

Pflanzen

Pflanzkartoffelbehandlung mit Elektronen

Ruedi Schwärzel, Cung-Linh Lê und Olivier Cazelles¹, Station fédérale de recherches en production végétale de Changins, CH-1260 Nyon

Olaf Röder, Fraunhoferinstitut für Elektronenstrahl- und Plasmatechnik, D-01277 Dresden

Ueli Merz, Institut für Pflanzenwissenschaften, ETH Zürich, CH-8092 Zürich

Auskünfte: Ruedi Schwärzel, e-mail: ruedi.schwaerzel@rac.admin.ch, Fax +41 (0)22 362 13 25, Tel. +41 (0)22 363 47 16

Zusammenfassung

Das Behandeln der Saatknollen mit beschleunigten Elektronen war ungenügend um zwei verschiedene, latent vorkommende Krankheitskeime abzutöten. Sporenballen des Pulverschorfes haben nach der Behandlung nicht an Lebenskraft verloren. Die mit den *Erwinia chrysanthemi* Bakterien infizierten Knollen vor der Elektronenbehandlung zeigten nach der Behandlung keine messbaren Populationsunterschiede auf den Knollen auf.

Die Knollenbehandlung mit niederenergetischen Elektronen von 50 oder 70 Kilovolt und 10 oder 15 Kilogray haben die Keimung der Knollen nicht beeinflusst. Die Pflanzen zeigten keine morphologischen Unterschiede und entwickelten sich völlig normal. Veränderungen waren bei den isoenzymatischen Untersuchungen mit elektrophoretischen Profilen erkennbar (Peroxidasen und Esterasen). Unterschiede der elektrophoretischen Profile waren sowohl in der ersten, als auch in der zweiten Knollengeneration nach der Elektronenbehandlung feststellbar. Die chemische Behandlung wurde nicht auf Auswirkungen auf die Isoenzymatik untersucht.

In den histologischen Schnitten konnten keine Differenzen in der Keimgegend erkannt werden.

Das chemische Beizen von Saatgut ist eine sehr verbreitete Methode um die Ausbreitung von Samenkrankheiten zu unterbinden. Viele Krankheiten befinden sich in latentem Zustand in der Samenschale und können sich schlagartig ausbreiten, sobald die Wachstumsbedingungen für sie ideal sind. Über Jahre waren moderne Beizmittel in osteuropäischen Ländern nicht verfügbar. Saatgut musste mit quecksilberhaltigen Mitteln behandelt werden. Forschungsinstitute haben in osteuropäischen Ländern deshalb andere Methoden entwickelt, um Saatgut zu desinfizieren. So wurde versucht, latente Samenkrankheiten mit Warm-

wasser- oder mit Elektronenbeizung zu bekämpfen.

Seit langem können Nahrungsmittel mit Gammastrahlung oder

hochenergetischen Elektronen bestrahlt und somit haltbar gemacht werden. Dabei durchdringen die Strahlen den Körper und töten den Keimling ab.

Die Technik der Oberflächen-desinfektion von Saatgut geschieht mit niederenergetischen Elektronen, dessen Energie so dosiert werden muss, damit diese nicht bis zum Keimling vordringen kann und dabei diesen beschädigt (Fig. 1). Das Beizen der Samenoberfläche mit beschleunigten Elektronen wurde mit Erfolg im Fraunhoferinstitut (FEP) in Dresden bei Weizen- und verschiedenen Gemüsesamen angewendet (Schiller *et al.*, 1995). Bakterien- und Pilzkrankheiten wie *Xanthomonas* und *Phoma* konnten mit Energiedosen von 5-10 Kilogray erfolgreich auf der Samenoberfläche abgetötet werden. Pilotanlagen (Fig. 2), mit grösseren Behandlungskapazitäten sind er-

Lexikon

Elektronenbehandlung: Aufschlagen in der Epidermis (ca. 30-150µm) mit niederenergetischen Elektronen.

Elektron: Elementarteilchen mit der kleinsten elektrischen Ladung.

Elektrophorese: Untersuchungsmethode basierend auf der unterschiedlichen Fortbewegung von elektrisch geladenen Elementarteilchen unter Anwendung der Isoelektrofokalisation.

Esterase: Enzym das Hydrolysen katalisiert.

Gray: Messeinheit einer aufgenommenen Energiedosis von 1 Joule Energie auf eine Materie von 1 kg.

