Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., **54** (6), S. 147–151, 2002, ISSN 0027-7479.
© Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart

Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, Institut für Hopfenforschung, Hüll, Wolnzach[1]
EpiLogic GmbH Agrarbiologische Forschung und Beratung, Freising-Weihenstephan[2]

Untersuchungen zum Virulenzspektrum des Echten Mehltaus bei Hopfen *(Sphaerotheca humuli)* und zur Wirksamkeit rassenspezifischer Resistenzgene

Investigations on the virulence spectrum of hop powdery mildew *(Sphaerotheca humuli)* and on the effectiveness of race-specific resistance genes

Elisabeth Seigner[1], Stefan Seefelder[1] und Friedrich Felsenstein[2]

Zusammenfassung

Infektionen mit dem Echten Mehltau (*Sphaerotheca humuli* Burr.) gefährden in zunehmendem Maße den Qualitätshopfenanbau in Europa wie auch in den USA. In den letzten Jahren mussten hohe Summen für chemische Pflanzenschutzmittel ausgegeben werden, um drastische Ertragseinbußen und Qualitätsminderungen durch Mehltaubefall zu verhindern bzw. in Grenzen zu halten. Im Kampf gegen diese Pilzkrankheit ist die Resistenzzüchtung von größter Bedeutung. Für die gezielte Einkreuzung und Nutzung von Resistenzen in der Hopfenzüchtung ist es dringend erforderlich, die Wirksamkeit bekannter Resistenzgene (R-Gene) abzuschätzen. Dazu ist es notwendig, das Virulenzspektrum der *S.-humuli*-Populationen in den verschiedenen Hopfenanbaugebieten zu erfassen. In einem miniaturisierten Infektionssystem mit jungen Blättern wurde unter standardisierten Bedingungen in der Petrischale das Infektionsvermögen von 89 Mehltauisolaten gegenüber 12 verschiedenen Hopfensorten und Zuchtlinien geprüft. In diesem Hopfen-Differentialsortiment wurden die in der Literatur beschriebenen Resistenzgene (R-Gene) eingesetzt, aber auch bisher noch unbekannte Resistenzen. Durch diese ersten Untersuchungen zum regionalen Virulenzspektrum der in der Hallertau, England, Frankreich und den USA vorkommenden Mehltaurassen konnten gute Einblicke in das regionale Infektionspotential von *Sphaerotheca humuli* gewonnen werden. Zugleich ließ sich dadurch die Wirksamkeit bislang in der Züchtung verwendeter qualitativer, auf Hauptgenen beruhender Resistenzeigenschaften abschätzen. Es wurde deutlich, dass aus dem ohnehin sehr begrenzten Spektrum an verfügbaren Resistenzgenen bereits mehrere von komplementären Virulenzgenen auf Seiten des Mehltaupilzes durchbrochen sind und zumindest regional bestimmte Virulenzen eine höhere Frequenz aufweisen. Für das Hallertauer Anbaugebiet konnten mit dem R1-, R2-, R5- und RW-Gen noch wirksame Resistenzen zur Einkreuzung erkannt werden. Außerdem wurde klar, dass es dringend notwendig ist, die genetische Basis für Mehltauresistenz im Hopfengenpool zu verbreitern. Neue Mehltauresistenzquellen werden vor allem bei Wildhopfen vermutet.

Stichwörter: Hopfen, *Humulus lupulus,* Echter Mehltau, *Sphaerotheca humuli,* Virulenzgene, Resistenzgene

Abstract

Hop powdery mildew, caused by the fungus *Sphaerotheca humuli,* has become a serious problem in almost all hop growing regions all across Europe and the USA. In recent years great expenses were caused by the high amounts of pesticides applied to prevent or limit the loss of yield and quality associated with heavy infection with powdery mildew. In controlling powdery mildew breeding for resistance is crucial. For specific incorporation and utilization of different genetic sources of resistance to powdery mildew it is vital to evaluate the effectiveness of these sources. For that purpose it is necessary to determine the spectrum of virulence genes of *S. humuli* populations occurring in various hop growing regions. Using an infection system with detached leaves the potential of 89 isolates of powdery mildew to infect 12 differential hop cultivars and breeding lines has been tested under standardized conditions. In this set of differential hop genotypes all resistance genes characterized in literature were tested, including also unknown resistances. These investigations on the regional spectrum of virulence genes in powdery mildew strains from various Hallertau growing regions, from England, France and the USA revealed very interesting insights into the local potential for *Sphaerotheca humuli* infection. At the same time the effectiveness of race-specific resistances based on major genes that are currently utilized in breeding could be evaluated. Virulence analyses clearly showed that within the already limited spectrum of resistances several genes are overcome by corresponding virulence genes in the powdery mildew populations and have increased frequencies at least in specific regions. In the Hallertau region the R1, R2, R5 and RW gene have been recognized as still effective sources of resistance. Furthermore, it became quite obvious that it is absolutely necessary, to broaden the genetic basis for resistance in the hop germplasm. New genetic sources of resistance are expected to be found in wild hops.

