



Wissenschaftszentrum Straubing
Masterstudiengang Nachwachsende Rohstoffe

Agronomische, phänotypische und genotypische
Charakterisierung der Kartoffelsorte *Schwarzblaue aus
dem Frankenwald*

Masterarbeit am Lehrstuhl für Chemie Biogener Rohstoffe
der Technischen Universität München und
an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft

Freising, November 2011

Verfasser
Erstkorrektor
Zweitkorrektor
Datum der Abgabe

Dipl.-Biol. Robert Bauer
Prof. Dr. Volker Sieber
LOR Adolf Kellermann
30.11.2011

Eidesstattliche Erklärung:

Hiermit versichere ich eidesstattlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen sind, wurden als solche kenntlich gemacht.

Fischach, den 30.11.2011

Name

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	I
TABELLENVERZEICHNIS	III
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
DIAGRAMMVERZEICHNIS.....	VII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	VIII
DANKSAGUNG.....	X
1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2 ALLGEMEINE GESCHICHTE DER KARTOFFEL	5
3 DIE KARTOFFELSORTE <i>SCHWARZBLAUE AUS DEM FRANKENWALD</i>	9
3.1 BEGRIFFSERKLÄRUNG	9
3.2 VERBREITUNGSGEBIET	10
3.3 ANBAU UND LAGERUNG	12
4 VERSUCHSTEIL.....	13
4.1 ANBAUVERSUCHE IM FREILAND.....	13
4.1.1 VERSUCHSSTANDORTE	13
4.1.1.1 VERSUCHSSTANDORT FREISING	13
4.1.1.2 VERSUCHSSTANDORT BEI CARLSGRÜN	16
4.1.2 VERSUCHSANLAGEN	17
4.1.2.1 ANBAUPLÄNE	17
4.1.2.2 WITTERUNGSVERLAUF	19
4.2 PFLANZUNGEN IM GEWÄCHSHAUS DER LfL FREISING.....	21
4.3 SORTENBESCHREIBUNG NACH DER RICHTLINIE VON UPOV	21
4.3.1 EINLEITUNG	21
4.3.2 MATERIAL UND METHODEN	22
4.3.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION	23
4.4 ERTRAG UND QUALITÄTSMERKMALE	28
4.4.1 ERTRÄGE DER ANBAUVERSUCHE	28
4.4.2 SPEISEWERTPRÜFUNG	35
4.4.3 STÄRKEGEHALT	36
4.4.3.1 EINLEITUNG.....	36
4.4.3.2 MATERIAL UND METHODEN.....	36
4.4.3.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	37
4.4.4 ANALYSE LABOR QUALITÄTSKONTROLLE.....	42
4.4.5 AMINOSÄUREZUSAMMENSETZUNG UND PROTEINGEHALT	44

4.4.5.1	EINLEITUNG	44
4.4.5.2	MATERIAL UND METHODEN.....	45
4.4.5.3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	49
4.5	UNTERSUCHUNG AUF VIRENBEFALL UND VORBEREITUNGEN FÜR DIE BEREITSTELLUNG VIRENFREIEN PFLANZGUTS	54
4.5.1	UNTERSUCHUNG AUF VIRENBEFALL.....	54
4.5.1.1	EINLEITUNG	54
4.5.1.2	MATERIAL UND METHODEN.....	55
4.5.1.3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	57
4.5.2	VORBEREITUNGEN FÜR DIE BEREITSTELLUNG VIRENFREIEN PFLANZGUTS	63
4.5.2.1	EINLEITUNG.....	63
4.5.2.2	MATERIAL UND METHODEN.....	64
4.5.2.3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	64
4.6	GENOMANALYSE MIT AFLP	65
4.6.1	EINLEITUNG	65
4.6.2	MATERIAL UND METHODEN	65
4.6.3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	77
4.7	ERFASSUNG DER ESTERASE-, PEROXIDASE- UND PATATIN-MERKMALE MITTELS GELELEKTROPHORESE	89
4.7.1	EINLEITUNG	89
4.7.2	MATERIAL UND METHODEN:	91
4.7.3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION:	94
4.8	ANBAUVERSUCH ZUR RESISTENZ GEGEN KRAUT- UND KNOLLEN-FÄULE ..	96
4.8.1	EINLEITUNG	96
4.8.2	MATERIAL UND METHODEN	96
4.8.3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	97
4.9	ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG AUF BAKTERIELLE RINGFÄULE UND SCHLEIMKRANKHEIT	98
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	99
6	FAZIT.....	100
7	QUELLENVERZEICHNIS.....	102
7.1	LITERATURQUELLEN.....	102
7.2	QUELLEN AUS DEM WORLD WIDE WEB.....	108
8	ANHANG.....	112

TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1:</i> Schlagkartei Versuchsanbau „Feld am Bahngleis“ bei Freising.....	15
<i>Tabelle 2:</i> Schlagkartei Versuchsanbau bei Carlsgrün.....	17
<i>Tabelle 3:</i> Wetterdaten der Messstationen Freising (Oberbayern) und Straas (Oberfranken) im Vergleich (Quelle: Agrarmeteorologie Bayern).....	20
<i>Tabelle 4:</i> Ergebnistabelle der Merkmale der Kartoffelsorte <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i>	23
<i>Tabelle 5:</i> Ergebnis Knollenerträge der Anbauversuche bei Freising und Carlsgrün (jeweils Mittelwert aus vier Wiederholungen).....	28
<i>Tabelle 6:</i> Ergebnis Erträge Anbau „Varietäten“ bei Pulling, <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i> , Herkunft Groß Lüsewitz und Arche Noah	29
<i>Tabelle 7:</i> Ergebnis der Speisewertprüfung, Sorte <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i>	35
<i>Tabelle 8:</i> Mittelwert der Stärkegehalte der Sorte <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald (SBF)</i> und der Vergleichssorten <i>Agria</i> und <i>Jelly</i> in % der Frischmasse.....	38
<i>Tabelle 9:</i> Ergebnisse der polarimetrischen Stärkemessung nach Ewers (1908): Stärkegehalte der Knollen der Ernte 2011	39
<i>Tabelle 10:</i> Ergebnisse der Laboranalyse der Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen der LfL Freising	42
<i>Tabelle 11:</i> Annähernde Zusammensetzung der Knollentrockensubstanz (nach Burton, 1966)	43
<i>Tabelle 12:</i> Durchschnittlicher Gehalt der Kartoffelknolle an den wesentlichen Inhaltsstoffen	43
<i>Tabelle 13:</i> Essentielle Aminosäuren der Kartoffel und anderer pflanzlicher Nahrungsmittel	45
<i>Tabelle 14:</i> Ergebnis der Analyse der Aminosäurezusammensetzung des hitze-koagulierbaren Proteinanteils	49
<i>Tabelle 15:</i> Gegenüberstellung der Ergebnisse der Aminosäurezusammensetzung des hitze-koagulierbaren Proteins der Sorte <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i> und Daten der WHO (1985).....	51
<i>Tabelle 16:</i> Ergebnis der Bestimmung des Proteingehalts der Knollen der Herkunft Fritz Gebelein der Standorte Freising und Carlsgrün.....	53
<i>Tabelle 17:</i> Ergebnis des ELISA-Tests , Anbauversuch bei Freising, 1. Wiederholung.....	59
<i>Tabelle 18:</i> Zusammenfassung der Häufigkeit von Einzel- und Mehrfachinfektionen.....	60
<i>Tabelle 19:</i> Ergebnis der Bonitur des Virenbefalls am Standort bei Freising	62
<i>Tabelle 20:</i> Ergebnis der visuellen Bonitur des Virenbefalls am Standort Carlsgrün	62

<i>Tabelle 21:</i> Untersuchte Kartoffelsorten aus dem Sortiment Groß Lüsewitz mit Schalenfarbe „blau“	66
<i>Tabelle 22:</i> Untersuchte Kartoffelsorten aus dem Sortiment Groß Lüsewitz mit Schalenfarbe "dunkelviolett"	67
<i>Tabelle 23:</i> Untersuchte Kartoffelsorten aus dem Sortiment Arche Noah mit Schalenfarbe "blau"	67
<i>Tabelle 24:</i> Unterschiedliche Herkunft der Sorte <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i> aus der Anbauregion.....	67
<i>Tabelle 25:</i> Pipettierprotokoll Restriktion/Ligation	71
<i>Tabelle 26:</i> Pipettierprotokoll Preamplifikation	72
<i>Tabelle 27:</i> Verwendete Primerkombinationen für die selektive Amplifikation.....	73
<i>Tabelle 28:</i> Basensequenzen der für die AFLP verwendeten Primer	73
<i>Tabelle 29:</i> Pipettierprotokoll Selektive Amplifikation	74
<i>Tabelle 30:</i> Knollenerträge der einzelnen Wiederholungen der Anbauversuche bei Freising und Carlsgrün sowie des Mittelwerts der Parzellen	115
<i>Tabelle 31:</i> über die Methode des Unterwassergewichts bestimmte Stärkegehalte der Sorte <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i> und der Vergleichssorte <i>Agria</i> (% i. d. FM), 2. und 3. Reihe aller Wiederholungen der Standorte Freising und Carlsgrün	116
<i>Tabelle 32:</i> Hamming-Abstände ausgewählter Sorten der AFLP-Analyse, errechnet durch SplitsTree4	121

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1:</i> Luftbild der Ackerfläche des Anbauversuchs „Varietäten“ bei Pulling (Quelle: BayernViewer).....	14
<i>Abbildung 2:</i> Luftaufnahme der Ackerfläche des Anbauversuchs bei Freising (Quelle: BayernViewer).....	16
<i>Abbildung 3:</i> Luftaufnahme der Anbaufläche des Feldversuchs bei Carlsgrün (Quelle: BayernViewer).....	17
<i>Abbildung 4:</i> Plan des Anbauversuchs bei Freising (1: Herkunft Fritz Gebelein; 2: Herkunft Helmut Hornfeck)	18
<i>Abbildung 5:</i> Plan des Anbauversuchs bei Carlsgrün bei Bad Steben	19
<i>Abbildung 6:</i> ca. zehn Wochen alter Lichtkeim der Sorte <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i>	25
<i>Abbildung 7:</i> Blüten der Sorte <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i>	26
<i>Abbildung 8:</i> Knollen der Sorte <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i> der Ernte 2011 (Standort Freising) von Pflanzen der Herkunft Genbank Groß Lüsewitz (Foto: W. Seemann)	26
<i>Abbildung 9:</i> Anbauversuch am Standort bei Freising am 10. Juni 2011	61
<i>Abbildung 10:</i> Darstellung der Daten durch SplitsTree4 unter Verwendung von Neighbor Net(SBF: Schwarzblaue aus dem Frankenwald)	78
<i>Abbildung 11:</i> Darstellung der Daten durch SplitsTree4 unter Verwendung von Neighbor Net und Ausschluss der Exemplare, die keiner Gruppe angehörten	79
<i>Abbildung 12:</i> Darstellung der Daten durch SplitsTree4 unter Verwendung von Neighbor-Net nach Anwendung der Funktion "greedily make compatible"	80
<i>Abbildung 13:</i> Darstellung der Daten durch SplitsTree4 unter Verwendung der Methode Split Decomposition (verändert)	81
<i>Abbildung 14:</i> Gegenüberstellung der Sorten <i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i> , Herkunft Groß Lüsewitz, (links) und <i>Südtiroler 1</i> (rechts) (Fotos: W. Seemann)	85
<i>Abbildung 15:</i> Gegenüberstellung der Sorten <i>Nussige</i> (links oben), <i>Svartpotatis</i> (rechts oben) und <i>Zillertal Blaue</i> (links unten) (Fotos: W. Seemann).....	86
<i>Abbildung 16:</i> Gegenüberstellung der Sorten <i>Danniger Blau</i> (links oben), <i>Skerry Blue</i> (rechts oben) und <i>Weinberger Blaue</i> (links unten) (Fotos: W. Seemann).....	87
<i>Abbildung 17:</i> Gegenüberstellung der Sorten <i>Heidzel Blau</i> (links oben), <i>Mrs. Moerle´s Purple Baker</i> (rechts oben), <i>Prince Edward Island Blue</i> (Mitte links), <i>Shetland Lila</i> (Mitte rechts) und <i>Ungarische Schramayer</i> (links unten) (Fotos: W. Seemann)	88

<i>Abbildung 18:</i> Gegenüberstellung der Sorten <i>Blauwe Eigenheimer</i> (links oben), <i>Purple Skinned Eigenheimer</i> (rechts oben) und <i>Shetland Blau 1</i> (links unten) (Fotos: W. Seemann)	89
<i>Abbildung 19:</i> Darstellung der vereinten Chromatogramme der Analyse der Aminosäurezusammensetzung mittels RP-HPLC (Ausschnitt)	117
<i>Abbildung 20:</i> Beispiel für ein PA-Gel nach Trennung der DNA-Fragmente nach der selektiven Amplifikation, Primerkombination S12/M34.....	118
<i>Abbildung 21:</i> Gel Esterasen	119
<i>Abbildung 22:</i> Gel Patatine	119
<i>Abbildung 23:</i> Gel Peroxidasen	120

DIAGRAMMVERZEICHNIS

Diagramm 1: Verlauf des Blattbefalls der Sorten Schwarzblaue aus dem Frankenwald, Jelly und Princess im Anbauversuch Kraut- und Knollenfäule bei Schrobenhausen97

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
AFLP	amplified fraction length polymorphism
APS	Ammoniumpersulfat
BSA	Bundessortenamt
bzw.	beziehungsweise
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
°C	Grad Celsius
ca.	circa
cm	Zentimeter
DAS-ELISA	double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay
DMAPN	3-Dimethylaminoproionsäurenitril
DNA	desoxiribonucleic acid (deutsch: Desoxyribonukleinsäure)
dNTP	Desoxyribonucleosid-tri-phosphat
dt	Dezitonne bzw. 100 kg
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
i.d. FM	in der Frischmasse
g	Gramm
ha	Hektar
H ₂ O	Wasser
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
kg	Kilogramm
l	Liter
LfL	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
µl	Mikroliter
µM	mikro-Molarität
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid

M	Molarität
Mio	Millionen
ml	Milliliter
mm	Millimeter
m ²	Quadratmeter
NN	Normalnull
OPA	ortho-Phtaldialdehyd
PA	Polyacrylamid
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PCR	poly chain reaction, Methode zur Amplifikation von DNA
RP-HPLC	Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography
rpm	revolutions per minute (deutsch: Umdrehungen pro Minute), Einheit für die Drehzahl
sog.	sogenannt(e, r, s)
t	Tonnen
Tab.	Tabelle
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
TS	Trockensubstanz
u.a.	unter anderem
U/min	Umdrehungen pro Minute
UPOV	Union internationale pour la protection des obtentions végétales (deutsch: Internationaler Verband zum Schutz von Pflanzenzüchtungen)
v.a.	vor allem
z.B.	zum Beispiel

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Adolf Kellermann, der mir zu jeder Zeit als geduldiger Zuhörer und hilfsbereiter Ratgeber an der LfL Freising zur Seite stand und meine Arbeit erst möglich gemacht hat.

Ich möchte mich an dieser Stelle ebenfalls sehr herzlich bei Herrn Georg Lang bedanken für die Bereitstellung des interessanten Themas und seine Hilfe, wenn immer ich in Carlsgrün war. Durch sein fundiertes Wissen erhielt ich äußerst informative Einblicke in die Geschichte der Kartoffel und der Region Frankenwald.

Mein Dank gilt ebenso Herrn Fritz Gebelein für die Bereitstellung des Pflanzguts und der Ackerfläche für den Anbauversuch in Carlsgrün sowie die freundliche Aufnahme in seinem Gasthaus in Carlsgrün.

Ganz besonderen Dank möchte ich aussprechen allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der LfL Freising, insbesondere der Arbeitsgruppe von Frau Dr. Andrea Schwarzfischer, Frau Maria Frank und Frau Renate Enders. Ebenso bedanke ich mich herzlich für die Unterstützung, die ich von Frau Ursula Scheuerer und Frau Edelgard Wiechmann, Frau Sanja Erhardt, Frau Annemarie Muñoz und Frau Adele Varga, Herrn Johann Hörmann, Herrn Andreas Maier und Herrn Peter Gandorfer bekommen habe.

Mein Dank geht ebenfalls an Frau Dr. Karen Sieber für ihre Beratung und die Bereitstellung ihres Fachwissens zum Thema Genomanalyse.

Bei Frau Anja Philipp und Herrn Broder Rühmann möchte mich herzlich bedanken für die Betreuung meiner Arbeit am Wissenschaftszentrum Straubing.

1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Die Vielfalt der in der Landwirtschaft, aber auch im Garten-, Obst- und Weinbau genutzten Pflanzen hat sich im letzten Jahrhundert nicht nur in Deutschland, sondern auch weltweit erheblich, um nicht zu sagen dramatisch, verringert. Durch die Veränderungen in Landwirtschaft, Gartenbau und der Saatgutvermehrung sind nach Schätzungen der FAO im Zeitraum zwischen 1900 und 2000 75 % aller Kulturpflanzensorten verloren gegangen (FAO, 1996). Laut Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung sind global heute nur noch wenige Nutzpflanzenarten wirtschaftlich von Bedeutung, zudem ist die innerartliche Vielfalt bei den Nutzpflanzenarten, also die Sortenvielfalt, oft ebenfalls rückläufig.

„Die Zahl der Pflanzen mit einer Bedeutung für die menschliche Ernährung ist im Verhältnis zu den weltweit vorkommenden pflanzengenetischen Ressourcen verschwindend gering.“ (Meyer, 2004). Es wird davon ausgegangen, dass auf der Erde ca. 500.000 Pflanzenarten existieren, von denen 250.000 bis 300.000 identifiziert und beschrieben wurden (FAO 2001, zit. n. Mayr, 1976; Heywood, 1995). Etwa 30.000 sind essbar (FAO 2001, zit. n. Wilson 1992). Es wird geschätzt, dass von diesen Pflanzenarten 7.000 im Laufe der Menschheitsgeschichte gesammelt oder kultiviert wurden (Wilson, 1992). Trotz dieser potenziell enormen Vielfalt hat sich die Situation in der Gegenwart geändert: „Waren es früher mehrere tausend Nutzpflanzen, von denen die Menschen sich ernährten und kleideten, sind es heute noch rund 150, mancherorts sogar nur 12.“ (GTZ, 2004). „30...Pflanzenarten machen heute 95% der pflanzlichen Nahrungsmittel aus, wobei letztlich ganze zehn Arten die Basis für die gesamte Welternährung bilden. An der Spitze stehen dabei Weizen, Reis und Mais, die mehr als die Hälfte des weltweiten Energiebedarfes decken.“ (Meyer 2004, zit. n. UBA 2002)

Diese Entwicklung ist auch in Deutschland zu beobachten: „Die deutsche Landwirtschaft nutzt ackerbaulich insgesamt etwa 25 Marktfrucht- und 35 Futterpflanzenarten. Im Gartenbau werden weitere 70 Gemüse-, 30 Obst- und 70 Heil- und Gewürzpflanzenarten angebaut...Die Ackerfläche wird jedoch zu rund 75 Prozent von nur fünf Fruchtarten – Weizen, Gerste, Mais, Raps, Roggen – dominiert. Im Handel sind vorwiegend moderne Zuchtsorten. Landsorten sind mit Ausnahme des Obstes, einiger Gemüse- und Getreidearten kaum mehr vorhanden“ (BMELV, 2002).

In der Landwirtschaft werden vorwiegend auf Hohertrag gezüchtete Nutzpflanzen und -tiere verwendet. „Oft sind diese Hochleistungsvarianten anfälliger für unkontrollierbare Umwelteinflüsse oder fallen neuen Krankheiten zum Opfer. So muss die Züchtung immer

wieder auf die genetischen Ressourcen alter Landsorten zurückgreifen, um die Leistungsfähigkeit einer Art zu erhalten. Die Beschränkung auf wenige Sorten sowohl bei den Nutzpflanzen als auch bei den Nutztieren führt dazu, dass viele alte Formen verschwinden, die sehr widerstandsfähig und gut an die regionalen Verhältnisse angepasst sind.“ (Strasser/Schmid)

Inzwischen werden Maßnahmen zur Erhaltung und Unterstützung der nachhaltigen Nutzung pflanzengenetischer Ressourcen ergriffen, wie z.B. die Herausgabe der Roten Liste gefährdeter Nutzpflanzen in Deutschland durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung.

Des Weiteren konnte durch intensives Sammeln alter und gefährdeter Nutzpflanzen eine beachtliche Zahl von Sorten zusammengetragen und vor dem endgültigen Verschwinden gerettet werden. Zur ihrer Erhaltung muss darüber hinaus die Vielzahl an Sorten angebaut, gepflegt, Saat- und Pflanzgut gewonnen und verbreitet werden. Es ist in jüngster Vergangenheit gelungen, bei gewissen Gemüsearten und – sorten auch breitere Kreise der Verbraucher für traditionelle Kulturpflanzen zu begeistern. (Streiff)

Die Rolle von Slow Food:

Die Organisation Slow Food ist laut Wikipedia eine ursprünglich aus Italien stammende und mittlerweile internationale Bewegung mit dem Ziel, die regionale Küche mit heimischen pflanzlichen und tierischen Produkten und deren lokale Produktion zu erhalten. Sie ist zu verstehen als eine Gegenbewegung zum zunehmend beliebten uniformen und globalisierten Fast Food, bei dem der Genuss eine untergeordnete Rolle spielt. Slow Food steht in diesem Zusammenhang für Produkte mit authentischem Charakter (regional, saisonal), die auf traditionelle oder ursprüngliche Weise hergestellt und genossen werden. Lebensmittel, die nach Slow-Food-Kriterien angebaut, produziert, verkauft oder verzehrt werden, sollen regionale Wirtschaftskreisläufe stärken und Menschen wieder an ihre Region binden.

Die „Arche des Geschmacks“ ist ein internationales Projekt von Slow Food und ein eingetragenes Warenzeichen. Es wurde 1996 zur Erhaltung der Biodiversität von der Slow Food Stiftung für biologische Vielfalt gegründet und schützt weltweit fast 1.000 lokal oder regional wertvolle Lebensmittel, Nutztierarten und Kulturpflanzen, die sogenannten Passagiere der Arche, die unter den gegenwärtigen ökonomischen Bedingungen am Markt nicht bestehen oder "aus der Mode gekommen sind", vor dem Vergessen, indem sie in die „Arche des Geschmacks“ aufgenommen werden. „Mit dem Wissen, dass biologische Vielfalt regionale Wurzeln besitzt, bewahrt die Arche des Geschmacks das kulinarische Erbe der Regionen, das vom Aussterben bedroht ist. In Deutschland sind es aktuell rund 30

Passagiere. Schwerpunkt ist das aktive Sammeln, Beschreiben und Katalogisieren der Passagiere“ (Slow Food). Die Bestrebungen, weitere bedrohte Lebensmittel in die Arche aufzunehmen, halten unvermindert an. Um jedoch als Passagier ausgewiesen zu werden, bedarf es einer umfassenden Dokumentation, über deren Ergebnis dann ein Gremium entscheiden muss. Derzeit in der Dokumentationsphase befindet sich als Arche-Kandidat in der Kategorie Gemüse die Kartoffelsorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*. (Jendrysek, 2010).

Ähnlich wie bei der Kartoffelsorte *Bamberger Hörnla*, die vor einigen Jahren Thema einer Diplomarbeit war und bereits Passagier des Projekts „Arche des Geschmacks“ ist (Liebl, 2008), soll die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* als Folge eines größeren Bekanntheitsgrads durch erhöhte Nachfrage wieder auf regionalen Märkten Fuß fassen und damit auch wieder verstärkt angebaut werden. Außerdem ist eine Anmeldung der Sorte als Erhaltungssorte beim Bundessortenamt geplant.

Des Weiteren befindet sich die Kartoffelsorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* auf der oben erwähnten Roten Liste der gefährdeten einheimischen Nutzpflanzen in Deutschland der deutschen Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung. Die Rote Liste umfasst alle Artengruppen von einheimischen Nutzpflanzen und deren Sorten, Landsorten und Varietäten, die in Deutschland an lokale Bedingungen angepasst und von Bedeutung waren. Damit wird auch ein Auftrag aus dem Nationalen Fachprogramm zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung pflanzengenetischer Ressourcen landwirtschaftlicher und gartenbaulicher Kulturpflanzen umgesetzt.

Ziele der Arbeit:

Mit dieser Arbeit sollte zum einen eine möglichst genaue Beschreibung der Kartoffelsorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* vorgelegt werden. Darüber hinaus wurde im Rahmen von Anbauversuchen an verschiedenen Standorten der Knollenertrag unter verschiedenen Anbaubedingungen festgestellt. Es wurden außerdem zur näheren Charakterisierung der Sorte diverse Analysen hinsichtlich der Bestimmung des Stärke- und Proteingehalts der geernteten Knollen und der Aminosäurezusammensetzung sowie der Versuch der Bestimmung des sortenspezifischen Proteinmusters durch Gelelektrophorese durchgeführt. Außerdem sollte mittels AFLP-Analyse die Frage geklärt werden, welche Verwandtschaftsverhältnisse vorliegen, und zwar zum einen innerhalb der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* bei Knollen verschiedener Herkunft, zum zweiten zwischen der untersuchten Sorte und anderen Kartoffelsorten mit ähnlichen Merkmalen.

Dazu wurde von Kartoffel-Genbanken Probenmaterial in Form von Knollen erworben und angebaut. Eine weitere Zielsetzung war die Testung des Materials auf Virenbefall mittels ELISA, da Hinweise auf einen solchen vorlagen. Es folgte als Konsequenz der Versuch der Bereitstellung virenfreien Materials, um den Landwirten in der Region Frankenwald gesundes Pflanzgut der alten Sorte für den zukünftigen Anbau bereitzustellen und diesen damit wirtschaftlich wieder interessant zu machen.

2 ALLGEMEINE GESCHICHTE DER KARTOFFEL

Die Kulturpflanze Kartoffel zählt zu den knollentragenden *Solanum*-Arten, deren natürliches Verbreitungsgebiet sich von den Anden Südamerikas über Mittelamerika bis zum Südwesten der USA erstreckt. Dieses weite geographische Verbreitungsgebiet spiegelt sich wieder in einer großen Spannbreite von unterschiedlichen Ökosystemen, an die sie sich erfolgreich angepasst haben. Einige Arten ertragen Temperaturen unter 0°C, wieder andere kommen mit heißen, trockenen, halbwüstenartigen Bedingungen zurecht. *Solanum*-Arten sind häufig in Gebirgen und Hochebenen in Höhen bis zu 4500 Meter und höher anzutreffen, aber bis auf tropische Tiefland-Regenwälder sind Vertreter der Gattung in fast alle natürlichen, aber auch vom Menschen geschaffenen Habitats vorgedrungen. So ist als kuriosestes Beispiel die Art *S. morelliforme* als Epiphyt auf den moosigen Zweigen von Eichen zu finden (Hawkes, 1990).

Von keiner anderen in Kultur genommenen Pflanze existieren so viele verwandte Wildarten, wodurch sich eine hohe biologische Diversität ergibt. Ca. 235 Arten sind bekannt, von denen sich nach Hawkes (1990) sieben in Kultur befinden, während Ames und Spooner (2008; zit. n. Huamán und Spooner, 2002) von bis zu acht Kulturarten sprechen. Nach Hijmans und Spooner (2001) existieren neben diesen 199 verwandte wilde knollentragende Arten. Von den Kulturarten nimmt die Art *Solanum tuberosum ssp. tuberosum*, aus der unsere Kartoffelsorten hervorgegangen sind, eine züchterische Sonderstellung ein (Lorey, 2008).

Die Kartoffel als Kulturpflanze südamerikanischer Ureinwohner blickt auf eine etwa 10.000 Jahre alte Geschichte zurück, von deren Wichtigkeit als Lebensgrundlage für die auf den Hochebenen siedelnden Indianer zahlreiche Grabbeigaben und Kunstwerke zeugen (Lorey, 2008). Die ersten essbaren Kartoffeln stammen aus dem Hochland von Peru, wo einzelne alkaloidfreie Mutanten unter den wildwachsenden Kartoffelarten entdeckt und als Nahrungspflanzen kultiviert wurden. Die ersten Kulturkartoffeln waren wie die meisten Wildarten diploid; für die Entstehung der heutigen Kartoffel war das spontane Auftreten von tetraploiden Arten von Bedeutung, die in ihrer Leistung überlegen waren. Fast alle heute angebauten Kartoffelarten und -sorten sind tetraploid (Becker, 1993).

Die Frage nach der Herkunft der ersten Exemplare der Kulturpflanze Kartoffel, und wie sie ihren Weg nach Europa fanden, war und ist Gegenstand wissenschaftlicher Forschung. Es sprechen einige Argumente dafür, dass die ersten Kartoffeln, die in die alte Welt gelangten, aus den nördlichen Ausläufern der Andenkordillere stammten und von den karibischen Häfen Cartagena de las Indias und Santa Marta aus nach Europa verschifft wurden. So beobachtete der Spanier Castellano, ein Teilnehmer einer Expedition von Gonzales Jimenez

de Quesada nach Bogota im damaligen Nueva Granada im Sommer 1537 bei Sorocota (heutiges Kolumbien) häufige Anpflanzungen von „Trüffeln“ (= Kartoffeln) und berichtete, dass die entscheidende Grundnahrung der Indianer aus Kartoffeln und Mais bestünde.

Fest steht, dass es ausschließlich Kulturformen und keine wilden *Solanum*-Arten waren, die im 16. und 17. Jahrhundert von Amerika nach Europa gelangten. Damit lag den beschreibenden Botanikern des 16. Jahrhunderts für ihre Erstbeschreibungen von *Solanum tuberosum* ein indianisches Züchtungsprodukt in Form eines polyploiden Cultigens zugrunde, ein außergewöhnlicher Fall, der sich vermutlich nur noch bei der Banane wiederholt hat (Brücher, 1974).

Das genaue Datum der Ankunft der Pflanze in Europa ist unbekannt. Die Einfuhr der Kartoffel nach Europa erfolgte mindestens zweimal unabhängig voneinander, um 1570 nach Spanien und um 1590 nach England (Becker, 1993). Zum ersten Mal erwähnt wird die Kartoffel im Jahr 1573 im Einkaufsbuch des Hospitals von Sevilla in Spanien. Ihren Weg nach Deutschland fanden Knollen erstmals durch den Botaniker Carolus Clusius, den Vorsteher der kaiserlichen Gärten in Wien, der sie 1589 nach Frankfurt am Main brachte, wo die Kartoffel zunächst als exotische Zierpflanze bestaunt wurde. Der entscheidende Anstoß zum Anbau als Nahrungsmittel kam über 100 Jahre später durch deutsche Kriegssöldner und Wanderarbeiter, die die Kartoffel in England und den Niederlanden als Feldfrucht kennengelernt hatten und sie nach Deutschland brachten, wo sie zuerst in Sachsen und der Pfalz eine neue Heimat fand. Der früheste bekannte feldmäßige Anbau der Kartoffel in Deutschland erfolgte nach bisherigem Kenntnisstand bei Pilgramsreuth in Oberfranken, im heutigen Landkreis Hof, vermutlich noch vor dem Jahr 1647, belegt durch Zeugenaussagen vor dem damaligen Hofer Landrichter. Für das Jahr 1694 liegt ein Anbauverzeichnis für Pilgramsreuth vor, das von einem Jahresertrag von 1300 Zentnern zeugt (Wirsing). Die Entwicklung des Kartoffelanbaus in Deutschland vollzog sich langsam und regional sehr unterschiedlich. Die Ausbreitung des Anbaus erfolgte am schnellsten in Gegenden mit ungünstigen Klima- und Bodenbedingungen und vorherrschenden landwirtschaftlichen Klein- und Kleinstbetrieben, Voraussetzungen, die z.B. in Süddeutschland vor allem in den Mittelgebirgsregionen Fichtelgebirge, Frankenwald, Oberpfälzer Wald, Spessart und Rhön zu finden waren (Kilian, 1988).

Der Kartoffelanbau nahm im Laufe des 19. Jahrhunderts kontinuierlich zu. Agrarstatistische Erhebungen zeigen ein Anwachsen der Anbaufläche in Bayern von ca. 5% der Ackerfläche um 1840 auf ca. 13% bis zum Ende des Jahrhunderts (Kilian, 1988).

Seit Beginn des 20. Jahrhunderts nimmt der durchschnittliche Kartoffelkonsum, der in Deutschland 1900/1904 einen Spitzenwert von 285,9 kg je Kopf/Jahr erreicht hatte, aufgrund sich verändernder Ernährungsgewohnheiten stetig ab, lediglich der Verbrauch an gewerblichen Kartoffelveredelungsprodukten befindet sich stark im Steigen. Diese Entwicklung spiegelt sich wieder in den vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz Anfang Oktober 2010 veröffentlichten Zahlen. So ist die Anbaufläche von Kartoffeln in Deutschland im Jahr 2010 im Vergleich zu 2009 von knapp 264.000 ha um 3,2% auf nunmehr 255.000 ha gefallen. Im Jahr 2007 betrug die Anbaufläche bundesweit noch knapp 275.000 ha. In Bayern war mit 4% ein ähnlicher Rückgang auf knapp 44.000 ha zu beobachten. Die Erntemenge von Kartoffeln betrug 2010 nach der Ernteberichterstattung des Bundes 9,5 Mio. Tonnen, was einem Rückgang um 18,7% im Vergleich zum Vorjahr entspricht, neben der moderaten Einschränkung der Anbauflächen hauptsächlich bedingt durch die Witterung (BMELV, 2010).

Nach Angaben der Welternährungsorganisation FAO betrug die weltweite Kartoffelanbaufläche im Jahr 2005 rund 19,3 Mio Hektar, die Erntemenge wurde mit ca. 325 Mio Tonnen angegeben. Im Jahr 2009 wurden weltweit ca. 330 Mio Tonnen auf einer Gesamtfläche von 18,7 Mio ha produziert. Dabei lag der Schwerpunkt der Kartoffelerzeugung im selben Jahr in Asien und Europa mit je 9 Mio bzw. 6,3 Mio ha (FAOSTAT Agriculture). Der Anteil der Anbaufläche in der EU-25 lag 2009 bei rund 1,8 Mio ha (vorläufiger Wert, Daten für EU-27 nicht vorhanden). Von den 25 Staaten war Polen mit rund 490.000 ha flächenmäßig das bedeutendste kartoffelerzeugende Land. Insgesamt wurde der Kartoffelanbau in der EU-25 gegenüber dem Vorjahr um rund 39.000 ha eingeschränkt (eurostat).

Die Kartoffel lässt sich auf vielfältigste Weise nutzen. Sie findet Verwendung als „unveredeltes“ Nahrungsmittel, z.B. in Form von Pellkartoffeln, Salzkartoffeln, Kartoffelbrei und Kartoffelsalat oder zur Herstellung von Kartoffelerzeugnissen wie Knödelmehl, Püree-Pulver, Pommes Frites, Reibekuchen und Kartoffelchips. Als hochwertiges, energiereiches Tierfutter wird sie ebenso geschätzt wie im Nicht-Lebensmittelbereich als Industriekartoffeln zur Stärkeproduktion, Brennereikartoffeln und Pflanzkartoffeln.

Trotz des Rückgangs der Anbauflächen wird der Kartoffel nach wie vor eine entscheidende Rolle für die Welternährung und die Ernährungssicherheit zugeschrieben. Aus diesem Grund war die Entschlüsselung des Kartoffelgenoms Ziel von Forschern aus knapp 30 Forschungseinrichtungen weltweit, um dieses als neue Ressource der Züchtung bereitzustellen. Laut einer Veröffentlichung in der Zeitschrift Nature im Juli 2011 konnten 86% des Genoms sequenziert werden (The Potato Genome Sequencing Consortium). Mit

dieser Information können Anbaueigenschaften wie Ertrag, Trockentoleranz und Krankheitsresistenz verbessert werden, wobei gerade die Trockentoleranz angesichts des fortschreitenden Klimawandels ein immer wichtigerer Aspekt wird.

3 DIE KARTOFFELSORTE *SCHWARZBLAUE AUS DEM FRANKENWALD*

3.1 BEGRIFFSERKLÄRUNG

Die von verschiedenen Stellen und in der vorliegenden Arbeit verwendete Bezeichnung „*Schwarzblaue aus dem Frankenwald*“ für die hier untersuchte Kartoffel ist kein Sortenname im heutigen Sinne (siehe dazu die Definition nach Encke (1984) im selben Abschnitt weiter unten). Oft geben Sammler bei entsprechenden Neuerwerbungen den Kartoffeln Namen, die die Schalenfarbe der Knollen und den Ort der Herkunft beschreiben (Heidi Lorey, Korrespondenz).

Bei der *Schwarzblauen aus dem Frankenwald* dürfte es sich um eine alte Landsorte handeln. Für den Begriff „Landsorte“ gibt es viele verschiedene Definitionen, von denen die meisten nicht die Reproduktionsbiologie (bzw. Zuchtmethodik) der jeweiligen, betrachteten Art berücksichtigen (Zeven, 1998). Laut Wikipedia ist eine „Landsorte“ allgemein ein „genetisch uneinheitlicher Formenkreis einer Kulturpflanzenart ..., der sich in der Regel aus mehreren morphologisch oder physiologisch voneinander abweichenden Typen zusammensetzt. Landsorten sind im Gegensatz zu Hochleistungssorten meist weniger ertragreich. Sie sind durch langandauernde, natürliche Selektion in einem bestimmten, meist eng umrissenen Gebiet entstanden und aus diesem Grund an die ökologischen Bedingungen in diesem sehr gut angepasst. Die Erhaltung der genetischen Eigenschaften von Landsorten liegt auch im Interesse von Pflanzenzüchtern, da bestimmte Gene in Hochleistungssorten eingekreuzt werden können. Trotzdem sind Landsorten vielfach durch moderne Hochleistungssorten in ihrem Bestand bedroht, weshalb sie teilweise in Genbanken konserviert werden.“

Nach Meyer (2004) „dürften ältere Landsorten in den seltensten Fällen heute noch dem modernen Sortenbegriff gerecht werden, da dieser ein überaus hohes Maß an Beständigkeit sowie damit verbunden eine eindeutige Beschreibbarkeit anhand phänotypisch klar abgrenzbarer Merkmale beinhaltet.“ Es wird in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen, dass „in der Literatur... häufig anstelle von „Landsorten“ auch von „Landrassen“ gesprochen [wird], was den ihnen eigenen Charakter einer genetisch und phänotypisch raschen Anpassungsfähigkeit eher gerecht wird.“

Als „moderner Sortenbegriff“ wird der Terminus "cultivar (cv.)" genannt, der nach internationaler Vereinbarung (bzw. nach Encke, 1984) einen Bestand kultivierter Pflanzen

bezeichnet, die sich durch bedeutsame Eigenschaften (morphologische, physiologische, cytologische, biochemische u.a.) deutlich auszeichnet und bei geschlechtlicher oder ungeschlechtlicher Fortpflanzung seine sortentypische Merkmale beibehält". Verbunden mit dieser Definition ist letztlich die Beschreibbarkeit und Identifizierbarkeit einer Sorte als wichtige Voraussetzung zur ökonomischen Verwertung züchterischer Leistungen.

Ein weiter gefasster Begriff als in der Sortenschutzgesetzgebung, der auch z.B. Landsorten umfasst, wird von Becker et al. (2002) verwendet, die Sorten als Kulturpflanzenbestände bezeichnen, die durch gewisse Gemeinsamkeiten beschreibbar und dadurch voneinander unterscheidbar sind.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, ist die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* aufgeführt in der Roten Liste der gefährdeten einheimischen Nutzpflanzen in Deutschland vom Juni 2010, die von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung jährlich herausgegeben wird. Diese Liste enthält vor allem deutsche Sorten, inklusive Neuzüchtungen und Sorten, die einen soziokulturellen, lokalen oder historischen Bezug zu Deutschland haben, wobei Sorten mit bestehendem Sortenschutz ausgeschlossen wurden. Es besteht im Rahmen der Gemeinschaftsaufgabe "Verbesserung der Agrarstruktur und des Küstenschutzes" (GAK) der Fördergrundsatz „Erhaltung genetischer Ressourcen in der Landwirtschaft“. Die Auswahl der unter diesem Grundsatz förderfähigen Nutzpflanzen erfolgt durch die zuständigen Länderbehörden, auf Basis von Empfehlungen des Beratungs- und Koordinierungsausschusses (BEKO) des Fachprogramms zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung pflanzengenetischer Ressourcen landwirtschaftlicher und gartenbaulicher Kulturpflanzen. Sie steht somit auf der Liste der vom Aussterben bedrohten Kartoffelsorten.

