

***Peronospora salviae-officinalis* - neue Erkenntnisse zu Infektionsbiologie, Epidemiologie und Wirtsspektrum**

Mascha Hoffmeister, Dr. Yvonne Becker, Dr. Wolfgang Maier, Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsanstalt für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, wolfgang.maier@julius-kuehn.de

Seit einigen Jahren ist Falscher Mehltau der bedeutendste Schaderreger im Salbeianbau in Deutschland. Der Verursacher dieser Krankheit, *Peronospora salviae-officinalis*, wurde 2009 als neue Art beschrieben, mit Echtem Salbei (*Salvia officinalis*) als einzigem Wirt. Da der Erreger den Salbeianbau in Deutschland gefährdet, sollten im Rahmen eines durch das Bundeslandwirtschaftsministerium geförderten Projektes (Förderkennzeichen 22006411) die wissenschaftlichen Grundlagen für die Kontrolle des Erregers geschaffen werden. Hierzu sollten insbesondere die Infektionsbiologie und Epidemiologie des Erregers im Detail aufgeklärt und der Krankheitsverlauf unter kontrollierten Bedingungen reproduziert und mittels geeigneter Mikroskopietechniken dokumentiert werden. Mittels Monitoring sollte zudem die Verbreitung des Pathogens im deutschen Salbeianbau nachvollzogen werden. Des Weiteren wurden morphologische und molekularphylogenetische Untersuchungen an *P. salviae-officinalis* und anderen auf Lippenblütlern, insbesondere auf anderen Salbei-Arten vorkommenden Falschen Mehltauen durchgeführt. Hierdurch sollten die Artgrenzen dieser Erreger genauer geklärt werden, welche eine hohe Relevanz für ihr Potential als potentielle Inokulumquelle haben.

Um die Infektionsbiologie des Erregers besser zu verstehen, wurde zunächst eine ständige Erregerhaltung des obligat biotrophen *Peronospora salviae-officinalis* auf seinem Wirt *S. officinalis* in Klimakammern etabliert und optimiert. Mit frischem Inokulum aus der Erregerhaltung wurden anschließend standardisierte Infektionsversuche in Klimaschränken durchgeführt. Zunächst wurde untersucht, ob eine 24-stündige Dunkelinkubation nach der Inokulation, wie sie bei Falschen Mehltauen üblicherweise eingesetzt wird, zwingend nötig ist für eine erfolgreiche Infektion von Salbei. Unsere Versuche zeigten, dass *P. salviae-officinalis* keine Dunkelinkubation benötigt, um Salbei zu infizieren. Es kann bei Infektionsversuchen direkt mit einem 12-Stunden hell-dunkel-Rhythmus gestartet werden. Die Ergebnisse zeigten außerdem, dass eine initiale Blattnässedauer von 3 Stunden für eine Infektion ausreicht, *P. salviae-officinalis* aber zwingend ein weiteres Ereignis hoher Luftfeuchtigkeit am Ende des Infektionszyklus benötigt, um zu sporulieren. Versuche unter verschiedenen Inkubationstemperaturen (5, 10, 15, 20 und 25 °C) zeigten, dass bei 20 und 25 °C die Entwicklung von symptomatischer und sporulierender Blattfläche am frühesten einsetzt (4dpi), bei 10 °C am spätesten. Sporulierende und symptomatische Blattfläche waren bei Temperaturen von 15-20 °C am höchsten. Bei einer Inkubationstemperatur von 5 °C konnten innerhalb eines 14-tägigen Beobachtungszeitraums keine Sporulation oder Blattflecke beobachtet werden. Um zu überprüfen, ob *P. salviae-officinalis* Salbei bei 5 °C tatsächlich nicht infizieren kann oder Salbei infiziert und dann latent vorliegt, wurden die Pflanzen der 5 °C-Variante nach Beendigung des Versuchs bei 25 °C weiter inkubiert. Bereits nach 2 Tagen bei 25 °C konnte bei den Pflanzen der 5 °C-Variante das Einsetzen der Sporulation beobachtet werden. Dies zeigt, dass *P. salviae-officinalis* Salbei auch bei Temperaturen von 5 °C infizieren kann, das Gewebe schon teilweise kolonisiert und dann schnell Inokulum bildet, wenn die Temperaturen ansteigen. Für den Salbeianbau in gemäßigten Breiten bedeutet dies, dass Salbei fast über das ganze Jahr hinweg mit *P. salviae-officinalis* infiziert werden kann. Im Rahmen der Infektionsversuche konnte auch die Bildung von Oosporen induziert werden. Diese werden bei Temperaturen zwischen 15 und 25 °C in symptomatischem Blattgewebe gebildet.

