

Kerstin Lindner<sup>1</sup>, Anita Behn<sup>2</sup>, Andrea Schwarzfischer<sup>2</sup>, Ye-Su Song<sup>3</sup>

## Extreme Y-Resistenz im aktuellen deutschen Kartoffelsortiment

Extreme resistance to Potato Virus Y in potatoes of the German variety list

97

### Zusammenfassung

Das Kartoffelvirus Y (PVY) erweist sich derzeit bei Kartoffeln als ökonomisch bedeutsamstes Pflanzenvirus weltweit. Als wichtigste Maßnahme gegen PVY gilt die Züchtung von virusresistenten Kartoffelsorten. Neben Hypersensitivität erweist sich die extreme Y-Resistenz als effektivste Form der Resistenz. Zurzeit ist diese Eigenschaft für mehr als 20 *Solanum*-Arten bekannt, die in unterschiedlichem Umfang in den Züchtungsprozess eingeflossen sind. Für die Resistenzgene von *S. stoloniferum* (Ry<sub>sto</sub>), *S. tuberosum* ssp. *andigena* (Ry<sub>adg</sub>) und *S. chacoense* (Ry<sub>chc</sub>) sind PCR Marker für die markergestützte Selektion in der Literatur beschrieben. Mit Hilfe des Nachweises dieser Marker war in 21 der 31 im Pfropfversuch als extrem Y-resistent bewerteten Kartoffelsorten des deutschen Sortiments das Resistenzgen Ry<sub>sto</sub> zu bestätigen. In den verbliebenen 10 Kartoffelsorten war auch das Resistenzgen Ry<sub>adg</sub> nicht nachzuweisen. Wenig wahrscheinlich ist es, dass das Resistenzgen Ry<sub>chc</sub> in das deutsche Kartoffelsortiment eingekreuzt wurde. Es ist vielmehr anzunehmen, dass nicht nur Accessionen von *S. stoloniferum* für die Züchtung verwendet wurden, die dem Phänotyp Ry<sub>sto</sub> zuzuordnen sind, sondern auch solche des Phänotyps Ry<sub>sto</sub><sup>na</sup> und Ry<sub>sto</sub><sup>n1</sup>, die im Gegensatz zu Ry<sub>sto</sub> nicht mit männlicher Sterilität und dem Mitochondrien-Typ  $\gamma$  assoziiert sind. Um das deutsche Kartoffelsortiment bezüglich der Eigenschaft extreme Y-Resistenz mit molekulargenetischen Routinemethoden einschätzen zu können, ist demzufolge weitere Entwicklungsarbeit gefordert.

**Stichwörter:** Kartoffelvirus Y (PVY), Extreme Y-Resistenz, Kartoffel, Beschreibende Sortenliste, Wertprüfung, Pfropfen, PCR, männliche Sterilität

### Abstract

Potato virus Y is the most important virus for potato economy. The breeding of virus resistant potato cultivars seems to be the only potent strategy against PVY infection. Beside hypersensitivity, extreme resistance to PVY is the most effective kind of resistance. At present this trait is verified in more than 20 *Solanum*-varieties which were used in different amounts in the breeding process. For *S. stoloniferum* (Ry<sub>sto</sub>), *S. tuberosum* ssp. *andigena* (Ry<sub>adg</sub>) and *S. chacoense* (Ry<sub>chc</sub>) PCR markers for marker assisted selection to extreme resistance are already described in literature. The Ry<sub>sto</sub> marker was present in 21 from 31 extreme resistant potato cultivars of the German assortment which were selected by grafting. The other 10 cultivars were also not selectable by Ry<sub>adg</sub>. Because most of these cultivars were male fertile, we assume that other resistance genes from *S. stoloniferum*, maybe Ry<sub>sto</sub><sup>na</sup> or Ry<sub>sto</sub><sup>n1</sup>, were used in their breeding process. These genes are not associated, in contrast to Ry<sub>sto</sub>, with male sterility and mitochondria of the  $\gamma$ -type. Further investigations are necessary to prove this hypothesis and to establish molecular selection methods also for these resistance genes in order to ease the resistance test methods.

### Institut

Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Braunschweig<sup>1</sup>

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Freising-Weihenstephan<sup>2</sup>

Seoul Woman's University, Institute of Natural Sciences, Republic of Korea<sup>3</sup>

### Kontaktanschrift

Dr. Kerstin Lindner, Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, E-Mail: kerstin.lindner@jki.bund.de

