

Tina Moser
Institut für Rebenzüchtung

Untersuchung der
transkriptionellen Regulation
von Kandidatengenen
der Pathogenabwehr
gegen *Plasmopara viticola*
in der Weinrebe



Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut

Kontakt/Contact:
Tina Moser
Arndtstraße 6
67434 Neustadt

Die Schriftenreihe „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ veröffentlicht Doktorarbeiten, die in enger Zusammenarbeit mit Universitäten an Instituten des Julius Kühn-Instituts entstanden sind

The publication series „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ publishes doctoral dissertations originating from research doctorates completed at the Julius Kühn-Institut (JKI) either in close collaboration with universities or as an outstanding independent work in the JKI research fields.

Der Vertrieb dieser Monographien erfolgt über den Buchhandel (Nachweis im Verzeichnis lieferbarer Bücher - VLB) und OPEN ACCESS im Internetangebot www.jki.bund.de Bereich Veröffentlichungen.

The monographs are distributed through the book trade (listed in German Books in Print - VLB) and OPEN ACCESS through the JKI website www.jki.bund.de (see Publications)

Wir unterstützen den offenen Zugang zu wissenschaftlichem Wissen.
Die Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut erscheinen daher OPEN ACCESS.
Alle Ausgaben stehen kostenfrei im Internet zur Verfügung:
<http://www.jki.bund.de> Bereich Veröffentlichungen

We advocate open access to scientific knowledge. Dissertations from the Julius Kühn-Institut are therefore published open access. All issues are available free of charge under <http://www.jki.bund.de> (see Publications).

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation
In der Deutschen Nationalbibliografie: detaillierte bibliografische
Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek (German National Library)

The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.dnb.de>.

ISBN 978-3-95547-019-7
DOI 10.5073/dissjki.2015.004

Herausgeber / Editor

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg, Deutschland
Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Quedlinburg, Germany

© Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen sowie der genannten Universität, 2015.
Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersendung, des Nachdrucks, des Vortrages, der Entnahme von Abbildungen, der Funksendung, der Wiedergabe auf fotomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten.

**Untersuchung der transkriptionellen Regulation von
Kandidatengenenen der Pathogenabwehr gegen *Plasmopara
viticola* in der Weinrebe**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN

(Dr. rer. nat.)

Fakultät für Chemie und Biowissenschaften

Karlsruher Institut für Technologie (KIT) - Universitätsbereich

genehmigte

DISSERTATION

von

Dipl.-Biol. Tina Moser

aus

Görlitz

Dekan: Prof. Dr. Peter Roesky

Referent: apl. Prof. Dr. Eva Zyprian

Korreferent: Prof. Dr. Holger Puchta

Tag der mündlichen Prüfung: 17.04.2014

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	III
TABELLENVERZEICHNIS	VI
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	VII
ZUSAMMENFASSUNG.....	1
1 EINLEITUNG	3
1.1 FALSCHER MEHLTAU IN DER REBE.....	4
1.2 MODELL FÜR DIE EVOLUTION DER PATHOGENABWEHR BEI PFLANZEN	7
1.3 RESISTENZGENE	8
1.3.1 Ethylen-Response Transkriptionsfaktoren (ERFs).....	9
1.3.2 PR-Proteine	10
1.3.3 <i>NBS-LRR</i> Gene.....	11
1.4 PHYTOHORMONE BEI DER PATHOGENABWEHR	12
1.4.1 Salicylsäure	12
1.4.2 Ethylen	13
1.4.3 Methyljasmonat.....	14
1.5 ZIELSETZUNG	15
2 MATERIAL UND METHODEN.....	16
2.1 MATERIAL	16
2.1.1 Geräte	16
2.1.2 Software	16
2.1.3 Chemikalien	17
2.1.5 Pflanzenmaterial.....	19
2.1.6 <i>Plasmopara viticola</i> – Gewinnung von Sporangienmaterial	20
2.2 METHODEN.....	20
2.2.1 DNA-Extraktion	20
2.2.2 Primerdesign.....	21
2.2.3 Polymerasekettenreaktion (PCR)	21
2.2.4 Klonierung der Promotoren ausgewählter Kandidatengene.....	23
2.2.5 Bioinformatische Analyse	23
2.2.6 Luciferaseassay (in Kooperation mit dem DLR Neustadt, AG Bogs)	24
2.2.7 Mutation von WRKY-Bindestellen im <i>PR10.1</i> -Promotor	26
2.2.8 SNP Genotypisierung	27
2.2.9 Verrechnung der SNP-Daten mit Boniturdaten	30

2.2.10	Probenahme für Genexpressionsanalysen	30
2.2.11	RNA-Extraktion und cDNA-Synthese	31
2.2.12	Genexpressionsanalysen.....	32
3	ERGEBNISSE	36
3.1	VERGLEICHENDE PROMOTORANALYSEN	36
3.2	UNTERSUCHUNG DES TRANSKRIPTIONSFAKTORS ERF5 DER WEINREBE	42
3.3	SNP-GENOTYPISIERUNG DER CORE-KOLLEKTION VON RESISTENTEN WEINREBEN....	48
3.4	UNTERSUCHUNG DER HORMONELLEN REGULATION VON GENEN DER PATHOGENABWEHR.....	51
3.5	GENEXPRESSIONSANALYSEN VON EINZELLOCI-TRAGENDEN GENOTYPEN.....	57
4	DISKUSSION.....	66
4.1	<i>IN SILICO</i> ANALYSE VON PROMOTORBEREICHEN.....	66
4.2	TRANSKRIPTIONELLE REGULATION VON <i>PR10.1</i>	67
4.3	ANALYSE DES TRANSKRIPTIONSFAKTORS <i>ERF5</i>	67
4.4	ASSOZIATIONSANALYSEN FÜR SNP-DATEN DER CORE-KOLLEKTION VON RESISTENTEN WEINREBEN.....	68
4.5	HORMONELLE REGULATION VON RESISTENZGENEN.....	70
4.6	EXPRESSION VON RESISTENZGENEN BEI EINZELLOCI-TRAGENDEN GENOTYPEN	75
4.7	SCHLUSSFOLGERUNG.....	77
	LITERATURVERZEICHNIS	XI
	ANHANG	XI
ANHANG 1		XI
ANHANG 2.....		XX
ANHANG 3:.....		XXVIII
ANHANG 4.....		XXIX
ANHANG 5.....		XXXVIII
ANHANG 6.....		XLV
	DANKSAGUNG	LIV

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schadbilder des Falschen Mehltaus.	5
Abbildung 2: Schematische Darstellung des Infektionszyklus von <i>Plasmopara viticola</i>	6
Abbildung 3: Modell für die Evolution der Pathogenabwehr bei Pflanzen.	8
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Abwehrmechanismen gesteuert durch die drei Phytohormone Salicylsäure, Jasmonat und Ethylen. Dargestellt sind die Hauptfaktoren der Mechanismen, die das Rückgrat der Abwehr bilden.	13
Abbildung 5: Reaktion von Ethepon zu Ethylen.	14
Abbildung 6: Anzucht von <i>in vitro</i> Reben.	19
Abbildung 7: Rebstöcke von 'Regent' und 'Lemberger'.	20
Abbildung 8: Schematische Darstellung des Vektors pLuc.	24
Abbildung 9: Schematische Darstellung des Prinzips des Luciferaseassays.	25
Abbildung 10: Funktionsweise der SNP-Analyse mit dem Fluidigm Biomark HD System. . .	27
Abbildung 11: Inokulation mit <i>Plasmopara viticola</i> (oben) von Blättern der Rebsorten aus dem Sortiment in Petrischalen mit 0,8 %-igem Wasseragar sowie die Kontrollblätter (unten).	31
Abbildung 12: Ausschnitt aus dem Alignment des <i>PR10.1</i> -Promotors von 'Chambourcin', 'Diana', 'Regent', 'Lemberger' und der Referenzsequenz PN40024.	38
Abbildung 13: Darstellung der <i>cis</i> -regulativen Elemente für Bindestellen von <i>MYB</i> - (orange) und <i>WRKY</i> - (lila) Transkriptionsfaktoren, sowie Elicitor- (blau) und Ethylen- (grün) responsive Elemente für die allelischen Varianten des Promotors von <i>PR10.1</i> für 'Regent' und 'Lemberger'.	39
Abbildung 14: Darstellung der <i>cis</i> -regulativen Elemente für Enhancer (grün) und Repressoren (rot) für die allelischen Varianten des <i>PR10.1</i> -Promotors von 'Regent' und 'Lemberger'.	40
Abbildung 15: Induktion der allelischen Varianten des <i>PR10.1</i> Promotors durch die Transkriptionsfaktoren <i>MYBA</i> , <i>MYBB</i> , <i>WRKY33</i> , <i>CZF1/ZFAR1</i> und <i>ERF5</i> vergleichend für 'Regent' und 'Lemberger'.	41
Abbildung 16: Ausgewählte <i>WRKY</i> -Bindestellen für die Mutationsanalyse.	41
Abbildung 17: Schematische Darstellung der Promotorkonstrukte von <i>PR10.1</i>	42
Abbildung 18: Sequenzvergleich von Ethylen-responsiven Transkriptionsfaktoren (ERF). ...	43
Abbildung 19: Ähnlichkeitsvergleich von 17 ERF Transkriptionsfaktoren.	44

Abbildung 20: Darstellung der Unterschiede in den Proteinsequenzen von `Regent` und `Lemberger` ERF5.....	44
Abbildung 21: Lokalisation von `Regent` <i>ERF5</i> und `Lemberger` <i>ERF5</i> auf Chromosom 16 der Referenzsequenz PN40024.....	45
Abbildung 22: Agarosegel zur Gradienten-PCR zur Darstellung von ERF5 Amplifikaten mit genomischer DNA von `Regent` und `Lemberger`.....	46
Abbildung 23: Alignment der Proteinsequenzen aus cDNA Klonierungen des Kooperationspartners P. Merz mit den Proteinsequenzen abgeleitet von der genomischen DNA von `Chambourcin`, `Diana`, `Lemberger` und `Regent`.	46
Abbildung 24: Alignment der <i>ERF5</i> -Varianten von `Regent` und `Lemberger` mit den spezifischen Primern zur Untersuchung der Genexpression.	47
Abbildung 25: Vergleich der Genexpression der beiden <i>ERF5</i> -Varianten PN1 und PN2 von `Regent` und `Lemberger`.....	48
Abbildung 26: Darstellung der Amplifikationskurven des „Housekeeping“ Gens (<i>HKG</i>) <i>SAND</i> für zwei unabhängig durchgeführte Genexpressionsversuche	52
Abbildung 27: Induktion der Gene <i>CZF1/ZFAR1</i> , <i>ERF5</i> , <i>WRKY33</i> und <i>PR10.1</i> für `Regent` (gestreift) und `Lemberger` (gefüllt) nach dem Befall mit <i>Plasmopara viticola</i>	53
Abbildung 28: Effekt der Salicylsäure-Behandlung auf die Expression verschiedener Resistenzgene von `Regent` und `Lemberger` vier Stunden nach der Inokulation mit <i>P. viticola</i>	54
Abbildung 29: Amplifikationskurven der Genexpressionsanalyse von <i>ERF1</i> für <i>in vitro</i> Reben von `Regent` und `Lemberger` infiziert mit dem <i>Plasmopara viticola</i>	56
Abbildung 30: Lokalisation der Amplifikate von den Primerpaaren <i>ERF1</i> (Primer von Leocir Welter, hellblau), <i>ERF1-1</i> (orange) und <i>ERF1-2</i> (grün) auf dem Chromosom 10 von PN40024.....	56
Abbildung 31: Links: Ergebnis der Genexpressionsanalyse von <i>ERF1</i> (Primer von Leocir Welter). Rechts: Ermittelte Induktionsraten für <i>ERF1-1</i> , <i>ERF1-2</i> und <i>ERF1-3</i>	57
Abbildung 32: Ergebnis der Real-Time PCR mit <i>ERF1</i> und <i>ERF1-1</i> für nicht infiziertes <i>in vitro</i> Material von `Regent` und `Lemberger`.....	57
Abbildung 33: Induktion der verschiedenen Kandidatengene für Resistenz bei `Regent` zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Infektion mit <i>Plasmopara viticola</i>	60
Abbildung 34: Induktion der Housekeeping Gene (<i>Actin</i> , <i>GAPDH</i> , <i>SAND</i> und <i>UBQ</i>) für die 16 Einzelloci-tragenden Genotypen zu dem Nullzeitpunkt, sowie acht Stunden nach der Infektion mit Wasser oder <i>Plasmopara viticola</i>	61

Abbildung 35: Induktion der Gene TC153646 (<i>NBS-LRR1</i>) und TC145078 (<i>NBS-LRR2</i>) für Einzelloci (<i>Rpv3</i> , <i>Rpv10</i> und <i>Rpv12</i>)-tragender Genotypen zum Nullpunkt sowie acht Stunden nach der Infektion mit <i>Plasmopara viticola</i> bzw. Wasser (Mock).	62
Abbildung 36: Expression der Gene <i>NBS-LRR1</i> , <i>NBS-LRR2</i> und Ubiquitin (<i>UBQ</i>) für die Genotypen Gf.Ga-52-42, die Homozygote für den <i>Rpv10</i> -Locus, Riesling und Solaris ohne Inokulation.	63
Abbildung 37: <i>SEBF</i> und <i>Why1</i> werden acht Stunden nach der Infektion mit <i>Plasmopara viticola</i> oder Wasser (Mock) reprimiert.	63
Abbildung 38: Ergebnis der differentiellen Genexpressionsanalysen von <i>WRKY57</i> für die 16 Einzelloci-tragenden Sorten.	64
Abbildung 39: <i>NPR3.1</i> wird bei den Genotypen `Galja` (2), Homozygot <i>Rpv10</i> (6), `Severnyi` (9), `Solaris` (10) und `Droujba` (13) im Vergleich zu Gf.Ga-52-42 (1) kaum exprimiert.	64
Abbildung 40: Stressinduktion von <i>PR2</i> kann acht Stunden nach der Infektion mit <i>Plasmopara viticola</i> , aber auch bei der Kontrolle (Mock) beobachtet werden.....	65
Abbildung 41: Induktion der Gene <i>SEBF</i> , <i>Why1</i> und <i>PR2</i> nach der differentiellen Genexpressionsanalyse für 16 Einzelloci-tragende Genotypen.	65
Abbildung 42: Lokalisation des SNPs 36 (ERF1-P-SNP819, rote Markierung) im Promotorbereich des Transkriptionsfaktors <i>ERF1</i> auf Chromosom 10 der Referenzsequenz von PN40024.....	70

