

Zusammenfassung

Pflanzenparasitäre Nematoden sind wichtige Schädlinge in der weltweiten Pflanzenproduktion. Daher ist die Züchtung von nematodenresistenten Kultursorten heutzutage ein wichtiges Ziel. Die Rübenzystemnematode *Heterodera schachtii* verursacht schwere Verluste in der Zuckerrübenproduktion. Die einzige Quelle für Resistenz sind wilde Verwandte der Zuckerrübe aus der Gattung *Patellifolia*. Zuckerrübenlinien, die eine Translokation tragen, die aus dem Chromosom 1 von *P. procumbens* stammt, sind resistent gegen Rübenzystemnematoden. Ziel dieser Studie war es, das Rübenzystem-Nematodenresistenzgen *Hs4* zu identifizieren.

In meiner Arbeit habe ich das Translokationssegment in der resistenten Translokationslinie TR520 charakterisiert. Ich habe dann den Translokations-Bruchpunkt bis auf ein einzelnes Basenpaar genau bestimmt. Schließlich identifizierte ich das vermeintliche Resistenzgen. Ich charakterisierte mein Kandidatengen funktional durch zwei Ansätze, CRISPR-Cas vermittelte knock-out- und Überexpressionsstudien.

Um das Translokationssegment zu charakterisieren, habe ich zunächst eine de-novo-Sequenzierung der widerstandsfähigen Translokationslinie TR520 vorgenommen. Danach identifizierte ich die Translokations-spezifischen scaffolds mit Hilfe einer *P. procumbens* Genom-Sequenz. Schließlich wurden zwei super-scaffolds für die gesamte Translokation erzeugt, super-scaffold 1 und super-scaffold 2 mit 1,109 bzw. 2,121 Mbp Länge. Ich habe den Translokations-Bruchpunkt wie folgt identifiziert. Ich untersuchte mate-pair-read Bibliotheken von TR520 und fand eine Reihe von reads, die super-scaffold 2 mit einem scaffold aus Chromosom 9 der Zuckerrübe verbinden. So kam ich zu dem Schluss, dass der Bruchpunkt zwischen diesen beiden scaffolds liegt. Ich analysierte den Bruchpunkt im Detail, in dem ich die DNA mittel PCR amplifizierte und das PCR Produkt mittels Sanger-Sequenzierung sequenzierte. So konnte ich die genaue Nukleotid-Position identifizieren, an der die Sequenz des Chromosoms 9 aus Zuckerrüben endet und die Translokationssequenz beginnt.

Um das Resistenzgen zu finden, habe ich die Genomsequenzen von zwei resistenten Translokationslinien, TR520 und TR363, und einer γ -bestrahlten anfälligen Translokationslinie TR659 verwendet. Ich habe dann die Translokationsbereiche identifiziert, die in den resistenten Linien vorhanden sind, aber in der anfälligen Linie fehlen. Ich habe drei Regionen gefunden, die insgesamt 229 kb umfassen, und sie als „kritische Regionen“ bezeichnet. Der nächste Schritt war, das vermeintliche Resistenzgen zu identifizieren. Anhand von Transkriptomdaten aus infizierten Wurzeln einer resistenten Pflanze konnte ich die Suche auf 19 Genmodelle innerhalb der kritischen Regionen eingrenzen. Keines der Gene in den kritischen Regionen wurde als Resistenzgen-Analog geführt. In Anbetracht der Rolle von Proteasen bei pflanzlichen Abwehrmechanismen wählte ich ein Gen, welches für eine Rhomboid-ähnliche Protease kodiert, als vermeintliches *Hs4* Gen aus. Diese Protease verfügt über eine Bindedomäne für das endoplasmatische Retikulum.

Um mein Kandidatengen funktionell zu charakterisieren, schaltete ich das Kandidatengen mittel CRISPR-Cas vermittelter Mutagenese in hairy roots einer resistenten Translokationslinie aus. Danach wurde das Gen in hairy roots einer anfälligen Zuckerrübe überexprimiert. Der knock-out meines Kandidaten-Gens führte zu einem vollständigen Verlust der Resistenz, während die Überexpression zu vollständiger Resistenz führte. Diese Arbeit hat das Ziel vollständig erreicht und das *Hs4*-Gen identifiziert, welches für eine Rhomboid-Protease kodiert und eine vollständige Resistenz gegen Rübenzystemnematoden verleiht. Dieses Gen ist die erste Protease, die alleine Resistenz gegen einen Schädling verursacht. Somit stellt es einen bisher unbekanntem Mechanismus von Pflanzen dar, um parasitäre Nematoden zu bekämpfen.