### Zur Veröffentlichung angenommen

10. Januar 2011

**Key words:** Potato Virus Y (PVY), extreme resistance, potato, grafting, PCR, male sterility

## Einleitung

Das Kartoffelvirus Y (PVY), ein Vertreter der Potyviridae, ist bei Kartoffeln derzeit weltweit das ökonomisch bedeutsamste Pflanzenvirus (VAN DER ZAAG, 1987). Über Ertragsverluste von 40–70% wurde berichtet (BEEMSTER und DE BOKX, 1987; BURTON, 1989). Virizide zum Schutz der Kartoffel vor PVY gibt es nicht. Der Einsatz von Insektiziden zur Bekämpfung der Blattläuse als Virusvektoren ist nur bei persistent übertragbaren Viren (z.B. PLRV) hinreichend wirksam. Als wichtigste Maßnahme gegen die Hauptkartoffelviren, insbesondere gegen PVY, gilt die Züchtung von virusresistenten Kartoffelsorten. Als effektivste Form der Resistenz erweisen sich Hypersensitivität und extreme Resistenz. Extreme Resistenz zeichnet sich durch eine äußerst geringe Virusmenge in der Pflanze aus als Ergebnis von stark verminderter Vermehrung des Virus in der Zelle oder stark reduziertem Virustransport von Zelle zu Zelle (VALKONEN, 1994). Die Pflanze wird zwar infiziert, erkrankt jedoch nicht. Extreme Y-Resistenz ist dominant monogen determiniert (COCKERHAM, 1970). Derzeit ist diese Eigenschaft für mehr als 20 *Solanum*-Arten bekannt (BROWN und CORSINI, 2001; SOLOMON-BLACKBURN und BAKER, 2001; SIMKO et al., 2007), u.a. für *Solanum stoloniferum* (COCKERHAM, 1943), *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* (MUÑOZ et al., 1975; ROSS, 1986; GALVEZ und BROWN, 1980), *Solanum hougasii* (COCKERHAM, 1970), *Solanum chacoense* (HOSAKA et al., 2001), *Solanum microdontum*, *Solanum demissum* (COCKERHAM, 1970) und die nicht knollenbildende Art *Solanum brevidens* (HORVATH et al., 1988). Diese *Solanum*-Arten werden mehr oder weniger erfolgreich in den klassischen Züchtungsprozess einbezogen. Zudem bestätigten THIEME et al. (2008) extreme Y-Resistenz in *Solanum tarnii* und etablierten somatische Hybride bzw. DC<sub>1</sub> Klone mittels Protoplastenfusion für die erweiterte Züchtung von extrem Y-resistenten Kartoffelsorten. Auch die gezielte Kombination der extremen Y-Resistenz mit anderen wichtigen Resistenzeigenschaften gelingt sehr erfolgreich über die Protoplastenfusion (SCHWARZFISCHER et al., 2010).

Die Widerstandsfähigkeit gegenüber PVY wird als wichtige wertbestimmende Eigenschaft im Rahmen des Zulassungsverfahrens einer Kartoffelsorte durch das Bundessortenamt (BSA) beurteilt und in der Beschreibenden Sortenliste (BSL) veröffentlicht. Die Bewertung erfolgt auf der Basis der Ergebnisse der Resistenzprüfung, die unter der Federführung des Julius Kühn Institutes – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI) durchgeführt wird. Auf Antrag des Züchters wurde die Prüfung bis 2006 auf den Nachweis der extremen Y-Resistenz ausgedehnt. Die in der BSL vermerkten extremen Y-Resistenzen waren demzufolge lückenhaft. Sie gaben keine umfassende Auskunft über die im Sortiment vorhandenen Resistenzen.

Spätestens ab dem 1. Januar 2014 sind die allgemeinen Grundsätze des integrierten Pflanzenschutzes in allen EU Mitgliedstaaten auf der Basis der nationalen Aktionspläne umzusetzen. Als ein wesentlicher Teilaspekt dieser Grundsätze gilt die Anwendung von resistenten Sorten zur Vorbeugung und/oder Bekämpfung von Schadorganismen. Seit 2006 streben BSA und JKI deshalb an, das zur Durchsetzung dieses Verhaltenskodexes förderliche Wissen bezüglich extremer Y-Resistenz für alle potentiellen Sorten ohne Antrag durch den Züchter umfassend zu erarbeiten und der Öffentlichkeit, insbesondere den Landwirten und Beratern, zugänglich zu machen.

Derzeit wird die extreme Y-Resistenz im Pfropfversuch nachgewiesen. Die Methode ist personal-, zeit- und materialintensiv. Neue Nachweisooptionen eröffnen sich durch Fortschritte in der Molekulargenetik (VISSER et al., 2009). Die Reduktion der Ploidiestufe von Kartoffeln und das Auffinden von DNA-basierten genetischen Markern im Genom der Kartoffel stellen die Grundlage dafür dar, molekulargenetische Methoden zu erarbeiten, mit denen mit extremer Y-Resistenz assoziierte Marker etabliert werden konnten (GEBHARDT und VALKONEN, 2001). Verschiedenen Arbeitsgruppen ist es auf diesem Weg gelungen, genetische Marker für extreme Y-Resistenz zu entwickeln, die Resistenzgene von *S. stoloniferum*, *S. tuberosum* ssp. *andigena* und *S. chacoense* erfassen: Ry<sub>sto</sub> (FLIS et al., 2005; SONG et al., 2005), Ry<sub>adg</sub> (KASAI et al., 2000; SORRI et al., 1999) und Ry<sub>chc</sub> (HOSAKA et al., 2001).

Im deutschen Sortiment basiert die extreme Y-Resistenz insbesondere auf Genen von *S. stoloniferum* (SONG, 2004). FLIS et al. (2005) und SONG et al. (2005) orteten das Ry<sub>sto</sub>-Gen auf Chromosom XII. Die Ry<sub>sto</sub> bzw. Ry<sub>fsto</sub> Marker beschreiben sie jedoch in gewisser Entfernung zueinander. FLIS et al. (2005) entwickelten Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS)-Marker (Primer 122) für den Resistenzgennachweis. Von SONG und SCHWARZFISCHER (2008) sind auf der Basis von Ry<sub>sto</sub> Sequence Tagged Site (STS)-Marker (Primer YES3-3A und YES3-3B) erarbeitet worden. Diese Marker erkennen bislang fast alle bekannten Sorten mit extremer Y-Resistenz. Nicht erfasst wurden jedoch die niederländischen Sorten Corine und Santé, deren Resistenz auf dem Gen Ry<sub>sto</sub><sup>n1</sup> beruht (SONG und SCHWARZFISCHER, 2008) und nicht mit dem Mitochondrien-Typ  $\gamma$  und der damit verbundenen männlichen Sterilität gekoppelt ist (LÖSSL et al., 1999; SONG und SCHWARZFISCHER, 2008).