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Primer für die Amplifikation der Promotorregionen verschiedener Kandidatengene und Sequenzierprimer für den Vektor pLuc mit Angaben zur erwarteten Fragmentgröße [Bp], Annealingtemperatur [°C] und Elongationszeit [sek].	22
Tabelle 2: Primer zur gezielten Mutagenese von WRKY-Bindestellen im <i>PR10.1</i> -Promotor. Die rot gezeigten Basen stellen die veränderten <i>WRKY</i> -Bindestellen dar.	26
Tabelle 3: SNP-Marker für die Genotypisierung von Weinreben mit der Angabe der Lokalisation im Referenzgenom PN40024 und den allelischen Basen-Varianten.....	28
Tabelle 4: SNP-Marker für die Genotypisierung von Weinreben mit den allelischen Basen-Varianten.	29
Tabelle 5: Genbezeichnungen, Akzessionsnummern der NCBI-, TIGR- und Genoscope-Datenbanken, Primersequenzen, Annealingtemperaturen und erwartete Fragmentlängen der Gene, deren Expression in der Rebe während des Befalls mit <i>Plasmopara viticola</i> mittels einer qRT-PCR ermittelt wurde.	34
Tabelle 6: Genbanknummerierung, funktionelle Annotation und Lokalisation der Kandidatengene im Genom der Weinrebe.	36
Tabelle 7: Übersicht der sequenzierten Promotorbereiche mit ihrer Länge, der Anzahl der SNPs, der Frequenz der identifizierten SNPs, sowie der Anzahl von Insertionen/Deletionen mit Angabe des kürzesten bzw. längsten Indels.	38
Tabelle 8: Ergebnis des Blat-Abgleichs mit <i>ERF</i> -Varianten von `Chambourcin`, `Diana`, `Lemberger` und `Regent` bei den Datenbanken Genoscope und Gramene.....	47
Tabelle 9: Liste der SNP-Marker mit Angaben zum Basenaustausch und betroffenen <i>cis</i> -regulativen Motiven.....	49
Tabelle 10: Zusammenfassende Statistik für signifikante Assoziationen zwischen SNP-Markern und verschiedenen Merkmalen für $\alpha \leq 0,05$	50
Tabelle 11: Hardy-Weinberg χ^2 -Test für SNP-Marker zum Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$	51
Tabelle 12: Genotypen mit einem einzelnen genetisch definierten <i>Plasmopara</i> -Resistenzlocus (<i>Rpv3</i> , <i>Rpv10</i> oder <i>Rpv12</i>) mit den Angaben zu den Eltern und ihrer Akzessionsnummer im Rebsortiment.....	59
Tabelle 13: Stabilitätswert und Standardabweichung ausgewählter Gene bestimmt mit dem Programm Normfinder.	60
Tabelle 14: Bestimmung der Stabilitätswerte und Standardfehler der Expression der „Housekeeping“-Gene mit Normfinder.....	71

Abkürzungsverzeichnis

bp	Basenpaare
CC	Engl.: „Coiled-Coil domain“
DREB3	Engl.: „Dehydration responsive element-binding factor 3“
EIN2	Engl.: „Ethylene insensitive 2“
ERF	Engl.: „Ethylene responsive transcription factor“
ETI	Engl.: „Effector-triggered immunity“
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
HKG	„Housekeeping“-Gen
hpi	Engl.: „hours past inoculation“
HWG	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
JAZ	Engl.: „Jasmonate ZIM Domain Protein“
LRR	Engl.: „Leucine-rich repeat“
NBS	Engl.: „Nucleotide-binding site“
NDR1	Engl.: „Non-race specific disease resistance1“
NPR	Engl.: „Non-Expresser of PR genes “
PAL	Engl.: „Phenylalanine ammonia lyase“
PAMP	Engl.: „Pathogen-associated molecular pattern“
PDF1.2	Plant Defensin1.2
PR	Engl.: „Pathogenesis-related Protein“
PTI	Engl.: „PAMP-triggered immunity“
PVP40	Polyvinylpyrrolidon 40
RLK	Engl.: „Receptor-like kinase“
Rpv	Resistenz gegen <i>Plasmopara viticola</i>
SAND	SAND-family protein
SAR	Systemische Resistenz, engl.: „systemic acquired resistance“
SEBF	Engl.: „Silencing elemental binding factor“
SNP	Engl.: „Single nucleotide polymorphism“
TIR	Engl.: „Toll/interleukin-1 receptor-like domain“
UBQ	Ubiquitin C
VRP	<i>Vitis</i> Resistenz gegen <i>Plasmopara</i>

Zusammenfassung

Differentielle Genexpressionsstudien für einen resistenten und einen anfälligen Genotyp haben gezeigt, dass zehn Stunden nach der Inokulation mit *Erysiphe necator* die Expression der Transkriptionsfaktoren *CZF1/ZFAR1* und *MYBB*, der Ethylen-responsiven Faktoren *ERF1* und *ERF5*, der *PAL* (Phenylalanine-ammonia Lyase), der Pathogen-related Proteine *PR5* und *PR10.1* und den WRKY-Transkriptionsfaktoren *WRKY7*, *WRKY33* und *WRKY57* verstärkt wird (Welter, 2008). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten die Promotoren der Gene *ERF1*, *ERF5*, *MYBB*, *PAL*, *PR10.1* und *WRKY7* für die resistente Rebsorte 'Regent' im Vergleich zur anfälligen Sorte 'Lemberger' erfolgreich amplifiziert und sequenziert werden. In den Promotorbereichen betrug die durchschnittliche SNP-Häufigkeit 1/39 und die Frequenz der Insertions-/Deletionsereignisse lag bei 1/210. Die *in silico* Analyse des *PR10.1* Promotors zeigte außerdem, dass eine Bindestelle für den Repressor *SEBF* (silencing elemental binding factor) für beide Allele von 'Lemberger' und das „anfällige“ Allel A von 'Regent' existiert. Das Allel B der *PR10.1* Promotors des Genotyps 'Regent' war eindeutig vom resistenten Elter 'Chambourcin' vererbt. Insgesamt wurden 13 WRKY-, vier ERF- und 22 MYB-Bindestellen im *PR10.1* Promotor identifiziert. Der anschließende duale Luciferaseassay zeigte, dass die Transkription von *PR10.1* positiv durch die Transkriptionsfaktoren *CZF1/ZFAR1*, *ERF5* und *WRKY33* reguliert wird.

Es wurden differentielle Genexpressionsstudien mit *in vitro* Reben von 'Regent' (resistent gegen *E. necator* und *Plasmopara viticola*) und 'Lemberger' (anfällig gegen *E. necator* und *P. viticola*) für die Zeitpunkte 0, 1, 2, 4, 6, und 24 Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* durchgeführt. Die Studien zeigten, dass die Transkriptionsfaktoren *ERF5* und *WRKY33* bereits eine Stunde nach der Inokulation bei dem resistenten Genotyp in ihrer Expression verstärkt wurden. Die Expression von *WRKY33* war auch nach zwei Stunden noch induziert. Sechs Stunden nach der Inokulation wurde *PR10.1* 7,6-fach in der Expression bei 'Regent', aber nicht bei 'Lemberger' verstärkt transkribiert. Eine Applikation von Salicylsäure 24 Stunden vor der Inokulation mit *P. viticola* führte dazu, dass die Genexpression komplett verändert wurde. Vier Stunden nach der Inokulation wurden die *NBS-LRR* Gene *VRP1-2*, *VRP1-3*, *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* mindestens 13,4-fach für den resistenten Genotyp in der Expression verstärkt. *VRP1-1* hingegen wurde nicht beeinflusst. Dies weist daraufhin, dass die Vorbehandlung mit Salicylsäure die Effektor-gesteuerte Immunantwort deutlich verstärkt, da die *NBS-LRR* Gene nach ihrer Annotation und angenommenen Funktion Rezeptoren für die Effektoren darstellen.

NBS-LRR1 und *NBS-LRR2* wurden im Bereich des *Rpv10*-Locus identifiziert (Schwander *et al.*, 2012). Differentielle Genexpressionsanalysen zeigten, dass die basale Expression von *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* bei Genotypen mit einem *Rpv10*-Locus fünffach höher ist als bei Genotypen mit einem *Rpv3*, *Rpv12* oder alternativ gar keinem Resistenz-Locus. Dies ist ein Hinweis dafür, dass die beiden *NBS-LRR* Gene an der Ausprägung der Resistenz der *Rpv10*-Träger wesentlich beteiligt sein könnten.

1 Einleitung

Die europäische Rebe *Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera* ist in Europa die einzige traditionell im Weinbau genutzte Art (This *et al.*, 2006). Aufgrund des guten Geschmacks werden die Früchte der Rebe zur Herstellung von Saft, Wein, Rosinen und als Tafeltrauben verwendet. Die europäische Rebe zeichnet sich jedoch durch eine hohe Anfälligkeit gegenüber verschiedenen Pathogenen wie der Reblaus (*Daktulosphaera vitifoliae*), dem Erreger des Echten Mehltaus (*Erysiphe necator* [syn. *Uncinula necator* (Schw.) Burr.] (anamorph *Oidium tuckeri*)) sowie dem Falschen Mehltau, verursacht durch *Plasmopara viticola* (Berk. & M. A. Curtis) Berl. & De Toni 1888) aus. Diese Schaderreger kamen alle mit amerikanischen Wildarten nach Europa (Campbell, 2004). Seitdem ist der massive Einsatz von Spritzmitteln aufgrund der hohen Anfälligkeit der Reben im Weinbau unumgänglich. Dieser hohe Einsatz ist ein beträchtlicher Kosten- und Arbeitsfaktor für den Winzer und belastet stark die Umwelt. Aufgrund dessen ist es wünschenswert, Reben mit Resistenzen gegen die Mehltaukrankheiten zu züchten, die gleichzeitig alle weinbaulich wichtigen Eigenschaften wie gute Qualität, sicherer Ertrag, geeignete Wuchsform usw. aufweisen (Töpfer *et al.*, 2011a).

In der Rebenzüchtung dienen amerikanische und asiatische Wildreben als Resistenzquellen. Diese zeichnen sich jedoch durch mangelhafte Weinqualität aus. Ihre Resistenzen werden durch Kreuzungszüchtung in Kulturformen mit hoher Weinqualität, aber einer hohen Anfälligkeit gegen die Schaderreger, eingebracht. Bei der Kreuzung mit *V. vinifera* Sorten werden neben den Resistenzmerkmalen häufig durch „linkage drag“ die mangelhaften Qualitätsmerkmale mit eingekreuzt. Daher sind mehrfache Rückkreuzungen unerlässlich und gleichzeitig sind zeitintensive Phänotypisierungen notwendig. Es dauert 25 – 30 Jahre bis eine Sorte ausreichend propagiert ist und zugelassen wird (Töpfer *et al.*, 2011b). Dieser Vorgang kann durch Marker-gestützte Selektion (MAS), d.h. das Einsetzen von genetischen Markern zur Frühdiagnose, um etwa 10 Jahre verkürzt werden (Töpfer *et al.*, 2011b). Die genetischen Marker sind mit einem spezifischen Merkmal gekoppelt. Mit Hilfe dieser Marker lassen sich gezielt und schnell viele Kreuzungsnachkommen schon im Sämlingsstadium auf die gewünschten Eigenschaften überprüfen (Lande & Thompson, 1990; Töpfer *et al.*, 2011b).

Ein einziges Resistenzgen kann schnell von einem Pathogen überwunden werden. In der Rebe wurde dieses Phänomen an einem tschechischen *P. viticola*-Isolat beobachtet werden. Das Isolat konnte die Resistenz des *Rpv3* (Resistenz gegen *P. viticola*) - Locus überwinden (Peressotti *et al.*, 2010). Dieses Problem kann durch eine Kombination von Resistenzloci mit

unterschiedlichem genetischem Hintergrund in einer Sorte bewältigt werden. Die sogenannte „Pyramidisierung“ von Resistenzgenen führt zu einer effizienteren und dauerhafteren Resistenz. Dies ist im Weinbau im Vergleich zu anderen Kulturarten besonders wünschenswert, da Reben als Dauerkultur typischerweise für 30 Jahre im Anbau stehen. Ziel der Pyramidisierung ist die Züchtung einer Sorte mit mindestens zwei bis drei Resistenzloci gegen die einzelnen Pathogene. Auch andere Rebkrankheiten wie Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*), Anthraknose (*Elsinoë ampelina*), Roter Brenner (*Pseudopezicula tracheiphila*) und Phomopsis (*Phomopsis viticola*) werden bei der Auswahl der resistenten Zuchtpartner berücksichtigt. Bisher ist jedoch noch unklar, ob die von den unterschiedlichen *Vitis*-Arten ausgehenden Resistenzen alle auf den gleichen physiologischen Mechanismus zurückgreifen oder ob es sich um verschiedene Mechanismen handelt. Nur durch das Einkreuzen unterschiedlicher Resistenzmechanismen kann aber eine dauerhafte Resistenz gegen die Erreger gewährleistet werden. Daher soll im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit ein erster Schritt zur Aufklärung der in der Rebe ablaufenden Mechanismen über die Analyse der transkriptionellen Regulation von Kandidatengen für die Resistenz gegen Falschen Mehltau durchgeführt werden.

1.1 Falscher Mehltau in der Rebe

Plasmopara viticola ist der Schaderreger des Falschen Mehltaus der Weinrebe. Das Pathogen wurde im Jahr 1878 von Amerika nach Europa eingeschleppt. Taxonomisch gesehen gehört das Pathogen in die Familie *Peronosporaceae* innerhalb der Klasse der Peronosporomycetes ehemals Oomycotes („Eipilze“). Die Peronosporomyceten sind näher mit den Algen als mit den Echten Pilzen verwandt, obwohl die Lebensweise den Echten Pilzen ähnelt (Adl *et al.*, 2005).

P. viticola kann alle grünen Gewebe mit Spaltöffnungen der Pflanze befallen (Ingram, 1981; Mohr, 2005). Dazu gehören Blätter, junge Triebe, Gescheine und junge Beeren. Die ersten Symptome des Befalls auf Blättern sind sogenannte „Ölflecken“, die Aufhellungen an der Blattoberfläche darstellen (Abbildung 1a). Diese Flecken entstehen durch einen veränderten Brechungsindex bedingt durch das interzelluläre Wachstum des Pathogens im Mesophyll. Für die Entstehung des weißen Sporangienrasens auf der Blattunterseite (Abbildung 1b) müssen über Nacht feuchtwarmer Bedingungen herrschen. Die betroffenen Stellen sterben nach einiger Zeit in Folge von sich bildenden Nekrosen ab. Sehr starker Befall mit *P. viticola* kann zur kompletten Entlaubung der Rebe führen. Ein Totalausfall der Ernte kann durch den Befall der Gescheine (Blütenstände der Weinrebe) kurz vor oder während der Blütezeit eintreten

(Abbildung 1c). Dieser Befall führt zur Bildung sogenannter „Lederbeeren“. Den Name verdanken die Beeren ihrem Phänotyp, der sich in eingetrockneten Beeren mit ledriger Haut zeigt (Kortekamp *et al.*, 1998; Mohr, 2005; Nicholas *et al.*, 1994).