3.2 VERBREITUNGSGEBIET

Im Zusammenhang mit der Ermittlung des damaligen und heutigen Verbreitungsgebiets der Sorte und für eine Gebietsabgrenzung ist eine Definition des Begriffs "Frankenwald" hilfreich. Der Frankenwald ist nach der Definition von Wikipedia ein "925 km² großes Mittelgebirge im Nordosten Frankens in Bayern und zudem mit kleinen Teilen in Thüringen. Er liegt zwischen dem Thüringer Schiefergebirge im Nordwesten, dem Hofer Land (Bayerisches Vogtland) im Osten, dem Fichtelgebirge im Südosten und dem Obermainland im Süden. Naturräumlich ist der Frankenwald Teil des Thüringer Schiefergebirges. Orte, die das Gebiet umgrenzen, sind Kronach im Südwesten, Ludwigsstadt im Norden und Kulmbach im Süden."

Nach Angaben eines Landwirts in der Region beschränkt sich das Anbauggebiet der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* zurzeit auf wenige Ortschaften um den oberfränkischen Markt Bad Steben im Landkreis Hof. 2011 wurde ein landwirtschaftlicher Anbau in der Umgebung von Bad Steben nur von zwei Landwirten der Ortschaft Carlsgrün betrieben. Der Bekanntheitsgrad der Sorte erstreckt sich aber über ein größeres Gebiet. Gespräche zwischen Herrn Georg Lang von Slow Food und Bewohnern der Region Frankenwald ergaben, dass die Kartoffelsorte im nordöstlichen Landkreis Kronach um Nordhalben und Tschirn bekannt ist und in den Ortschaften Effelter und Lahm südlich von Tschirn von einigen Bauern für den Eigenbedarf noch angebaut wird. In der südthüringischen Nachbarschaft um Bad Lobenstein und Wurzbach ist sie unter dem Namen "Blaue" ebenfalls bekannt.

„Einen Anbau von Kartoffeln für den Markt gibt es im Thüringisch-Fränkischen Schiefergebirge offensichtlich nicht mehr. Ein Grund ist die Verdrängung der Kartoffel als Viehfutter durch Getreide, das mit weniger Aufwand angebaut werden kann, und Mais für die Biogasanlagen. Kartoffeln werden im fränkischen Teil der Gegend nur noch von Bauern auf den "Feldern direkt hinter dem Haus" am Ortsrand angebaut für den Eigenbedarf und für Freunde und Bekannte“ (Georg Lang, Korrespondenz).

Zur genaueren Ermittlung des ehemaligen und aktuellen Verbreitungsgebiets der Kartoffelsorte wurden in der regionalen Presse, genauer in den Ausgaben der oberfränkischen Verlagsgruppe Frankenpost (verkaufte Auflage von knapp 62.000 Exemplaren) mittels eines Artikels, der auch online gestellt wurde (Singer, 2011), die Leser aufgerufen, Angaben über das Verbreitungsgebiet und den Bekanntheitsgrad der Sorte zu machen. Die Resonanz auf den Artikel war allerdings sehr verhalten und es konnten keine weiteren Informationen gewonnen werden.

Angebaut wird sie also nach jetzigem Kenntnisstand nur noch von wenigen Landwirten, fast ausschließlich für den Eigenverzehr und in geringem Umfang zum Verkauf ab Hof. Daneben erfolgt ein Anbau durch eine unbekannte Anzahl von Hobbygärtnern. Als Ursachen für den Rückgang des Anbaus wurden zum einen die Aufgabe landwirtschaftlicher Betriebe in der Region Oberfranken allgemein und des Kartoffelanbaus speziell in der Region genannt. So verzeichnet das Bayerische Landesamt für Statistik und Datenverarbeitung in seinem Bericht „Statistik kommunal 2010“ in Oberfranken einen Rückgang der landwirtschaftlichen Betriebe mit einer landwirtschaftlich genutzten Fläche von 2 ha oder mehr von 25.124 im Jahr 1979 auf 10.923 im Jahr 2007 und der für den Kartoffelanbau genutzten landwirtschaftlichen Fläche von 2.431 ha im Jahr 1999 auf 1274 ha im Jahr 2007 (BayLfStaD, 2011). Gründe für den rückläufigen Anbau der Kartoffel dürften zum einen die geringe Konkurrenzfähigkeit im

Vergleich zu anderen Anbaugebieten, zum anderen der bereits erwähnte Verlust der Bedeutung als Viehfutter sein.

Darüber hinaus weist speziell die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, bedingt durch ihre hohe Infektionsrate mit Viren wegen kontinuierlichen Nachbaus, große Schwankungen bei der jährlichen Ertragsmenge bzw. ein allgemein niedriges Ertragsniveau auf, was den Anreiz für einen Anbau aus wirtschaftlichen Gründen beträchtlich schmälert.

Ein weiterer Grund, der genannt wurde, ist, dass die dunkle Schalenfärbung der Sorte zum Zeitpunkt der Ernte eine Unterscheidung zwischen der im Frühjahr ausgebrachten Mutterknollen, die offensichtlich zum größten Teil bis zum Erntetermin erhalten bleiben, und der neuen, im Laufe der Vegetationsperiode gewachsenen Knollen erschwert, diese so ungewollt mitgeerntet werden und ein mühsames Aussortieren nötig machen.

3.3 ANBAU UND LAGERUNG

Die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* wurde im Jahr 2011 wie unter Punkt 3.2 erwähnt in der näheren Umgebung von Bad Steben nur noch von den Landwirten Fritz Gebelein und Helmut Hornfeck aus der Ortschaft Carlsgrün bei Bad Steben auf einer Fläche von zusammen ca. 1200 Quadratmetern angebaut. Der Hauptanteil der auf einer Fläche von ca. 1000 Quadratmetern angebauten Sorte erfolgte in Kombination mit den Kartoffelsorten Agria und Quarta auf derselben Ackerfläche.

Die Bewirtschaftungsform dieses Felds lässt sich am ehesten als extensiv konventioneller Anbau oder eine Mischung aus konventionellem und ökologischen Anbau beschreiben, da organischer Dünger in Form von Mist ausgebracht und Pflanzenschutzmittel nur sehr sporadisch eingesetzt wurde.

Das Legen der Pflanzknollen erfolgte mit einem Kartoffellegegerät der Marke Hassia, die Ernte mit einem Kartoffelernter derselben Marke. Kleine Knollen wurden dadurch nicht aufgesammelt, da sie bei zu kleinem Durchmesser durch die Spalten des Laufbandes fielen.

Nach Angaben des Landwirts Fritz Gebelein ist die Lagerfähigkeit der Sorte vergleichbar mit der der hellchaligen, parallel angebauten Sorten. Eigene Beobachtungen zeigten, dass in einer Kühlzelle bei 6°C im Dunklen gelagerte Knollen bis Anfang Juli kaum Dunkelkeime ausgebildet hatten.

4 VERSUCHSTEIL

4.1 ANBAUVERSUCHE IM FREILAND

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* zusammen mit Vergleichssorten in zwei Freilandversuchen angebaut. Ein Anbauversuch erfolgte auf einer Fläche der LfL bei Freising („Feld am Bahngleis“), der zweite Anbauversuch wurde auf einer Ackerfläche des Landwirts Fritz Gebelein aus Carlsgrün bei Bad Steben angelegt. Für weitere Untersuchungen wurden außerdem auf einem zweiten Feld der LfL („Feld Varietäten“) in der Nähe der Ortschaft Pulling bei Freising neben Knollen der zu untersuchenden Sorte verschiedener Herkunft, d.h. aus unterschiedlichen Quellen, eine Auswahl diverser Sorten gelegt (siehe Punkt 4.1.1.1).

Die zur Sortenbeschreibung anfallenden Bonituren erfolgten durch den Autor. Das Auslegen des Pflanzguts am Standort Freising geschah unter Mithilfe von Mitarbeitern der LfL Freising, Abteilung IPZ 3a, am Standort Carlsgrün unter Mithilfe u.a. von Herrn Georg Lang. Die Anlage der Dämme sowie die Pflegearbeiten wie Unkraut- und Insektenbekämpfung sowie Dampfpflege wurden in Freising durch Mitarbeiter der LfL, in Carlsgrün durch den oben erwähnten Landwirt Herrn Fritz Gebelein und bei gegebenen Anlass durch Mitarbeiter der LfL durchgeführt.

4.1.1 VERSUCHSSTANDORTE

Im Folgenden werden die Versuchsstandorte genauer beschrieben. Die beiden Standorte bei Freising werden aufgrund ihrer räumlichen Nähe und dadurch bedingt weitgehend identischer Witterungs- und Bodenverhältnisse sowie ähnlich durchgeführter Pflegemaßnahmen in der Beschreibung zusammengefasst.

4.1.1.1 VERSUCHSSTANDORT FREISING

Der Standort des Anbauversuchs der verschiedenen Sorten sowie des Anbauversuchs der *Schwarzblauen aus dem Frankenwald* und der Vergleichssorten befand sich im Landkreis Freising in der Nähe der Stadt Freising im Regierungsbezirk Oberbayern. Die geographische Höhe beträgt dort 450 Meter über NN, das langjährige Jahresmittel der mittleren Tagestemperatur liegt bei 7,7°C, das langjährige Jahresmittel des Niederschlags bei 813

mm. Die Bodenart der für den Anbauversuch verwendeten Ackerflächen ist toniger Lehm (tL), die Ackerzahl beträgt 61. Für eine Angabe des N_{\min} -Gehalts des Bodens wurde der Wert aus dem Programm „Düngeberatungssystem Stickstoff“ (DSN) der LfL für das Frühjahr 2011 für Oberbayern herangezogen, der 56 kg N/ha betrug. Die Bodenuntersuchung der Fläche von 2005 ergab für P_2O_5 14 mg/100 g Boden, für K_2O 10 mg/100 g Boden, der pH-Wert betrug 7,4. Am 14. April 2011 wurde eine Düngung durchgeführt mit dem Volldünger NPK 12-12-17-2, bestehend aus 12% N, 12% P_2O_5 , 17% K_2O und 2% MgO. Die ausgebrachten Mengen betragen 108 kg N, 108 kg P_2O_5 , 153 kg K_2O und 18 kg MgO bei 9 dt Dünger pro ha. Die Vorfrucht beider Felder war Wintergerste.

Auf dem Versuchsfeld „Varietäten“ in der Nähe der Ortschaft Pulling wurde der Anbau der verschiedenen blau- bzw. violettschaligen Sorten sowie der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* unterschiedlicher Herkunft (siehe Tab. 21-24) zur Bereitstellung von Probenmaterial für die Genomanalyse und für die Erzeugung von Knollen als Basis für einen phänotypischen Vergleich durchgeführt. Je nach Anzahl der von der Genbank IPK Gatersleben/Groß Lüsewitz, dem Verein Arche Noah in Schiltern/Österreich oder den Landwirten erhaltenen Knollen pro Sorte bzw. Herkunft erfolgte der Anbau am 20. April 2011 von je vier, neun oder zehn Kartoffelpflanzen in Reihen. Die Ernte wurde je nach erfolgter Abreife der Sorten am 9., 16. und 22. August durchgeführt. Abb. 1 zeigt die Ackerfläche, der rote Pfeil gibt den ungefähren Standort des Anbaus an.



Abbildung 1: Luftbild der Ackerfläche des Anbauversuchs „Varietäten“ bei Pulling (Quelle: BayernViewer)

Der Anbauversuch „Feld am Bahngleis“ wurde angelegt für die Feststellung von Knollen- und Stärkeerträgen sowie für eine Analyse der Knollen hinsichtlich des Proteingehalts und der Aminosäurezusammensetzung sowie für eine Geschmacksprüfung der Sorte in Abhängigkeit vom Standort. Als Vergleich diente ein Anbauversuch am Standort Carlsgrün, wo die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* in geringem Umfang noch feldmäßig angebaut wird (siehe Punkt 4.1.1.2).

Tab. 1 führt wichtige acker- und pflanzenbauliche Daten auf. Die Abb. 2 zeigt die Ackerfläche, der rote Pfeil gibt die Lage des Anbauversuchs innerhalb der Ackerfläche an.

Tabelle 1: Schlagkartei Versuchs-anbau „Feld am Bahngleis“ bei Freising

		Bemerkung
Pflanzung	14. April 2011	Wetter: bedeckt, 11°C; Wind: West, Stärke: 2
Pflanzenzahl	ca. 4 Knollen/m ²	bei 75 cm Reihenweite und 33 cm Abstand in der Reihe
Auflauftermin (80% der Pflanzen aufgelaufen)	SBF 1: 22. Mai SBF 2: 21. Mai Agria: 18. Mai Jelly: 20. Mai	Mittelwert
Hauptblüte (EC 65)	SBF 1: 27. Juni SBF 2: 27. Juni Agria: 20. Juni Jelly: 5. Juli	sehr schwach ausgeprägte Blüte der Sorten SBF 1, SBF 2 und Agria im Anbauversuch
Düngung (während der Vegetationsperiode)	-	Eine Düngung erfolgte im Frühjahr 2011, siehe Text
Pflegemaßnahmen	12. Mai	Herbizidbehandlung mit Boxer und Sencor
	30. Mai	Fungizid- und Insektizidbehandlung mit Epok, Karate und Confidor
	27. Juni	Fungizid- und Insektizidbehandlung mit Tanos und Biskaya
	7. Juli	Fungizid- und Insektizidbehandlung mit Tanos, Shirlan und Biskaya
	14. Juli	Fungizidbehandlung mit Tanos und Shirlan
	19. Juli	Fungizidbehandlung mit Acrobat und Ranman
	27. Juli	Fungizidbehandlung mit Sirlan und Ranman
Erntetermine	SBF 2: 24., 25., 26. und 29. August 2011 SBF 1: 2. und 6. September Agria und Jelly: 21. September	bei jeweils trockener Witterung



Abbildung 2: Luftaufnahme der Ackerfläche des Anbauversuchs bei Freising (Quelle: BayernViewer)

4.1.1.2 VERSUCHSSTANDORT BEI CARLSGRÜN

Die Ackerfläche des Landwirts Fritz Gebelein liegt in unmittelbarer Nähe der Ortschaft Carlsgrün im Landkreis Hof in Oberfranken auf einer Höhe von 640 m über NN. Für das langjährige Mittel der Tagestemperatur sei die von der Stadt Hof angegeben, die 6,4°C beträgt, und das langjährige Mittel des Niederschlags, ebenso für Hof, ist 742 mm. Das Amt für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten in Münchberg hatte auf Anfrage des Verfassers mittels Bodenschätzkarten der Reichsbodenschätzung aus dem Archiv folgende Angaben zur Ackerfläche machen können: es handelt sich um einen flachgründigen, relativ jungen Boden (Verwitterungsstufe 5), bestehend aus drei Schichten. Die oberste Schicht (Ap-Horizont) ist ein schwach humushaltiger, feinsandiger bis sandiger Lehm. Die Böden im Dienstgebiet des Amtes, also auch der Boden bei Carlsgrün, zeichnen sich aus durch einen geringen Humusgehalt von deutlich unter 5%. Die Bodenzahl beträgt 35 und die Ackerzahl 43. Des Weiteren wurde angemerkt, dass der Boden in Freising über eine höhere nutzbare Feldkapazität verfügt. Von Seiten des Landwirts wurden keine Angaben zur Bodenuntersuchung gemacht. Deshalb lagen keine Werte bezüglich des Gehalts von N_{\min} , K_2O oder P_2O_5 der Fläche vor. Der Wert für N_{\min} für das Frühjahr 2011 aus dem Programm „Düngeberatung für Stickstoff (DSN)“ der LfL für Oberfranken lag nicht vor. Der Wert für den nächstgelegenen Regierungsbezirk Mittelfranken betrug 39 Kg N/ha. Die Vorfrucht war Sommergerste. Gedüngt wurde im Herbst 2010 und im Frühjahr 2011 mit einer Mischung aus Kuh-, Schweine- und Pferdemist. Die ausgebrachte Menge betrug ca. 20t/ha. Weitere Daten können der *Tab. 2* entnommen werden. *Abb. 3* zeigt eine Luftaufnahme der Ackerfläche, der rote Pfeil gibt die ungefähre Lage des Anbauversuchs an.

Tabelle 2: Schlagkartei Versuchs-anbau bei Carlsgrün

		Bemerkung
Pflanzung am	11. Mai 2011	Wetter: wolkig, 20 °C; Wind: Stärke: 3
Pflanzenzahl	ca. 4 Knollen/m ²	bei 75 cm Reihenweite und 32 cm Abstand in der Reihe
Auflauftermin (80% der Pflanzen aufgelaufen)	SBF 1: 7. Juni Agria: ?	Mittelwert zum Zeitpunkt der Bonitur (9. Juni) 99% aufgelaufen
Hauptblüte (EC 65)	SBF 1: 12. Juli Agria: 7. Juli	sehr schwach ausgeprägte Blüte im Anbauversuch
Düngung (während der Vegetationsperiode)	-	Eine Düngung erfolgte im Herbst 2010 und im Frühjahr 2011, siehe Text
Pflegemaßnahmen	9. Juni 2011	Insektizid- und Herbizidbehandlung mit Alverde und Fusilade
	26. Juli 2011	Fungizid- und Insektizidbehandlung mit Karate und Ranman
Erntetermin	SBF 1 und Agria: 15. September 2011	bei trockener Witterung

**Abbildung 3: Luftaufnahme der Anbaufläche des Feldversuchs bei Carlsgrün (Quelle: BayernViewer)**

4.1.2 VERSUCHSANLAGEN

4.1.2.1 ANBAUPLÄNE

Der Anbauversuch „Feld am Bahngleis“ am Standort bei Freising wurde als einfaktorieller Versuch durchgeführt gemäß dem Anbauplan, der in *Abb. 4* dargestellt ist. Es wurde ein

lateinisches Quadrat gewählt, um Bodenunterschiede und weitere Störfaktoren der Versuchsfäche nach zwei Richtungen zu eliminieren (Munzert, 1992). Die theoretisch sich ergebende quadratische Grundstruktur der Anlage wurde durch den Verlauf einer Fahrgasse durch die Versuchsfäche, bestehend aus vier Reihen, zum Rechteck. Die Einteilung der Versuchsfäche lässt sich beschreiben durch Blöcke und Säulen. Die Anzahl der Prüfglieder betrug im vorliegenden Versuch vier, was der Anzahl der Wiederholungen entsprach. Jedes Prüfglied kam in jedem Block bzw. jeder Säule einmal vor. Es wurde eine systemische Reihenfolge gewählt, durch die eine Randomisierung gewährleistet war. Jedes Prüfglied bestand aus vier Reihen mit zehn gelegten Knollen pro Reihe, was einer Zahl von 40 Knollen pro Prüfglied entsprach. Es ergaben sich so bei vier Prüfgliedern, bestehend aus der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* zweierlei Herkunft (1: Fritz Gebelein, 2: Helmut Hornfeck) und zwei Vergleichssorten (*Agria* und *Jelly*), und vier Wiederholungen insgesamt 16 Prüfglieder bzw. 16 Parzellen. Am linken Rand der Versuchsfäche wurden zwei Reihen der Sorte *Jelly* gelegt. Die Fahrgasse sowie der rechte Rand der Versuchsfäche, ebenfalls bestehend aus vier Reihen, wurden mit der Sorte *Lolita* bepflanzt.

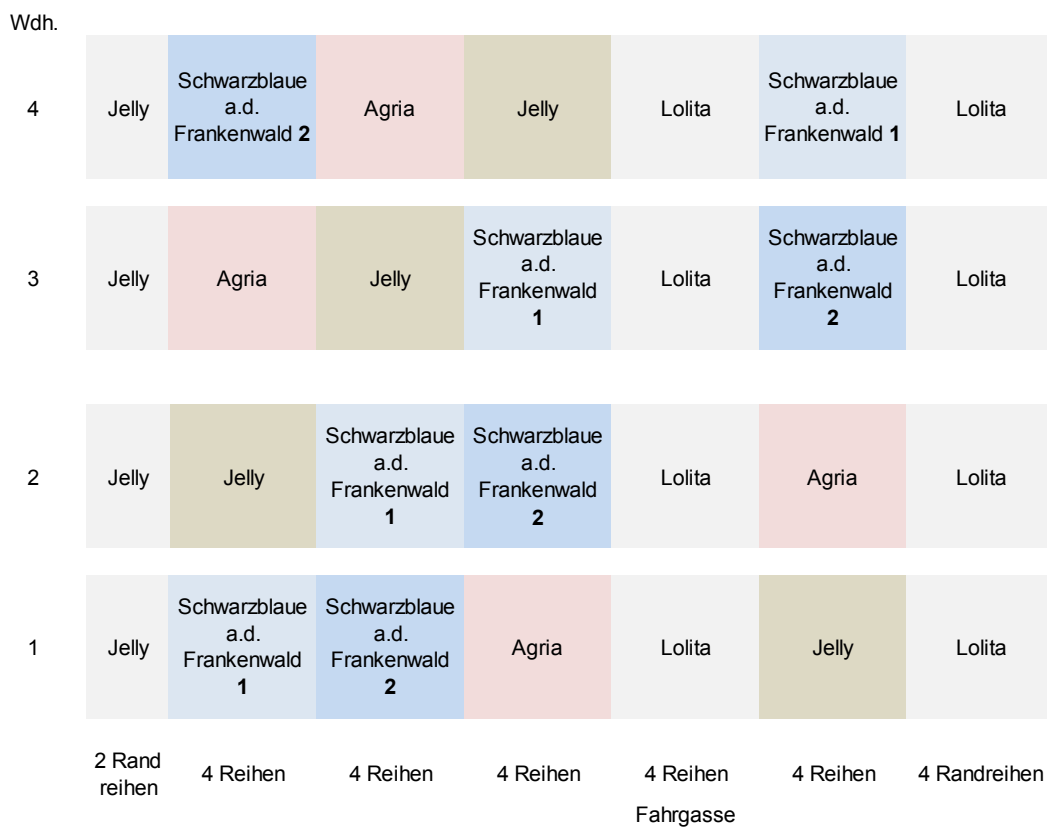


Abbildung 4: Plan des Anbauversuchs bei Freising (1: Herkunft Fritz Gebelein; 2: Herkunft Helmut Hornfeck)

Am Standort Carlsgrün bestand der Anbauversuch aus zwei Prüfgliedern, zum einen aus der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, zur Verfügung gestellt vom Landwirt Fritz Gebelein (1), zum anderen aus einer Vergleichsorte, in diesem Fall die Sorte *Agria*. Bei vier Wiederholungen ergaben sich somit acht Parzellen, an deren Rändern jeweils eine Reihe der Sorte *Agria* gelegt wurde. Der Anbauplan ist in *Abb. 5* dargestellt.

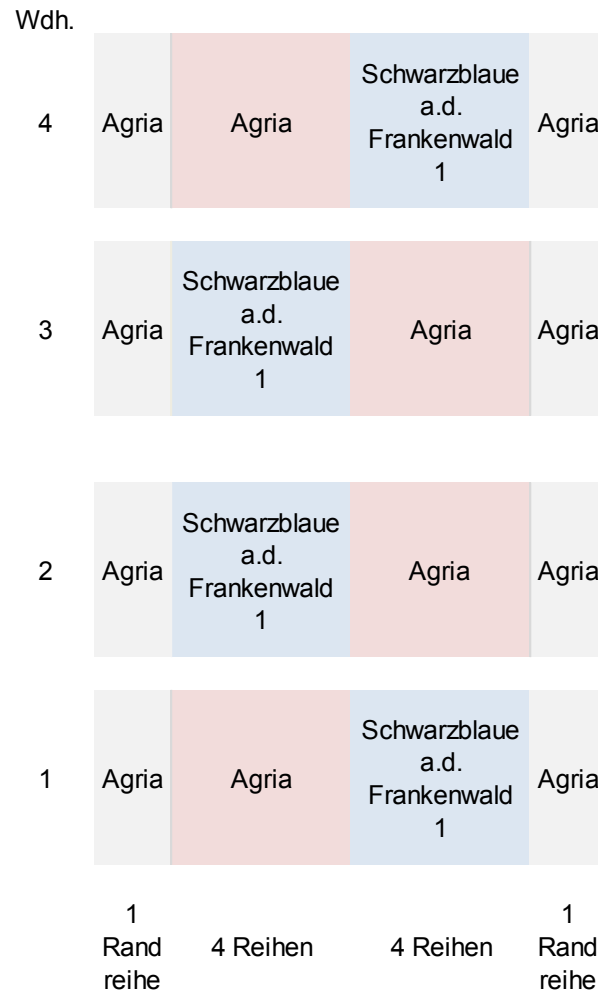


Abbildung 5: Plan des Anbauversuchs bei Carlsgrün bei Bad Steben

4.1.2.2 WITTERUNGSVERLAUF

Nach Angaben des Deutschen Wetterdienstes war das Frühjahr 2011 das trockenste Frühjahr in Deutschland seit über 100 Jahren. Seit 1893 hatte es in den Monaten März, April und Mai nicht mehr so wenig geregnet. Es wurden durchschnittlich 88 Liter pro Quadratmeter gemessen und damit wurde weniger als die Hälfte des Solls von 186 Liter erreicht. Neben der Trockenheit war der Frühling auch außergewöhnlich sonnig und warm. Es wurden rund

700 Sonnenstunden gemessen und damit 50% mehr als im Durchschnitt. Die mittlere Temperatur betrug 10,1°C, was 2,4°C über dem langjährigen Mittelwert lag.

Die Wetterdaten für Freising wurden gemessen an der meteorologischen Station Freising (Höhe: 470 m über NN). Da sich in der näheren Umgebung des Standorts des Anbauversuchs bei Carlsgrün keine Wetterstation befindet, wurde auf die von der Messstation Straas in der Nähe von Hof gemessenen meteorologischen Daten zurückgegriffen, die auf einer Höhe von 580 m über NN liegt. Der Anbauversuch bei Carlsgrün lag auf ca. 640 m und somit um ca. 60 m höher als die Messstation in Straas und um 190 Meter höher als der Anbauversuch bei Freising (450 m).

Die Wetterdaten der Monate April bis August 2011 für die Standorte der Wetterstationen sowie der Temperaturdurchschnitt und die Summen der Niederschläge und Sonnenstunden in diesem Zeitraum sind in *Tab. 3* zusammengefasst. Der Vegetationszeitraum der Pflanzen lag ungefähr in diesem Zeitabschnitt. Für September lagen keine Messwerte für Straas vor, jedoch soll das Wachstum Anfang September am Standort Carlsgrün als weitgehend abgeschlossen betrachtet werden.

Tabelle 3: Wetterdaten der Messstationen Freising (Oberbayern) und Straas (Oberfranken) im Vergleich (Quelle: Agrarmeteorologie Bayern)

Monat	Temperatur [°C]				Niederschlag [mm]				Sonnenstunden [h]			
	2011		langj. Mittel		2011		langj. Mittel		2011		langj. Mittel	
	Freising	Straas	Freising	Straas	Freising	Straas	Freising	Straas	Freising	Straas	Freising	Straas
A	11,0	10,1	7,3	5,6	32,7	41,2	55,5	57,2	263	223	159	149
M	13,8	12,7	11,9	10,6	58,6	43,9	89,6	71,7	291	276	202	195
J	16,2	15,5	15,0	13,8	147,6	93,4	103,7	77,4	183	173	209	198
J	15,8	14,6	16,7	15,4	175,6	94,4	98,3	74,0	203	180	234	208
A	18,3	16,9	16,1	14,9	76,2	53,9	97,1	79,7	250	195	211	196
Ø bzw. Σ	15,0	14,0	13,4	12,1	490,7	326,8	444,2	360,0	1190	1047	1015	946

Ein Vergleich der Niederschlagssummen von April bis August 2011 von Freising und Straas zeigt, dass in Freising ca. 164 mm bzw. ca. 50% mehr Niederschlag gefallen sind. Bei einer Durchschnittstemperatur von 15,0°C im selben Zeitraum war es in Freising um ca. 7% wärmer als Straas (14,0°C). Die Summe der Sonnenstunden betrug in Freising 1190 und in Straas 1047. Damit ergaben sich für Freising 143 bzw. ca. 14% mehr Sonnenstunden als in Straas.

Im Hinblick auf das langjährige Mittel der Wetterdaten sei der Vollständigkeit halber erwähnt, dass 2011 in Freising mehr Niederschlag, höhere Temperaturen und mehr Sonnenstunden gemessen wurden. In Straas dagegen fiel weniger Niederschlag, aber es war ebenfalls wärmer, und mehr Sonnenstunden wurden registriert.

4.2 PFLANZUNGEN IM GEWÄCHSHAUS DER LfL FREISING

Neben den Anbauversuchen im Freiland wurden von den verschiedenen Sorten im April Exemplare im Gewächshaus der LfL in Freising in Töpfen mit einer Substratmischung aus Blumenerde und Sand im Mischungsverhältnis 3:1 angepflanzt. Das Pflanzgut stammte aus derselben Quelle wie die für den Anbauversuch „Varietäten“ bei Pulling verwendeten Knollen (siehe 4.1.1.1). Insgesamt 27 verschiedene blau- bzw. violetschalige sowie drei weitere Sorten wurden gepflanzt (siehe 4.6.2). Von der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* der Herkunft Fritz Gebelein, Helmut Hornfeck, Wilmar Degel, Bauersachs und Doris Tröppner wurden je zwei Exemplare kultiviert. Es wurden in der Mehrheit halbe Knollen verwendet. Die jeweils andere Knollenhälfte diente der Erzeugung von Lichtkeimen.

4.3 SORTENBESCHREIBUNG NACH DER RICHTLINIE VON UPOV

4.3.1 EINLEITUNG

Der Internationale Verband zum Schutz von Pflanzenzüchtungen (UPOV) ist eine zwischenstaatliche Organisation mit Sitz in Genf (Schweiz). Im Internationalen Übereinkommen zum Schutz von Pflanzenzüchtungen (UPOV Übereinkommen, 1991) werden die Erteilung und der Schutz von Züchterrechten geregelt. Voraussetzung für die Erteilung eines Sortenschutzes ist unter anderem, dass die Sorte unterscheidbar, homogen und beständig ist. Die UPOV-Grundsätze zur Prüfung auf Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit werden von den Verbandsstaaten nicht nur bei der Vergabe von Züchterrechten angewendet, sondern sind auch Grundlage für die Eintragung von Sorten in die Sortenliste. Mit dem Ziel einer einheitlichen Auslegung der Begriffe Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit hat die UPOV umfangreiche Empfehlungen erarbeitet. Diese umfassen sowohl allgemeine Grundsätze zur Durchführung der Prüfungen als auch konkrete Prüfungsrichtlinien für einzelne Pflanzenarten. Es sind von der UPOV bis heute für ca. 170 Pflanzenarten Prüfungsrichtlinien („Richtlinien für die Durchführung der Prüfung auf Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit“) verabschiedet worden, von denen die Prüfungsrichtlinie 023 des deutschen Index für die Kartoffel (*Solanum tuberosum* L.) als

Vorlage bzw. Orientierung zur Beschreibung der Kartoffelsorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* in der vorliegenden Arbeit angewendet wurde.

Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass das Bundessortenamt in Diesdorf bei Magdeburg eine Richtlinie verwendet, die im Wesentlichen die gleichen Merkmale berücksichtigt wie die Richtlinie von UPOV, darüber hinaus aber die Erfassung von Proteinmerkmalen durch Gelelektrophorese, d.h. die Erstellung eines sortenspezifischen Proteinmusters, mit aufgenommen hat. Das in der Richtlinie von UPOV aufgeführte Merkmal 26, die Behaarung der Blattspreite der Spitzenrosette, wurde in dieser Arbeit nicht verwendet, analog zur Vorgehensweise/Richtlinie des Bundessortenamtes.

4.3.2 MATERIAL UND METHODEN

Die in den Anbauversuchen „Feld am Bahngleis“ bei Freising kultivierten Kartoffelpflanzen waren aufgrund ihres Virenbefalls nicht geeignet, um eine Merkmalsbeschreibung durchzuführen. Deshalb wurde auf Pflanzen zurückgegriffen, die aus den Genbanken von Groß Lüsewitz bzw. dem Verein Arche Noah stammten. Diese wurden zusammen mit den anderen blauschaligen Sorten im Anbauversuch „Varietäten“ bei Pulling angebaut. Im ELISA-Test erwiesen sich diese in der Mehrheit als virenfrei.

Abweichend von der Empfehlung/Vorschrift in Hinsicht auf die Mindestprüfungsdauer, die in der Regel zwei unabhängige Wachstumsperioden betragen sollte, wurde im Rahmen dieser Arbeit die Prüfung des Pflanzenmaterials aufgrund der zur Verfügung stehenden Zeit einmalig durchgeführt. Ebenso sollten für die Prüfung der Pflanzen bzw. Pflanzenteile alle Erfassungen an 60 Pflanzen erfolgen. Dies war jedoch wegen der begrenzten Menge des erhaltenen gesunden Pflanzguts bzw. Knollen nicht möglich. Auch die von UPOV festgelegten Bedingungen für die Entwicklung des Lichtkeims in Anlehnung an die Arbeit von Houwing (1986) konnten aus Zeitgründen so nicht befolgt werden. Stattdessen wurden die für diesen Schritt verwendeten Knollen an einen hellen Ort ohne direkte Lichteinstrahlung ausgelegt, die Lichtintensität betrug tagsüber ca. 600 Lux, gemessen mit einem Standard-Beleuchtungsmesser von Dr. Bruno Lange GmbH, Berlin.

Als nützliche Gruppierungsmerkmale wurden gemäß den von UPOV getroffenen Vereinbarungen der Lichtkeim, die Pflanze in unterschiedlichen Entwicklungsstadien, die Blätter, der Stängel, die Blütenknospe, die Infloreszenz, die Blütenkrone, der Zeitpunkt der Reife der Pflanze und die Knolle herangezogen. Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Merkmalsliste umfasst insgesamt 41 Merkmale, die in *Tab. 4* detailliert aufgeführt sind.

Die Fotografien der Pflanzen wurden aufgenommen mit einer digitalen Spiegelreflexkamera der Marke Canon, Modell EOS 400D unter Verwendung eines Makroobjektiv Canon EFS 60 mm bzw. einer digitalen Kompaktkamera, Marke Canon, Modell Powershot A630.

4.3.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Tab. 4 stellt die Ergebnisse der Beschreibung der Merkmale der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* dar.

Tabelle 4: Ergebnistabelle der Merkmale der Kartoffelsorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*

Nummer	Merkmal	Ausprägung	Note nach UPOV
Lichtkeim:			
1	Größe	mittel	5
2	Form	eiförmig	2
3	Intensität der Anthocyanfärbung des Unterteils	sehr stark	9
4	Blauanteil der Anthocyanfärbung des Unterteils	hoch	3
5	Behaarung des Unterteils	mittel	5
6	Größe des Oberteils im Verhältnis zum Unterteil	mittel	5
7	Wuchsform des Oberteils	geschlossen	1
8	Anthocyanfärbung des Oberteils	sehr stark	9
9	Behaarung des Oberteils	stark	7
10	Anzahl der Wurzelhöcker	mittel	5
11	Länge der Seitentriebe	kurz	3
Pflanze:			
12	Laubstruktur	Stängeltyp	2
13	Wuchsform	aufrecht	3
Stängel:			
14	Anthocyanfärbung	stark	7

Blatt:

15	Umrissgröße	mittel (bis groß)	5 (bis 7)
16	Offenheit	offen	5
17	Vorhandensein von sekundären Blattfiedern	gering (bis mittel)	3 (bis 5)
18	Grünfärbung	mittel	5
19	Anthocyanfärbung an der Mittelrippe der Oberseite	stark	5
	Zweites Paar Seitenblattfiedern:		
20	Größe	mittel	5
21	Breite im Verhältnis zur Länge	mittel	5
	End- und Seitenblattfiedern:		
22	Häufigkeit von Verwachsungen	hoch (bis sehr hoch)	7 (bis 9)
	Blattfieder:		
23	Randwellung	mittel	5
24	Tiefe der Adern	mittel (bis tief)	5 (bis 7)
25	Glanz der Oberseite	mittel	5
26	Behaarung der Blattspreite an der Spitzenrosette	-	-

Blütenknospe:

27	Anthocyanfärbung	fehlend oder sehr gering	1
----	-------------------------	--------------------------	---

Pflanze:

28	Höhe	mittel (bis hoch)	5 (bis 7)
29	Häufigkeit von Blüten	gering	3

Infloreszenz:

30	Größe	klein	3
31	Anthocyanfärbung am Stiel	fehlend oder sehr gering	1

Blütenkrone:

32	Größe	klein bis mittel	3 bis 5
33	Intensität der Anthocyanfärbung an der Innenseite	gering	3
34	Blauanteil der Anthocyanfärbung an der Innenseite	hoch	3
35	Ausdehnung der Anthocyanfärbung an der Innenseite	mittel bis groß	5 bis 7

Pflanze:

36	Zeitpunkt der Reife	mittel bis spät	5 bis 7
----	---------------------	-----------------	---------

Knolle:

37	Form	rundoval (bis oval)	2 (bis 3)
38	Augentiefe	mittel	5
39	Farbe der Schale	blau	5
40	Farbe des Augengrundes	blau	4
41	Farbe des Fleisches	hellgelb	3

Abb. 6 zeigt einen typischen Lichtkeim, Abb. 7 eine blühende Pflanze im Gewächshaus, Abb. 8 ganze und halbierte Knollen der *Schwarzblauen aus dem Frankenwald* aus der Ernte 2011, die von Pflanzen der Herkunft Groß Lüsewitz stammten.



Abbildung 6: ca. zehn Wochen alter Lichtkeim der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*



Abbildung 7: Blüten der Sorte Schwarzblaue aus dem Frankenwald



Abbildung 8: Knollen der Sorte Schwarzblaue aus dem Frankenwald der Ernte 2011 (Standort Freising) von Pflanzen der Herkunft Genbank Groß Lüsewitz (Foto: W. Seemann)

Die Schwierigkeit bei der Erfassung der Sortenmerkmale bestand darin, dass für eine Durchführung jahrelange Erfahrung bzw. exakte Sortenkenntnis Voraussetzung ist. Außerdem handelt es sich, wie bereits unter Punkt 3.1 angesprochen, nicht um eine Sorte im modernen Sinn, sondern um eine Landsorte, also einen genetisch uneinheitlichen Formenkreis einer Kulturpflanzenart mit einem gewissen Grad an Heterogenität. So war z.B. auffällig, dass die Beschaffenheit der Knollenschale nicht exakt festgelegt ist und entweder netzartig strukturiert, aber auch glatt sein kann.

Auffällig war u.a., dass die fünf Staubbeutel der Blüten degeneriert bzw. verkümmert waren. Bei einer normalen Kartoffelblüte liegen die fünf Staubbeutel eng zusammen und bilden ein kegelförmiges Gebilde. Bei der untersuchten Sorte sind die einzelnen Staubfäden dünn und gekrümmt. Es liegt die Vermutung nahe, dass eine männliche Sterilität vorliegt, was aber durch entsprechende Bestäubungsversuche überprüft werden müsste. Es wurden außerdem in den Anbauversuchen an den Pflanzen nur wenige Blüten beobachtet. Die meisten Blütenknospen sind vor dem Aufblühen abgefallen. Charakteristisch war weiterhin die Färbung der unterirdischen Sprosse, d.h. der Stolonen. Diese wiesen eine intensive rotviolette bzw. purpurne Farbe auf.