Die durch Ry<sub>adg</sub> vermittelte extreme Y-Resistenz ist insbesondere in Kartoffelgenotypen (Wildtypen) des Centro International de la Papa (CIP) nachgewiesen worden (CIP, 1998) sowie in Kartoffelgenotypen, die von WATANABE et al. (1994) und HÄMÄLÄINEN et al. (1997) untersucht wurden. Durch den umfangreichen internationalen Austausch von Kartoffelkreuzungsmaterial ist es nicht unwahrscheinlich, dass auch im deutschen Sortiment extreme Y-Resistenz auf der Basis von Ry<sub>adg</sub> vorhanden ist. Für den Resistenzgennachweis standen der CAPS Marker (Primer ADG2) von SORRI et al. (1999) und die Sequence Characterized Amplified Regions (SCAR) Marker (Primer RYSC3 und RYSC4) zur Option (KASAI et

al., 2000). WHITWORTH et al. (2009) prüften beide Systeme und erhielten übereinstimmende Ergebnisse.

Extreme Y-Resistenz auf der Basis von *S. chacoense* wurde in den japanischen Sorten „Konafubuki“ und „Sakurafubuki“ beschrieben (SATO et al., 2006). Dass  $Ry_{chc}$  im deutschen Kartoffelsortiment etabliert wurde, deutet sich bisher nicht an.

Gegenstand vorliegender Arbeit sind vergleichende Untersuchungen zur Ermittlung der extremen Y-Resistenz im deutschen Kartoffelsortiment mit der Pfropfmethode und unterschiedlichen PCR (Polymerase Chain Reaktion)-Ansätzen unter Zuhilfenahme der Ergebnisse der Wertprüfung zur Etablierung einer effektiven Routinemethode für die Sortenzulassung.

## Material und Methoden

### Pflanzenmaterial

In der BSL 2009 sind 205 in Deutschland zugelassene Kartoffelsorten gelistet. Von ihnen werden 70 als sehr gering anfällig gegenüber PVY beschrieben (BSL, 2009). Insgesamt 31 dieser Sorten (Tab. 1), die in der Wertprüfung befallsfrei hinsichtlich PVY waren oder maximal eine PVY-infizierte Knolle aufwiesen, wurden im Pfropfversuch und in der PCR untersucht.

### Kartoffelvirusresistenzprüfung

Als Bestandteil der Wertprüfung (Sortenzulassung) ist die Widerstandsfähigkeit der angemeldeten Kartoffelsorten gegen PVY und gegen das Blattrollvirus (PLRV) zu bewerten. Die Prüfungen werden über einen Zeitraum von zwei Jahren an drei Standorten (Braunschweig, Dahnsdorf, Donaueschingen) durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgen als randomisierte Blockanlage mit 5 Wiederholungen und einer Teilstückgröße von einer Reihe zu je 10 Kartoffelknollen, die im Abstand von 35 cm gepflanzt werden (HINRICHS-BERGER und LANDSMANN, 2000). Nach jeweils zwei mit Prüfgliedern bepflanzten Reihen wird in die benachbarte Reihe hoch virusinfiziertes Knollenmaterial für die Gewährleistung eines intensiven Infektionsdrucks ausgebracht. Als Virusvektoren wirkt die natürliche Blattlauspopulation. Zudem werden in die Untersuchungen acht virusanfällige Kartoffelsorten als Referenzsorten zur Bewertung des jahresspezifischen Virusbefalls einbezogen. Nach der natürlichen Abreife der Kartoffelpflanzen wird pro Kartoffelstaude eine Knolle entnommen und deren Virusbefall in der Augenstecklingsprüfung visuell eingeschätzt. Im anschließenden Enzym-linked Immunosorbent Assay (ELISA) erfolgt der immunologische PVY Nachweis mit einem polyclonalen Antikörper (JKI 630 – eigene Herstellung).

### Pfropfversuch

Der Versuch erfolgte unter Verwendung von je 100 Kartoffel- und Tabakpflanzen (‘Samsun’ NN) pro zu untersuchender Kartoffelsorte. Die Tabakpflanzen wurden im Dreiblattstadium mit einem hoch infektionseffizienten PVY<sup>NTN</sup> Isolat infiziert. Dazu wurde infiziertes Tabak-