Key words: Hop, *Humulus lupulus,* powdery mildew, *Sphaerotheca humuli,* virulence gene, resistance gene

1 Einleitung

Der Echte Mehltau (*Sphaerotheca humuli* Burr.) stellt in den letzten Jahren im Hopfenanbau weltweit ein erhebliches Problem

dar. Infektionen mit *Sphaerotheca humuli,* der sehr spezifisch nur Hopfen – die Wild- und Kulturform – befällt, zeigen sich durch mehlartige, weiße Flecken, die sowohl auf der Blattober- wie auch Unterseite auftreten können. Blüten und Dolden können in jedem Reifestadium befallen werden. Um drastische Ertragseinbußen und Qualitätsminderungen durch Mehltaubefall zu verhindern bzw. in Grenzen zu halten, mussten deshalb in den letzten Jahren in den deutschen Anbaugebieten im Kampf gegen den Echten Mehltau jährlich chemische Pflanzenschutzmittel im Wert von € 2,3–3 Mio. eingesetzt werden. Die kostengünstigste, arbeitssparendste und zugleich umweltschonendste Bekämpfung dieser Pilzkrankheit ist durch den Anbau mehltauresistenter Hopfensorten zu erreichen, deren Widerstandsfähigkeit auf der Wirkung verschiedener Resistenzgene beruht. Somit nimmt die Mehltauresistenzzüchtung eine zentrale Stellung in der Hopfenforschung ein. Voraussetzung für die gezielte Einkreuzung von Resistenzen in neues Zuchtmaterial sind fundierte Kenntnisse zur Wirksamkeit der verschiedenen Mehltauresistenzgene. Die meisten zur Zeit in der Hopfenzüchtung verwendeten Resistenzen gegenüber *Sphaerotheca humuli* beruhen auf qualitativen (vertikalen) Resistenzeigenschaften, deren Erbgang leicht zu verfolgen ist. Sie werden durch einzelne Gene kontrolliert und vermitteln in der Regel nur Widerstandsfähigkeit gegenüber spezifischen Pathotypen, die ein entsprechendes Avirulenzgen aufweisen. Ausgehend von der Gen-für-Gen-Hypothese nach FLOR (1956) steht jedem Resistenzgen der Wirtspflanze (Hopfen) auf der Erregerseite (Echter Mehltau) ein Virulenz- bzw. Avirulenzgen gegenüber. Bei Virulenz besitzt der Pilz die Fähigkeit, die Wirtsresistenz zu überwinden. Auch Pathotypen mit mehreren Virulenzen sind anzutreffen. Durch diese spezifische Gen-für-Gen-Interaktion zwischen Hopfen und Mehltaupilz, die bereits in Studien aus England (ROYLE, 1978) genutzt wurde, ist eine wechselseitige Identifizierung der am Wirt-Pathogen-System beteiligten Gene (Resistenzgen/Virulenzgen) möglich (FLOR, 1971; FELSENSTEIN, 1991). Neue Virulenzen und Virulenzkombinationen entstehen vor allem durch Mutation sowie durch Rekombination während der sexuellen Phase des Mehltaupilzes nach der Bildung von Kleistothecien als Überwinterungsformen (BROWN et al., 1997). Durch Untersuchungen von mehltaubefallenen Blättern aus unterschiedlichen Regionen der Hallertau, aus Frankreich, England und den USA sollten Erkenntnisse über die Variabilität und regionale Verteilung von Virulenzgenen in den Mehltaupopulationen der verschiedenen Hopfenanbaugebiete gesammelt werden. Hauptaugenmerk lag dabei auf dem Hallertauer Anbaugebiet. Zugleich sollte durch diese Studien die Wirksamkeit bislang in der Züchtung verwendeter qualitativer, also auf Hauptgenen beruhender Resistenzeigenschaften abgeschätzt werden. Für die Virulenzanalysen wurde ein miniaturisiertes Infektionssystem mit abgeschnittenen jungen Blättern eingesetzt, das sich bereits bei Gerste und Weizen (FELSENSTEIN, 1991; ZELLER et al., 1993) sowie bei einigen Pflanzen aus dem Obst- und Gartenbau (FANAOURAKIS, 1990; BROWN et al., 1999; OLMSTEAD et al., 2000) für das Resistenzscreening gegenüber pilzlichen Erregern bewährt hatte.

