

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz im Obstbau, Dossenheim

## Einfluß des Besiedlungsverhaltens auf die fluoreszenzmikroskopische Nachweisbarkeit der Erreger der Apfeltriebsucht und des Birnenverfalls

Effect of the colonization behavior of the apple proliferation and pear decline causal agents on their detectability by fluorescence microscopy

Von Ulrike Schaper und E. Seemüller

### Zusammenfassung

Die fluoreszenzmikroskopische Nachweisbarkeit der Erreger der Triebucht des Apfels und des Birnenverfalls (pear decline) im Sproß kranker Bäume ist stark von der Symptomausprägung abhängig. Bei triebuchtkranken Apfelbäumen mit Hexenbesenausbildung sowie verfallskranken Birnbäumen, die im Herbst Rotlaubigkeit zeigten, wiesen Sproßteile zu einem hohen Prozentsatz eine nachweisbare Besiedlung auf. Diese war meistens im Phloem des Stammes am höchsten, in den einjährigen Trieben etwas niedriger und in den Blättern am geringsten. Wenn die untersuchten Bäume keine, nur schwache oder untypische Symptome zeigten, war der Sproß oft überhaupt nicht besiedelt, in anderen Fällen nur schwach. Auch hier waren die Erreger im Stamm am häufigsten nachzuweisen, gefolgt von den Trieben und den Blättern. Im Gegensatz zum Sproß wiesen die Wurzeln der untersuchten Apfelproben unabhängig von der Symptomausprägung zu über 90 % eine Besiedlung auf. Diese war bei rotlaubigen Birnen ähnlich hoch. Bei symptomlosen Birnen war die Nachweisbarkeit in den Wurzeln etwas geringer, jedoch immer noch wesentlich höher als in den entsprechenden Sproßteilen.

Aus diesen Ergebnissen kann der Schluß gezogen werden, daß in der Regel die Wurzeln für die Diagnose wesentlich besser geeignet sind als Sproßteile. Letztere kommen nur für die Untersuchung von rotlaubigen Birnen in Betracht. In diesem Fall sollte die Probenahme in der Zeit von September bis November durchgeführt werden. Wurzelproben können dagegen während des ganzen Jahres untersucht werden, da bei diesen keine jahreszeitlich bedingten Veränderungen in der Besiedlung auftreten.

### Abstract

The detectability of the apple proliferation and pear decline causal agents by fluorescence microscopy in the stem of diseased trees depends on symptom expression. Proliferation diseased apple trees with witches'-broom symptoms and decline diseased pear trees showing reddening of the foliage were colonized in the stem at a relatively high percentage. MLO were found most often in the trunk followed by one-year-old shoots and leaves. Trees with slight, untypical or no symptoms often were not colonized in the stem or only slightly. In the latter case the organisms could be detected most often in the trunk and to a lower percentage in the shoots and in the leaves. In contrast to the

stem, MLO were found in the roots of apple trees in more than 90 % of the samples examined irrespective of the symptoms. A similar percentage was detected in roots of pear trees showing reddening of the foliage. However, in the symptomless pear trees the detectability of MLO was lower but still significantly higher than in stem samples of similar trees.

These results indicate that root samples generally are more suitable for diagnosis than those of the stem. Sampling of stem samples is only recommended to investigate pear trees with red leaf symptoms. In this case, sampling should be performed in the time from September through November. There is no limitation in collecting root samples because roots are colonized all over the year.

Die Triebucht des Apfels und der Birnenverfall (pear decline) werden aller Wahrscheinlichkeit nach durch mycoplasmaähnliche Organismen (MLO) hervorgerufen. Obwohl die mutmaßlichen Erreger der beiden Krankheiten schon bald nach der Entdeckung von MLO in Pflanzen elektronenmikroskopisch nachgewiesen werden konnten (GIANNOTTI et al., 1968; HIBINO und SCHNEIDER, 1970), bereitet die Diagnose in beiden Fällen immer noch beträchtliche Schwierigkeiten, sofern nicht charakteristische Symptome auftreten. So ist die Triebucht sicher zu erkennen, wenn die kranken Bäume Hexenbesen oder vergrößerte Nebenblätter ausbilden. Viele triebuchtkranken Apfelbäume entwickeln jedoch insbesondere nach längerer Erkrankungsdauer keine oder keine eindeutigen Symptome mehr. Beim Birnenverfall fehlen spezifische Symptome. Zwar kommt es verhältnismäßig häufig zu einer Rotverfärbung der Blätter im Spätsommer oder Herbst, die jedoch auch auf andere Ursachen zurückzuführen sein kann. Außerdem wird auch dieses Symptom nur unregelmäßig ausgebildet, vor allem, wenn die Bäume schon längere Zeit krank sind.

