

Anneke Behn & Mark Varrelmann

Identifizierung von *Rhizoctonia solani* induzierten und Resistenz-spezifischen Genen in Zuckerrübe mittels Suppressiver Subtraktiver Hybridisierung

Einleitung

- Verursacher der Späten Rübenfäule in Zuckerrüben: *Rhizoctonia solani* Kühn
- Pflanzenausfälle bis zu 60 % bei optimalen Bedingungen
- Kontrollmaßnahmen: Fruchtfolge und Anbau resistenter Sorten
- Bekanntes der *Rhizoctonia*-Resistenz:
 - polygen → quantitative Resistenz
 - 3 QTLs
 - Resistenzausprägung erst mit zunehmendem Alter
 - unbekannt: Resistenzmechanismus, beteiligte Gene

Ziel

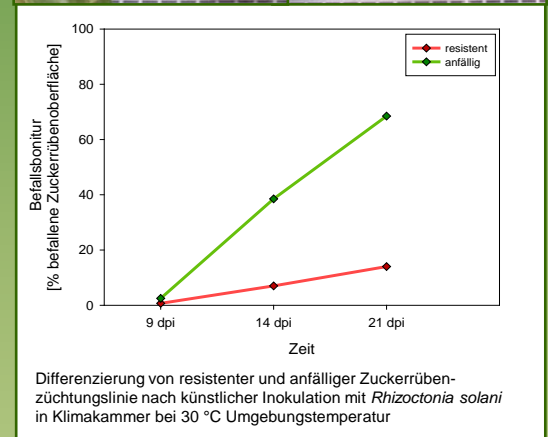
- Identifizierung spezifischer Gene in resistenten Zuckerrübenzüchtungslinien

Material & Methoden

- RNA-Isolierung 10, 13, 17, 20 dpi (resistente Linie)
7, 11, 15, 20 dpi (anfällige Linie)
→ Probenahme abhängig vom Befallsgrad der Pflanzen aus nicht- infiziertem Gewebe
- Poly-A RNA Extraktion mittels Oligo (dT)₂₅ beads
- PCR-Select cDNA Subtraction (Clontech Laboratories):
SSH forward: resistente Linie vs. anfällige Linie
(*Rhizoctonia solani* infiziert, Inkubation der Pflanzen bei 24°C)
- 220 von 450 erhaltenen Klonen sequenziert
- Genbank: Blast Search Nucleotide/EST
→ Selektion potentieller Kandidatengene nach Plausibilität und Funktionalität
- Nachweis der Gen-Expression in Abhängigkeit von Genotyp und Pathogen-Befall mit Hilfe von semi-quantitativer RT-PCR

Ergebnisse

- 205 sequenzierte Klone mit Insert
- 102 unbekannte Klone, aber mit bekannter EST aus Zuckerrübe
- 30 Klone mit Homologie zu Resistenzfunktionen
- Erste differentielle Expressionsnachweise verschiedener Kandidatengene

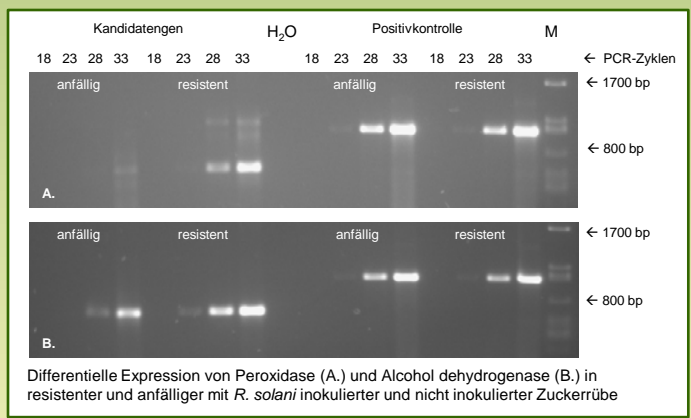


Institut für Zuckerrübenforschung

Kandidat mit Homologie zu	Genotypische Expression	Pathogeninduzierte Expression
Lipoxygenase	-	-
Chitinase	+	n.u.
Peroxidase	+	+
Extracellular dermal glycoprotein	+	n.u.
Calcium-binding protein	n.u.	n.u.
Ribosome-inactivating protein	+	n.u.
Alcohol dehydrogenase	+	n.u.
Myo-inositol-oxygenase	-	n.u.
Expansin-like protein	n.u.	n.u.
Sucrose-Synthase	-	n.u.
Pleiotropic drug resistance protein	+	n.u.
Jasmonic acid regulatory protein	-	n.u.

Ausblick

- Fortsetzung der Analyse resistenter und anfälliger Züchtungslinien auf Kandidatengene für *Rhizoctonia*-Resistenz mittels semi-quantitativer RT-PCR
- Untersuchung verschiedener kommerzieller, *Rhizoctonia solani*-anfälliger und -resistenter Zuckerrübensorten auf differentielle Expression der Kandidatengene



Differentielle Expression von Peroxidase (A.) und Alcohol dehydrogenase (B.) in resistenten und anfälligen mit *R. solani* inokulierter und nicht inokulierter Zuckerrübe

Literatur

Gurskaya et al. (1996): Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. Analytical biochemistry 240, 90-97.