Es sei an dieser Stelle vermerkt, dass die hier untersuchte Sorte in mehreren Merkmalen eine gewisse Ähnlichkeit aufweist mit der bei Carl Wilhelm Putsche in seinem 1819 in Weimar erschienenen Buch "Versuch einer Monographie der Kartoffeln Oder ausführliche Beschreibung der Kartoffeln nach ihrer Geschichte, Charakteristik, Cultur und Anwendung in Teutschland" beschriebenen sogenannten „blauen runden Kartoffel“, die er gemäß seiner Einteilung zu den späten Kartoffelsorten zählte. Das Reifeverhalten sowie folgende weitere Merkmale stimmen überein mit der hier untersuchten Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*: Die Knollen weisen eine rundliche Form auf und besitzen eine blaue Schale, die ein fast schwarzes "Ansehen" bei Exposition an der Luft annehmen. Außerdem wird der Stängel als langgestreckt und "unten ganz rotbraun oder punktiert" beschrieben. Des Weiteren sind die Blattstiele nach seinen Beobachtungen "oben bis an die Spitze purpurfarbig", Merkmale, die auch auf die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* zutrafen. Die Blütenfarbe, von Putsche als "blaulich, fast aschfarben" angegeben, konnte ebenfalls bei den im Versuchsanbau und Gewächshaus kultivierten Pflanzen festgestellt werden, wobei nach heutiger Beschreibung die Blütenfarbe als hellblau bzw. fast weiß angegeben werden könnte. Der als nussig beschriebene Geschmack der Knollen wurde bei der Geschmacksprüfung ebenfalls von einem Prüfer festgestellt.

4.4 ERTRAG UND QUALITÄTSMERKMALE

Zur Feststellung der Kartoffelqualität wurden die geernteten Knollen in Hinsicht auf den Ertrag, ihren Geschmack, den Stärke- und Proteingehalt sowie ihre Aminosäurezusammensetzung untersucht. Außerdem wurden Proben für eine Routineanalyse an die Qualitätskontrolle der LfL Freising abgegeben, um Untersuchungen hinsichtlich des Aschegehalts (% in der Trockensubstanz), des Stärkegehalts, des Gesamtgehalts an Kohlenstoff, Stickstoff, Schwefel, Phosphor, Kalium, Calcium und Magnesium durchführen zu lassen.

4.4.1 ERTRÄGE DER ANBAUVERSUCHE

Die Mittelwerte der Knollenerträge der jeweiligen Herkünfte der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* sowie die der Vergleichssorten der Anbauversuche beider Standorte bei Freising und Carlsgrün sind in *Tab. 5* zusammengefasst. Die einzelnen Erträge der Wiederholungen sind in *Tab. 30* im Anhang dargestellt.

Table 5: Ergebnis Knollenerträge der Anbauversuche bei Freising und Carlsgrün (jeweils Mittelwert aus vier Wiederholungen)

Sorte/Herkunft	Anbauversuch bei Freising Masse Knollen Parzelle [kg]	Anbauversuch bei Carlsgrün Masse Knollen Parzelle [kg]
<i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald, Herkunft Fritz Gebelein</i>	34,3	21,6
<i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald, Herkunft Helmut Hornfeck</i>	27,2	-
<i>Agria</i>	65,6	39,2
<i>Jelly</i>	69,0	-

Zwei Pflanzen in der ersten Wiederholung der Parzelle *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* der Herkunft Fritz Gebelein und eine Pflanze in der vierten Reihe der Wiederholung 2

produzierten gelbschalige Knollen. Diese Sorte war wohl zu einem früheren Zeitpunkt versehentlich unter das Pflanzgut geraten. Um trotzdem eine Auswertung der betroffenen Parzelle durchführen zu können, wurde der Durchschnittsertrag pro Pflanze dieser Parzelle errechnet und dieser als Ersatz-Ertragswert für die entsprechenden Exemplare zu dem Ertrag der anderen 38 bzw. 39 Pflanzen addiert.

Für den Anbauversuch bei Freising ergab sich somit ein Ertrag der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, Herkunft Fritz Gebelein, von 34,3 kg pro Parzelle oder hochgerechnet 343 dt/ha. Die Pflanzen der Herkunft Helmut Hornfeck am selben Standort brachten einen Knollenertrag von 27,2 kg pro Parzelle bzw. 272 dt/ha. Für die Pflanzen der Herkunft Fritz Gebelein am Standort Carlsgrün lag der Ertrag bei 21,6 kg pro Parzelle bzw. 216 dt/ha. Für die Vergleichssorte *Agria* des Anbauversuchs bei Freising konnte ein Ertrag von 65,6 kg pro Parzelle bzw. 656 dt/ha, für den Standort Carlsgrün 39,2 kg pro Parzelle bzw. 392 dt/ha festgestellt werden. Die Vergleichssorte *Jelly*, die nur am Standort Freising gepflanzt worden war, produzierte einen Ertrag von 69 kg pro Parzelle bzw. 690 dt/ha.

Die Knollenerträge der Pflanzen, die vom Pflanzgut der Genbank Groß Lüsewitz und vom Verein Arche Noah stammen, sind in *Tab. 6* aufgeführt:

Tabelle 6: Ergebnis Erträge Anbau „Varietäten“ bei Pulling, *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, Herkunft Groß Lüsewitz und Arche Noah

Sorte/Herkunft	Pflanze Nr.	Masse Knollen einzelne Pflanzen [kg]	Anzahl Knollen pro Pflanze	Ø Knollen- gewicht [g]
<i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald, Herkunft Arche Noah</i>	1	0,85	14	60
	2	0,85	14	60
	3	0,72	11	65
	4	(0,66)	11	60
	5	0,90	20	45
	6	0,85	19	45
	7	(0,50)	21	24
	8	(0,60)	12	50
	9	(1,42)	21	68
	Durchschnitt	0,84	16	53
	theoretischer Ertrag pro Hektar	33,6 t		

<i>Schwarzblaue</i>	1	(1,59)	23	69
<i>aus dem</i>	2	1,11	19	58
<i>Frankenwald,</i>	3	1,58	19	83
Herkunft Groß	4	2,10	29	72
Lüsewitz				
	Durchschnitt	1,60	22	71

theoretischer Ertrag pro Hektar **63,9 t**

Anmerkung: Werte in Klammern geben die Erträge virenbefallener Pflanzen an, die bei der Berechnung der Durchschnittswerte nicht berücksichtigt wurden.

Demnach ergab sich für das Pflanzgut von Groß Lüsewitz ein theoretischer Ertrag von 63,9 t bzw. 639 dt/ha. Die Pflanzen der Herkunft Arche Noah lieferten einen theoretischen Ertrag von 33,2 t bzw. 332 dt/ha.

Vergleicht man die Erträge der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, Herkunft Fritz Gebelein, der Anbauversuche Freising und Carlsgrün, so liegt der Ertrag in Freising um ca. 59% höher als in Carlsgrün. Ein Vergleich der Erträge der Sorte *Agria* beider Standorte liefert eine Referenz für die Feststellung von Einflüssen der jeweiligen Standortbedingungen in ihrer Summe auf den Knollen- (und Stärke)ertrag. Am Standort Freising wurde für *Agria* ein um ca. 67% höherer Ertrag gemessen. Die Differenzen der Erträge der untersuchten Sorte und der Vergleichssorte liegen damit etwa in der gleichen Größenordnung. Beide Sorten fanden deutlich bessere Wachstumsbedingungen in Freising vor.

Diskussion:

Als wesentliche Einflussfaktoren auf den Knollenertrag werden im Folgenden die Versorgung der Pflanzen mit Nährstoffen, der Virenbefall, die Witterung (Niederschläge bzw. Wasserverfügbarkeit, Temperatur, Sonnenstunden) und Pflegemaßnahmen diskutiert.

Eine wesentliche Ursache für den Ertragsunterschied der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, Herkunft Fritz Gebelein, der beiden Versuchsstandorte dürfte in der unterschiedlichen Versorgung der Pflanzen mit Nährstoffen, bedingt durch die Unterschiede der Böden und der Durchführung der Düngung, zu suchen sein. Es sei darauf hingewiesen, dass der Zusammenhang zwischen Nährstoffgehalten im Boden und erzieltm Ertrag komplex ist und geprägt wird durch ein Zusammenspiel von Standort (Boden, Witterung) und pflanzenspezifischen Eigenheiten. „Die Höhe der Nährstoffaufnahme der Pflanzen wird nicht nur von den vorhandenen Nährstoffen, sondern auch von deren Verfügbarkeit im Boden (abhängig von Pufferung, Wassergehalt, Bodenart, Bodenstruktur etc.) und dem Aneignungsvermögen der Pflanzen (abhängig von Größe und Verteilung des Wurzelsystems, Mobilisierung von Nährstoffen) bestimmt“ (LfL, 2011).

Nach Aussage eines Mitarbeiters des Amtes für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten in Münchberg (Oberfranken) liegen die durchschnittlichen Erträge bei Kartoffeln in der Gegend bei rund 500 dt/ha. Die Vergleichssorte *Agria* erreichte am Standort Carlsgrün diesen Wert mit 390 dt/ha nicht. Über die Ausstattung des Bodens mit N_{\min} , P_2O_5 und K_2O lässt sich aufgrund nicht vorliegender Werte von in der Vergangenheit durchgeführten Bodenuntersuchungen keine Aussage machen. Vom Amt für Landwirtschaft in Münchberg konnte jedoch die Bodenzahl (35) und die Ackerzahl (43) in Erfahrung gebracht werden, sowie der Hinweis auf den geringen Humusgehalt der Böden in der Region von deutlich unter 5%. Bei der Bodenart handelt es sich um sandigen Lehm. Es kann davon ausgegangen werden, dass der Boden in Freising als toniger Lehmboden neben der höheren nutzbaren Feldkapazität über einen höheren Humusgehalt verfügt. Es liegt also in Carlsgrün im Vergleich zum Boden in Freising ein Boden vor, der eine geringere Bindungskraft für Wasser und Nährstoffe aufweist.

Gedüngt wurde in Carlsgrün im Herbst 2010 und Frühjahr 2011 mit einer Mist-Mischung, bestehend aus Pferdemist, Schweinemist und Rindermist. Für eine grobe Berechnung des den Pflanzen zur Verfügung stehenden Stickstoffs durch die Düngung wird von einer Mischung zu gleichen Teilen ausgegangen. Nach dem Leitfaden für die Düngung von Acker- und Grünland, herausgegeben von der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL, 2011), ist bei Rinder-, Pferde- und Schweinemist ca. 15% des Gesamtstickstoffs anzurechnen (Ausbringungsverluste berücksichtigt), da der stärker in der organischen Substanz gebundene Stickstoff sehr langsam mineralisiert wird. Bei langfristiger und regelmäßiger Anwendung von organischen Düngern kann in der Summe von einer Verwertbarkeit der ausgebrachten Stickstoffmenge von 50 bis 80% ausgegangen werden. Der Gesamt-Stickstoffgehalt der Mistmischung beträgt ca. 5,2 kg pro Tonne (Rindermist 5,1 kg/t, Pferdemist 4,6 kg/t, Schweinemist 6,0 kg/t). Bei ca. 20 t/ha ausgebrachtem Mist ergibt sich ein Gesamtstickstoff von rund 105 kg/ha. Bei 15% anrechenbarem N ergeben sich demnach 15 kg N pro ha. Bei 75% anrechenbarem N erhält man rechnerisch ca. 79 kg pro ha, wenn davon ausgegangen wird, dass regelmäßig über einen langen Zeitraum mit Mist gedüngt wurde. In Freising wurden in Form von mineralischem Dünger ca. 108 kg N ausgebracht. Es kann laut der „Düngeberatung für Stickstoff“ der LfL davon ausgegangen werden, dass der N_{\min} -Gehalt des Bodens in Freising ebenfalls höher war als in Carlsgrün. Die Düngung dürfte also einen wesentlichen Einfluss auf den jeweiligen Ertrag gehabt haben. Bei diesen Betrachtungen wurde die Versorgung mit anderen Nähstoffen wie Kalium und Phosphor nicht berücksichtigt. So spielt z.B. Kalium eine wichtige Rolle für das Pflanzenwachstum und somit für die Knollen- und Stärkebildung. Wie erwähnt liegen entsprechende Werte für das Feld in Carlsgrün nicht vor.

Neben der unterschiedlichen Versorgung mit Nährstoffen sind bei einer vergleichenden Betrachtung der Erträge die unterschiedlichen Witterungsbedingungen beider Versuchstandorte zu beachten. Die Niederschläge bzw. die Wasserverfügbarkeit sind neben der Temperatur dabei an erster Stelle zu nennen. Wasser bzw. die Wasserverfügbarkeit spielt eine wesentliche Rolle für das Pflanzenwachstum. Mit rund 490 mm Niederschlag stand den Pflanzen in Freising im Zeitraum von April bis August wesentlich mehr Wasser zur Verfügung als den Pflanzen in Carlsgrün (bzw. in der Wetterstation Straas bei Hof), wo ca. 330 mm gemessen wurden (siehe Punkt 4.1.2.2). Aber nicht nur die Niederschlagsmenge ist von Bedeutung, sondern auch die Fähigkeit des Bodens, Wasser zu speichern und der Pflanze zur Verfügung zu stellen. Der Boden in Freising verfügt als toniger Lehm Boden über ein höheres Wasserbindungsvermögen als der Boden der Ackerfläche in Carlsgrün (sandiger Lehm). Die unterschiedliche Wasserspeicherfähigkeit der Böden dürfte besonders in dem Jahr 2011 mit seinem extrem trockenen Frühjahr eine gewisse Rolle gespielt haben. Die in Straas gemessene Niederschlagsmenge lag im April bei 41,2 mm und war damit zwar höher als in Freising, wo es im gleichen Monat 32,7 mm geregnet hatte. Im März waren es in Freising 56,5 mm und in Markersreuth bei Hof (Ersatzwert für Straas) 14,2 mm. Damit ergibt sich für die beiden Monate eine Summe von 89,2 mm für Freising und 55,4 mm für Straas/Markersreuth, die in Zusammenhang mit der besseren Wasserspeicherfähigkeit des Bodens in Freising gesehen werden müssen. Eine ausreichende Verfügbarkeit von Wasser zu Beginn des Wachstums dürfte einen gewissen positiven Einfluss auf das Wachstum der Pflanzen gehabt haben.

Versuche in England zum Einfluss der Wasserversorgung bei der untersuchten Sorte Majestic (Harris, 1978) zeigten, dass ein gut erkennbarer Zusammenhang zwischen der Niederschlagsmenge und dem Knollenertrag bestand. Je cm Niederschlag kann von einem Effekt auf den Knollenertrag von 0,5 bis 2,5 t/ha ausgegangen werden, wobei unter gewissen Umständen auch negative Auswirkungen beobachtet wurden. Legt man z.B. den Wert von 0,5 t/ha zugrunde, dann ergäbe sich bei einer zusätzlichen Niederschlagsmenge von 16 cm am Standort Freising ein Ertragsplus von 8 t/ha im Vergleich zu Carlsgrün. Dies weist darauf hin, dass die Niederschlagsmenge einen wesentlichen Einflussfaktor für den Ertragsunterschied von 12,7 t/ha im durchgeführten Anbauversuch darstellt.

Bedingt durch den Höhenunterschied der beiden Anbauflächen von etwa 190 m ergab sich ein Temperaturunterschied von ca. 1°C im Durchschnitt für den Zeitraum von April bis August. Die höheren Temperaturen hatten vermutlich vor allem eine Auswirkung auf die Dauer der Vegetationszeit, d.h. die Pflanzen wuchsen schneller bei höheren Temperaturen, setzten früher Knollen an und schlossen das Wachstum schneller ab. Insbesondere die

Frostempfindlichkeit von Kartoffelpflanzen verhinderte das Legen der Knollen in Carlsgrün zu einem frühen Zeitpunkt, so dass erst in der zweiten Maihälfte gepflanzt werden konnte, da zuvor mit Bodenfrost zu rechnen war.

Von einem unterschiedlichen Einfluss auf den Ertrag durch Virenbefall ist bei der Betrachtung der beiden Anbauversuche in Bezug auf die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* nicht auszugehen, da das Pflanzgut aus derselben Quelle stammte und damit der Virenbefall an beiden Standorten vergleichbar war.

Die überwiegend bis völlig virenfreien Vergleichssorten *Agria* und *Jelly* des Anbauversuchs am Standort Freising produzierten hochgerechnet Erträge von 656 bzw. 690 dt/ha und damit über 90 bzw. 100% mehr Ertrag als die virenbefallene Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* der Herkunft Fritz Gebelein mit einem Ertrag von 343 dt/ha. Der Knollenertrag ist neben anderen Faktoren auch sortenabhängig, aber eine so große Ertragsdifferenz wie in diesem Fall steht im Zusammenhang mit den nachgewiesenen Virenerkrankungen. „Der Befall mit Viruskrankheiten bewirkt bei Kartoffeln sehr wesentliche Ertragsminderungen, deren Höhe von der Virusart, der Stärke der Symptome, der Kartoffelsorte und auch vom Alter der Infektion abhängt“ (Hunnius, 1976). Wenzl (1975) stellt in einer zusammenfassenden Übersicht fest, dass im Durchschnitt der Ertragsrückgang je Prozent virenverseuchter Stauden zwischen 0,5 und 0,8% liegt. Bei einer Durchseuchungsrate von 100% wie im vorliegenden Versuchsanbau ist demnach von einem Ertragsrückgang von 50 bis 80% auszugehen, was bei dem festgestellten Ertrag von 343 dt/ha einem theoretischen Ertrag von ca. 685 dt/ha bei virenfreien Pflanzen entsprechen würde, ausgehend von einem Ertragsrückgang von 50%. Damit erhält man einen Wert, der in der Größenordnung der Erträge der Vergleichssorten liegt.

Vergleicht man außerdem den (theoretischen) Ertrag der virenfreien Pflanzen der Herkunft IPK Gatersleben/Groß Lüsewitz von 639 dt/ha (Anbauversuch „Varietäten“ bei Freising) mit dem der virenbefallenen Exemplare der Herkunft Fritz Gebelein (Freising), so wird der Einfluss von Virenerkrankungen auf das Pflanzenwachstum nochmals veranschaulicht. Die in *Tab. 6* angegebenen Werte in Klammern zeigen Pflanzen an, für die eine Virenerkrankung nachgewiesen wurde. Diese wurde bei der Berechnung der Durchschnittswerte nicht berücksichtigt. Mit 639 dt/ha befindet sich der Ertrag der Pflanzen der Herkunft Groß Lüsewitz ebenfalls in dem oben berechneten Ertragsbereich von virenfreien Pflanzen dieser Sorte. Widersprüchlich in diesem Kontext war die Feststellung, dass die virenfreien Pflanzen aus Pflanzgut der Herkunft Verein Arche Noah im Anbauversuch „Varietäten“ bei Freising einen theoretischen Ertrag von 336 dt/ha erzielten, der damit etwa vergleichbar ist mit dem Knollenertrag der virenkranken Pflanzen der Herkunft Fritz Gebelein. Die vier Exemplare der

Herkunft Groß Lüsewitz hatten für ihren Wachstum zwar mehr Platz zur Verfügung als die neun Individuen der Herkunft Arche Noah und damit Zugang zu mehr Nährstoffen, bedingt durch einen größeren Abstand innerhalb der Reihe. Aber der Abstand der Pflanzen der Herkunft Arche Noah war fast identisch mit dem der Pflanzen der Herkunft Fritz Gebelein, die trotz Virenbefall etwas mehr Knollenertrag produzierten als die virenfreien Pflanzen der Herkunft Arche Noah. Eine Erklärung hierfür konnte nicht gefunden werden.

Der Unterschied der Knollenerträge der Pflanzen der Herkunft Fritz Gebelein und Helmut Hornfeck des Anbauversuchs „Feld am Bahngleis“ bei Freising lässt sich vermutlich zurückführen auf die verschieden häufig auftretenden Zweifachinfektionen, die bei den Pflanzen der Herkunft Helmut Hornfeck vermehrt festgestellt wurden, siehe dazu *Tab. 18*. Die Anzahl der Einzelinfektionen lag bei dem Bestand der Herkunft Fritz Gebelein zwar mit 21 höher als bei den Pflanzen der Herkunft Helmut Hornfeck (8). Dort wurden dafür 25 Zweifachinfektionen festgestellt, während es bei der Herkunft Fritz Gebelein zehn waren. Eine Infektion mit PVY und PLRV als Einzelinfektion wirkt sich zwar stärker auf den Ertrag aus als Befall mit PVM oder PVS. Doppelinfektionen scheinen sich aber in der Summe stärker auf den Ertrag auszuwirken, da der Ertrag der Pflanzen der Herkunft Fritz Gebelein trotz eines höheren Anteils an PVY- und PLRV-Befall, die als Einfachinfektionen vorlagen, um ca. 20% höher lag.

Hinsichtlich der durchgeführten Pflegemaßnahmen in Freising lässt sich in gewissem Maß ein positiver Effekt auf den Ertrag vermuten. Herbizide wurden in beiden Anbauversuchen je einmal jeweils ca. einen Monat nach dem Pflanztermin angewendet. In Carlsgrün wurde zu einem späteren Zeitpunkt hoch gewachsenes Unkraut manuell entfernt, da ein Einsatz von chemischen Mitteln für die Kartoffelpflanzen vermutlich eher negative Folgen nach sich gezogen hätte. Insgesamt war im Anbauversuch bei Carlsgrün das Auftreten von Unkräutern in größerem Maße festzustellen als am Standort Freising, wodurch dort ein gewisser Entzug von Nährstoffen durch diese stattgefunden haben dürfte. Fungizide wurden in Freising insgesamt an sechs Terminen gespritzt, in Carlsgrün einmal. Insektizide kamen in Freising dreimal zur Anwendung, in Carlsgrün zweimal. Ein Befall der Pflanzen mit *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, dem Erreger der Kraut- und Knollenfäule, konnte weder in Freising, noch in Carlsgrün beobachtet werden. Auch Kartoffelkäfer waren höchstens vereinzelt anzutreffen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass in Hinsicht auf den Knollenertrag eine Anpassung der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* an die regionalen Standortbedingungen nicht oder nur sehr bedingt beobachtet wurde.

4.4.2 SPEISEWERTPRÜFUNG

Es wurden zwei Speisewertprüfungen in Anlehnung an die Richtlinie für die Koch- und Speiseprüfung mit Speisekartoffeln des Bundessortenamts (BSA, 2008) unter Verwendung des dort aufgeführten Bewertungsschemas durchgeführt. Bewertet wurden demnach die Fleischfarbe, die Konsistenz, die Struktur, die Mehligkeit, die Feuchtigkeit, Mängel im Geschmack und die Kochdunkelung der gegarten und gepellten Kartoffeln. Abweichungen von der in der Richtlinie empfohlenen Durchführung bei der ersten Speisewertprüfung waren zum einen der Zeitpunkt der Koch- und Speiseprüfung, die Ende April 2011 mit Kartoffeln des Erntejahres 2010 erfolgte. Die geprüften Kartoffeln waren von einer Herkunft. Die zweite Speisewertprüfung wurde abweichend von der Richtlinie nicht in der ersten Novemberhälfte (für mittelspäte bis späte Sorten), sondern im September nach der Ernte mit Knollen beider Anbauversuche durchgeführt. Die geprüften Sorten waren den Prüfern namentlich bekannt. Die Ergebnisse stellen jeweils den Mittelwert der Einschätzungen der unterschiedlichen Prüfer für die festgestellten Kriterien dar. Die Ergebnisse sind in *Tab. 7* aufgeführt.

Tabelle 7: Ergebnis der Speisewertprüfung, Sorte Schwarzblaue aus dem Frankenwald

	Fleischfarbe	Konsistenz	Struktur	Mehligkeit	Feuchtigkeit	Mängel im Geschmack	Kochdunkelung
Prüfung 1 (26. April 2011), Carlsgrün	gelbweiß	locker	mittel	mittel bis stark	schwach bis mittel	gering/ gering bis mittel	-
Prüfung 2 (21. September 2011), Carlsgrün	weiß	locker bis mittel	mittel bis grob	mittel bis stark	schwach	gering bis mittel	sehr schwach bis schwach
Freising	gelbweiß	sehr locker bis locker	grob	stark bis sehr stark	sehr schwach	gering	sehr schwach

Beim Vergleich der Ergebnisse der beiden Speisewertprüfungen im April von Knollen der Ernte 2010 und im September von Knollen der Ernte 2011 des Standorts Carlsgrün fällt auf, dass keine großen Unterschiede in den Merkmalen feststellbar waren, d.h. dass die Kartoffeln sehr lange relativ gleichbleibende Geschmackseigenschaften behalten.

Unterschiedlich waren die Proben der beiden Standorte Carlsgrün und Freising vom Erntejahr 2011. Insbesondere die starke bis sehr starke Mehligkeit und die sehr schwache

Feuchtigkeit der Knollen aus Freising waren auffällig, die in Korrelation mit dem gemessenen höheren Stärkegehalt stehen, der wiederum seine Ursache im Standort hat. Die geringen bis mittleren Defizite im Geschmack bei der Probe aus Carlsgrün könnten auf eine der drei Knollen zurückzuführen sein, bei der auch ein optischer Mangel festgestellt wurde.

Die Fleischfarbe der Sorte könnte für eine erfolgreiche Vermarktung bei einem breiteren Verbraucherspektrum ein Hindernis sein, da sie nicht der Idealvorstellung der Verbraucher in Deutschland entspricht. Die deutschen Konsumenten bevorzugen bei Kartoffeln eine gelbe Fleischfarbe. In den englischsprachigen und den Benelux-Ländern sind es v.a. weißfleischige Typen, die auf den Markt kommen (LfL).

4.4.3 STÄRKEGEHALT

4.4.3.1 EINLEITUNG

Die Kohlenhydrate der Kartoffel können eingeteilt werden in Stärke, Nichtstärke-Polysaccharide und Zucker. Dabei nimmt Stärke normalerweise den größten Anteil an der Knollen-Trockensubstanz ein (Woolfe, 1996). Der normale Gehalt an Stärke in der Trockensubstanz beträgt annähernd 70%, die Schwankungsbreite liegt annähernd bei 60 bis 80% (Burton, 1966). Der hohe Stärkegehalt der Kartoffelknollen ermöglicht eine ökonomische Nutzung in Form einer industriellen Kartoffelstärkegewinnung (Woolfe, 1996).

4.4.3.2 MATERIAL UND METHODEN

Die Bestimmung des Stärkegehaltes von Kartoffelknollen der Anbauversuche wurde nach dem Prinzip von Brückmann (1876) zum einen über die Ermittlung ihres Unterwassergewichts mit Hilfe einer Stärkewaage durchgeführt. Es gilt: Je höher der Stärkegehalt, desto größer ist das Gewicht der Kartoffeln unter Wasser. Mit der Waage wird das Gewicht der Knollen über Wasser und das Unterwassergewicht gemessen und der entsprechende Stärkegehalt mittels einer Formel errechnet.

Es wurde der Stärkegehalt von Knollen des Anbauversuchs bei Freising sowie des Anbauversuchs bei Carlsgrün bestimmt, und zwar jeweils von Knollen der zweiten und dritten Reihe der Parzellen aller Wiederholungen. Die Knollen wurden vor dem Wiegen mit Wasser gewaschen.

Vor der Durchführung der Stärkebestimmung wurde die Masse des leeren Metallkorbs trocken und feucht mit der Stärke-Waage ermittelt. Dann wurde dieser mit feuchten, gewaschenen Kartoffeln gefüllt (ca. 2 kg Masse in trockenem, sauberem Zustand) und deren

Masse mit der Waage gemessen; anschließend erfolgte die Bestimmung der Masse der Knollen unter Wasser durch Eintauchen des Korbs in den Wasserbehälter. Die Messdaten wurden von der Waage an einen Rechner gesendet und die Werte von Excel mit der unten angegebenen Formel in den Stärkegehalt umgerechnet.

Die der Berechnung des Stärkegehalts zugrunde liegende, modifizierte Gleichung von Lund (1956) lautet:

$$\% \text{ Stärke} = 209,4 \cdot \frac{[(c-a) \cdot 0,99]}{[(c-a) \cdot 0,99 - d + b] - 1,0135},$$

wobei

a: nasses Korbgewicht, an der Luft gemessen

b: Korbgewicht unter Wasser

c: Gesamtgewicht nasse Kartoffeln + nasser Korb an der Luft

d: Gesamtgewicht Korb + Kartoffeln unter Wasser

Zusätzlich erfolgte die Bestimmung des Stärkegehalts von Knollen der Ernte 2010 (Standort Carlsgrün) und 2011 (Anbauversuche Freising und Carlsgrün) nach der Methode von Ewers (1908) durch die Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen der LfL in Freising. Die polarimetrische Stärkebestimmung der Knollen von 2010 wurde durchgeführt im Rahmen einer allgemeinen Analyse (siehe Punkt 4.4.4) im Frühjahr 2011. Da vom Jahr 2010 nur Knollen des Standorts Carlsgrün vorlagen und Unterschiede im Stärkegehalt in Abhängigkeit vom Standort und auch von der Messmethode zu erwarten waren (siehe unten), wurde die zweite Analyse im Herbst durchgeführt. Es wurden für diese Messung von den Knollen, die für die Stärkemessung nach der Unterwassergewichts-Methode verwendet wurden, jeweils Mischproben der entsprechenden Wiederholungen hergestellt. Es lagen somit sechs Mischproben für die Analyse vor, vier vom Anbauversuch Freising, zwei vom Anbauversuch Carlsgrün.

4.4.3.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Ergebnisse der Bestimmung des Stärkegehalts über das Unterwassergewicht sind in *Tab. 8* zusammengefasst. Es ist der jeweilige Mittelwert aus den Reihen 2 und 3 aller Wiederholungen aufgeführt. Die einzelnen Werte befinden sich in der *Tab. 31* im Anhang.

Tabelle 8: Mittelwert der Stärkegehalte der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald (SBF)* und der Vergleichssorten *Agria* und *Jelly* in % der Frischmasse

Freising				Carlsgrün	
<i>SBF</i> , Herkunft Fritz Gebelein	<i>SBF</i> , Herkunft Helmut Hornfeck	<i>Agria</i>	<i>Jelly</i>	<i>SBF</i> , Herkunft Fritz Gebelein	<i>Agria</i>
21,6	21,2	17,1	16,7	18,4	15,6

Der über das Unterwassergewicht bestimmte Stärkegehalt der Knollen der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* des Anbauversuchs bei Freising lag bei 21,6% bzw. 21,2%. Dieselbe Methode ergab bei Knollen des Anbauversuchs bei Carlsgrün einen Wert von 18,4%; der Stärkegehalt der Knollen des Standortes bei Freising lag also um ca. 16% höher als der der Knollen von Carlsgrün. Der Stärkegehalt der Vergleichssorte *Agria* betrug bei den Knollen des Anbauversuchs bei Freising 17,1% und bei den Knollen des Anbauversuchs bei Carlsgrün 15,6%. Es lag damit auch bei der Vergleichssorte ein um ca. 10% höherer Stärkegehalt am Standort Freising vor. Der Unterschied war damit allerdings nicht so deutlich wie bei der *Schwarzblauen aus dem Frankenwald* am selben Standort im Vergleich zum Standort Carlsgrün.

Es sei darauf hingewiesen, dass die Bestimmung des Stärkegehalts über das Unterwassergewicht wegen einer gewissen Ungenauigkeit nicht unumstritten ist. So zeigte eine Untersuchung, dass keine enge Korrelation der Stärkewerte, einmal gemessen mittels Unterwassergewicht, einmal bestimmt nach der Methode von Ewers (1908), vorliegt (Glauer, 2010). Die Analyse von Knollen der Ernte 2010 nach der Methode von Ewers ergab einen Trockensubstanzgehalt von 34,92% und einen Messwert für Stärke von 71,3% in der Trockensubstanz. Zurückgerechnet auf die Frischmasse der Probe ergab dies einen Stärkegehalt von 24,9%. Die Ergebnisse der polarometrischen Stärkebestimmung nach Ewers von Knollen der Ernte 2011 aus den Anbauversuchen bei Freising und Carlsgrün sind in *Tab. 9* dargestellt.

Tabelle 9: Ergebnisse der polarimetrischen Stärkemessung nach Ewers (1908): Stärkegehalte der Knollen der Ernte 2011

	Freising				Carlsgrün	
	<i>SBF</i> Herkunft Fritz Gebelein	<i>SBF</i> Herkunft Helmut Hornfeck	Agria	Jelly	<i>SBF</i> Herkunft Fritz Gebelein	Agria
TS [%]	30,4	28,9	23,1	23,6	24,8	22,4
Stärke [% i.d.TS]	79,1	77,7	80,7	79,2	75,9	79,9
Stärke [% i.d. FM]	24,0	22,5	18,6	18,7	18,8	17,9

Gemessen wurden wieder die Trockensubstanz und der Stärkegehalt in der Trockensubstanz, um aus diesen Werten den Stärkegehalt in der Frischmasse zu errechnen. Ein Vergleich der Werte mit denen, die durch die Unterwassergewicht-Methode bestimmt wurden, ergibt unterschiedliche Stärkegehalte, wobei die Stärkegehalte, bestimmt nach Ewers, alle höher sind. Im Folgenden werden diese Werte einer näheren Betrachtung zugrunde gelegt, da die Methode von Ewers als genauer gilt.

Für den Stärkegehalt der Knollen sind neben der Sorte unterschiedliche Einflussfaktoren bekannt. Das Vermögen einer Kartoffelsorte, Stärke einzulagern, ist genetisch festgelegt. Die Stärkebildung und deren Einlagerung sind pflanzenphysiologische Prozesse. Alle Faktoren, die das Pflanzenwachstum beeinflussen, üben damit auch einen Einfluss auf den Stärkegehalt aus. Faktoren, die eine wichtige Rolle spielen, sind die Witterung während der Vegetationsperiode und die Nährstoffversorgung. Die Witterung, d.h. die Sonnenscheindauer, die Temperatur und die Niederschlagsmenge bzw. die Wasserversorgung des Bodens haben einen wesentlichen Einfluss auf die Entwicklung des Stärkegehaltes genauso wie auf den Knollenertrag (siehe Punkt 4.4.1). Anbauversuche in Thüringen zeigten aber zum einen, dass Sorten unterschiedlich auf bestimmte Witterungsbedingungen reagierten und dass es nicht möglich war, den Stärkegehalt von der Sorte und von der Jahreswitterung abzuleiten (Wölfel).

Neben der Witterung und dem Nährstoffangebot ist die Bodenart ebenfalls entscheidend durch die Eigenschaften des Wasserhaltevermögens, der Korngrößenverteilung und der Durchlüftungsverhältnisse (Wölfel).

Der Stärkegehalt der Probe *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* Herkunft Fritz Gebelein des Anbauversuchs Freising von 24,0% in der Frischmasse war ähnlich dem Wert der Probe derselben Herkunft, aber des Standorts Carlsgrün vom Erntejahr 2010 (siehe oben). Der Stärkegehalt der Probe derselben Herkunft, aber vom Standort Carlsgrün des Erntejahres

2011 betrug 18,8% und war damit wesentlich niedriger als am Standort Freising. Ein Vergleich der Stärkegehalte der Vergleichssorte *Agria* an beiden Standorten ergibt einen um ca. 4% höheren Wert bei der Probe aus Freising, womit die unterschiedlichen Standorte bei dieser Sorte nur einen bedingten Einfluss auf den Stärkegehalt haben dürften. Dies lässt vermuten, dass verschiedene Sorten unterschiedlich auf einen Standort ansprechen bzw. ein unterschiedliches Vermögen haben, sich den Gegebenheiten eines Standorts anzupassen.

Mehrjährige Untersuchungen an der LfL ergaben bei Speisekartoffeln einen Stärkegehalt von durchschnittlich 13,7% (LfL). Die höchsten Stärkegehalte bei den untersuchten Sorten lagen bei knapp 16%. Spätreife Sorten waren stärkehaltiger, mehligkochende Typen wiesen einen um ca. 2% höheren Stärkegehalt auf, ansonsten bestand kaum ein Zusammenhang zwischen Kochtyp und Stärkegehalt (LfL). Mit 24,0% bzw. 22,5% liegt der Stärkegehalt der *Schwarzblauen aus dem Frankenwald* am Standort Freising und 18,8% am Standort Carlsgrün im Bereich des Stärkegehalts von Stärkekartoffeln.

Der niedrigere Stärkegehalt der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* am Standort Carlsgrün wirkt sich im Vergleich zu Knollen an Standorten mit ähnlichen Witterungs- und Produktionsbedingungen wie Freising mit resultierendem höheren Stärkegehalt auf die Verwertungsmöglichkeiten der Knollen im Nahrungsmittelbereich aus, da der Stärkegehalt u.a. die Koch- und Geschmackseigenschaften und die Verarbeitungseignung beeinflusst und ein zu hoher Gehalt an Stärke für viele Anwendungen nicht erwünscht ist.

Der Stärkegehalt der beiden Vergleichssorten *Agria* und *Jelly* am Standort Freising ist fast identisch mit 18,7% bzw. 18,6%. Ein Sortenversuch der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft im Jahr 2007 unter ökologischen Anbaubedingungen ergab für *Agria* 14,1% und für *Jelly* ebenfalls 14,1% Stärkegehalt. Das Potenzial für Stärkebildung ist demnach bei den beiden Sorten ähnlich. Die in diesem Anbauversuch erzielten Stärkegehalte erscheinen für diese als Speisekartoffeln genutzten Sorten hoch. Nach Daten der Kartoffelvorernteschätzung Bayern 2011 der LfL Ernährung und Markt (Sutor, 2011) betrug der durchschnittliche Stärkegehalt bei 45 untersuchten Speisekartoffelproben 11,8% und war damit deutlich niedriger als 2009 (13,2%) und 2010 (12,4%). Warum der Stärkegehalt bei den Proben der Vergleichssorten sowohl in Freising, als auch in Carlsgrün in diesem Jahr so hoch war, konnte nicht beantwortet werden.

Die unterschiedlichen Witterungsverhältnisse an den Versuchsstandorten dürften zumindest teilweise einen Einfluss auf die Stärkegehalte der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* gehabt haben. Eine höhere Temperatur führt zu einer gewissen Beschleunigung der Stoffwechselfvorgänge eines Organismus, was ebenfalls zu einer höheren Syntheserate von

Stoffwechselprodukten wie z.B. Speicherstoffen beiträgt. Vergleicht man die Summe der Sonnenstunden der beiden Standorte der Anbauversuche während der Vegetationsperiode von April bis August (siehe Punkt 4.1.2.2), so ergeben sich für Freising ca. 1190 h, für Carlsgrün ca. 1047 h. Damit lag die Summe der Sonnenstunden am Standort Freising um ca. 14% über der Summe in Carlsgrün. Betrachtet man allerdings nur den Zeitraum des stärksten Wachstums und der Hauptphase der Stärkebildung, die zwischen dem 30. Und 60. Tag nach dem Aufgang liegen (Wölfel), so beträgt die Summe der Sonnenstunden in diesem Zeitraum in Straas 216 und in Freising 222 (Agrarmeteorologie Bayern), der Unterschied fällt damit in diesem Zeitraum mit knapp 3% wesentlich geringer aus.

Die unterschiedliche Wasserversorgung der Pflanzen der beiden Anbauversuche, bedingt durch die Niederschlagsmengen und die Wasserspeicherfähigkeit der Böden, wurde bereits bei den Knollenerträgen (4.4.1) diskutiert und dürfte bei der Stärkebildung ebenfalls ein wesentlicher Faktor gewesen sein.

Weitere zum Teil bereits erwähnte Einflussgrößen auf die Stärkeproduktion sind die Bodenqualität und die Düngung des Bodens, sowie die Pflegemaßnahmen wie die Unkrautbekämpfung, die ebenfalls unter dem Punkt Erträge der Anbauversuche bereits angesprochen wurden.

Der unterschiedliche Stärkegehalt zwischen den Proben der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* beider Herkünfte am Standort Freising ist vermutlich auf dieselbe Ursache für den unterschiedlichen Knollenertrag zurückzuführen, nämlich eine höhere Rate an Zweifachinfektionen der Knollen der Herkunft Helmut Hornfeck durch Viren. Ein Einfluss von Viren auf Stärkeertrag konnte in der Vergangenheit nachgewiesen werden (Hunnius, 1976).

Zusammenfassend gilt, dass eine ausgewogene Nährstoff- und Wasserversorgung neben einer hohen Sonneneinstrahlung und günstigen Temperaturen als Grundlage für ein optimales Pflanzenwachstum und damit für die Bildung und Einlagerung von Stärke ebenso wichtig ist wie für den Knollenertrag.