Histologischer Schnitt: Untersuchung der Zellgewebestruktur.

Morphologie: Studie der Ausprägung.

Peroxydase: Primäre Funktion des Enzyms zur Oxydation der Moleküle auf Kosten der Wasserstoffperoxyde.

¹ Mit der technischen Mithilfe von D. Thomas und Frau Nelly Poget

Fig. 1. Nahrungsmittel können mit Elektronenstrahlen haltbar gemacht werden. Dabei durchdringen die Strahlen den Körper und töten den Keimling ab. Die Oberflächendesinfektion von Saatgut geschieht mit genau dosierten, beschleunigten Elektronen die nur Krankheitskeime auf der Schalenoberfläche abtöten sollten, ohne dabei die Vegetationsspitze von Knollen oder Keimlinge von Samen zu beschädigen.

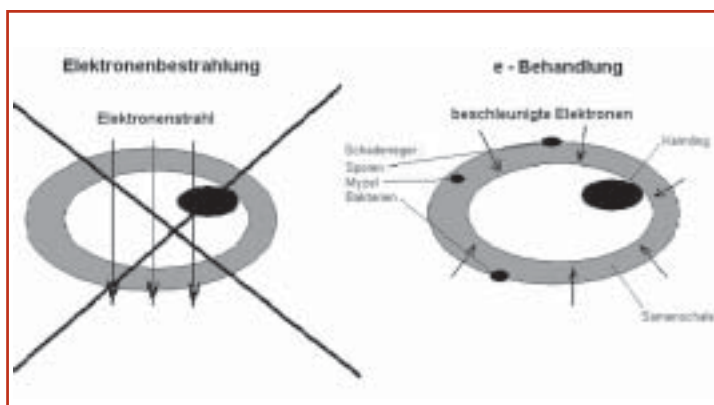


Fig. 2. Forschungs- und Pilotanlage zur Elektronenbehandlung von Saatgut, Getreide- und Gemüsesamen, aber auch unsere Saatkartoffeln wurden mit dieser Anlage gebeizt.

folgreich im Einsatz in Deutschland zur Beizung von Weizen- oder Gemüsesamen.

Die Beizung der Knollenoberfläche könnte im Saatkartoffelbau von grösstem Interesse sein im Einsatz gegen Krankheiten, die chemisch nicht bekämpft werden können. Wir untersuchten speziell die mögliche Bekämpfung von Pulverschorf (*Spongospra subterranea*) und von bakteriellen Krankheiten (*Erwinia chrysanthemi*) durch Behandlung der Epidermis mit beschleunigten Elektronen.

Indessen ist die wichtigste Voraussetzung für eine erfolgreiche Behandlung die absolute Sortenechtheit der Tochterknollen nach der Behandlung. Es dürfen keine genetische Veränderungen eintreten. Die Sortenechtheit wurde mit Hilfe von elektrophoretischen Profilen untersucht (Lê, 1994).

Im Gartenbau oder in der Pflanzenzüchtung werden anders dosierte Bombardierungen mit Elektronen vorgenommen, um beispielsweise neue Blütenfarben zu erzielen (Laneri *et al.*, 1990; Matsubara, 1982) oder Qualitätskriterien zu verändern in Kartoffeln (Kukimura, 1986; El Fiki, 1997).

Behandlung der Pflanzkartoffeln

Kleine Pflanzkartoffelknollen (~20 mm) wurden mit unterschiedlichen Elektronenladungen im Fraunhoferinstitut in Dresden behandelt und dann nach verschiedenen Kriterien untersucht (Tab. 1). Aus jedem Verfahren wurden zwei Knollen elektrophoretisch mit den anderen Verfahren und der Nullbehandlung verglichen; die übrigen Knollen wurden auf dem Feld ausgepflanzt. Beobachtet wurden die Keimung der Knollen, das Auflaufen auf dem Feld, die Regelmässigkeit der Kulturen

Tab. 1. Verschiedene Verfahren und Behandlungsintensitäten in der Elektronenbeizung

Verfahren	Kilovolts	Kilograys
1	Nullbehandlung	Nullbehandlung
2	50	10
3	50	15
4	70	10
5	70	15