2 Material und Methoden

Im Zeitraum von Mai bis September 1999 bzw. im gleichen Zeitraum des folgenden Jahres wurden von verschiedenen Hopfenanbauregionen mehltaubefallene Blätter gesammelt. Die Mehltauproben kamen von verschiedenen Sorten aus Praxisbeständen oder von Zuchtstämmen. Alle nachfolgenden Arbeiten mit dem Echten Mehltau wurden von EpiLogic, Freising-Weihenstephan, Deutschland, durchgeführt. Zur Herstellung von Einzelkonidienisolaten wurden von den pilzbefallenen Stellen des Blattes unter dem Mikroskop einzelne Konidien bzw. kurze Konidienketten mit einem Ein-Haar-Pinsel abgenommen und auf jungen Blättern der hochanfälligen Sorte „Northern Brewer" weitervermehrt. Diese Nachkommenschaften aus Einzelkonidien wurden mehrmals auf neue Blätter überimpft, wodurch Infektionsmaterial mit spezifischer, noch zu charakterisierender Virulenz erhalten wurde. Im ersten Jahr unter extremem Infektionsdruck konnten insgesamt 58 Mehltauisolate aus der Hallertau (37), aus England (7), aus USA (8) und aus Frankreich (6) gewonnen und analysiert werden. Im zweiten Jahr war der Mehltauinfektionsdruck über die gesamte Vegetationsperiode drastisch verringert und so konnten lediglich 31 Isolate aus dem Hallertauer Anbaugebiet im Jahr 2000 gesammelt werden. In den Hopfenanbauregionen Spalt und Tettnang konnte überhaupt kein Mehltaubefall festgestellt werden. Außerdem wurde im zweiten Jahr darauf verzichtet, weitere Mehltauisolate aus anderen Ländern zu sammeln.

Die Isolate wurden in einer Kühltruhe bei +3 bis +5 °C und Dauerlicht aufbewahrt. Zur Auffrischung des Materials wurden alle 4–6 Wochen Kondien auf frische Blätter von „Northern Brewer" überimpft und nach einer Woche Myzelwachstum wieder kühl gelagert. Für Infektionsreihen wurden Konidien der Mehltauisolate auf mehrere junge Blätter überimpft, bebrütet und standen nach etwa 1–2 Wochen als Infektionsmaterial zur Verfügung.

Für die Virulenzanalysen wurden 12 ausgewählte Hopfensorten bzw. Hopfenstämme mit verschiedenen Resistenzgenen (Hauptgene = qualitative Resistenz) als Differentialsortiment bereitgestellt (Tab. 1). Ein Teil dieser Mehltauresistenzen (R-Gene) ist in der Literatur beschrieben (DARBY and GUNN, 1987). Die Bezeichnung der bekannten R-Gene beruht auf einer persönlichen Mitteilung von Dr. P. DARBY, Horticultural Research International, England. Bisher noch nicht charakterisierte Resistenzen wurden als R? bezeichnet. Als Kontrollsorten ohne Resistenzeigenschaften wurden „Northern Brewer" und zum Teil auch „Hallertauer Magnum" eingesetzt.

Für den Infektionstest wurden von im Gewächshaus angezogenen Pflanzen das erste Blattpaar am 1. Knoten nach der Knospe abgeschnitten und mit der Blattoberseite nach oben in Wasseragar gesteckt. Für die Infektion der jungen Blätter mit Mehltaukonidien wurde folgende Vorgehensweise gewählt: Zur homogenen Verteilung der Konidien wurden in einem Inokulationsturm von oben mit einem Luftstrom die Mehltausporen eines stark mit Mehltau bewachsenen Blattes auf die am Boden des Turms ausgebreiteten Petrischalen eingeblasen. Die Sporen konnten sich so gleichmäßig auf die Blätter des Testsortiments absetzen. Unter optimierten Inkubationsbedingungen (22 °C; 12-stündiger Licht-/Dunkelrhythmus) waren in der Petrischale bereits 5 Tage nach der Inokulation Aussagen zu Befall oder Befallsfreiheit möglich. Die abschließende Bonitur erfolgte jedoch erst nach 8 Tagen.

3 Ergebnisse

Zur Differenzierung spezifischer Virulenzen (v1, v2, ...) der regionalen Populationen von *Sphaerotheca humuli* wurde das Infektionsvermögen von insgesamt 89 Einzelkonidien-Nachkommenschaften gegenüber den verschiedenen Hopfensorten und Stämmen mit qualitativer (= vertikaler = Majorgen) Resistenz getestet. Dazu wurde jeweils von jedem der 12 differenzierenden Hopfensorten oder Stämme (mit den Resistenzgenen R1, R2, R3, R4, R5, R6, RW, R?) das jüngste Blattpaar mit Mehltaukonidien der Einzelkonidien-Nachkommenschaften inokuliert. In jedem Testsortiment wurden als Kontrollen junge Blätter von „Northern Brewer" und z. T. von „Hallertauer Magnum", die

keine Resistenzen zeigen, mitgeführt. Nach 8 Tagen Inkubation bei 22 °C wurde der Mehltaubewuchs auf den einzelnen Blättern makroskopisch quantitativ bewertet (Abb. 1).