In allen Fällen, in denen die Symptomausprägung nicht eindeutig ist oder fehlt, müssen für die Diagnose licht- oder elektronenmikroskopische Untersuchungen bzw. die Pfropfübertragung auf eine Indikatorpflanze herangezogen werden. Die bei diesen Verfahren auftretenden Schwierigkeiten sind nach Untersuchungen von Schaper (1981) hauptsächlich auf das Besiedlungsverhalten der Erreger zurückzuführen. Diese Autorin konnte nachweisen, daß die Besiedlung häufig sehr schwach und unregelmäßig sein kann, und daß sie jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen ist. So wird die Besiedlung des Sprosses während des Winters in der Regel eliminiert,

während sie in den Wurzeln erhalten bleibt. Von dort aus kann der Sproß im Frühjahr wieder besiedelt werden. Insbesondere nach längerer Krankheitsdauer unterbleibt die Wiederbesiedlung häufig oder erstreckt sich nur auf den Stamm bzw. einen Teil der Krone. Die Konsequenzen dieses Besiedlungsverhaltens für die Diagnose sollen in dieser Arbeit behandelt werden.

### Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden 5- bis 12jährige Apfelbäume der Sorten 'Cox' und 'Golden Delicious' auf den Unterlagen M 4 oder MM 104 verwendet bzw. gleichaltrige Birnbäume der Sorten 'Williams' und 'Gellerts', die auf Sämlingen der 'Kirchensaller Mostbirne' veredelt waren. Alle Bäume standen im Freiland und waren auf natürliche Weise infiziert. Da sie unterschiedlich lange die jeweiligen Erkrankungen aufwiesen, waren in dem Material alle Krankheitsstadien vertreten. So waren im Falle der Triebsucht Bäume vorhanden, die entweder Hexenbesen aufwiesen, nur vergrößerte Nebenblätter an der Triebbasis zeigten, im Herbst rotlaubig wurden oder ohne jegliche Symptome blieben. Beim Birnenverfall wurde zwischen rotlaubigen Bäumen unterschieden und solchen, die dieses Symptom nicht aufwiesen. Wuchsminderungen, die möglicherweise auf die Krankheit zurückzuführen waren, wurden nicht berücksichtigt.

Für die Untersuchungen wurden 1–25 mm dicke Wurzeln, der Stamm, einjährige Triebe sowie Blattstiele herangezogen. Sie wurden in den Jahren 1978 bis 1983 durchgeführt und erfolgten im Falle der Sproßteile ausschließlich in der Zeit von August bis Dezember, da in diesen Monaten die Besiedlung des Sprosses am stärksten ist (SCHAPER, 1981). Auch die Wurzelproben wurden größtenteils in dieser Periode entnommen, jedoch auch zu anderen Zeiten des Jahres. Dies hat jedoch auf das Ergebnis keinen Einfluß, da die Wurzeln das ganze Jahr über relativ gleichmäßig besiedelt sind (SCHAPER, 1981). Von den einzelnen Befallsstadien der beiden Krankheiten wurden pro Pflanzenteil und Baum zu verschiedenen Zeiten entweder eine Probe untersucht oder 6–20 Proben zu einem einzigen Termin. Im ersten Fall wurden von jedem Befallsstadium insgesamt 8–15 Bäume herangezogen, während im zweiten Fall aus dem gleichen Material 5–11 Bäume ausgewählt worden sind.

Neben dem beschriebenen Material wurden in kleinerem Umfang auch getopfte und im Gewächshaus gehaltene Birnbäumchen der Sorten 'Williams' und 'Magness' sowie des amerikanischen Pear-decline-Indikators 'Precocious' (SCHNEIDER, 1977) verwendet. Außerdem wurden in einzelnen Fällen auch die Mittelrippen von Blättern sowie Blattadern 2. Ordnung untersucht.