Tab. 2. Beobachtete Kriterien nach den Behandlungen

Beobachtung	Methode
Morphologie	Beobachtung der Kulturen und Knollen
Ernte	Ernteerhebung
Sortenechtheit	Elektrophorese
Pulverschorf	Biotest mit Fangpflanzen
<i>Erwinia</i>	ELISA - Test und Amplifikation

sowie die visuelle Sortenechtheit anhand der Stengel, Blätter und Knollen (Tab. 2). Die geernteten Knollen wurden ausgezählt, aussortiert, auf Krankheitspräsenz bonitiert und schliesslich bei 4°C bis zum Frühjahr gelagert. Sämtliche Knollen wurden nochmals ausgepflanzt und alle Untersuchungen wurden auch auf der zweiten Generation wiederholt.

Die elektrophoretischen Bestimmungen wurden in den Labors von Changins durchgeführt. Jedes Verfahren wurde auf die Sortenechtheit anhand von elektrophoretischen Profilen mit der Nullbehandlung verglichen.

Die Feldversuche wurden in Prangins auf einer Meereshöhe von 410 m in leichten Böden (48 - 61 % Sand) durchgeführt. Das Auspflanzen geschah im April, die Krautvernichtung im Juli und die Ernte im August. Die behandelten Saatkartoffeln stammten aus der Vorbasissaatgutproduktion von Changins bzw. aus einer mit Pulverschorf

verseuchten Saatgutparzelle aus dem Emmental im Kanton Bern. Zur Elektronenbehandlung wurden die Knollen ans Fraunhoferinstitut nach Dresden verschickt.

Im ersten Jahr wurden histologische Schnitte in der Keimgegend durchgeführt, um die Gewebestrukturen zwischen den verschiedenen Verfahren zu vergleichen.

Die künstliche Infektion mit *Erwinia chrysanthemi* wurde mit lebenden Bakterienpopulationen von 10⁶ pro ml unter Vakumbedingungen durchgeführt. Die überlebenden Kolonien von *Erwinia* wurden im bakteriologischen Labor von Changins abgeschätzt. Die überlebenden Zoosporangien von Pulverschorf wurden an der Eigenössischen technischen Hochschule von Zürich (ETHZ) mit einem Fangpflanzenbiotest mit Tomaten erfasst (Merz, 1989). Im Übrigen waren die Pflanzkartoffeln frei von Viren und Kraut- und Knollenfäule (*Phytophthora infestans*).

Ausprägungsverhalten und Erträge

Nach niederenergetischen Elektronenbehandlungen konnten wir bei den Kartoffelpflanzen keine Ausprägungsveränderungen gegenüber der Nullbehandlung beobachten. Die Anzahl Keime und deren Entwicklung, die Blätter, die Stengel sowie die geernteten Knollen zeigten keine Unterschiede oder Abweichungen auf, gegenüber den Pflanzen ohne Elektronenbeizung. Die Anzahl Knollen pro Pflanze, die Grösensortierung und die Knollenform waren vergleichbar zwischen allen Verfahren. Es konnte nirgends ein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Histologischer Schnitt

Histologische Schnitte in der Keimgegend wiesen keine Gewebe- oder Zellstrukturveränderungen auf.

Vergleich mit Hilfe der Elektrophorese

Die Profile der verschiedenen Verfahren wurden elektrophoretisch miteinander verglichen. In unseren Untersuchungen konnten elektrophoretische Profilunterschiede sowohl bei den Iso-peroxydasen, als auch bei den Isoesterasen zwischen den verschiedenen Behandlungen und dem Referenzposten festgestellt werden (Fig. 3). Die Bänder befinden sich auf unterschiedlichen Höhen oder fehlen teilweise ganz. Unterschiede konnten in allen drei Versuchsjahren festgestellt werden. Veränderte elektrophoretische Profile konnten auch über zwei im Feld ausgepflanzte Tochtergenerationen weiterverfolgt werden. Auch Schwimmer *et al.* (1958) beobachteten biochemische Veränderungen nach Behandlungen von Kartoffelknollen mit Gammastrahlen.