Es kann festgestellt werden, dass die *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* als Speisekartoffel einen überdurchschnittlich hohen Stärkegehalt aufweist, der stark vom Standort und den Anbaubedingungen abhängt. Am geeigneten Standort (gute Wasserversorgung, hohe Sonnenscheindauer, ausreichende Temperaturen und nährstoffreicher Boden mit Wasserspeichervermögen) und bei entsprechenden Pflegemaßnahmen (Düngung, Unkrautbekämpfung) ist sie eine Sorte mit hohem Potenzial für die Stärkeproduktion.

4.4.4 ANALYSE LABOR QUALITÄTSKONTROLLE

In der Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen (AQU4) der LfL Freising wurde an Knollen der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* aus der Ernte 2010 eine umfassende Analyse durchgeführt. Die Ergebnisse sind in *Tab. 10* dargestellt.

Tabelle 10: Ergebnisse der Laboranalyse der Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen der LfL Freising

Trockensubstanz	34,92
Asche (% TS)	5,7
Rohfaser (% TS))	2,8
Rohfett (% TS)	0,30
Stärke	71,3
Zucker	6,83
NDF (neutral detergent fiber) (% TS)	9,7
ADF (acid detergent fiber) (% TS)	4,9
ADL (acid detergent lignin) (% TS)	0,4
C ges. (DUMAS) (% TS)	42,6
N ges. (DUMAS) (% TS)	1,34
S ges. (DUMAS) (% TS)	0,18
Gesamt P (% TS)	0,21
Gesamt K (% TS)	2,06
Gesamt Ca (% TS)	0,04
Gesamt Mg (% TS)	0,12

Ein Vergleich der Werte mit Literaturwerten (siehe *Tab. 11*, nach BURTON (1966)) zeigt, dass alle Ergebnisse mit dem in der Literatur angegebenen normalen Gehalt bzw. im Bereich der Schwankungsbreiten liegen. So betrug der gemessene Stärkegehalt 71,3% i. d. TS, was dem normalen Gehalt von 70% sehr nahe kommt. Der Gehalt an Gesamt-N von 1,34% i. d. TS lag im normalen Bereich von 1 bis 2% i. d. TM, der Rohfettgehalt von 0,30% i. d. TS

entsprach der unteren Grenze des normalen Fett-Gehalts von 0,3 - 0,5% i. d. TS und der Aschegehalt von 5,7% lag an der oberen Grenze des normalen Gehalts von 4 - 6% i. d. TS.

Tabelle 11: Annähernde Zusammensetzung der Knollentrockensubstanz (nach Burton, 1966)

Bestandteil	% in der Trockensubstanz	
	normaler Gehalt (annähernd)	Schwankungsbreite (annähernd)
Stärke	70	60 - 80
Saccharose	0,5 - 1	0,25 - 1,5
reduzierende Zucker	0,5 - 2	0,25 - 3
Citronensäure	2	0,5 - 7
Gesamt-N	1 - 2	1 - 2
Protein-N	0,5 - 1	0,5 - 1
Fett	0,3 - 0,5	0,1 - 1
Ballaststoffe	6 - 8	3 - 8
Asche	4 - 6	4 - 6

Lediglich der Wert für die Trockensubstanz, der in der Literatur im Durchschnitt mit 20% angegeben wird (siehe *Tab. 12*, aus Woolfe, 1996), war mit 34,92% relativ hoch. Nach Woolfe (1996, zit. n. Burton, 1966) kann der Trockensubstanzgehalt sehr stark schwanken und hängt maßgeblich ab von der Sorte, dem Klima, der Bodenart, der Anbaumethode, der Länge der Wachstumsperiode und dem Auftreten von Krankheiten und Schädlingen.

Tabelle 12: Durchschnittlicher Gehalt der Kartoffelknolle an den wesentlichen Inhaltsstoffen

Inhaltsstoff	Gehalt (% der Gesamtknolle)
Wasser	80
Trockensubstanz	20
Kohlenhydrate	16,9
Protein	2,0
Fett	0,1
Asche	1,0

4.4.5 AMINOSÄUREZUSAMMENSETZUNG UND PROTEINGEHALT

4.4.5.1 EINLEITUNG

Kartoffelproteine zählen zu den wertvollsten pflanzlichen Proteinen mit einem hohen Gehalt an Lysin (Lindner et al., 1980-81).

Die Stärkeindustrie produziert große Mengen an Kartoffelfruchtwasser. Über 60% der gelösten Stoffe des anfallenden Fruchtwassers besteht aus Stickstoffsubstanzen. Die Hälfte davon kann koaguliert und dann gewonnen werden, wobei meist die Hitzeokoagulation eingesetzt wird (Woolfe, 1996). Das Interesse an einer Gewinnung der darin enthaltenen Kartoffelproteine ist hoch, unter anderem wegen ihres potenziell hohen Nährwertes.

Der durchschnittliche Gehalt an Gesamtprotein in der Kartoffel beträgt etwa 2% der Frischsubstanz und ca. 10% der Trockensubstanz. Bezogen auf die Trockensubstanz ist dieser vergleichbar mit dem von Getreiden und von gekochtem Reis. Zwischen verschiedenen Sorten von *S. tuberosum* wurde eine große Spannweite für den Rohproteingehalt gefunden, die zwischen 9,5% und 14% der Trockensubstanz liegen (Hoff et. Al, 1978; s. ebenso Espinola, 1979; Snyder und Desborough, 1980; International Potato Center, unveröffentlichte Daten).

Das Rohprotein der Kartoffel besteht aus löslichem, koagulierbaren (Rein)Protein, aus unlöslichem Protein und unlöslichem nichtproteinartigem Stickstoff wie freien Aminosäuren, Amiden, Nukleinsäuren und Alkaloiden. Die unlösliche Proteinfraction befindet sich hauptsächlich in der Schalenzone (Woolfe, 1996). Der lösliche, koagulierbare Reinproteinanteil der Kartoffel enthält einen bedeutenden Anteil an essentiellen Aminosäuren. Vergleicht man den Gehalt der Kartoffel an essentiellen Aminosäuren mit anderen bedeutenden Nahrungsmitteln wie Weizen, Reis oder Bohnen, so liegt ihr Vorteil in ihrem hohen Lysingehalt (siehe *Tab. 13*), der mit dem des ganzen Eies vergleichbar ist (Van Gelder und Vonk, 1980). Dafür besitzt sie geringere Mengen an den schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystein (Woolfe, 1996).

Tabelle 13: Essentielle Aminosäuren der Kartoffel und anderer pflanzlicher Nahrungsmittel

Nahrungsmittel	essentielle Aminosäuren (g/16 g N)								
	His	Ile	Leu	Lys	Met+ Cys	Phe+ Tyr	Thr	Trp	Val
Kartoffel	1,9	4,2	6,1	5,4	2,9	7,4	3,8	1,4	5,1
Weizen (weißes Mehl)	2,1	3,8	7,0	1,9	4,2	7,4	2,7	1,1	4,3
Reis (weiß, gemahlen)	2,4	3,8	8,2	3,7	3,7	8,8	3,4	1,3	5,8
Hafermehl	2,1	3,8	7,2	3,7	4,5	8,3	3,4	1,3	5,1
Bohnen (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	2,9	4,2	7,7	7,2	1,9	7,9	4,0	1,0	4,6

Tabelle aus Woolfe (1996), errechnet aus Werten von Paul und Southgate (1978)

Während Methionin bei einigen Sorten die limitierende Aminosäure darstellt (Kaldy & Markakis, 1972), zeigte Rexen (1976), dass diese bei anderen Sorten Isoleucin ist.

„Eine Analyse des gefriergetrockneten, koagulierbaren Proteins von 34 Sorten zeigte, dass... nur eine geringe Variation in der Aminosäurezusammensetzung zwischen den Sorten feststellbar war (Woolfe, 1996; zit. n. Van Gelder und Vonk, 1980). Dagegen konnten bei einer anderen Analyse von 40 Genotypen große Unterschiede im Anteil an essenziellen Aminosäuren am Reinprotein festgestellt werden (Woolfe, 1996; zit. n. Desborough & Weiser, 1974).

Die Aminosäurezusammensetzung einer bestimmten Kartoffelsorte ist genetisch festgelegt und kann durch äußere Umstände nur wenig verändert werden (Eppendorfer et. al., 1979).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Aminosäurezusammensetzung des hitze-koagulierbaren Anteils des Proteins, der den Hauptbestandteil des Kartoffelproteins darstellt (Neuberger & Sanger, 1942; Mulder & Bakema, 1956), analysiert.

4.4.5.2 MATERIAL UND METHODEN

Die Analyse der Aminosäurezusammensetzung wurde durchgeführt am Wissenschaftszentrum Straubing in der Abteilung Chemie biogener Rohstoffe.

Als Ausgangsmaterial der Untersuchungen wurden Knollen der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* der Anbauversuche an den Standorten Freising und Carlsgrün verwendet.

Die Gewinnung des Kartoffelpresssaftes erfolgte in Anlehnung an die Vorgehensweise von Lindner et al. (1980-81), die Isolierung des hitze-koagulierbaren Anteils des Kartoffelproteins aus dem Presssaft wurde durchgeführt nach der Methodik von Hughes (1958).

Je zwei Kartoffeln der Standorte Freising und Carlsgrün wurden gewaschen, geschält, in grobe Stücke geschnitten und einzeln nach Zugabe von ca. 0,5 Gramm NaCl und 0,1 Gramm NaHSO₃ in einem Moulinex Moulinette Zerkleinerer in kleine Stückchen zerhackt. Die kleingehackte Masse wurde anschließend durch ein feuchtes, sauberes Leinentuch gepresst und der Saft in 50 ml Falcons aufgefangen. Nach Verdünnung des Presssafts mit dem gleichen Volumen an bidestilliertem Wasser erfolgte ein Zentrifugationsschritt für zehn Minuten bei 5000 rpm und Raumtemperatur, um Reste der Stärke und gröbere Bestandteile abzutrennen. Der Überstand wurde jeweils in 50 ml Falcons gefüllt und ca. eine Stunde bei 85°C im Wasserbad unter ständigem Rühren erhitzt, wodurch das hitze-koagulierbare Protein ausflockte. Nach einem weiteren Zentrifugationsschritt für zehn Minuten bei 5000 rpm und Raumtemperatur wurde der Überstand verworfen und das Pellet zweimal mit 0,5% (v/v) Essigsäure und zweimal mit absolutem Ethanol nach erfolgter Resuspension gewaschen. Die sich jeweils daran anschließenden Zentrifugationsschritte zur Trennung der Waschflüssigkeit vom Protein-Pellet erfolgten für fünf Minuten bei 5000 rpm und Raumtemperatur. Die Pellets wurden anschließend in einem Desiccator und unter Anlegen eines Vakuums für ca. sechs Stunden getrocknet, bis das Protein als weiße Substanz vorlag.

Von diesen Proteinproben wurden jeweils ca. 25 mg mit 6,5 ml 6 M HCl in Schraubdeckelröhrchen bei 110°C im Thermoblock für ca. 22 Stunden hydrolysiert.

Nach mehreren Verdünnungsschritten mit 0,1 M Bromatpuffer, pH 10, wurden die Proben bei einer Verdünnung von 1:500 mittels RP-HPLC analysiert. Die Quantifizierung der Aminosäuren erfolgte über einen externen Standard und die Erstellung von Kalibriergeraden. Der Standard bestand aus einer Aminosäuremischung, bestehend aus den Aminosäuren Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Serin (Ser), Histidin (His), Glycin (Gly), Threonin (Thr), Arginin (Arg), Alanin (Ala), Tyrosin (Tyr), Cystin (Cystein-Cystein (Cys)), Valin (Val), Methionin (Met), Phenylalanin (Phe), Leucin (Leu), Isoleucin (Ile) und Lysin (Lys), dem die Aminosäuren Tryptophan (Trp) und Glutamin (Gln) zugesetzt wurden. Von dieser Ausgangslösung mit einer jeweiligen Konzentration der Aminosäuren von 2,5 mM wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt, aus der die einzelnen Kalibriergeraden erstellt wurden. Nach dem Probenauftrag und erfolgter Trennung wurde über die jeweils ermittelte Konzentration der einzelnen Aminosäuren deren Masse in Milligramm pro Gramm der für die Hydrolyse eingewogenen Proteinmasse bestimmt.

Die Trennung des Aminosäuregemischs erfolgte mittels RP-HPLC. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ist eine Form der Flüssigchromatographie. Chromatographische Prozesse sind allgemein formuliert Trennverfahren, die auf einem Massentransfer zwischen mobilen und stationären Phasen beruhen. Bei der HPLC wird das zu trennende

Komponentengemisch in der flüssigen mobilen Phase unter hohem Druck durch eine Säule gepumpt, die mit der stationären Phase dicht gepackt ist. Der hohe Druck ist bedingt durch die Verwendung von Partikeln der stationären Phase mit sehr kleinem Durchmesser. Durch unterschiedliche Wechselwirkungen der gelösten Analyten mit der mobilen und stationären Phase erfolgt eine Trennung des Gemischs in seine einzelnen Bestandteile, die zu verschiedenen Zeiten (Retentionszeiten) die Säule verlassen und dann von einem geeigneten Detektor nachgewiesen werden können. Die RP-HPLC ist eine Technik, bei der eine unpolare stationäre Phase und eine polare mobile Phase zur Trennung eingesetzt werden. Dies wird erreicht, indem die normalerweise polare Oberfläche der stationären Phase mit einer unpolaren Schicht von Alkanen bedeckt ist und so eine Umkehrung der Polarität resultiert.

Die Trennung der Proben erfolgte mithilfe einer HPLC-Anlage der Firma Dionex, Modell UltiMate 3000. Als Detektor wurde ein Fluoreszenz-Detektor eingesetzt. Die Anregungs- bzw. Emissionswellenlänge betragen: $\lambda_{EX}=337.0$ nm und $\lambda_{EM}=442.0$ nm. Um auch nicht-aromatische Aminosäuren erfassen zu können, wurden die Proben vor der eigentlichen Trennung mit dem Derivatisierungsreagenz ortho-Phtaldialdehyd (OPA) umgesetzt. Dabei bildet dieses mit den primären Aminofunktionen fluoreszierende Isoindolderivate. Die Aminosäure Prolin lässt sich auf diese Weise nicht nachweisen, da sie keine primäre Aminogruppe besitzt. Cystein bildet ebenfalls kein Derivat aus. Als Standard wurde deshalb Cystin eingesetzt.

Die Trennbedingungen waren wie folgt:

Mobile Phase:

Laufmittel A: 10 mM Na-Phosphat, pH 7,0

Laufmittel B: 45% Acetonitril, 45 % Methanol, 10% Wasser

Flussgeschwindigkeit der mobilen Phase: 0,400 ml/min

Gradient:

Zeitintervall [min]	% (v/v) Mobile Phase B
0.00 - 0.099	5,0
0.100 - 0.499	12,0
0.500 - 1.799	12,0
1.800 - 2.299	15,0
2.300 - 2.799	20,0
2.800 - 3.999	20,0
4.000 - 5.999	25,0
6.000 - 6.499	30,0
6.500 - 7.999	35,0
8.000 - 8.009	70,0
8.010 - 8.999	80,0
9.000 - 9.499	80,0
9.500 - 11.499	5,0
11.500 - 11.999	5,0
12.000	-

Temperatur des Autosamplers: 25°C

Temperatur Säulenofen: 50,0°C

Temperatur Fluoreszenz-Detektor (FLD): 40,00°C

Säulen: Triart, 2x 100 mm, Partikeldurchmesser 1,9 µM

Derivatisierung:

Reagenzien zur Derivatisierung:

Reagenz A: 0,1 M Boratpuffer, pH 10

Reagenz B: 7,5 mM OPA, 225 mM MPA in Boratpuffer

Reagenz C: Wasser bzw. Probe

Reagenz D: 1 M Essigsäure

Zur Derivatisierung wurde von der Injektions-Spritze zuerst 1 µl Luft aufgezogen, dann 5 µl von Reagenz A, anschließend 5 µl vom Reagenz B, vom Reagenz C bzw. von der Probe 1 µl, abschließend vom Reagenz B 5 µl. In der Spritze erfolgte die Mischung durch wiederholtes Auf- und Abziehen des Spritzenkolbens; als abschließender Schritt vor der

Probenaufgabe wurden 3 µl des Reagenz D zur Beendigung der Derivatisierungsreaktion und dann ein Luftvolumen von 11 µl aufgezogen.

Die vom Detektor erfassten Daten wurden verarbeitet von der Chromeleon Chromatography Data System Software der Firma Dionex.

4.4.5.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Ergebnisse der Analyse der Aminosäurezusammensetzung sind in *Tab. 14* dargestellt. Die jeweilig bestimmten Massen der einzelnen nachgewiesenen Aminosäuren wurden bezogen auf 1 Gramm des hitze-koagulierbaren Proteins bzw. sind in Prozent angegeben. Die Aminosäuren Tryptophan und Methionin konnten in den Proben nicht nachgewiesen werden. Unter den gegebenen Hydrolysebedingungen wird Tryptophan zerstört. Sind geringe Spuren von gelöstem Sauerstoff vorhanden, dann wird Methionin oxidiert. Die Amidgruppen von Asparagin und Glutamin hydrolysieren zu Asparaginsäure und Glutaminsäure und Ammoniumionen. Asparagin und Glutamin erscheinen deshalb nicht im Chromatogramm (Wydra, 2001). Im Folgenden wird Asx für die Summe von Asp und Asn bzw. Glx für die Summe von Glu und Gln verwendet.

Tabelle 14: Ergebnis der Analyse der Aminosäurezusammensetzung des hitze-koagulierbaren Proteinanteils

Amino- säure		Knollen aus den Anbauversuchen, mg/g hitze- koagulierbares Protein bzw. Prozentanteil am hitze- koagulierbaren Protein				Durchschnitt
		Freising	Freising	Carlsgrün	Carlsgrün	
His	mg/g	18,5	18,6	17,7	17,8	18,2
	%	1,8	1,9	1,8	1,8	1,8
Ala	mg/g	37,1	33,4	38,3	38,8	36,9
	%	3,7	3,3	3,8	3,9	3,7
Arg	mg/g	39,2	37,2	41,0	41,6	39,7
	%	3,9	3,7	4,1	4,2	4,0
Gly	mg/g	46,3	44,6	48,0	47,3	46,5
	%	4,6	4,5	4,8	4,7	4,7
Ile	mg/g	46,9	43,7	49,0	48,2	46,9
	%	4,7	4,4	4,9	4,8	4,7
Ser	mg/g	52,1	47,8	53,5	55,1	52,1
	%	5,2	4,8	5,3	5,5	5,2
Tyr	mg/g	57,4	42,9	56,5	55,3	53,0
	%	5,7	4,3	5,6	5,5	5,3
Phe	mg/g	60,0	53,7	60,4	60,0	58,5
	%	6,0	5,4	6,0	6,0	5,9

Cys	mg/g	61,6	63,4	63,7	64,3	63,2
	%	6,2	6,3	6,4	6,4	6,3
Val	mg/g	65,8	60,9	69,0	65,7	65,3
	%	6,6	6,1	6,9	6,6	6,5
Thr	mg/g	69,7	60,5	67,9	69,0	66,8
	%	7,0	6,1	6,8	6,9	6,7
Lys	mg/g	70,8	63,3	73,9	71,1	69,8
	%	7,1	6,3	7,4	7,1	7,0
Leu	mg/g	91,5	81,9	93,1	92,8	89,8
	%	9,2	8,2	9,3	9,3	9,0
Glx	mg/g	93,6	83,6	94,7	109,9	95,5
	%	9,4	8,4	9,5	11,0	9,5
Asx	mg/g	104,2	91,7	106,5	108,4	102,7
	%	10,4	9,2	10,7	10,8	10,3

Im Methodenteil wurde bereits erläutert, dass die Aminosäure Prolin keine primäre Aminogruppe besitzt und deswegen nicht detektiert werden konnte. Insgesamt wurden also 17 biogene Aminosäuren erfasst. Die Aminosäuren sind in der Tabelle in der Reihenfolge der steigenden Werte angeordnet, wobei zu beachten ist, dass sich aus oben genannten Gründen hinter den beiden höchsten Werten vier Aminosäuren verbergen.

Wie bereits in der Einleitung zu diesem Abschnitt erwähnt, ist die Aminosäurezusammensetzung einer bestimmten Sorte genetisch fixiert und kann durch äußere Umstände nur wenig beeinflusst werden. Dies konnte durch die durchgeführte Analyse weitgehend bestätigt werden. Eine der beiden untersuchten Knollen aus dem Anbauversuch bei Freising sowie die beiden Knollen des Standortes Carlsgrün wiesen ähnliche Werte bei der jeweiligen Aminosäurezusammensetzung auf, während die zweite Knolle aus dem Anbauversuch bei Freising bei dem überwiegenden Teil der Meßwerte unter den Werten der anderen Knollen lag. Die Knollen aus den Anbauversuchen der Standorte Freising einerseits und Carlsgrün andererseits, die sich hinsichtlich Bodenqualität und Witterungsverhältnisse sowie in verschiedenem Maße durchgeführten Düngungs- und Pflegemaßnahmen sehr unterschiedlich waren, wiesen ein weitgehend einheitliches Aminosäuremuster auf, siehe hierzu auch *Abb. 19* im Anhang. Sie zeigt einen Ausschnitt der vier übereinandergelegten Chromatogramme der jeweiligen Analysen, die zur Veranschaulichung des relativ einheitlichen Musters übereinandergelegt wurden.

In *Tab. 15* werden die gerundeten durchschnittlichen Werte der jeweiligen Anteile der Aminosäuren am hitze-koagulierbaren Protein der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* und Daten der Weltgesundheitsorganisation WHO (1985) gegenübergestellt. Es werden zum einen der vorgeschlagene ideale Aminosäurebedarf eines Kleinkinds, zum

anderen die Zusammensetzung von Protein der Nahrungsmittel Kartoffel, Kuhmilch und Ei mit der Aminosäurezusammensetzung der untersuchten Sorte verglichen. Die Aminosäurewerte-Werte der WHO sind angegeben in mg/g Rohprotein.

Tabelle 15: Gegenüberstellung der Ergebnisse der Aminosäurezusammensetzung des hitze-koagulierbaren Proteins der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* und Daten der WHO (1985)

AS (mg/g Rohprotein)	vorgeschlagener optimaler Bedarf		AS (mg/g hitze-koagulier- bares Protein), Durchschnitt	dargestellte Zusammensetzung		
	Kleinkind Durchschnitt	Spannweite		Kartoffel	Kuhmilch	Ei
His	26	18 - 36	18	20	27	22
Ile	46	41 - 53	47	39	47	54
Leu	93	83 - 107	90	59	95	86
Lys	66	53 - 76	70	60	78	70
Met+Cys	42	29 - 60	63 (nur Cys)	30	33	57
Phe+Tyr	72	68 - 118	112	78	102	93
Thre	43	40 - 45	67	39	44	47
Tryp	17	16 - 17	-	14	14	17
Val	55	44 - 77	65	51	64	66

Die von der WHO angegebenen Daten beschränken sich auf die essenziellen Aminosäuren, da deren Anteil an Nahrungsmitteln für die menschliche (und auch tierische) Ernährung ausschlaggebend ist. Bei der vorliegenden Betrachtung werden zwar Rohprotein und hitze-koagulierbares Protein miteinander verglichen. Ob die Zusammensetzung des hitze-koagulierbaren Proteinanteils ähnlich der des gesamten Rohproteins ist, konnte in der Literatur nicht gefunden werden. Kann trotzdem sollte eine angenäherte Aussage möglich sein, wenn davon ausgegangen wird, dass der hitze-koagulierbare Teil einen wesentlichen Teil des Gesamtproteins darstellt. Ein Vergleich zeigt, dass die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* im hitze-koagulierbaren Proteinanteil bis auf die Aminosäure Histidin alle von der WHO angegebenen Werte für die Kartoffel im Rohprotein übertraf. Verglichen mit Kuhmilch lagen die Werte für Threonin und Valin sowie für die Kombinationen Methionin/Cystein und Phenylalanin/Tyrosin ebenfalls über denen von Kuhmilch. Die Aminosäuregehalte stimmen mit denen von Eiern ungefähr überein. Somit ist die Aminosäurezusammensetzung des hitze-koagulierbaren Anteils vergleichbar mit der von tierischem Eiweiß. Interessant in diesem Zusammenhang ist, dass sich bei einer

Untersuchung von Kartoffelprotein verschiedener Sorten fünf für die Stärkeproduktion genützte Sorten durch eine hohe Proteinqualität ausgezeichnet haben (Rexen, 1976). Gerade die Kombination von hohem Stärkegehalt und hoher Proteinqualität lässt eine möglichst effiziente Nutzung dieser Kulturpflanze zu.

Die Kenntnis der Aminosäurezusammensetzung des Kartoffelproteins allgemein ist insofern wichtig, als ein Einfluss des Gehalts bestimmter Aminosäuren auf die Verarbeitungseigenschaften festgestellt wurde. So sind z.B. ein hoher Gehalt an Tyrosin und Prolin und ein niedriger Gehalt an Leucin und Isoleucin Voraussetzung für eine minimale Bräunung durch ungewünschte Maillard-Reaktionen beim Herstellungsprozess von Chips (Rexen, 1976; zit. n. Holm, 1974).

Die Gründe für eine ausschließliche Analyse des hitze-koagulierbaren Proteins waren zum einen die Überlegung, dass die unlösliche Proteinfraction sich hauptsächlich in der Schalenzone (Woolfe, 1996) befindet und diese beim Schälen weitgehend verloren gehen dürfte. Der lösliche, koagulierbare Proteinanteil enthält außerdem, wie bereits erwähnt, den Hauptteil des Gesamtproteins, womit bei einer Isolierung des hitze-koagulierbaren Proteinanteils aus dem Presssaft und der Analyse der Aminosäurezusammensetzung dieser Proteinfraction ein repräsentatives Ergebnis erzielt worden sein dürfte. Zum anderen musste für die in der zur Verfügung stehenden Zeit eine Methodik angewandt werden, die rasch und unkompliziert durchführbar war. Nicht zuletzt wird durch die Analyse des hitze-koagulierbaren Proteinanteils eine Aussage über die Aminosäurezusammensetzung der Fraction möglich, die auch in größerem Maßstab schnell und relativ kostengünstig aus bei der Stärkeindustrie anfallenden flüssigen Abfällen abgetrennt und verwertet werden kann. Für einen exakten Vergleich wäre für die Zukunft eine Untersuchung des Rohproteingehalts der Sorte erforderlich.

Proteingehalt:

Zeitgleich zu dieser Arbeit wurde im Rahmen einer Bachelorarbeit zur Entwicklung eines Verfahrens zur schnellen Messung des Proteingehalts von Kartoffeln unter Verwendung der Nah-Infrarot-Reflexions-Spektroskopie (NIRS) u.a. der Proteingehalt der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* gemessen (Glauer, 2011). Es wurde von der Herkunft Fritz Gebelein und Helmut Hornfeck je eine Knolle des Standorts Carlsgrün aus der Ernte des Vorjahres (2010) untersucht. Der mittlere Proteingehalt lag bei 8,68% i. d. TM. Dieses Ergebnis ist statistisch nicht gestützt, da dafür eine höhere Anzahl von Knollen zur Untersuchung hätte herangezogen werden müssen. Aufgrund des relativ hohen Proteingehalts der Knolle der Herkunft Fritz Gebelein wurden weitere Knollen aus den Anbauversuchen des Jahres 2011

an die Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen (AQU4) der LfL Freising übergeben.

Dort wurde der Proteingehalt der Knollen mittels NIRS und parallel dazu mittels einer Stickstoffuntersuchung nach Kjeldahl analysiert. Für die Probennahme wurden von den Anbauversuchen der Standorte Freising und Carlsgrün bei der Ernte jeweils von den Reihen 2 und 3 der Versuchspartzellen von Exemplaren der Herkunft Fritz Gebelein die gesamten Knollen jeder Pflanze („Horst“) einzeln in Tüten verpackt. Für die Bestimmung des Proteingehalts wurden von den beiden Anbauversuchen die Knollen von je fünf Horsten getrennt analysiert. Die Ergebnisse sind in *Tab. 16* zusammengefasst.

Tabelle 16: Ergebnis der Bestimmung des Proteingehalts der Knollen der Herkunft Fritz Gebelein der Standorte Freising und Carlsgrün

		Schwarzblaue aus dem Frankwald, Herkunft Fritz Gebelein	
		Freising	Carlsgrün
	Horst -Nummer:		
	1	7,24	5,25
Proteingehalt [% i.d. TM], bestimmt mit NIRS	2	7,41	6,08
	(3	4,57)	4,63
	4	7,04	4,89
	5	7,13	6,03
	Mittelwert:	7,21	5,38

Anmerkung: Der in Klammern stehende Wert 3 wird als Ausreißer behandelt und geht in die Berechnung des Mittelwerts nicht ein.

Der Mittelwert der Horste betrug am Standort Freising 7,21% i. d. TM, wenn der Wert des dritten Horstes mit 4,57% i. d. TM als Ausreißer gewertet wird. Der Mittelwert der Horste des Standortes Carlsgrün lag mit 5,38% i. d. TM unter dem Wert von Freising. Die mittlere Standardabweichung zwischen den Knollen der verschiedenen Horste lag bei 0,88 bzw. 0,85. Die Ergebnisse der nasschemischen Kjeldahl-Analyse stehen jedoch noch aus.

Im Vergleich zu anderen Kartoffelsorten lagen die Proteingehalte i. d. TM nach Aussage der Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen somit etwas über dem Durchschnitt.

Eine Erklärung für den unterschiedlichen Proteingehalt der Knollen unterschiedlicher Standorte ist die Düngung bzw. die Versorgung der Pflanzen mit pflanzenverfügbarem Stickstoff. Im Gegensatz zur genetisch festgelegten Aminosäurezusammensetzung einer bestimmten Kartoffelsorte nimmt der Rohproteingehalt mit steigender Stickstoffversorgung

zu (Woolfe, 1996; zit. n. Tjørnholm et al., 1975). Der niedrigere Proteingehalt bei den Knollen des Anbauversuchs bei Carlsgrün ist vermutlich auf eine geringere Stickstoffversorgung der Pflanzen gegenüber dem Anbauversuch bei Freising zurückzuführen. Parallel dazu konnte ein geringerer Knollenertrag festgestellt werden, wie dies unter Punkt 4.4.1 bereits diskutiert wurde. Das Anbaufeld bei Freising wurde im Frühjahr unmittelbar vor der Pflanzung mit ca. 108 kg mineralischem N pro ha gedüngt, während der Acker bei Carlsgrün im Herbst 2010 und Frühjahr 2011 mit einer Mistmischung, also organischer Substanz (ca. 20t/ha), gedüngt wurde. Bei organischem Dünger ist nur ein bestimmter Anteil des enthaltenen Stickstoffs für die Pflanzen direkt verfügbar, es sind Mineralisierungsprozesse erforderlich, die von der Witterung abhängen und nicht steuerbar sind. Die ungefähre, durch Düngung zur Verfügung stehende Menge an N an diesem Standort betrug nach Berechnung zwischen 15 und 79 kg pro ha, je nachdem, ob der organische Dünger regelmäßig über einen längeren Zeitraum eingesetzt wurde oder nicht. Außerdem war der Wert für den N_{\min} -Gehalt des Bodens nach der „Düngeberatung für Stickstoff“ der LfL, wie bereits erwähnt, in Carlsgrün geringer als in Freising. Somit bestand ein erheblicher Unterschied in der Stickstoffversorgung der Pflanzen an den beiden Standorten.

4.5 UNTERSUCHUNG AUF VIRENBEFALL UND VORBEREITUNGEN FÜR DIE BEREITSTELLUNG VIRENFREIEN PFLANZGUTS

4.5.1 UNTERSUCHUNG AUF VIRENBEFALL

4.5.1.1 EINLEITUNG

Kartoffeln gehören zu den Kultursorten, die ausschließlich vegetativ über die Knollen vermehrt werden. Durch diese Vermehrungsform besteht die Gefahr, Pilze, Bakterien und vor allem Viren von einer Generation zur nächsten zu übertragen. „Ein Virusbefall an Kartoffelpflanzen kann sowohl qualitative wie auch quantitative Auswirkungen [auf die Ernte] haben“ (Rek, 1987). Aus diesem Grund hat die Erhaltungszüchtung eine besondere Bedeutung für die Gesunderhaltung des Pflanzgutes. Die Verwendung von gesundem, zertifiziertem Ausgangsmaterial ist eine der wichtigsten Voraussetzungen für einen wirtschaftlichen Ertrag (Rek, 1987).

Mehrmaliger oder ein bei alten Kartoffelsorten üblicher ständiger Nachbau ohne Wechsel der Saatkartoffeln führt zu einer oft hochgradigen Virenverseuchung, was wiederum starke Abfälle im Knollen-, aber auch Stärkeertrag zur Konsequenz hat. Alte, virenbefallene Kartoffelsorten könnten langfristig verschwinden, denn die Viren können in gewissen Fällen

zur totalen Degeneration der Sorte führen (Công-Linh, 2004). Schon im Vorfeld lag bei der hier untersuchten Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* die Vermutung nahe, einen hohen Verseuchungsgrad mit verschiedenen Virenarten vorzufinden, die gestützt wurde durch Aussagen der Landwirte hinsichtlich stark schwankender Erträge der Sorte, ein Indikator für starken Virenbefall.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden neben einer visuellen Virenbonitur der Pflanzen der Anbauversuche der Standorte bei Freising und Carlsгүй mehrere Untersuchungen unterschiedlichen Materials auf verschiedene Viren mittels ELISA-Test durchgeführt. ELISA bezeichnet ein immunologisches Nachweisverfahren, das auf einer enzymatischen Farbreaktion basiert.

4.5.1.2 MATERIAL UND METHODEN

ELISA-Tests:

Das gesammelte Probenmaterial wurde mit Hilfe eines DAS-ELISA Kits der Firma BIOREBA AG Switzerland nach Vorschrift des Herstellers, soweit nicht anders erwähnt, durchgeführt. Untersucht wurde dabei auf Y-Virus (PVY), S-Virus (PVS), Blattrollvirus (PLRV) und M-Virus (PVM) sowie auf X-Virus (PVX) und A-Virus (PVA).

Die nachfolgenden Arbeitsschritte wurden von Frau Ursula Scheuerer der Abteilung IPZ 3a der LfL Freising durchgeführt. Presssaft aus den Blattproben wurde mit einer MEKU-Presse gewonnen, der Pflanzenextrakt mit Pipetten aufgetragen. Das Füllen der Vertiefungen der Microtiterplatten mit den entsprechenden Puffern erfolgte mit einem MEKU Multipipetter 2600 der MEKU Erich Pollähne GmbH.

Im ersten Schritt des Coatings wurde der für das jeweilige Virus spezifische Antikörper (IgG) auf die Oberfläche der Vertiefungen der Microtiterplatten gebunden. Der Antikörper wurde mit dem Beschichtungspuffer 1000fach verdünnt und je 160 µl bei Virusuntersuchung auf PVRV, PVY, PVM und PVS, je 110 µl bei Virusuntersuchung auf PVA und PVX, in jede Vertiefung gegeben. Anschließend wurden die Platten während vier Stunden bei 30°C inkubiert.

Beim nachfolgenden Waschschrift wurden die Vertiefungen geleert und drei bis vier Mal mit Waschpuffer gewaschen und verbleibende Flüssigkeit ausgeklopft.

Zur Inkubation mit dem Pflanzenextrakt aus den Blattproben wurden diese mit Extraktionspuffer gemischt und bei 1400 u/min zentrifugiert. Vom Überstand jeder Probe

wurden 150 µl (jeweils 100 µl bei Testung auf PVA und PVX) in jede Vertiefung der Microtiterplatte gegeben. Nach dem Abdecken der Platten wurden diese bei 4 ° C über Nacht inkubiert, dann analog dem ersten Waschschrift ein zweites Mal gewaschen.

Zur Inkubation mit dem enzym-markierten Antikörper wurde das IgG-Konjugat im Konjugatpuffer 1000fach verdünnt. Jeweils 150 µl (jeweils 100 µl bei Testung auf PVA und PVX) einer jeden Probe wurden in jede Vertiefung gegeben. Die bedeckten Platten wurden dann bei 30 ° C während fünf Stunden inkubiert und anschließend wieder analog dem ersten Waschschrift gewaschen.

Der letzte Schritt bestand in der Farbreaktion. Hierfür wurde 1mg/ml p-Nitrophenolphosphat in Substratpuffer gelöst und je 150 µl (je 100 µl bei Testung auf PVA und PVX) in jede Vertiefung gegeben, dann bei Raumtemperatur die Platten im Dunkeln inkubiert. Nach 30 bis 120 Minuten trat bei positiven, d.h. infizierten Proben eine Farbreaktion ein, die sich durch eine gelbe Färbung erkennen ließ, deren Intensität visuell geschätzt wurde.

Geprüft wurde Blattmaterial von 15 Augenstecklingen als Vorbereitung für die Bereitstellung virenfreien Pflanzguts, Proben der Pflanzen der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* unterschiedlicher Herkunft aus dem Anbauversuch „Feld Varietäten“, die Pflanzen verschiedener Sorten im Gewächshaus für die Bereitstellung von DNA für die Genom-Analyse sowie die Pflanzen der 1. Wiederholung des Anbauversuchs am Standort Freising („Feld am Bahngleis“). Dabei wurde wie folgt vorgegangen:

Von 15 Knollen aus dem Saatgut des Landwirts Fritz Gebelein aus Carlsgrün wurden mit einem Kugelausstecher einzelne Knospen, die sog. Augen, ausgeschnitten und diese in Töpfe mit Sand als Substrat gepflanzt und gedüngt. Für eine spätere Zuordnung wurden die Knollen markiert. Nach ca. vier Wochen wurden von den herangewachsenen Augenstecklingen Blattproben gesammelt. Eventuell vorhandene Viren hatten so genügend Zeit, um sich in ausreichender Menge anzusammeln. Je nach Blattgröße wurden Blattteile oder ganze Blätter mit der Hand entfernt. Ziel war hierbei, unter den Pflanzen ein virenfrees Exemplar zu finden.

Es wurden von der im Versuchsfeld „Varietäten“ kultivierten Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* von den je zehn Exemplaren der Herkunft Fritz Gebelein, Helmut Hornfeck, Wilmar Degel, Bauersachs und Doris Tröppner sowie von den vier Pflanzen der Herkunft IPK Gatersleben/Genbank Groß Lüsewitz und von den neun Individuen der Herkunft Verein Arche Noah Blattproben gesammelt und getestet.

Von allen im Gewächshaus angezogenen Pflanzen verschiedener blauschaliger Sorten wurden Blattproben entnommen und getestet.

Vom Anbauversuch am Standort Freising wurden Blattproben von allen Pflanzen der 1. Wiederholung, also von der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* der Herkunft Fritz Gebelein und Helmut Hornfeck und von den Vergleichssorten *Agria* und *Jelly* gepflückt und getestet.

Visuelle Virenbonitur:

Parallel zu den im Labor durchgeführten ELISA-Tests erfolgte eine visuelle Bonitur des Virenbefalls der Pflanzenbestände des Anbauversuchs „Feld am Bahngleis“ bei Freising am 7. Juni 2011 und des Anbauversuchs bei Carlsgrün am 14. Juli 2011, jeweils zu einem Zeitpunkt, an dem die Symptome eines Befalls deutlich erkennbar waren. Es wurde der Zustand der Pflanzen nach leichten und schweren Symptomen bzw. Befall durch Blattrollvirus (PLRV) beurteilt. Leichte und schwere Symptome sind die Folge eines Befalls mit PVY bzw. PVM und äußern sich durch Auffälligkeiten der Blattstruktur wie Kräuselungen, Rauigkeit oder abwechselnd helle und dunkle Bereiche im Blatt, sowie Stauchung der Pflanzen. Die durch eine Infektion mit PLRV bedingten Symptome sind immer schwer; die Pflanzen sind u.a. an kahnförmig nach oben gerollten Blattpfiedern des unteren Pflanzenbereichs zu erkennen.

