

nicht voll differenzierten jungen Phloems auf. Sie ist jedoch von der MLO-Fluoreszenz dadurch zu unterscheiden, daß sie weniger intensiv ist. Außerdem muß sich in solchen Fällen die Beurteilung eines MLO-Befalls auf die voll ausdifferenzierten Siebröhren erstrecken.

Wir danken Herrn Dr. KUNZE, der einen Teil des Baumaterials zur Verfügung stellte, und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung der Untersuchungen.

### Literatur

BAUMANN, G., 1965: Die Übertragung der Virösen Triebssucht auf Apfelsämlinge im Gewächshaus. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) **17**, 73–75.  
GIANNOTTI, J., G. MORVAN et C. VAGO, 1968: Micro-organismes de type mycoplasme dans les cellules libériennes de *Malus sylvestris* L.

atteint de la maladie des proliférations. C. R. Acad. Sci. Paris **267**, 76–77.

HIBINO, H., and H. SCHNEIDER, 1970: Mycoplasma-like bodies in sieve tubes of pear trees affected with pear decline. Phytopathology **60**, 499–501.

KUNZE, L., 1972: Untersuchungen zum Nachweis der Triebssucht des Apfels im Serientest. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, **144**, 35–46.

SCHAPER, U., 1981: Untersuchungen zum Nachweis und Besiedlungsverhalten sowie zur Bekämpfung der Erreger der Triebssucht des Apfels und des Birnenverfalls. Diss. Univ. Göttingen, 147 S.

SCHAPER, U., and E. SEEMÜLLER, 1982: Conditions of the phloem and the persistence of mycoplasma-like organisms associated with apple proliferation and pear decline. Phytopathology **72**, 736–742.

SCHNEIDER, H., 1977: Indicator hosts for pear decline: Symptomatology, histopathology, and distribution of mycoplasma-like organisms in leaf veins. Phytopathology **67**, 592–601.

SEEMÜLLER, E., 1976: Investigations to demonstrate mycoplasma-like organisms in diseased plants by fluorescence microscopy. Acta Hort. **67**, 109–112.

SEIDL, V., 1968: Weitere Versuche mit der virösen Hexenbesenkrankheit des Apfels (Proliferation disease). – Tagungsber. Deutsch. Akad. Landw. wiss. Berlin **97**, 77–86.

Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., **36** (2), S. 25–27, 1984, ISSN 0027-7479.  
© Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Viruskrankheiten der Pflanzen, Braunschweig

## Die Kartoffel-Virus-Y(PVY<sup>N</sup>)-Konzentration in Knollen verschiedener Kartoffelsorten

### Concentration of Potato Virus Y (PVY<sup>N</sup>) in Tubers of Different Potato Varieties

Von H.-L. Weidemann

#### Zusammenfassung

Zwanzig Kartoffelsorten wurden mit einem PVY<sup>N</sup>-Isolat mechanisch inokuliert und die Knollen nach einer Rinditebehandlung im ELISA auf Virusgehalt getestet.

Bei einzelnen Sorten wurden dabei unterschiedliche Extinktionswerte ( $E_{405}$ -Werte) ermittelt, was darauf hinweist, daß die Viruskonzentration in der Knolle von Sorteneigenschaften beeinflusst wird. Die unterschiedlichen  $E_{405}$ -Werte stehen in keinem Zusammenhang mit der Anfälligkeit der Sorten für PVY. In vielen Fällen ließen sich aber Kartoffelsorten mit ähnlichen  $E_{405}$ -Werten auf einen gemeinsamen Elter oder in der weiteren Generationsfolge auf einen gemeinsamen Vorfahren zurückführen. Die Viruskonzentration in den Knollen wird demnach nicht vom Resistenzgrad einer Sorte beeinflusst, vielleicht aber von anderen genetischen Faktoren.

In der nachfolgenden, sekundär infizierten Generation wurden die Knollen ohne Rinditebehandlung nach natürlicher Überwindung der Keimruhe getestet. Die dabei erhaltenen sehr niedrigen  $E_{405}$ -Werte waren nicht auswertbar. Dies zeigt wiederum die Bedeutung der Rinditebehandlung für den sicheren Virusnachweis in der Knolle.

#### Abstract

Twenty potato varieties were mechanically inoculated with an isolate of PVY<sup>N</sup>, and the tubers were studied by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) after rindite treatment.

