

Schlussbericht des Forschungsprojektes

Entwicklung von Zuchtmaterial von Basilikum (*Ocimum basilicum* L.) mit Resistenz gegen Falschen Mehltau (*Peronospora* sp.) und erhöhter Kältetoleranz

Zuwendungsempfänger:

Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e.V.

Aktenzeichen: 28-1-41.012-06

Projektdauer: 01.04.2007 – 31.09.2010

Bearbeiter: Dr. Rita Grosch

Projektpartner:

Dr. Peter Römer, GHG Saaten GmbH, Albert-Drosihn-Str. 9, 06449 Aschersleben

I. Kurzdarstellungen

1 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

Ziel des Forschungsvorhabens war es, resistente Genotypen aufzufinden, die als Kreuzungspartner im Zuchtprogramm der GHG Saaten Eingang finden sollten, um die Resistenz in eine Sorte einzulagern. Hierbei ist umfangreiches genetisches Material sowohl hinsichtlich des Verhaltens gegen den Schaderreger des Falschen Mehltaus als auch auf Kältetoleranz zu untersuchen. Neben bereits bestehenden Sorten sind auch neueres Zuchtmaterial der GHG Saaten und möglichst viele Genbank-Herkünfte in die Untersuchungen einzubeziehen. Da Resistenzen mit großer Wahrscheinlichkeit in genetischem Material vorkommen, welches von seinem optischen und geschmacklichen Eigenschaften relativ weit von den Wünschen der Endverbraucher abweicht, ist ein langwieriges Rückkreuzungsprogramm erforderlich, um die gewünschten Sorteneigenschaften einschließlich der Resistenz gegen den Falschen Mehltau in einer neu zu züchtenden Sorte zu erhalten.

Um die genannten Ziele des Vorhabens zu erreichen, wurden:

- die Biologie und Epidemiologie des Schaderregers untersucht,
- eine Methode zum Resistenzscreening an Basilikum-Pflanzen entwickelt,
- die Resistenz gegen den Falschen Mehltau an Basilikum-Herkünften geprüft,
- das Saatgut als Inokulumquelle bewertet,
- die Kältetoleranz von Genotypen geprüft und
- an der Entwicklung einer marktfähigen Basilikum-Sorte mit Kältetoleranz und Resistenz gegen Falschen Mehltau gearbeitet.

Der vorliegende Schlussbericht geht ausschließlich auf die Ziele ein, die sich mit dem Erreger des Falschen Mehltaus an Basilikum, der seit 2009 als *Peronospora belbahrii* benannt wird (Thines et al., 2009), befassen. Die Ergebnisse zur Kältetoleranz wurden vom Projektpartner GHG Saaten dargestellt.

2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Seit dem Jahr 2002 hat sich der Falsche Mehltau (*P. belbahrii*) an Basilikum (*Ocimum basilicum*) flächendeckend in Deutschland, vor allem im Raum Papenburg, dem größten deutschen Anbaugbiet von Küchenkräutern mit einer Anbaufläche von rund 25 ha und einer Jahresproduktion von ca. 50 Millionen Töpfen, verbreitet. Nach Aussagen von Beratern und Produzenten war das Auftreten des Erregers besonders in den Monaten mit zunehmender Temperatur zu verzeichnen. Dieses hohe Temperaturoptimum ist untypisch für viele Peronosporaceae. Basilikum wird im Gewächshaus produziert und damit unter idealen Bedingungen für einen Befall und die Ausbreitung des Erregers. Der Falsche Mehltau tritt zunächst nesterweise auf und die Sporen werden windbürtig im Bestand und letztlich im gesamten Anbaugbiet verbreitet. Töpfe mit befallenen Pflanzen lassen sich nicht mehr verkaufen und stellen

einen großen wirtschaftlichen Schaden für den Basilikumproduzenten dar. Die Bekämpfung des Falschen Mehltaus erfolgt im konventionellen Anbau mit den Wirkstoffen Propamocarb, Mancozeb und Metalaxyl in Form von Saatgutbeizung bzw. im Jungpflanzenstadium - unter Einhaltung einer Wartezeit von vier Wochen. Das Auftreten des Falschen Mehltaus im Basilikumanbau wird dadurch jedoch nicht verhindert und der Einsatz von Fungiziden in einem späten Entwicklungsstadium der Pflanze ist nicht zugelassen. Die derzeit überwiegend angebauten Sorten weisen keine Unterschiede in der Anfälligkeit gegenüber dem Falschen Mehltau auf.

