

## 5 Zusammenfassung

Tobamoviren verursachen wirtschaftlich bedeutende Schäden im Gemüse und Zierpflanzenanbau. Es sind 14 Spezies bekannt, die in die Subgruppen der Solanaceae, Cucurbitaceae und Crucifereae eingeteilt werden und sich in ihrem Wirtsspektrum unterscheiden. Durch ihre Stabilität sind sie schwer zu kontrollieren, so dass das Erkennen und Ausmerzen infizierter Bestände eine große Bedeutung hat. Zur Diagnose dieser Viren gibt es unterschiedliche Verfahren, die jedoch nicht alle gleichermaßen für die Routineanwendung und weitere Fragestellungen wie der Nachweis bestimmter Spezies oder Pathotypen geeignet sind.

Zum Nachweis von Tobamoviren eignen sich serologische Verfahren sehr gut, jedoch ist eine Differenzierung zwischen den Spezies so nur schwer möglich. Aufgrund der hohen Homologien des Hüllproteins der einzelnen Spezies kommt es zu starken Kreuzreaktionen. Vor allem die Differenzierung von Pathotypen kann mit serologischen Verfahren bei Tobamoviren nicht erfolgen, so dass auf nukleinsäure-basierende Methoden zurückgegriffen werden muss.

Im Laufe des Projektes ist es gelungen, die Methode zum Nachweis von serologisch eng verwandten Virusspezies des Genus *Tobamovirus*, die zur Subgruppe der Solanaceae gehören, mit Hilfe eines universellen Primerpaares (Bluni I-II) durch eine RT-PCR nachzuweisen und anschließend entweder mit einer RFLP-Analyse oder mittels spezies-spezifischen Oligonukleotiden in die Spezies zu differenzieren. Die universellen Oligonukleotide wurden so gewählt, dass sie das Hüllproteingen umfassen und somit diese Art der Differenzierung mit serologischen Methoden korreliert werden kann. Diese spezies-spezifischen Oligonukleotide können daher sowohl direkt von der cDNA, als auch im Anschluss an die universelle RT-PCR in einer „*semi-nested*“ PCR angewendet werden.

Für die Nukleinsäureisolierung konnte unabhängig von der Wirtsspezies eine Silika Methode optimiert werden, so dass die Verwendung organischer Lösungsmittel entfällt. Das etablierte Verfahren kann für die Virusspezies TMV, ToMV, TMGMV, PMMV, ORSV angewandt werden und die RT-PCR-RFLP eignet sich auch zur Differenzierung in Pathotypen und hochgradig mutierte Isolate. Für den Nachweis von CGMMV, eines Vertreters der Cucurbitaceae Subgruppe, konnte ein spezifischer Nachweis entwickelt werden.

Eine generelle RT-PCR für die Isolate der Crucifereae Subgruppe wurde ebenso entwickelt. Mit Hilfe der RT-PCR-RFLP gelang es auch in dieser Subgruppe, die Spezies TVCV, ORMV und RMV zu differenzieren, was aufgrund der hohen Homologie zwischen diesen Spezies und den daraus resultierenden Kreuzreaktionen bisher nur unzureichend gelang.

Das *Streptocarpus flowerbreak virus* (SFBV), welches serologisch am ehesten mit Isolaten der Crucifereae Subgruppe verwandt ist, konnte molekularbiologisch charakterisiert werden. Auffällig in der Genomorganisation von SFBV ist die Überlappung sowohl des Transportproteingens mit dem Hüllproteingen als auch die des Transportproteingens mit dem Replikaseproteingen. Eine weitere Besonderheit stellt die repetitive Sequenz am 3`Ende des Genoms dar, die bisher nur von ORSV bekannt war. Aufgrund der Genomorganisation und den relativ geringen Homologien zu anderen Tobamoviren kann SFBV in keine der bisher bekannten Subgruppen eingeordnet werden.