The absorption values ( $E_{405}$ -values) differed in various varieties indicating a variety-dependent PVY<sup>N</sup> concentration in tubers. No correlation was found between the  $E_{405}$ -values and the PVY-susceptibility of varieties. But in many cases, potato varieties with similar  $E_{405}$ -values also had a similar pedigree. Consequently, the virus concentration in tubers does not seem to be influenced by the degree of virus resistance of the variety but probably by other genetic factors. Since the dormancy of tubers of the following secondarily infected generation was not broken artificially by rindite treatment, but naturally,  $E_{405}$ -values were very low and could not be assessed. This again shows the importance of rindite treatment for reliable detection of PVY in tubers.

Im Rahmen der Saatgutenerkennung wird Kartoffelpflanzgut verschiedener Anbaustufen auf Virusgehalt getestet. Dabei werden ältere Testverfahren zunehmend von einem immunenzymatischen Verfahren (ELISA) abgelöst. Mit ELISA kann die Kartoffeltestung einen hohen Grad an Wirtschaftlichkeit erreichen, wenn dabei nicht mehr wie früher der Augensteckling aus aufwendigen Gewächshausanzuchten verwendet wird,

sondern die Saftentnahme direkt an der Knolle erfolgt. Die Viruskonzentration in der Knolle wird jedoch von verschiedenen Umständen beeinflusst. So spielt dafür der Zeitraum der Lagerung nach der Ernte eine Rolle (DE BOKX und MAAT 1979), aber auch die Anwendung von Rindite zur künstlichen Brechung der Keimruhe (GUGERLI und GEHRINGER 1980, VETTEN, EHLERS und PAUL 1983, WIGGER 1983).

Neuere Erfahrungen weisen darauf hin, daß auch Sorteneigenschaften, insbesondere bei der Nachweissicherheit des Kartoffelvirus Y (PVY) von Bedeutung sein können. So wurden bei einigen Kartoffelsorten gute Übereinstimmungen beim Vergleich von Blatt- und Knollentest festgestellt, bei anderen Sorten wiederum auffällige Differenzen (WIGGER 1983). Dies deutet darauf hin, daß der Virusgehalt infizierter Knollen sortenabhängig sein kann.

Es sollte geprüft werden, ob zwischen der Resistenzklasse einer Sorte, wie sie in der Beschreibenden Sortenliste verzeichnet ist, und der Viruskonzentration ein Zusammenhang besteht, denn es ist denkbar, daß Sorten mit geringer Virusanfälligkeit weniger als Viruswirt geeignet sind als Sorten mit hoher Anfälligkeit. Es wurden deshalb Kartoffelsorten verschiedener Resistenzklassen mit einem PVY<sup>N</sup>-Isolat infiziert und die davon geernteten Knollen im ELISA auf Virusgehalt untersucht.

## Material und Methode

Es wurden 20 Kartoffelsorten ausgewählt, die nach der Beschreibenden Sortenliste 1981 für PVY den Resistenzklassen 1–8 zugeordnet waren. Für die Einstufung der Kartoffelsorten in Resistenzklassen wird eine 9teilige Skala verwendet, in der 1 = sehr geringe und 9 = sehr hohe Anfälligkeit bedeutet.

Aus dem zuvor getesteten virusfreien Pflanzgut wurden im Gewächshaus je Sorte 50 Augenstecklinge angezogen, die im Alter von 3 Wochen mit einem PVY-Isolat aus der Tabakrippenbräune-Stammgruppe (PVY<sup>N</sup>) mechanisch inokuliert wurden. Dieses bereits in früheren Untersuchungen verwendete PVY<sup>N</sup>-Isolat (WEIDEMANN und KOENIG 1979, WEIDEMANN 1981) stammte aus der Kartoffelsorte 'Amigo'.

Der Erfolg der Inokulation wurde 5 Wochen p.i. im ELISA geprüft. Nach insgesamt 12 Wochen wurden von Pflanzen, die sich im Test als infiziert erwiesen haben, 60 bis 150 Knollen pro Sorte geerntet.

Nach anschließender dreiwöchiger Lagerung wurden die Knollen zur Brechung der Keimruhe mit Rindite behandelt und bei 20–23 °C vorgekeimt. 3 Wochen später wurden sie mit ELISA auf Virusgehalt getestet.