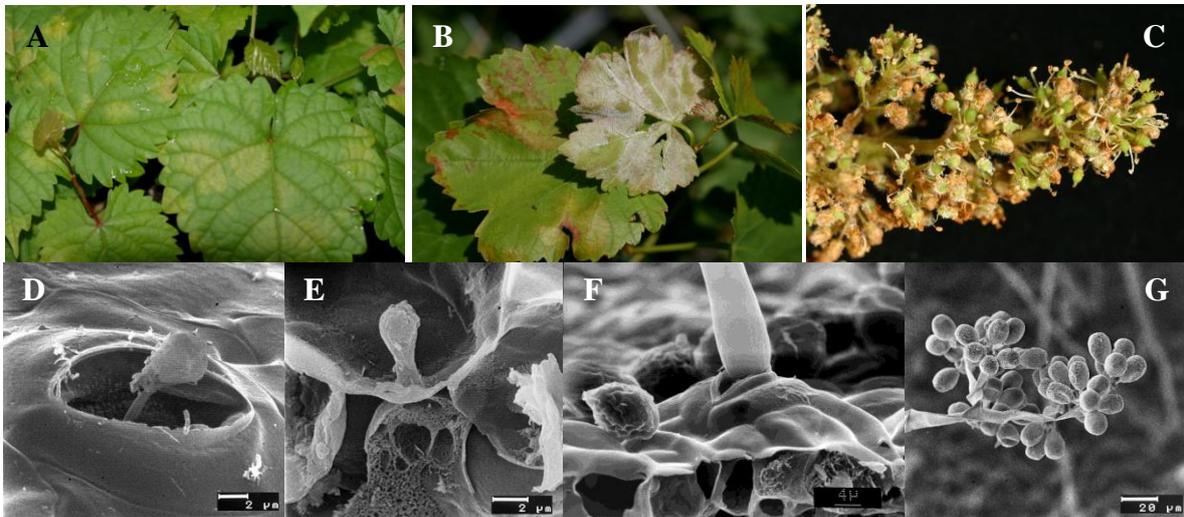


Abbildung 1: Schadbilder des Falschen Mehltaus. A: „Ölflecken“ auf der Blattoberseite infizierter Blätter. B: Mehltartiger Belag auf der Blattunterseite, der durch die Sporangienträger gebildet wird. C: Infizierte Gescheine der Weinrebe. D: Zoospore mit Infektionsschlauch angelagert an eine Spaltöffnung. E: Haustorium. F: Sporangienträger wächst aus Spaltöffnung. G: Sporangien eines Sporangienträgers. (Bildarchiv des JKI, Institut für Rebenzüchtung, Geilweilerhof, Siebeldingen)

P. viticola gehört zu den obligat biotrophen Lebewesen, welche sich nur von lebendem Pflanzengewebe ernähren können und dasselbe für die Fortpflanzung benötigen. Die Vermehrung des Pathogens kann sexuell und vegetativ ablaufen. Im Herbst werden gehäuft Oosporen über die sexuelle Vermehrung gebildet. Der Laubfall sorgt dafür, dass die Oosporen von *P. viticola* in den Boden gelangen. Dort findet die Überwinterung statt. Die Oosporen überleben so auch einen Zeitraum von mehreren Jahren (Caffi *et al.*, 2011; Kortekamp *et al.*, 1998). Steigt im Frühjahr die Temperatur über 11 °C an, beginnen die Oosporen zu keimen und bilden Primärsporangien aus (Gessler *et al.*, 2011). Sobald die Primärsporangien mit Wasser in Berührung kommen, entlassen sie eine große Anzahl von begeißelten Zoosporen. Die Sporangien und Zoosporen gelangen bei Regen über Spritzwasser/-tropfen auf die Unterseite der Blätter der Weinrebe. Dort schwimmen die Zoosporen angezogen von Nonanal/Decanal aktiv zu den Spaltöffnungen (Nick, http://www.rz.uni-karlsruhe.de/~db50/Forschung_Vitis/Lebenszyklus.html). Nach der Anlagerung an die Spaltöffnungen bilden die Zoosporen einen Infektionsschlauch und dringen so in die substomatäre Höhle ein (Abbildung 1d). Sobald der Infektionsschlauch auf eine pflanzliche Zellwand trifft, bildet dieser ein Appressorium. Damit kann die Zellwand invaginiert werden um in die Wirtszelle hinein ein Haustorium auszubilden (Abbildung 1d). Über das Haustorium nimmt das Pathogen Nährstoffe aus der lebenden Pflanzenzelle zur Versorgung

auf (Langcake & Lovell, 1980). Über Hyphen kann sich der Erreger in den Interzellularräumen der Pflanzenzellen ausbreiten (Kortekamp et al., 1998). Die Geschwindigkeit des Ausbreitens ist dabei stark abhängig von Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Optimale Bedingungen liegen bei 22 – 25 °C und einer relativen Luftfeuchte von 100 % (Blaeser, 1978; Blaeser & Weltzien, 1979). Unter natürlichen Bedingungen dauert es im Durchschnitt 5 – 18 Tage, bis die ersten Sporangienträger beobachtet werden können.

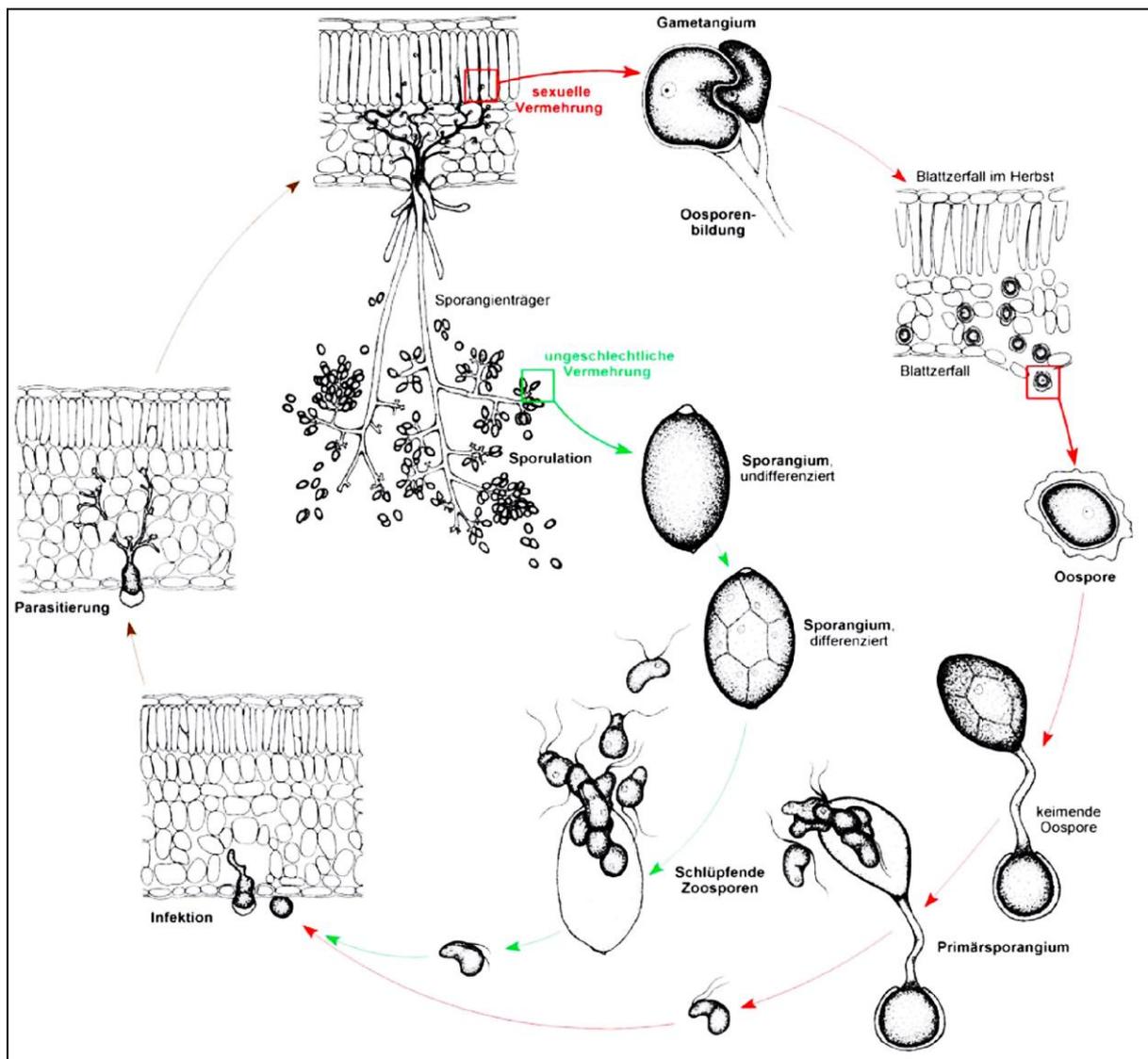


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Infektionszyklus von *Plasmopara viticola*. Der äußere rote Kreis stellt die sexuelle Vermehrung des Pathogens dar. Der innere grüne Kreis repräsentiert die vegetative Vermehrung (Gobbin, 2004).

Die Sporangienträger wachsen aus den Spaltöffnungen heraus (Abbildung 1f) und bilden dort baumartige Strukturen aus, an deren Ende asexuelle Sporangiosporen (Abbildung 1g) entstehen (Kortekamp et al., 1998). Diese können über Wind und Regen im Weinberg verteilt werden. Die Sporangiosporen dienen der vegetativen Vermehrung während der Vegetationsperiode, indem sie ebenfalls unter feuchtwarmen Bedingungen Zoosporen bilden

und freisetzen. Damit startet ein neuer Infektionszyklus (Mohr, 2005). Die sexuelle Vermehrung findet bevorzugt im Herbst statt. Hierfür müssen sich zwei heterothallische Hyphen im Blatt der Pflanze treffen. In Folge dessen kommt es zur Bildung von Oosporen, die im folgenden Jahr für die Neuinfektion zuständig sind (Abbildung 2, (Wong *et al.*, 2001)).

Die Bekämpfung der Infektion mit *P. viticola* findet im konventionellen Weinbau derzeit präventiv mit Fungiziden in Form von Kombinationspräparaten (z. B. Aktuan® (Cheminova Deutschland GmbH, Stade), Polyram® WG (BASF, Ludwigshafen) oder UNIVERSALIS® (Syngenta Agro GmbH, Maintal)) statt. Diese Mittel dürfen im ökologischen Weinbau jedoch nicht verwendet werden, daher wird dort auf die fungizide Wirkung von Kupfer zurückgegriffen, welches jedoch aufgrund seiner Anreicherung als toxisches Schwermetall im Boden in der Diskussion steht. Eine Reduktion der Pflanzenschutzmittel wird daher besonders über den Anbau von resistenten Rebsorten erhofft.

1.2 Modell für die Evolution der Pathogenabwehr bei Pflanzen

Die Pathogenabwehr der Weinrebe ist bisher nur rudimentär untersucht. Die Pflanzen weisen die angeborene Immunabwehr, welche auch als PTI (pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity) bezeichnet wird, auf (Abbildung 3a). Die Pflanze kann das Pathogen über Oberflächenstrukturen, z. B. Zilien, Flagellen oder Chitin, über RLKs (Rezeptor-ähnliche Kinasen) wahrnehmen, die das Signal über eine nachfolgende MAP (mitogen-associated protein) – Kinase-Kaskade verstärken. In Folge dessen werden verschiedene Transkriptionsfaktoren, z.B. WRKY Transkriptionsfaktoren, aktiviert. Im Zellkern können diese Faktoren die Expression von Pathogen-relevanten Genen aktivieren und/oder verstärken.

Im Laufe der Evolution haben die Pathogene gegen diese pflanzliche Immunabwehr Virulenzfaktoren (Effektoren) entwickelt (Abbildung 3b). Mit Hilfe dieser Effektoren kann das Pathogen die Immunabwehr der Pflanze unterbrechen. In Folge dessen wird die Pflanze anfällig gegen das Pathogen. Gegen diese Anfälligkeit einwickelten sich in den Pflanzen wiederum Resistenzproteine (Produkte der Resistenzgene). Häufig handelt es sich hierbei um Rezeptoren vom NBS (Nukleotidbindestelle) – LRR (Leucin-rich repeat) – Typ, mit deren Hilfe die Effektoren erkannt werden können. In Folge dessen wird die sogenannte ETI (Effector-triggered immunity) aktiviert, welche zu einer Resistenz der Pflanze gegenüber dem Pathogen führt (Abbildung 3c). Der Mechanismus greift allerdings nur, wenn das

Resistenzprotein der Pflanze den Effektor des Pathogens erkennen kann. Modifizierte Effektoren können so die Resistenz der Pflanze aufheben (Jones & Dangl, 2006).

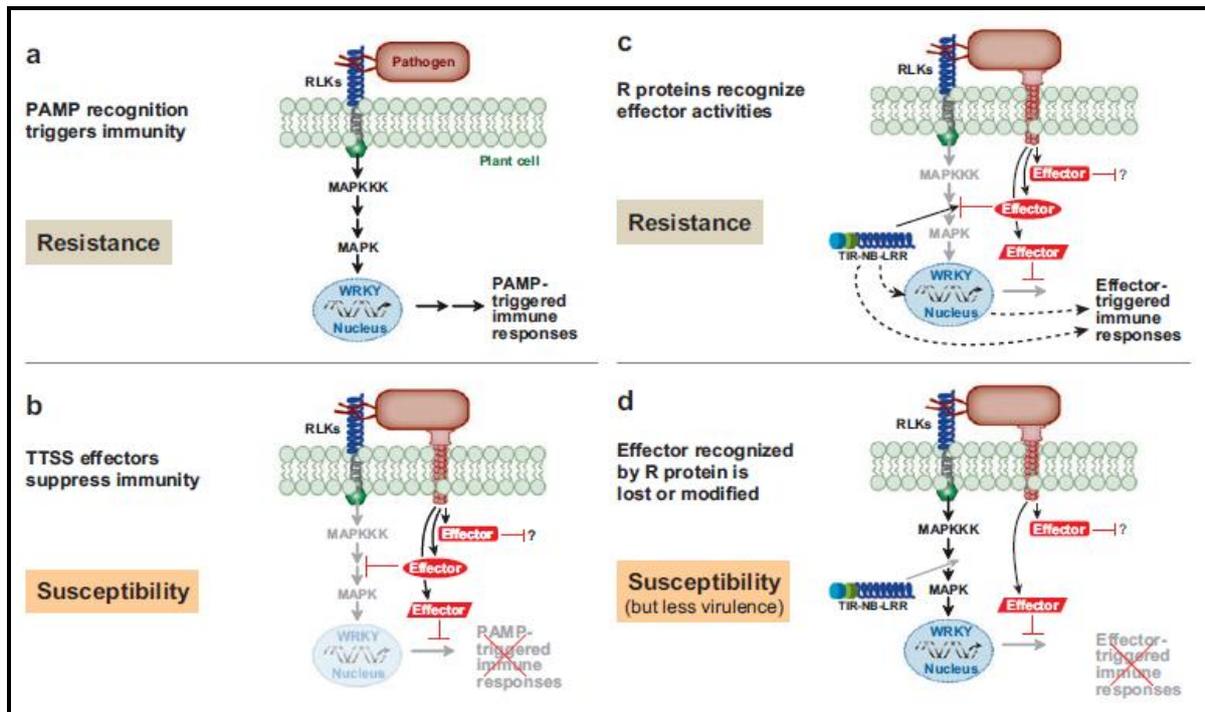


Abbildung 3: Modell für die Evolution der Pathogenabwehr bei Pflanzen. A: Darstellung der PTI (PAMP-triggered immunity) – Wahrnehmung von PAMPs (Pathogen assoziierte molekulare Strukturen) durch extrazelluläre RLKs (Rezeptor-ähnliche Kinase) und Auslösen der angeborenen Immunantwort. In Folge dessen kommt es zur Aktivierung einer MAP-Kinase-Kaskade, wodurch verschiedene Transkriptionsfaktoren, z. B. WRKYs, aktiviert werden. Diese verstärken die Expression von Pathogen-responsiven Proteinen. B: Das Pathogen bildet Virulenzfaktoren (Effektoren), die die PTI unterdrücken. C: Resistenzgene von Typ NBS-LRR können die Effektoren wahrnehmen. Dadurch kommt es zur Aktivierung der ETI (Effektor-triggered immunity). D: Die Effektoren sind modifiziert und können nicht mehr von den Resistenzgenen wahrgenommen werden (Bent & Mackey, 2007).

