

Schlussbericht

ZE: GenXPro GmbH

Förderkennzeichen: 0313997A

Vorhabenbezeichnung: **ERA-Net Plant Genomics – Verbundvorhaben: Nutzung genetischer Vielfalt in Resistenzgenen der wichtigsten essbaren Hülsenfrüchte zur Verbesserung von Sorten für die nachhaltige Landwirtschaft (LEGRESIST)**

Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2007 – 30.04.2010 (Verlängerung bis 30.10.2010)

I. Kurze Darstellung zu

1 Aufgabenstellung

Das generelle Ziel des Projekts orientierte sich an den Vorgaben des EA-PG-Calls (s.u.) und zielte darauf ab, die in der EU sträflich vernachlässigten Leguminosen gegenüber den importierten Sojaprodukten wirtschaftlich konkurrenzfähiger zu machen. Das Projekt widmete sich dabei insbesondere der Anfälligkeit der Leguminosen gegen Pilzpathogene als ein wichtiger Grund für die unbefriedigende Nutzung dieser ansonsten so landwirtschaftlich so nützlichen Pflanzenfamilie.

Die Ziele des Teilprojekts der GenXPro im Rahmen des LEGRESIST-Projekts sind im Antrag wie folgt beschrieben:

- Objective 2: Understanding quantitative tolerance to pathogens:
Hier sollten minimal 100 bis 200 bei allen Leguminosen gleichermaßen durch Pathogen-Befall regulierte Gene identifiziert und werden. Diese sollten dann die Grundlage für einen für alle Leguminosen verwendbaren „LEGU-Biotic-Stress-Array“ (Objective 3) bilden
- Objective 3: Advanced tools for molecular resistance breeding:
Neben dem erwähnten Stress-spezifischen Genexpressions-Array sollte für jede Leguminosen ein *polydimensionaler* SNP-Array produziert werden. Grundlage des Arrays sollte die allelische Diversität aller exprimierten potentiellen Resistenzgene bilden. Diese allelische Diversität sollte durch Sequenzierung von Resistenzgen-Kandidaten ermittelt werden, die durch PCR aus dem cDNA-Gemisch infizierter Pflanzen gewonnen werden sollten. Die SNP-Arrays sollten dann von den im Projekt beteiligten Züchtern für die genetische Kartierung von Resistenzgenen genutzt und so evaluiert werden.
- Objective 4: Applicants trained in use of advanced molecular tools for breeding
Ein weiteres wichtiges Ziel war es, die Züchter mit den von den Technologie-Providern angebotenen Technologien vertraut zu machen, sie in deren Nutzung für die wissenschaftsbasierte Züchtung zu schulen und sie so als potentielle Kunden für den Einsatz molekularbiologischer Methoden in der Pflanzenzüchtung zu gewinnen.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde,

Um die Objectives des Vorhabens erreichen zu können waren eine Reihe wissenschaftlicher, logistischer und technologischer Voraussetzungen nötig und vorhanden:

- Literaturvorgaben und eigene Vorarbeiten:
 - Eine Reihe von Publikationen anderer sowie Publikationen der Partner, die zeigten, dass
 - 1) viele Resistenzgene eine gemeinsame, konservierte Struktur haben

- 2) diese konservierten Strukturen zur Amplifikation von bestimmten, konservierten Bereichen aus den potentiellen Resistenzgenen genutzt werden können
- 3) die Resistenzgene genetisch kartiert werden können, wenn denn Polymorphismen in den amplifizierten Bereichen gefunden werden können
- 4) die kartierten Resistenzgene häufig mit den Resistenzen ko-segregieren und damit Resistenzgenandidaten darstellen bzw. als Marker für die Züchtung verwendet werden können.
- 5) durch SuperSAGE die differentielle Expression von Genen, die von Wirt als auch Pathogen stammen, gemessen werden kann (Arbeiten der Arbeitsgruppe Prof. Kahl)
- 6) SuperSAGE-Ergebnisse sofort für die Herstellung eines sog. SuperSAGE-Genexpressions-Arrays genutzt werden können

- Bei den beteiligten Züchtern waren vorhanden:
 - Gut charakterisierte Isolate der verschiedenen, für die fragliche Leguminose relevanten Pathogene, insbesondere Isolate der allen gemeinsamen Pilzpathogene aus der Familie Ascochyta
 - gut auf ihre Resistenz bzw. Anfälligkeit auf verschiedene Pathogene charakterisierte Linien der verschiedenen Leguminosen
 - Gut charakterisierte Populationen, die für die Resistenz segregieren
- Bei den Technologie-Providern Array-On und GenXPro GmbH waren verfügbar:
 - langjährige Erfahrung mit der Herstellung von Genexpressions- und SNP-Arrays
 - langjährige Erfahrung mit der Amplifikation ausgehend von spezifischen und unspezifischen Primern
 - Erfahrung mit der Handhabung von next-generation sequencing (454 Technologie) und Auswertung der Ergebnisse

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Projekt wurde von allen Partnern gemeinsam geplant. Der Ablauf allerdings wurde dadurch erschwert, dass nicht für alle Partner die beantragten Summen von den jeweiligen, nationalen Projektträgern zur Verfügung gestellt wurden. Insbesondere die französischen und spanischen Partner hatten darunter zu leiden. Als eine der Folgen davon, von denen auch die GenXPro betroffen war, konnten die im Projekt hergestellten Genexpressionsarrays lediglich in Pilotstudien an einer kleinen Zahl von Proben getestet werden.

4. wissenschaftlichem und technischem Stand, an den angeknüpft wurde, insbesondere

- *Angabe bekannter Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte, die für die Durchführung des Vorhabens benutzt wurden*

Die GenXpro stellte der Arbeitsgruppe Kahl die von ihr patentierte SuperSAGE-Technologie kostenlos für die Durchführung des Projekts zur Verfügung.

- *Angabe der verwendeten Fachliteratur sowie der benutzten Informations- und Dokumentationsdienste*

Für die Literaturarbeit wurden die üblichen, öffentlich zugänglichen on-line Bibliotheken wie etwa die PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=pubmed>) des NCBI genutzt.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen.

Die notwendigen Sequenzierungen wurden bei der Firma SeqIt, Kaiserslautern, in Auftrag gegeben.

1. Eingehende Darstellung der Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit