschen der Konidien/Sporangien befallener Blätter 14 Tage nach Inokulation der Erhaltungspflanzen angefertigt wurde.

Beim Echten Mehltau wurde von den 17 deutschlandweit gesammelten Isolaten ein hochaggressives Isolat als Standard für die Entwicklung des Screeningtestsystems ausgewählt, so dass eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet war. Beim Falschen Mehltau diente ein Isolat, das auf dem Lehr- und Versuchsbetrieb Queckbrunnerhof gewonnen wurde, als Standard.

Als makroskopisch erfassbare Kriterien für eine mögliche Sortenresistenz wurden in beiden Wirt-Pathogen-Beziehungen Befallshäufigkeit, Befallsstärke (Blattetagen, Gesamtpflanze), Sporulationsdichte und nekrotische oder chlorotische Läsionen an den Blättern bonitiert und hinsichtlich ihrer Eignung für eine Screeningmethode bewertet. Mittels dieser Untersuchungen wurden Boniturschemata sowohl für ein Screening im Anbau unter Glas als auch für den Freilandanbau erarbeitet.

Auf der Basis der erarbeiteten Grundlagen folgten vergleichende Untersuchungen zur Befallsentwicklung der Erreger an 20 Petersiliensorten im Anbau unter Glas, im Freiland und in Klimakammern. Im Ergebnis wiesen die geprüften Sorten vergleichbare Unterschiede in der Anfälligkeit in allen drei Testsystemen auf.

Mit Falschem Mehltau infizierte Pflanzen zeigten zudem verschiedene Symptomausprägungen in einzelnen Sorten. In weiterführenden Arbeiten wurden diese histopathologisch untersucht und in Zusammenarbeit mit der Firma IDENTXX GmbH eine erregerspezifische PCR als molekularbiologische Testmethode etabliert.

Um den Forderungen der Züchtungsunternehmen nach einer möglichst einfach handhabbaren und in bestehende Produktionsabläufe integrierbaren Screeningmethode gerecht zu werden, wurde im weiteren Verlauf der Arbeiten der Schwerpunkt auf ein Testsystem für die Durchführung der Sortenprüfungen mit getopferten Einzelpflanzen im Gewächshaus gelegt.

Für die Prüfung der Anfälligkeit beider Erreger bestätigte sich die Eignung eines Testsystems im Gewächshaus. Vorteile im Vergleich zu Freilandprüfungen bestehen im geringeren Platz- und Zeitbedarf, den steuerbaren Klimabedingungen und den standardisierbaren Inokulationsbedingungen. Darüber hinaus besteht ein geringeres Risiko für das Auftreten weiterer Pathogene/Schädigungen, die mögliche Resistenzen maskieren könnten und die Bonituren erschweren.

Die erarbeiteten Testmethoden wurden in routinemäßigen Prüfungen wiederholt und soweit entwickelt und verifiziert, dass eine Prüfung mit Züchtungsmaterial möglich ist.

Die erarbeiteten Testsysteme werden den Ansprüchen der Züchtungsunternehmen gerecht, die Prüfung möglichst vieler Petersilienprüflinien zu ermöglichen und dabei einfach durchführbar und in betriebsinterne Abläufe integrierbar zu sein.



Bild 1: Echter Mehltau: Wirtspflanzentest im Gewächshaus



Bild 4: Falscher Mehltau: Wirtspflanzentest im Gewächshaus



Bild 2: Echter Mehltau: Unterschiede zwischen Sorten im Gewächshaustest



Bild 5: Falscher Mehltau: Unterschiede zwischen Sorten im Feldversuch

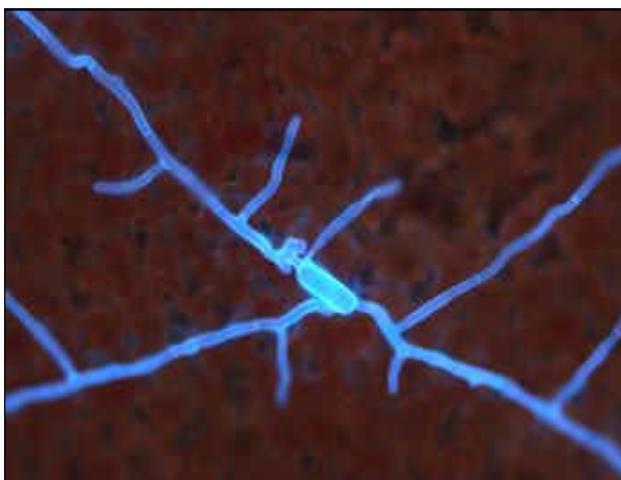


Bild 3: Echter Mehltau: gekeimte Konidie auf der Blattoberseite (Fluoreszenzmikroskopie)



Bild 6: Falscher Mehltau: Sporangienträger auf der Blattunterseite (Fluoreszenzmikroskopie)

Projektbezogene Veröffentlichungen

Leinhos, G.; Krauthausen, H.-J.; Brändle, F.

Falscher Mehltau an Petersilie - Erarbeitung von Screeningmethoden für die Resistenzzüchtung

Julius-Kühn-Archiv (2012), 438, 58. Deutsche Pflanzenschutztagung 10. bis 14. September 2012 in Braunschweig, 406

Leinhos, G.; Krauthausen, H.-J.; Brändle, F.

Falscher Mehltau an Petersilie - Untersuchungen zum Wirtspflanzenspektrum und molekularbiologische Charakterisierung

Julius-Kühn-Archiv (2014). Deutsche Pflanzenschutztagung 23. bis 26. September 2014 in Freiburg, in Druck

Leinhos, G.; Marx, P.

Falscher und Echter Mehltau an Petersilie - Erarbeitung von Screeningmethoden für die Resistenzzüchtung

Innovationstage 2012, Forschungs- und Entwicklungsprojekte Programm zur Innovationsförderung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, 29.-30.10.2012 in Bonn, Tagungsband, 21-23

Marx, P.; Gärber U.

Echter Mehltau an Petersilie - Erarbeitung von Screeningmethoden für die Resistenzzüchtung

Beiträge zur 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau 2013 (Hrsg. D. Neuhoff, C. Stumm, S. Ziegler, G. Rahmann, U. Hamm & U. Köpke), 284-285

Marx, P.; Gärber, U.

Echter Mehltau an Petersilie - Erarbeitung von Screeningmethoden für die Resistenzzüchtung

Julius-Kühn-Archiv (2012) 438, 58. Deutsche Pflanzenschutztagung 10. bis 14. September 2012 in Braunschweig, 406

Marx, P.; Gärber, U.

Echter Mehltau an Petersilie - Untersuchungen zum Wirtspflanzenspektrum

Julius-Kühn-Archiv (2014), Deutsche Pflanzenschutztagung 23. bis 26. September 2014 in Freiburg, in Druck