1.3 Resistenzgene

Resistenzgene kodieren für Proteine, die an der Pathogenerkennung und/oder -abwehr beteiligt sind. Die Erkennung wird hierbei von Rezeptoren auf der Zelloberfläche vermittelt. Über die Rezeptoren werden Signalmoleküle der Pathogene, z. B. Zilien oder Flagellen, erkannt und eine Signalkaskade zur massiven Abwehrreaktion eingeleitet (Somssich & Hahlbrock, 1998). In den meisten Fällen führt diese Abwehrreaktion zur „hypersensitiven Reaktion“, d.h. dem gezielten Absterben der lokal betroffenen Zellen. Dadurch kann sich die Infektion nicht weiter in der Pflanze ausbreiten.

Die von Resistenzgenen kodierten Proteine lassen sich in fünf Klassen unterteilen: (1) Zytoplasmatische Serin/Threonin Kinasen; (2) Extrazelluläre LRR-Proteine (Leucin-rich Repeat), die in der Zellmembran verankert sind; (3) Rezeptor-ähnliche Kinasen (RLK) mit einer extrazellulären LRR-Domäne und einer intrazellulären Serin/Threonin-Kinase-Domäne; (4) Proteine mit einem N-terminalem Transmembran-Anker und einer zytoplasmatischen

Coiled-Coil (CC) – Domäne sowie (5) Proteine mit einer NBS (Nukleotidbindestelle) und einer C-terminalen LRR-Domäne. Diese können in Abhängigkeit von der N-terminalen Domäne noch in TIR-NBS-LRR und CC-NBS-LRR Proteine unterteilt werden (Dangl & Jones, 2001; Ellis *et al.*, 2000). Die meisten Resistenzgene gehören in die Klasse der NBS-LRR-Gene.

Basierend auf diesen Erkenntnissen können über differentielle Genexpressionsstudien vergleichend für einen anfälligen und resistenten Genotyp nach der Inokulation mit dem Pathogen Kandidatengene für die Resistenz ermittelt werden. Dieser Ansatz wurde im Rahmen der Doktorarbeit von Welter (2008) durchgeführt. Als Pathogen wurde für die Analysen *Erysiphe necator*, der Erreger des Echten Mehltaus, verwendet. Zehn Stunden nach der Inokulation mit *E. necator* wurden bei 'Regent' u. a. die Transkriptionsfaktoren *WRKY7*, *WRKY33*, *ERF1*, *ERF5*, *CZF1/ZFAR1* und *MYBB*, sowie *PAL*, *PR5* und *PR10.1* in der Expression induziert. Alle Gene wurden bei dem anfälligen Genotyp schwächer oder gar nicht induziert (Welter, 2008). Diese Gene wurden in der vorliegenden Arbeit näher untersucht, um zu überprüfen, ob sie auch an der Pathogenabwehr gegen *P. viticola* beteiligt sind.

1.3.1 Ethylen-Response Transkriptionsfaktoren (ERFs)

Ethylen-response Transkriptionsfaktoren (ERF) sind durch das Vorhandensein einer AP2-Domäne charakterisiert (Riechmann & Meyerowitz, 1998). Diese ist zwischen 60 und 70 Aminosäuren lang (Ohme-Takagi & Shinshi, 1995; Sakuma *et al.*, 2002). Die AP2/ERF-Familie wurde von Sakuma *et al.* (2002) in fünf Untergruppen unterteilt: AP2 (APETALA2), RAV (Related to ABI3/VP1), DREB (Dehydration-responsive-element-binding), ERF und andere. Die ERF-Untergruppe wurde wiederum in 12 weitere Gruppen unterteilt (Nakano *et al.*, 2006). Es gibt 149, 147, 200, 131 und 163 AP2/ERF-verwandte Proteine in *Vitis vinifera* (Licausi *et al.*, 2010; Zhuang *et al.*, 2009), *Arabidopsis thaliana* (Nakano *et al.*, 2006; Sakuma *et al.*, 2002), *Populus trichocarpa* (Zhuang *et al.*, 2008), *Prunus persica* (Zhang *et al.*, 2012) und der monokotylen Pflanze *Oryza sativa* ssp. *japonicus* (Sharoni *et al.*, 2011).

Für die Mitglieder der AP2/ERF-Familie sind zwei cis-regulatorische Elemente bekannt. Zum einen gibt es das ERE (Ethylene-responsive element) auch GCC-Box oder ROSE7 genannt. Dieses Element besteht aus 11 bp (TAAGAGCCGCC) und ist in den Promotoren vieler Ethylen-induzierbarer Gene wie z.B. des Gens für das Pathogenesis-related Protein 10 (PR10; (Desveaux *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2005)) vorhanden. Zum anderen wurde das DRE/CRT-Element mit der Sequenz CCGAC nachgewiesen. Dieses spielt vor allem bei Trocken- und Kältestress eine Rolle und ist ebenfalls im Promotor von PR10 präsent (Liu *et al.*, 2005).

Kizis and Pagès (2002) haben gezeigt, dass *DBF1* und *DBF2* (DRE-binding factor) an das cis-regulative Element DRE binden können. *ERF6* und *ERF7* von *A. thaliana* und *PTI4* von *Solanum lycopersicum* binden an die GCC-Box (Chakravarthy *et al.*, 2003; Song *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2013).

Für die Transkriptionsfaktoren *ERF1*, *ERF5* und *ERF6* wurden bereits einige Funktionen, die eine Beteiligung an der Pathogenabwehr aufzeigen, beschrieben. Alle drei Transkriptionsfaktoren gehören zur Untergruppe IX der ERF Transkriptionsfaktoren (Nakano *et al.*, 2006). ERF-Faktoren dieser Untergruppe weisen neben der AP2/ERF-Domäne noch ein CMIX-Motiv auf (Nakano *et al.*, 2006).

Pan *et al.* (2013) zeigten, dass die Überexpression von *ERF1* von *Solanum lycopersicum* zu einer erhöhten Resistenz der Früchte gegen *Rhizopus nigricans* führt. Die Expression von *ERF1* von *Arabidopsis thaliana* konnte durch die Phytohormone Jasmonsäure und Ethylen induziert werden (Lorenzo *et al.*, 2003). Die Überexpression führt zudem zu einer erhöhten Resistenz gegen *Botrytis cinerea*, *Plectospaerella cucumerina*, *Fusarium oxysporum* sp. *conglutinans* and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Berrocal-Lobo *et al.*, 2002; Berrocal-Lobo & Molina, 2004).

AtERF6 bindet an die cis-regulative GCC-Box und wird durch die MAP-Kinase *AtMPK6* (Wang *et al.*, 2013) phosphoryliert, welche an der Signaltransduktionskaskade während der Pathogenabwehr beteiligt ist. Moffat *et al.* (2012) zeigten, dass die *erf5 erf6* Doppelmutante von *A. thaliana* eine signifikant erhöhte Anfälligkeit gegen das Pathogen *B. cinerea* aufweist. Dieser Effekt lässt sich jedoch nicht für die Einzelmutanten *erf5* und *erf6* beobachten. *AtERF5* interagiert mit *AtERF6*, *AtERF8*, *AtSCL13*, *AtMPK3* und *AtMPK6* und ist zudem an der Chitin-induzierten Immunabwehr beteiligt (Son *et al.*, 2011).

Die Überexpression von *ERF5* von *Solanum lycopersicum* führt zu einer erhöhten Toleranz gegen Trocken- und Salzstress (Pan *et al.*, 2013). *ERF5* spielt also sowohl bei der Antwort auf biotischen wie auch abiotischen Stress eine Rolle. Auch in der Weinrebe scheint *ERF5* eine Rolle in der Immunabwehr zu spielen, denn der Transkriptionsfaktor wurde nach der Inokulation mit *Erysiphe necator* in der Genexpression bei der resistenten Sorte 'Regent' induziert (Welter 2008).

1.3.2 PR-Proteine

PR-Proteine lassen sich in 17 Familien unterteilen (van Loon *et al.*, 2006). Die PR10 Proteine stellen eine dieser Familien dar, dessen Mitglieder vor allem als Allergene bekannt sind, z. B.

bei Apfel (Vanek-Krebitz *et al.*, 1995), Birke (Breiteneder *et al.*, 1989), Kirsche (Scheurer *et al.*, 1997) oder Sellerie (Breiteneder *et al.*, 1995). Die PR10-Familie in *Vitis vinifera* besteht aus 17 Genen, die ausschließlich auf Chromosom 5 lokalisiert sind (Lebel *et al.*, 2010).

Die Proteine der PR10-Familie weisen viele verschiedene Funktionen auf. Eine davon ist die Ligandenbindeaktivität, die bei PR10c aus Birke (Koistinen *et al.*, 2005), MalD1 aus Apfel (Puehringer *et al.*, 2003) oder *Physcomitrella patens* (Gonneau *et al.*, 2001) vorkommt. In *Hypericum perforatum* (Echtes Johanniskraut) weisen ähnliche Proteine eine Enzymaktivität auf (Samanani *et al.*, 2004). PR10-Proteine spielen auch eine Rolle bei der Toleranz gegenüber Kälte in *Pinus monticola* (Liu *et al.*, 2013) und gegenüber Salz in *Vitis vinifera* (Jellouli *et al.*, 2010).

PR10-Proteine liefern zudem Hinweise auf die Beteiligung an der Pathogenabwehr gegen Viren, da eine Ribonuclease-Aktivität für PR10-Proteine von *Vitis pseudoreticulata* (He *et al.*, 2012), *Capsicum annuum* (Park *et al.*, 2004), *C. baccatum* (Soh *et al.*, 2012), *Panax ginseng* (Pulla *et al.*, 2010), *Solanum surattense* (Liu *et al.*, 2006), *Betula verrucosa* (Koistinen *et al.*, 2005), *Oryza sativa* ssp. *japonicus* (Kim *et al.*, 2008), *Gossypium barbadense* (Chen *et al.*, 2013) und *Jatropha curcas* (Agarwal *et al.*, 2013) beschrieben wurde. PR10-Proteine von *Panax ginseng*, *Jatropha curcas* und *Vitis pseudoreticulata* weisen zudem eine anitfungische (Agarwal *et al.*, 2013; He *et al.*, 2012; Pulla *et al.*, 2010) bzw. eine antimikrobielle Aktivität (*Solanum surattense*; (Liu *et al.*, 2006)) auf.

1.3.3 NBS-LRR Gene

NBS-LRR Gene stellen den Hauptanteil der Resistenzgene. Die Gene sind nach den beiden vorhandenen Domänen NBS (Nukleotidbindestelle) und LRR (Leucin-rich Repeat) benannt (Caplan *et al.*, 2008; Ellis *et al.*, 2000; McHale *et al.*, 2006). Diese können in Abhängigkeit von der N-terminalen Domäne noch in CC- und TIR-NBS-LRR Proteine unterteilt werden. Ein gut untersuchtes Resistenzgen ist *A. thaliana* RPS5 (Resistance to *Pseudomonas syringae*5), welches zur CC-NBS-LRR-Familie gehört. RPS5 nimmt den *P. syringae* Effektor AvrPphB wahr und wird durch die Effektor-bedingte Teilung der Proteinkinase PBS1 aktiviert (Ade *et al.*, 2007; Shao *et al.*, 2003). Das Resistenzprotein ist an der Plasmamembran lokalisiert (Qi *et al.*, 2012) und benötigt für die Erkennung des Effektors die vollständige LRR-Domäne (Ade *et al.*, 2007). Die CC-Domäne wird hingegen nicht für die Erkennung benötigt (Qi *et al.*, 2012).

In der Weinrebe wurden von Velasco *et al.* (2007) 341 NBS-LRR Gene identifiziert. Davon sind 84 CC-NBS-LRR Gene und 37 TIR-NBS-LRR Gene. Ein Spezialfall stellen die VRP1 Proteine dar (Kortekamp *et al.*, 2008), welche zur CC-NBS-LRR Familie gehören. Die Resistenzproteine VRP1-1 und VRP1-2 besitzen eine zusätzliche, am N-Terminus lokalisiert RPW8 Domäne (Kortekamp *et al.*, 2008). *A. thaliana* *RPW8.1* und *RPW8.2* sind verantwortlich für eine ausgedehnte Resistenz gegen den Echten Mehltau (Xiao *et al.*, 2001). Damit stellen VRP1-1 und VRP1-2 einen neuen Typ von Resistenzgenen dar.

In der Rebe wurden im Bereich des Resistenzlocus *Rpv10* (Resistenz gegen *P. viticola*) mehrere NBS-LRR Gene ermittelt (Schwander *et al.*, 2012). Es ist somit wahrscheinlich, dass diese Resistenzgene an der Pathogenabwehr in *Vitis* beteiligt sind. Ein CC-NBS-LRR-Gen-Cluster wurde für den Resistenzlocus *Rpv12* identifiziert (Venuti *et al.*, 2013).

1.4 Phytohormone bei der Pathogenabwehr

Eine wichtige Rolle bei der Pathogenabwehr spielen Phytohormone. Hier sind vor allem Salicylsäure, Ethylen und Methyljasmonat zu nennen. Alle drei Pflanzenhormone sind in ihrer Wirkung während der Pathogenabwehr stark miteinander vernetzt (Kunkel & Brooks, 2002; Pieterse *et al.*, 2009). In Abbildung 4 sind schematisch die Signaltransduktionsketten der drei Phytohormone aufgezeichnet.

1.4.1 Salicylsäure

Salicylsäure wurde ursprünglich als Medikament bekannt. Eine wichtige Rolle bei Pflanzen spielt sie bei der Pathogenabwehr, daneben ist das Hormon aber auch bei verschiedenen Pflanzenprozessen wie der Thermogenese bei Lilien (Raskin *et al.*, 1987), Seneszenz (Morris *et al.*, 2000), Zellwachstum (Vanacker *et al.*, 2001), Samenkeimung (Rajjou *et al.*, 2006) oder der Entwicklung der Samen (Alonso-Ramírez *et al.*, 2009) beteiligt.

