



Etablierung von Suppressiver Subtraktiver Hybridisierung (SSH) zur Isolation und Identifizierung von Resistenz spezifischen und *Rhizoctonia solani* induzierten Genen in Zuckerrüben

Einleitung

Etwa 5 % der deutschen Gesamtanbaufläche der Zuckerrübe sind mit *Rhizoctonia solani* Kühn (AG 2-2 IIIB), dem Erreger der Späten Rübenfäule, befallen. Die Krankheit führt zu Ertragseinbußen bis hin zur Nichtverarbeitbarkeit oder Totalausfall der Rüben. Neben der Gestaltung der Fruchtfolge ist die Wahl resistenter Sorten der einzig mögliche Kontrollmechanismus des Schaderregers. Anfällige und resistente Zuckerrübenzüchtungslinien, die mit *R. solani* infiziert werden, differenzieren stark in der Befallsausprägung (Abb. 1). Von der polygenen Resistenz sind bislang 3 QTLs bekannt, zu den genauen Resistenzmechanismen gibt es bisher nur wenige Informationen (Lein et al., 2008). Es gilt daher zu definieren, was die verantwortlichen Resistenzfaktoren in Zuckerrüben sind. Zur Isolation der *R. solani*-Resistenz spezifischen Gene wurde die Methode „Suppressive Subtraktive Hybridisierung“ (SSH) etabliert.

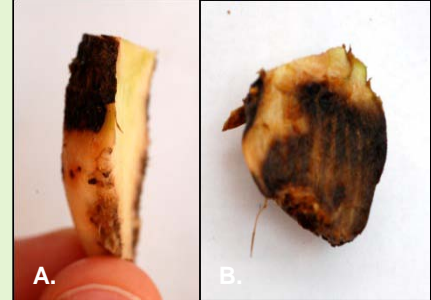
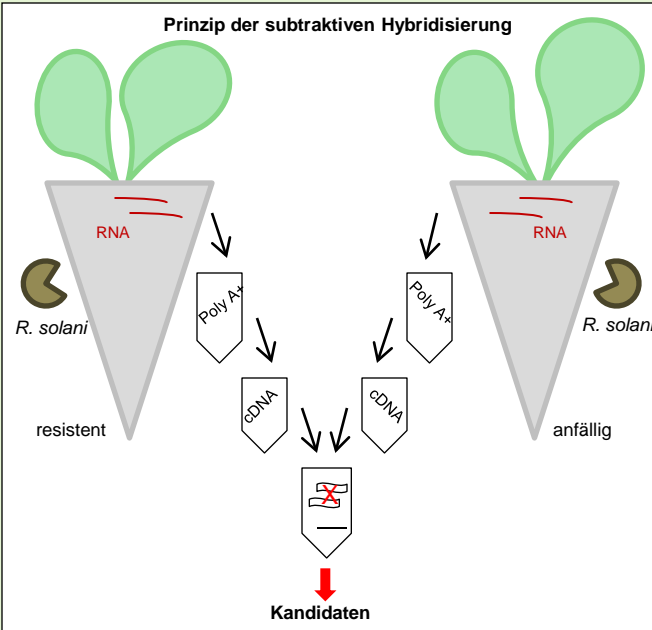


Abb. 1: Befallsdifferenzierung von mit *R. solani* infizierten Zuckerrübenzüchtungslinien (A. resistent, B. anfällig).

Prinzip der subtraktiven Hybridisierung



Material und Methoden

- Anzucht und Inokulation von resistenten und anfälligen Zuckerrübenzüchtungslinien mit *R. solani*
- Isolation von Poly A+ RNA aus Wurzelgewebe nach mehreren Zeiternten
- Erstellung einer cDNA-Bibliothek mittels „PCR Select cDNA Subtraction Kit“ (Clontech Laboratories, Inc.):
 RNA des resistenten Genotyps als „tester“
 RNA des anfälligen Genotyps „driver“

Ausblick

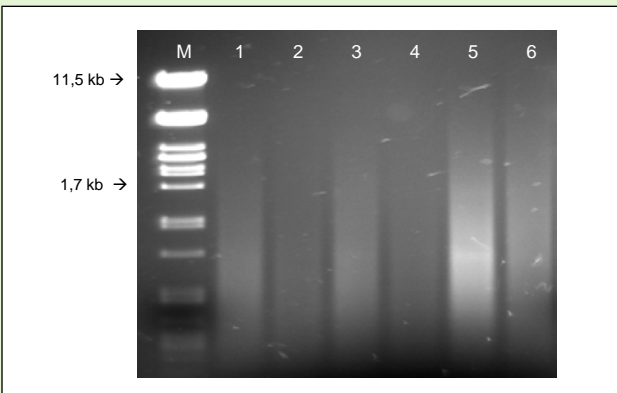
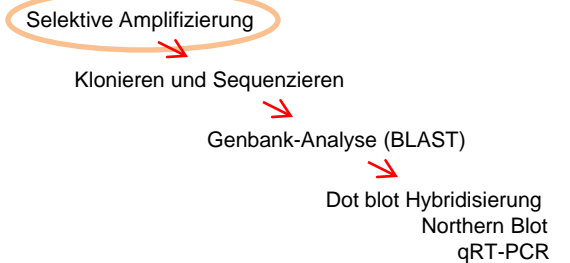


Abb. 2: Zweitstrang-cDNA und deren *RsaI*-Verdau; 1-2 experimentelle RNA („tester“), 3-4: Referenz-RNA („driver“), 5-6: Kontrolle, M: Marker

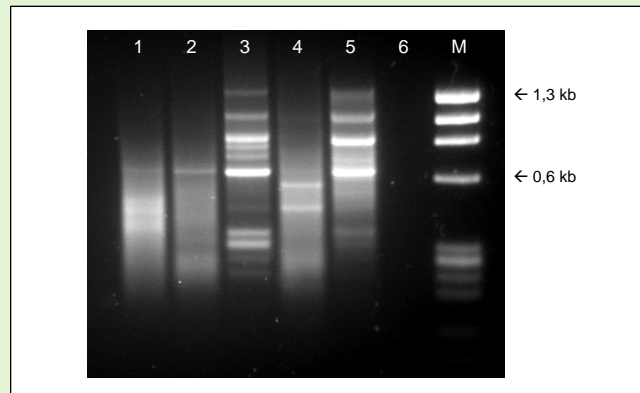


Abb. 3: Produkte der subtraktiven PCR; 1: subtrahierte experimentelle RNA, 2: unsubtrahierte experimentelle RNA, 3-6 Kontrollen, M: Marker

Literatur:

Lein, J.C., Sagstetter, C.M., Schulte, D., Thureau, T., Varrelmann, M., Saal, B., Koch, G., Borchardt, D.C. und C. Jung (2008): Mapping of rhizoctonia root rot resistance genes in sugar beet using pathogen response-related sequences as molecular markers. *Plant Breeding* 127, 602-611.

Kontakt: Behn@ifz-goettingen.de