Um den zeitlichen und zellulären Verlauf des Infektionsprozesses von *P. salviae-officinalis* an Salbei zu beobachten, wurden zu verschiedenen Zeitpunkten Blattproben von inokulierten Pflanzen für die konfokale Laserscanningmikroskopie gefärbt. Die Zellwände von Oomyceten

bestehen im Gegensatz zu denen Echter Pilze nicht überwiegend aus Chitin, sondern aus Zellulose. Daher musste eine Färbemethode gefunden werden, welche die *P. salviae-officinalis*-Strukturen mit ausreichend Kontrast zu den ebenfalls Zellulose enthaltenden pflanzlichen Zellen färbt. Bei der von uns etablierten Methode werden die Blattproben zunächst in einer aufsteigenden Ethanolreihe dehydriert, dann in einer absteigenden Ethanolreihe rehydriert und anschließend drei Stunden in KOH inkubiert, um die Blätter bestmöglich zu entfärben. Anschließend werden sie mit einer 1:1 Mischung aus Anilin- und Trypanblau mittels Vakuuminfiltration in einem Exsikkator gefärbt. Mit besagter Färbemethode konnte der gesamte Infektionsprozess von *P. salviae-officinalis* an Salbei, von der Anheftung der Konidien bis zur erneuten Sporulation, beobachtet und dokumentiert werden.

Das Monitoring wurde in den Jahren 2016 und 2017 auf 8 ökologisch bewirtschafteten Flächen durch Ökoplant e.V. durchgeführt. Außerdem wurde ein intensiv wirtschaftender Betrieb mit integriertem Pflanzenschutz parallel zum Monitoring betreut. Dabei konnte in allen untersuchten Salbeibeständen *P. salviae-officinalis* nachgewiesen werden. Der durch *P. salviae-officinalis* verursachte Schaden war im intensiv wirtschaftenden Betrieb trotz Einsatz von Pflanzenschutzmitteln am größten.

Um zu klären, ob die rasche weltweite Verbreitung von *P. salviae-officinalis* durch Saatgutverbreitung des Erregers erfolgt sein könnte, wurde Salbeisaatgut unterschiedlicher Herkunft auf Kontaminationen mit *P. salviae-officinalis* getestet. Die Untersuchung des Saatguts erfolgte zum einen molekularbiologisch mittels DNA-Extraktion, PCR, Sequenzierung und Sequenzvergleich, zum anderen mittels einer Saatgutwaschmethode die ursprünglich für Tilletia-Brandsporen an Weizen konzipiert wurde. In allen acht untersuchten Saatgutproben konnte DNA von *P. salviae-officinalis* nachgewiesen werden. Außerdem wurden mit der Saatgutwaschmethode Oosporen aber auch Konidien und Konidienträger in den Saatgutpartien nachgewiesen. Belastetes Saatgut könnte somit die Ursache der schnellen weltweiten Verschleppung der Krankheit sein und auch die Ursache dafür, dass in unserem deutschlandweiten Monitoring sämtliche untersuchten Anbauflächen einen Befall aufwiesen, auch neu gesäte Flächen.

Die morphologischen und molekularphylogenetischen Untersuchungen ergaben, dass der Falsche Mehltau an Muskatellersalbei (*S. sclarea*) konspezifisch mit *P. salviae-officinalis* ist und somit *S. sclarea* einen weiteren Wirt für *P. salviae-officinalis* darstellt. Dagegen handelt es sich bei dem Falschen Mehltau an Wiesensalbei (*S. pratensis*) um eine bislang unbekannte Art, die gegenwärtig von uns beschrieben wird. Diese Ergebnisse legen nahe, dass der in Deutschland in bestimmten Regionen verbreitete Wiesensalbei keine Rolle als Inokulum für Echten Salbei spielt. Neben den Falschen Mehltauen an Wiesen- und Muskatellersalbei wurden auch weitere Proben von *Peronospora*-Arten an anderen Lippenblütlern morphologisch und molekularphylogenetisch untersucht. Darunter auch Proben von *Peronospora belbahrii* s. l. an Basilikum (*Ocimum basilicum*) und Buntnessel (*Plectranthus scutellarioides*, Coleus). Es stellte sich heraus, dass es sich bei dem Falschen Mehltau an Coleus nicht um *P. belbahrii*, sondern um eine eigene Art handelt, die sich morphologisch als auch phylogenetisch von *P. belbahrii* an Basilikum unterscheidet. Diese Art wird ebenfalls gerade von uns beschrieben.

30. Bernburger Winterseminar Arznei- und Gewürzpflanzen

18.02. - 19.02.2020

Tagungsbroschüre



Veranstalter:

**Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen
SALUPLANTA e.V. Bernburg**

**Landesanstalt für Landwirtschaft und Gartenbau des Landes
Sachsen-Anhalt Bernburg**

**Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR)
Gülzow-Prüzen**