Salicylsäure kann nach dem Befall mit einem biotrophen Pathogen über zwei unabhängige Wege aus Chorismat gebildet werden, die unter Beteiligung der Enzyme Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL) bzw. die Isochorismat-Synthase (ICS/SID2; (Garcion *et al.*, 2008)) ablaufen. Die Bildung von Salicylsäure wird während der PTI und ETI durch die Proteine EDS1 (Enhanced disease susceptibility1) und PAD4 (Phytoalexin deficient4) ausgelöst (Wiermer *et al.*, 2005), wenn die ETI nicht durch ein CC-NBS-LRR-Typ Protein ausgelöst wurde. Ist dies der Fall, löst stattdessen NDR1 (Non-race specific disease resistance1) die Salicylsäurebildung aus (Bernoux *et al.*, 2011). Nachfolgend greift das regulatorische Protein

NPR1 (Non-Expressor of PR Genes1), welches als transkriptioneller Co-Aktivator die PR-Gene, z.B. PR1, aktivieren kann (Dong, 2004; Moore *et al.*, 2011).

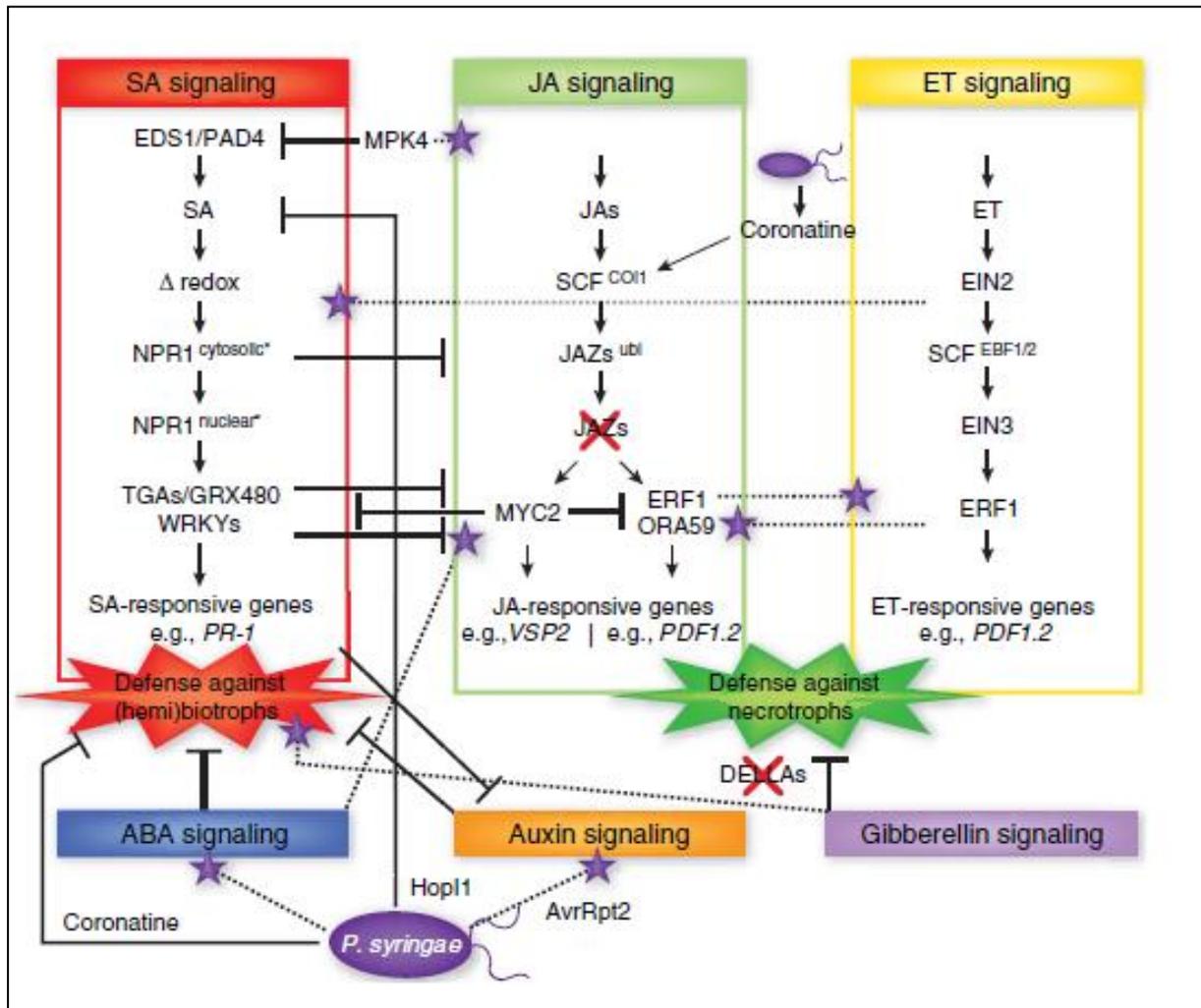


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Abwehrmechanismen gesteuert durch die drei Phytohormone Salicylsäure, Jasmonat und Ethylen. Dargestellt sind die Hauptfaktoren der Mechanismen, die das Rückgrat der Abwehr bilden. (Pieterse *et al.*, 2009)

1.4.2 Ethylen

Ethylen ist ein gasförmiges Phytohormon, das aus der Aminosäure Methionin synthetisiert wird. Die bekannteste Funktion des Hormons ist die Induktion der Fruchtreife. Nach dem Abwerfen der Blütenblätter kommt es zur Freisetzung von Ethylen, danach beginnt der Reifeprozess der Früchte. Weitere Funktionen von Ethylen werden als sogenannte „Triple Response“ zusammengefasst: Verdickung, Verkrümmung und Verkürzung von Pflanzen. Ethylen reguliert auch Alterungsprozesse von Blüten und Blättern der Pflanzen.

Ethylen kann in der Pflanze über den Rezeptor ETR1 (Ethylen triple response) wahrgenommen werden. Der Rezeptor wurde in *A. thaliana*-Mutanten identifiziert (Chang *et al.*, 1993; Hua & Meyerowitz, 1998; Müller-Dieckmann *et al.*, 1999). Der Rezeptor weist eine

Histidin-Kinase-Domäne auf und kann nach der Erkennung von Ethylen nachgeschaltete Faktoren phosphorylieren und damit aktivieren. Während der Pathogenabwehr kann Ethylen unterschiedliche Rollen einnehmen. Bei *A. thaliana* unterstützt Ethylen die Salicylsäure-responsive Expression von *PR1* (De Vos *et al.*, 2005; Lawton *et al.*, 1994). Dagegen ist Ethylen in Tabak essentiell für das Einsetzen von SAR (Systemic acquired resistance, (Verberne *et al.*, 2003)). Eine positive Wirkung erzielt Ethylen ebenfalls bei der Abwehr von *Vitis vinifera* gegen *Erysiphe necator* (Belhadj *et al.*, 2008).

Ethylen ist gasförmig. Daher wird für Studien oft der Ersatzstoff Ethephon verwendet. Ethephon setzt Ethylen frei, sobald der pH-Wert > 3,5 ist. Ist der pH-Wert kleiner, bleibt Ethephon hingegen stabil (Abbildung 5). Die Reaktion läuft sehr schnell ab, weshalb die Lösung für jeden Versuch neu angesetzt werden muss.

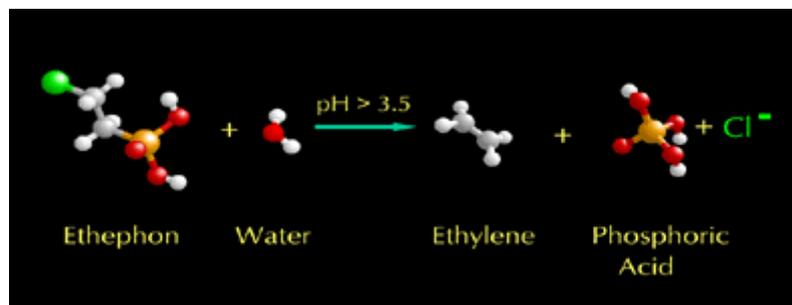


Abbildung 5: Reaktion von Ethephon zu Ethylen (Quelle: <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/pages/PC2000AA>).

1.4.3 Methyljasmonat

Jasmonsäure wurde als Duftstoff des Jasmins entdeckt und wird in der Pflanze aus Linolensäure gebildet. Nach einer Verwundung der Pflanze, z.B. durch fraßbedingte mechanische Schädigungen, erfolgt eine starke Freisetzung von Jasmonat. Eine wichtige Rolle nimmt Jasmonat als Signalstoff in der Pathogenabwehr über die Aktivierung der Abwehrkaskade und der Warnung benachbarter Zellen der Pflanze ein. Die methylierte Form (Methyljasmonat) ist noch viel wirksamer als Jasmonat.

Belhadj *et al.* (2006) konnten zeigen, dass Methyljasmonat die Pathogenabwehr gegen *E. necator* in *V. vinifera* aktiviert. Die Pathogenabwehr über Jasmonat startet nach der Erkennung des Befalls mit einem nekrotrophen Pathogen oder herbivoren Insekt (Berrocal-Lobo *et al.*, 2002; Kazan & Manners, 2012; Lorenzo *et al.*, 2003; Lorenzo *et al.*, 2004). Normalerweise ist die Expression von Jasmonat-responsiven Genen wie z.B. *ERF1* oder PDF1.2 durch einen Komplex mit JAZ (Jasmonate-ZIM Domain) - Proteinen unterdrückt (Sheard *et al.*, 2010). Dieser wird nach Pathogenbefall in Folge der Methyljasmonat-Bildung mit Ubiquitin markiert und anschließend im Proteosom abgebaut (Pauwels & Goossens,

2011). Anschließend kommt es zur Expression verschiedener Transkriptionsfaktoren wie ERF1, die dann die Expression von *PDF1.2* (Plant Defensin1.2) aktivieren (Lorenzo *et al.*, 2003; Lorenzo *et al.*, 2004; McGrath *et al.*, 2005; Pré *et al.*, 2008).

1.5 Zielsetzung

Ziel der hier vorgestellten Arbeiten war die detaillierte Untersuchung der transkriptionellen Regulation von Kandidatengen der Pathogenabwehr gegen *Plasmopara viticola* in der Weinrebe. Die Auswahl der Gene erfolgte über Voranalysen von Welter (2008) sowie weitere Literaturquellen. Die Regulation wurde mit zwei unabhängigen Vorgehensweisen untersucht:

- (1) Die *in silico* Sequenzanalyse für *cis*-regulative Elemente ausgewählter Promotoren, vergleichend für eine anfällige und resistente Sorte, lieferte erste Hinweise für mögliche Interaktionspartner. Im Anschluss durchgeführte Reporterassays in Kooperation mit einem Verbundpartner sollten diese Interaktionen bestätigen.
- (2) Zusätzlich wurden umfangreiche Genexpressionsstudien bezüglich der Reaktion von resistenten und anfälligen Pflanzen auf Infektionen nach Gabe verschiedener Phytohormone durchgeführt. Hierfür wurden *in vitro* Pflanzen von 'Regent' (resistent) und 'Lemberger' (anfällig) vor der Inokulation mit *Plasmopara viticola* mit den Phytohormonen Salicylsäure, Ethylen oder Methyljasmonat behandelt.

Weitere Untersuchungen sollten darstellen, ob bei Reben mit unterschiedlichen Resistenzloci gegen *Plasmopara viticola* spezifische Unterschiede in der Genexpression ausgewählter Kandidatengene vorlagen. Hierfür wurden genetisch charakterisierte Rebsorten mit den Resistenzloci *Rpv3*, *Rpv10* und *Rpv12* analysiert.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Geräte

Geräte	Hersteller/Referenz
Eppendorf Mastercycler personal	Eppendorf Netherler-Hinz GmbH, Hamburg, Dtl.
Eppendorf Mastercycler gradient	Eppendorf Netherler-Hinz GmbH, Hamburg, Dtl.
Zentrifuge HERMLE Z160M	HERMLE Labortechnik, Wehingen, Dtl.
Zentrifuge Sigma 6K15	Sigma Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Dtl.
Zentrifuge Sigma 4K15	Sigma Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Dtl.
Zentrifuge Sigma 2K15	Sigma Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Dtl.
NanoPhotometer	Implen GmbH, München, Dtl.
Qubit	Invitrogen, Eugene, Oregon, USA
Thermomixer compact	Eppendorf Netheler-Hinz GmbH, Hamburg, Dtl.
Vortex-Genie 2	Scientific Industries, Bohemia, New York, USA
Agagel mini	Biometra GmbH, Göttingen, Dtl.
Agagel maxi	Biometra GmbH, Göttingen, Dtl.
Midicell primo EC 330	E-C Apparatus Corporation, Holbrook, New York, USA
Bad-/Umwälzthermostat U3	Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach, Dtl.
Heraeus Function line Incubator B20	Thermo Electron Corporation, Langenseebold, Dtl.
Rollmischer CMV	LTF Labortechnik GmbH & Co. KG, Wasserburg, Dtl.
Power Supply EC 105	E-C Apparatus Corporation, Holbrook, New York, USA
UV-Transilluminator UST-20M-8E	Biostep GmbH, Jahnsdorf, Dtl.
Darkhood DH-30/32	Biostep GmbH, Jahnsdorf, Dtl.
Fluidigm Biomark HD System	Fluidigm, San Francisco, USA
ABI Fast Real-Time PCR System	Applied Biosystems, Carlsbad, USA

2.1.2 Software

Software/Web-Server	Hersteller/Referenz
BioEdit Sequence Alignment Editor	Tom Hall, Version 7.0.9.0 (6/27/07), (Hall, 1999)
DNASTAR Lasergene 8	DNASTAR Inc., Madison, USA
Genoscope http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/	(Jaillon <i>et al.</i> , 2007)
Gramene	(Monaco <i>et al.</i> , 2014)

Software/Web-Server	Hersteller/Referenz
http://ensembl.gramene.org/Vitis_vinifera/Info/Index	
Primer3Plus http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi	(Untergasser <i>et al.</i> , 2007)
PlantCare http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/	(Lescot <i>et al.</i> , 2002; Rombauts <i>et al.</i> , 1999)
PLACE http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/	(Higo <i>et al.</i> , 1999)
Gelaufnahmeprogramm: Argus X1	Biostep GmbH, Version 5.2.1
Gelauswertungssoftware: Phoretix Totallab TL100	Totallab, v2006c
Fluidigm Real-Time PCR Analysis	Fluidigm Corporation, San Francisco, USA, Version 3.1.3
TASSEL	Version 4.3.4 (Bradbury <i>et al.</i> , 2007)

2.1.3 Chemikalien

Chemikalien/Verbrauchsmaterialien	Hersteller/Referenz
Agarose LE	Biozym Diagnostics GmbH, Hessisch Oldendorf, Dtl.
Ammoniumsulfat	Merck KGaA, Darmstadt, Dtl.
Ampicillin	AppliChem GmbH, Darmstadt, Dtl.
Bactoagar	A. Hartenstein GmbH, Würzburg, Dtl.
Bactohefeextrakt	A. Hartenstein GmbH, Würzburg, Dtl.
Bactotrypton	A. Hartenstein GmbH, Würzburg, Dtl.
Bromphenolblau	Merck, Darmstadt, Deutschland
Desoxytrinucleotide (dATP, dGTP, dTTP, dCTP)	Fermentas, Schwerte, Deutschland
Ethanol, absolute	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
SERVA DNA Stain Clear G	SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
Magnesiumsulfat	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
β -Mercaptoethanol	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Natriumchlorid	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Polyvinylpyrrolidon (PVP) 40000	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Stickstoff, flüssig	BASF, Ludwigshafen, Deutschland
Tris	SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg,

Chemikalien/Verbrauchs- materialien	Hersteller/Referenz
	Deutschland
Triton-X 100	SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
Xylenxyanol FF	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Orange-G	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
<i>Phusion</i> -Polymerase	Finnzymes, Espoo, Finnland
FastDigest <i>KpnI</i> , <i>PstI</i> , <i>XhoI</i> , <i>NotI</i>	Fermentas, Schwerte, Deutschland
<i>Taq</i> -DNA-Polymerase	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Dtl.
RNeasy Plant Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland
RNeasy Cleanup	Qiagen, Hilden, Deutschland
Qubit RNA Assay Kit	Invitrogen, Eugene, Oregon, USA
Spectrum Plant RNA Kit	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Peqlab Plant DNA Mini Kit	Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen, Dtl.
Fluidigm Chemikalien	Fluidigm, San Francisco, USA
Reaktionsgefäße (0,2/0,5/1,5/2 ml)	Eppendorf Netheler-Hinz GmbH, Hamburg, Dtl.
96er PCR-Platten	Kisker Biotech, Steinfurt, Deutschland
Petrischalen klein	Greiner Bio-one GmbH, Frickenhausen, Deutschland
50 ml Pumpzerstäuber	Neolab, Heidelberg, Deutschland
Petrischalen (23x23,5x2,5 cm)	Nunc, Schwerte, Deutschland
Weckgläser (0,5/1 l)	WECK GmbH & Co. KG, Wehr, Deutschland

2.1.5 Pflanzenmaterial

Die Genexpressionsversuche unter Zusatz von Phytohormonen (vgl. 3.4) wurden an *in vitro* Pflanzen durchgeführt. Sterile Pflanzen der *Vitis vinifera* Sorten `Regent` und `Lemberger` wurden auf MS Medium (Murashige & Skoog, 1962) bei 24 – 26 °C und 16 Stunden Licht/Tageszyklus in WECK®-Gläsern angezogen. Die Vermehrung der Pflanzen durch Einaugen-Stecklinge und das Umsetzen auf frisches Medium erfolgte alle 8 – 12 Wochen (Abbildung 6).