**Tab. 1. Ergebnisse der PCR-Analysen von hoch PVY widerstandsfähigen Kartoffelsorten der BSL 2009**

Sorte	$Ry_{sto}$		Cytoplasma	
	Yes3-3A	Yes3-3B	Chloroplasten	Mitochondrien
Alegria	-	-	T	$\beta$
Alwara	+	+	W	$\gamma$
Amado	+	+	W	$\gamma$
Arosa	+	+	W	$\gamma$
Aspirant	+	+	W	$\gamma$
Bellaprima	-	-	W	$\alpha$
Bettina	+	+	W	$\gamma$
Burana	-	-	W	$\alpha$
Django	+	+	W	$\gamma$
Esprit	-	-	W	$\alpha$
Estrella	+	+	W	$\gamma$
Fasan	-	-	W	$\gamma$
Fioretta	+	+	W	$\gamma$
Forelle	+	+	W	$\gamma$
Jaqueline	+	+	W	$\gamma$
Joker	+	+	W	$\gamma$
Jumbo	+	+	W	$\gamma$
Kuba	+	+	W	$\gamma$
Lambada	-	-	T	$\beta$
Maxi	+	+	W	$\gamma$
Merida	-	-	T	$\beta$
Naviga	-	-	T	$\beta$
Rudawa	+	+	W	$\gamma$
Sibu	+	+	W	$\gamma$
Solara	+	+	W	$\gamma$
Stärkeprofi	+	+	W	$\gamma$
Toccata	+	+	W	$\gamma$
Tomba	+	+	W	$\gamma$
Triumph	-	-	T	$\beta$
Turdus	+	+	W	$\gamma$
Vitesse	-	-	T	$\beta$

blattmaterial mit Mörser und Pistill in Phosphat-Puffer homogenisiert (1 g Tabakblattmaterial – Frischgewicht – in jeweils 3 ml Puffer), auf alle drei Blätter aufgetragen und unter Verwendung von Carborundum mit einem Glasspatel in das Blattgewebe eingerieben. Um sowohl basi- als auch akropedalen Virustransport zu untersuchen, wurden die Pfropfkombinationen PVY infizierte Tabakspresse und gesunde Kartoffelunterlage bzw. gesunde Kartoffelspresse und PVY infizierte Tabakunterlage verwendet. Das Pfropfen erfolgte in BBCH 16-17 des Tabaks (HACK et al., 1992). Es wurden nur die Tabakpflanzen verwendet, für die im ELISA PVY-Befall nachgewiesen wurde. Die Kartoffel hatte zu diesem Zeitpunkt das 8. Blatt des Haupttriebs voll ausgebildet (Abb. 1 und 2).

Der Nachweis der extremen Y-Resistenz ist dann erfolgt, wenn sich ca. 4–6 Wochen nach dem Pfropfen die



Abb. 1. PVY infizierter Tabakspross auf Kartoffelunterlage gepfropft.

neu gebildeten Kartoffelblätter im ELISA als virusfrei erweisen. Zum Nachweis der Infektiosität des PVY<sup>NTN</sup> Isolates wurden PVY infizierte Tabaksprosse auf die hoch PVY anfällige Sorte Bintje bzw. auf Désirée gepfropft bzw. Kartoffelsprosse dieser Sorten auf infizierten Tabak.

#### DNA-Isolierung

Das Pflanzenmaterial für die DNA-Isolierung wurde von jungen Kartoffelblättern entnommen und nach einer modifizierten CTAB-Methode isoliert (SAGHAI-MAROOF et al., 1984; SONG et al., 2005). Das Blattmaterial (250 mg) wurde 3 Tage in einer Gefriertrocknungsanlage (Lab-conco, UniEquip) im Vakuum bei  $-42^{\circ}\text{C}$  und 13 mbar gefriergetrocknet und anschließend in der Kugelmühle (MM2000, Retsch) 2 min lang zu feinem Blattpulver gemahlen. Dieses wurde mit 750  $\mu\text{l}$  2x-CTAB Puffer und 0,2% (v/v) 2-Mercaptoethanol homogenisiert.

#### Ry<sub>sto</sub>-Nachweis

Die von SONG und SCHWARZFISCHER (2008) entwickelten YES3-3A und YES3-3B Primer wurden bei den 31 ausgewählten Kartoffelsorten gemäß Publikation eingesetzt. Vorteilhaft ist der YES3-3A Marker wegen des deutlich geringeren Agaroseanteils im Gel.

#### Ry<sub>adg</sub>-Nachweis

Für die vergleichenden Untersuchungen wurde der SCAR Marker (Primer RYSC3, KASAI et al., 2000) ausgewählt



Abb. 2. Kartoffelspross auf PVY infizierte Tabakunterlage gepfropft.

und Blattmaterial der entsprechenden Kartoffelsorten gemäß Publikation analysiert.

#### Analyse der Cytoplasma-Zusammensetzung

Die unterschiedlichen Plastiden (W, T) und Mitochondrialen Typen ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) der 31 Sorten wurden jeweils mit den Primern ALC\_1/3 und ALM\_4/5 nach LÖSSL et al. (2000) untersucht. Als positive Kontrollen für den W/ $\alpha$ -Typ wurden die Kartoffelsorten Bonanza und Combi, für den W/ $\gamma$ -Typ die Sorte Dania und für den T/ $\beta$ -Typ die Sorten Exquisa und Hansa verwendet.

## Ergebnisse

#### Augenstecklingsprüfung

Im Ergebnis der Augenstecklingsprüfung mit anschließendem ELISA im Rahmen der Sortenzulassung waren 17 Sorten befallsfrei, 9 wiesen eine PVY-infizierte Knolle von insgesamt 300 untersuchten auf. Die fünf Sorten Alwara, Forelle, Fasan, Kuba und Turdus wurden zusätzlich für den Pfropfversuch und die PCR ausgewählt, da die Extinktionswerte des ELISA, die die Grundlage für die Befallsentscheidung darstellen, im Grenzbereich lagen.