Bei der Fixierung wurden von den holzigen Pflanzenteilen ca. 2 × 5 mm große Rindenstücke entnommen, die die gesamte Breite des funktionsfähigen Phloems enthielten. Diese wurden wie die ca. 5 mm langen Abschnitte der Blattstiele und der Blattadern in 5%igen Glutaraldehyd in 0,1M Phosphatpuffer, pH 7,0 übertragen und bei 4°C fixiert. Das Schneiden der Präparate erfolgte mit einem Gefriermikrotom in einer Dicke von 15–20 µm, wobei ausschließlich radiale Längsschnitte hergestellt wurden. Diese sind anschließend mit dem DNA-Indikator 4'-6-Diamidino-2-Phenylindol (DAPI; Serva, Heidelberg) mindestens 2 min gefärbt und anschließend in die Färbelösung eingeschlossen worden. Die Beurteilung der Schnitte erfolgte mit einem Auflichtfluoreszenzmikroskop (SEEMÜLLER, 1976; SCHAPER, 1981), wobei je Probe 4 Schnitte auf das Vorkommen von MLO geprüft wurden.

Die Berechnung des für eine sichere Diagnose erforderlichen Probenumfangs  $n$  wurde nach der folgenden Formel vorgenommen:

$$n = \frac{\ln(1-P^*)}{\ln(1-P)}$$

Dabei ist  $P$  die Zahl der Triebe mit positivem Erregernachweis geteilt durch die Gesamtzahl der untersuchten Triebe.  $P^*$  ist das Maß für die Nachweiswahrscheinlichkeit, die im vorliegenden Fall mit 0,95 bzw. 0,99 angesetzt wurde und einer Sicherheit von 95 und 99 % entspricht.

### Ergebnisse

#### *Nachweisbarkeit in verschiedenen Pflanzenteilen*

Für diese Untersuchungen wurde zu den einzelnen Terminen von einer größeren Baumzahl jeweils nur 1 Probe pro Pflanzenteil entnommen. Bei der Triebsucht zeigte sich, daß die Nachweisbarkeit der Erreger im Sproß stark von der Symptomausprägung des Baumes abhängig ist. Außerdem war ein deutlicher Einfluß der untersuchten Sproßteile festzustellen (Tab. 1). Bei Bäumen mit Hexenbesen waren die Erreger im Stamm und in einjährigen Trieben zu einem hohen Prozentsatz nachzuweisen. In den Blattstielen lag dieser Wert deutlich niedriger. Wenn die Bäume als Symptom nur vergrößerte Nebenblätter aufwiesen oder im Herbst rotlaubig wurden, war die Nachweisbarkeit bereits wesentlich schlechter, insbesondere in den Trieben und den Blattstielen. In einer noch geringeren Zahl der Proben ließen sich die Erreger in den Sproßteilen symptomloser Bäume nachweisen. Während der Wert bei den Stammproben noch bei 33 % lag, war in den einjährigen Trieben nur in 6 % der Proben eine Besiedlung festzustellen.

Im Gegensatz zu den Sproßteilen war in den Wurzeln triebsuchtkrankter Bäume kein Einfluß der Symptomausprägung auf die Besiedlung festzustellen. In allen drei Symptomkategorien lag die Nachweisbarkeit bei über 90 % und damit etwa in der gleichen Höhe wie im Stamm oder den Trieben von Bäumen mit Hexenbesen (Tab. 1).

Bei verfallskranken Birnbäumen war eine ähnliche Tendenz in der Nachweisbarkeit festzustellen wie bei der Triebsucht. Die Werte lagen jedoch in fast allen Fällen niedriger (Tab. 1). Im einzelnen waren die Erreger in Sproßteilen von Bäumen, die im Spätsommer oder Herbst rotlaubig wurden, wesentlich häufiger nachzuweisen als in symptomlosen Bäumen. Wie beim Apfel war auch bei der Birne der Stamm häufiger erkennbar besiedelt als Triebe oder Blattstiele. Zwischen den beiden letztgenannten Pflanzenteilen waren jedoch keine deutlichen Unterschiede festzustellen. Die Besiedlung der Wurzeln von rotlaubigen Bäumen war mit 85 % annähernd so hoch wie beim Apfel. Bei symptomlosen Bäumen lag dieser Wert mit 60 % jedoch deutlich darunter.