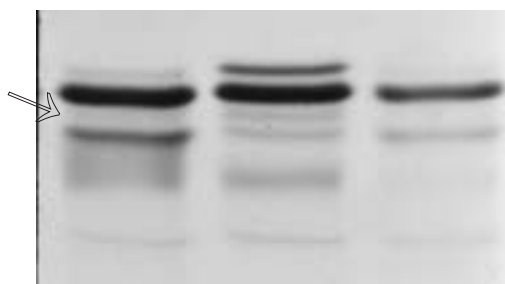
Knollenkrankheiten

Die von Auge sichtbare Knolleninfektion von Pulverschorf

Fig. 3. Elektrophoretische Profile der Isoperoxydasen und Esterasen der Sorten Agria und Urgenta bei unterschiedlichen Elektronenbehandlungen und nichtbehandelten Knollen auf der zweiten darauffolgenden Generation.

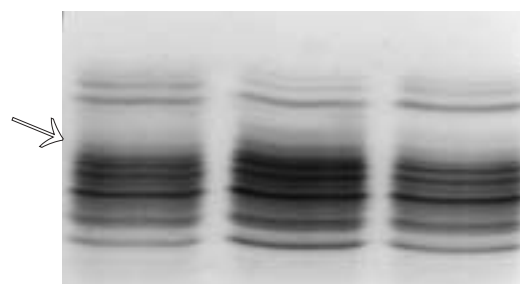
Zweite Generation Agria (F2)

50kV/10kGy Kontrolle 70kV/10kGy



Peroxydase

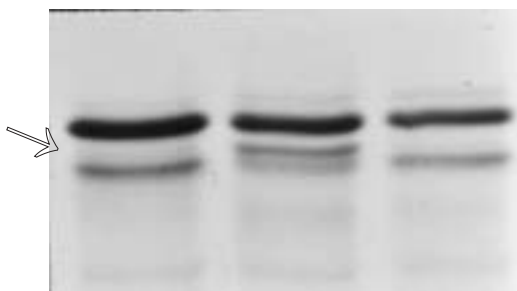
50kV/10kGy Kontrolle 70kV/10kGy



Esterase

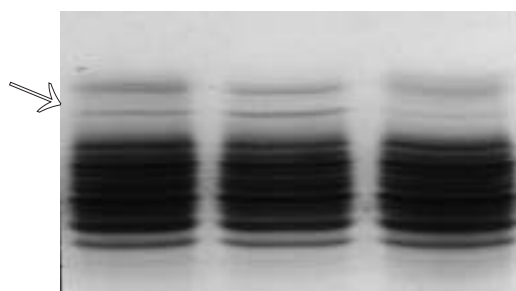
Zweite Generation Urgenta (F2)

50kV/10kGy Kontrolle 70kV/10kGy



Peroxydase

50kV/10kGy Kontrolle 70kV/10kGy



Esterase

oder nachweisbare *Erwinia* Population zum Zeitpunkt der Auspflanzung, konnten bei der Ernte nicht mehr festgestellt werden. Die natürlichen Bedingungen für die Ausbreitung der beiden Krankheiten waren in unseren Feldversuchen leider nicht optimal.

In Laboruntersuchungen konnten, auf der im Freiland gepflanzten Tochtergeneration, keine Befallsunterschiede festgestellt werden zwischen den verschiedenen Verfahren und der Nullbehandlung. Die unter Vakumbedingungen inokulierten *Erwinia chrysanthemi* Bakterien konnten nach der Elektronenbehandlung und der Auspflanzung überall in der gleichen Größenordnung ausgezählt wer-

den. Dabei wurde der ELISA - Test und die künstliche Populationsverstärkung (Amplifikation) für die verschiedenen Verfahren durchgeführt.

Für den Pulverschorfbefall wurden die überlebenden Zoosporangien in einem Biotest auf Tomatenfangpflanzen abgeschätzt. Auch hier konnten wir keine verfahrensbedingte Unterschiede feststellen in der Befallsstärke von Zoosporangien auf den Tomatenwurzeln.

Folgerungen

■ Die Knollenbeizung von Saatkartoffeln mit beschleunigten, niederenergetischen Elektronen hat unter den vorgefundenen Versuchsbedingungen nicht zur erhofften Desinfekti-

on der Epidermis gegen latente Krankheitenerreger wie Pulverschorf oder *Erwinia chrysanthemi* geführt. Bis heute gibt es aber für die Bekämpfung dieser zwei Krankheiten auch keine Lösung mit chemischen Verfahren.

■ Unterschiede im Wachstum, in der Ausprägung der Pflanzen oder beim Ertrag konnten in Feldversuchen nicht beobachtet werden.

