



Axel Feldhoff (Autor)

**Immunologische und molekularbiologische Techniken  
zum Nachweis und zur Charakterisierung von  
Pflanzenviren im Zierpflanzenbau sowie der Einsatz  
dieser Techniken und Thermotheapie *in vitro* zur  
Viruskontrolle**

Axel Feldhoff

---

„Immunologische und molekularbiologische Techniken  
zum Nachweis und zur Charakterisierung von  
Pflanzenviren im Zierpflanzenbau sowie der Einsatz  
dieser Techniken und Thermotheapie *in vitro* zur  
Viruskontrolle“

---



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/5049>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentzsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

**1. ALLGEMEINE EINLEITUNG** **5**

---

<b>1.1.</b>	<b>ZERTIFIZIERUNG VON ZIERPFLANZEN - NEUE ANFORDERUNGEN AN DEN ZIERPFLANZENBAU</b>	<b>5</b>
1.1.1.	REGULIERUNGEN AUF DEM EUROPÄISCHEN MARKT VOR 1993	5
1.1.2.	KONSEQUENZEN FÜR DEN ZIERPFLANZENHANDEL NACH EINFÜHRUNG DES EUROPÄISCHEN BINNENMARKTES	6
1.1.3.	KONTROLLE VON ZIERPFLANZEN MITTELS ZERTIFIZIERUNGSSCHEMATA	8
1.1.4.	ZERTIFIZIERUNGSSCHEMATA - ZWEI BEISPIELE	10
<b>1.2.</b>	<b>TAXONOMIE UND EVOLUTION DER VIREN</b>	<b>11</b>
1.2.1.	TAXONOMIE DER VIREN	13
1.2.2.	EVOLUTION DER RNA-PFLANZENVIREN	18
<b>1.3.</b>	<b>RNA-PFLANZENVIREN – PROBLEMVERURSACHER IM ZIERPFLANZENBAU</b>	<b>28</b>
1.3.1.	<i>CHRYSANTHEMUM B CARLAVIRUS</i> (CVB)	28
1.3.2.	<i>BROAD BEAN WILT FABAVIRUS</i> (BBWV)	29
1.3.3.	POTYVIREN	29
1.3.4.	TOSPOVIREN	30
<b>1.4.</b>	<b>ZIELE DER VORLIEGENDEN ARBEIT</b>	<b>31</b>

**2. MATERIAL UND METHODEN** **33**

---

<b>2.1.</b>	<b>KULTIVIERUNG VON VERSCHIEDENEN ZIERPFLANZENARTEN IN VITRO</b>	<b>33</b>
2.1.1.	ETABLIERUNG VON PFLANZEN <i>IN VITRO</i>	33
2.1.2.	THERMOTHERAPIE <i>IN VITRO</i>	34
<b>2.2.</b>	<b>VIRUSISOLATE</b>	<b>35</b>
2.2.1.	AUFRECHTERHALTUNG VON PFLANZENVIREN <i>IN VITRO</i>	35
2.2.2.	AUFRECHTERHALTUNG BZW. VERMEHRUNG VON PFLANZENVIREN DURCH MECHANISCHE INOKULATION	35
<b>2.3.</b>	<b>VIRUSAUFREINIGUNG</b>	<b>36</b>
2.3.1.	AUFREINIGUNG VON TSWV	36
2.3.2.	AUFREINIGUNG VON GRSV, TCSV UND INSV	37
2.3.3.	REINIGUNG VON PETFMV	37
<b>2.4.</b>	<b>SDS-POLYACRYLAMIDGELELEKTROPHORESE (PAGE)</b>	<b>38</b>
2.4.1.	FÄRBEMETHODEN FÜR SDS-POLYACRYLAMIDGELE	39
2.4.2.	ELEKTROELUTION	40
<b>2.5.</b>	<b>ISOLIERUNG VON TSWV-GLYKOPROTEINEN UND -PEPTIDEN</b>	<b>41</b>