Für den Vergleich der Besiedlung in verschiedenen Teilen eines Blattes wurden nur solche Blätter ausgewählt, die im Stiel eine Besiedlung aufwiesen. Es zeigte sich, daß die Nachweisbarkeit im Blattstiel bei Apfel und Birne besser ist als in der Mittelrippe oder in den Blattadern 2. Ordnung (Tab. 2). Zwischen den beiden letztgenannten Blatteilen war beim Apfel jedoch kein deutlicher Unterschied festzustellen. Dagegen konnten bei den Birnensorten in den Mittelrippen die Erreger häufiger nachgewiesen werden als in den Blattadern 2. Ordnung (Tab. 2). Abweichend von den Befunden mit den Apfel- und Birnensorten wurde bei dem Indikator 'Precocious' festgestellt, daß die Blattadern wesentlich häufiger

Tab. 1. Fluoreszenzmikroskopische Nachweisbarkeit von MLO in verschiedenen Pflanzenteilen von triebssucht- und verfallskranken Bäumen mit unterschiedlicher Symptomausprägung

Symptome	Probenzahl und Nachweisbarkeit							
	Stamm		einjähriger Trieb		Blattstiel		Wurzel	
	Probenzahl	positiver Nachweis %	Probenzahl	positiver Nachweis %	Probenzahl	positiver Nachweis %	Probenzahl	positiver Nachweis %
			<i>Apfeltriebsucht</i>					
Hexenbesen	15	93	45	89	39	66	24	96
Rotlaubigkeit oder Nebenblätter ohne Symptome	26	69	39	31	40	22	25	92
	15	33	31	6	—	—	12	92
			<i>Birnenverfall</i>					
Rotlaubigkeit ohne Symptome	50	78	136	63	110	61	46	85
	41	27	77	9	70	7	48	60

Tab. 2. Fluoreszenzmikroskopische Nachweisbarkeit von MLO in Blattstiel, Mittelrippe und Blattader 2. Ordnung in triebssucht- und verfallskranken Bäumen

Probenzahl	Probenzahl und Nachweisbarkeit					
	Blattstiel		Mittelrippe		Blattader 2. Ordnung	
	Probenzahl	positiver Nachweis %	Probenzahl	positiver Nachweis %	Probenzahl	positiver Nachweis %
			<i>Apfeltriebsucht</i>			
34	100		34	68	34	62
			<i>Birnenverfall</i>			
14	100		14	57	14	29

Tab. 3. Einfluß erhöhter Probenzahl auf die Nachweisbarkeit von MLO in Apfel- und Birnbäumen mit unterschiedlicher Symptomausprägung

Zahl der Bäume	Symptome	Probenzahl	einjähriger Trieb		Probenzahl	Wurzel	
			Nachweisbarkeit %	Schwankungsbereich %		Nachweisbarkeit %	Schwankungsbereich %
			<i>Apfeltriebsucht</i>				
5	Hexenbesen	78	81	57–100	50	96	90–100
			<i>Birnenverfall</i>				
5	Rotlaubigkeit oder Nebenblätter ohne	46	7	0–100	—	—	—
8		60	3	0–17	50	90	70–100
10	Rotlaubigkeit	172	79	50–100	100	93	80–100
11	ohne	86	5	0–50	86	65	30–100

besiedelt sind als die einjährigen Triebe. Während in den Proben von Blattadern in 92 % der Fälle ein Befall festgestellt werden konnte, betrug dieser Wert in den Trieben nur 33 %. Außerdem war in den Trieben die Besiedlungsdichte geringer. In den Wurzeln konnte weder beim Apfel noch bei der Birne ein Einfluß des Durchmessers auf die Nachweisbarkeit beobachtet werden.

*Nachweisbarkeit bei vergrößerter Probenzahl pro Baum*

Bei der Untersuchung von nur einer Probe pro Pflanzenteil, Baum und Termin waren selbst bei Bäumen mit starken Symptomen nicht alle Proben positiv. Andererseits konnten bei Bäumen mit weniger deutlicher oder fehlender Symptomausprägung die Erreger oft nur zu einem geringen Prozentsatz nachgewiesen werden. Es sollte daher geprüft werden, wie hoch der Anteil der besiedelten Triebe und Wurzeln innerhalb

eines Baumes ist bzw. ob die Bäume überhaupt eine Besiedlung aufweisen. Zu diesem Zweck wurden von den einzelnen Bäumen 6–20 Proben von einjährigen Trieben bzw. Wurzeln untersucht, die zum gleichen Zeitpunkt entnommen worden sind.