#### Pfropfversuche

Nach dem Pfropfen von Kartoffelsprossen der entsprechenden 31 Sorten auf PVY-infizierte Tabakunterlage und von infizierten Tabaksprossen auf Kartoffelunterlagen erwiesen sich alle Kartoffelproben im ELISA befallsfrei. Der PVY Befall in den Kontrollpflanzen lag unabhängig von der Transportrichtung zwischen knapp 30% und ca. 80%.

#### PCR-Analysen

Die im Pfropfversuch geprüften 31 Kartoffelsorten sind in der PCR nach KASAI et al. (2000) auf das die extreme Y-Resistenz vermittelnde Gen Ry<sub>adg</sub> geprüft worden. In keiner dieser Sorten war das Resistenzgen nachzuweisen.

In der PCR zum Nachweis der extremen Y-Resistenz auf der Basis von  $Ry_{sto}$  nach SONG und SCHWARZFISCHER (2008) konnte diese Eigenschaft hingegen für die Kartoffelsorten Alwara, Amado, Arosa, Aspirant, Bettina, Django, Estrella, Fioretta, Forelle, Jaqueline, Joker, Jumbo, Kuba, Maxi, Rudawa, Sibü, Solara, Stärkeprofi, Toccata, Tomba und Turdus ermittelt werden. Ausnahmslos liegt in diesen Sorten der Mitochondrien-Typ  $\gamma$  vor. Für die weiteren zehn Sorten (Tab. 1) war  $Ry_{sto}$  nicht nachzuweisen. Mit Ausnahme von Fasan lag in diesen Sorten der  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Mitochondrien-Typ vor.

## Diskussion

PVY ist nicht nur ein Schaderreger der nachhaltige Ertragsdefizite verursachen kann, sondern erweist sich auch im Rahmen der Pflanzgutenerkennung als limitierender Faktor. In der Beschaffenheitsprüfung für Kartoffelpflanzgut aus Mecklenburg-Vorpommern (1993–2009) konnte nachgewiesen werden, dass durchschnittlich 89% der Virusinfektionen aller untersuchten Kartoffelproben (Vorprüfung – Z-Saatgut) durch PVY verursacht wurden (STEINBACH, 2009). Die weiteren Hauptkartoffelviren traten im gleichen Zeitraum im einstelligen Bereich auf (PLRV: 4,3%, PVA: 1,1%, PVM: 2,3%, PVX: 0,6%). Das Ergebnis der weiteren Saat- und Pflanzgutenerkennungsstellen in Deutschland unterscheidet sich unwesentlich von diesem Ergebnis. Eine ähnliche Befallsituation ist in vielen anderen Ländern zu beobachten. Weltweit werden deshalb Resistenzen in Kartoffelsorten gegenüber PVY gefordert (BÖHLING, 2008). Die deutschen Kartoffelzüchter haben sich erfolgreich mit dieser Aufgabe auseinandergesetzt. Durchschnittlich wiesen Dreiviertel aller zur Zulassung angemeldeten Neuzüchtungen in den letzten 10 Jahren geringe bis sehr geringe Anfälligkeit gegenüber PVY auf. Nur 11% waren im Mittel der Jahre stark bis sehr stark anfällig (BSL, 2001–2009). 10- bis 40-jährige Sorten wiesen hingegen mit zunehmender Marktpräsenz eine höhere Anfälligkeit gegenüber PVY auf. Als eine Ursache dafür wird eine Verschiebung im PVY Stammspektrum hin zu den neuen, infektions-effizienteren PVY Stämmen NW, NTN und N:O diskutiert (LINDNER und BILLENKAMP, 2005). Die extreme Y-Resistenz konnte jedoch bis jetzt von keinem dieser Stämme gebrochen werden.

Von den insgesamt 205 in der BSL (2009) zugelassenen Kartoffelsorten wurden anhand der ELISA Ergebnisse (Wertprüfung – Sortenzulassung) 31 sehr gering anfällige Sorten für die vergleichenden Untersuchungen ausgewählt. Obwohl ROSS (1986) darauf hinwies, dass eine PVY Infektion von extrem Y-resistenten Genotypen im ELISA nicht nachzuweisen ist und WHITWORTH et al. (2009) das bestätigten, sind nicht nur die 17 Sorten, für die Befallsfreiheit im ELISA nachgewiesen wurde, für weitere Untersuchungen zur extremen Y-Resistenz selektiert worden, sondern auch solche, die eine PVY-infizierte Knolle von insgesamt 300 untersuchten aufwies und solche, bei denen die Extinktionswerte des ELISA, die auf

PVY-Befall hinweisen, im Grenzbereich lagen. Diese Vorgehensweise ist ausgewählt worden, um weitgehend alle potentiell extrem Y-resistenten Sorten in die vergleichenden Untersuchungen einzubeziehen. Es kann jedoch trotzdem nicht ausgeschlossen werden, dass diese oder jene extrem Y-resistente Kartoffelsorte im Laufe der umfangreichen Kartoffelvirusresistenzprüfungen unter Freilandbedingungen mit wenigstens 90 bis 100 zu testenden Zuchtstämmen bzw. Kartoffelsorten vorerst unberücksichtigt blieb.