Im Testsortiment wurde dem Blättchen mit den stärksten Befallssymptomen, in der Regel von der Kontrolle „Northern Brewer", die Boniturnote 100 (= 100 % Befall) gegeben. Die Blättchen der Differentialsorten zeigten in der Regel gleichen oder weniger stark ausgeprägten bzw. keinen sichtbaren Mehltaubefall und wurden dann in Relation zur Kontrolle mit der Befallsstärke 100 %, 90 %, ... 10 % und 0 % bewertet. So waren die Boniturergebnisse der einzelnen Testreihen direkt miteinander vergleichbar. Bei einem Befall von 50 % der maximalen Befallsintensität der Kontrolle wurde das Pilzisolat als virulent eingestuft, wodurch sich eine Differenzierung der Mehltauisolate in virulent (100–50 % Befall), avirulent (0 bis 20 %) bzw. intermediäre Reaktion (20–60 %) ergibt. In Tabelle 1 sind von den insgesamt mit 89 Mehltauisolaten (in 2facher Wiederholung) durchgeführten Virulenzanalysen die Reaktionen von 13 Isolaten (in 5facher Wiederholung) gegenüber dem Differentialsortiment dargestellt. Mit diesen ausgewählten Isolaten, die auch für künftige Resistenztests erhalten und weitergeführt werden, ist eine klare Differenzierung der unterschiedlichen Resistenzen möglich. „Early Choice", „Zenith", Stamm 3/63/51, „Nugget" sowie „Wildhopfen 30 und 25" standen erst im zweiten Jahr zur Differenzierung der einzelnen Mehltau-Virulenzen zur Verfügung.

Aus Tabelle 1 wird deutlich, dass, wie erwartet, alle Mehltauisolate die englische Sorte „Northern Brewer", für die keinerlei Resistenzeigenschaften beschrieben sind, befallen konnten. Zumeist wurde 100%iger Befall der als Null-Kontrolle (R0) verwendeten Blätter beobachtet. Für alle im Differentialsortiment getesteten Resistenzgene mit Ausnahme des R5-Genes wurden in den verschiedenen Anbaugebieten komplementäre virulente Stämme identifiziert. Nur in Frankreich konnten – vielleicht auch bedingt durch die geringe Anzahl an untersuchten Einzelsporenisolaten aus dem Elsass – bisher keine Virulenzen gegenüber den getesteten Resistenzträgern gefunden werden. Des Weiteren zeigten diese Analysen, dass Pathotypen mit Virulenzen, die gegen die Resistenzen von Alpharoma (R?), Stamm 3/63/51 (R?) und Yeoman (RB) gerichtet sind, weit verbreitet sind. Somit bieten Resistenzen, die auf die oben genannten Sorten bzw. auf den Stamm 3/63/51 zurückgehen, weder in der Hallertau noch in England und den USA einen wirksamen Schutz vor Mehltauinfektionen. Auch Pathotypen, die die englische Sorte „Wye Challenger" befallen, sind weit verbreitet. Hinsichtlich der Befallsintensität ergaben sich bei den einzelnen Isolaten deutliche Unterschiede. Neben 100%iger Befallsintensität wurden auf Blättern von „Wye Challenger" auch intermediäre Befallsreaktionen mit 30–40 % beobachtet, die auf Teilresistenzen schließen lassen.

Ein regional differenziertes Bild ergab sich für Pathotypen, die aufgrund ihrer Virulenzausstattung die amerikanische Sorte „Nugget" (R6) bzw. die russische Sorte „Serebrianker" (R4) befallen konnten. Nach den vorliegenden Untersuchungen, die sich vorwiegend auf das Hallertauer Anbaugebiet konzentrierten, treten dort schon sehr gehäuft die v4- und v6-Virulenz auf. Demgegenüber waren sie in den aus England und den USA kommenden Mehltauproben, unter Umständen auch bedingt durch die relativ geringe Zahl an untersuchten Befallsproben aus diesen Ländern, nicht zu finden. Bei 68 aus der Hallertau stammenden Mehltauisolaten konnten keine Virulenzen erkannt werden, die gegen das R1-, R2- und R5-Gen der englischen Sorten „Zenith", „Wye Target" und „Early Choice" gerichtet sind. Ebenso wurden bisher keine Virulenzen in den Hallertauer *S.-humuli*-Populationen festgestellt, die die Widerstandsfähigkeit dreier Wildhopfen aus Thüringen durchbrechen konnten. Somit scheinen augenblicklich in der Hallertau die Resistenzeigenschaften der englischen Sorten „Zenith" (R1), „Wye Target" (R2) und „Early Choice" (R5) sowie der drei aus Thüringen stammenden Wildhopfen W25, W30 und W49 (RW?) noch vollen Befallsschutz zu gewährleisten. Diese Resistenzen – soweit das stark eingeschränkte Spektrum an Mehltauisolaten aus Frankreich und den USA diese Aussagen zulässt – sind demnach auch in diesen beiden Ländern noch wirksam. In England haben sich jedoch schon Pathotypen entwickelt, die auch diese Mehltauresistenzen (R1, R2 und RW) brechen konnten.

