

Quantitativer Nachweis des *Potato Virus Y* in Kartoffelpflanzen und Aphiden – Erörterung vielfältiger Anwendungsmöglichkeiten in der Kartoffelforschung

A. Hühnlein¹, J. Schubert², T. Thieme³ und E. Schliephake⁴

Julius Kühn-Institut, ¹Informationszentrum und Bibliothek, ²Institut für Sicherheit in der Gentechnik bei Pflanzen, ³BTL Bio-Test Labor Sagerheide GmbH, ⁴Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz
anja.huehnlein@jki.bund.de

Potato virus Y (PVY) verursacht im Kartoffelanbau weltweit jedes Jahr hohe Ernteverluste und steht somit neben *Potato leafroll virus* auf der Liste der bedeutendsten Kartoffelviren. Neben den drei Hauptstämmen PVY^O, PVY^N und PVY^C existieren auch rekombinante Formen, von denen besonders PVY^{NTN} und PVY^NWilga an Bedeutung gewinnen.

In den letzten Jahren wurden PCR- und qPCR-Assays entwickelt, die verschiedene PVY-Isolate voneinander unterscheiden können. Zur Bestimmung der PVY-Isolate mit Hilfe der PCR ist oft die Generierung sehr großer Amplikons nötig. Die dafür erforderlichen Enzyme sind sehr kostenintensiv. qPCR-Assays auf der anderen Seite ermöglichen bisher nicht die Unterscheidung zwischen PVY^{NTN} und PVY^NWilga. Dabei sind gerade diese Rekombinanten besonders in Europa von großer Bedeutung, da sie mit einem Anteil von ca. 90% die Stämme PVY^N und PVY^O weitestgehend verdrängt haben. Sie kommen auch in Mischinfektion vor. Zur Differenzierung von PVY^N/PVY^{NTN} und PVY^O/PVY^NWilga wurde daher ein qPCR-Assay entwickelt, das mit Hilfe von spezifischen Primern und unterschiedlich markierten Hydrolysesonden die beiden Rekombinanten/Ursprungsformen nicht nur unterscheiden, sondern auch mit hoher Effizienz quantifizieren kann. Anwendung findet das Assay unter anderem in der

Sicherheitsforschung gentechnisch veränderter Kartoffelpflanzen. So wurde untersucht, ob die gentechnisch veränderten (GV) Sorten 'Albatros' (Expression von Cyanophycin, VP60, nptII) und 'Desireé' (Expression von VP60, nptII) eine im Vergleich zu ihren isogenen Linien und den Vergleichsorten 'Hermes', 'Princess', 'Saturna' und 'Mayan Gold' veränderte Virusempfindlichkeit aufweisen. Dafür wurden die genannten Linien/Sorten jeweils mit PVY^{NTN} und PVY^NWilga mechanisch infiziert und nach zwei Wochen mit Hilfe des entwickelten qPCR-Assays analysiert. Die Versuchsergebnisse zeigen, dass die Unterschiede im Virusgehalt zwischen den Vergleichsorten größer sind als zwischen den GV-Kartoffeln und ihren isogenen Linien. Somit besitzen die hier untersuchten GV-Pflanzen keine Veränderung in der Empfindlichkeit gegen PVY.

Da *Myzus persicae* als der effizienteste Vektor zur Übertragung und Verbreitung von PVY angesehen wird, soll das entwickelte qPCR-Assay weiterhin zur Untersuchung des PVY-Gehaltes in Aphiden eingesetzt werden. Die Verdrängung der Stämme PVY^N und PVY^O durch PVY^{NTN} und PVY^NWilga könnte eine Folge von unterschiedlich effizienter Übertragung durch *M. persicae* sein. Daher soll untersucht werden, ob in den Stechborsten von *M. persicae* mehr Viruspartikel der

rekombinanten Formen von PVY binden als Partikel der Hauptstämme PVY^N und PVY^O.

Eine dritte Anwendung des qPCR-Assays ist für die Kartoffelzüchtung interessant, da mittels Quantifizierung des Virusgehaltes bestimmt werden kann, ob eine Resistenz als extrem einzustufen ist. Diese ist charakterisiert durch das Fehlen oder Vorhandensein nur sehr geringer Virusmengen in der Pflanze nach Inokulation durch Pfropfung auf eine Virusquelle. Da beim ELISA häufig unspezifische Reaktionen zu beobachten sind, die eine Unterscheidung nicht infizierter von sehr schwach infizierten Pflanzen erschweren, ermöglicht die exakte Quantifizierung des

PVY-Gehaltes eine höhere Sicherheit bei der Bestimmung des Resistenztyps. Mit dem entwickelten qPCR-Assay wurde also eine Methode entwickelt, mit der effizient, kostengünstig und mit hohem Durchsatz die Differenzierung und Quantifizierung der Stämme PVY^N/PVY^{NTN} auf der einen und PVY^O/PVY^NWilga auf der anderen Seite möglich ist. Die Methode kann sehr vielfältig in den verschiedensten Bereichen der Kartoffelforschung angewendet werden.

Danksagung: Das Projekt wird finanziert mit Mitteln des BMBF. Einen Dank an Herrn Dr. H. Mikschowski für die Bereitstellung der GV-Pflanzen