

Vergleichende Analyse der Restorer Gene beim PET1-, PET2- und PEF1-Cytoplasma der Sonnenblume

U. ENGELMANN, U. SCHNABEL, S. HAMRIT, D. WARBER, S. KURUTZ, B. KUSTERER,
E. LAZARESCU, N. ÖZDEMİR, W. FRIEDT und R. HORN

Die cytoplasmatisch-kerngenetische männliche Sterilität (CMS) ist ein Phänotyp bei höheren Pflanzen, bei dem diese nicht mehr in der Lage sind, funktionsfähigen Pollen zu bilden oder auszuschießen. Bei der Sonnenblume sind mehr als 70 CMS-Plasmen bekannt (SERIEYS 1999), die entweder spontan entstanden sind oder aber auf intra- und interspezifische Kreuzungen zurückgehen. Zusätzlich sind über Mutagenese entstandene CMS-Formen beschrieben worden. In der kommerziellen Hybridsaatgutproduktion bei der Sonnenblume wird weltweit zurzeit nur ein einziges CMS-Plasma, das so genannte PET1-Plasma genutzt. Diese enge genetische Basis auf der cytoplasmatischen Seite führt aber zu einem erhöhten Risiko für die Anfälligkeit gegen Pathogene. Sowohl eine fehlende molekulare Charakterisierung der CMS-Plasmen als auch das Fehlen stabiler Restorerlinien hat bisher den Einsatz anderer CMS-Quellen verhindert. Durch Testkreuzungen konnten jedoch inzwischen stabile Restorerlinien für zwei der neuen CMS-Plasmen, PET2 und PEF1 identifiziert werden (HORN und FRIEDT 1997). Die Spaltungsanalysen in den F₂-Populationen zeigten, dass sowohl PET2 x IH-51 als auch PEF1 x LC jeweils für ein Restorer Gen, Rf_PET2 (15 : 58 : 24; $\chi^2=5,39$; $P=0,07$ (df=2)) bzw. Rf_PEF1 (19 : 56 : 28; $\chi^2=2,35$; $P=0,3$ (df=2)) spalten.

Für beide Populationen wurden Bulk Segregant Analysen mit jeweils 256 AFLP-Primerkombinationen durchgeführt. Für PET2 x IH-51 konnten 123 polymorphe Primerkombinationen identifiziert werden, für PEF1 x LC nur 35. Die Kartierung in der F₂-Population ergab für PET2 x IH-51 eine Karte mit 27 Markern, die 73,4 cM umfasst. Neun der AFLP-Marker cosegregierten dabei mit dem Rf_PET2-Gen. Für Rf_PEF1 umfasst die Karte mit 24 Markern 138,7 cM. Die am engsten mit dem Gen Rf_PEF1 gekoppelten Marker kartierten allerdings mit 3,1 cM und 5,9 cM vom Gen entfernt. Die Kartierung des SSR-Markers ORS1030 (TANG et al. 2003) in der gleichen Kopplungsgruppe wie die Restorer Gene (Rf1, Rf_PET2 und Rf_PEF1) deutete darauf hin, dass die Restorer Gene benachbart zueinander liegen. Ausgehend von Markern (K13 und Y10), die für das Rf1-Gen des PET1-Plasmas bereits kartiert wurden (HORN et al. 2003, KUSTERER et al. 2005), wurde getestet, ob diese auch in der Kreuzung PET2 x IH-51 verwendet werden können. Zusätzlich wurde noch ein AFLP-Marker E39M48_206 in einen sequenzspezifischen Marker umgewandelt und eingesetzt.

Die vergleichende Kartierung zeigte, dass die Marker K13_464, Y10_740 und STS-E39M48_146 colinear in RHA325

x HA342 und PET x IH-51 angeordnet sind. Allerdings kartieren diese Marker etwa 17-22 cM vom Rf_PET2-Gen entfernt.

Über eng mit dem Rf1-Gen gekoppelte Marker (HORN et al. 2003, KUSTERER et al. 2005) wurde begonnen, über Positionsklonierung dieses Restorer Gen zu isolieren. Es standen für diesen Zweck zwei BAC-Bibliotheken zur Verfügung: die Erste basierend auf der Restorerlinie RHA325 mit einer 2fachen Genomabdeckung (ÖZDEMİR et al. 2002 und 2004) und die Zweite basierend auf HA383 mit einer 8fachen Genomabdeckung (www.genome.clemson.edu/orders). Mit Hilfe der Marker K13_454 und E33M61_136 konnten drei bzw. zwei BAC-Klone über Koloniehybridisierung in RHA325 identifiziert werden, die jetzt Ausgangspunkt für die Detektion weiterer BAC-Klone sind. Zur Entwicklung der Contigs erfolgte ein BAC-Fingerprinting mit HindIII und erneuten Hybridisierungen. BAC-Enden wurden kloniert und sequenziert, um neue Sonden für das „Chromosome Walking“ zu identifizieren. Durch Fortsetzen des „Chromosome Walkings“ hoffen wir, einen geschlossenen Contig um das Rf1-Gen erstellen zu können. Ob es sich bei dem Rf1-Gen auch um ein PPR-Typ Restorer Gen handelt, kann erst die Isolierung des Gens selbst zeigen.

Autoren: Dipl.-Biol. Uta ENGELMANN, Dipl.-Biol. Uta SCHNABEL, Sonia HAMRIT MSc, Dörte WARBER, Steffi KURUTZ und Prof. Dr. Renate HORN, Institut für Biowissenschaften, Abt. Pflanzengenetik, Universität Rostock, Albert-Einstein-Straße 3, D-18051 ROSTOCK; Dr. Barbara KUSTERER, Dr. Eduard LAZARESCU, Dr. Nehir ÖZDEMİR und Prof. Dr. Dr. h.c. Wolfgang FRIEDT, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I - IFZ, Universität Giessen, Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 GIESSEN

