

30-7 - Anwendung einer Real-time PCR zum Nachweis von TMV und PepMV in Nährlösung

Application of a real time PCR system for the detection of TMV and PepMV in nutrient solution

Maria Landgraf¹, Stellan Zytur¹, Hans-Marlon Rodriguez^{1,2}, Martina Bandte¹, Carmen Büttner¹

¹Humboldt Universität zu Berlin, maria.landgraf@agrar.hu-berlin.de

²Francisco de Paula Santander University, Agricultural Sciences Faculty, San José de Cúcuta, Kolumbien

Krankheitserreger können sehr leicht mit dem Wasser übertragen werden. Sie stellen eine Gefahr bei der Wiederverwendung von Wasser in hydroponischen Systemen in Landwirtschaft und Gartenbau dar. So steigt das Risiko einer Infektion mit bodenbürtigen bzw. die Wurzel infizierenden Erregern bei der Rückführung von Beregnungswasser und Nährlösung. Die Abschätzung eines solchen Risikos kann ausschließlich auf Grundlage der a) Erregerkonzentration in der Nährlösung und/oder b) Anzahl der infizierten Pflanzen in der Produktionsanlage erfolgen. In Abhängigkeit von der Epidemiologie des Krankheitserregers muss eine Verbreitung des Erregers durch Vektoren, oder mechanisch bei Pflege- und Erntearbeiten berücksichtigt werden. Insbesondere bei Viren gibt es keine wirksamen Bekämpfungsmaßnahmen aber ein großes Zerstörungspotential. Für den spezifischen Nachweis der beiden stabilen viralen Krankheitserreger *Pepino mosaic virus* (PepMV) und *Tobacco mosaic virus* (TMV) wurde eine Sondenbasierte qPCR etabliert. Der quantitative Nachweis der Erreger sowohl in Pflanzenmaterial als auch in der Nährlösung wird ermöglicht und damit die Risikobewertung sehr erleichtert. Die Etablierung der qPCR Systeme erfolgte auf der Grundlage der Arbeiten von Ling et al. 2007 für PepMV und Jacobi et al. 1998 für TMV. Die genutzten Oligonukleotide wurden, um zusätzliche Primer und TaqMan-Sonden erweitert. Da in Nährlösung keine kontinuierlich nachweisbaren Organismen vorhanden sein sollten, wurden zur Identifizierung von Matrix-Inhibitionen in der PCR mittels PCR Mutagenese zwei artifizielle qPCR Systeme etabliert. Die Qualität der Nährlösung kann nun im Hinblick auf eine Kontamination mit den beiden Viren ermittelt und Maßnahmen zur Desinfektion der Nährlösung bewertet werden. Es werden die beiden qPCR Systeme vorgestellt und Untersuchungen zum Nachweis der Erreger aus Nährlösung, wie sie während der Kultivierung von Tomaten in hydroponischen Kultursystemen verwendet wird, gezeigt.

Literatur

Bandte M., M. H. Rodriguez, I. Schuch, U. Schmidt, C. Buettner, 2016: Plant viruses in irrigation water: reduced dispersal of viruses using sensor-based disinfection. *Irrig Sci*, 34:221–229. DOI 10.1007/s00271-016-0500-1m
Literaturverzeichnis stehen die Referenzen nach den Autorennamen alphabetisch sortiert, wobei die Reihenfolge von Initialen und Nachnamen zu beachten ist (siehe Beispiel unten). Die allgemeine Reihenfolge der Zitation ist:

- Jacobi V., G.D. Bachand, R.C. Hamelin, J.D. Castello, 1998: Development of a multiplex immunocapture RT-PCR assay for detection and differentiation of tomato and tobacco mosaic tobamoviruses. *Journal of Virological Methods* 74, 167–178.
- Ling K.-S., W. P. Wechter, R. Jordan, 2007: Development of a one-step immunocapture real-time TaqMan RT-PCR assay for the broad spectrum detection of Pepino mosaic virus. *Journal of Virological Methods* 144, 65–72.
- Schwarz D., U. Beuch, M. Bandte, A. Fakhro, C. Büttner, C. Obermeier, 2010: Spread and interaction of Pepino mosaic virus (PepMV) and *Pythium aphanidermatum* in a closed nutrient solution recirculation system: effects on tomato growth and yield. *Plant Pathology*, 59, 443-452.
- Wei C., L. Wenting, J. Honghong, Z. Huawei, C. Julong, W. Yunfeng, 2014: Development of a concentration method for detection of tobacco mosaic virus in irrigation water. *Virologica Sinica*, 29 (3): 155-161. DOI 10.1007/s12250-014-3461-7
- Yang J.-G., F.-L. Wang, D.-X. Chen, L.-L. Shen, Y.-M. Qian, Z.-Y. Liang, W.-C. Zhou, T.-H. Yan, 2012: Development of a One-Step Immunocapture Real-Time RT-PCR Assay for Detection of Tobacco Mosaic Virus in Soil. *Sensors*, 12, 16685-16694; doi:10.3390/s121216685