4 Diskussion

Für die Mehltauresistenzzüchtung bei Hopfen sind fundierte Kenntnisse zur Rassenvielfalt von *Sphaerotheca humuli,* dem Echten Mehltau bei Hopfen, in verschiedenen Hopfenanbaugebieten dringend erforderlich. Nur über umfangreiche Virulenzanalysen der Mehltaupopulationen können noch wirksame Resistenzquellen im Hopfengenpool erfasst und gezielt ins Zuchtmaterial eingekreuzt werden.

Um das Virulenzspektrum einer großen Zahl von Mehltauisolaten mit einem vertretbaren Aufwand an Zeit und Geld untersuchen zu können, wurde ein miniaturisiertes Testsystem von EpiLogic zur Infektion von Hopfenblättern eingesetzt. Von essentieller Bedeutung für die Aussagekraft der Virulenzanalysen ist dabei, dass die jeweilige Mehltauresistenz oder Anfälligkeit der Sämlinge im verwendeten Blattstadium unter den gewählten Infektionsbedingungen voll ausgeprägt wird und mit den Reaktionen im Freiland unter natürlichen Infektionsbedingungen übereinstimmt. Testsysteme mit abgetrennten Blättern sind für zahlreiche Resistenzuntersuchungen bei *Prunus*-Arten, Gemüsepflanzen, bei Wein und auch bei Getreide eingesetzt worden (ST. AMAND and WEHNER, 1995; BACKES et al., 1996; DORRANCE and INGLIS, 1997; BROWN et al., 1999; HOSOYA et al., 1999) und ebenso schon 1973 bei Studien zur Resistenz von Hopfen gegenüber Echtem Mehltau (LIYANAGE, 1973). Dabei zeigte sich stets,

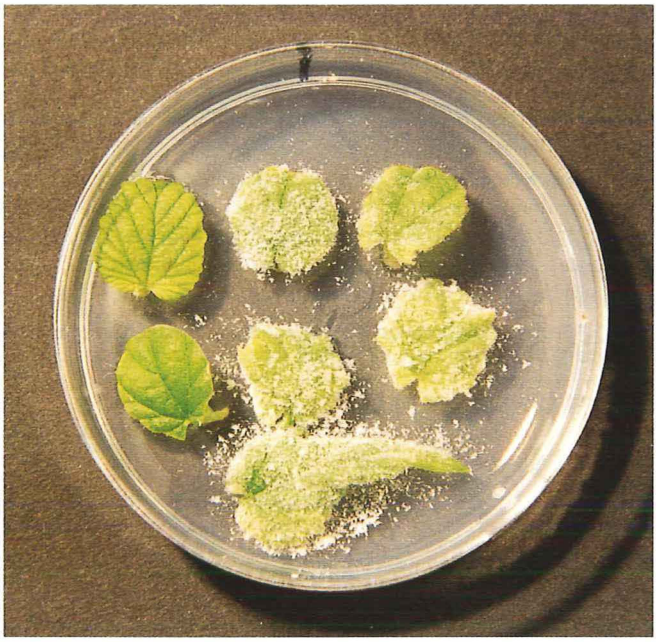

Abb. 1. Reaktion eines Einzelkonidienisolates des Echten Mehltaus gegenüber 6 differenzierenden Hopfensorten bzw. -stämmen: „Early Choice" (R5) „Zenith" (R1), Zuchtstamm 3/63/51 (R?) [1. Reihe von links nach rechts]; „Nugget" (R6), Wildhopfen W30 (RW?), „Wye Target" (R2) [2. Reihe von links nach rechts]. Als Kontrolle wurde ein Blatt der hochanfälligen Sorte „Northern Brewer" (R0) [unten im Bild] mitgeführt.

dass gesicherte, mit dem Freiland übereinstimmende Aussagen zur Resistenz nur möglich sind, wenn das Testsystem hinsichtlich Blattalter, Lichtregime und Temperaturbedingungen für das jeweilige Wirt-Pathogen-System optimiert worden war (OLMSTEAD et al., 2000). Wie bereits für verschiedene Wirt-Pathogen-Beziehungen beschrieben (Wein – Falscher Mehltau *(Plasmopara viticola),* REUVENI, 1998; Rosen – Echter Mehltau *(Sphaerotheca pannosa),* XU, 1999; Süßkirsche – Echter Mehltau *(Podosphaera clandestina),* OLMSTEAD et al., 2000), so konnte auch hier eine „Altersresistenz" der Blätter festgestellt werden. In Testreihen mit unterschiedlich alten Blättern waren nur die jüngsten Blätter, d. h. das erste Blattpaar am ersten Knoten nach der Knospe, gut zu infizieren. Ältere Hopfenblätter des zweiten und dritten Knotens zeigten schon deutlich verringerten bzw. keinen Pilzbefall mehr. Dasselbe gilt für Doldenblätter, die im Spätsommer gesammelt worden waren und mit virulenten Mehltaustämmen nicht mehr zu infizieren waren. Langjährige Beobachtungen bestätigen, dass auch im Feldanbau die oben beschriebene abnehmende Anfälligkeit gegenüber Mehltau in späteren Entwicklungsstadien des Hopfens auftritt. Als besonders empfindlich gegenüber Pilzbefall werden im Feld junge Blätter des Erstaustriebes im Frühjahr und junge Blüten im Knospenstadium eingestuft. Inwieweit eine deutliche Steigerung der Inokulumsmenge zu einer Infektion älterer Blätter führen kann, soll in künftigen Untersuchungen geklärt werden.

