

In dem vorgestellten Assay wurde mittels Protein A die Goldfläche des SPR-Chips mit homologem polyklonalen Kaninchen-Antikörpern gegen das *Potato virus X* (PVX) funktionalisiert und Presssaft von PVX- infizierten Pflanzen mit einer Fließgeschwindigkeit von 0,9 µl/s über den Chip gespült. Ein deutliches Signal war auf den Flächen messbar, welche mit homologem Antikörper funktionalisiert worden waren. Auf den Referenzflächen, auf welchen heterologe Antikörper immobilisiert wurden, konnte keine oder nur eine geringe Signalerhöhung gemessen werden. Die Empfindlichkeit des Nachweises konnte durch den Einsatz eines sekundären Antikörpers noch erhöht werden. Hierbei wurde zunächst der virushaltige Pflanzen- Presssaft über den Chip gespült. Anschließend wurde ein weiterer spezifischer Antikörper über den Chip gespült, der seinerseits an die gebundenen Viruspartikel bindet. Dadurch konnte die Schichtdicke weiter erhöht und so die Empfindlichkeit gesteigert werden. Am Beispiel des PVX wurde so ein Nachweissystem optimiert, mit dem das Virus in Presssaft infizierter Pflanzen innerhalb 2 h nachgewiesen werden kann.

33-4 - Pastrik, K.-H.¹⁾; Steinbach, P.²⁾

¹⁾ Landwirtschaftskammer Niedersachsen

²⁾ Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern

Nachweisverfahren in der Beschaffenheitsprüfung auf Viruskrankheiten der Kartoffel, Teil 1: Entwicklung und Validierung der qPCR als Knollentest

Detection methods in post harvest official testing of seed potatoes for viral diseases, Part 1: Development and validation of a qPCR-method for tubertesting.

In der Beschaffenheitsprüfung auf Viruskrankheiten bei Pflanzkartoffeln wird gegenwärtig der ELISA-Test als Standardverfahren angewendet. Dabei wird ein Nachweis aus dem Blatt von Augenstecklingen bzw. aus Knollenkeimen geführt, da die zu testenden Viren zunächst angereichert werden müssen. Ein sicherer Nachweis der Viren direkt aus den Kartoffelknollen ist aufgrund der zu geringen Nachweisempfindlichkeit des ELISA-Tests nicht möglich. Die Prüfungsdauer je Kartoffelprobe (100 Knollen) beträgt bei diesem Verfahren ca. 6 bis 7 Wochen. Um die Konkurrenzfähigkeit der deutschen Pflanzgutproduktion zu gewährleisten, ist eine Verkürzung der Testdauer bei Export-Proben anzustreben.

Durch die Anwendung sensitiverer Nachweismethoden wie z. B. der quantitativen PCR (qPCR) kann eine Verkürzung der Testdauer erreicht werden. Im Pflanzenschutzamt Hannover wurde in Zusammenarbeit mit der Virusprüfung-Gülsow (LALLF, Mecklenburg/Vorpommern) ein qPCR-Test entwickelt, der die Untersuchung auf die wesentlichen Kartoffelviren PVY, PLRV und PVS direkt aus der Kartoffelknolle umfasst. Im Unterschied zum ELISA-Standardverfahren wird beim qPCR-Test die Kartoffelprobe in Probenpools zu 10 x 10 Knollen untersucht. Der qPCR-Test umfasst zwei unterschiedliche Multiplex-qPCR-Untersuchungen. In der einen Multiplex-Reaktion wird auf die Viren PVY und PLRV getestet, in der anderen erfolgt ein Nachweis von PVS bei gleichzeitiger Amplifikation einer internen PCR-Kontrolle (Cox).

In Pilotuntersuchungen wurde die Richtigkeit der qPCR-Ergebnisse validiert. Dazu wurden 26 Routine-Kartoffelproben aus der Beschaffenheitsprüfung von Pflanzkartoffeln sowohl mit dem ELISA-Standardverfahren als auch mit dem entwickelten qPCR-Test untersucht. Der Vergleich der Ergebnisse zeigte eine hohe Übereinstimmung beider Verfahren trotz der unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkte. Weiterhin konnte durch den Einsatz der qPCR eine starke Verkürzung der Testdauer erreicht werden.

33-5 - Steinbach, P.¹⁾; Pastrik, K.-H.²⁾

¹⁾ Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern

²⁾ Landwirtschaftskammer Niedersachsen

Nachweisverfahren in der Beschaffenheitsprüfung auf Viruskrankheiten der Kartoffel, Teil 2: Vergleichsuntersuchungen zu ELISA-Standardverfahren und q-PCR

Detection methods in post harvest official testing of seed potatoes for viral diseases

Part 2: Comparison study for ELISA methods and qPCR

Gemäß Pflanzkartoffelverordnung (PflKartV) wird in der Beschaffenheitsprüfung auf Viruskrankheiten als Bestandteil des Anerkennungsverfahrens von Pflanzkartoffeln der Besatz mit den Kartoffelviren PLRV, PVY, PVA, PVM, PVX und PVS ermittelt. Das erfolgt bundesweit einheitlich mittels Labortestung im ELISA-Verfahren (Standardverfahren) an Augenstecklingspflanzen bzw. vereinzelt an Knollenkeimen (Ausnahme: Z-Pflanzgut kann durch visuelle Symptomfeststellung zertifiziert werden). Infolge der Anzucht von Augenstecklingspflanzen