

# Netzwerk der Kartoffel - Genexpression aktiviert durch verschiedene Photoperioden

J. RODEWALD, F. TROGNITZ und B. TROGNITZ

## Einleitung

Die Kontrolle der Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel ist weltweit und in Österreich nur durch teuren Pflanzenschutzmittel-Einsatz gewährleistet. Dauerhafte Resistenz der Pflanze, deren Wirkung unabhängig von den Rassen des Erregers ist, wäre eine alternative Kontrollmethode; diese ist jedoch in der Praxis noch von geringer Bedeutung infolge ihrer engen Korrelation mit der für die Produzenten ungünstigen Spätreife im Langtag. Durch Hybridisierung von mRNA-Populationen verschiedener Kartoffelsorten mit einem cDNA-Microarray sollen Schlüsselemente genetisch-physiologischer Wechselwirkungen und die Verknüpfung von Tageslängenreaktion, Reife und Resistenz untersucht werden.

## Material und Methoden

### Produktion des Microarrays

3860 cDNA-Klone der Knollenfäuleinfizierten Kartoffelsorte Yungay wurden auf Luria Bertani-Medium kultiviert und die transgenen Plasmide mittels Templi phi rolling circle Amplifikation vermehrt. Durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden die in den Plasmiden enthaltenen Kartoffel-Inserts amplifiziert und die Produkte mittels Gelelektrophorese auf Nukleotidlänge, Konzentration und Reinheit untersucht. Die drei großen Literaturdatenbanken PubMed, Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences und Scirus wurden nach Informationen über Gene und Proteine mit erwiesener Bedeutung für Reife, Tageslängenreaktion oder Resistenz durchsucht, welche gemeinsam mit komplementärer Information aus den Sequenzdatenbanken des National Center for Biotechnology Information, NCBI, in einen Excel-Index aufge-

nommen wurden. Die Sequenzen der gelisteten Gene wurden gegen die TIGR Kartoffelklon-Datenbank geblastet, verfügbare Klone wurden bestellt, und die Inserts wurden entsprechend oben beschriebenem Verfahren multipliziert. Auf beschichteten Objektträgern wurden 1177 der indizierten ESTs und zusätzlich 3475 PCR Produkte der normalisierten cDNA-Bibliothek, welche das Transkriptom der Knollenfäule-infizierten Sorte Yungay repräsentiert, gespottet.

### Klimakammer-Pflanzenversuch

Um das unterschiedliche Knollenfäule-Resistenzverhalten verschiedener Genotypen nach unterschiedlichen Photoperioden zu untersuchen wurde ein Klimakammerversuch durchgeführt. 8 verschiedene Sorten unterschiedlicher Resistenz und Photoperiodensensitivität wurden Photoperioden von 8h bzw. 15h ausgesetzt und anschließend mit virulenten *Phytophthora infestans*-Stämmen inokuliert.

### Transkriptomanalyse

Gesamt-RNA aus 24h p.i. geernteten Blättern wurde isoliert und zur Qualitätskontrolle elektrophoretisch. Um Genexpressions-Vergleiche durchzuführen wurde der mRNA-entsprechende cDNA auf den Array hybridisiert. Die Reproduzierbarkeit wurde sichergestellt durch Errechnung der log ratio Korrelationen technischer Replikate innerhalb und zwischen den Labelingmethoden.

### Ergebnisse und Ausblick

Um aus den Expressionsdaten Aussagen über physiologische Ereignisse ableiten zu können, haben wir eine lokale Datenbank mit Kontextinformation über die Targets eines thematischen cDNA Microarray erzeugt. Der hergestellte Microarray umfasst 4671 Sonden für

3487 unterschiedliche Transkripte und wird genutzt um die Wechselwirkungen der metabolischen Pfade zu untersuchen, auf welchen die beiden ökonomisch bedeutsamen Eigenschaften Resistenz und Tageslängensensitivität der Kartoffel basieren. PCR und Cy-Labeling erhöhte gegenüber Alexa-Labeling in technischen Replikaten M-Wert-Korrelation ausgewählter Gene und die Sensitivität mit einer Detektion von 474 anstelle von 12 Genen bei  $P < 0,003$ . Die tageslängensensitive Kartoffelsorte MF-II reagierte auf kurze Tageslängen unter anderem mit differenzieller Regulation von 4 Calmodulin- und einem Calmodulin-ähnlichem Gen. Wir hoffen, durch die Auswertungen zur Erklärung des postulierten Zusammenhangs zwischen cytoplasmatischem Calcium (BALAMANI et al. 1986), differentieller Regulierung von Calmodulinen (TAKEZAWA et al. 1995) und der Induktion der Knollenbildung beizutragen.

## Literatur

- COLLINS, A., D. MILBOURNE, L. RAMSAY, R. MEYER, C. CHATOT-BALANDRAS, P. OBERHAGEMANN, W. DE JONG, C. GEBHARDT, E. BONNEL and R. WAUGH, 1999: QTL for field resistance to late blight in potato are strongly correlated with maturity and vigor. *Molecular Breeding* 5 (5): 387-398.
- BALAMANI, V., K. VELUTHAMBI, B.W. POOVAIAH, 1986: Effect of Calcium on tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Physiol* 80 (4): 856-858.
- TAKEZAWA, D., Z.H. LIU, G. AN, B.W. POOVAIAH, 1995: Calmodulin gene family in potato: developmental and touch-induced expression of the mRNA encoding a novel isoform. *Plant Mol Biol* 27 (4): 693-703.

## Danksagungen

Michael STIERSCHNEIDER, Agnes BURG, Klemens VIERLINGER, Anton GRAHSL, Ildiko MATUSIKOVA, Holger BOHLMANN, Dagmar SZAGASITS.

**Autoren:** Dipl.-Ing. Jan RODEWALD, Friederike TROGNITZ, Bodo TROGNITZ, Austrian Research Centers GmbH - ARC, Biogenetics and Natural Resources, Department of Bioresources, A-2444 SEIBERSDORF, jan.rodewald@arcs.ac.at

