

143 - Ultrafiltration und Ultrazentrifugation zur Konzentrierung von Pflanzenviren in Nährlösung

Ultrafiltration and ultracentrifugation as tools to concentrate plant viruses in nutrient solution

Janina Vincenz, Martina Bandte, Carmen Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland
E-Mail: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Die Eignung der Ultrafiltration und Ultrazentrifugation zur Konzentrierung von Pflanzenviren in Nährlösung mit dem Ziel der Unterschreitung der Nachweisgrenze serologischer Testverfahren wird am Beispiel ausgewählter Pflanzenviren vorgestellt und diskutiert. Pflanzenpathogene Viren wurden bereits in Oberflächenwasser wie Bächen, Flüssen, Teichen, Seen sowie rezirkulierenden Nährlösungen nachgewiesen. Über Wurzeln oder abgestorbene Pflanzenteile gelangen Viren in das Wasser und können in Abhängigkeit ihrer Stabilität lange infektiös bleiben. Eine erfolgreiche Infektion über das Wasser ist neben der Stabilität der Viren, auch von dem Virustiter und der Kultivierungsdauer der Pflanzen abhängig. Im Gegensatz zu infiziertem Pflanzenmaterial weisen Wasserproben nur eine sehr geringe Viruskonzentration auf. Zum Nachweis der Viren aus Wasser müssen diese vor Anwendung serologischer oder molekularbiologischer Nachweisverfahren zunächst aufkonzentriert werden. Eine solche Konzentrierung kann beispielsweise durch Ultrafiltration und Ultrazentrifugation erfolgen.

Die untersuchten Nährlösungen stammen aus in Hydrokultur bzw. im NFT (Nutrient Film Technic) kultivierten Tomaten. Die Kulturgefäße bzw. Fließrinnen wurden jeweils abwechselnd mit virusinfizierten und nichtvirusinfizierten Pflanzen bestückt; ein direkter Pflanzenkontakt wurde durch den Pflanzenabstand und Wurzelsperren ausgeschlossen. Es wurden zwei bedeutende Pflanzenviren einbezogen, die sich in ihren morphologischen und physikalischen Eigenschaften unterscheiden: das *Cucumber mosaic virus* (CMV) und *Pepino mosaic virus* (PepMV).

Die Konzentration der Viruspartikeln erfolgte aus den Nährlösungen mit Hilfe einer Tangentialflussfiltration (TFF). Das Retentat der TFF wurde entweder direkt einem DAS-ELISA zum Nachweis von CMV und PepMV unterzogen, oder vor der serologischen Testung zunächst noch einer Ultrazentrifugation unterzogen.

Die Übertragung der Erreger über die Hydrokultur durch die gemeinsame Kultivierung gesunder und infizierter Pflanzen konnte dargestellt werden. Der Nachweis erfolgte dabei sowohl in Wurzel- als auch Blattmaterial. Nach der Tangentialflussfiltration konnte sowohl CMV als auch PepMV in den ultrazentrifugierten Retentaten der aus den Hydrokulturgefäßen sowie den Nährstofftanks der NFT-Kultur entnommenen Proben nachgewiesen werden. In den nicht-ultrazentrifugierten Retentate der Nährlösungsproben war kein sicherer reproduzierbarer Nachweis der jeweiligen Viren möglich. Die Tangentialflussfiltrationen stellt somit ein geeignetes Verfahren zur ersten Konzentrierung von Pflanzenviren aus Nährlösung da und bietet sich insbesondere an, wenn kein Durchflussrotor für eine Ultrazentrifuge zur Verfügung steht.