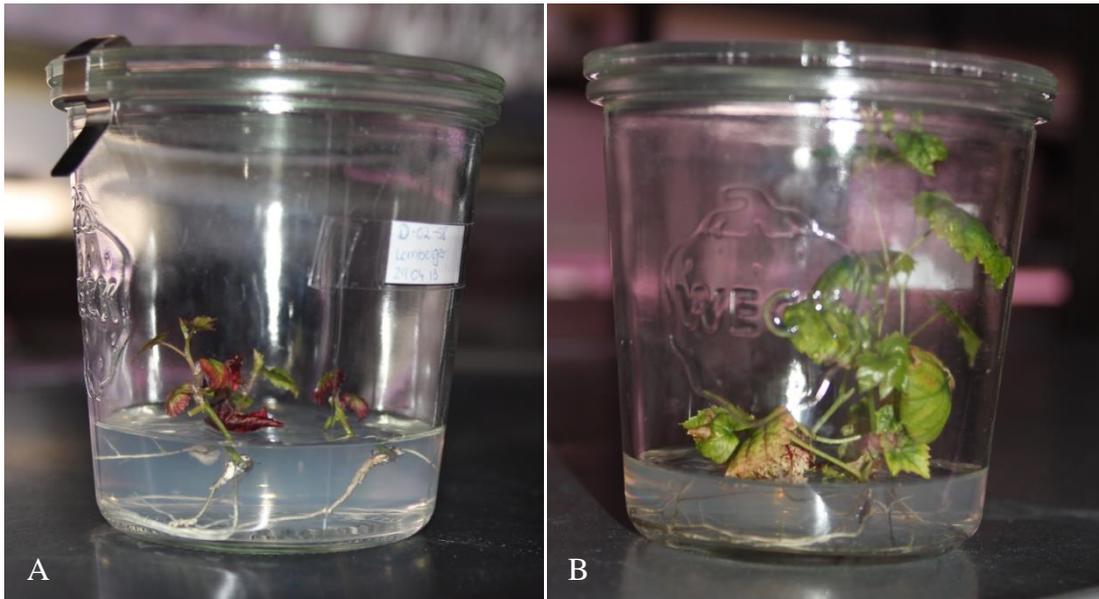


Abbildung 6: Anzucht von *in vitro* Reben. A: 2-3 Wochen nach der Vermehrung. B: 6-8 Wochen nach der Vermehrung.

Die Sorte `Regent` entstand durch Kreuzung der Sorten `Diana` (anfällig) und `Chambourcin` (Resistenzträger) im Jahre 1967 am Julius-Kühn-Institut, Institut für Rebenzüchtung, Geilweilerhof, Siebeldingen (Abbildung 7). Diese Sorte weist eine gute Widerstandsfähigkeit gegen den Falschen und Echten Mehltau auf.

`Lemberger` (Abbildung 7), auch `Blaufränkisch` oder `Limberger` genannt, ist hingegen anfällig gegen den Falschen und Echten Mehltau. Über die Abstammung ist bisher nur ein Elternteil, die alte Sorte `Heunisch`, bekannt.

Für die Genexpressionsversuche „Resistenzloci“ und die Genotypisierung einer *core collection*, eine Zusammenstellung von Pflanzen mit Resistenzeigenschaften, wurden Pflanzen aus dem am Institut vorhandenen Rebsortiment im Freiland verwendet.



Abbildung 7: Rebstöcke von 'Regent' und 'Lemberger'. Links - 'Regent', Rechts - 'Lemberger' (Archiv des JKI, Institut für Rebenzüchtung, Geilweilerhof, Siebeldingen)

2.1.6 *Plasmopara viticola* – Gewinnung von Sporangienmaterial

Die Sporangiensuspension wurde für jeden Versuch frisch angesetzt. Am Abend vor einem Inokulationsversuch wurden für die Gewinnung von frischem Sporangienmaterial im Gewächshaus mit *P. viticola* infizierte 'Müller-Thurgau' Pflanzen befeuchtet und mit einer Plane abgedeckt. Am nächsten Tag wurden Blätter mit deutlich sichtbaren Sporenrasen an der Blattunterseite gesammelt und die Sporangien mit einem Pinsel auf Eis in Wasser überführt. Mit Hilfe einer Thoma-Zählkammer wurde die Konzentration der Sporensuspension bestimmt und auf 20.000 Sporangien/ml mit Wasser eingestellt. Diese Suspension wurde dann mit einem 50 ml - Pumpzerstäuber (Neolab, Heidelberg, Deutschland) auf die einzelnen Blätter oder Pflanzen aufgebracht.

2.2 Methoden

2.2.1 DNA-Extraktion

Die DNA der beiden Sorten 'Regent' und 'Lemberger' wurde nach dem Protokoll von Thomas *et al.* (1993) extrahiert. Die Konzentration der DNA wurde spektralphotometrisch bei den Wellenlängen 230, 260 und 280 nm mit dem Nanophotometer (Implen, München, Deutschland) bestimmt. Die Absorption von DNA/RNA kann bei 260 nm, die Absorption von Proteinen bei 280 nm und die Absorption von Phenolen bei 230 nm gemessen werden.

Alle weiteren DNA-Extraktionen wurden mit dem Peqlab Plant DNA Mini Kit (Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland) durchgeführt. Für jede Extraktion wurde ca. 1 cm² Blattmaterial verwendet. Dieses wurde mit flüssigem Stickstoff schockgefroren und anschließend in einer Retschmühle (Qiagen, Hilden, Deutschland) mit Stahlkügelchen (3 mm Durchmesser) zerkleinert. Die DNA wurde nach den Angaben des Herstellers extrahiert. Die Menge und Qualität der DNA wurden spektralphotometrisch mit einem Nanophotometer (Implen, München, Deutschland) wie oben beschrieben bestimmt.

2.2.2 Primerdesign

Primer für die Amplifikation der Promotoren und die Genexpressionsanalysen wurden von der öffentlich zugänglichen Genomsequenz PN40024 (ehemals <http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>, jetzt http://ensembl.gramene.org/Vitis_vinifera/Info/Index) abgeleitet. Das Design der Primer erfolgte mit Hilfe der Software Primer3Plus (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>). Die Primer sollten eine Länge von 18 – 27 bp, eine Annealingtemperatur von 57 – 62 °C, sowie möglichst einen GC-Gehalt von 50 % aufweisen. Zur Kontrolle wurden alle Primer noch einmal gegen die Referenzsequenz abgeglichen.

2.2.3 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Alle PCRs zur Amplifikation der Promotoren ausgewählter Kandidatengene wurden mit der *Phusion* Polymerase (Finnzymes, Espoo, Finnland) in einem Eppendorf Mastercycler personal (Eppendorf GmbH, Hamburg, Deutschland) durchgeführt. Zur Bestimmung der optimalen Annealingtemperatur wurde außerdem der Eppendorf Mastercycler gradient (Eppendorf GmbH, Hamburg, Deutschland) verwendet. Der Vorteil eines Gradientencyclers besteht darin, dass gleichzeitig mehrere Annealingtemperaturen getestet werden können. Mit Hilfe einer Agarosegelelektrophorese kann anschließend überprüft werden, welche Annealingtemperatur die spezifischste Amplifikation des gewünschten Sequenzabschnittes erzielt.

Jede Reaktion beinhaltetete 5 ng DNA, 1 x HF-Puffer, 0,2 mM dNTPs, 0,05 µM von jedem Primer und 0,02 Units der *Phusion* Polymerase. Die Amplifikation wurde mit einer initialen Denaturierungsphase von 30 Sekunden bei 98 °C gestartet. Anschließend folgten 30 Zyklen mit der Denaturierung für 10 Sekunden bei 98 °C, Annealing der Primer für 10 Sekunden und der Elongation bei 72 °C. Die Annealing-Temperatur sowie die Länge der Elongationsphase variierten in Abhängigkeit der verwendeten Primer (siehe Tabelle 1). Die Größe der erhaltenen Amplifikate wurde auf einem 1 – 1,5 %-igem Agarosegel im Vergleich mit Größenmarkern bestimmt.

Tabelle 1: Primer für die Amplifikation der Promotorregionen verschiedener Kandidatengene und Sequenzierprimer für den Vektor pLuc mit Angaben zur erwarteten Fragmentgröße [Bp], Annealingtemperatur [°C] und Elongationszeit [sek].

Name	Primernamen	Primersequenz 5' - 3'	erwartete Fragmentgröße [Bp]	Annealing-Temp. [°C]	Elongationszeit [sek]
<i>ERF1</i>	PTC50306- <i>KpnI</i> -f1	aaaaaaGGTACCTCATCACATGAAAAGGTCGAA	2232	62	90
	PTC50306- <i>XhoI</i> -r3	aaaaaaCTCGAGGGAGAAGTCATGGGGGAAAT			
<i>ERF5</i>	PTC54435- <i>KpnI</i> -f2	aaaaaaGGTACCGTCAAGTATGGCAGAGATGC	1228	60	45
	PTC54435- <i>XhoI</i> -RegA-r1	aaaaaaCTCGAGGGAGATGAGCAgTGaGAaGTAG			
	PTC54435- <i>KpnI</i> -f2	aaaaaaGGTACCGTCAAGTATGGCAGAGATGC	1228	60	45
	PTC54435- <i>XhoI</i> -RegB-r1	aaaaaaCTCGAGGAGATGAGCAcTGgGAgGTAG			
	PTC54435- <i>KpnI</i> -f2	aaaaaaGGTACCGTCAAGTATGGCAGAGATGC	1228	62	45
	PTC54435- <i>XhoI</i> -Lem-r1	aaaaaaCTCGAGGGAGATGAGCAcTGaGAaGTAG			
<i>WRKY33</i>	PTC59548- <i>KpnI</i> -f2	aaaaaaGGTACCGCTGGAATGATGTGGATGG	1722	62	45
	PTC59548- <i>XhoI</i> -r1	aaaaaaCTCGAGCCGCTGGAGAGAAGATCAGT			
<i>WRKY7</i>	PTC46952- <i>KpnI</i> -f4	aaaaaaGGTACCTGTGTGATTAAGAAGGGCTGA	1552	62	45
	PTC46952- <i>XhoI</i> -r2	aaaaaaCTCGAGCACCATCAAACAGGGAGGA			
<i>Myb</i>	PTC62118- <i>KpnI</i> -f4	aaaaaaGGTACCCGGTTAACGACAAGAGTGGT	2640	62	90
	PTC62118- <i>XhoI</i> -r1	aaaaaaCTCGAGAACACCACTACTCTAACCTCTGG			
<i>PR10</i>	PPR10- <i>KpnI</i> -f3	aaaaaaGGTACCGCCTTTAAGTGGCTCATTGT	2555	62	90
	PPR10- <i>XhoI</i> -r1	aaaaaaCTCGAGGATCTTAGAGTTTGAAATGAAAAGG			
	PPR10- <i>KpnI</i> -f3	aaaaaaGGTACCGCCTTTAAGTGGCTCATTGT	2557	62	90
	PPR10- <i>NotI</i> -r1	aaaaaaGCGGCCCGCGATCTTAGAGTTTGAAATGAAAAGG			
<i>PAL</i>	PTC150103- <i>KpnI</i> -f1	aaaaaaGGTACCCCTAACCTGTACTTTATGACCTT	1839	72	70
	PTC150103- <i>XhoI</i> -r1	aaaaaaCTCGAGCCTGATGAGCTCCTTCTGA			
Sequenzier- primer	LucF	CTAACATACGCTCTCCATCA	60		
	LucR	GGATAGAATGGCGCCGG			

Mit Hilfe der PCR wurden außerdem *Escherichia coli* Kolonien nach Klonierungen auf das Vorhandensein des erwünschten Inserts überprüft. Hierfür wurde jeweils ein universaler Primer der an das Plasmid pLuc (LucF, LucR) bindet ca. 60 Basen entfernt von der MCS (Multiple Cloning site) und ein spezifischer Primer mit einer Bindestelle in der Sequenz des jeweiligen Inserts verwendet. Die PCR wurde mit der Roche *Taq* Polymerase (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) durchgeführt. Jede Reaktion beinhaltete Bakterien aus einer Bakterienkolonie, welche mit einem sterilen Zahnstocher übertragen wurden, 1 x PCR-Puffer, 0,2 mM dNTPs, 0,05 μ M von jedem Primer und 0,05 Units der Polymerase. Die Amplifikation wurde mit einer verlängerten Denaturierungsphase von fünf Minuten bei 94 °C gestartet, da durch die Erhitzung erst die Membranen der Bakterien aufgebrochen wurden. Anschließend folgten 30 Zyklen mit einer weiteren Denaturierung bei 94 °C für 30 Sekunden, dem Annealing der Primer bei 56 °C für 30 Sekunden und der Elongation bei 68 °C für drei Minuten. Nachfolgend wurde die Länge der Fragmente mit Hilfe der Auftrennung neben einem geeigneten Größenstandard in einem 1 %-igem Agarosegel überprüft.