■ Die Sortenechtheit der Kartoffeln anhand von elektrophoretischen Untersuchungen zeigten leichte Veränderungen der elektrophoretischen Profile zwischen den verschiedenen Verfahren auch über mehrere Generationen auf.

■ Die Versuche zur Elektronenbehandlung der Kartoffelknollen wurden unter sehr schwierigen Bedingungen angepasst, da die genutzte Anlage zur Beizung von Weizensaatgut ausgelegt ist.

Dank

Wir bedanken uns ganz herzlich bei Herrn Röder und seinen Mitarbeitern vom Fraunhoferinstitut in Dresden für die Durchführung der Elektronenbehandlungen auf den Knollenmustern in den Einrichtungen des Fraunhoferinstitutes.

Literatur

■ El Fiki A.A.M., 1997. Induction of genetic variability by using gamma radiation and selection for salt tolerance in vitro in potato (*S. tuberosum*). *Journal of Genetics and Breedings*, **4**, (51): 309-312.

■ Kukimura H., 1986. Mutation breeding in root and tuber crops. *Gamma field symposia*, **5**, 109-128.

■ Laneri U., Franconi R. and Altavista P., 1990. Somatic mutagenesis of *Gerbera jamesonii* hybrid. Irradiation and *in vitro* culture. *Acta Hort.* **280**, 395-402.

■ Lê C.L., 1994. Apport de l'électrophorèse dans l'identification des variétés de pomme de terre cultivées en Suisse. *Revue suisse Agric.* **26** (6), 373-379.

■ Matsubara H., 1982. Mutation breedings in ornamental plants techniques used for radiation induced mutant in *Begonia*, *Chrysanthemum*, *Aberia* and winter *Daphne*. *Gamma field symposia*, **21**, 55-67.

■ Merz U., 1989. Infectivity, inoculum density and germination of *Spongospora subterranea* resting spores: a solution-culture test system. *Bulletin OEPP* **19**, 585-592.

■ Schiller S., Panzer S., Röder O., 1995. Electron treatment of seeds - A new environmentally beneficial technique. Annual report of the Fraunhoferinstitut für Elektronenstrahl- und Plasmatechnik 39-44.

■ Schwimmer S., Weton W.J., Makower R.U., 1958. Biochemical effects of gamma radiation on potato tubers. *Arch. of Biochem. and Biophysics* **75**, 425-434.

RÉSUMÉ

Désinfection des plants de pommes de terre à l'aide d'électrons

Le traitement des tubercules de pommes de terre par des électrons accélérés n'a pas permis d'éliminer deux pathogènes qui s'y trouvaient à l'état latent et en surface. Les balles de spores dans les pustules de gale poudreuse n'ont pas perdu leur vitalité. Les populations d'*Erwinia chrysanthemi* des tubercules inoculés avant les traitements n'ont pas été réduites de manière significative par les électrons.

Le traitement des tubercules avec des électrons à basse énergie, de 50 ou 70 kilovolts et de 10 ou 15 kilograys, n'a pas perturbé la faculté germinative. Toutes les plantes issues de tubercules traités avaient un aspect morphologique conforme et se sont développées normalement.

Des modifications dans les profils électrophorétiques ont été constatées. Ces différences se sont manifestées sur les systèmes isoenzymatiques (peroxydase et estérase). Ces modifications sont maintenues sur la première et la deuxième génération après le traitement aux électrons.

Des coupes histologiques n'ont pas révélé de différences visibles au niveau de l'apex des germes.

SUMMARY

Pathogen elimination of potato seeds by using electron-treatment

The treatment of the epidermis of potato tubers by using accelerated electron treatment did not allow the elimination of two pathogens under latent or adhesive form found on the skin. Spore bales of powdery scab did not lose their vitality after the treatment. Inoculation of *Erwinia chrysanthemi* populations before electron treatment on the tubers did not show any difference between the control and the electron-treated tubers.

The sprout growth was not affected with a low dose rate using 50 or 70 kilovolt and 10 or 15 kilogray. Plant morphology from treated tubers seemed to be correct and the plant growth was normal as well.

Variations were obtained in electrophoretic patterns of isoenzymatic systems (Peroxidase and Esterase). These modifications were observed in the first and the second generation following the electron-treatment.

No obvious difference was found through histological examination of the sprout area.

Key words: Accelerated electrons, dressing of the tuber skin, electrophoresis, morphology