Durch das Pfropfen werden Kartoffel- und Tabakphloem sowie Kartoffel- und Tabakxylem miteinander verbunden. PVY wird insbesondere im Phloem transportiert. Alle 31 Kartoffelsorten waren nach Pfropfen befallsfrei. Allerdings war auch in den Kontrollpflanzen kein hundertprozentiger Infektionserfolg nachzuweisen. Demzufolge verursacht auch in hoch anfälligen Sorten nicht jede potentielle PVY-Quelle (infizierte Tabakpflanze) eine Infektion in der Kartoffel. Im Gegensatz dazu kann davon ausgegangen werden, dass, wenn auch nur eine Kartoffelpflanze PVY-Befall aufweist, keine extreme Y-Resistenz vorliegt, wenngleich STEGEMANN und BOCK (2009) darauf hinwiesen, dass durch Pfropfen durchaus genetische Informationen ausgetauscht werden können. Ob eine Sorte hingegen immer extrem Y-resistent ist, wenn im Pfropfversuch kein Befall nachgewiesen wird, oder ob die Sorte in diesem oder jenem Fall eine hohe Widerstandsfähigkeit aufweist, kann nicht eindeutig geklärt werden. Hierfür ist der Nachweis des Resistenzgens notwendig.

Für die Sorten Alwara, Amado, Arosa, Aspirant, Bettina, Django, Estrella, Fioretta, Forelle, Jaqueline, Joker, Jumbo, Kuba, Maxi, Rudawa, Sibü, Solara, Stärkeprofi, Toccata, Tomba und Turdus war extreme Y-Resistenz aus *S. stoloniferum* eindeutig über  $Ry_{sto}$ -Marker nachzuweisen. Eine Prüfung der verbleibenden Sorten auf das die extreme Y-Resistenz vermittelnde Gen aus *S. tuberosum* ssp. *andigena*  $Ry_{adg}$  konnte den Ursprung der hohen Widerstandsfähigkeit der weiteren Kartoffelsorten gegenüber PVY nicht klären. Der  $Ry_{adg}$ -Marker war in keiner dieser Sorten nachzuweisen. Die Option, dass die extreme Y-Resistenz in den deutschen Sorten auf  $Ry_{chc}$  durch Kreuzung mit japanischen Sorten oder Kreuzungspartnern zustande kam, wird von HOFFERBERT, JUNGHANS und LÜBECK (pers. Mitteilung) ausgeschlossen. Wahrscheinlicher ist hingegen, dass unterschiedliche Accessionen von *S. stoloniferum* in früheren Kreuzungen verwendet wurden (SONG und SCHWARZFISCHER, 2008). *S. stoloniferum* ist eine hoch polymorphe mexikanische Wildkartoffelart, die z.B. innerhalb der Art unterschiedliche Blattgliederung und Blütenfarbe aufweist (COCKERHAM, 1970; HAWKES, 1992). Im Ergebnis von Kreuzungsversuchen beobachtete COCKERHAM (1970) sieben unterschiedliche phänotypische Reaktionen der Pflanzen auf PVY und PVA Infektionen, die er den drei Phänotypen  $Ry_{sto}$ ,  $Ry_{sto}^{na}$  und  $Ry_{sto}^{n1}$  zuordnete. ROSS (1986) wies darauf hin, dass alle *S. stoloniferum* Stämme, die im Max-Planck-Institut aufbereitet wurden, um wirkungsvolle Resistenzdonoren (Kreuzungspartner) für die Kartoffelzüchtung zur Verfügung zu stellen, männlich steril

waren. Diese Eigenschaft ist stark mit dem Cytoplasmotyp der Kartoffelsorte assoziiert (LÖSSL et al., 1999, 2000). BRAUN (2003) bestätigte, dass es insbesondere der Cytoplasmotyp W/γ ist, mit dem das Männliche Sterilitätssystem gekoppelt ist. Für die 21 Kartoffelsorten der BSL, für die das Ry<sub>sto</sub>-Gen nachgewiesen wurde, liegt der W/γ Typ vor. Alegria, Lambada, Merida, Naviga, Triumph und Vitesse besitzen wie Corine und Santé den Cytoplasmotyp T/β. Corine und Santé sind holländische Sorten, die sich durch hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber PVY ausweisen, die jedoch nicht auf das Resistenzgen Ry<sub>sto</sub> zurückzuführen ist (FLIS et al., 2005). Dem Stammbaum ist zu entnehmen, dass im Fall dieser beiden Sorten das Resistenzgen nicht weiblich, sondern männlich vererbt wurde. Der resistente Kreuzungspartner ist nicht dem Phänotyp 1 (Ry<sub>sto</sub>) der Cockerham'schen Klassifizierung zuzuordnen, sondern stellt einen Vertreter des Phänotyps 3 (Ry<sub>sto</sub><sup>n1</sup>) dar (SONG und SCHWARZFISCHER, 2008). Es ist möglich, dass die Sorten der BSL, die hohe, nicht aber auf Ry<sub>sto</sub> beruhende Widerstandsfähigkeit gegenüber PVY besitzen, diese Resistenzquelle aufweisen oder ihnen ein Kreuzungspartner des Phänotyps 2 (Ry<sub>sto</sub><sup>na</sup>) zugrunde liegt. Beide Resistenzgene sind bis heute nicht lokalisiert, die Resistenzmarker nicht beschrieben.

Um nach heutigem Wissensstand das deutsche Kartoffelsortiment bezüglich der Eigenschaft extreme Y-Resistenz einschätzen zu können, steht mit der Methode zur Ermittlung des Resistenzmarkers Ry<sub>sto</sub> ein leistungsfähiges Testverfahren zur Verfügung. Allerdings können damit nicht alle extrem Y-resistenten Sorten erfasst werden. Der Nachweis der extremen Y-Resistenz im Routinetest im Rahmen der Sortenzulassung kann erst dann umfassend erfolgen, wenn auch genetische Marker für Ry<sub>sto</sub><sup>na</sup> und Ry<sub>sto</sub><sup>n1</sup> entwickelt und bewertet sind.