Der Knollensaft wurde mit dem Probenbohrer nach Gugerli (Fa. MEKU, D 3015 Wennigsen) dem Kronenende am Auge entnommen.

Zur Herstellung des Antiserums wurde PVY<sup>N</sup>-Amigo auf *Nicotiana tabacum* var. 'Samsun' und 'Xanthi' vermehrt und nach dem von MOGHAL und FRANCKI (1976) beschriebenen Verfahren gereinigt. Das Antiserum wurde nach zweimaliger intramuskulärer Injektion des PVY<sup>N</sup>-Präparates in Kaninchen gewonnen. Es hatte im Präzipitintest einen Titer von 1:4096.

Die für das ELISA-Verfahren notwendige Reinigung der  $\gamma$ -Globuline, die Konjugation der Globuline mit alkalischer Phosphatase (Fa. Boehringer, Mannheim) und der Virusnachweis wurden nach der von CLARK und ADAMS (1977) beschriebenen Methode durchgeführt.

Beim Virusnachweis wurden folgende Kontrollen verwendet: 0.07 M phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) pH

7,2, Saft virusfreier Knollen des Kartoffelstammes A6 in der Verdünnung 1:10 sowie das Viruspräparat PVY<sup>N</sup>-Amigo in der Verdünnung 1:1000.

30 min nach der Substratzugabe wurde im Photometer (Manureader S, Fa. MEKU) die Extinktion bei 405 nm ( $E_{405}$ -Werte) gemessen. Zur Auswertung wurden von den  $E_{405}$ -Werten die Werte der Pufferkontrolle subtrahiert und, da die PVY<sup>N</sup>-Amigo Kontrollwerte auch Schwankungen unterlagen, in Prozenten von diesen ausgedrückt.

## Ergebnisse

### A: PVY<sup>N</sup> in Knollen primär infizierter Kartoffelsorten aus verschiedenen Resistenzklassen

Der PVY<sup>N</sup>-Gehalt der Kartoffelknollen wurde an Hand der im Photometer bei 405 nm gemessenen Extinktionswerte ( $E_{405}$ -Werte) beurteilt. Um die verschiedenen Kartoffelsorten daraufhin vergleichen zu können, wurden die  $E_{405}$ -Werte in Prozenten der jeweiligen Kontrolle (= 100 %) ausgedrückt. Diese Kontrollwerte (PVY<sup>N</sup>-Reinigung, verd. 1:1000) lagen zwischen  $E_{405} = 1,5$  und  $> 2$ ; der Wert  $> 2$  wurde dabei wie  $E_{405} = 2,0$  behandelt. Als positiv wurden diejenigen Knollen gewertet, deren  $E_{405}$ -Werte abzüglich der Pufferwerte mehr als 15 % der Kontrolle betragen.

Die in Tabelle 1 zusammengefaßten Ergebnisse zeigen, daß die den Extinktionen entsprechenden Prozentwerte bei einzelnen Sorten sehr unterschiedlich sind. Die Mittelwerte reichen von  $24 \pm 7\%$  (Carola) bis  $82 \pm 5\%$  (Saturna). Allerdings sind diese Werte nicht wie erwartet den Resistenzklassen zuzuordnen.

So wiesen Sorten mit hoher PVY-Anfälligkeit, wie Hela und Grata, nur geringe  $E_{405}$ -Werte auf, die im Mittel weniger als 50 % der Kontrollwerte erreichten. Sorten mit geringer Anfälligkeit, wie Edith und Indira, erreichten dagegen sehr hohe Werte mit im Mittel bis zu 80 % der Kontrollwerte. Bei der für PVY sehr gering anfälligen Sorte Bodenkraft (Resistenzklasse 1) ließ sich ein durchschnittlicher Wert errechnen, der  $61 \pm 7\%$  des Kontrollwertes entsprach. Die Sorte Mandy war überhaupt nicht infiziert, möglicherweise ist sie gegenüber PVY extrem resistent.

Bei der Gruppierung der verrechneten  $E_{405}$ -Werte fiel auf, daß Sorten mit ähnlichen Extinktionen oft einen gemeinsamen Elter oder in früheren Generationen einen gemeinsamen Vorfahren hatten (vgl. STEGEMANN und SCHNICK 1982). So ist im Genotyp der Kartoffelsorten Hela\*, Grata, Berolina, Gelda, Steffi und Hansa (45 %–64 %) die Sorte Flava enthalten, und die Sorten Thomana und Terrina (52 %–70 %) sind über die Sorte Bodenkraft miteinander verwandt.

