

## Genetische Verbesserung der oxidativen Stresstoleranz und Langlebigkeit des entomopathogenen Nematoden *Heterorhabditis bacteriophora*

M.Sc. Nanette Hope Nellas Sumaya

1. Berichterstatter: Prof. Dr. R.-U. Ehlers

Der entomopathogene Nematode *Heterorhabditis bacteriophora* wird im biologischen Pflanzenschutz eingesetzt. Eine geringe Persistenz der Nematoden im Boden, die Produkthaltbarkeit und der Verlust der Virulenz während der Lagerung beschränken den Einsatz. Ein besseres Verständnis der umweltbedingten Stressfaktoren, die die Langlebigkeit der DJ limitieren, kann zur Identifikation von verbesserten Nematodenstämmen führen. Diese Untersuchungen verfolgten das Ziel einer genetischen Verbesserung der oxidativen Stresstoleranz und damit der Langlebigkeit der Dauerlarven (DL) des Nematoden *H. bacteriophora*.

Als Ausgangspunkt wurde die genetische Variabilität von 40 *H. bacteriophora* Wildtyp-Stämmen, sowie Inzucht- und Hybridlinien unterschiedlicher geographischer Herkunft genutzt. Die mittlere Zeitspanne, die 50 % der DL Population überlebten (MTS<sub>50</sub>), rangierte zwischen 21-57 Tagen in Ringer-Lösung und von 3-22 Tagen unter oxidativem Stress bei 25°C. Bei 7°C rangierte der MTS<sub>50</sub> zwischen 5-25 Tagen unter oxidativem Stress und zwischen 38-39 Tagen ohne oxidativen Stress. Die Toleranz gegenüber oxidativem Stress war stark positiv korreliert mit der Langlebigkeit der DL. Aus diesem Grund kann die oxidative Stresstoleranz als Vorhersage für die Langlebigkeit verwendet werden, wodurch ein Selektionsprozess in sehr viel kürzer durchgeführt werden kann. Darüber hinaus ist die Heritabilität des Überlebens in Ringerlösung niedriger ( $h^2 = 0,2$ ) als die Heritabilität für oxidative Stresstoleranz ( $h^2 > 0,9$ ).

Ein Hybridstamm wurde aus zwei für oxidativen Stress toleranten Stämmen (AU1 und HU2) produziert. Der resultierende Hybridstamm AU1xHU2 überlebte 2,6 länger unter oxidativem Stress bzw. 18 Tage ohne Stress. Als eine zusätzliche Quelle der Variabilität wurde eine EMS-Mutanten Pool mit hoher Langlebigkeit produziert. Eine daraus gezüchtete Inzuchtlinie (MOX-IL6) überlebte 5,8 Tage länger als die nicht mutagenisierte Ausgangslinie (IL3) unter oxidativem Stress, bzw. 28,4 Tage länger ohne Stress. Selbst das Kreuzungsprodukt aus MOX-IL6 und IL3 überlebte 2,5 länger als die Spenderlinie, bzw. 18,5 Tage ohne Stress. Durch eine erhöhte Toleranz für oxidativen Stress hervorgerufene mögliche „trade-off“ Effekte wurden anhand der Virulenz und des Vermehrungspotentials überprüft. Dabei wurden keine negativen „trade-off“ Effekte beobachtet.

Eine vergleichende Transkriptomanalyse wurde während des frühen Stadiums der Induktion von oxidativem Stress (4 h) in zwei Inzuchtlinien, HU2-IL1 (stresstolerant) und PT1-IL1 (stresssensitiv) durchgeführt, um die zugrundeliegenden genetischen Mechanismen zu untersuchen. Eine größere Fraktion der annotierten Transkripte zeigten Homologien mit parasitischen Nematoden wie *Ancylostoma*, anstelle des freilebenden Nematoden *Caenorhabditis elegans*. Die Anzahl hochregulierter Transkripte in der PT1-IL1 (630) waren unter oxidativem Stress höher als in der HU2-IL1 (461). Die Anzahl herunterregulierter Transkripte war in beiden Linien hoch, aber die stressensitive Linie hatte auch hier eine höhere Anzahl (5.207) als die HU2-IL1 (1.844). Es scheint, dass die PT1-IL1 im Gegensatz zur toleranten Linie nicht in der Lage ist, vitale biologische Prozesse aufrecht zu erhalten. Andererseits scheint die Herunterregulierung ebenfalls ein kritischer Faktor für das Überleben zu sein, wie man an der toleranten Linie sehen kann. Beide Linien aktivieren die gleichen biologischen Prozesse, die an der Detoxifikation von sogenannten ROS (reactive oxygen species) beteiligt sind. Die Resultate dieser Studie werden die Selektion von Prädiktorengenen für die Langlebigkeit bei EPN erleichtern. Weitere Analysen werden eine Identifizierung von molekularen Markern erlauben und die Züchtung von verbesserten Linien erleichtern. Nematodenstämme mit einer verlängerten Lebensdauer können eine längere Persistenz im Boden nach Applikation ermöglichen und so die Tür für größere Märkte wie für die Bekämpfung des Westlichen Maiswurzelbohrers *D. virgifera virgifera* öffnen.