## Danksagung

Wir bedanken uns bei Frau F. TRAUTWEIN und Herrn Dr. J. STEINBERGER vom Bundessortenamt für die konstruktive Diskussion zum Thema und die Durchsicht des Manuskripts.

## Literatur

- BEEMSTER, A.B.R., J.A. DE BOKX, 1987: Breeding for resistance, pp 84-113. In: DE BOKX, J.A., J.P.H. VAN DER WANT (eds.): Viruses of potatoes and seed-potato production, 2. ed., Wageningen, Pudoc.
- BÖHLING, L., 2008: Trends in der Kartoffelzüchtung. <http://www.ernaehrungswirtschaft.de>.
- BSL, 2001: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2001. Bundessortenamt, Hannover.
- BSL, 2002: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2002. Bundessortenamt, Hannover.
- BSL, 2003: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2003. Bundessortenamt, Hannover.
- BSL, 2004: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2004. Bundessortenamt, Hannover.
- BSL, 2005: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2005. Bundessortenamt, Hannover.
- BSL, 2006: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2006. Bundessortenamt, Hannover.
- BSL, 2007: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2007. Bundessortenamt, Hannover.
- BSL, 2008: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2008. Bundessortenamt, Hannover.
- BSL, 2009: Beschreibende Sortenliste Kartoffeln 2009. Bundessortenamt, Hannover.
- BRAUN, A., 2003: Einfluss von Cytoplasma und Heterozygotie auf die Merkmalsvariabilität in Kreuzungsnachkommenschaften von *Solanum tuberosum* L. Ph.D. Dissertation, Technische Universität München, 124 S.
- BROWN, C.R., D. CORSINI, 2001: Breeding for resistance to viruses: Traditional methods. 323-340. In: PERGER, P., A.A. BRUNT, G. LOEBENSTEIN, R.H. LAWSON (eds.): Virus and virus-like diseases of potato and potato seed production, Boston, Kluwer.
- BURTON, W.G., 1989: The potato. 3., ed., Harlow, Longman Scientific and Technical, pp. 742.
- CIP, 1998: List of pathogen tested potato genotypes. International Potato Center, Lima, Peru.
- COCKERHAM, G., 1943: Potato breeding for virus resistance. *Ann. Appl. Biol.* **30**, 105-108.
- COCKERHAM, G., 1970: Genetical studies on resistance to potato viruses X and Y. *Heredity* **25**, 309-348.
- FLIS, B., J. HENNING, D. STRZELCYK-ZYTA, C. GEBHARDT, W. MARCZEWSKI, 2005: The Ry-f<sub>sto</sub> gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistance to *Potato virus Y* maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122<sub>718</sub> in PVY resistant potato cultivars. *Molecular Breeding* **15**, 95-101.
- GALVEZ, R., C.R. BROWN, 1980: Inheritance of extreme resistance to PVY derived from *Solanum tuberosum* spp. *andigena*. *Am. Potato J.* **57**, 476-477.
- GEBHARDT, C., J.P.T. VALKONEN, 2001: Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome. *Annu. Rev. Phytopathol.* **39**, 79-102.
- HACK, H., H. BLEIHOLDER, L. BUHR, U. MEIER, U. SCHNOCK-FRICKE, E. WEBER, A. WITZENBERGER, 1992: Einheitliche Codierung der phäologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen. -Erweiterte BBCH-Skala, Allgemein-. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* **44**, 265-270.
- HAWKES, J.G., 1992: History of the potato. In: HARRIS, P.M. (ed.): The potato crop; The scientific basis for improvement. 2. ed., London, Chapman and Hall, pp. 909.
- HÄMÄLÄINEN, J.H., K.N. WATANABE, J.P.T. VALKONEN, A. ARIHARA, R.L. PLAISTED, E. PEHU, L. MILLER, S.A. SLACK, 1997: Mapping and marker-assisted selection for a gene for extreme resistance to potato virus Y. *Theor. Appl. Genet.* **94**, 192-197.
- HINRICHS-BERGER, J., J. LANDSMANN, 2000: Zur Einstufung der Virusanfälligkeit von Kartoffeln im Rahmen der Sortenzulassung. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* **52**, 300-304.
- HORVATH, J., M. KOLBER, I. WOLF, 1988: Reactions of wild *Solanum* species to potato virus X and potato virus Y. *Acta phytopathologica et Entomologica Hungarica* **23**, 465-470.
- HOSAKA, K., Y. HOSAKA, M. MORI, T. MAIDA, H. MATSUNAGA, 2001: Detection of simplex RAPD marker linked to resistance to potato virus Y in a tetraploid potato. *Am. Potato J.* **78**, 191-196.
- KASAI, K., Y. MORIKAWA, V.A. SORRI, J.P.T. VALKONEN, C. GEBHARDT, K.N. WATANABE, 2000: Development of SCAR markers to the PVY resistance gene Ry<sub>adg</sub> based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genom* **43**, 1-8.
- LINDNER, K., N. BILLENKAMP, 2005: Veränderungen im Stammspektrum des Kartoffelvirus Y: Eine Ursache für die Zunahme der Virusanfälligkeit von Kartoffel- und Tabaksorten? *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* **57**, 245-253.
- LÖSSL, A., N. ADLER, R. HORN, U. FREI, G. WENZEL, 1999: Chondriome-type characterization of potato: mt α, β, γ, δ, ε and novel plastid-mitochondrial configurations in somatic hybrids. *Theor. Appl. Genet.* **98**, 1-10.
- LÖSSL, A., M. GÖTZ, A. BRAUN, G. WENZEL, 2000: Molecular markers for cytoplasm in potato: male sterility and contribution of different plastid-mitochondrial configurations to starch production. *Euphytica* **116**, 221-230.
- MUÑOZ, F.J., R.L. PLAISTED, H.D. THURSTON, 1975: Resistance to potato virus Y in *Solanum tuberosum*. *Phytochemistry* **25**, 1579-1589.
- ROSS, H., 1986: Potato breeding - Problems and perspectives. *Fortschritte der Pflanzenzüchtung - Advances in Plant Breeding* **13**, Berlin und Hamburg, Paul Parey, pp. 132.
- SAGHAI-MAROOF, M.A., K.M. SOLIMAN, R.A. JORGENSEN, R.W. ALLARD, 1984: Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 8014-8018.
- SATO, M., K. NIZUKO, K. KOMURA, K. HOSAKA, 2006: Potato virus Y resistance gene Ry<sub>chc</sub> mapped to the distal end of potato chromosome 9. *Euphytica* **149**, 367-372.