In dieser Studie konnte eine gute bis sehr gute Übereinstimmung in der Resistenzeinschätzung aller im Virulenztest verwendeten Genotypen zwischen Freiland und dem hier verwendeten miniaturisierten Infektionssystem bestätigt werden (LUTZ, persönliche Mitteilung; DARBY, 1998).

Die in Tabelle 1 zusammengestellten Analysendaten geben erstmals Einblick in die Zusammensetzung und – mit Einschränkung – in die regionale Verteilung verschiedener Mehltau-Pathotypen. Bei den französischen Isolaten zeigte sich sehr klar, dass aufgrund des überwiegenden Anbaus der Sorte „Strisselspalter", für die keine Resistenzeigenschaften bekannt sind, die Mehltaupilze keinem Selektionsdruck unterworfen waren und sich somit keine virulenten Mehltaurassen entwickelt haben. Bei hoch spezialisierten, obligaten Parasiten wie *Sphaerotheca humuli,* der nur Hopfen (Wild- und Kulturform) als Wirtspflanze benutzt, erfolgt immer eine strikte Koevolution der Resistenzgene auf der Wirtsseite und der Virulenzgene auf der Erregerseite. Nur wenn der Pilz durch genetische Veränderungen wie Mutation und Rekombination seine Virulenzeigenschaften an die Wirtspflanze adaptieren kann, erlangt er die Fähigkeit zur Infektion und sichert so sein Überleben. Demzufolge werden die Virulenzen in einer Mehltaupopulation vor allem durch die Resistenzgene bestimmt, die in den regional am häufigsten angebauten Sorten enthalten sind oder waren (HOFFMANN et al., 1994). Daneben kommen zu den regionalen Mehltaupopulationen auch über die mit dem Wind passiv verbreiteten Asco- und Konidiosporen neue Virulenzen hinzu, wobei jedoch eine Hopfenbauregion als relativ isolierte Einheit zu sehen ist.

Obgleich von England nur eine geringe Anzahl an Mehltauisolaten untersucht wurde, zeigt sich hier eine beachtliche Breite an verschiedenen Pathotypen (mit verschiedenen Virulenzen). In England wurde schon seit 1972 mit dem flächenmäßigen Anbau von mehltauresistenten Sorten begonnen. Die auf Hauptgenen beruhenden Resistenzen von „Wye Challenger" (R3), „Zenith" (R1) und „Yeoman" (RB) wurden jedoch bereits nach relativ kurzer Zeit im kommerziellen Anbau durch neu entstandene virulente Rassen durchbrochen (NEVE, 1991; DARBY, 1998). Lediglich die auf einem Hauptgen (R2) beruhende Resistenz von „Wye Target", die von Nebengenen unterstützt wird, war von 1973 bis 1995 in England wirksam. Seit 1995 bietet allerdings auch diese Resistenz keinen wirksamen Schutz mehr (siehe Tab. 1, Isolat aus England Nr. 9). Selbst die R5-Resistenz von „Early Choice" ist in England überwunden. Zwar konnte im Rahmen der hier vorgestellten Studien in den Mehltauproben aus England keine v5-Virulenz gefunden werden, aber DARBY (1998) berichtete bereits von virulenten Rassen, wenngleich in geringer Frequenz, die „Early Choice" befallen.

Darüber hinaus zeigt Tabelle 1, dass es einige Mehltauisolate gibt, die mehrere Resistenzen überwinden können, also eine Kombination mehrerer Virulenzgene besitzen. Damit hätten diese Pathotypen theoretisch die Fähigkeit, auch Pflanzen mit allen komplementären R-Genen zu infizieren. Angenommen wird sicherlich, dass eine Kombination mehrerer Resistenzgene zu einer dauerhafteren Widerstandsfähigkeit und bei Befall zumindest zu einer verminderten Sporulation des Pilzes führt. Bei „Zenith" (R1) und „Wye Challenger" (R3) wird angenommen, dass noch ein zweites R-Gen (RB) vorhanden ist (DARBY, 1998). Ausgehend von den hier vorliegenden Daten könnte zumindest bei „Wye Challenger" die abgeschwächte Befallsintensität durch die Kombination beider R-Gene erklärt werden.