4.5.1.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In Abhängigkeit vom untersuchten Material war die Auswertung der ELISA-Platten unterschiedlich. Bei der Untersuchung auf den M-Virus mit dem Kit von der Firma Bioreba zeigten alle Proben der im Gewächshaus gezogenen Augenstecklinge der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* eine mehr oder weniger einheitliche Gelbfärbung, die als eine Art „Hintergrundfärbung“ gedeutet wurde und das Auswerten einzelner Proben unmöglich machte. Bei dem deswegen in einem zweiten Durchgang verwendeten Kit der Firma Neogen konnten dagegen negative und positive Proben unterschieden werden.

Keine Probleme bereitete dagegen Blattmaterial, das von Pflanzen des Anbauversuchs bei Freising geerntet wurde sowie die Proben, die von den aus Knollen gezogenen Pflanzen der unterschiedlichen Sorten bzw. unterschiedlicher Herkunft stammten. Wie gut die Bonitierung auf Virusbefall mittels ELISA durchführbar ist, hängt folglich vom untersuchten Material, d.h. letztendlich von der untersuchten Sorte, sowie vom Hersteller der ELISA-Kits ab.

Die einzelnen Ergebnisse der durchgeführten ELISA-Tests sind im Folgenden aufgeführt.

Alle 15 der im Gewächshaus gezogenen Augenstecklinge waren virenbefallen, allerdings in unterschiedlichem Ausmaß. Bei allen Pflänzchen konnte PVM nachgewiesen werden, bei fünf außerdem PVY, von denen wiederum zwei als dritte Virenerkrankung PVS hatten. Bei einem Augensteckling lagen zusätzlich zu PVM PLRV und PVS vor. Die Augenstecklinge wurden aufgrund dieser Ergebnisse nicht als Ausgangsmaterial für die Gewinnung virenfreier Pflanzen verwendet. Vielmehr wurde ausgehend von einer virenfreien Knollenhälfte der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* ein Lichtkeim zur Vermehrung virenfreier Materials eingesetzt (siehe Punkt 4.5.2).

Bei den im Versuchsfeld „Varietäten“ kultivierten Exemplaren der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* konnten im ELISA-Test bei der Herkunft Fritz Gebelein, Helmut Hornfeck, Wilmar Degel, Bauernsachs und Doris Tröppner ausschließlich infizierte Pflanzen nachgewiesen werden. PVM war bis auf eine Ausnahme bei allen Pflanzen vorhanden. Einzelinfektionen lagen kaum vor, dafür viele Doppel- und Dreifachinfektionen mit PVY, PVS und PVR in unterschiedlicher Kombination. Von den vier Exemplaren der Herkunft Genbank Groß Lüsewitz waren drei virenfrei, die vierte Pflanze war mit PVY infiziert. Von neun Pflanzen der Herkunft Verein Arche Noah waren fünf virenfrei, eine Pflanze war mit PVS, drei Pflanzen mit PVM infiziert.

Bei den im Gewächshaus gepflanzten Exemplaren verschiedener Sorten war die Mehrzahl infiziert. Die am häufigsten nachgewiesene Virentypen waren PVY und PVS. Bei den Sorten *Skerry Blue* und *Solnyschko* konnte PVX nachgewiesen werden. Virenfrei waren nur die Pflanzen der Sorten *Mrs. Moerle's Purple Baker*, *Südtiroler 1* und *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, Herkunft Arche Noah, Groß Lüsewitz und Fritz Gebelein. Bei einem zwei Wochen später durchgeführten ELISA-Test an Blattproben der letztgenannten drei Pflanzen war nur noch das Exemplar der Herkunft Arche Noah virenfrei. Es hatte vermutlich in der Zwischenzeit eine Infektion durch Übertragung der Viren über Blattläuse stattgefunden. Das virenfreie Exemplar der Herkunft Arche Noah war aus einer halben Knolle gezogen worden. Die andere Knollenhälfte, die zur Bildung von Lichtkeimen für die Merkmalsbeschreibung verwendet wurde, war folglich mit großer Wahrscheinlichkeit ebenfalls virenfrei. Der gebildete Lichtkeim wurde deswegen wie bereits erwähnt als Ausgangsmaterial für die Bereitstellung virenfreier Pflanzguts herangezogen.

Die Ergebnisse des ELISA-Tests an den Pflanzen des Anbauversuchs Standort Freising, 1. Wiederholung, sind in *Tab. 17* zusammengefasst.

Tabelle 17: Ergebnis des ELISA-Tests , Anbauversuch bei Freising, 1. Wiederholung

Virus	Herkunft	SBF Fritz Gebelein	SBF Helmut Hornfeck	Agria	Jelly
aufgelaufene Pflanzen		39	38	40	39
PLRV		8	4	0	0
PVY		6	3	3	0
PVM		31	30	0	0
PVA		0	0	0	0
PVX		0	0	0	0
PVS		14	36	2	0
virenfrei		(2)	0	36	39

Anmerkung: Mehrfachinfektionen mit bis zu 3 Virentypen

Die Untersuchung dieser Kartoffelpflanzen mittels ELISA hat, ebenso wie die Virustestung der im Gewächshaus gezogenen Augenstecklinge und der Exemplare des Versuchsfelds „Varietäten“, gezeigt, dass das Pflanzgut der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* beider Herkünfte, d.h. der Herkunft Fritz Gebelein (Parzelle 1) und der Herkunft Helmut Hornfeck (Parzelle 2), stark virenbelastet ist. Von den untersuchten Pflanzen der Parzelle 1 waren zwei von 39 aufgelaufenen Exemplaren ohne Virenbefall. Wie sich zum Zeitpunkt der Ernte herausgestellt hat, handelte es sich bei diesen als virenfrei getestete Pflanzen um eine andere Sorte (vermutlich Agria oder Quarta), erkennbar an den gelbschaligen Knollen. Von den Pflanzen der Parzelle 2 war keine einzige virenfrei. Dagegen zeigten die Vergleichssorten *Agria* und *Jelly* 90 % bzw. 100% Virenfreiheit. Bei keiner Pflanze der vier untersuchten Parzellen konnte PVA oder PVX nachgewiesen werden. Dagegen traten PVS und PVM sehr häufig bei der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* auf. Vom Pflanzgut der zweiten Herkunft wiesen fast 95% PVS auf. PVM war bei den Pflanzen der Herkunft 1 zu fast 80% vorhanden. Das Blattrollvirus war mit ca. 18% bzw. 11% nicht so dominant, das PVY war etwas weniger vertreten. Ein nicht unerheblicher Teil zeigte eine Mischinfektion in Form einer Doppel- bzw. Dreifach-Infektion, Infektionen mit nur einem Virustyp machten etwas über die Hälfte bei der ersten Herkunft aus, siehe *Tab. 18*.

Tabelle 18: Zusammenfassung der Häufigkeit von Einzel- und Mehrfachinfektionen

	SBF Fritz Gebelein	SBF Helmut Hornfeck	Agria	Jelly
Anzahl Pflanzen mit Einfachinfektion	21	8	3	0
nur S	3	6	1	0
nur M	15	1	0	0
nur Y	2	1	2	0
nur V	1	0	0	0
Anzahl Pflanzen mit Zweifachinfektion	10	25	1	0
S und M	6	24	0	0
Y und M	2	0	0	0
R und M	2	0	0	0
S und Y	0	1	1	0
R und Y	0	0	0	0
Anzahl Pflanzen mit Dreifachinfektion	6	5	0	0
S, R und M	4	4	0	0
Y, R und M	1	0	0	0
S, Y und M	1	1	0	0

Wie bereits bei den Erträgen diskutiert, scheinen Infektionen mit verschiedenen Viren, also Zweifach- oder gar Dreifachinfektionen, eine Art synergistischen bzw. negativ verstärkten Effekt auf die befallenen Pflanzen auszuüben. Bei der Betrachtung des jeweiligen Knollenertrags wurde festgestellt, dass die Pflanzen der Herkunft Fritz Gebelein zwar einen größeren Anteil an PVY- und PLRV-Infektionen aufweisen als die der Herkunft Helmut Hornfeck, die wiederum einen größeren Anteil an Zweifachinfektionen haben. Dennoch liegt ihr Ertrag bei der getesteten Wiederholung um ca. 20% höher.

Bedingt durch die virale Erkrankung aller im Anbauversuch „Feld am Bahngleis“ vorliegenden Pflanzen der untersuchten Sorte der Herkunft Fritz Gebelein und Helmut Hornfeck und der damit einhergehenden morphologischen Veränderungen des Wuchsbildes bzw. des Habitus war eine Durchführung der Sortenbeschreibung an diesem Material nicht sinnvoll. Virale Erkrankungen führen bei den betroffenen Pflanzen je nach Virentyp u.a. zu Blattverfärbungen, eingerollten Blättern und gestrecktem bzw. auch gestauchtem Wuchs oder einer Entwicklungsverzögerung. Stattdessen wurden hierfür die teils virenfreien Individuen aus dem Pflanzgut der Herkunft Arche Noah und Datenbank Groß Lüsewitz herangezogen, die im Anbauversuch „Varietäten“ gelegt worden waren. Es standen, wie oben erwähnt, acht gesunde Pflanzen für die Sortenbeschreibung zur Verfügung, wobei aber

auch die erkrankten Pflanzen äußerlich keine bis kaum Symptome zeigten. Es ist möglich, dass es sich bei den nachgewiesenen Erkrankungen um Primärinfektionen handelte.

Visuelle Viren-Bonitur:

Abb. 9 zeigt eine Aufnahme des Versuchsanbaus bei Freising am 10. Juni 2011 mit Blick auf Parzelle 2 und 3 im Vordergrund. Es ist bei diesen nebeneinanderliegenden Parzellen deutlich der Unterschied zwischen der virenkranken Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* (Herkunft Helmut Hornfeck) und der rechts befindlichen Vergleichssorte *Agria* zu erkennen.



Abbildung 9: Anbauversuch am Standort bei Freising am 10. Juni 2011

Die Ergebnisse der visuellen Bonitur des Virenbefalls am Standort „Feld am Bahngleis“ bei Freising sind in *Tab. 19* und die der Bonitur am Standort Carlgrün in *Tab. 20* zusammengefasst.

Tabelle 19: Ergebnis der Bonitur des Virenbefalls am Standort bei Freising

Symptome	SBF FG	SBF HH	Agria	Jelly
keine	2%	1%	98%	100%
leicht	47%	48%	2%	-
schwer	39%	43%	unter 1%	-
Roller (PLRV)	8%	8%	-	-
nicht aufgelaufen	1%	-	-	1%

Die Bonitur des Virenbefalls der Pflanzen am Standort Freising bestätigt weitgehend die durch den ELISA-Test erzielten Ergebnisse. Es sei nochmals darauf hingewiesen, dass bei der visuellen Bonitur alle Wiederholungen beider Anbauversuche beurteilt wurden, während ELISA nur für die 1. Wiederholung des Anbauversuchs in Freising durchgeführt wurde. Die Vergleichssorten *Agria* und *Jelly* wiesen kaum bzw. keine erkennbare Symptome auf. Es wurden bei der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* beider Herkunftstypen Pflanzen ohne Symptome beobachtet. Im ELISA-Test war in der 1. Wiederholung keine Pflanze virenfrei, es ist aber nicht auszuschließen, dass in den Wiederholungen 2 bis 4 virenfreie Pflanzen vorhanden waren. Außerdem ist es schwierig, zwischen symptomfreien Pflanzen und Exemplaren mit sehr leichten Symptomen zu unterscheiden. Auch eine Abgrenzung zwischen leichten und schweren Symptomen ist nicht immer eindeutig. Insgesamt kann aber festgestellt werden, dass ein sehr hoher Grad an Virenbefall bei der alten Sorte vorliegt.

Tabelle 20: Ergebnis der visuellen Bonitur des Virenbefalls am Standort Carlsgrün

Symptome	SBF FG	Agria
keine	6%	98%
leicht	63%	unter 1%
schwer	23%	-
Roller (PLRV)	8%	unter 1%
nicht aufgelaufen	1%	-

Das Ergebnis der Bonitur des Virenbefalls im Anbauversuch bei Carlsgrün weist im Vergleich zur Bonitur in Freising einige Abweichungen auf. So waren die Zahl der symptomfreien Pflanzen und die Zahl der Individuen mit leichten Symptomen jeweils höher, was aber mit den oben angesprochenen Schwierigkeiten der Unterscheidung der Schwere von Symptomen zusammenhing. Es kann davon ausgegangen werden, dass auch am Standort Carlsgrün kein oder nur sehr wenig Pflanzgut wirklich virenfrei war. Außerdem waren die Pflanzen in ihrem Wachstum weiter fortgeschritten als in Freising, wodurch bestimmte Symptome vielleicht schwerer zu erkennen waren. Die Anzahl der Pflanzen mit PLRV war gleich. Die auf PLRV zurückzuführenden typischen Symptome sind relativ leicht zu erkennen, was ihre Bonitur erleichtert. Die Vergleichssorte *Agria* zeigte an beiden Standorten den gleichen Grad an Symptomen.

4.5.2 VORBEREITUNGEN FÜR DIE BEREITSTELLUNG VIRENFREIEN PFLANZGUTS

4.5.2.1 EINLEITUNG

Die Bereitstellung virenfreien Pflanzguts aus virenbefallenen Pflanzen wird ermöglicht durch das biotechnologische Verfahren der Meristemkultur. Meristeme sind die ca. 0,2 bis 0,5 mm großen, Gewebeabschnitte der äußersten Spross- und Wurzelspitzen sowie der Achselknospen (Nodien), in denen sich meist keine Viren, Phytoplasmen oder Bakterien befinden und in denen hohe Zellteilungsaktivität herrscht. Es lassen sich pathogenfreie Pflanzen von infizierten Mutterpflanzen gewinnen, indem diese unter einem Stereomikroskop unter sterilen Bedingungen herausisoliert und auf einem speziellen Kulturmedium mit Hilfe von Phytohormonen innerhalb von einigen Wochen zur vollständigen Pflanze regeneriert werden. „Nach der ersten Subkultur werden die Pflanzen auf Pathogenfreiheit getestet (z.B. ELISA Test) und bei einem negativen Ergebnis weitervermehrt. Die Bewurzelung der Pflanzen kann *in vitro* oder bei der Akklimatisierung im Gewächshaus erfolgen“ (Stoiber und Gerlach, 2005).

Diese Methode ist jedoch mit sehr viel Aufwand verbunden und erfordert sehr viel Erfahrung bei der Durchführung. Liegt dagegen bereits virenfrees Pflanzenmaterial vor, so kann dieses ohne den oben beschriebenen Schritt der Virenfremmachung für die Vermehrung genutzt werden.

4.5.2.2 MATERIAL UND METHODEN

Wie unter Punkt 4.5.1.3 erwähnt, war keiner der 15 Augenstecklinge aus dem Pflanzgut von Oberfranken virenfrei. Allerdings wies, wie bereits erwähnt, die Kartoffelpflanze der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* der Herkunft Arche Noah, die im Gewächshaus aus einer halben Knolle angezogen worden war, im ELISA-Test bei zweimaliger Durchführung einen negativen Befund auf. Die korrespondierende Knollenhälfte, die für das Erzeugen eines Lichtkeims verwendet wurde, konnte so herangezogen werden als virenfrees Ausgangsmaterial für die Vermehrung von Pflanzgut.

Vom Lichtkeim wurden mit einer Rasierklinge der Haupt- und die Seitentriebe abgeschnitten, diese in Wasser gewaschen, in das vorher einige Tropfen Tween gemischt wurden. Die Triebe wurden dann über einem Keramiktrichter mit VE-Wasser gespült, für 30 Sekunden in einem Becherglas mit Ethanol gereinigt und anschließend wieder über den Trichter mit VE-Wasser gespült. Als letzter Waschschrift schloss sich ein Bad in 20%igem Natriumhypochlorit für dreieinhalb Minuten an, dem ein weiterer Spülgang mit VE-Wasser über dem Trichter unter sterilen Bedingungen folgte. Die so gereinigten Keimstücke wurden auf MS-Nährmedien gesetzt und bei 18°C im Brutraum platziert. Insgesamt wurden auf diese Weise sechs Platten mit Keimlingsgewebe hergestellt, von denen drei erfolgreich kultiviert und weitervermehrt werden konnten.

4.5.2.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Ein am 13. Oktober durchgeführter Virentest der zu diesem Zeitpunkt herangewachsenen Pflänzchen mittels ELISA zeigte, dass das Material frei von PVY, PVS, PLRV, PVM, PVX und PVA war und somit für eine weitere Vermehrung mit dem Ziel der Bereitstellung virenfreien Pflanzguts verwendet werden konnte.

Als weiteres potenzielles Material für eine schnelle Vermehrung standen die am 17. und 22. August geernteten Knollen der Pflanzen der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* des Varietäten-Anbaus zur Verfügung, die im Mai getestet und als virenfrei befunden wurden (siehe Punkt 4.5.1.3). Hier muss allerdings ein weiterer Virus-Test an in der Zukunft aus diesen Knollen gezogenen Pflanzen durchgeführt werden, um eine mögliche Primärinfektion über Blattläuse im Laufe der Vegetationsperiode zu einem späteren Zeitpunkt auszuschließen.

4.6 GENOMANALYSE MIT AFLP

4.6.1 EINLEITUNG

Bei einer umfassenden Betrachtung und Charakterisierung der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* stellte sich auch die Frage nach möglichen verwandtschaftlichen Beziehungen zu anderen Kartoffelsorten. Als Auswahlkriterium für eine mögliche nähere Verwandtschaft wurden dabei Sorten mit gleichen oder ähnlichen Merkmalen hinsichtlich Schalen- und Fleischfarbe der Knollen, also phänotypischen Merkmalen, in Augenschein genommen. Außerdem wurden Knollen der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* unterschiedlicher Herkunft, d.h. von verschiedenen Landwirten aus der Region, miteinander verglichen.

4.6.2 MATERIAL UND METHODEN

Das für die Untersuchung verwendete Material wurde von der Genbank des Vereins Arche Noah in Schilftern/Österreich sowie von der Genbank des Instituts für (IPK) Gatersleben, Außenstelle Groß Lüsewitz in Mecklenburg-Vorpommern, zur Verfügung gestellt. Die Auswahl der untersuchten Sorten aus dem Sortiment von Groß Lüsewitz erfolgte nach den Kriterien Schalenfarbe „blau“ und „dunkelviolet“ sowie Fleischfarbe „cremefarben“, „gelblich“ und hellgelb-gelblich“ anhand der von der Genbank erstellten Sortenliste, die entsprechende Merkmalsbeschreibungen der jeweiligen Knollen enthielt. Eine Auflistung dieser Sorten ist in *Tab. 21* und *Tab. 22* aufgeführt. Vom Verein Arche Noah aus Österreich wurden neben Knollen der *Schwarzblauen aus dem Frankenwald* Knollen von Sorten zugesendet, die hinsichtlich Schalen- und Fleischfarbe gleich oder ähnlich sind (siehe *Tab. 23*). Die Zahlen in Klammer hinter dem Merkmal „Fleischfarbe“ beziehen sich auf den internen Benotungs- bzw. Boniturschlüssel des Instituts bzw. Vereins.

Die jeweilige Herkunft der Knollen der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* aus der Region Frankenwald ist in *Tab. 24* beschrieben.

Insgesamt konnte auf diese Weise Probenmaterial von insgesamt 28 verschiedenen blau- bzw. dunkelviolettschaligen Sorten (die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* mitgezählt) und von der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* Pflanzen von potenziell sieben verschiedenen Herkünften bereitgestellt werden, wenn man das Material der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* aus den Genbanken als „Herkunft“ bewertet. Des Weiteren wurden die ebenfalls vom Verein Arche Noah für einen anderweitigen Versuch zugesandten, nicht blau- bzw. violettschaligen Sorten *Solnyschko*, *Tamara* und *Sapro Mira* als Referenzsorten mit analysiert. Die Gesamtzahl der unterschiedlichen Sorten betrug somit 31.

Tabelle 21: Untersuchte Kartoffelsorten aus dem Sortiment Groß Lüsewitz mit Schalenfarbe „blau“

Sorten mit Schalenfarbe „blau“ (1)	GLKS	und Fleischfarbe „gelblich“ (3)	oder Fleischfarbe „cremefarben“ (2)	oder Fleischfarbe „hellgelb-gelblich“ (4)
Sortenname				
<i>Blaue Lehner</i>	12476		x	
<i>Blauwe</i>	12145			x
<i>Eigenheimer</i>				
<i>Blue Kestrel</i>	12307		x	
<i>Danniger Blau</i>	12031		x	
<i>Heidzel Blau</i>	12177		x	
<i>Lilaschalige Uetendorf</i>	11023		x	
<i>Mrs. Moerle's</i>	12029		x	
<i>Purple Baker</i>				
<i>Prince Edward</i>	12005		x	
<i>Island Blue</i>				
<i>Purple Skinned</i>	11040	x		
<i>Eigenheimer</i>				
Schwarzblaue a.d. Frankenwald	12001	x		
<i>Schwarze Ungarin</i>	12283	x		
<i>Shetland Blau I</i>	11041	x		
<i>Shetland lila</i>	12279		x	
<i>Skerry Blue</i>	12037		x	
<i>Südtiroler 1</i>	10964		x	
<i>Ungarische Schramayer</i>	12273	x		
<i>Weinberger Blaue</i>	12012		x	
<i>UACH 1279</i>	22349		x	
Anzahl		5	12	1

Tabelle 22: Untersuchte Kartoffelsorten aus dem Sortiment Groß Lüsewitz mit Schalenfarbe "dunkelviolet"

Sorten mit Schalenfarbe „dunkelviolet“ (v)	GLKS	und Fleischfarbe „hellgelb“ (3)	oder Fleischfarbe „cremefarben“ (2)	oder Fleischfarbe „weiß“ (1)
Sortenname				
<i>Capiro</i>	22739		x	
<i>Peruanischer Azul</i>	22744			x
<i>Yana Achacana</i>	22722	x		
Anzahl		1	1	1

Tabelle 23: Untersuchte Kartoffelsorten aus dem Sortiment Arche Noah mit Schalenfarbe "blau"

Sorten mit Schalenfarbe "blau"	Sortencode	und Fleischfarbe "weiß" (1)	oder Fleischfarbe "Creme" (2)
Sortenname			
<i>Nussige</i>	KA-ZY013	x	
<i>Blaue Lehner</i>	KA187	x	
<i>Edgecote Purple</i>	KA101		x
<i>Modesta</i>	KA389		x
<i>Schwarzblaue a.d. Frankenwald</i>	KA048		x
<i>Seneca Horn</i>	KA274	x	
<i>Svartpotatis</i>	KA277	x	
<i>Zillertal Blaue</i>	KA188	x	
Anzahl		5	3

Tabelle 24: Unterschiedliche Herkunft der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* aus der Anbauregion

Sorte	Anbauer	Ort des Anbaus
<i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald</i>	Fritz Gebelein	Carlsgrün (Oberfranken)
	Helmut Hornfeck	Carlsgrün
	Wilmar Degel	Carlsgrün
	Bauersachs	Mitwitz (Oberfranken)
	Doris Tröppner	Prichsenstadt (Unterfranken)

Das Material der Herkunft Bauersachs und Doris Tröppner stammt ab von Knollen, die den beiden Personen von Herrn Georg Lang überreicht und ursprünglich von Herrn Blank aus Lichtenberg bei Bad Steben zur Verfügung gestellt wurden.

Zur Bereitstellung des zur genetischen Analyse erforderlichen Probenmaterials für die Analyse wurden zum einen Knollen der erhaltenen Sorten im Anbauversuch „Varietäten“ (je vier Knollen des Pflanzgutes von der Genbank Groß Lüsewitz bzw. je neun Knollen des Vereins Arche Noah) ausgelegt, siehe Punkt 4.1.1.1. Zusätzlich erfolgte die Anpflanzung von je einer halben Knolle jeder Sorte im Gewächshaus der LfL in Freising in Pflanztöpfe (siehe Punkt 4.2). Vom Material der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* unterschiedlicher Herkunft aus der Region Oberfranken wurden im Gewächshaus je zwei Exemplare gezogen. Damit ergab sich eine Anzahl von zehn Proben. Zusammen mit den zwei Proben aus Groß Lüsewitz und vom Verein Arche Noah lagen zwölf Proben dieser Sorte vor. Die Gesamtzahl der untersuchten Proben lag somit bei 42.

Bis auf die Sorte *Edgecote Purple* liefen im Gewächshaus alle Pflanzen auf. Die auf der Ackerfläche „Varietäten“ bei Pulling gelegten Knollen aller Sorten trieben ohne Ausnahme aus. Für die genetische Untersuchung stand demnach ausreichend Probenmaterial in Form von Blättern zur Verfügung.

Als Methode für eine Untersuchung der Verwandtschaftsverhältnisse wurde die AFLP-Technik (Vos et al., 1995) verwendet. Diese Methode zählt zu den molekularen Markertechniken, die Unterschiede zwischen Individuen durch die Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks direkt auf der Basis des Genotyps zeigen und die zur Klärung genotypischer Verwandtschaftsverhältnisse auch auf der Sortenebene Anwendung gefunden haben. Die Funktionsweise der Technik wird im Folgenden detailliert beschrieben.

Isolierung genomischer DNA aus den Blättern von Kartoffeln mit der CTAB-Methode:

Der vorbereitende Schritt für die AFLP-Analyse war die Isolierung von genomischer DNA mit der CTAB-Methode aus dem Blattmaterial. Dies erfolgte in veränderter Form nach der Methode von Saghai-Maroo et al. (1984), modifiziert nach der Methode von Murray & Thompson (1980). Hierfür wurde von den zu untersuchenden Kartoffelpflanzen aus dem Gewächshaus sowie, bei Bedarf, von Pflanzen der Anbaufläche je ein Fiederblättchen pro Pflanze aus der oberen Stängelregion gesammelt. Zur Vorbereitung des Probenmaterials für die Gefriertrocknung wurden die Blättchen mit je zwei Glasperlen (\varnothing : 5mm) in 2 ml Eppendorf-Gefäße platziert und die Öffnung mit einem Stück Zellstoff verstopft, dann ca. 72 Stunden gefriergetrocknet. Anschließend erfolgte das Mahlen der Proben mit einer Kugelmühle für ca. drei Minuten. Für den Zellaufschluss wurden die gemahlene Proben mit

je 750 µl CTAB Puffer, bestehend aus 100 mM TrisHCl pH8, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2,0% CTAB und 2% Mercaptoethanol, versetzt und mit Hilfe eines Vortexers gleichmäßig vermischt. Nach der Inkubation der Proben im Wasserbad bei 60°C für eine Stunde und Abkühlen auf Raumtemperatur erfolgte die Extraktion der DNA aus dem Pflanzenmaterial durch Überschichtung mit je 1 ml CHCl₃/Iso-Amylalkohol im Verhältnis 49:1 und sorgfältige Durchmischung mit dem Vortexer. Ein Zentrifugationschritt bei 6.000 rpm und Raumtemperatur für 15 Minuten führte zur Phasentrennung. Der wässrige Überstand wurde jeweils möglichst vollständig in neue 2 ml Eppendorf-Gefäße überführt.

Die Fällung der genomischen DNA erfolgte durch Zugabe von je 300 µl Isopropanol und anschließendes Drehen der Eppendorf-Gefäße, was zur Ausbildung von DNA-Knäuel führte. Die DNA wurde mit Hilfe von Glasküvetten mit gebogenen Spitzen in 1,5 ml Eppendorfggefäße mit je 500 µl 100% Ethanol überführt

Nach einem Zentrifugationsschritt bei 14.000 rpm für 15 Minuten bei Raumtemperatur wurde der flüssige Überstand dekantiert und je 500 µl 70% Ethanol aus dem Gefrierschrank zugegeben. Einer erneuten Zentrifugation unter vorherigen Bedingungen und Entfernen des Ethanols folgte das Trocknen der DNA für ca. zwei Stunden und die Aufnahme dieser in ca. 100 µl TrisHCl/RNase A in Abhängigkeit von der DNA-Menge. Die Proben wurden anschließend geschüttelt, bis die DNA vollständig gelöst war, kurz zentrifugiert und im Eisfach bei -20°C gelagert.

Zur Überprüfung der isolierten DNA und zur Ermittlung der jeweiligen Masse für die Berechnung der geeigneten Konzentration für den nächsten Schritt wurden die Proben auf ein 1,5% Agarose-Gel aufgetragen. Als Laufpuffer wurde 0,5 x TBE-Puffer, bestehend aus 0,044 M Tris-Base, 0,044 M Borsäure und 0,001 M EDTA, pH 8, verwendet.

Als Vorbereitung wurden die aufgetauten Proben kurz mit dem Vortexer durchmischt, zentrifugiert und Aliquote im Verhältnis 1:10 mit bidest. Wasser verdünnt. Nach kurzem Durchmischen und Zentrifugieren wurden je 3 µl Ladepuffer in einer PCR-Platte vorgelegt und je 3 µl der verdünnten Proben dazugegeben, dann die Platte kurz zentrifugiert.

Auf das Agarose-Gel wurden pro Tasche 6 µl des Gemischs aus Probe und Ladepuffer aufgetragen und diese für ca. 75 Minuten bei einer Spannung von 150 Volt auf dem Gel laufen gelassen. Die Bestimmung der DNA-Masse jeder Probe erfolgte über einen Vergleich der Bandenintensität der jeweils sichtbaren Bande mit einem parallel aufgetragenen DNA-Molekulargewichtstandard („100 bp DNA-Leiter“) der jeweiligen Banden und Berechnung unter Berücksichtigung der Verdünnungen.

AFLP-Analyse

AFLP steht für „amplified fragment length polymorphism“. Hierbei handelt es sich um eine Technik, mit der ohne Vorliegen von DNA-Sequenzinformationen von Individuen mit hoher Reproduzierbarkeit sortentypische genetische Fingerabdrücke erstellt werden können. Es wird bei diesem mehrstufigen Verfahren im ersten Schritt die genomische DNA der Proben mit geeigneten hochspezifischen Restriktions-Endonukleasen in Fragmente zerschnitten. Anschließend erfolgt die Ligation von Adaptern an die Enden der Fragmente. Durch Unterschiede in der Basensequenz der DNA der verschiedenen Proben und damit der Anzahl der Restriktionsschnittstellen entstehen verschieden lange Fragmente. In den darauf folgenden Schritten wird ein Teil der Fragmente mit adapterspezifischen Primern durch PCR vervielfältigt. Die Produkte werden anschließend in Polyacrylamid-Gelen aufgetrennt, wobei charakteristische Bandenmuster entstehen. Die Komplexität der Bandenmuster kann durch die Anzahl der sogenannten selektiven Nukleotide am 3´-Ende der Primer reguliert werden. Die Bandenmuster bzw. die resultierenden Datensätze werden miteinander verglichen und mittels einer speziellen Software wird ein Dendrogramm erstellt, mit dem die Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den Pflanzen dargestellt bzw. die genetische Distanz zwischen den einzelnen Sorten ermittelt werden kann.

Restriktion und Ligation

Im ersten Schritt der AFLP, der Restriktion und Ligation, wurde die isolierte genomische DNA mit den Restriktionsenzymen Pst I und Mse I geschnitten und anschließend an die „klebrigen“ Enden der Fragmente durch die T4-Ligase die Adapter AD Sse und AD Mse angebaut. Die Funktion der Adapter besteht darin, eine bekannte Sequenz für die komplementären Primer zur Verfügung zu stellen, die Ausgangspunkt für die anschließende Amplifikation sind.

Als vorbereitender Schritt wurden nach dem Auftauen der DNA-Proben Aliquote so mit bidest. Wasser verdünnt, dass pro Probe die Konzentration jeweils 50 ng/µl und das Volumen 50 µl betrug. Die DNA-Masse pro Probe lag somit bei 2,5 µg. Jeweils 5 µl pro Probe und damit 0,25 µg dieser verdünnten DNA-Lösungen wurden in einer PCR-Platte vorgelegt, dann die in *Tab. 25* aufgeführten Substanzen in der angegebenen Menge hinzugefügt. Die Proben wurden dann nach Durchmischen und kurzem Zentrifugieren in einen PTC-100™ (Programmable Thermal Controller) der Firma MJ Research, Inc. platziert und für vier Stunden bei 37°C inkubiert, dann eine Stunde lang bei 16°C die Enzyme inaktiviert. Vor der Aufbewahrung der Proben im Kühlschrank erfolgte die Zugabe von 75 µl bidest. Wasser pro Ansatz, kurzes Durchmischen und Zentrifugieren.

Tabelle 25: Pipettierprotokoll Restriktion/Ligation

		DNA 50 ng/µl
		x1
DNA	50-70 ng/µl	5 µl
Neb2-Puffer	10x	2,5 µl
BSA	100x	0,25 µl
Pst I	20U/µl	0,1 µl
Mse I	10U/µl	0,25 µl
AD Sse	5µM	0,5 µl
AD Mse	50µM	0,5 µl
Ligase-Puffer	10x	0,5 µl
T4-Ligase	400U/µl	0,16 µl
H ₂ O		15,24 µl
Gesamt		25 µl

Die Sequenzen der doppelsträngigen Adapter PstI und MseI lauten (Biotechnology Center (UG) & The Institute for Genomic Diversity (Cornell University), 2008):

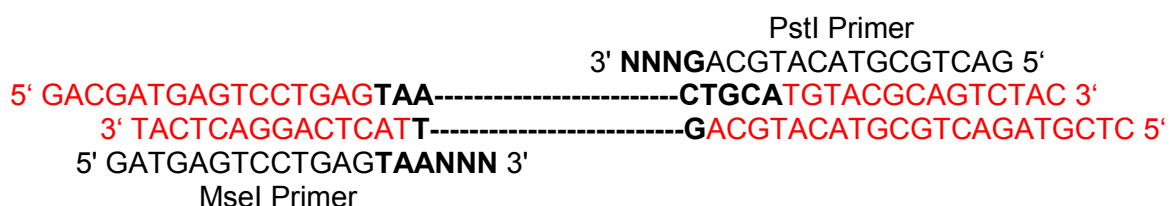
MseI Adapter:

5' GACGATGAGTCCTGAG 3'
3' TACTCAGGACTCAT 5'

PstI Adapter:

5' TGTACGCAGTCTAC 3'
3' ACGTACATGCGTCAGATGCTC 5'

Der MseI Primer ist komplementär zu der unteren Adaptersequenz des MseI Adapters, der PstI Primer ist komplementär zu der oberen Adaptersequenz des PstI-Adapters (siehe Tab. 29). Die Adapter sind in folgendem Schema rot gekennzeichnet, ein von ihnen flankiertes DNA-Fragment schwarz. Die unbekannte Basensequenz ist als Strich dargestellt. Über die Basen der Primerenden, die in das DNA-Fragment ragen (NNN), werden die zu amplifizierenden Fragmente selektiert (siehe unten) (verändert nach Biotechnology Center (UG) & The Institute for Genomic Diversity (Cornell University), 2008).



Preamplifikation

Bei der Preamplifikation, dem zweiten Schritt der AFLP, werden die mit den Adaptern versehenen DNA-Fragmente durch PCR und Einsatz geeigneter Primer (siehe oben) in einem ersten Schritt vervielfältigt. Die Auswahl der zu vervielfältigenden Fragmente geschieht über eine selektive Base am 3'-Ende der Primer.

Von den Proben wurden in eine neue PCR-Platte je 5 µl vorgelegt und die PCR-Platte kurz zentrifugiert. Der Rest der Proben wurde eingefroren. Die Zugabe der für den Preamplifikations-Schritt erforderlichen Reagenzien erfolgte gemäß der in *Tab. 26* aufgeführten Mengen. Das PCR-Programm für die Preamplifikation lautete:

Temperatur	Zeit [min]	Anzahl Zyklen
94°C	2	
94°C	0,5	
58°C	1	25
72°C	2	
→ 4°C		

Anschließend wurden die Ansätze kurz gemischt, zentrifugiert und die PCR-Platte mit einer Aluminium-Folie verschweißt. Nach einer weiteren Durchmischung und Zentrifugation erfolgte die Preamplifikation im PTC-100™. Im Anschluss konnte die PCR-Platte nach kurzer Zentrifugation im Kühlschrank gelagert werden.

Zur Überprüfung der bis zu diesem Zeitpunkt durchgeführten Arbeitsschritte wurden die Proben auf einem 1,5% Agarose-Gel getrennt. Bei bis zu diesem Punkt erfolgreich durchgeführten Arbeitsschritten konnte auf dem Gel die preamplifizierte DNA der jeweiligen Probe sichtbar gemacht werden.

Tabelle 26: Pipettierprotokoll Preamplifikation

		x1
verd.R/L DNA		5 µl
MgCl ₂	25mM	0,6 µl
dNTPs	5mM	0,8 µl
Primer P03	10µM	0,3 µl
Primer M01	10µM	0,3 µl
10x Puffer	10x	2 µl
Taq Polymerase	5U/µl	0,1 µl
H ₂ O		10,9 µl
Gesamt		20 µl

Selektive Amplifikation

Bei der selektiven Amplifikation wurden die gleichen Primer wie bei der Preamplifikation, allerdings mit zwei zusätzlichen selektiven Nukleotiden, verwendet. Dadurch konnte die Zahl der vervielfältigten DNA-Fragmente weiter eingeschränkt werden.

Die selektive Amplifikation wurde mit insgesamt 20 unterschiedlichen Primerkombinationen ausgeführt. Die zur Verfügung stehenden M- und S-Primersätze wurden hierfür beliebig kombiniert. Die verwendeten Primerkombinationen sind in *Tab. 27* aufgeführt.

Tabelle 27: Verwendete Primerkombinationen für die selektive Amplifikation

Primer 1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
	11	11	11	11	11	11	11	12	12	12	12	12	13	13	13	13	15	15	15	15
Primer 2	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
	31	32	34	35	36	37	38	31	32	34	35	42	32	34	35	36	35	36	37	38

Die Sequenzen der jeweilig verwendeten Primer, sowohl für die Präamplifikation als auch die selektive Amplifikation, sind in *Tab. 28* dargestellt. N in der Grundsequenz steht für Nukleotid. Die bei der Preamplifikation eingesetzten Primer besaßen je eine selektive Base, die bei der selektiven Amplifikation verwendeten Primer verfügten über drei selektive Basen.

Tabelle 28: Basensequenzen der für die AFLP verwendeten Primer

	Grund-Sequenz	Primersequenzen für Prä-amplifikation	Primersequenzen für selektive Amplifikation							
PstI	5'-GACTGCGTACATGCAGNNN-3'	P03	S11	S12	S13	S15				
		G	GAA	GAC	GAG	GCA				
MseI	5'-GATGAGTCCTGAGTAANNN-3'	M01	M31	M32	M34	M35	M36	M37	M38	M42
		A-3	AAA-3	AAC-3	AAT-3	ACA-3	ACC-3	ACG-3	ACT-3	AGT-3

Quelle: Standard List for AFLP® Primer Nomenclature (GrainGenes), zur Verfügung gestellt von Keygene

Die Proben wurden zuerst im Verhältnis 1:20 mit bist. Wasser verdünnt, indem je 15 µl der jeweiligen Probe aus der PCR-Platte in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß mit vorgelegtem Wasser überführt wurden. Ausgehend von diesen verdünnten Proben wurden je 150 µl in eine neue PCR-Platte pipettiert und nach kurzer Zentrifugation im Kühlschrank gelagert.

Je 3 μl der verdünnten DNA-Proben wurden in eine PCR-Platte vorgelegt und die im Pipettierprotokoll der *Tab. 29* aufgeführten Reagenzien in den angegebenen Mengen hinzupipettiert. Anschließend wurde die Platte zentrifugiert, mit Alufolie verschweißt, gemischt und nochmals zentrifugiert. Das Programm der selektiven Amplifikation für den Thermocycler lautete:

Temperatur	Zeit [min]	Anzahl Zyklen
94°C	2	
94°C	0,5	
65°C	0,5	9
-1°C pro Zyklus		
72°C	1	
94°C	0,5	
56°C	0,5	23
72°C	1	
72°C	10	
→ 4°C		

Nach abgeschlossener selektiver Amplifikation wurde die PCR-Platte zentrifugiert, dann jede Probe mit Formamid im Verhältnis 1:1 gemischt, mit Plastikfolie verschlossen und im Kühlschrank bis zum Gelauftrag gelagert.

