

Qualitativer und quantitativer PCR-Nachweis der Strobilurin-Resistenz bei *Plasmopara viticola* (Rebenperonospora, Falscher Mehltau am Wein)

Beide Diagnosemethoden ermöglichen den Nachweis der Strobilurin-Resistenz auf der Basis der genetischen Erbinformation des Schaderregers und sind somit unabhängig vom Entwicklungszustand des Pilzes. Untersucht wird die sog. G143A-Mutation, die eine qualitative, d.h. sehr starke Resistenz gegenüber den Strobilurin-Derivaten auslöst. Das Untersuchungsfenster ist dadurch zwar eingeschränkt bzw. auf die spezifische Mutation G143A fokussiert, in unseren Analysen bestand bisher jedoch eine 100 %ige Übereinstimmung zwischen dem Vorhandensein dieser Mutation im Pathogen und dem Ja/Nein-Resistenz-Ergebnis im BioTest. Im Gegensatz zum BioTests wird sowohl totes als auch lebendes Pilzmaterial in der Stichprobe erfasst. Insgesamt ist der Zeitbedarf bei molekularen Verfahren gegenüber dem BioTest allein durch den Wegfall der im BioTest erforderlichen Inkubationszeit teilweise erheblich geringer, weshalb ein molekulargenetischer Test als Basis beispielsweise einer anstehenden Fungizidwahl Vorteile bietet. Außerdem ist der molekulare Test bei *Plasmopara viticola*, bezogen auf die Stichprobe, relativ kostengünstiger als der BioTest durchzuführen. Der technische Aufwand ist hingegen relativ hoch.

Die angebotene **qualitative** PCR-Analytik liefert im Prinzip ein Ja/Nein-Ergebnis bezüglich der Strobilurinresistenz und eignet sich bevorzugt für den Durchsatz von vielen Proben. Die für die Resistenz verantwortliche Punktmutation G143A wird dabei durch die resultierenden Unterschiede in den Schmelztemperaturen der DNA-Fragmente chromatographisch erfasst. Die Nachweisgrenze für resistente DNA-Anteile (in der mitochondrialen DNA) liegt bei ca. 20 % in der Stichprobe.

Das **quantitative** Nachweissystem hingegen ermöglicht eine exakte Bestimmung der resistenten Anteile in der Stichprobe mit hoher analytischer Sensitivität. Dabei wird mit Hilfe der real-time-PCR-Technik die Kopienzahl von resistenten Cytochrom b - Allelen im Verhältnis zur Gesamtkopienzahl ermittelt. Die hohe Analysenempfindlichkeit erlaubt die Quantifizierung von Resistenzanteilen von bis zu 0,1 % in der Stichprobe vom Feld.