2.2.4 Klonierung der Promotoren ausgewählter Kandidatengene

Die amplifizierten Promotorfragmente ausgewählter Kandidatengene wurden mit dem GeneJet PCR Purification Kit (Fermentas, Schwerte, Deutschland) aufgereinigt. Die aufgereinigten DNA-Fragmente wurden anschließend mit den entsprechenden FastDigest Restriktionsenzymen (siehe Primernamen in Tabelle 1) geschnitten. Der Vektor pLuc (Abbildung 8) wurde ebenfalls mit diesen Restriktionsenzymen geschnitten. Für *NotI* liegen zwei Restriktionsschnittstellen im Vektor pLuc vor. Um keine Teile des Vektors zu verlieren, wurde dieser zusätzlich mit dem Restriktionsenzym *PstI* geschnitten. Die vorbereiteten Promotor-Fragmente wurden mit Hilfe einer T4-DNA Ligase (Fermentas, Schwerte, Deutschland) mit dem geschnittenen Vektor ligiert. Die Klonierung erfolgte in die entsprechenden Restriktionsschnittstellen des Vektors pLuc (Horstmann *et al.*, 2004). Die Konstrukte wurden durch Transformation per Hitzeschock in kompetente *E. coli* Zellen vom Stamm NEB5 α (NEB, Frankfurt am Main, Deutschland) eingebracht. Die Selektion erfolgte mit Hilfe des Antibiotikums Ampicillin (100 μ g/ml; AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland). Die rekombinanten Plasmide wurden im Auftrag sequenziert.

2.2.5 Bioinformatische Analyse

Die Sequenzdaten der Promotoren wurden mit Hilfe der Programme BioEdit (Hall, 1999) und Lasergene8 (DNASTAR Inc., Madison, USA) auf SNPs und Insertionen bzw. Deletionen

analysiert. Anschließend wurden die Promotoren mit Hilfe der Web-Datenbanken PlaceDB (<http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/>) und PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) auf Unterschiede in den *cis*-regulativen Elementen hin untersucht.

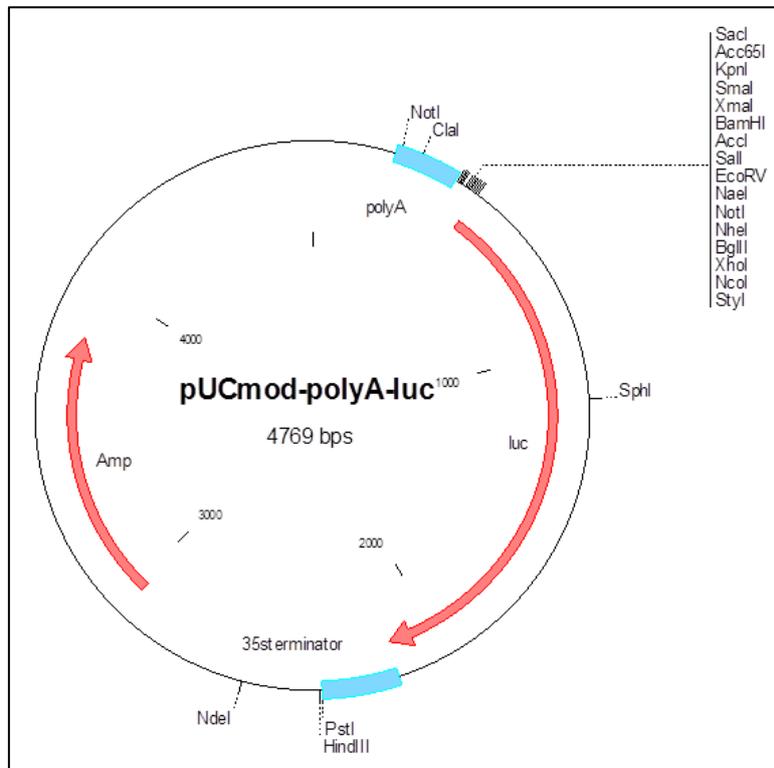


Abbildung 8: Schematische Darstellung des Vektors pLuc (pUCmod-polyA-luc, 4769 bp). Amp – Ampicillin-Resistenzgen; luc – Luciferasegen von *Photinus pyralis*; polyA – Polyadenylierungssignal (Horstmann et al., 2004).

2.2.6 Luciferaseassay (in Kooperation mit dem DLR Neustadt, AG Bogs)

Die Aktivität eines Promotors kann nur durch die Expression des nachfolgenden Gens bestimmt werden. Hierfür gibt es sogenannte Reportergene, welche z.B. für *GFP* (Green Fluoreszent Protein), *GUS* (β -Glucuronidase) oder eine Luciferase exprimieren. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Reportersystem mit Luciferasen von *Photinus pyralis* und *Renilla reniformis* verwendet. Der zu untersuchende Promotor wird vor die Luciferase von *P. pyralis* gesetzt. Nachdem das Konstrukt in Zellen der Rebe eingebracht wurde, kann das Luciferasegen von *P. pyralis* Luciferin, ATP und Mg^{2+} zu Licht umsetzen. Die produzierte Lichtmenge kann mit einem Luminometer gemessen werden und ist proportional zur Luciferasemenge. Zur Normalisierung der Luciferasemenge wird die konstitutiv exprimierte Luciferase einer Seequalle (*R. reniformis*) verwendet. Diese Luciferase benötigt das Substrat Coelenterazin um Licht freizusetzen. Mit Hilfe dieses Systems kann nun bestimmt werden, ob die Zugabe eines konstitutiv exprimierten Transkriptionsfaktors die Aktivität des Promotors steigert, welche proportional mit der produzierten Lichtmenge steigt. Der transienter

Luciferaseassay wurde zusammen mit dem Projektpartner P. Merz im Rahmen seiner Doktorarbeit bei J. Bogs durchgeführt. (Abbildung 9).

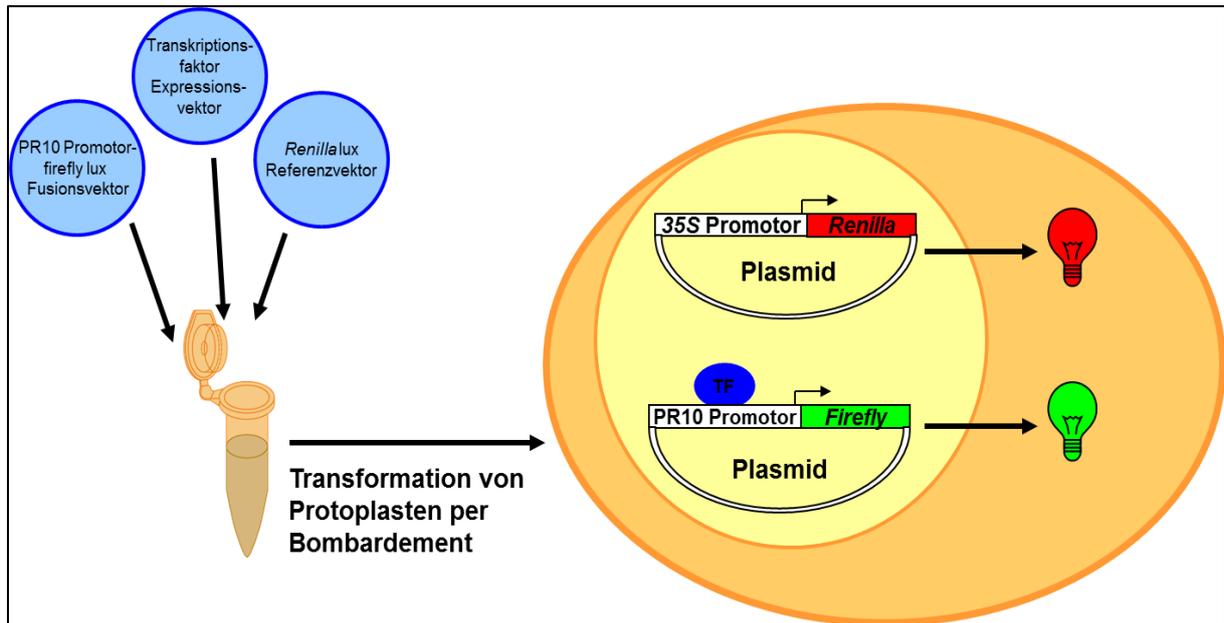


Abbildung 9: Schematische Darstellung des Prinzips des Luciferaseassays. `Chardonnay`-Suspensionszellen werden mit drei verschiedenen Plasmiden (konstitutiv exprimierter Transkriptionsfaktor, Referenzvektor zur Normalisierung und einem Fusionsvektor mit dem Promotor und der Glühwürmchen-Luciferase) per Partikelbombardement transformiert. Anschließend wird die Lichtemission der beiden Luciferasen getrennt bestimmt.

Für den Assay wurde eine Suspensionszellkultur von einer `Chardonnay` Petiolen-Kalluskultur auf Grape Cormier (GC) Medium (Bao Do & Cormier, 1991) verwendet. In der Log-Phase befindliche Zellen wurden vorsichtig auf sterile Whatman Filter überführt und auf GC Medium gelagert. Goldpartikel wurden mit einem Mix von DNA-Konstrukten (50 ng des Plasmids mit dem zu testenden Promotor, 500 ng des Plasmids mit dem konstitutiv exprimierten Transkriptionsfaktors und 100 ng des Kontrollplasmids mit der Renilla Luciferase) nach der Methode von Bogs *et al.* (2007) und Walker *et al.* (2007) benetzt. Das Bombardement der `Chardonnay` Zellen mit den Goldpartikeln erfolgte nach Torregrosa *et al.* (2002). Die Zellen wurden 48 Stunden nach der Transformation mit Lyse-Puffer (Promega, Madison, USA) versetzt und anschließend mit Hilfe eines Mörsers und Pistills auf Eis für 1, 5 Minuten aufgebrochen. Das Lysat wurde zwei Minuten bei 500 x g zentrifugiert. 20 µl des Überstandes wurden entweder mit 50 µl D-Luciferin oder mit 50 µl Coelenterazin für die Kontrollreaktion versetzt. Die Lichtemission wurde mit dem Lumat LB9507 Luminometer (Berthold Technologies, Bad Wildbach, Deutschland) gemessen. Die relative Luciferaseaktivität wurde über das Verhältnis der Aktivität der Glühwürmchen- und der Kontrollluciferase bestimmt. Jede Transformation wurde dreimal unabhängig voneinander vom Kooperationspartner durchgeführt und unter gleichen Bedingungen wiederholt.

2.2.7 Mutation von WRKY-Bindestellen im PR10.1-Promotor

Das Kernmotiv (TGAC) der WRKY-Bindestellen im Plasmid pLuc mit dem PR10.1-Promotor wurde zu CCTT mutiert. Hierfür wurden vier Mutationen nacheinander mittels PCR mit spezifischen Primern (Tabelle 2) eingefügt („site directed mutagenesis“). Jede Reaktion beinhaltete 5 ng Plasmid-DNA (pLuc mit PR10.1), 1 x HF-Puffer, 0,2 mM dNTPs, 0,05 µM von jedem Primer und 0,02 Units der Phusion Polymerase (Finnzymes, Espoo, Finnland). Die Amplifikation wurde mit einer initialen Denaturierungsphase von 30 Sekunden bei 98 °C gestartet. Anschließend folgten 30 Zyklen mit Denaturierung für 10 Sekunden bei 98 °C, Annealing der Primer für 10 Sekunden bei 60 °C und der Elongation für 2 Minuten bei 72 °C.

Tabelle 2: Primer zur gezielten Mutagenese von WRKY-Bindestellen im PR10.1-Promotor. Die rot gezeigten Basen stellen die veränderten WRKY-Bindestellen dar. Die Position im Promotor gibt die Entfernung upstream zum Startcodon an.

Position PPR10	Nr.	Primername	Primersequenz 5'-3'
-549	W1	PR10-MutW1-f	CACAATGTccttCCACAAACGGTG
		PR10-MutW1-r	GAATATTGGTGATTCATGGAGAATGGC
-618	W2	PR10-MutW2-f	ATTCTAGCCTGCATTTATGGACTTGTATTG
		PR10-MutW2-r	ccttTAAATAACTACAAAGTGAGAAGTCCCTT
-769	W3	PR10-MutW3-f	TTGCAGCAATCCATTTTTGAATAAAGTC
		PR10-MutW3-r	ccttTCCAACAAGATTGAAGAAGAATAGCAA
-847	W4	PR10-MutW4-f	CTCCCAGGaaggTTTCCAAGTTACC
		PR10-MutW4-r	ATCAAAAATAGATTGATTGAGATATAGAGGGGAAT

Zusätzlich wurde ein Minimalpromotor des Kandidatengens PR10.1 (854 bp lang) mit und ohne WRKY-Bindestellen konstruiert. Für die Amplifikation wurden pLuc-Plasmide mit dem PR10.1-Promotor mit und ohne WRKY-Bindestellen und die Primer MinPPR10-for (5'-CTCCCAGGGTCATTTCCAAGTTACC-3') und MinPPR10-rev (5'-CTGCACTTGCACTGGGGACA-3') verwendet. Der PCR-Ansatz beinhaltete 5 ng Plasmid-DNA, 1 x HF-Puffer, 0,2 mM dNTPs, 0,05 µM von jedem Primer und 0,02 Units der Phusion DNA Polymerase. Die Amplifikation wurde mit einer initialen Denaturierungsphase von 30 Sekunden bei 98 °C gestartet. Anschließend folgten fünf Zyklen mit der Denaturierung für 10 Sekunden bei 98 °C, Annealing der Primer für 10 Sekunden bei 62 °C und der Elongation für zwei Minuten bei 72 °C und 25 weitere Zyklen mit einer erhöhten Annealingtemperatur (68 °C).

Die mutagenisierten linearisierten Plasmide wurden anschließend mit dem GeneJet PCR Purification Kit (Fermentas, Schwerte, Deutschland) aufgereinigt, phosphoryliert und mit T4-DNA Ligase (Fermentas, Schwerte, Deutschland) und T4-DNA Ligasepuffer ligiert. Die

Plasmide wurde danach mittels Kalzium-vermittelter Transformation in kompetente *E. coli* NEB5 α -Zellen (NEB, Frankfurt am Main, Deutschland) eingebracht. Die Konstrukte wurden anschließend im Auftrag sequenziert.

2.2.8 SNP Genotypisierung

Mit Hilfe von SNP-Markern wurde eine Genotypisierung unterschiedlicher Rebsorten durchgeführt. SNP-Marker vereinfachen die genotypische Analyse auf SNPs, in dem sie die Amplifikation und Sequenzierung einzelner Proben durch einen einzigen PCR-Test ersetzen. Die Durchführung des PCR-Tests erfolgte mit dem Fluidigm Biomark HD System (Fluidigm, San Francisco, USA). Die Entwicklung der SNP-Marker war von der Firma Fluidigm anhand der ausgewählten Sequenzen im Auftrag durchgeführt worden (Fluidigm, San Francisco, USA). In der PCR wurde ein Duplex mit beiden Primern gebildet. Die Detektion der Allelkombination erfolgte mit Hilfe von Fluorophoren, die jeweils spezifisch für einen Allel-spezifischen Primer waren. Die Fluoreszenz der Fluorophoren wurde solange von einem Quencher unterdrückt, bis der Primer sich an den DNA-Strang anlagerte. Durch die Anlagerung wurden Quencher und Fluorophor räumlich getrennt und eine Fluoreszenz konnte gemessen werden (siehe Abbildung 10). Für die Analysen wurden die Fluorophore HEX (grün) und FAM (blau) verwendet.