2.5.1.	ISOLIERUNG DER TSWV-GLYKOPROTEINE G1 UND G2	41
2.5.2.	ISOLIERUNG DES TSWV-GLYKOPROTEINS G1	41
2.5.3.	EXPRESSION HYDROPHILER PEPTIDE VON TSWV-G1 UND TSWV-G2 IN <i>ESCHERICHIA COLI</i>	41
<b>2.6.</b>	<b>REINIGUNG UND KONJUGATION VON ANTIKÖRPERN</b>	<b>42</b>
2.6.1.	ANTISERUMHERSTELLUNG	42
2.6.2.	GAMMA-GLOBULIN-REINIGUNG	42
2.6.3.	KONJUGATIONEN DER $\gamma$ -GLOBULINE MIT ALKALISCHER PHOSPHATASE	42
<b>2.7.</b>	<b>IMMUNOLOGISCHE NACHWEISVERFAHREN</b>	<b>43</b>
2.7.1.	<i>ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAYS (ELISA)</i>	43
2.7.2.	<i>WESTERN-IMMUNOBLOTTING</i>	45
<b>2.8.</b>	<b>IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN</b>	<b>46</b>
2.8.1.	UNTERSUCHUNGEN VON <i>IN-VITRO</i> -KULTUREN IM DAS-ELISA	46
2.8.2.	UNTERSUCHUNG VON TOSPOVIREN IN <i>WESTERN IMMUNOBLOT</i> -ANALYSEN	46
2.8.3.	SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNG VON PETFMV	47
<b>2.9.</b>	<b>PROTEINCHARAKTERISIERUNG VON PETFMV</b>	<b>47</b>
<b>2.10.</b>	<b>MOLEKULARBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN DES 3'-ENDES VON PETFMV</b>	<b>48</b>
2.10.1.	<i>IMMUNOCAPTURE/PCR</i>	48
2.10.2.	AGAROSEGELELEKTROPHORESE	50
2.10.3.	KLONIERUNG UND SEQUENZIERUNG DER PCR-PRODUKTE	50
2.10.4.	SEQUENZANALYSEN	53
<b>2.11.</b>	<b>ELEKTRONENMIKROSKOPIE</b>	<b>53</b>
2.11.1.	NEGATIV-KONTRAST-VERFAHREN	53
2.11.2.	UNTERSUCHUNG DER <i>PINWHEEL INCLUSION BODIES</i>	54
<b><u>3. ELIMINIERUNG DREI VERSCHIEDENER PFLANZENVIREN AUS DREI UNTERSCHIEDLICHEN ZIERPFLANZENARTEN MITTELS WÄRMETHERAPIE UND GEWEBEKULTUR</u></b>		<b>55</b>
<b>3.1.</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>55</b>
<b>3.2.</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>57</b>
3.2.1.	NACHWEIS DER VIRUSINFEKTIONEN	57
3.2.2.	ÜBERPRÜFUNG DER WÄRMETHERAPIERTEN PFLANZEN	59
3.2.3.	REGENERATION DER WÄRMETHERAPIERTEN PFLANZEN	60
3.2.4.	LANGZEITPRÜFUNG DER WÄRMETHERAPIERTEN KLONE MITTELS DAS-ELISA	61
<b>3.3.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>61</b>

<b>4. SEROLOGISCHER VERGLEICH VON TOSPOVIREN MIT POLYKLONALEN ANTIKÖRPERN GEGEN DIE HAUPTSTRUKTURPROTEINE DES <i>TOMATO SPOTTED WILT VIRUS</i> (TSWV)</b>	<b>67</b>
<b>4.1. EINLEITUNG</b>	<b>67</b>
<b>4.2. ERGEBNISSE</b>	<b>68</b>
4.2.1. AUFREINIGUNG VON TOSPOVIREN DER SEROGRUPPEN II UND III	68
4.2.2. MOLEKULARGEWICHTSBESTIMMUNG DER TOSPOVIRUSPROTEINE	69
4.2.3. <i>WESTERN IMMUNOBLOT</i> -ANALYSEN DER VIRALEN GLYKOPROTEINE	70
<b>4.4. DISKUSSION</b>	<b>71</b>
<b>5. CHARAKTERISIERUNG DES <i>PETUNIA FLOWER MOTTLE VIRUS</i> (PETFMV), EINEM NEUEN <i>PETUNIA-HYBRIDEN-INFOZIERENDEN POTYVIRUS</i></b>	<b>79</b>
<b>5.1. EINLEITUNG</b>	<b>79</b>
<b>5.2. ERGEBNISSE</b>	<b>80</b>
5.2.1. CHARAKTERISIERUNG DES PETUNIEN-INFOZIERENDEN VIRUS	80
5.2.2. CHARAKTERISIERUNG DES HÜLLPROTEINS DES PETUNIEN-INFOZIERENDEN VIRUS	81
5.2.3. KLONIERUNG DES 3'-ENDES DES PETFMV-GENOMS	84
5.2.4. SEQUENZANALYSE	86
<b>5.4. DISKUSSION</b>	<b>87</b>
<b>6. ALLGEMEINE DISKUSSION</b>	<b>91</b>
<b>7. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>101</b>
<b>8. LITERATUR</b>	<b>103</b>
<b>9. ANHANG</b>	<b>115</b>
<b>VERÖFFENTLICHUNGEN</b>	<b>125</b>
<b>CURRICULUM VITAE</b>	<b>126</b>