Table 29: Pipettierprotokoll Selektive Amplifikation

		x1
verd. PreAmp DNA		3 μl
MgCl ₂	25mM	0,6 μl
dNTPs	5mM	0,4 μl
Primer 1	10 μM	0,3 μl
Primer 2	10 μM	0,3 μl
10x Puffer	10x	1 μl
Taq Polymerase	5U/ μl	0,05 μl
H ₂ O		4,35 μl
Gesamt		10 μl

Trennung der Fragmente im PAA-Gel:

Für die Auftrennung der bei der selektiven Amplifikation vervielfältigten DNA-Fragmente wurden die Proben auf 12,5%ige Polyacrylamid-Gele (12,5 ml Acrylamid, 85 ml Harnstoff, 2,5 ml Wasser) aufgetragen.

Der Gellauf erfolgte bei einer Spannung von ca. 1,6 kV und 50 W für ca. eine Stunde und 40 Minuten mittels eines Spannungsgeräts der Firma Life Technologies, Modell PS 9009 TC und einer Gelkammer desselben Herstellers, Modell SA. Im Anschluss wurden die Gele eingescannt mit einem Scanner Modell Typhoon 9200 der Firma Amersham Biosciences und ausgewertet.

Insgesamt wurden zwei Probensätze analysiert, wobei die Proben der beiden Sätze jeweils von denselben Individuen stammten. Bei der Untersuchung des zweiten Probensatzes, der der Kontrolle der Ergebnisse des ersten Probensatzes diente, wurden die zehn Primer-Kombinationen eingesetzt, die sich beim ersten Durchlauf als besonders geeignet in Hinsicht auf polymorphe Marker erwiesen hatten.

Für die Bestimmung der Verwandtschaftsverhältnisse wurden für alle aufgetragenen Proben die am deutlichsten ausgeprägten Fragmente (Banden) aller Gele auf ihre Anwesenheit (1) bzw. Abwesenheit (2) ausgewertet. Die Auswertung der resultierenden binären Datenmatrix erfolgte durch das Programm SplitsTree 4 von Huson und Bryant (2006).

SplitsTree liegt ein als Neighbor-Net bezeichneter Algorithmus zugrunde. Neighbor-Net ist eine auf Entfernungen basierende Methode, um phylogenetische Netzwerke zu berechnen und zu konstruieren. Es ist eine neue Variante der Neighbor-Joining-Methode von Saitou und Nei (1987), die mittels eines Algorithmus aus den Rohdaten, die als eine beliebige Entfernungsmatrix bereitgestellt werden, phylogenetische Bäume baut (Bryant & Moulton, 2004). Bei der Neighbor-joining-Methode ist der Ausgangsbaum sternförmig, dadurch dass alle Taxa mit einem „Zentrum“ verbunden sind. Die terminalen „Knoten“ repräsentieren die jeweiligen betrachteten Taxa (z.B. Arten), die durch „Zweige“ untereinander verbunden sind. In einzelnen, aufeinander folgenden Schritten werden paarweise aus dem Datensatz die Taxa mit der geringsten Entfernung ausgewählt und zu einem neuen Ast des Baumes vereinigt, der die beiden ursprünglichen Äste ersetzt. In jedem Schritt dieses Prozesses werden zwei terminale Knoten also ersetzt durch einen neuen Knoten. Die Distanzen des Datensatzes werden neu berechnet und wieder die nächstverwandten zu einem Ast mit zwei Taxa zusammengefügt. Der Prozess ist abgeschlossen, wenn zwei Knoten übrig bleiben, die durch einen einzelnen Zweig getrennt sind, bzw. wenn alle Taxa in dem Baum eingefügt wurden und die Sternstruktur des Baumes völlig aufgelöst ist (Opperdoes).

Die Darstellung verwandtschaftlicher Verhältnisse in Form eines phylogenetischen Baums liefert aber oft keine adäquate Darstellung der phylogenetischen Geschichte aufgrund der komplexen evolutiven Vorgänge. Im Laufe der Evolution treten Merkmale auf, die bei mehreren unterschiedlichen Taxa unabhängig voneinander entstehen (Homoplasien). Um

diesem Phänomen gerecht zu werden, gibt es zum einen die Möglichkeit, bei unklaren Abstammungsverhältnissen mehrere sinnvoll erscheinende Bäume als Lösungen in Betracht zu ziehen. Zum anderen können sämtliche plausible Bäume in einem Netzwerk, d. h. einem Lösungsraum, vereinigt werden (Röhl, 1999).

Phylogenetische Netzwerke verallgemeinern also phylogenetische Bäume, weil sie die Darstellung von widersprüchlichen Signalen oder alternativen phylogenetischen Entwicklungen zulassen (Bryant & Moulton, 2004; zit. n. Fitch, 1997). Ereignisse wie Rekombinationen, Hybridisierungen und Gentransfers führen zu Entwicklungen, die durch einen einzelnen Baum nicht dargestellt werden können.

Die von Bryant und Moulton 2004 vorgestellte Neighbor-Net-Methode konstruiert ebenfalls Netzwerke direkt aus einer Entfernungsmatrix, ausgehend von der Vorstellung, dass viel phylogenetische Information in dieser erhalten ist. Neighbor-Net funktioniert nach demselben Prinzip wie die oben geschilderte Neighbor-Joining-Methode, aber mit einem wesentlichen Unterschied. Wenn ein Knotenpaar ausgewählt wird, dann wird dieses nicht sofort kombiniert und ersetzt. Stattdessen wartet das Programm, bis ein Knoten ein zweites Mal gepaart wird. Die drei verbundenen Knoten werden durch zwei verbundene Knoten ersetzt und dadurch die Entfernungsmatrix reduziert. Falls nach wie vor ein Knoten mit zwei weiteren verbunden ist, wird eine zweite Agglomeration und Reduktion ausgeführt. Dann wird zum nächsten Schritt übergegangen. Diese einfache Änderung im agglomerativen System erzeugt eine Zusammenstellung von splits, die nicht durch einen einzigen Baum dargestellt werden kann.

Die Methode ist sehr eng verwandt mit Split Decomposition (Bandelt & Dress, 1992). Diese in Splits Tree umgesetzte Methode zerlegt die Entfernungsmatrix in Einzelkomponenten, basierend auf gewichteten splits (Spaltungen). Diese splits werden dann dargestellt unter Verwendung eines splits-Diagramms, eine spezielle Art eines phylogenetischen Netzwerks, das gleichzeitig Gruppierungen in den Daten und evolutive Abstände zwischen Taxa wiedergibt. Neighbor-Net funktioniert auf ähnliche Weise: zuerst wird eine Sammlung gewichteter splits konstruiert, dann werden diese Splits in einem splits-Diagramm dargestellt.

Ein split-Netzwerk ist eine allgemeinere Art eines phylogenetischen Schaubilds, das jegliche Zusammenstellung von splits darstellen kann, ob kompatibel oder nicht. Es ist immer möglich für einen kompatiblen Satz an splits, jeden split durch einen einzelnen Zweig darzustellen und das resultierende Schaubild ist dementsprechend ein Baum. Gewöhnlich ist das jedoch nicht möglich und in einem split-Netzwerk bedarf es einer ganzen Schar von parallelen Zweigen, um einen einzelnen split darzustellen. Ein phylogenetischer Baum ist also ein Spezialfall eines split-Netzwerks.

4.6.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die bei der Analyse des ersten Probensatzes eingesetzten 20 Primerkombinationen erzeugten 295 polymorphe, deutlich unterscheidbare und damit ausgewertete Fragmente/Banden. Die folgenden Primerkombinationen erwiesen sich in Hinsicht auf die Anzahl gut auswertbarer Banden als besonders geeignet: S11/M32, S11/M34, S13/M36, S11/M35, S15/M35, S12/M34, S15/M38, S13/M32 und S13/M34. In *Abb. 20* im Anhang ist als Beispiel ein PAA-Gel mit der Primerkombination S12/M34 dargestellt.

Die Verwendung von Primer M 33 verlief ohne Erfolg, d.h. auf dem Gel waren keine Banden zu sehen.

Die Ergebnisse der Analyse des ersten Probensatzes konnte mit dem zweiten Satz Probenmaterial bestätigt werden. Die Probe *Capiro* und eine der beiden Proben der *Schwarzblauen aus dem Frankenwald*, Herkunft Fritz Gebelein, konnten im ersten Durchgang aufgrund eines fehlerhaften Verdünnungsschritts nicht ausgewertet werden. Im zweiten Durchgang wurden diese ergänzt und die Ergebnisse, soweit vorhanden, integriert.

Abb. 10 zeigt das vom Programm SplitsTree4 unter Verwendung der Neighbor-Net-Methode erzeugte Netzwerk mit den Daten aller untersuchten Sorten. Aus der Abbildung wird ersichtlich, dass die Erstellung eines phylogenetischen Stammbaums mit dem vorliegenden Datensatz nicht möglich ist. Falls der Algorithmus wie im vorliegenden Fall aufgrund von Unsicherheiten kein optimales Netzwerk konstruieren kann, lässt er das Problem ungelöst, was im Netzwerk durch eine Art „Gewebe“ in der Mitte der Darstellung angezeigt wird. Es liegen dementsprechend Widersprüche in der Datenmatrix vor bzw. die splits sind inkompatibel, so dass ein sternförmiges und nicht dichotom baumartiges Netzwerk wiedergegeben wird. Eine Aussage zur Phylogenie kann damit nicht getroffen werden. Es sind aber neben isolierten Sorten verschiedene Sortengruppierungen im Netzwerk deutlich erkennbar. Zur besseren Veranschaulichung dieser genetisch differenzierten Gruppen ist in *Abb. 11* das vom Programm unter Verwendung von Neighbor Net konstruierte Netzwerk unter Ausschluss der Datensätze der Sorten dargestellt, die keiner Gruppe angehörten (bis auf das Exemplar *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, Herkunft Wilmar Degel 2). Inkompatible splits können mit der Anwendung der Funktion „greedily make compatible“ des Programms SplitsTree4 kompatibel gemacht werden. Dabei addiert der Algorithmus in abnehmender Reihenfolge der Gewichtung den nächsten split zum Satz der beibehaltenen splits, falls er schwach kompatibel ist mit all den splits, die schon beibehalten wurden. Das resultierende, übersichtlichere Netzwerk ist in *Abb. 12* dargestellt.

Für eine alternative Berechnung und Darstellung der Datenmatrix wurde die Methode Split Decomposition verwendet. Das resultierende Netzwerk ist in Abb. 13 dargestellt. Auch in dieser Darstellung lassen sich eindeutig die gleichen Gruppierungen erkennen.

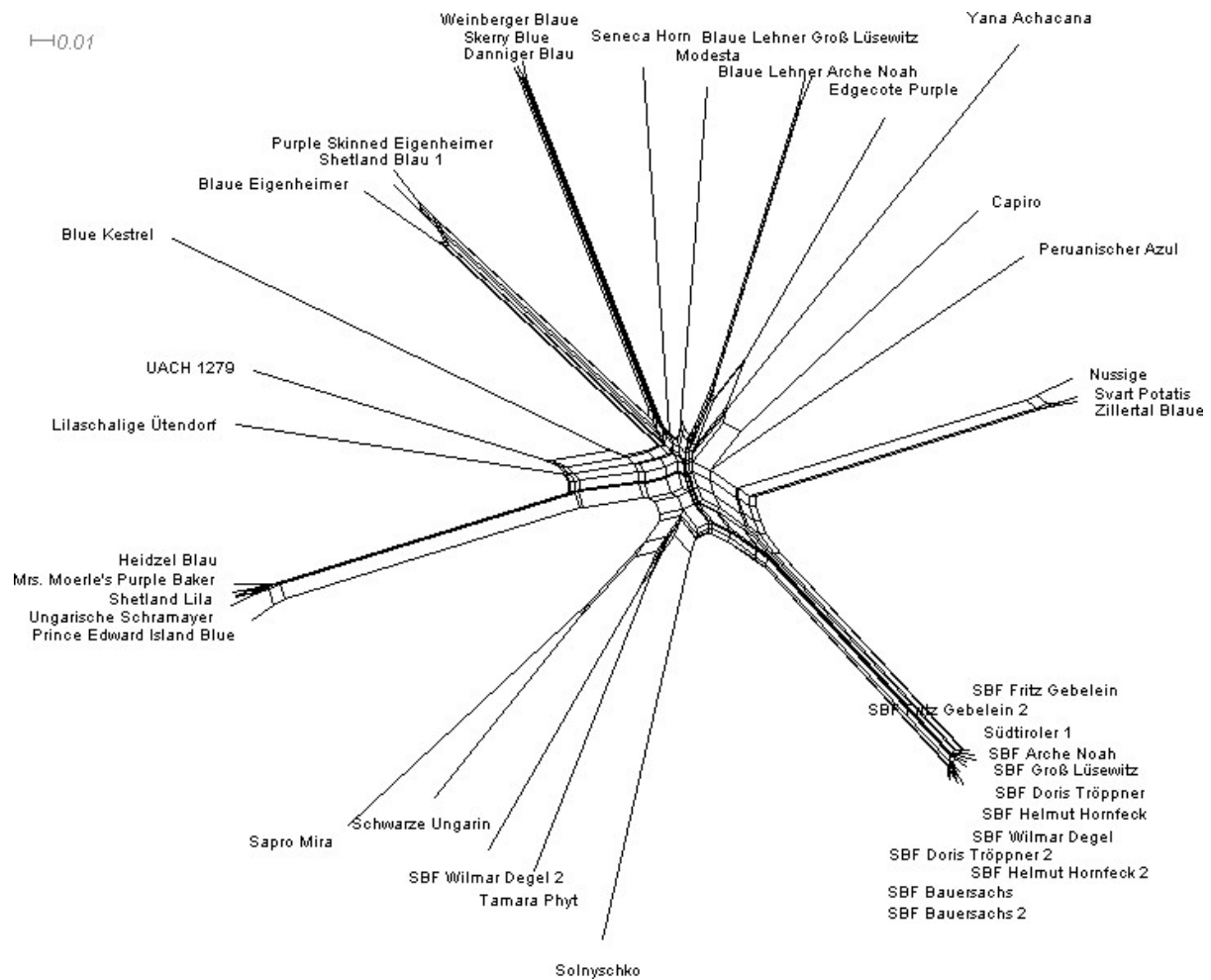


Abbildung 10: Darstellung der Daten durch SplitsTree4 unter Verwendung von Neighbor Net(SBF: Schwarzblaue aus dem Frankenwald)

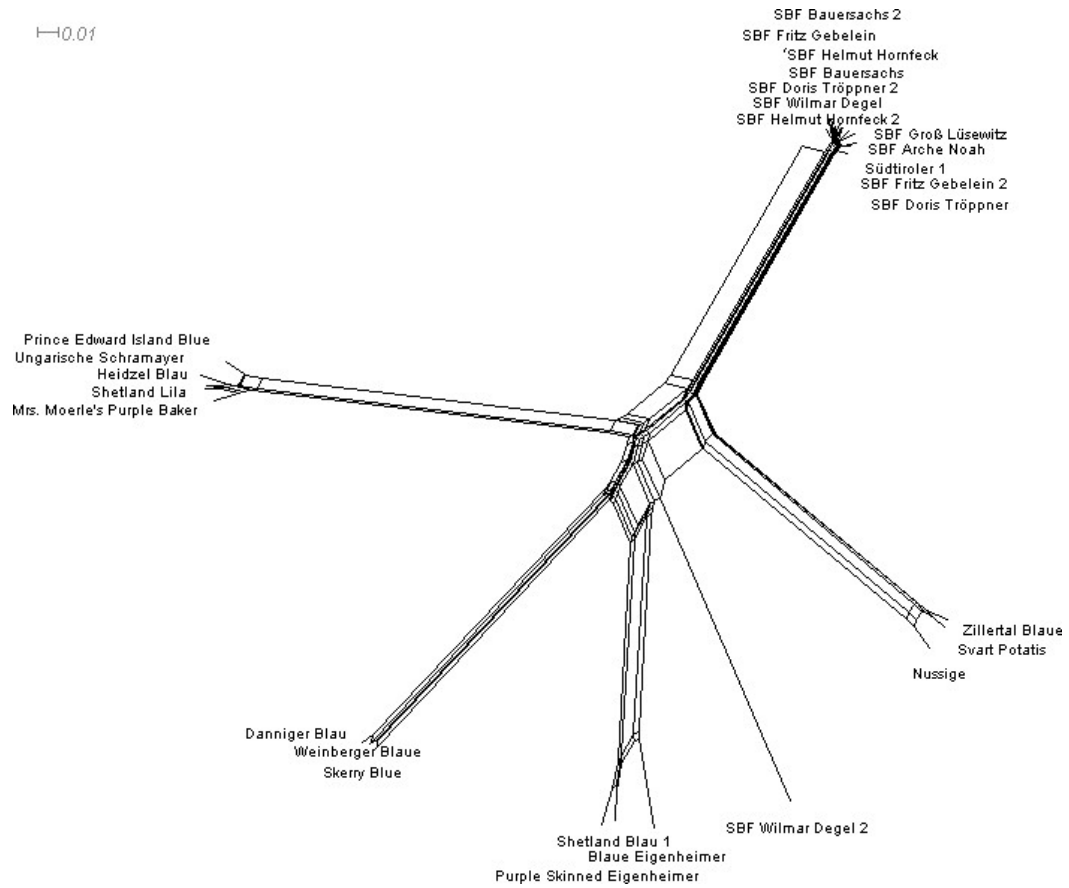


Abbildung 11: Darstellung der Daten durch SplitsTree4 unter Verwendung von Neighbor Net und Ausschluss der Exemplare, die keiner Gruppe angehörten

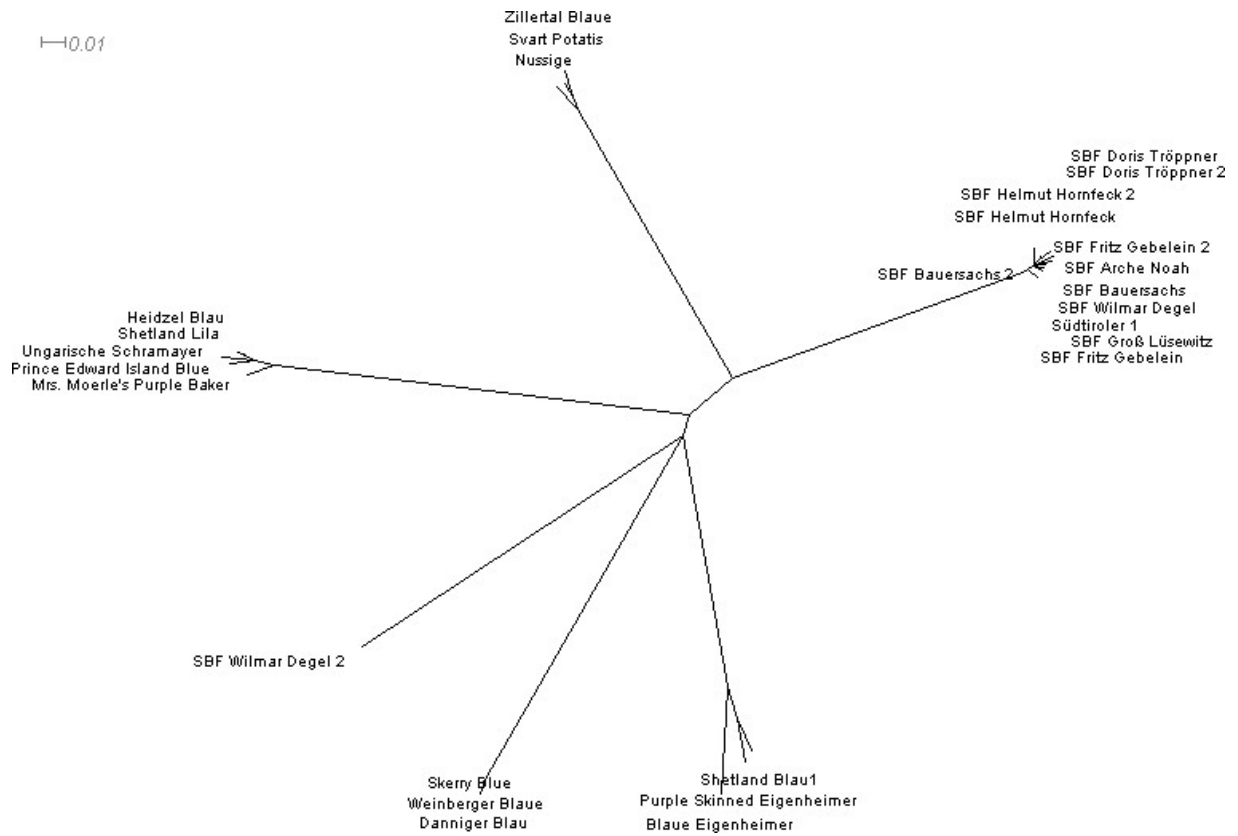


Abbildung 12: Darstellung der Daten durch SplitsTree4 unter Verwendung von Neighbor-Net nach Anwendung der Funktion "greedily make compatible"

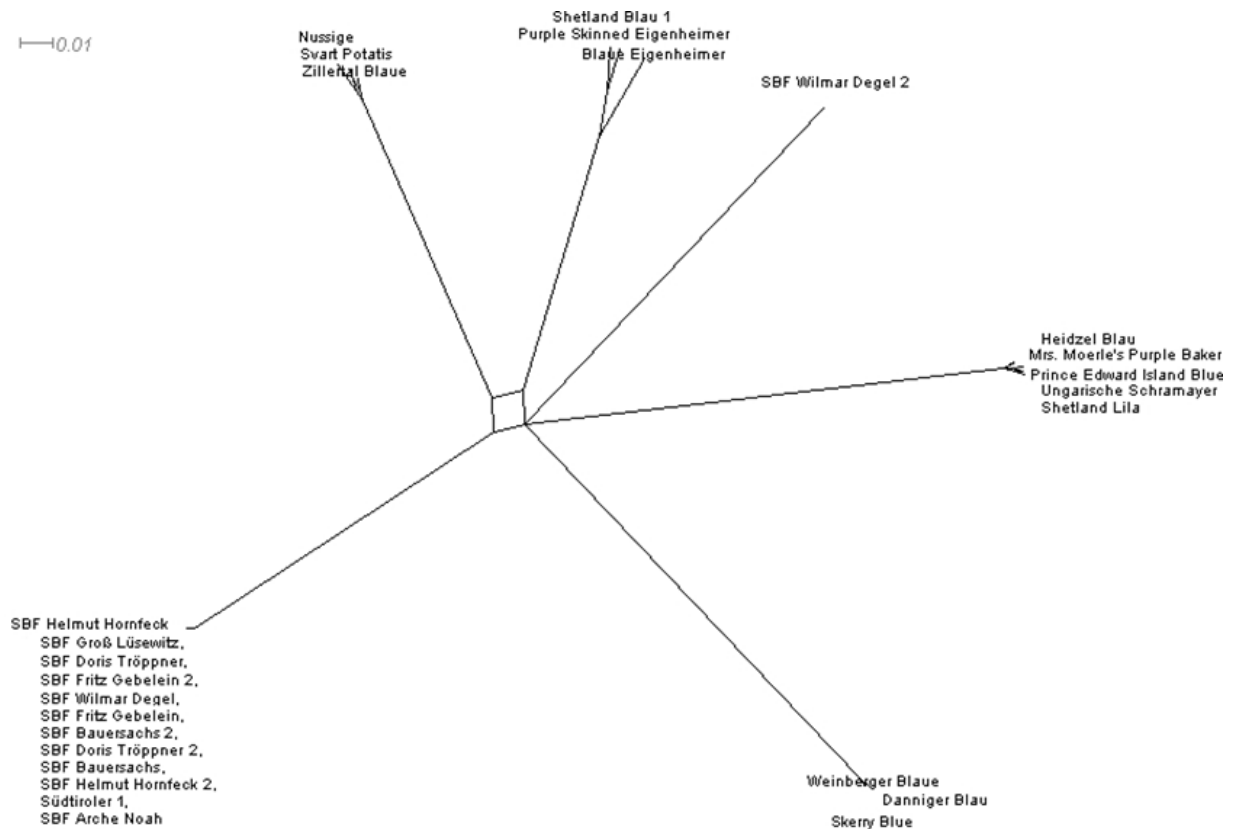


Abbildung 13: Darstellung der Daten durch SplitsTree4 unter Verwendung der Methode Split Decomposition (verändert)

Es lassen sich im Einzelnen folgende Ergebnisse in den von SplitsTree4 erzeugten Netzwerken erkennen:

Identifizierung genetisch differenzierter Gruppen:

Es liegen mehrere, genetisch differenzierte Gruppen vor. So handelt es sich bei den untersuchten Proben der „Sorte“ *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* unterschiedlicher Herkunft um eine genetisch differenzierte Gruppe, die sich eindeutig von den anderen resultierenden Gruppen abgrenzen lässt. Dies konnte durch den Vergleich phänotypischer Merkmale der Knollen bestätigt werden. Geringe Unterschiede zwischen den untersuchten Exemplaren innerhalb dieser Gruppe sind festgestellt worden. Eine Formulierung von Untergruppen erscheint aber nicht sinnvoll (siehe Diskussionsteil). Zu den untersuchten Individuen anderer Sorten bestehen keine unmittelbaren verwandtschaftlichen Beziehungen.

Es konnten zusätzliche, genetisch differenzierte Gruppen innerhalb der anderen blau- bzw. violett-schalligen „Sorten“ nachgewiesen werden. Diese sind wie folgt (zu den phänotypischen Übereinstimmungen der Knollen siehe die Abb. 15-18):

- *Svart Potatis, Nussige und Zillertal Blaue (Abb. 15).*
- *Danniger Blau, Weinberger Blaue und Skerry Blue (Abb. 16)*
- *Heidzel Blau, Mrs. Moerle´s Purple Baker, Prince Edward Island Blue, Shetland Lila und Ungarische Schramayer (Abb. 17)*
- *Shetland Blau 1, Purple Skinned Eigenheimer und Blauwe Eigenheimer (Abb. 18)*

Nachweis eines Duplikats:

Die untersuchte Pflanze der „Sorte“ *Südtiroler 1* gehört genetisch der Gruppe *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* an. Es handelt sich zumindest bei den untersuchten Exemplaren um dieselbe Sorte. Auch dieses Ergebnis wird gestützt durch phänotypische Übereinstimmungen der im Anbauversuch „Varietäten“ kultivierten Exemplare bzw. der Knollen der beiden „Sorten“, siehe *Abb. 14*.

Nachweis einer „falschen“ Zuordnung:

Eine von zwei untersuchten Pflanzen der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* der Herkunft Wilmar Degel zeigte keine nähere genetische Übereinstimmung mit der Gruppe *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*. Dieses Ergebnis wurde bestätigt durch phänotypische Merkmale dieses Exemplars wie der Schalenfarbe der Knolle, die auffällig rot war, und ein Fehlen der dunklen Pigmentierung des Stängels. Die Sorte konnte nicht näher bestimmt werden.

Die Ergebnisse der Gruppenbildungen wurden geprüft mittels einer im Programm SplitsTree4 verfügbaren Bootstrap-Analyse, die mit 1000 Wiederholungen durchgeführt wurde und diese zu 100% unterstützte.

Die Hamming-Abstände der jeweiligen binären Datenblöcke, die die Anwesenheit (1) bzw. Abwesenheit (0) von Fragmenten der einzelnen Proben repräsentieren, sind in *Tab. 30* im Anhang zusammengefasst. Es sind dort nur die Sorten bzw. Herkünfte aufgeführt, die in *Abb. 11* dargestellt sind. Der Hamming-Abstand zweier Blöcke von binären Daten mit fester Länge wird ermittelt, indem diese Binärziffer für Binärziffer miteinander verglichen und die ungleichen Stellen gezählt werden. Er ist der Quotient aus den Differenzen und der Gesamtzahl der Positionen. Der Hamming-Abstand eines Codes ist eine positive Ganzzahl größer gleich 1. Ein Code mit Hamming-Abstand 0 ist nicht möglich, da sich in diesem Fall

zwei Codewörter nicht unterscheiden lassen. Die Hamming-Abstände spiegeln die genetischen Distanzen zwischen den untersuchten Kartoffelpflanzen wider.

Der geringste Abstand innerhalb der Gruppe *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* liegt bei 0,005 (z. B. Herkunft Fritz Gebelein und Herkunft Wilmar Degel), der größte Abstand bei 0,027 (Herkunft Bauersachs 2 und Herkunft Groß Lüsewitz). Der kleinste Abstand der Herkunft *Südtiroler 1* zu einer Probe dieser Gruppe beträgt 0,010 (Herkunft Arche Noah), der größte Abstand 0,027 (Herkunft Doris Tröppner 2). Damit ist der größte Abstand des Exemplars der „Sorte“ *Südtiroler 1* zu einem Exemplar der Gruppe *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* genauso groß wie der größte Abstand zwischen zwei Exemplaren dieser Gruppe verschiedener Herkunft. Der kleinste Abstand zwischen einem Individuum der Gruppe zu einem Exemplar einer anderen Gruppe beträgt 0,292 (Herkunft Arche Noah und die Sorte Svart Potatis).

Diskussion:

Frühere Arbeiten über bzw. Untersuchungen von verwandtschaftlichen Beziehungen der hier untersuchten Sorten liegen nach Kenntnis des Autors nicht vor. Aus diesem Grund können die hier erzielten Ergebnisse nicht in Bezug zu den Ergebnissen anderer gesetzt bzw. verifiziert werden. Es kann dennoch anhand der vorliegenden Ergebnisse behauptet werden, dass die Verwendung der AFLP-Analyse für die vorliegende Fragestellung als Methode geeignet ist, auch wenn sie bei gewissen Anwendungen, z.B. bei zu großen genetischen Ähnlichkeiten, an ihre Grenzen stößt (Hale et al., 2005).

Was sind die Möglichkeiten der AFLP-Methode?

So ist es z.B. mittels der AFLP-Analyse gelungen, eine ursprünglich der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* zugeordnete Pflanze der Herkunft Wilmar Degel als Exemplar einer anderen, bisher nicht identifizierten Sorte nachzuweisen. Das Probenmaterial dieses Individuums stammte von einer der ca. zehn vom Landwirt erhaltenen Knollen. Beim Anbau verschiedener Kartoffelsorten, vor allem nebeneinander auf derselben Fläche, kann es z. B. bei der Ernte zu einer unbeabsichtigten Vermischung von Sorten kommen, die dann manchmal unbemerkt bleiben. So wurde auch bei dem im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Anbauversuch in Freising zur Ermittlung des Knollenertrags festgestellt, dass sich vereinzelt Exemplare mit gelben Knollen unter den blauschaligen Pflanzen befanden. Auch hier hatte sehr wahrscheinlich eine Vermischung des Pflanzgutes stattgefunden, weil vom entsprechenden Landwirt üblicherweise mehrere Sorten gleichzeitig auf derselben Fläche kultiviert werden.

Die Identifizierung der Probe *Südtiroler 1* als Mitglied der Gruppe *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* ist ein weiteres Beispiel für die Fähigkeiten der AFLP-Methode. Die Genbank des IPK Gatersleben in Groß Lüsewitz erhielt die Sorte *Südtiroler 1* im Jahr 2007 von dem Verein Arche Noah, der sie wiederum von einer Bäuerin aus Trins in Österreich bekommen hat. Der Sortenname *Südtiroler 1* rührt daher, dass die Kartoffel nach Trins aus Südtirol kam. Die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* befindet sich seit 1993 im Archiv der Arche Noah. Eine Möglichkeit ist, dass sie von da bei gleichzeitiger Namensänderung nach Südtirol gelangte und dann nach einigen Jahren den Weg zurück in das Archiv der Arche Noah unter ihrem neuen Namen fand.

Wo liegen die Grenzen der AFLP-Methode?

Die innerhalb der Gruppierung *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* vorliegenden Unterschiede der molekularen Marker bei den einzelnen Individuen sind gering. Die größte prozentuale Abweichung zwischen zwei Exemplaren innerhalb dieser Gruppierung betrug 2,7% (8 Unterschiede bei 295 Markern) bzw. der größte Hamming-Abstand war 0,027 (siehe oben). Oder anders ausgedrückt: es lag eine Überstimmung der betreffenden AFLP-Muster zu mindestens 97% vor. Dieser Wert liegt innerhalb des Bereichs von Bewertungsfehlern für AFLPs, siehe z. B. Winfield et al. (1998). Es ergibt demzufolge keinen Sinn, Untergruppierungen zu bilden. Für eine genauere Analyse ist die AFLP-Methode in diesem Fall wohl nicht zweckmäßig.

Es wurde in der Vergangenheit diskutiert, ob die AFLP-Methode bei der in Europa kultivierten, hochgradig heterozygoten und autotetraploiden Spezies *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* überhaupt anwendbar wäre. Es liegen mittlerweile jedoch zahlreiche Arbeiten vor, die bestätigen, dass AFLPs als ein nützliches Werkzeug eingesetzt werden können, um auch nahverwandte Kartoffelsorten zu unterscheiden (z. B. Veteläinen et al., 2005; Solano Solis & Morales Ulloa, 2007), was durch die vorliegende Arbeit bestätigt werden konnte.

Mögliche Fehler könnten aufgetreten sein beim Pipettieren, wobei Pipettierfehler beim letzten Schritt der AFLP, der selektiven Amplifikation, bei der Gelauswertung sofort offensichtlich geworden wären, da dann diese Gele sich von den anderen Gelen stark unterschieden hätten. Eine weitere mögliche Fehlerquelle war die Probenahme im Gewächshaus, da die Pflanzen sehr eng standen und zum Zeitpunkt der Ernte des Probenmaterials teilweise ineinander gewachsen waren, was besonders für das Pflücken von Blattfiedern in bei der jeweils hintersten Reihe zu einem gewissen Verwechslungsrisiko bzw. der Möglichkeit führte, von der selben Pflanze zweimal Proben zu entnehmen. Dies konnte allerdings durch die

Bestätigung der Ergebnisse durch die Analyse des zweiten Probensatzes ausgeschlossen werden.

Ausblick:

Es müssen in der Zukunft weitere Analysen durch die Verwendung von Probenmaterial mehrerer Individuen jeder Gruppe durchgeführt werden, um eine generelle Aussage zu den Verwandtschaftsverhältnissen zwischen den hier formulierten zusammengehörigen Gruppen machen zu können bzw. mehrere Sorten zu einer Sorte zusammenfassen zu können, auch wenn auf phänotypischer Ebene die Ergebnisse durch das Vorliegen von Knollen mehrerer Individuen jeweils einer „Sorte“ gestützt werden. Da die Erhaltung von Sorten in Genbanken mit Arbeit und Kosten verbunden ist, würde es sich lohnen, z.B. Duplikate als solche durch entsprechende Analysen zu identifizieren und diese aus der Genbank zu entfernen. Um die genauen Beziehungen zwischen den einzelnen Herkünften der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* zu untersuchen bzw. um festzustellen, ob es sich um um Klone einer ursprünglichen Pflanze oder nicht, müsste eine genauere Methode als die AFLP-Analyse gefunden werden.

Im Folgenden sind die Knollen abgebildet, die bei der AFLP-Analyse als genetisch differenzierte Gruppen identifiziert wurden:



Abbildung 14: Gegenüberstellung der Sorten *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, Herkunft Groß Lüsewitz, (links) und *Südtiroler 1* (rechts) (Fotos: W. Seemann)



Abbildung 15: Gegenüberstellung der Sorten *Nussige* (links oben), *Svartpotatis* (rechts oben) und *Zillertal Blaue* (links unten) (Fotos: W. Seemann)

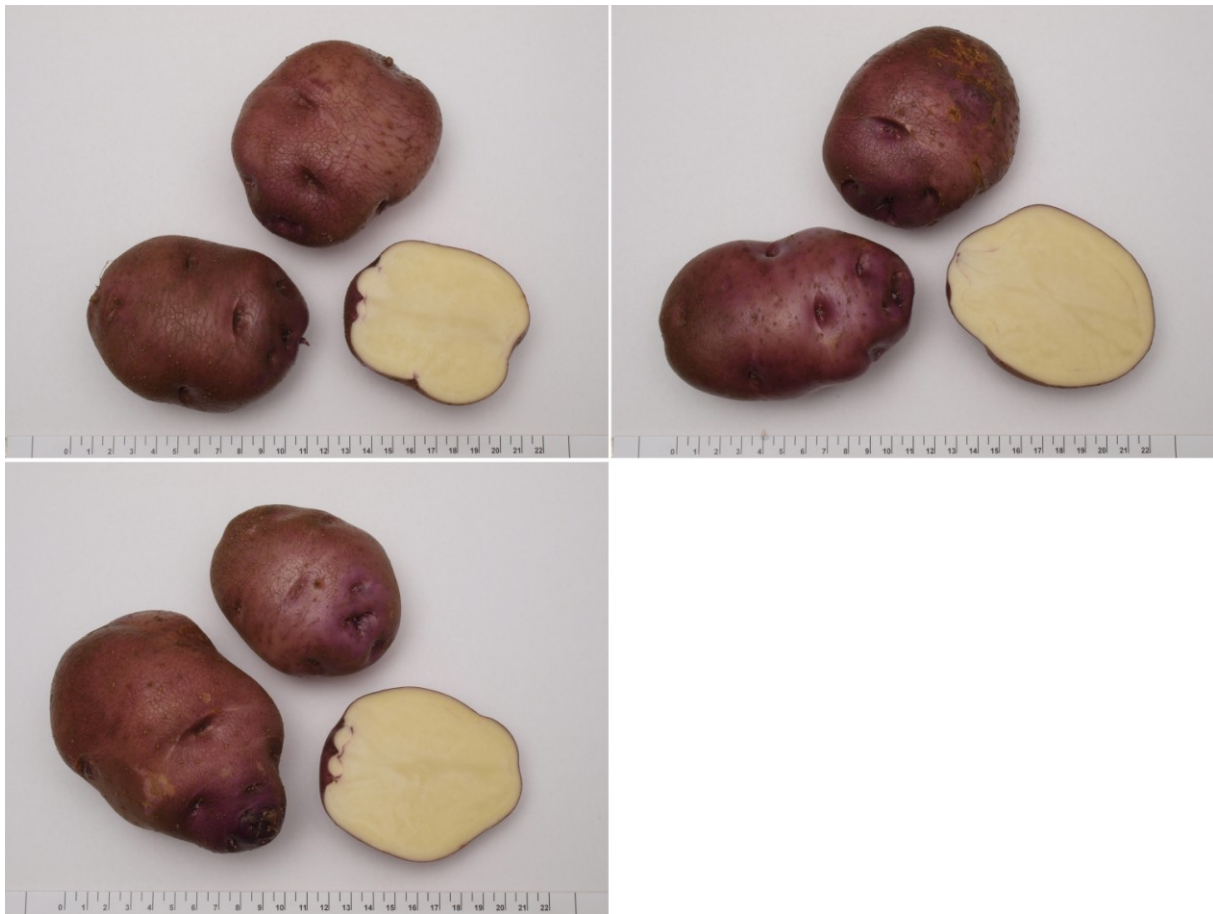


Abbildung 16: Gegenüberstellung der Sorten *Danniger Blau* (links oben), *Skerry Blue* (rechts oben) und *Weinberger Blaue* (links unten) (Fotos: W. Seemann)

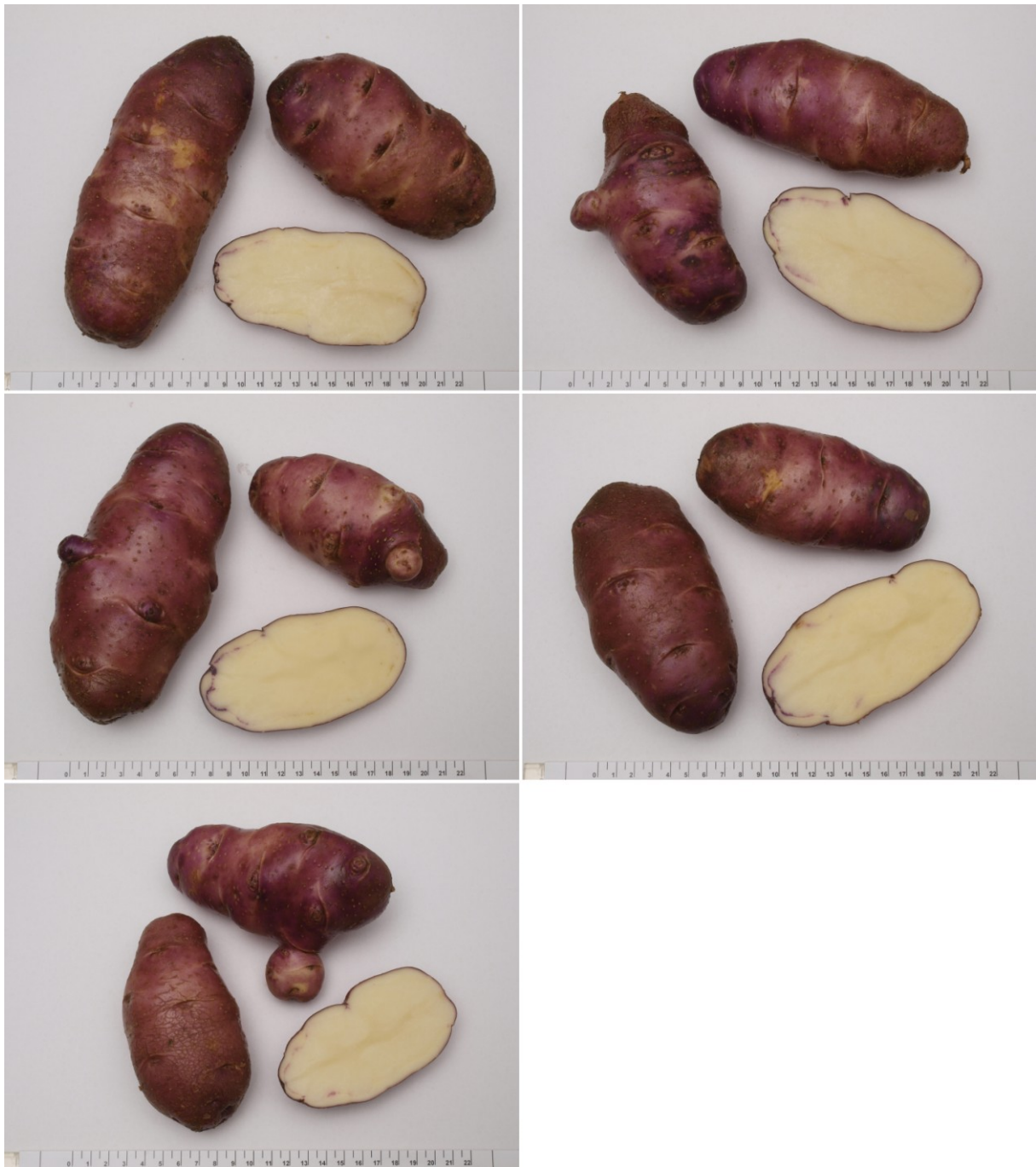


Abbildung 17: Gegenüberstellung der Sorten *Heidzel Blau* (links oben), *Mrs. Moerle's Purple Baker* (rechts oben), *Prince Edward Island Blue* (Mitte links), *Shetland Lila* (Mitte rechts) und *Ungarische Schramayer* (links unten) (Fotos: W. Seemann)



Abbildung 18: Gegenüberstellung der Sorten *Blauwe Eigenheimer* (links oben), *Purple Skinned Eigenheimer* (rechts oben) und *Shetland Blau 1* (links unten) (Fotos: W. Seemann)

4.7 ERFASSUNG DER ESTERASE-, PEROXIDASE- UND PATATIN-MERKMALE MITTELS GELELEKTROPHORESE

4.7.1 EINLEITUNG

Die schnelle und präzise Bestimmung und Unterscheidung von registrierten Sorten oder das Erkennen von neuen Sorten ist unter anderem für Sortenämter, den Handel, die Industrie und Züchter unabdingbar. Neben morphologischen, zytologischen oder strukturellen Merkmalen können dafür die vom Genom eines Individuums unmittelbar codierten Proteine bzw. genauer deren elektrophoretisches Muster im Polyacrylamid-Gel herangezogen werden. Durch Gelelektrophorese erhaltene Proteinmuster sind quasi Spiegelbilder oder "Fingerabdrücke" der Sorten, die durch den Vergleich mit Referenzmaterial identifiziert bzw.

erkannt werden können. Dieses Elektrophorese-Verfahren ist als Methode bereits 1974 bundeseinheitlich von dem Ausschuss der Spitzenverbände der Kartoffelwirtschaft für die Kartoffelgeschäftsbedingungen bei der Arbeitsgemeinschaft des deutschen Kartoffelhandels eingeführt worden (LUFA Nord-West).