Es bleibt die Frage, inwieweit von der Befallsintensität, von beobachteten voll wirksamen 100%igen Resistenzen bzw. von Teilresistenzen (intermediäre Reaktionen mit Befallsintensitäten zwischen 20 und 60 %) Rückschlüsse möglich sind, ob ein einzelnes Hauptgen (qualitative = horizontale = meist rassenspezifische Resistenz) wirkt, oder ob mehrere Gene (quantitative = vertikale = meist rassenunspezifische Resistenz) die Resistenz-

Tab. 1. Virulenzreaktion von 13 Mehltauisolaten aus England, Frankreich, USA und der Hallertau gegenüber einem Hopfen-Differentialsortiment bestehend aus 13 Sorten bzw. Zuchtstämmen (Einzelkonidienisolate von 1999 und 2000)

Hopfen	R-Gen	Mehltauisolate												
		E6	E8	E9	F1	USA2	USA3	HU2	HU9	BU10	BU13	EB1	HA1	PZ1
Northern Brewer	R0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Zenith	R1 (RB)	0	100	100	0		0	0	0	0	0	0	0	0
Wye Target	R2	0	10	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Wye Challenger	R3 (RB)	30	30	40	0	50	0	30	100	10	80	10	0	0
Serebrianker	R4	0	0	0	0	0	0	0	0	70	90	60	100	60
Early Choice	R5	0	0	0	0		0	0		20	10	10	0	0
Nugget	R6	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	50	80	60
Yeoman	RB	60	100	30	0	20	100	100	100	100	90	50	0	70
Alpharoma	R?	20	100	60	10	70	100	30	50	100	100	80	0	0
Stamm 3/63/51	R?	100	100	80	0	0	100	100	100	100	100	80	0	100
Wildhopfen 25	R?	0	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Wildhopfen 30	R?	0	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Wildhopfen 49	R?	0	60	30*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Einzelkonidienisolate: England: E6, E8, E9; Frankreich: F1; USA: USA2; USA3; Hallertau: HU2; HU9; BU10; BU13; EB1; HA1; PZ1;
*Starke Schwankungen in den Wiederholungen

reaktion bestimmen. Generell wurde früher angenommen, dass Ja-Nein-Reaktionen (100 % bzw. 0 % Befall) auf das Fehlen bzw. Vorhandensein eines Majorgenes (vertikale Resistenz) zurückzuführen sind, während intermediärer Befall auf horizontale Resistenz hinweist. Zahlreiche genetische Analysen in den letzten Jahren belegen jedoch, dass es sehr schwierig ist, zweifelsfrei horizontale von vertikaler Resistenz zu differenzieren (VAN DER PLANK, 1984; ZELLER et al., 1993; HOFFMANN et al., 1994). Somit ist es auch hier nicht möglich, aufgrund der Befallsintensität von 30–100 % bei den untersuchten Wildhopfen zu entscheiden, ob ein Hauptgen alleine wirkt oder ob Nebengene unterstützend dazu kommen.

Unklar bleibt auch, ob es sich bei den Wildhopfen um drei unterschiedliche Resistenzen handelt, da zumindest bei den bisher untersuchten Inhaltsstoffen keine signifikanten Unterschiede gefunden wurden. Aufgrund der vorliegenden Virulenzdaten kann augenblicklich angenommen werden, dass die Wildhopfen W30 und W25 Träger derselben Resistenz sind.

5 Ausblick

Die vorliegenden Untersuchungen belegen klar, dass es dringend notwendig ist, die genetische Basis für Mehltauresistenz im Hüller Genpool zu verbreitern. Neue Mehltauresistenzquellen werden vor allem bei Wildhopfen vermutet. So wurden bereits in diesem Sommer Wildhopfen aus den verschiedensten Ländern Europas und aus den USA gesammelt. Eine weitere Zielsetzung der Mehltauresistenzzüchtung ist es, künftig mehrere Resistenzgene in Zuchtlinien zu kombinieren (Pyramidisierung), wodurch eine länger wirksame Widerstandsfähigkeit gegen den Pilz erreicht werden soll (LIU et al., 2000). Aus den bisherigen Erkenntnissen der im Rahmen dieses Projektes durchgeführten Virulenzanalysen scheint eine Kombination der Gene Rl, R2, R5 und RW erfolgversprechend. Um dieses Zuchtziel zu realisieren, sind molekulare Selektionsmarker für die gewünschten Gene von sehr großer Bedeutung. Zur Identifizierung eng mit den entsprechenden Resistenzgenorten gekoppelter DNA-Marker sind zuverlässige Resistenzbonituren der Kartierpopulationen entscheidend für den Erfolg. Das miniaturisierte *In-vivo*-Infektionssystem von EpiLogic hat sich bereits bei sieben Kartierpopulationen, die im Frühjahr 2000 und 2001 geprüft wurden, als zuverlässiges und aussagekräftiges Resistenztestsystem bestätigt. Zudem ist es durch den Einsatz von Mehltauisolaten mit definierter Virulenz erstmals möglich, das Wirken spezifischer R-Gene nachzuweisen, was für die Entwicklung von molekularen Markern von größter Bedeutung ist.