- SCHWARZFISCHER, A., A. BEHN, J. GROTH, M. REICHMANN, A. KELLERMANN, Y.S. SONG, 2010: Markergestützte Selektion in der praktischen Kartoffelzüchtung – Erfahrungen und Perspektiven. 60. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 81-85.
- SIMKO, I., S. JANSKY, S. STEPHENSON, P. SPOONER, 2007: Genetics of resistance to pests and diseases. In: VREUGDENHIL, D. (ed.): Potato biology and biotechnology: Advances and perspectives, Amsterdam, Elsevier, pp. 117-154.
- SOLOMON-BLACKBURN, R., H. BAKER, 2001: A review of host major-gene resistance to potato viruses X, Y, A and V in potato: genes, genetics and mapped locations. *Heredity* **86**, 8-16.
- SONG, Y.S., 2004: Genetic marker analysis in potato for extreme storage at 4°C. Technical University Munich, pp.111.
- SONG, Y.S., L. HEPTING, G. SCHWEIZER, L. HARTL, G. WENZEL, A. SCHWARZFISCHER, 2005: Mapping of extreme resistance to PVY (R<sub>Y<sub>sto</sub></sub>) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid potato lines. *Theor. Appl. Genet.* **111**, 879-887.
- SONG, Y.S., A. SCHWARZFISCHER, 2008: Development of STS markers for selection of extreme resistance (R<sub>Y<sub>sto</sub></sub>) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars. *Am. J. Pot. Res.* **85**, 159-170.
- SORRI, V.A., K.N. WATANABE, J.P.T. VALKONEN, 1999: Predicted kinase-3a motif of a resistance gene analogue as a unique marker for virus resistance. *Theor. Appl. Genet.* **99**, 164-170.
- STEGEMANN, S., R. BOCK, 2009: Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts. *Science* **324**, 649-651.
- STEINBACH, P., 2009: Beschaffenheitsprüfung Mecklenburg-Vorpommern – Virus an Kartoffeln, Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei (LALLF) Mecklenburg-Vorpommern.
- THIEME, R., E. RAKOSY-TICAN, T. GAVRILENKO, O. ANTONOVA, J. SCHUBERT, M. NACHTIGALL, U. HEIMBACH, T. THIEME, 2008: Novel somatic hybrids (*Solanum tuberosum* L. + *Solanum tarnii*) and their fertile BC1 progenies express extreme resistance to potato virus Y and late blight. *Theor. Appl. Genet.* **116**, 691-700.
- VALKONEN, J.P.T., 1994: Natural genes and mechanisms for resistance to viruses in cultivated wild potato species (*Solanum* spp.). *Plant Breeding* **112**, 1-16.
- VAN DER ZAAG, D.E., 1987: Yield reduction in relation to virus infection. In: DE BOKX, J.A., J.P.H. VAN DER WANT (ed.): Viruses of potatoes and seed-potato production, 2. ed., Wageningen, Pudoc, pp. 146-149.
- VISSER, R.G.F., C.W.B. BACHEM, J.M. DE BOER, G.J. BRYAN, S.K. CHAKRABATI, S. FEINGOLD, R. GROMADKA, R.C.H.J. VAN HAM, S. HUANG, J.M.E. JACOBS, B. KUZNETSOV, P.E. DE MELO, D. MILBOURNE, G. ORJEDA, B. SAGREDO, X. TANG, 2009: Sequencing the potato genome: Outline and first results to come from the elucidation of the sequence of the world's third most important food crop. *Am. J. Pot. Res.* **86**, 417-429.
- WATANABE, K.N., M. ORRILLO, M. IWANAGA, R. ORTIZ, R. FREYRE, S. PEREZ, 1994: Diploid potato germplasm derived from wild and land race genetic resources. *Am. Potato J.* **71**, 599-604.
- WHITWORTH, J.L., R.G. NOVY, D.G. HALL, J.M. CROSSLIN, C.R. BROWN, 2009: Characterization of broad spectrum potato virus Y resistance in a *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*-derived population and select breeding clones using molecular markers, grafting, and field inoculations. *Am. J. Pot. Res.* **86**, 286-296.