Aufgrund der Anforderungen von Basilikum an höhere Temperaturbedingungen erfolgt die Saatgutproduktion in Ländern wie Indien und Italien. Mit dem Erreger kontaminiertes Saatgut wird als Ursache für die schnelle Verbreitung des Falschen Mehltaus in verschiedenen Anbaugebieten der Welt angesehen. Die Bedeutung der Saatgutübertragbarkeit des Falschen Mehltaus war jedoch zu Beginn des Vorhabens nicht ausreichend geklärt. Die Ermittlung des Saatgutbefalls erfolgte bisher unspezifisch durch Auszählen anhaftender Oosporen, die jedoch nicht zweifelsfrei als Dauersporen des Falschen Mehltaus identifiziert werden können. Entsprechend gab es keinen zwingenden Zusammenhang von Saatgutbefall und Krankheitsauftreten. Zum Zeitpunkt der Antragstellung gab es keine Untersuchungen zur Biologie des Erregers in Basilikum.

Der Falsche Mehltau an Basilikum ist ein neuer und wirtschaftlich bedeutender Schaderreger, der die Wirtschaftlichkeit der Gartenbaubetriebe und auch der Züchtung signifikant beeinträchtigen kann. Da es bisher an Kenntnissen zur Epidemiologie des Pilzes fehlt, konnten noch keine wirksamen Bekämpfungsstrategien entwickelt werden. Der Anbau resistenter Sorten stellt dabei die sicherste Bekämpfungsmaßnahme dar. Mehltau-tolerante Sorten würden aus der Sicht der Gartenbaubetriebe die Produktion von Topfbasilikum sicherer und durch die Einsparung von Pflanzenschutzmitteln kostengünstiger gestalten.

3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Innerhalb des Forschungsvorhabens wurden zunächst unter kontrollierten Bedingungen Untersuchungen zur Biologie von *P. belbahrii* an Basilikum durchgeführt. Basierend auf den Ergebnissen zur Biologie des Erregers wurde eine Resistenzprüfmethode unter kontrollierten Bedingungen etabliert. Ein umfangreiches Sortiment von Herkünften, bereit gestellt vom Kooperationspartner und der Genbank, wurde auf Anfälligkeit gegenüber *P. belbahrii* geprüft. Die Resistenz wurde anhand der Symptomausprägung an der Pflanze qualitativ ermittelt. Genotypen, die nach künstlicher Inokulation mit dem Erreger keine Symptome des Falschen Mehltaus aufwiesen, wurden - nach wiederholter Prüfung - vom Kooperationspartner GHG Saaten zur Züchtung genutzt.

Im Rahmen des Projektes wurde auch eine Methode zum Nachweis des Erregers am Saatgut mittels spezifischer PCR etabliert. Die Bewertung der Samenkontamination erfolgte parallel zum PCR-gestützten Nachweis mittels des grow-out Tests.

Zur Erfassung der genetischen Variabilität des Pathogens wurde 2008 und 2009 eine Stammsammlung mit Isolaten von *P. belbahrii* aufgebaut. Die Virulenz der Isolate wurde *in vivo* geprüft.

4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

O. basilicum L. (Lamaiceae) wird weltweit in unterschiedlichen Klimazonen kultiviert, von den gemäßigten Zonen über die Subtropen bis in die Tropen. Die Art wird in zwei Subspecies unterteilt, *ssp. minimum* L., die in Griechenland und Indien auch als Zierpflanze angebaut wird und *ssp. basilicum* (syn. *O. thrysiflorum* L., *O. medium* Mill., *O. bullatum* Lam., *O. integerrimum* Willd.) (Maass, 1986). Von *O. basilicum* existieren unterschiedliche Selektionen (Genoveser, Neapolitanisches, Griechisches, Türkisches, Grünes Krauses, Rotes Krauses, Feines Grünes, Ararat, Osmin, Dark Opal, Zitronenbasilikum, Thaibasilikum, Anisbasilikum, etc.), die sich in Habitus und Inhaltsstoffen unterscheiden. Neben *O. basilicum* werden weitere Arten (*O. americanum*, *O. canum*, *O. gratissimum*, *O. kilimanscharicum*, *O. micranthemum*, *O. sanctum*, *O. selloi*) und Arthybriden (*O. canum x basilicum*, *O. kilimandscharicum x basilicum*) als Gewürz- und Heilpflanzen kultiviert.