Danksagung

Die Autoren danken besonders der Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e.V. für die finanzielle Unterstützung des Projektes zum Thema „Erarbeitung eines miniaturisierten *In-vivo*-Resistenztestsystems und Differenzierung verschiedener Pathotypen (Rassen) des Echten Mehltaus beim Hopfen *(Sphaerotheca humuli)* zur gezielten Unterstützung und Beschleunigung der Mehltauresistenzzüchtung" (Wifö-Nr.: B 52b). Im Rahmen dieses Forschungsvorhabens wurden die hier dargestellten Erkenntnisse erarbeitet. Frau BRIGITTE HAUGG, LBP, Herrn HERFRIED HESSE, LBP, und Frau HEIDI RÖSCH, EpiLogic, sei herzlich für ihre engagierte und ausgezeichnete technische Assistenz gedankt.

Literatur

BACKES, G., G. SCHWARZ, G. WENZEL, A. JAHOOR, 1996: Comparison between QTL analysis of powdery mildew resistance in barley based on detached leaves and on field data. Plant Breeding **115,** 419–421.

BROWN, J. K. M., E. M. FOSTER, R. B. O'HARA: The Gene-for-Gene Relationship in Plant – Parasite Interactions, CAB International, 119–138, 1997.

BROWN, M. V., J. N. MOORE, P. FENN, R. W. MCNEW, 1999: Comparison of leaf disk, greenhouse and field screening procedures for evaluation of grape seedlings for downy mildew resistance. HortScience **34**, 331–333.

DARBY, P., R.E. GUNN, 1987: Report on a joint programme of research and development work on hops carried out by the Institute of Horticultural Research and the Agricultural Development and Advisory Service.

DARBY, P., 1998: The Symptoms and Biology of Hop Powdery Mildew. Amer. Soc. of Brew. Chemists NET.

DORRANCE, A. E., D. A. INGLIS, 1997: Assessment of greenhouse and laboratory screening methods for evaluating potato foliage resistance to late blight. Plant Disease **81,** 1206–1213.

FELSENSTEIN, F. G., 1991: Virulenz und Fungizidsensitivität des Weizenmehltaus, *Erysiphe graminis* DC. f. sp. *tritici* Marchal, in Europa. Dissertation, TU München.

FLOR, H. H., 1971: Current status of the gene-for-gene concept. Ann. Rev. of Phytopathology **9**, 275–296.

GROVE, G. G., R. J. BOAL, 1991: Factors affecting germination of conidia of *Podosphaera clandestina* on leaves and fruits of sweet cherry. Phytopathology **81,** 1513–1518.

HOFFMANN, G. M., F. NIEHAUS, H. M. POEHLING, F. SCHÖMBECK, H. C. WELTZIEN, H. WILBERT: Lehrbuch der Phytomedizin, 2. Auflage, Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin, 542 ff, 1994.

HOSAYA, K., K. NARISAWA, M. PITRAT, H. EZURA, 1999: Race identification in powdery mildew *(Sphaerotheca fuliginea)* on melon *(Cucumis melo)* in Japan. Plant Breeding **118,** 259–262.

LIYANAGE, A. DE S., 1973: Studies on resistance and overwintering in hop powdery mildew *(Sphaerotheca humuli).* Doktorarbeit, Universität London.

LIU, J., D. LIU, W. TAO, W. LI, S. WANG, P. CHEN, S. CHEN, D. GAO, 2000: Molecular marker-facilitated pyramiding of different genes for powdery mildew resistance in wheat. Plant Breeding **119,** 21–24.

NEVE, R. A.: Hops, Chapman and Hall, London, 150–160, 1991.

OLMSTEAD, J. W., G. A. LANG, 2000: A leaf disk assay for screening sweet cherry genotypes for susceptibility to powdery mildew. HortScience **35 (3),** 274–277.

REUVENI, M., 1998: Relationships between leaf age, peroxides and ß-1,3glucanase activity and resistance to downy mildew in grapevines. J. of Phytopathology **146**, 525–530.

ROYLE, D. J.: The powdery mildews, Academic Press, London, UK, 381–410, 1978.

ST. AMAND, P. C., T. C. WEHNER, 1995: Greenhouse, detached leaf, and field testing methods to determine cucumber resistance to gummy stem blight. J. Amer. Soc. Hort. **120**, 673–680.

VAN DER PLANK, J. E.: Disease resistance in plants. Second edition, Academic Press, New York, S. 194, 1984.

XU, X. M., 1999: Effects of temperature on the latent period of the rose powdery mildew pathogen, *Sphaerotheca pannosa.* Plant Pathology **48**, 662–667.

ZELLER, F. J., J. LUTZ, E. I. REIMLEIN, E. LIMPERT, J. KOENIG, 1993: Identification of powdery mildew genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.). II. French cultivars. Agronomie **13**, 201–207.

Zur Veröffentlichung angenommen: Juni 2001

Kontaktanschrift: Dr. Elisabeth Seigner, Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, Institut für Hopfenforschung, Hüll 51/3, D-85283 Wolnzach, E-Mail: Elisabeth.Seigner@lbp.bayern.de