Sorten, die im ELISA höhere Extinktionswerte erreichten (73 %–82 % der Kontrolle), stammen von der Sorte Maritta (Birgit, Taiga, Saturna) bzw. von der Sorte Edith (Indira) ab.

Sorten mit geringen Extinktionswerten (0–36 %) wie Mandy, Carola, Pruceres und Ida waren keinem gemeinsamen Vorfahren zuzuordnen, ebenso die beiden Sorten Amalia und Aguti (58 % bzw. 71 %).

### B: Untersuchungen von Knollen sekundär infizierter Kartoffelsorten

Knollen, die sich im ELISA als PVY-positiv erwiesen haben, sowie Knollen der Sorte Mandy wurden im Gewächshaus

\*) Mündl. Mitteilung Frau REITZIG, Vereinigte Saatzuchten A.G., 3112 Ebstorf.

Tab. 1. Testergebnisse aus Knollen primär infizierter Kartoffelpflanzen nach Brechung der Keimruhe durch Rinditebehandlung

Sorte	Resistenz-klasse <sup>1)</sup>	% von E <sub>405</sub> -Kontrolle <sup>2)</sup>	Anzahl infizierter Knollen	Anzahl getesteter Knollen	gemeinsamer Vorfahr
Mandy	1	0	0	111	nicht bekannt
Carola	3	24 (7) <sup>3)</sup>	37	106	
Prucerus	5	33 (10)	30	65	
Ida	1	36 (10)	71	95	
Hela	7	45 (7)	130	157	Flava
Grata	8	46 (6)	91	112	
Berolina	4	50 (14)	89	105	
Gelda	6	53 (9)	94	108	
Steffi	2	64 (10)	111	125	
Hansa	8	64 (5)	76	76	
Thomana	3	52 (7)	91	111	Bodenkraft
Bodenkraft	1	61 (7)	78	90	
Terrina	5	70 (9)	82	91	
Amalia	3	58 (11)	87	126	nicht bekannt
Aguti	4	71 (7)	87	94	
Birgit	2	73 (10)	131	141	Maritta
Taiga	7	75 (13)	64	66	
Saturna	6	82 (5)	122	124	
Edith	3	79 (7)	78	81	Edith
Indira	2	80 (15)	76	77	

<sup>1)</sup> PVY-Anfälligkeit: 1 sehr gering, 9 sehr hoch

<sup>2)</sup> Kontrolle (100%): PVY<sup>N</sup>-Reinigung 1:1000

<sup>3)</sup> 3fache Standardabweichung

Tab. 2. Testergebnisse aus Knollen von sekundär infizierten Pflanzen ohne Rinditebehandlung

Anzahl d. Sorten <sup>1)</sup>	% von E <sub>405</sub> -Kontrolle <sup>2)</sup>	Anzahl positiver Knollen	Anzahl getesteter Knollen
20	20-30 (5-10) <sup>3)</sup>	317	2529

<sup>1)</sup> Nachbau der infizierten Knollen aus Tab. 1

<sup>2)</sup> Kontrolle (100%): PVY<sup>N</sup>-Reinigung 1:1000

<sup>3)</sup> Bereich der 3fachen Standardabweichungen

ausgepflanzt, um den Nachbau, der jetzt aus sekundär infizierten Pflanzen stammt, auf gleiche Weise zu testen.

Im Unterschied zur ersten Versuchsreihe wurden diese Knollen nach der Ernte nicht mit Rindite behandelt, da zu diesem Zeitpunkt die Bedeutung der Behandlung für den Knollentest noch nicht genügend bekannt war.

Sie wurden 12 Wochen im Gewächshaus belassen. Die Keimruhe war während dieser Zeit auf natürliche Weise überwunden, und die Keime hatten zur Zeit der Testung eine Länge von 5 mm.

Die Ergebnisse dieser zweiten Versuchsreihe sind in Tabelle 2 dargestellt.