Im Falle der Triebssucht wurden insgesamt 5 Bäume untersucht, die Hexenbesen aufwiesen (Tab. 3). Bei den Trieben schwankte die Nachweisbarkeit beträchtlich, und zwar zwischen 57 und 100 %. Im Durchschnitt lag der Wert ähnlich wie bei der Untersuchung von nur einem Trieb pro Termin und Baum bei 81 %. In den Wurzeln waren die Erreger in fast allen Proben festzustellen.

Von den 5 ausgewählten Triebssuchtbäumen, die vergrößerte Nebenblätter aufwiesen oder im Herbst rotlaubig waren, konnte nur in einem Fall in den einjährigen Trieben eine Besiedlung nachgewiesen werden (Tab. 3). Die durchschnittli-

Tab. 4. Erforderliche Probenzahl für eine Nachweissicherheit von  $P^* = 95$  und  $99\%$ 

Besiedlungshäufigkeit in %	Erforderliche Probenzahl n für $P^*$	
	95%	99%
20	13	20
30	9	12
40	6	10
50	5	7
60	4	5
70	3	4
80	2	3
90	2	2
100	1	1

che Nachweisbarkeit war daher in dieser Gruppe mit 7% deutlich niedriger als bei dem Untersuchungsmaterial dieser Kategorie in Tab. 1. Bei den 8 symptomlosen Bäumen waren nur in je einem Trieb zweier Bäume die Erreger festzustellen, was einen Durchschnittswert von 3% ergibt. Demgegenüber waren in den Wurzeln aller symptomlosen Bäume MLO zu beobachten, und zwar in 90% der untersuchten Proben. Die Werte der positiven Befunde schwankten zwischen 70 und 100% (Tab. 3).

Die verfallskranken Birnbäume mit Rotlaubsymptomen wiesen im Sproß alle eine Besiedlung auf (Tab. 3). Der Prozentsatz befallener Triebe schwankte bei einem Durchschnittswert von 79% zwischen 50 und 100%. Wie beim Apfel konnten in den Wurzeln dieser Gruppe die MLO in fast allen Proben festgestellt werden. Bei den meisten Bäumen ohne Symptome war in den Trieben keine Besiedlung nachzuweisen. Nur bei 3 von 11 Bäumen konnten in einzelnen Trieben Erreger beobachtet werden. Der Durchschnittswert betrug 5%. In den Wurzeln symptomloser Bäume lag die Nachweisbarkeit mit durchschnittlich 65% deutlich niedriger als bei den rotlaubigen Bäumen. Zwar konnte in allen Bäumen eine Besiedlung festgestellt werden, der Schwankungsbereich war jedoch beträchtlich. Bei einem Baum waren die Erreger nur in 3 von 10 Proben nachzuweisen (Tab. 3).

#### Erforderliche Probenzahl für die Diagnose

Bei den Bäumen in Tab. 3, bei denen im Sproß MLO nachgewiesen werden konnten, schwankte die Besiedlungshäufigkeit in den Trieben zwischen ca. 20 und 100%. In den Wurzeln lagen die Werte für das untersuchte Material zwischen 30 und 100%. Die für diese Schwankungsbereiche erforderlichen Probenzahlen für eine Nachweissicherheit von 95 und 99% sind aus Tab. 4 ersichtlich. Da bei der Triebstucht nur Bäume untersucht werden müssen, die keine oder keine eindeutigen Symptome zeigen und in diesem Fall die Wurzeln regelmäßiger und auch häufiger besiedelt sind als der Sproß, bieten sich diese für die Diagnose an. Bei den 5 symptomlosen Bäumen betrug die niedrigste Besiedlungshäufigkeit in den Wurzeln 70%. Es müßten daher bei Verdacht auf Triebstucht für eine Nachweissicherheit von 95% 3 Proben und für eine solche von 99% 4 Proben untersucht werden.