Die Sortenechtheitsbestimmung ist in den „Deutschen Kartoffelgeschäftsbedingungen“ als Untersuchungsmethode anerkannt. Auch für den grenzüberschreitenden Handel ist die Sortenechtheitsüberprüfung maßgebend. Dieses Verfahren der Sortenbestimmung wird in der Praxis u.a. von der Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalt (LUFA) Nord-West, einem Institut der Landwirtschaftskammer Niedersachsen, seit 1971 routinemäßig durchgeführt und das Bundessortenamt legt in seiner „Richtlinie zur Prüfung der Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit von: Kartoffel“ (Stand: August 2010) in seiner Anlage eine Beschreibung der Elektrophorese-Methoden zur Erfassung der Esterase-, Peroxidase- und Patatinmerkmale der Kartoffel vor.

Von Stegemann und Loeschke (1976) liegt ein Index europäischer Kartoffelsorten mit elektrophoretischen Spektren der Proteine und Esterasen von 530 Kartoffelsorten vor, womit erstmalig in großem Umfang Biomoleküle zur Sortendiagnose von Kulturpflanzen verwendet wurden.

Ein Vorteil der Methode ist die hohe Präzision, da im Gegensatz zu äußeren Merkmalen die Proteinverteilungsmuster genetisch fixiert und somit streng sortenspezifisch sind und damit unbeeinflusst von ökologischen Verhältnissen wie Nährstoffangebot, Krankheiten, anbautechnischen Maßnahmen und Witterungsverhältnissen. Voraussetzung für konstante Muster ist allerdings, dass die Knollen leidlich ausgereift und andererseits nicht zu stark gekeimt sind.

Außerdem ermöglicht die Methode der Knollensaft-Elektrophorese eine rasche Sortendiagnose. Ergebnisse einer Routineüberprüfung liegen nach ein bis zwei Tagen, in dringenden Fällen bereits nach wenigen Stunden vor.

Ziel der Durchführung dieses Verfahrens im Rahmen dieser Arbeit war, für die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* ein solches sortenspezifisches Proteinmuster zu erstellen.

4.7.2 MATERIAL UND METHODEN:

Die Durchführung des Verfahrens erfolgte in enger Anlehnung an die oben erwähnte Richtlinie des Bundessortenamtes. Es wurden Knollen der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* der Herkunft Genbank IPK Gaterleben/Groß Lüsewitz (je 3 Knollen pro Gel), Fritz Gebelein und Helmut Hornfeck (je 3 Knollen als Mischprobe), sowie der Sorte *Südtiroler 1* (je 3 Knollen) untersucht. Zur Kalibrierung der Positionen der einzelnen Esterase-Isoenzyme wurde die Sorte *Sieglinde* (je 3 Knollen), der Positionen der Peroxidase-Isoenzyme die Sorte *Hansa* (je 3 Knollen) verwendet. *Sieglinde* und *Hansa* fungierten gleichzeitig als Beispielsorten. Die für die Kalibrierung der Bandenpositionen der Peroxidasen benötigte Sorte *Amigo* konnte nicht beschafft werden. Sämtliche Knollen stammten aus der Ernte des Jahres 2011. Das Laub der Pflanzen war zum Zeitpunkt der Ernte, wie vorgeschrieben, bereits abgestorben.

Die Knollen wurden zur Extraktion der Knollenproteine vor der Untersuchung für mindestens drei Tage bei -20°C eingefroren und zur Bearbeitung in handwarmem Wasser wieder aufgetaut. Je eine der aufgetauten Knollen wurde halbiert und innerhalb einer Plastiktüte mit der Hand bzw. mithilfe von Platten ausgepresst. Je ca. 1,5 ml des Safts wurde in 2 ml Eppendorf-Reaktionsgefäßen aufgefangen, in denen 0,05 ml Extraktionslösung, bestehend aus 5% (w/v) Natriumsulfit, 3,75% (w/v) Natriumdisulfit und entionisiertem Wasser, vorgelegt wurde. Nach einem Schüttelvorgang erfolgte ein Zentrifugationsschritt bei 3000 upm und 10°C für zehn Minuten. Je 1 ml des klaren Überstandes wurde in ein neues Eppendorf-Reaktionsgefäß pipettiert, in die 0,5 ml Extraktionslösung, bestehend aus 50% (w/v) Saccharose, 0,03% (w/v) Amidoschwarz 10B und entionisiertem Wasser, vorgelegt wurde. Dieser Extrakt wurde aliquotiert und bei -18°C eingefroren.

Die Erfassung der Esterasemerkmale erfolgte mittels kontinuierlicher Gel-Elektrophorese bei pH 7,9, die der Peroxidase- und Patatinmerkmale bei pH 8,9 mittels diskontinuierlicher Gel-Elektrophorese, d.h. es wurden Gele bestehend aus Sammelgel und Trenngel eingesetzt.

Die Gellösung der Polyacrylamid-Gele für die kontinuierliche Gel-Elektrophorese wurde angesetzt mit entionisiertem Wasser und 3mM Natriumsulfit, Elektrodenstammpuffer, bestehend aus 0,25 M TRIS, 0,6 M Borsäure und entionisiertem Wasser, im Verhältnis 1:9, 4,6 % (w/v) Acrylamid-Lösung, 0,23% (w/v) Bisacrylamid-Lösung, DMAPN-Lösung im Verhältnis 1:200, 0,03% (w/v) APS-Lösung, bestehend aus 2% (w/v) Ammoniumperoxodisulfat und entionisiertem Wasser. Die Totalacrylamid-Konzentration betrug dabei 4,9%, der Vernetzungsgrad des Gels 4,7%. Die Polymerisation wurde gestartet durch Zugabe von 0,6 ml DMAPN-Lösung und 2,0 ml 6 % APS-Lösung.

Für das Gießen der Gele sowie für den Gellauf wurde das vertikale Mini-PROTEAN Tetra Elektrophorese-System und als Spannungsgerät PowerPac von Biorad verwendet.

Für die diskontinuierliche Gelelektrophorese zur Erfassung der Peroxidase- und Patatinmerkmale wurde jeweils zuerst das Trenngel hergestellt. Die Trenngel-Lösung wurde gemischt aus entionisiertem Wasser, Trenngelpuffer im Verhältnis 1:1,7, bestehend aus 0,62 M TRIS und entionisiertem Wasser, 5,6% (w/v) Acrylamid-Lösung und 0,3% (w/v) Bisacrylamid-Lösung. Die Sammelgel-Lösung setzte sich zusammen aus entionisiertem Wasser, Sammelgelpuffer im Verhältnis 1:2, bestehend aus 0,13 M TRIS, 0,01% (w/v) Bromphenolblau und entionisiertem Wasser, 3,33% (w/v) Acrylamid-Lösung, 2% (w/v) Bisacrylamid-Lösung und 0,43 M Saccharose. Die Polymerisation wurde gestartet mit 100 µl TEMED und 6 ml 2% APS-Lösung. Nach dem Gießen der Trenngel-Lösung wurde diese mit entionisiertem Wasser überschichtet. Nach einer Polymerisationsdauer von mindestens 1 h wurde der Sammelgel-Lösung unter sanftem Rühren 60 µl TEMED und 375 µl 2% APS-Lösung beigemischt, das Wasser von der Oberfläche der Trenngele abgegossen und die Sammelgel-Lösung auf die Trenngele gegossen. Nach dem Einsetzen der Probenkämme erfolgte die Polymerisation für ca. 1 h. Die Totalacrylamid-Konzentration betrug 5,5%, der Vernetzungsgrad 4,4%.

Die Geltaschen wurden vor dem Probenauftrag mit Elektrodenpuffer gespült. Die Auftragsmengen der aus den Knollen gewonnenen Proteinextrakte betragen für die Esterasen 3 bzw. 4 µl, für die Peroxidasen 12 µl und für die Patatine 4 µl.

Aufgetragen wurden pro Gel je drei Proben der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* (Herkunft Fritz Gebelein/Helmut Hornfeck), drei Proben der Herkunft Genbank Groß Lüsewitz, 3 Proben der Sorte *Südtiroler 1*, 3 Proben der Sorte *Hansa* und 3 Proben der Sorte *Sieglinde*.

Die Trennbedingungen der PAGE für die Esterasen waren wie folgt:

Die Gel-Elektrophorese erfolgte in einem Kühlraum bei ca. 5°C. Als Elektrodenpuffer wurde TRIS-Borat, pH 7,9, eingesetzt; die Stromstärke wurde zu Beginn bei einem Gel bei 10 mA eingestellt, nach ca. zehn Minuten auf 20 mA erhöht. Die Spannung betrug max. 250 V; der Gellauf wurde bei einer Laufstrecke des Amidoschwarz von ca. sechs Zentimeter abgebrochen.

Für die Trennung der Peroxidasen und Patatine wurde als Elektrodenpuffer TRIS-Glycin, pH 8,9, verwendet; die Stromstärke bei zwei Gelen betrug zu Beginn 20 mA, nach ca. zehn

Minuten wurde auf 40 mA erhöht; die Spannung lag bei max. 250 V; nach einer Laufstrecke des Bromphenolblau von sechs Zentimeter wurde die Elektrophorese beendet.

Färbungen:

Für die Esterase-Färbung wurden pro Gel 30 ml Färbepuffer A, bestehend aus 0,15 M Dinatriumhydrogenphosphat, gelöst in entionisiertem Wasser, und 20 ml Färbepuffer B, bestehend aus 0,15 M Natriumdihydrogenphosphat, gelöst in entionisiertem Wasser, zu einer Färbelösung zusammengemischt. In dieser Lösung wurden die Gele geschaukelt. In einem Glasröhrchen wurden anschließend 12,5 mg 1-Naphtylacetat in max. 1 ml Aceton gelöst und solange entionisiertes Wasser zugesetzt, bis eine Trübung zu beobachten war. In einem zweiten Glasröhrchen wurden 25 mg Fast Blue RR Salt in max. 1 ml Aceton gelöst und ca. 6,2 ml entionisiertes Wasser zugegeben. Im nächsten Schritt erfolgte die gleichzeitige Zugabe dieser beiden Lösungen zu den Gelen und die Färbung wurde für zehn bis 20 Minuten durchgeführt, dann die Färbelösung abgeschüttet. Um überschüssige Farbpartikel zu entfernen, wurden die Gele zweimal für je 10 Minuten in entionisiertem Wasser geschaukelt und die Gele anschließend digital fotografiert.

Für die Peroxidase-Färbung wurde ein Gel in 50 ml Färbepuffer B (siehe oben) geschaukelt und 2,5 ml Dianisidin-Lösung, bestehend aus 1% (w/v) o-Dianisidin-2 HCl in entionisiertem Wasser, zugegeben. Nach ca. 15 Sekunden erfolgte die Zugabe von 65 µl 30% Wasserstoffperoxid. Der Färbvorgang konnte nach zehn bis 30 Minuten durch Abgießen der Färbelösung beendet werden, anschließend wurde das Gel zweimal für 30 Minuten in Leitungswasser gewaschen und anschließend fotografiert.

Für die Patatin-Färbung wurde ein Gele in 75 ml Färbelösung, bestehend aus entionisiertem Wasser, 6% (w/v) Trichloressigsäure, 7% (w/v) Eisessig, 14% Methanol und Stammlösung im Verhältnis 1:42, bestehend aus 0,25% (w/v) Comassie-Blau G 250 , 0,75% (w/v) Comassie-Blau R 250 und entionisiertem Wasser, für 30 Minuten geschaukelt und über Nacht im Färbebad stehen gelassen. Nach dem Abgießen der Färbelösung wurde das Gel zweimal für je 30 Minuten in Leitungswasser gewaschen und fotografiert.

Die Auswertung der Zymogramme wurde gemäß der Beschreibung der Richtlinie des BSA durchgeführt.

4.7.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION:

Die aus den Knollen der Proben *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, Herkunft Fritz Gebelein und Helmut Hornfeck, *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, Genbank Groß Lüsewitz und *Südtiroler 1* stammenden Esterasen und Peroxidasen wiesen sowohl innerhalb eines Gels je eines Versuchs-Durchlaufs, als auch im Vergleich der Gele der beiden Durchläufe ein übereinstimmendes Protein-Bandenmuster auf. Das erste Gel zur Erfassung der Patatin-Merkmale weist im Vergleich zum zweiten Gel bei den oben genannten Proben eine zusätzliche Bande auf. Die aufgetragene Probenmenge war bei diesem Gel zu groß gewählt und resultierte deswegen in unscharfen Banden. Das Gel ist aus diesem Grund nur bedingt für eine Auswertung verwendbar. Es kann also davon ausgegangen werden, dass es sich bei den genannten Proben um eine und die gleiche Sorte handelt. Damit wurde das Ergebnis der Genomanalyse (siehe 4.6.3) bestätigt. Die Kalibriersorten *Hansa* und *Sieglinde* zeigten ein jeweils differenziertes Bandenmuster, das mit dem beschriebenen Bandenmuster für diese Sorten in der Richtlinie des BSA übereinstimmte.

Ergebnis Esterasen (siehe *Abb. 21* im Anhang):

Es wurden nach erfolgter Färbung bei den Proben der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* drei Banden sichtbar. Mithilfe der Kalibriersorte *Sieglinde* wurden den Banden die Positionen 66, 75 und 83 zugeordnet. Es wurde während des Gellaufs beobachtet, dass die Proben der Sorte *Sieglinde* um einen gewissen, konstant bleibenden Abstand hinter den anderen Proben liefen, was dazu führte, dass im gefärbten Gel diese Banden ebenso einen bestimmten Abstand nach oben versetzt erscheinen. Es wird unter Berücksichtigung dieser Tatsache davon ausgegangen, dass die Bande 75 der Sorte *Sieglinde* trotz dieser wahrnehmbaren „Verschiebung“ den Banden der anderen Proben in diesem Bereich entspricht. Gemäß der BSA-Richtlinie erfolgt eine Einteilung der Bandenpositionen in die Blöcke Est 1, 2, 3 und 4, von denen die Blöcke Est 2 und Est 3 zur Feststellung der Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit herangezogen werden. Die Blöcke Est 1 und 4 weisen in der Regel eine schwache Bandenintensität auf und werden deshalb nicht berücksichtigt. Dementsprechend wurde die Bande der Position 66, die sich im Block Est 1 befand, nicht gewertet und es lagen für die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* zwei Banden (in Position 75 und 83) im Block Est 2 und keine Bande im Block Est 3 vor. Damit erhält man die am häufigsten beobachtete Bandenkombination (Typ d+0).

Ergebnis Peroxidasen (siehe *Abb. 23* im Anhang):

Es wurden bei der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* in dem Bereich von 55 bis 70 REM (relative elektrophoretische Mobilität) nach erfolgter Färbung zwei Banden sichtbar.

Eine Bande lag geringfügig oberhalb der Position 68, die mit Hilfe der Beispiel-Sorte *Hansa* zugeordnet werden konnte, die eine Bande in dieser Position besitzt. Trotz der etwas davon abweichenden Bandenposition handelt es sich sehr wahrscheinlich um die Bande 68. Die nächste derzeit bekannte Bande oberhalb dieser Position ist die Bande der Position 66, die aber sichtbar oberhalb der Position 68 liegen dürfte. Eine Bande der Position 67 ist noch nicht bekannt. Die zweite Bande befand sich oberhalb der Position 66, deren Position aber wegen der fehlenden Kalibriersorte *Amigo* nicht genau bestimmt werden konnte.

Ergebnis Patatine (siehe *Abb. 20* im Anhang):

In der nativen PAGE lässt sich die Fraktion der Patatine bei pH 8,9 laut Richtlinie des BSA in eine Vielzahl von Banden auftrennen. Hier wird die Position der Banden beschrieben durch ihre REM mit einem Zahlenwert zwischen 1 und 100. Wegen des hohen Polymorphiegrades der Patatine treten bei den bekannten Kartoffelgruppen mehr als 80 Allelkombinationen auf. Für eine sichere und schnelle Erkennung dieser werden die Bandenmuster gruppiert und für die Gruppierung die Patatinbanden zwischen Position 33 und 60 zugrunde gelegt, die mit den Bandenbereichen A, B, C und D von Stegemann und Lösckke (1976) identisch sind, d.h. Bandenbereich A entspricht den Bandenpositionen 33-34, B entspricht 42-43, C entspricht 49-53 und D entspricht 58-60. Anhand der Gruppierungsbanden in den Bereichen A, B, C und D ergeben sich neun Gruppen. Die Gruppen definieren sich durch Vorhandensein bzw. Abwesenheit einer Bande in den Bereichen A bis D. Besitzt z. B. eine Sorte nur eine Bande im Bereich B, dann wird sie der Gruppe 1 zugeordnet. Siehe hierzu die Richtlinie des BSA.

Die Beispielsorte *Hansa* besitzt Banden in allen vier Bereichen und gehört somit zur Gruppe 8. Bei der hier untersuchten Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* konnten ebenfalls Banden in allen vier Bereichen angefärbt werden und dementsprechend die Sorte auch der Gruppe 8 zugeordnet werden.

Zusätzlich zur Gruppenzuordnung wird innerhalb einer Gruppe durch Beschreibung der Bandenpositionen im Bandenbereich 33 bis 60 und zusätzlich im Bandenbereich 15 – 32 der genaue Genotyp definiert. Jeder Genotyp durch eine Nummer beschrieben. So hat z.B. die Sorte *Hansa* die Nummer 8.02, wobei 02 eine Ordnungszahl ist. Neu in einer Gruppe auftretende Genotypen erhalten die nächste freie fortlaufende Nummer.

Die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* besitzt zusätzlich eine Bande über der Bande der Position 43, die bei der Beispielsorte *Hansa* nicht vorhanden ist, in einer Position ähnlich einer Bande der Sorte *Innovator* mit der Bandenposition 40. Eine schwache Bande lag unter der Position 50 vor. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass zwei Banden in demselben Bereich bei einer größeren aufgetragenen Proteinmenge sichtbar waren. Ebenfalls bei

höherer Proteinmenge wurde eine Bande über der Bande der Position 59 sichtbar, die bei der *Hansa* auf demselben Gel nicht zu sehen war. Derzeit sind zwischen den Banden der Positionen 50 und 59 die Banden 51, 52 und 58 bekannt. Demnach könnte es sich bei der Position der gesichteten Bande um die Position 58 handeln. Eine Kombination der Banden 58 und 59 kommt allerdings nur sehr selten vor.

Der genaue Genotyp bzw. die Ziffer hinter der Nummer „8“ konnte aufgrund des recht komplexen Nummerierungssystems und der Tatsache, dass der vom BSA zuletzt benannte neue Genotyp nicht bekannt war, nicht angegeben werden.

4.8 ANBAUVERSUCH ZUR RESISTENZ GEGEN KRAUT- UND KNOLLENFÄULE

4.8.1 EINLEITUNG

Zeitgleich zu dieser Arbeit wurde in Schrobenuhausen ein Anbauversuch zur Untersuchung der Resistenz von 77 Kartoffelsorten gegen die durch den Pilz *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary ausgelöste Kartoffel-Krankheit Kraut- und Knollenfäule durchgeführt. Die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* war in diesem Anbauversuch ebenfalls vertreten.

4.8.2 MATERIAL UND METHODEN

Im Folgenden wird eine kurze Beschreibung der Anlage des Anbauversuchs gegeben. Der Anbau der untersuchten Sorten erfolgte in zwei Wiederholungen. Jede Wiederholung bestand aus sieben Blöcken, die durch Wege getrennt in je zwei Reihen mit acht Kleinparzellen, also insgesamt 16 Kleinparzellen, aufgeteilt waren. Eine Kleinparzelle wiederum bestand aus zwei Reihen mit fünf Pflanzen pro Reihe. Der Reihenabstand betrug 75 cm, der Abstand der Pflanzen innerhalb einer Reihe 32 cm. In den 16 Kleinparzellen pro Block wurden die fünf Vergleichssorten neben elf zu untersuchende Sorten angebaut. Als Vergleichssorten dienten die Sorten *Lolita* (3), *Ditta* (5), *Princess* (7), *Anuschka* (2) und *Jelly* (4). Die in Klammer angegebenen Zahlen entsprechen der jeweiligen Note für die Anfälligkeit gegen Krautfäule nach dem Bundessortenamt, wobei die niedrigste Note für die geringste Anfälligkeit steht.

Die Pflanzen wurden zu bestimmten Terminen in den Monaten Juli und August visuell bonitiert, indem von den zehn Pflanzen jeder Kleinparzelle der Durchschnittswert der befallenen Blattfläche in Prozent geschätzt wurde. Zur Einordnung bzw. Abschätzung der

Resistenz der untersuchten Sorten gegen die Krautfäule wurden diese Werte mit den Werten der Vergleichssorten verglichen.

4.8.3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Das vorläufige Ergebnis des Anbauversuchs ist in *Diagramm 1* dargestellt. Der aus den jeweiligen Werten der befallenen Blattfläche der beiden Wiederholungen gebildete Mittelwert in Prozent ist über die Bonitur-Termine aufgetragen. Es wurden neben der Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* die Vergleichssorten *Princess* und *Jelly* für einen Vergleich herangezogen. *Princess* war im Versuch die Sorte mit geringster Resistenz, *Jelly* die mit höchster Resistenz unter den Vergleichssorten. Die *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* wies eine höhere Resistenz auf als alle Vergleichssorten, sowohl bei den Einzelwerten jeder Wiederholung, als auch beim Mittelwert. So waren z.B. die Werte der beiden Wiederholungen am 26. Juli 2011 für die *Schwarzblaue* 40 bzw. 85%, während bei *Lolita* 95 bzw. 98%, bei *Ditta* 90 bzw. 100%, bei *Princess* 100%, bei *Anuschka* 99 bzw. 100% und bei *Jelly* 90 bzw. 95% der Blattfläche befallen waren. Die theoretische Note betrüge folglich 1 in Bezug auf die Vergleichssorte *Anuschka* mit der Note 2.

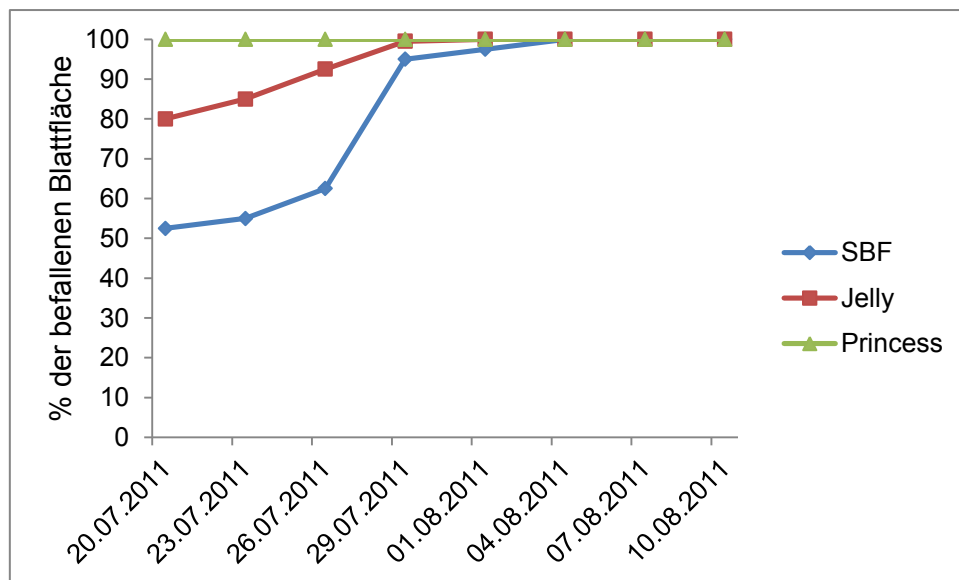


Diagramm 1: Verlauf des Blattbefalls der Sorten *Schwarzblaue aus dem Frankenwald*, *Jelly* und *Princess* im Anbauversuch Kraut- und Knollenfäule bei Schrobenhausen

Dieses vorläufige Ergebnis berücksichtigt nicht die Reifezeit der Sorte. Andere Sorten des Versuchs wiesen eine noch höhere Resistenz auf. Weiterhin ist bemerkenswert, dass die vom Bundessortenamt angegebene Note für die Anfälligkeit der jeweiligen Vergleichssorte

gegen die Krautfäule nicht der im Versuch festgestellten Resistenz entsprach. So wiesen z.B. *Ditta* und *Jelly* zu jedem Termin geringere Werte für die befallenen Blattflächen auf als *Anuschka*.

4.9 ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG AUF BAKTERIELLE RINGFÄULE UND SCHLEIMKRANKHEIT

Bei der Bakteriellen Ringfäule und der Schleimkrankheit der Kartoffel handelt es sich um gefährliche Quarantänekrankheiten für den Kartoffelanbau (LfL, 2004). Die Bakterielle Ringfäule wird von der weltweit verbreiteten Bakterienart *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* (Cms) verursacht, bei der Schleimkrankheit ist das Bakterium *Ralstonia solanacearum* (Rs) als Erreger identifiziert worden, welcher über 250 verschiedene Pflanzenarten befällt und vor allem in den Tropen und Subtropen drastische Wirtschaftsschäden hervorruft. Ein an das gemäßigte Klima Mitteleuropas angepasster Stamm befällt hier neben anderen Vertretern der Familie der Nachtschattengewächse auch die Kartoffel. Es sind noch keine resistenten Sorten verfügbar und eine direkte chemische und biologische Bekämpfung der Krankheitsverursacher ist nicht möglich. Es existieren deswegen umfangreiche Vorbeugemaßnahmen, um ein Auftreten und eine Weiterverbreitung dieser Krankheiten zu verhindern und vorhandene Befallsherde zu beseitigen. Unter anderem soll kein Pflanzgut unbekannter Herkunft eingesetzt werden (LfL, 2004). Um im Falle der hier untersuchten Sorte einen nicht auszuschließenden Befall des Pflanzguts mit diesen Krankheiten aufzudecken, wurden als Proben Knollen an das Labor der Abteilung Pflanzengesundheit, Quarantäne des Instituts für Pflanzschutz der LfL in Freising abgegeben, wo eine Untersuchung von Knollen auf Erreger mit IF-Test und PCR durchgeführt wurde.

Das Ergebnis der Untersuchung war negativ, d.h. es konnten keine Erreger in den Proben festgestellt werden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Landsorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* wird nur noch in sehr geringem Umfang angebaut und das fast ausschließlich für den Eigenbedarf. Es ist eine Frage der Zeit, bis die Sorte in naher Zukunft in ihrer Heimat als alte Kultursorte nicht mehr existieren wird. Hauptgrund für das nachlassende Interesse am Anbau und damit dem Erhalt der Sorte dürfte der geringe Ertrag bzw. die Ertragsunsicherheit sein, die bedingt sind durch die hohe Infektionsrate mit Virenerkrankungen, die in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen wurden. Weitere Gründe sind in der fortschreitenden Aufgabe von landwirtschaftlichen Betrieben in (Ober)franken im Allgemeinen und des Anbaus von Kartoffeln im Speziellen zu finden, der damit auch die Kulturpflanze Kartoffel zu Opfer fällt.

Für den Erhalt der Sorte in Form eines regionalen Anbaus in ihrem Herkunftsgebiet ist das Slow Food Convivium Hohenlohe-Tauber-Main-Franken bemüht. Die vorliegende Arbeit soll deshalb als Grundlage für eine umfassende Dokumentation dienen, die wiederum für eine Ernennung der Sorte zum Passagier des Slow Food - Projekts „Arche des Geschmacks“ grundlegend ist.

Ein bei guten Anbaubedingungen resultierender hoher Stärkegehalt macht die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* über die Ernährung hinaus interessant für eine stoffliche Nutzung. Außerdem konnte im hitze-koagulierbaren Proteinanteil ein überdurchschnittlich hoher Gehalt an essenziellen Aminosäuren nachgewiesen werden. Die Proteingehalte i. d. TM liegen im Vergleich zu anderen Kartoffelsorten etwas über dem Durchschnitt.

Die Genomanalyse hat ergeben, dass die untersuchten Knollen der Bezeichnung *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* unterschiedlicher Herkunft bis zu einem gewissen Grad als eine Sorte aufzufassen sind, geringe Abweichungen sind aber vorhanden. Das untersuchte Exemplar der Sorte *Südtiroler 1* konnte aufgrund einer hohen Übereinstimmung der bei der AFLP-Analyse erzielten Daten der Gruppe *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* zugeordnet werden. Phänotypische Übereinstimmung der Knollen sowie ein übereinstimmendes Proteinbandenmuster bestätigten dieses Ergebnis.

Es konnten weitere enge verwandtschaftliche Beziehungen zwischen anderen blauschaligen Sorten, jedoch nicht zwischen der *Schwarzblauen aus dem Frankenwald* und diesen nachgewiesen werden.

6 FAZIT

Der Erhalt von alten Kartoffelsorten als genetische Ressourcen beschränkt sich meist auf Gewebekulturen in Genbanken, wo sie ein „Schattendasein“ führen, da sie wirtschaftlich mit den „modernen“ Sorten kaum konkurrieren können. Eine genauere Untersuchung ihrer Eigenschaften kann jedoch interessante Ergebnisse hervorbringen. Darüber hinaus bestehen Bemühungen, alte Sorten wieder vermehrt auch auf dem Feld, besonders in ihrer Herkunftsregion, anzubauen.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, warum die Sorte *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* weiterhin in der Region ihrer traditionellen Verbreitung angebaut werden sollte. Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen scheint sie weder besser angepasst an die regionalen klimatischen Gegebenheiten ist, was sichtbar wurde am Ertrag in Relation zum Vergleichsstandort Freising. Noch besteht kein feststellbarer geschmacklicher oder genereller qualitativer Vorteil.

Es sprechen aber sozioökonomische Gründe für einen Anbau der Sorte in ihrer Heimat. Bedingt durch die Böden und das Landschaftsrelief bzw. das Klima des Frankenwalds, haben sich im Vergleich zu anderen Regionen Bayerns wie z.B. dem Gäuboden bei Straubing, unterschiedliche Betriebsstrukturen ausgebildet. So waren die Landwirte in dieser landwirtschaftlich eher benachteiligten Region darauf angewiesen, sich neben der Landwirtschaft zusätzliche Erwerbsquellen zu suchen bzw. zu schaffen.

Gerade das Beispiel des Landwirts, der die Sorte bis zum heutigen Tag nicht aufgegeben hat, verdeutlicht diese Situation. Die Landwirtschaft wird extensiv als Nebenerwerb betrieben, neben einer Gastwirtschaft, für die u.a. die Kartoffeln angebaut werden. Diese speziellen Umstände haben dazu geführt, dass der Landwirt die Sorte nicht aufgegeben hat. Wäre der Landwirt angewiesen auf hohen Ertrag der angebauten Feldfrüchte, dann hätte er vermutlich irgendwann ertragsschwache Sorten ersetzt durch Sorten mit höherer Ertragsleistung.

Ein weiterer Aspekt, der für einen Anbau bzw. Erhalt der alten Kartoffelsorte im traditionellen Anbaugebiet spricht, ist der sog. komparative Vorteil, ein Begriff aus der Volkswirtschaftslehre. Die Landwirte der Region Frankenwald sind in der Lage, die Kartoffeln zu niedrigeren Opportunitätskosten zu produzieren als die Kollegen in ertragreicheren Regionen, die dort auch hohe Erträge mit anderen Produkten erzielen. Immer wenn zwischen zwei Regionen unterschiedliche Produktionskostenstrukturen existieren, d.h. wenn die eine Region für ein produziertes Gut auf weniger Einheiten eines anderen Gutes

verzichten muss als die andere Region (= niedrigere Opportunitätskosten), dann sollte sich die Region mit den niedrigeren Opportunitätskosten auf das Gut spezialisieren, das es relativ bzw. komparativ günstiger herstellen kann.

Außerdem ist die Sorte regional bekannt, was eine regionale Nachfrage und einen regionalen Absatzmarkt (Gespräche mit den Landwirten von Carlsgrün) zur Folge hat. Ein Anbau in anderen Regionen wäre verbunden mit einem Transport über größere Distanzen, was mit Mehrkosten verbunden wäre.

Letztendlich bestimmt aber der Verbraucher durch seine Nachfrage nach dem Produkt darüber, ob die *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* eine Zukunft als Nutzpflanze in ihrer Heimat hat. Es gibt in der jüngsten Vergangenheit Anzeichen dafür, dass Interesse an der Sorte (wieder-)geweckt wurde. In Verbindung mit der Bereitstellung gesunden Pflanzguts für die Landwirte, die sie nie aufgegeben haben und die, die sich bereit erklärt haben, sie wieder anzubauen, besteht eine große Wahrscheinlichkeit, dass es die *Schwarzblaue aus dem Frankenwald* auch in Zukunft weiterhin im Frankenwald geben wird.

7 QUELLENVERZEICHNIS

7.1 LITERATURQUELLEN

Ames, M. & Spooner, D. M. (2008). DNA from herbarium specimens settles a controversy about origins of the European potato. *American Journal of Botany* 95(2): 252–257.

Merkblatt der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Institut für Pflanzenschutz (Hrsg.; 1. Auflage 2004). Bakterielle Ringfäule und Schleimkrankheit-Gefährliche Quarantänekrankheiten für den Kartoffelanbau. Lerchl Druck Freising.

Bandelt, H.-J., & Dress, A. (1992). A canonical decomposition theory for metrics on a finite set. *Adv. Math.* 92:47–105.

Becker, H. (1993). Pflanzenzüchtung. Stuttgart: Ulmer.

Brücher, H. (1975). Domestikation und Migration von *Solanum tuberosum* L. Neuere Ergebnisse über alte Probleme des Ursprungs und der Verbreitung der Speisekartoffel aus Südamerika nach Europa, Asien und Afrika, gestützt auf Relikt-Klone von der Insel Chiloé, den Anden Venezuelas, den Drakensbergen Südafrikas, den Vorbergen des Himalaya und den Kanarischen Inseln. *Die Kulturpflanze*, 23: 11-74.

Brückmann, R. A. (1876). Die Kartoffel und ihre Kultur: Amtlicher Bericht über die Kartoffel-Ausstellung zu Altenburg vom 14. bis 24. Oktober 1875 und ihre Ergebnisse. Wiegandt, Hempel & Parey.

Bryant, D. & Moulton, V. (2004). Neighbor-Net: An Agglomerative Method for the Construction of Phylogenetic Networks. *Mol. Biol. Evol.* 21(2):255–265.

Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (Hrsg.; August 2002). Nationales Fachprogramm zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung pflanzengenetischer Ressourcen landwirtschaftlicher und gartenbaulicher Kulturpflanzen. Druckpunkt Offset GmbH, Bergheim.

Bundessortenamt (Hrsg.; März 2008). Richtlinie für die Koch- und Speiseprüfung mit Speisekartoffeln. 203-03.02.

Burton, W. G. (1966). The potato. 2. Aufl., Druckerei Veenman, BV, Wageningen.

Công-Linh, L. (2004). Angewandte Pflanzenbiotechnologie: Changins saniert alte, von Viren befallene Kartoffelsorten. Agroscope RAC Changins. Pressemitteilung vom 6. Dezember 2004.

Desborough, S. L. & Weiser, C. J. (1974). Improving potato protein. I. Evaluation of selection techniques. Am. Potato J. 51: 185-96.

Encke, F.; Buchheim, G. & Seybold, S. (1984). Internationaler Code der Nomenklatur der Kulturpflanzen 1980. 13. Auflage. Verlag Eugen Ulmer. Stuttgart.

Eppendorfer, W. H., Eggum, B. O. & Bille, S. W. (1979). Nutritive value of potato crude protein as influenced by manuring and amino acid composition. J. Sci. Food Agric. 30: 361-8.

Espinola, C. N. Y. (1979). Chemical analysis and evaluation of the protein quality of some potato varieties. Auf Spanisch. M.Sc. thesis, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima.

Ewers, E. (1908). Über die Bestimmung des Stärkegehalts auf polarimetrischem Wege. Z. öffentl. Chem. 14:150-157.