Die meisten Knollen zeigten im ELISA E<sub>405</sub>-Werte, die verglichen mit den Kontrollwerten der PVY-Reinigung unter 15% lagen. Sie wurden deshalb als negativ gewertet. Die Werte der übrigen Knollen waren sehr niedrig und nicht vergleichbar mit den Werten der ersten Versuchsreihe.

Sortenunterschiede ließen sich an Hand dieser Zahlen nicht feststellen.

## Diskussion

Knollen, die aus primär mit PVY<sup>N</sup>-infizierten Pflanzen erwachsen, ergaben im ELISA je nach Sorte unterschiedliche Extinktionswerte.

Der Virusgehalt der Knollen kann demnach sortenabhängig sein.

Diese Werte ließen sich jedoch nicht einzelnen Resistenzklassen zuordnen. So befanden sich unter den Sorten, die im Knollentest hohe Extinktionswerte zeigten, solche mit geringerer Virusanfälligkeit, niedrige Werte wurden dagegen auch bei Sorten erhalten, die gegenüber PVY höher anfällig waren.

Eine nach der Rinditebehandlung unterschiedlich starke Zunahme der PVY-Konzentration in Knollen von mehr und weniger anfälligen Sorten, wie von VETTEN, EHLERS und PAUL (1983) berichtet wurde, wurde hier nicht gefunden.

Nach den geschilderten Ergebnissen kann die Resistenzklasse einer Sorte nicht als Maßstab für die Sicherheit des PVY-Nachweises in der Knolle verwendet werden.

Vermutlich sind jedoch andere Sorteneigenschaften für den PVY-Gehalt der Knolle verantwortlich, denn Sorten mit ähnlichen Extinktionswerten ließe sich in vielen Fällen auf einen gemeinsamen Elter bzw. Vorfahren zurückführen.

Die Testergebnisse aus der 2. Knollengeneration, die aus jetzt sekundär-infizierten Pflanzen erwuchs, waren nicht verwendbar.

Der Grund liegt offenbar darin, daß diese Knolle nach der Ernte nicht mit Rindite behandelt, sondern gelagert wurden, bis die Keimruhe auf natürliche Weise überwunden war. Beim überwiegenden Teil der Knolle war PVY überhaupt nicht nachzuweisen, die übrigen zeigten nur sehr geringe Extinktionswerte.

Damit wurden die Befunde von GUGERLI et al. (1980), VETTEN et al. (1983) und WIGGER (1983) bestätigt, wonach zum erfolgreichen Virusnachweis in der Knolle ein vorheriges Brechen der Keimruhe durch Rinditebehandlung notwendig ist.

## Literatur

Beschreibende Sortenliste 1981: Herausg. Bundessortenamt, Verlag „Die Kartoffelwirtschaft“ GmbH, Hannover.

CLARK, M. F. and A. N. ADAMS, 1977: Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *J. Gen. Virol.* **34**, 475-483.

BOKX, J. A. DE and D. Z. MAAT, 1979: Detection of potato virus Y<sup>N</sup> in tubers with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent* **44**, 635-644.

GUGERLI, P. and W. GEHRINGER, 1980: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of potato leafroll virus and potato virus Y in potato tubers after artificial break of dormancy. *Potato Res.* **23**, 353-359.

MOGHAL, S. M. and R. J. B. FRANCKI, 1976: Towards a System for the Identification and Classification of Potyviruses. I. Serology and Amino Acid Composition for Six distinct Viruses. *Virology* **73**, 350-362.

STEGEMANN, H. und D. SCHNICK, 1982: Index 1982 Europäischer Kartoffelsorten. *Mitt. Biol. Bundesanstalt f. Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem*, Heft 211.

VETTEN, H. J., U. EHLERS, and H. L. PAUL, 1983: Detection of Potato Viruses Y and A in Tubers by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay after Natural and Artificial Break of Dormancy. *Phytopath. Z.* **108**, 41-53.

WEIDEMANN, H.-L. und R. KOENIG, 1979: Untersuchungen über neue Isolate des Kartoffel-Y-Virus. *Gesunde Pflanzen* **31** (11) 293-296.

WEIDEMANN, H. L., 1981: Über die Intensität der Symptombildung bei Kartoffelsorten nach Infektion mit Kartoffelvirus-Y-Isolaten. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* **33**, 177-180.

WIGGER, E. A., 1983: Einsatz von ELISA bei der Virustestung von Pflanzkartoffeln. *Der Kartoffelbau* **34**, 275-279.