Für die Diagnose des Birnenverfalls können bei Auftreten von Rotlaubigkeit sowohl einjährige Triebe oder der Stamm als auch Wurzeln verwendet werden. Da in den Trieben von rotlaubigen Bäumen die niedrigste Besiedlungshäufigkeit 50% betrug, müßten in diesem Fall 5 bzw. 7 Proben untersucht werden. In den Wurzeln rotlaubiger Bäume lag die niedrigste Besiedlungshäufigkeit bei 80%. Es wäre daher nur eine Untersuchung von 2 bzw. 3 Wurzeln erforderlich. Bei

symptomlosen Bäumen kommen wie beim Apfel nur die Wurzeln in Betracht. Hier betrug die niedrigste Besiedlungshäufigkeit lediglich 30%. Es müßten daher für eine sichere Diagnose 9 bzw. 12 Wurzeln untersucht werden (Tab. 4).

#### Diskussion

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß für die Diagnose der Apfeltriebsucht und des Birnenverfalls das Besiedlungsverhalten der Erreger von großer Bedeutung ist. Dieses konnte erst in jüngster Zeit besser aufgeklärt werden (SCHAPER, 1981; SCHAPER und SEEMÜLLER, 1982). Es gab zwar schon früher Hinweise, daß die Wurzel stärker besiedelt ist als der Sproß, da sich die Apfeltriebsucht durch Wurzelpfropfung während der Vegetationsruhe verhältnismäßig gut übertragen läßt (BAUMANN, 1965; KUNZE, 1972; SEIDL, 1968). Über das Besiedlungsverhalten im Verlauf des Jahres, insbesondere über die jahreszeitlichen Veränderungen im Sproß und die unregelmäßige und ungleichmäßige Besiedlung der oberirdischen Pflanzenteile war jedoch nur wenig bekannt. Die Mißerfolge bei früheren Untersuchungen zum licht- und elektronenmikroskopischen Nachweis der Erreger in Sproßteilen sowie bei der Übertragung der Krankheiten durch Reiserpfropfung waren vielfach darauf zurückzuführen, daß die Arbeiten zum ungeeigneten Zeitpunkt oder mit nicht bzw. zu schwach besiedelten Pflanzenteilen durchgeführt wurden.

Für den Nachweis der Apfeltriebsucht bei Bäumen, die keine oder nur unspezifische Symptome zeigen, sind die Wurzeln am besten geeignet. Sproßteile sind in diesen Fällen nicht, nur schwach oder unregelmäßig besiedelt, so daß es unzweckmäßig wäre, sie für die Diagnose heranzuziehen. Auch zum Nachweis des Birnenverfalls sind die Wurzeln zu bevorzugen. Selbst bei rotlaubigen Bäumen lieferten sie etwas bessere Ergebnisse als der Stamm und wesentlich bessere als einjährige Triebe oder Blattstiele. Bei symptomlosen Bäumen waren die Wurzeln den oberirdischen Teilen so weit überlegen, daß letztere für die Diagnose nicht in Frage kommen. Allerdings lag bei symptomlosen Bäumen die Nachweisbarkeit in den Wurzeln im Durchschnitt nur bei etwa 65%, so daß die Probenzahl für einen sicheren Nachweis entsprechend erhöht werden muß.

Mit Wurzelproben kann die Diagnose während des ganzen Jahres durchgeführt werden, da die Besiedlung der Wurzeln keinen merklichen jahreszeitlichen Schwankungen unterliegt. Im Sproß nimmt die Nachweisbarkeit vom Zeitpunkt der von den Wurzeln ausgehenden Wiederbesiedlung im April oder Mai bis August oder September zu und bleibt bis November stabil (SCHAPER, 1981). Die beste Zeit für die Untersuchung von Sproßteilen sind daher die Monate September, Oktober und November. In der Zeit von Januar bis Mai sind im Sproß meist keine Erreger nachzuweisen.

Bei den hier dargestellten Untersuchungen hat sich gezeigt, daß mit der verwendeten Fluoreszenzmethode zum Nachweis der Erreger zuverlässige Ergebnisse erzielt werden können. Dies hat sich auch in anderen Versuchen bestätigt, in denen die Ergebnisse des DAPI-Testes mit solchen von Übertragungsversuchen durch Pfropfung verglichen wurden (SCHAPER, 1981). Die Methode setzt jedoch gute anatomische Kenntnisse voraus, da die Erreger nur in den im Untersuchungs-jahr gebildeten Siebröhren vorkommen, während der Wintermonate vereinzelt auch noch in denen des Vorjahres. Ein weiteres Problem bei manchen Proben ist die Fluoreszenz der Mitochondrien nach einer Fluorochromierung mit DAPI. Diese tritt besonders im Bereich des Kambiums und des noch

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,