Das Auftreten von Falschem Mehltau an Basilikum wurde erstmals 1932 in Uganda von Hansford (1932) beobachtet. 2001 wurde der Erreger in der Schweiz beschrieben (Heller und Baroffio et al., 2005) gefolgt vom weiteren Auftreten in anderen europäischen Ländern: 2002 in Deutschland, 2003 in Italien (Garibaldi et al., 2004) und 2004 in Frankreich (Garibaldi et al., 2005). Der Falsche Mehltau an Basilikum ist verantwortlich für massive Verluste bis hin zum Totalausfall im Basilikumanbau unter Gewächshausbedingungen. In den letzten Jahren nahm aufgrund der eingeschränkten Anwendung von Fungiziden im Kräuteraanbau das wirtschaftliche Schadensausmaß im deutschen Anbau stetig zu (mdl. Aussage Berater-ring Papenburg). Der Einsatz von Metalaxyl wurde zum Zeitpunkt der Antragstellung nach §18 b Pflanzenschutzgesetz begrenzt genehmigt. Der Falsche Mehltau an Basilikum wurde ursprünglich als *Peronospora lamii*, der an Salbei vorkommt, beschrieben (Gumedzoe et al. 1998, Heller und Baroffio, 2003). Neue Ergebnisse wiesen jedoch auf eine eigene, neue *Peronospora*-Species hin (Garibaldi et al. 2003, Belbahri et al. 2005), die auch am Saatgut nachgewiesen wurde. Für den artspezifischen DNA-Nachweis entwickelten Belbahri et al. (2005) einen spezifischen Primer.

Referenzen

- Belbahri, L., Calmin, G., Pawlowski, J., Lefort, F. 2005. Phylogenetic analysis and Real Time PCR detection of a presumably undescribed *Peronospora* species on sweet basil and sage. *Mycological Research* 109: 1276-1287.
- Garibaldi, A., Minuto, A., Minuto, G., Gullino, M. L. 2004. First report of downy mildew on basil (*Ocimum basilicum*) in Italy. *Plant Disease* 88: 312-312.
- Gumedzoe, M. Y. D., Hemou, P., Lepage, A., Lecat, N. 1998. Inventaire et identification de *Peronospora lamii* (Al.Br.) de By, agent causal du mildiou du basilic (*Ocimum basilicum*) dans les exploitations de Gyma Cultures. Les VIIIe Journées Scientifiques de l'Université du Bénin.
- Hansford, C.G. 1933. Annual report of the mycologist. *Review of Applied Mycology* 12: 421-422.
- Heller, W., Baroffio, C. 2003. Le mildiou (*Peronospora lamii*) du basilic progresse! *Der Gemüsebau/Le Maraîcher* 8: 12-13.
- Heller, W. and Zoller, C. 2010. Desinfektion von Basilikum-Saatgut ist eine Herausforderung. *Agrarforschung Schweiz* 1 (5): 190-193.
- Maass, H.J., Labiatae. In: Schultze-Motel, J. (Hrsg.): *Rudolf Mansfelds Verzeichnis landwirtschaftlicher und gärtnerischer Kulturpflanzen*. Akademie-Verlag, Berlin, Bd. 3, 1127-1179, 1986.
- Schmidt, Ulrike: Falscher Mehltau an Basilikum; *Gemüse* 3, 2004. 30 – 31.
- Thines, M., Telle, S., Ploch, S., Runge, F. 2009. Identity of the downy mildew pathogens of basil, coleus and sage with implications for quarantine measures. *Mycological Research* 113: 532-540.

II. Eingehende Darstellungen

1 Verwendung der Zuwendung und der erzielten Ergebnisse im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

1.1 Biologie von *Peronospora belbahrii*

Die Entwicklung einer Resistenzprüfmethode basiert auf den Erkenntnissen zur Biologie des Pathogens. Daher wurden unter kontrollierten Bedingungen zunächst die Parameter für die Keimung Sporulation, Latenz und Infektion von *P. belbahrii* an Basilikum untersucht. Die auf diesen Ergebnissen entwickelte Resistenzprüfmethode wurde für die Prüfung der Genotypen angewendet.

Herstellung des Inokulums von *P. belbahrii*

In allen Versuchen wurde das Isolat PA06 verwendet, welches 2006 von der Sorte ‚Bavires‘ in einem Praxisbetrieb isoliert wurde. Als obligater Parasit wurde das Inokulum von *P. belbahrii* regelmäßig auf Basilikumpflanzen der Sorte ‚Bavires‘ unter Gewächshausbedingungen angezogen. Die Sporen wurden von den Blättern abgepinselt, gezählt und bei -20 °C eingefroren.

Kultivierung von Basilikum

Basilikum wurde in ausreichender Menge (8-10 Körner) in Töpfen (Ø 9) ausgesät und letztlich auf vier Pflanzen vereinzelt. Die Kultivierung von Basilikum erfolgte in allen Versuchen