

Modifikation von Symbiosekandidatengen durch CRISPR/Cas9 zur Verbesserung der Mykorrhizierung in der Zitterpappel

Khira Heier, Matthias Fladung

Thünen Institut für Forstgenetik, Sieker Landstraße 2, 22927 Großhansdorf
Khira.heier@thuenen.de, Matthias.fladung@thuenen.de

Zur Gewinnung von Bioenergie werden Pappeln als Energieholz auf Kurzumtriebsplantagen (KUP's) angebaut. Während der Wachstumsphase sind die Pappeln biotischen und abiotischen Umwelteinflüssen ausgesetzt. Eine Reduktion der Biomasse kann bei schadhafte Umwelteinflüssen wie Pilzbefall oder Trockenstress die Folge sein. Im Projekt „Chito-Pop“ soll die Resistenz der Pappeln gegenüber *Melampsora spp.* verbessert und eine gesteigerte Mykorrhizierung erzielt werden.

Die Immunabwehr der Pflanze wird über „pathogen associated molecular pattern“ (PAMP) vermittelt, hierzu gehören Lysin Motif-receptor like Proteine (LysM-RLP) und Lysin-Motif-Receptor-like-Kinasen (LysM-RLK's). Die LysM-RLK's erkennen das pilzliche Chitin und initiieren die Immunantwort der Pflanze. Nach phylogenetischen Analysen liegen in *Populus* elf LysM-RLK Gene vor, von denen vermutlich vier an der Ausbildung der Symbiose beteiligt sind: Potri.005G128400, Potri.007G032300, Potri.008G160600 und Potri.010G078700. Auf Grund der Genomduplikation in *Populus* sind die Gene jeweils zwei Paraloge, die zur Funktionsanalyse gleichzeitig ausgeknockt werden sollen.

Der Knockout der Potri-Paralogen erfolgt über CRISPR/Cas9 Konstrukte, die in Wildtyp *P. x canescens* transformiert wurden. Anhand erster Sequenzanalysen, scheint Potri.007G032300 in *P. x canescens* nicht vorhanden zu sein. Die Transformation des Paralogen Potri.005G128400 ergab 133 regenerierende Pflanzen, von denen zunächst 96 genetisch analysiert und sequenziert wurden. Es zeigte sich, dass Potri.005G128400 durch CRISPR/Cas9 dahingehend verändert wurde, dass neben Wildtyp- und heterozygoten Linien sechs verschiedene homozygote Veränderungen genomisch nachweisbar sind. Der Knockout des Potri-Paralogen Paares Potri.008G160600 und Potri.010G078700 zeigte derzeit noch keine Regenerate, die eine homozygote Veränderung in beiden Genen tragen. Auch der Knockout aller vier Gene ist bis dato nicht erfolgreich gewesen.