

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 Mehltaresistenz bei Gerste	2
2.1.1 Resistenzformen	2
2.1.2 Rassenspezifische Mehltaresistenzgene	5
2.1.3 Der komplexe <i>Mla</i> -Locus	7
2.2 Molekulare Grundlagen rassenspezifischer Resistenz	10
2.2.1 Struktur und Funktion klonierter Avirulenzgene	10
2.2.2 Struktur und Funktion klonierter Resistenzgene	13
3 MATERIAL UND METHODEN	24
3.1 Material	24
3.1.1 Verbrauchsmaterial und Chemikalien	24
3.1.2 Enzyme	26
3.1.3 RFLP-Sonden	27
3.1.4 Oligonukleotide	28
3.1.5 Vektoren und Wirtsstämme	29
3.1.5.1 Vektoren	29
3.1.5.2 Wirtsstämme	30
3.1.6 DNA-Molekulargewichtstandards	31
3.1.7 Pflanzenmaterial	32
3.1.7.1 Kartierungspopulation	32
3.1.7.2 <i>Mla</i> -Rekombinante Linien	32
3.1.7.3 cDNA-Bank	33
3.1.8 Mehltausolate	33
3.2 Methoden	35
3.2.1 Mehltauprüfungen	35
3.2.2 Rekombinante DNA-Techniken	36
3.2.2.1 Plasmide	36
3.2.2.2 Phagen	38
3.2.3 Isolierung genomischer DNA	40
3.2.4 RFLP-Analyse	41
3.2.4.1 Restriktion und Gelelektrophorese	41
3.2.4.2 Southern Blotting	41
3.2.4.3 Sondenpräparation, DNA-Markierung und Hybridisierung	42
3.2.5 AFLP-Analyse	44
3.2.5.1 Radioaktive AFLP-Analyse	44
3.2.5.2 Multifluorophore AFLP-Analyse	47
3.2.6 STS-Analyse	48
3.2.7 Kopplungsanalyse	49
3.2.8 YAC-Analyse	49

3.2.9 cDNA-Analyse	50
3.2.9.1 Isolierung von mRNA	50
3.2.9.2 cDNA-Synthese	51
3.2.9.3 Klonierung und Verpackung	53
3.2.9.4 Sichtung der cDNA-Bank	54
3.2.10 Sequenz-Analyse	54
4 ERGEBNISSE	56
4.1 Hochauflösende Kartierung der <i>Mla</i> -Region	56
4.1.1 Mehлтаubonitur und RFLP-Kartierung	56
4.1.2 Selektion eng gekoppelter AFLP-Marker und AFLP-Kartierung	61
4.2 Konversion und Sequenzanalyse von RFLP- und AFLP-Markern mit enger Kopplung zu dem <i>Mla</i> -Locus	64
4.2.1 Konversion und Sequenzanalyse der RFLP-Marker MWG2197 und MWG2083	64
4.2.2 Konversion und Sequenzanalyse von AFLP-Marker <i>E-ACT/M-CAA-271</i>	67
4.3 Analyse MWG2197-positiver YAC-Klone	69
4.4 Erstellung und Sichtung einer <i>Mla</i> -spezifischen cDNA-Bank	73
5 DISKUSSION	81
5.1 Positionelle Klonierung des <i>Mla</i> -Locus	81
5.1.1 Hochauflösende Kartierung	81
5.1.2 Physikalische Eingrenzung	88
5.1.3 Selektion und Analyse von cDNA-Kandidaten	93
5.2 Die Feinstruktur des komplexen <i>Mla</i> -Locus	99
6 ZUSAMMENFASSUNG	103
7 LITERATURVERZEICHNIS	105
8 ANHANG	131
8.1 Berechnung des Donoranteils in nah-isogenen Linien	131
8.2 Basislösungen	132
8.3 RFLP-Analyse von DNA-Sonden mit enger Kopplung zu dem <i>Mla</i> -Locus	133
8.4 DNA-Sequenzen	136
8.4.1 MWG2197	136
8.4.2 MWG2083	136
8.4.3 Adaptor-bereinigtes AFLP-Fragment <i>E-ACT/M-CAA-271</i>	138
8.4.4 Vektor-bereinigtes IPCR-Fragment YAC98K10_L	138
8.4.5 Vektor-bereinigtes IPCR-Fragment YAC98K10_R	138
8.4.6 Partielle Sequenz von cDNA-Klon cDNA λ gt10-11	139