

A candidate sequence for the nematode resistance gene *Hs1-2* in sugar beet

Gina Gláucia Gomes Capistrano

Zusammenfassung

Der Rübenzystennematode *Heterodera schachtii* wird als weltweit wichtigster bodenbürtiger Schaderreger der Zuckerrübe (*Beta vulgaris L.*) eingestuft. Als einzige Resistenzquellen dienen die Wildrübenarten *Patellifolia procumbens* und *P. patellaris*. Die Zuckerrübentranslokationslinien A906001 und TR363 tragen eine Translokation von *P. procumbens* Chromosom 1 und vermitteln vollständige Resistenz gegenüber dem Rübenzystennematoden *Heterodera schachtii*. Das Nematodenresistenzgen *Hs1^{pro-1}* wurde in der Translokationslinie A906001 kloniert, während die Translokationslinie TR363 dieses Gen nicht besitzt. Für das Gen *Hs1^{pro-1}* konnte in Zuckerrüben *hairy roots* vollständige Resistenz nachgewiesen werden. In transformierten Zuckerrübenpflanzen wurde allerdings nur partielle Resistenz nachgewiesen. Außerdem konnten nach Bestrahlungsanalysen zwei neue anfällige Translokationslinien identifiziert werden, die das Gen *Hs1^{pro-1}* tragen. Dies sind alles Anhaltspunkte für die Existenz eines zweiten Resistenzgens auf der Translokation, welches als *Hs1-2* bezeichnet wird.

Die Ziele dieser Arbeit waren die Revision der physischen Karte, Selektion neuer translokationsspezifischer BACs, Markeranalyse der neuen anfälligen Translokationslinien, Sequenzierung der BACs die in den überlappenden Regionen der TR520 und TR363 lokalisiert sind, Identifizierung von Kandidatensequenzen für das Resistenzgen *Hs1-2*, Expression und funktionelle Analysen der selektierten Kandidatensequenzen.

Nach *chromosome walking* mit *P. procumbens*-spezifischen Sonden und BAC-end Sonden konnten 24 neue BACs identifiziert werden. Eine dritte Generation der physischen Karte wurde etabliert. Der *minimal tiling path* umfasst 17 BACs, die insgesamt 1,417 kb von geschätzten 1,500 kb der TR520 abdecken. Die *contigs* der BACs werden nur noch durch zwei kleine Lücken getrennt.

Elf BACs wurden sequenziert und 950,769 bp nach repetitiven Sequenzen und Ähnlichkeit zu Zuckerrübensequenzen analysiert. Insgesamt konnten 11.09% der Sequenzen als repetitive Elemente klassifiziert werden und 65.53% gehören zur Gruppe der LTR Retroelemente. 128 Sequenzen mit Ähnlichkeit zu Zuckerrübensequenzen konnten identifiziert werden. Die Sequenzähnlichkeit zwischen Zuckerrüben- und Wildrübensequenz in diesen Regionen beträgt 66.39% und variiert von 52% zu 100%. Nur ein auf Chromosom 1 der Zuckerrübe kartierter EST konnte identifiziert werden.

ORF702 wurde als Kandidatensequenz für das Gen *Hs1-2* aus mehreren Gründen selektiert. Erstens ist das Gen in einer überlappenden Region zwischen den Translokationslinien TR520 und TR363 lokalisiert. Zweitens ist das Gen in Wurzeln resistenter Pflanzen exprimiert und drittens deutet die Homologie zu einem Avr9 Elicitor Antwort-Protein und einem Protein der Galactosyltransferase-Familie von *A. thaliana* darauf hin, dass das Gen in Resistenzmechanismen gegen Nematoden beteiligt sein kann. In silico Analysen zeigen, dass der ORF702 für ein Protein mit einer Transmembranregion und einer Galactosyltransferasedomain kodiert. Falls die Kandidatensequenz für das Gen *Hs1-2* gegen den Rübenzystennematoden bestätigt werden kann, entspräche das einem neuen Resistenzmechanismus in Pflanzen gegen Pathogene.