Fitch, W. (1997). Networks and viral evolution. J. Mol. Evol. 44:S65–S75.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (Hrsg.; 1996). The State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome, Italy.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Commission On Genetic Resources For Food And Agriculture (Hrsg.; 2001). Crops proposed for the multilateral system: Centres of diversity, locations of *ex situ* collections, and major producing countries. Background study paper No. 12.

Glauer, A. (2011). Entwicklung einer schnellen NIRS-Methode zur Bestimmung von Proteinen in der Kartoffel und die Untersuchung weiterer Inhaltsstoffe. Unveröff. Bachelorarbeit, Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt.

Glauer, T. (2010). Entwicklung eines neuen Schnellanalyseverfahrens zur Bestimmung des Stärkegehalts von Kartoffeln. Praktikumsbericht. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft. Freising.

Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH (Hrsg.; Mai 2000). Sicherung der Agrobiodiversität im ländlichen Raum. Oktoberdruck Berlin.

Hale, A. L., Miller, J. C., Jr., Renganayaki, K., Fritz, A. K., Coombs, J. J., Frank, L. M. & Douches, D. S. (2005). Suitability of AFLP and microsatellite marker analysis for discriminating intracloonal variants of the potato cultivar Russet Norkotah. J Amer.Soc. Hort. Sci. 130:624-630.

Harlan, J. (1971). "Agricultural Origins: Centres and Noncentres," Science, Vol. 174.

Heywood, V. (ed.) (1995). Global Biodiversity Assessment. (UNEP) Cambridge: Cambridge University Press.

Harris, P. M. (Hrsg.). (1978). The Potato Crop. The Scientific Basis for Improvement. 244 - 245. Chapman and Hall. London, England.

Hawkes, J. G. (1990). The Potato. Evolution, Biodiversity and Genetic Resource. Belhaven Press, London, England.

Hijmans, R-, J. & Spooner, D. M. (2001). Geographic distribution of wild potato species. American Journal of Botany 88: 2101-2112.

Hoff, J. E., Lam, S. L. & Erickson, H. T. (1978). Breeding for high protein and dry matter in the potato at Purdue University. Purdue Univ. Agric. Exp. Station Res. Bull. 953.

Holm, F. (1974). Mørkfarvningsreaktioner i vegetabiliske fødevarer eksemplificeret med kartoffelknolden. Meddr Kartoffelafd. (FHI, Kolding, Denmark) 12: 3-12.

Houwing, A., Suk, R. & Ros, B. (1986). Generation of lightsprouts suitable for potato variety identification by means of artificial light. Acta Hort. (ISHS) 182:359-364.

Huamán , Z. , & Spooner, D. M. (2002) . Reclassification of landrace populations of cultivated potatoes (*Solanum* sect. *Petota*). American Journal of Botany 89: 947-965.

Hughes, B. (1958). The amino-acid composition of potato protein and of cooked potato. *Br J Nutr* 12 (2): 188-95.

Hunnius, W. (1976). Einfluss des Virusbefalls bei Kartoffeln auf Stärkegehalt und Chipsfarbe. *Potato Res.* 19: 371-376.

Huson, D. H. & Bryant, D. (2006). Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies, *Mol. Biol. Evol.*, 23(2):254-267.

Kaldy, M. S. & Markakis, P. (1972). Amino acid composition of selected potato varieties. *J. Food Sci.* 37: 375-7.

Kilian, R. (Hrsg.) (1988). Die Kartoffel. Geschichte, Geräte, Produkte. Begleitheft zur Sonderausstellung des Rieser Bauernmuseums Maihingen.

Liebl, A. (2008). Beschreibung der Kartoffelsorte „Bamberger Hörnla“ – Sortenbeschreibung, Herkunftsschutz und Verbraucherreferenzen. Diplomarbeit, Fakultät für Wirtschaftswissenschaften, TU München-Weihenstephan.

Lindner, P., Kaplan, B., Weiler, E. & Ben-Gera, I. (1980-81). Fractionation of potato juice proteins into acid-soluble and acid-coagulable fractions. *Food Chemistry* 6: 323-335.

Lorey, H. (2008). Tartuffli: Alte Kartoffelsorten neu entdeckt. Landwirtschaftsverlag.

Lund (1956). Die Kartoffel, Bd. I, S.296 ff.

Meyer, A. (2004). Fallstudie Weizen. In Institut für ökologische Wirtschaftsforschung, Öko-Institut e.V., Schweisfurth-Stiftung, Freie Universität Berlin, Landesanstalt für Großschutzgebiete (Hrsg.), *Agrobiodiversität entwickeln! Handlungsstrategien für eine nachhaltige Tier- und Pflanzenzucht*. Endbericht. Berlin.

Mayr, E. (1976). *Evolution and the Diversity of Life: Selected Essays*. Cambridge: Harvard University Press.

Mulder, E. G. & Bakema, K. (1956). Effect of the nitrogen, phosphorus, potassium and magnesium nutrition of potato plants on the content of free amino-acids and on the amino-acid composition of the protein of the tubers. *Plant and Soil*, 7, 135-166.

Munzert, M. (1992). Einführung in das pflanzenbauliche Versuchswesen. Verlag Paul Parey. Berlin-Hamburg.

Murray, M. G. & Thompson, W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res. 8, 4321-4325.

Neuberger, A. & Sanger, F. (1942). The nitrogen of the potato. Biochem. J. 36, 662.

Paul, A. A. & Southgate, D. A. T. (1978). McCance and Widdowson's The composition of foods, 4th edn. MRC special report no. 297. HMSO, London.

Putsche, C. W. (1819). Versuch einer Monographie der Kartoffeln Oder ausführliche Beschreibung der Kartoffeln nach ihrer Geschichte, Charakteristik, Cultur und Anwendung in Teutschland. Weimar.

The Potato Genome Sequencing Consortium (Hrsg; 2011). Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. Nature 475, 189–195.

Rek, J. (1987). Untersuchungen über die Eignung des ELISA-Verfahrens zum serienmäßigen Nachweis von Viren (PLRV und PVY) bei der Kartoffel unter Berücksichtigung des Infektionszeitpunktes der Pflanzen und des physiologischen Zustandes der Knolle. Dissertation. Eidgenössische Technische Hochschule Zürich.

Rexen, B. (1976). Studies of protein of potatoes. Potato Res. 19, 189-202.

Saghai-Maroo, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. & Allard, R. W. (1984). Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 81, pp. 8014-8018

Saitou, N., & Nei, M. (1987). The Neighbor-Joining method: a new method for reconstruction of phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4:406–425.

Shakya, P., M. Ranjit, A. Manandhar & S. D. Joshi (1992). Elimination of three Viruses from Potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Cardinal by Meristem Culture. J. Inst. Agric. Anim. Sci. 13:89-93.

Snyder, J. C. & Desborough, S. L. (1980). Total protein and protein fractions on tubers of Group Andigena and *Phureja-Tuberosum* hybrids. Qual. Plant. Foods Hum. Nutr. 30,123-34.

Solano Solis, J. & Morales Ulloa, D. (2007). Molecular description and similarity relationships among native germplasm potatoes (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) using morphological data and AFLP markers. Electronic Journal of Biotechnology Vol.10 No. 3, 436-443.

Stegemann, H. & Loeschcke, V. (1976). Index europäischer Kartoffelsorten. Bestimmung durch elektrophoretische Spektren, Zulassungslisten, Bonitierung, genetische Daten. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, Heft 168. Verlag Paul Parey Berlin und Hamburg.

Stegemann, H. & Loeschcke, V. (1977). Das europäische Kartoffelsortiment und seine Indexierung. Potato Res. 20, 101-110.

Tjørnholm, T., Baerug, R. & Roer, L. (1975). The amino acid composition of potato tubers as influenced by fertilizer supply, growing conditions and variety. In EAPR Abstr. Of Conf. Papers, 6th Triennial conference of the European Association for Potato Research, Wageningen.

Umweltbundesamt (UBA) (Hrsg.; 2002): Nachhaltige Entwicklung in Deutschland. Die Zukunft dauerhaft umweltgerecht gestalten. Erich Schmidt Verlag. Berlin.

Van Gelder, W. J. T. & Vonk, C. R. (1980). Amino acid composition of coagulable protein from tubers of 34 potato varieties and its relationship with protein content. Potato Res. 23: 427-34.

Veteläinen, M., Gammelgård, E. & Valkonen, J. P. T. (2005). Diversity of Nordic landrace potatoes (*Solanum tuberosum* L.) revealed by AFLPs and morphological characters. Genetic Resources and Crop Evolution 52: 999–1010.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van De Lee, T., Hornes, M., Fritjers, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., & Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucl. Acids Res. 23, 4407- 4414.

Wenzl, H. (1957). Die Rentabilität des Saatgutwechsels im Kartoffelbau. Förderungsdienst 5: 14-18.

WHO (Hrsg.; 1985). Energy and protein requirements, Report of a joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation, WHO Tech. Rep.Ser. 724, WHO, Genf.

Wilson, E.O. (1992). The Diversity of Life. London: Penguin.

Winfield, M. O., Arnold, G. M., Cooper, F., LeRay, M., White, J., Karp, A., Edwards, K. J. (1998). A study of genetic diversity in *Populus nigra* subsp. *betulifolia* in the Upper Severn area of the UK using AFLP markers. Mol. Ecol.. 7:3-10.

Woolfe, J. A. (1996). Die Kartoffel in der menschlichen Ernährung. Übersetzt von Bernd Putz. Behr's Verlag.

Wydra, V. (2001). Einfluss reaktiver Spezies auf Membranbestandteile und auf den Photozyklus von Bacteriorhodopsin. Dissertation. Technische Universität Darmstadt.

Zeven, A. C. (1998). Landraces: A review of definitions and classifications. Euphytica 104: 127-139.

7.2 QUELLEN AUS DEM WORLD WIDE WEB

Agrarmeteorologie Bayern - Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft. Agrarmeteorologisches Messnetz Bayern - Wetterdatenabruf, unter: <http://www.lfl.bayern.de/agm/> (abgerufen am 1.11.2011)

Bayerisches Landesamt für Statistik und Datenverarbeitung (BayLfStaD) (Hrsg.; 2011). Statistik kommunal 2010. Eine Auswahl wichtiger statistischer Daten für den Regierungsbezirk Oberfranken 09 4, unter: <https://www.statistik.bayern.de/statistikkommunal/094.pdf> (abgerufen am 1.11.2011)

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) (Hrsg.; 2011). Leitfaden für die Düngung von Acker- und Grünland. Gelbes Heft. 9. Unveränderte Auflage. druckhaus kastner, Wolnzach, unter: http://www.lfl.bayern.de/publikationen/daten/informationen/p_24402.pdf (abgerufen am 1.11.2011)

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Agrarökologie. Nmin-Gehalte bayerischer Böden im Frühjahr 2011, unter <http://www.lfl.bayern.de/iab/duengung/mineralisch/28835/index.php> (abgerufen am 28.11.2011)

Merkblatt der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Institut für Ernährungswirtschaft und Markt (Hrsg.; o.J.). Qualität und Inhaltsstoffe der Kartoffel - Wissen, worauf es ankommt. unter: http://www.lfl.bayern.de/publikationen/daten/merkblaetter_url_1_64.pdf (abgerufen am 1.11.2011)

Becker, H. C., Bergmann, H., Jantsch, P., Marggraf, R. (2002). Darstellung und Analyse von Konzepten des On-farm-Managements pflanzengenetischer Ressourcen unter besonderer Berücksichtigung der ökonomischen Rahmenbedingungen in Deutschland. Studie für das Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, unter <http://webdoc.gwdg.de/ebook/y/2003/becker/on-farm-management.pdf> (abgerufen am 25.11.2011)

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung. Pflanzengenetische Ressourcen in Deutschland. Rote Liste der gefährdeten einheimischen Nutzpflanzen in Deutschland (Stand: Juni 2010), unter: <http://pgrdeu.genres.de/index.php?tpl=roteListe> (abgerufen am 18.10.2011) und https://fileservers.ble.de/ibv-pgrdeu/Liste_Juni2010.pdf (abgerufen am 2.11.2011)

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) (2010). Bericht zur Kartoffelernte 2010. Pressemitteilung Nr. 167 vom 23.09.10., unter: <http://www.bmelv.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/2010/167-Kartoffeln.html> (abgerufen am 28.10.2011)

Bundessortenamt (BSA). (2008). Richtlinie für die Koch- und Speiseprüfung mit Speisekartoffeln, unter http://www.bundessortenamt.de/internet30/fileadmin/Files/PDF/RILI_0803_Kartoffel_Punkt_9.pdf (abgerufen am 27.11.2011)

Eurostat. Pflanzliche Erzeugnisse (außer Obst und Gemüse) Jährliche Daten, unter: <http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/setupModifyTableLayout.do> (abgerufen am 28.10.2011)

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAOSTAT Agriculture – Crops, unter: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> (abgerufen am 28.10.2011)

GrainGenes (product of the Agricultural Research Service of The US Department of Agriculture). Standard List for AFLP® Primer Nomenclature, unter: <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/keygeneAFLPs.html> (abgerufen am 2.11.2011)

Jendrysek, P. (2010). Leporello...wo sich Kultur entfalten kann. 11/2010. S. 31, unter: <http://www.leporello-kulturmagazin.de/assets/files/hefte/leporello-11-10-1.pdf> (aufgerufen am 9.11.2011)

Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt (LUFA) Nord-West. Sortenbestimmung bei Kartoffeln – Jede Sorte hat ihren Fingerabdruck, unter: <http://www.lufa-nord-west.de/index.cfm/nav/58/article/51.html> (abgerufen am 26.10.2011)

Opperdoes, F. The Neighbor-Joining Method, unter: <http://www.icp.ucl.ac.be/~opperd/private/neighbor.html> (abgerufen am 5.11.2011)

Röhl, A. (1999). Phylogenetische Netzwerke. Dissertation. Universität Hamburg, unter: http://ediss.sub.uni-hamburg.de/volltexte/1999/53/html/Phylogenetische_Netzwerke.html (abgerufen am 5.11.2011)

Singer, R. (2011). Die Kartoffelpioniere. Artikel in der Frankenpost. online erschienen am 22.07.2011, unter: <http://www.frankenpost.de/lokal/naila/naila/art2443,1703056> (abgerufen am 30.10.2011)

Slow Food. Die Burger Brezel. Die Arche des Geschmacks. unter, http://www.slowfood.de/w/files/arche/burgerbrezel_2010.pdf (abgerufen am 9.11.2011)

Strasser, L., Schmid, B. Biodiversität - was ist das genau?, unter: http://www.bioterra.ch/site/index.php?option=com_content&view=article&id=169:biodiversitaet-was-ist-das-genau&catid=44:artikel-naturwaerts&Itemid=135 (abgerufen am 17.10.2011)

Stoiber, B. und Gerlach, W.W.P. (2005). Einsatz von biotechnologischen Verfahren im Pflanzenschutz: Meristemkultur bei Phlox paniculata zur Befreiung von Nematodenbefall und Massenvermehrung, unter: <http://www.hswt.de/fgw/infodienst/2005/oktober/forschung-aktuell.html> (abgerufen am 27.10.2011)

Streiff, P. Gefährdete Kultur- und Nutzpflanzen. Erhalten durch Nutzen, unter: http://www.aid.de/landwirtschaft/biodiversitaet_gefaehrdete_nutzpflanzen.php (abgerufen am 17.10.2011)

Sutor, P. (2011). Kartoffelvorernteschätzung Bayern 2011. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Ernährung und Markt, unter: http://www.lfl.bayern.de/iem/obst_gemuese/42688/linkurl_0_6.pdf (abgerufen am 21.10.2011)

Union internationale pour la protection des obtentions végétales (UPOV). Richtlinien für die Durchführung der Prüfung auf Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit. Kartoffel, unter: http://www.upov.int/de/publications/tg-rom/tg023/tg_23_6.pdf (abgerufen am 2.11.2001)

The Biotechnology Centre (University of Ghana) & The Institute for Genomic Diversity (Cornell University) (2008). Laboratory Manual. Training Course on the Use of Molecular Markers for Efficient Crop Improvement, unter: <http://www.kirkhoustrust.org/Docs/Ghana08LabManual.pdf> (abgerufen am 2.11.2011)

Wirsing, M. Der feldmäßige Kartoffelanbau in Deutschland, unter: http://www.stadt-rehau.de/detail.asp?id=2063&pm_wgr=487&pm_gruppe=wgr_130&pm_session=0 (abgerufen am 23. 10. 2011)

Wölfel, S. Einflussnahme auf die Entwicklung des Stärkegehaltes von Speisekartoffeln unter Thüringer Bedingungen. Abschlussbericht. Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft. Themenblatt-Nr. 41.09.420, unter: <http://www.tll.de/ainfo/pdf/skar1106.pdf> (abgerufen am 4.11.2011)

8 ANHANG

Verwendete Chemikalien und Enzyme:

Chemikalie:	Summenformel:	Hersteller/Vertrieb:
1-Naphtylacetat	$C_{12}H_{10}O_2$	AppliChem GmbH, Darmstadt
2-Propanol	C_3H_8O	J. T. BAKER, Deventer, Holland
3-(Dimethylamino)- propionitril	$C_5H_{10}N_2$	Merck KGaA, Darmstadt / VWR International GmbH, Darmstadt
3-Methyl-1-butanol	$C_5H_{12}O$	Krayem GmbH, Ingolstadt
Aceton	C_3H_6O	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Acetonitril LC-MS-Grade	C_2H_3N	VWR International GmbH, Darmstadt (Prolabo)
Acrylamid-Lösung 40%		AppliChem GmbH, Darmstadt
Acrylamid-Bisacrylamid- Lösung 40% im Verh. 19:1		Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
AD Mse Adaptor		MWG-AG Biotech, Ebersberg
AD Sse Adaptor		MWG-AG Biotech, Ebersberg
Agar		Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
LE Agarose		Biozym Scientific GmbH, Hess. Oldendorf
Amidoschwarz 10B	$C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Aminosäure-Standard		Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen /Fluka
Ammoniumnitrat	NH_4NO_3	Krayem GmbH, Ingolstadt
Ammoniumperoxodisulfat	$H_8N_2O_8S_2$	Merck KGaA, Darmstadt / VWR International GmbH, Darmstadt
Bisacrylamid-Lösung 2%		Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Borsäure	H_3BO_3	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Bromphenolblau	$C_{19}H_{10}Br_4O_5S$	Merck KGaA, Darmstadt / VWR International GmbH, Darmstadt
Calciumchlorid-Dihydrat	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	Merck KGaA, Darmstadt
Coomassie Brilliant Blue G 250	$C_{47}H_{48}N_3NaO_7S_2$	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg

Coomassie Brilliant Blue R 250	$C_{45}H_{44}N_3NaO_7S_2$	Biochemical
Dinatriumhydrogenphosphat	Na_2HPO_4	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
DNA-Molekulargewichtstandard (100 – 1.517 bp)		New England Biolabs, Frankfurt a. M.
dNTPs		Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen
EDTA-Dinatriumsalz	$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$	AppliChem GmbH, Darmstadt
Ethanol absolut	C_2H_7O	VWR International GmbH, Darmstadt
Ethanol 70%		CLN GmbH, Niederhummel
Ethidiumbromid	$C_{21}H_{20}BrN_3$	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Eisen(II)-sulfat-Heptahydrat	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	Merck KGaA, Darmstadt
Eisessig 100%	$C_2H_4O_2$	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Fast Blue RR Salz		Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Formamid	CH_3NO	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Gasperlen aus Kalk-Natron-Glas, \varnothing : 5 mm		Carl Roth GmbH & Co Kg, Karlsruhe
Glycin	$C_2H_5NO_2$	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg ¹ , Sigma Chemical Co., USA ²
Harnstoff	CH_4N_2O	MP Biomedicals, USA
Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	Krayem GmbH, Ingolstadt
Kaliumiodid	KI	Merck KGaA, Darmstadt
Kaliumnitrat	KNO_3	Merck KGaA, Darmstadt
Kobalt(II)-chlorid-Hexahydrat	$CoSO_4 \cdot 6H_2O$	Merck KGaA, Darmstadt
Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	Merck KGaA, Darmstadt
Ligase-Puffer		New England Biolabs, Frankfurt a. M.
M Primer (selektive Amplifikation)		MWG-AG Biotech, Ebersberg
M01 Primer (Preamplifikation)		MWG-AG Biotech, Ebersberg
Magnesiumchlorid	$MgCl_2$	Thermo Fischer Scientific, Langensfeld
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Mangan(II)-sulfat-Monohydrat	$MnSO_4$	Merck KGaA, Darmstadt
Methanol	CH_4O	VWR International GmbH, Darmstadt
Mercaptoethanol	C_2H_6OS	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe

myo-Inosit	$C_6H_{12}O_6$	Merck KGaA, Darmstadt
Mse I Restriktionsendonuclease		New England Biolabs, Frankfurt a. M.
Natriumchlorid	NaCl	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe ¹ , Riedel-de-Haën ²
Natriumdihydrogenphosphat	NaH_2PO_4	Fluka
Natriumdisulfit	$Na_2S_2O_5$	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Natriumhypochlorit	NaClO	Krayem GmbH, Ingolstadt
Natriummolybat-Dihydrat	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	Merck KGaA, Darmstadt
Natriumsulfit	Na_2SO_3	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Natriumphosphat	Na_3PO_4	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Neb2-Puffer		New England Biolabs, Frankfurt a. M.
Nicotinsäure	$C_6H_5NO_2$	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
o-Dianisidin-Dichlorid	$C_{14}H_{16}N_2O_2 \cdot 2HCl$	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
P01 Primer (Preamplifikation)		MWG-AG Biotech, Ebersberg
Pyridoxin	$C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Pst I Restriktionsendonuclease		New England Biolabs, Frankfurt a. M.
Ribonuclease A		Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Rinderserumalbumin		Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, New England Biolabs, Frankfurt a. M.
S Primer (Selektive Amplifikation)		MWG-AG Biotech, Ebersberg
Saccharose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Salzsäure 37%	HCl	VWR International GmbH, Darmstadt ¹ , SIGMA, Steinheim ²
T ₄ -Ligase		New England Biolabs, Frankfurt a. M.
Taq Polymerase		MWG-AG Biotech, Ebersberg
Tetramethylethylendiamin	$C_6H_{16}N_2$	VWR International GmbH, Darmstadt ¹ , AppliChem GmbH, Darmstadt ²
Thiamin HCl	$C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Trichloressigsäure	$C_2HCl_3O_2$	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Trichlormethan	$CHCl_3$	AppliChem GmbH, Darmstadt

Tris(hydroxymethyl)-aminomethan	$C_4H_{11}NO_3$	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg ¹ , Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen ²
Tween 20	$C_{58}H_{114}O_{26}$	Adgen Phytodiagnosics, UK
Wasserstoffperoxid	H_2O_2	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Zinksulfat-Heptahydrat	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	Merck KGaA, Darmstadt

1: WZ Straubing; 2: LfL Freising

Alle verwendeten Substanzen entsprachen dem höchsten verfügbaren Reinheitsgrad.

Tabelle 30: Knollenerträge der einzelnen Wiederholungen der Anbauversuche bei Freising und Carlsgrün sowie des Mittelwerts der Parzellen

Sorte/Herkunft	Anbauversuch bei Freising		Anbauversuch bei Carlsgrün	
	Masse Knollen	Parzelle [kg]	Masse Knollen	Parzelle [kg]
<i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald,</i> Herkunft Fritz Gebelein	Wdh. 1	34,2	Wdh. 1	19,8
	Wdh. 2	35,4	Wdh. 2	22,5
	Wdh. 3	35,6	Wdh. 3	22,7
	Wdh. 4	31,8	Wdh. 4	21,2
	Mittelwert	34,3	Mittelwert	21,6
<i>Schwarzblaue aus dem Frankenwald,</i> Herkunft Helmut Hornfeck	Wdh. 1	28,4		-
	Wdh. 2	25,2		-
	Wdh. 3	29,1		-
	Wdh. 4	26,2		-
	Mittelwert	27,2		-
<i>Agria</i>	Wdh. 1	64,1	Wdh. 1	40,1
	Wdh. 2	69,3	Wdh. 2	37,7
	Wdh. 3	63,7	Wdh. 3	40,3
	Wdh. 4	65,2	Wdh. 4	38,6
	Mittelwert	65,6	Mittelwert	39,2
<i>Jelly</i>	Wdh. 1	68,8		-
	Wdh. 2	69,2		-
	Wdh. 3	67,4		-
	Wdh. 4	70,6		-
	Mittelwert	69,0		-

Table 31: über die Methode des Unterwassergewichts bestimmte Stärkegehalte der Sorte Schwarzblaue aus dem Frankenwald und der Vergleichssorte Agria (% i. d. FM), 2. und 3. Reihe aller Wiederholungen der Standorte Freising und Carlsgrün

	Freising				Carlsgrün	
	Herkunft Fritz Gebelein	Herkunft Helmut Hornfeck	Agria	Jelly	Herkunft Fritz Gebelein	Agria
1. Wdh., 2. Reihe	21,4	21	17,8	17,1	17,6	15,1
1. Wdh., 3. Reihe	20,4	20,4	17,7	17,1	18,6	14,9
2. Wdh., 2. Reihe	22,4	21,7	17,7	15,2	17,6	15,5
2. Wdh., 3. Reihe	22,4	21,7	16,4	16,9	19,6	16,2
3. Wdh., 2. Reihe	21,8	21,7	16,5	16,3	18,6	16
3. Wdh., 3. Reihe	21,4	21,4	15,8	16,6	17,1	15,2
4. Wdh., 2. Reihe	21,7	20,6	17	17,3	18,8	15
4. Wdh., 3. Reihe	21,6	20,9	17,9	17,2	19,5	16,6
Ø	21,6	21,2	17,1	16,7	18,4	15,6

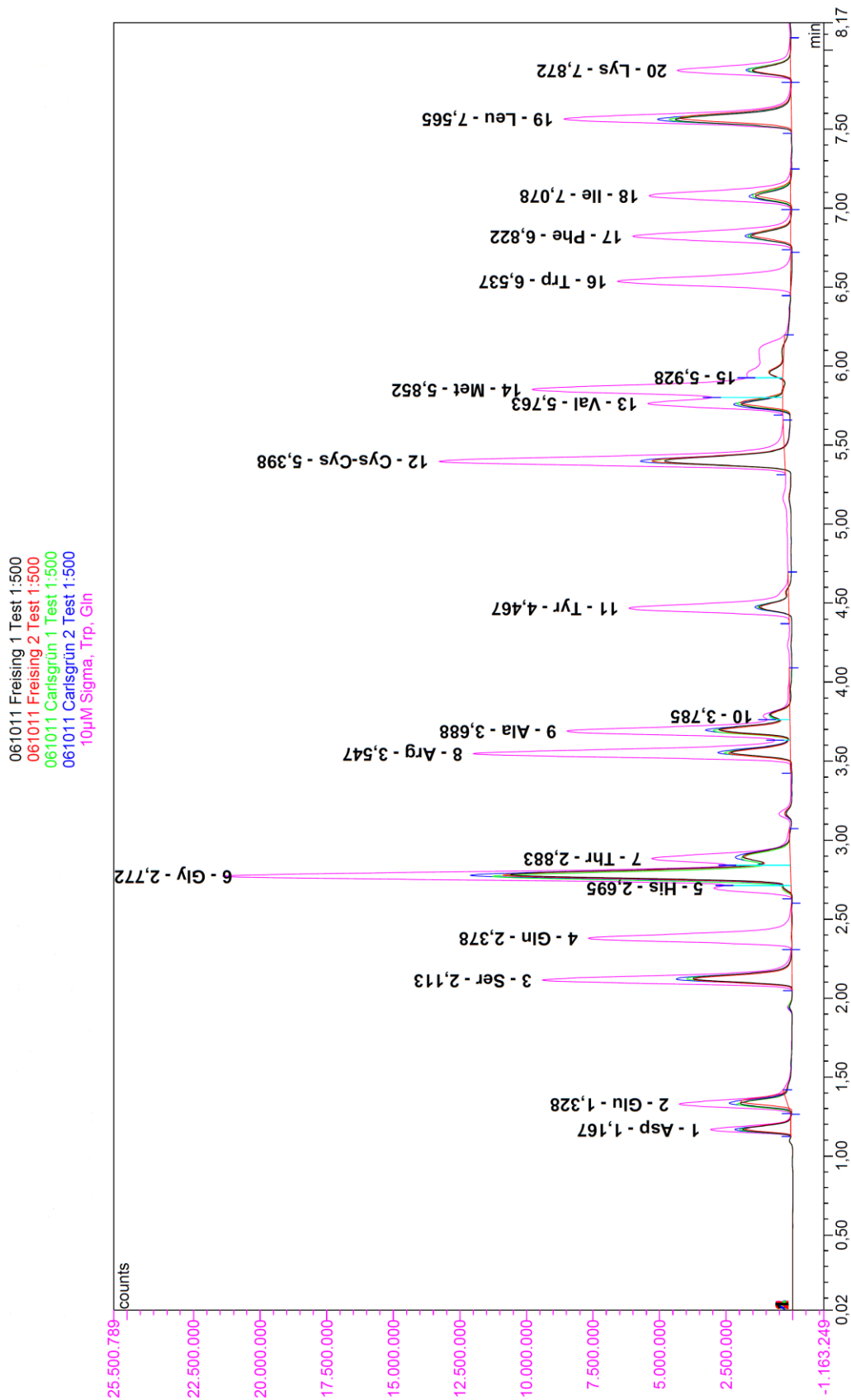


Abbildung 19: Darstellung der vereinten Chromatogramme der Analyse der Aminosäurezusammensetzung mittels RP-HPLC (Ausschnitt)

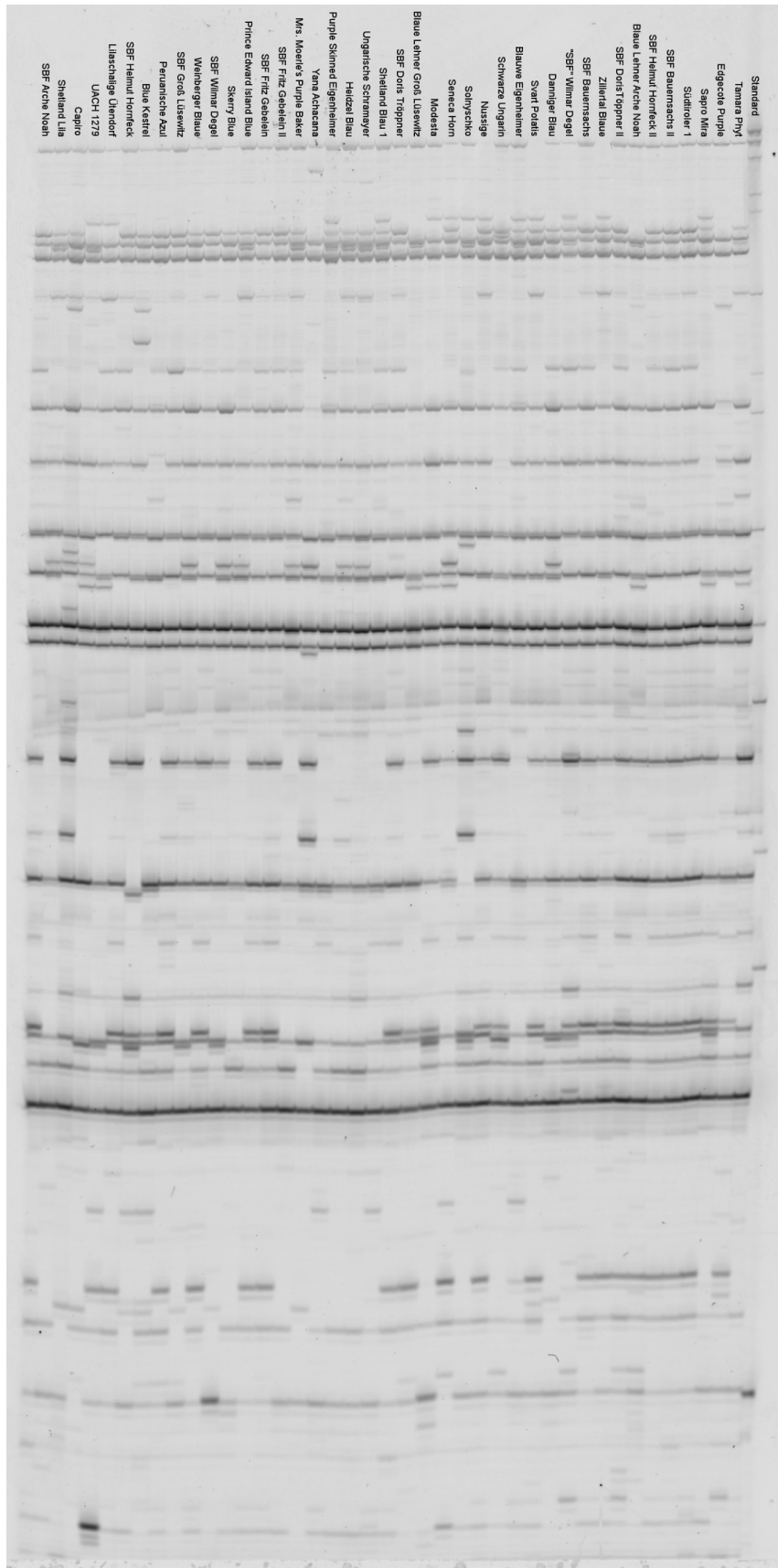


Abbildung 20: Beispiel für ein PA-Gel nach Trennung der DNA-Fragmente nach der selektiven Amplifikation, Primerkombination S12/M34

Abbildungen von Gelen zur Erfassung der Esterase-, Peroxidase- und Patatinmerkmale:

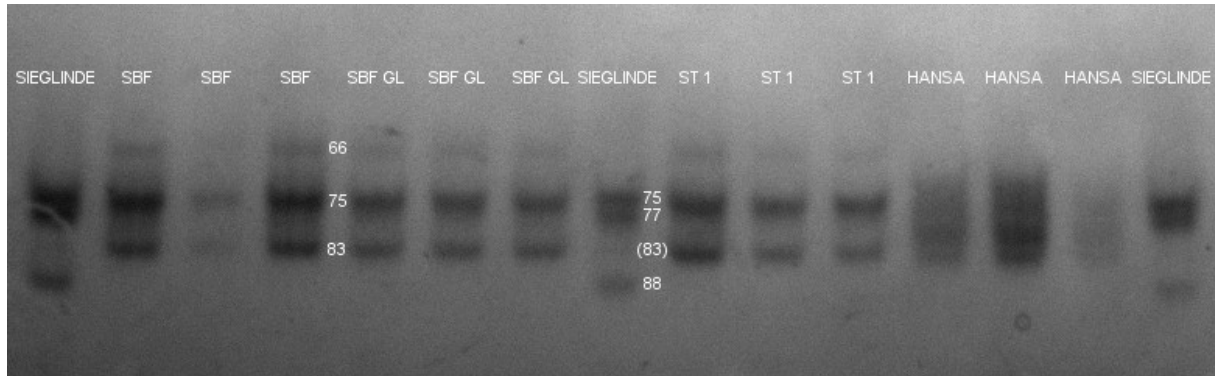


Abbildung 21: Gel Esterasen

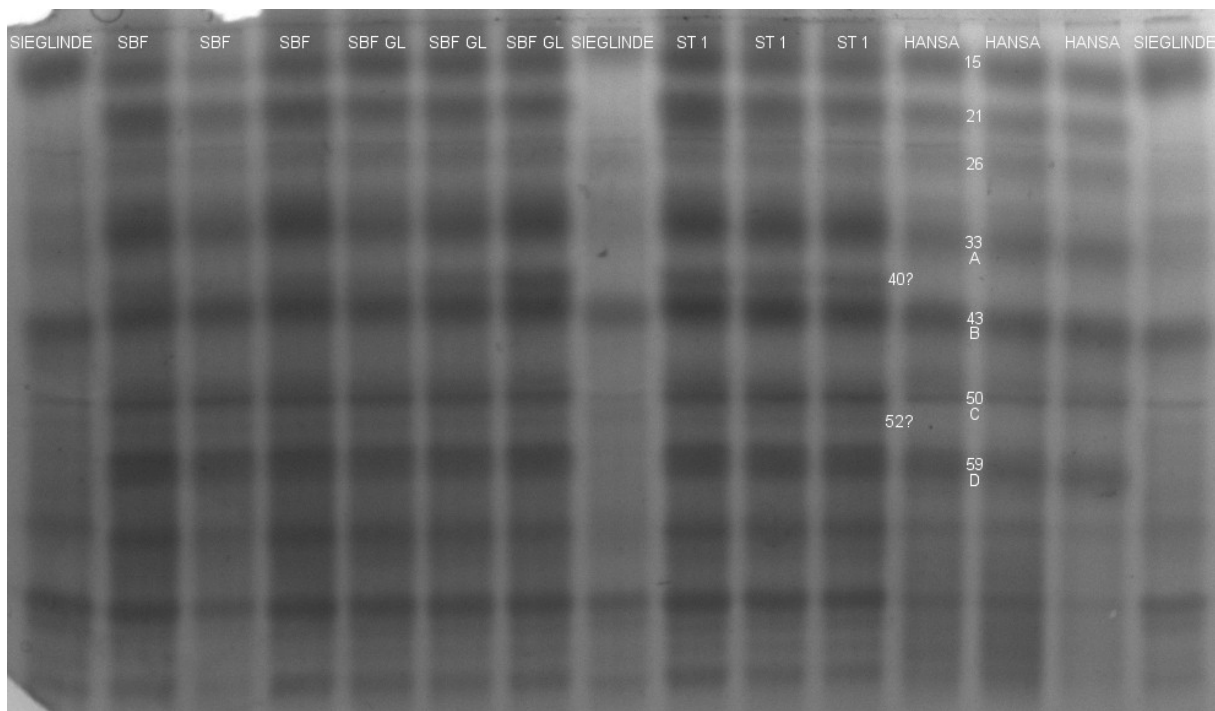


Abbildung 22: Gel Patatine

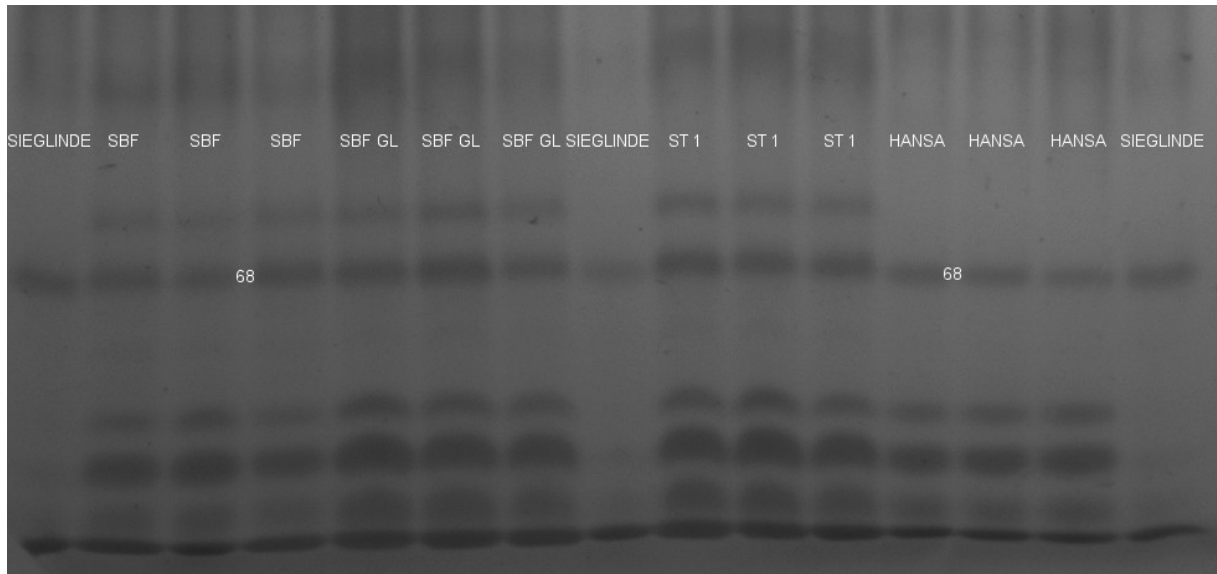


Abbildung 23: Gel Peroxidasen