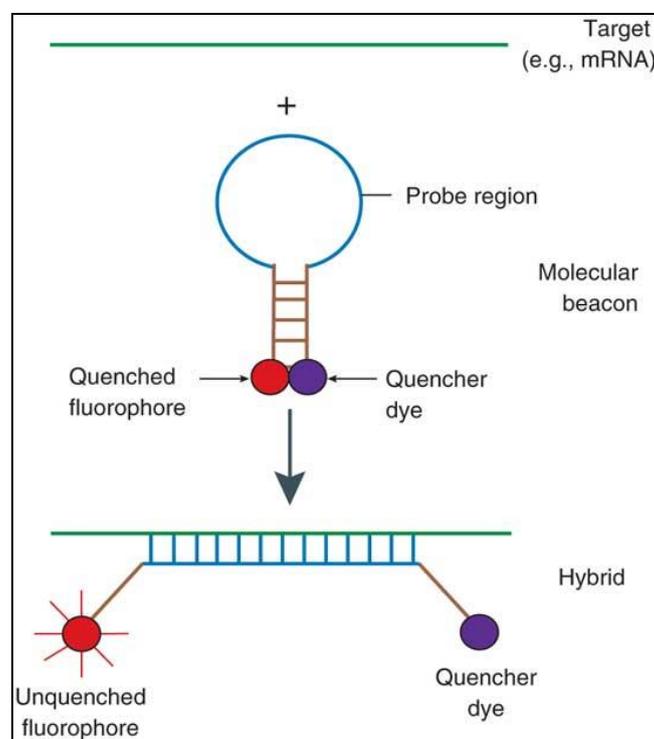


Abbildung 10: Funktionsweise der SNP-Analyse mit dem Fluidigm Biomark HD System. Der Primer (Probe region) bindet an das Ziel (z.B. genomische DNA), dadurch werden der endständige Fluorophor und Quencher getrennt. In Folge der räumlichen Trennung fluoresziert der Fluorophor wieder (Mhlanga & Tyagi, 2006).

374 Genotypen aus einer Sammlung diverser Reben mit Resistenzeigenschaften wurden mit acht SNP-Markern genotypisiert. Für die Entwicklung der Marker wurden die Sequenzdaten der Promotoren von *ERF1*, *Myb* und *PR10.1* herangezogen. Die ausgewählten SNPs sind in Tabelle 3 mit den variierenden Basen und deren Lokalisation im Genom angegeben. Die Primer wurden anschließend von der Firma Fluidigm (San Francisco, USA) entworfen und synthetisiert (Tabelle 4). Die Genotypisierung wurde mit Hilfe des Fluidigm Biomark HD Systems und einem 48.48 SNP-Chip durchgeführt. Es wurde zur Voramplifikation eine STA-PCR (specific target amplification) mit 14 Zyklen von 95 °C für 15 sek und 60 °C für 4 min mit einem Mix aus 12,5 ng genomischer DNA, Qiagen Multiplex PCR Mastermix (Qiagen, Hilden, Deutschland), STA- und LSP (Locusspezifischer Primer)-Primer (je 50 nM) durchgeführt. Die voramplifizierte DNA wurde anschließend mit TE-Puffer (1:100) verdünnt und mit Biotium Fast Probe Mastermix (Biotium, Hayward, California, USA), SNPtpe Sample Loading Reagenz (Fluidigm, San Francisco, USA), SNPtpe Reagenz (FAM und HEX) und ROX für die Genotypisierung gemischt. Jede DNA-Probe wurde mit ROX versetzt, um später kontrollieren zu können, ob der komplette Chip gleichmäßig und vollständig mit DNA beladen wurde. Die Genotypisierung wurde mit den ASP (Allelspezifischer Primer; 1,5 µM) – und LSP-Primern (4 µM) durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgte mit der Fluidigm SNP Genotyping Analysis Software (Fluidigm, San Francisco, USA).

Tabelle 3: SNP-Marker für die Genotypisierung von Weinreben mit der Angabe der Lokalisation im Referenzgenom PN40024 (12x, <http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>) und den allelischen Basen-Varianten.

SNP Nr.	SNP-Marker	Chromosom	Lokalisation [Bp]	X-Allel	Y-Allel
11	ERF1_P_SNP595	10	1.820.929	G	A
36	ERF1_P_SNP819	10	1.821.153	C	T
17	MYB_P_SNP2305	5	8.046.542	T	C
42	PR10_P_SNP379	5	1.235.000	G	A
23	PR10_P_SNP1736	5	1.233.646	C	T
29	PR10_P_SNP1917	5	1.233.465	G	T
35	PR10_P_SNP2138	5	1.233.244	T	A
48	PR10_P_SNP2291	5	1.233.091	T	A

Tabelle 4: SNP-Marker für die Genotypisierung von Weinreben mit den allelischen Basen-Varianten.

SNP Nr.	Allel	Allel-spezifischer Primer ASP1/ASP2	Locus-spezifischer Primer (LSP)
11	G	AATAAAACACATTGACCTGACTCGC	GCGGTTGGTTCATTTGGCAC
	A	GAATAAAACACATTGACCTGACTCGT	
36	C	GATGACGTCATTCTCCTCCCC	CGGGTGGCATGACGCA
	T	GATGACGTCATTCTCCTCCCT	
17	T	AGAAGAAGACAAACAAGCCTTAAATTTTCT	AAAAACCGATTTTAATAAATTGTAAAACGTTGAAAAACA T
	C	GAAGAAGACAAACAAGCCTTAAATTTTCC	
42	G	CTTTGAAGTCTTGAAGATTATTTTCATATGAAGAAC	ACTTTCTTGGATCTAGCTTTAGAATATCATACA
	A	GCTTTGAAGTCTTGAAGATTATTTTCATATGAAGAAT	
23	C	AGGCCAGGGGATTTGTCC	GCTGCAATGACTCCAACAAGATTGA
	T	GTAGGCCAGGGGATTTGTCT	
29	G	AATTTAAAGGGACTTCTCACTTTGTAGTTATTTAG	TGGCGCAATACAAGTCCATAAATGC
	T	CAATTTAAAGGGACTTCTCACTTTGTAGTTATTTAT	
35	T	GCAAATGCACTGAAAGTAGAAGGAT	TGTGTGGATCTTACTATTAACCAATTAATGAGAACT
	A	GCAAATGCACTGAAAGTAGAAGGAA	
48	T	CACTTGAATTTAACCAGCCGAGT	TTTCATAAAGGAGTACTATGATCTCATGTTGG
	A	CACTTGAATTTAACCAGCCGAGA	

2.2.9 Verrechnung der SNP-Daten mit Boniturdaten

Die erhaltenen Daten der Genotypisierung wurden mit den Boniturdaten für den Befall mit *P. viticola* sowie den Befall mit *Erysiphe necator* an Blättern und Beeren im Freiland von 1989-2002 und 2004-2008 mit Hilfe des Programms TASSEL 4.3.4 (Bradbury *et al.*, 2007) unter Verwendung der Methode GLM (general linear model) mit 1000 Permutationstests verrechnet. Die Berechnung erfolgte für jedes Jahr einzeln und für den Mittelwert über alle Jahre. Ein SNP wurde dann als signifikant gewertet, wenn der p-Wert kleiner als 0,05 war.

Zusätzlich wurde überprüft, ob ein Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) für die SNP-Daten vorlag. Abweichungen vom HWG zeigen, dass in der Population eventuell Selektion stattgefunden hat. Selektion kann sich z.B. in der Ausprägung von SNPs darstellen. Abweichungen vom HWG können somit auch auf eine Merkmalsassoziation hindeuten. Das Vorliegen eines HWG-Gleichgewichtes wurde mit einem χ^2 -Test zum Signifikanzniveau 0,05 überprüft. Es liegt somit kein HWG vor, wenn der p-Wert kleiner als 0,05 ist. Für die Berechnung wurde das Web-Tool „Hardy-Weinberg equilibrium calculator including analysis for ascertainment bias“ (Rodriguez *et al.*, 2009, <http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>) verwendet.

2.2.10 Probenahme für Genexpressionsanalysen

Die Genexpressionsversuche nach einer Prä-Applikation von Phytohormonen (siehe Kapitel 3.4) wurde mit *in vitro* Material (vgl. Kapitel 0) durchgeführt. Alle Schritte der Behandlung sowie die anschließende Probenahme erfolgten unter sterilen Bedingungen. *In vitro* Pflanzen von 'Regent' und 'Lemberger' wurden mit Ethephon (0,5g/l), Methyljasmonat (50 μ M in 1 % Ethanol) oder Salicylsäure (100 μ M) besprüht. Zur Kontrolle wurden weitere Pflanzen nur mit Wasser besprüht. 24 Stunden später erfolgte die Inokulation mit einer Sporangiensuspension von *P. viticola* (20.000 Sporangien/ml). Das erste Blatt wurde direkt nach der Inokulation als Probe genommen. Weitere Proben wurden eine, zwei, vier, sechs und 24 Stunden nach der Inokulation genommen. Die Blätter wurden sofort in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bis zur Extraktion der RNA bei -70 °C gelagert. Die Pflanzen wurden zwischen den Probenahmen im Kulturraum bei 25 °C und 16 Stunden Licht/Tageszyklus gehalten.

Der Genexpressionsversuch von Einzellocus-tragenden Genotypen (siehe Kapitel 3.5) wurde mit Freilandmaterial durchgeführt. Hierfür wurden um 9 Uhr morgens je drei nicht gespritzte Blätter pro Genotyp gesammelt. Es handelte sich dabei immer um das dritte entfaltete Blatt

vom Apex aus gezählt, wobei die Hauptader des ersten entfalteten Blattes mindestens 2,5 cm lang war. Ein Blatt wurde direkt in flüssigem Stickstoff gefroren und bis zur weiteren Verwendung bei -70 °C gelagert. Die anderen Blätter wurden in je zwei Petrischalen mit 0,8 %-igem Wasseragar gelegt (Abbildung 11), so dass die Blattunterseite nach oben zeigte. Eine Petrischale wurde mit *P. viticola* Sporangiensuspension (20.000 Sporangien/ml), die andere mit Wasser zur Kontrolle besprüht. Pro Blatt wurde je 1 ml Lösung aufgebracht. Nach acht Stunden wurden die Blätter in flüssigem Stickstoff schockgefroren und anschließend bis zur RNA-Extraktion bei -70 °C gelagert.



Abbildung 11: Inokulation mit *Plasmopara viticola* (oben) von Blättern der Rebsorten aus dem Sortiment in Petrischalen mit 0,8 %-igem Wasseragar sowie die Kontrollblätter (unten).

2.2.11 RNA-Extraktion und cDNA-Synthese

Für die Genexpressionsanalysen mit *in vitro* Pflanzen wurde das Blattmaterial aus den Versuchsansätzen mit Hilfe von zwei Stahlkugeln (3 mm Durchmesser) in 2 ml Reaktionsgefäßen in der Retschmühle (Qiagen, Hilden, Deutschland) unter Kühlung zerkleinert. Die RNA-Extraktion wurde mit dem Qiagen RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) nach dem Protokoll des Herstellers durchgeführt. Der Puffer RLC wurde zusätzlich mit 1 % Polyvinylpolypyrrolidon40 (PVP40) versetzt. PVP40 bindet die in Rebblättern enthaltenen Phenole, die bei nachfolgenden Versuchen mit der extrahierten RNA

sonst als Störstoffe auftreten könnten. Die RNA wurde nach erfolgter Extraktion mit dem Qiagen RNeasy CleanUp Kit aufgereinigt. Die RNA-Konzentration wurde anschließend fluorometrisch mit dem Qubit (Invitrogen, Eugene, Oregon, USA) vermessen. Als Fluorophor wurde das Qubit Reagenz (Invitrogen, Eugene, Oregon, USA) verwendet. Die Fluoreszenz wurde bei 630/680 nm gemessen.

Für die Genexpressionsanalysen von Einzellocus-tragenden Genotypen wurde das Blattmaterial ebenfalls gekühlt in der Retschmühle (Qiagen, Hilden, Deutschland) zerkleinert. Zusätzlich wurde aber zu jeder Probe vor dem Zerkleinern eine Spatelspitze PVP40 hinzugegeben. Durch die hohe Menge an PVP40 entfiel eine weitere Aufreinigung der RNA. Die RNA-Extraktion wurde mit dem Spectrum Plant Total RNA Kit (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland) durchgeführt. Die Durchführung erfolgte nach dem Protokoll des Herstellers. Die RNA-Konzentration wurde anschließend fluorometrisch mit dem Qubit (Invitrogen, Eugene, Oregon, USA) wie oben beschrieben bestimmt.

Die RNA-Proben beider Experimente wurden mit Hilfe des High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Carlsbad, USA) in komplementäre cDNA umgeschrieben. Für die Synthese wurden 50 ng RNA eingesetzt. Die Synthese der cDNA erfolgte nach den Angaben des Herstellers.

2.2.12 Genexpressionsanalysen

Die Änderung der Expression von Genen kann mit Hilfe einer quantitativen Real-Time PCR (qRT-PCR) bestimmt werden. Die qRT-PCR ist durch die Zugabe eines Fluoreszenzfarbstoffs zur cDNA gekennzeichnet. Der Farbstoff lagert sich während der Amplifikation an das PCR-Produkt an. Die emittierte Fluoreszenz wird nach jedem Zyklus der PCR gemessen und gibt somit einen Indikator für die Template-Vermehrung wieder (Higuchi *et al.*, 1992; Higuchi *et al.*, 1993). Dadurch ist es möglich die Template-Menge in einer Reaktion zu quantifizieren (Absolute Quantifizierung), sowie Unterschiede in der Expression zwischen den einzelnen Proben zu bestimmen (relative Quantifizierung).

Die Hochdurchsatz-Genexpressionsanalysen wurden mit dem BioMark™ HD System (Fluidigm, San Francisco, USA) durchgeführt. Die Sequenzen der Primerpaare, die für die Genexpressionsstudien verwendet wurden, sind in Tabelle 5 angegeben. Als Voramplifikation wurde eine STA-Reaktion (specific target amplification) mit 14 Zyklen bei 95 °C für 15 sek und 60 °C für 4 min mit einem Mix aus 1,25 µl cDNA, 48 Primerpaaren (50 nM) und TaqMan PreAmp Master Mix (1:2, Applied Biosystems, Carlsbad, USA) durchgeführt. Die

voramplifizierte cDNA wurde erst mit 8 U Exonuclease I (NEB, Frankfurt am Main, Deutschland) zum Entfernen der Primer behandelt und anschließend mit TE-Puffer (10 mM Tris-Cl, 1 mM EDTA, pH 8,0) fünffach verdünnt.

Die quantitative RT-PCR wurde unter Verwendung des Voramplifikats mit einem 96.96 Genexpressionschip durchgeführt. Der Reaktionsmix beinhaltet 2,25 µl voramplifizierte cDNA, DNA Binding Dye Loading Reagenz (Fluidigm, San Francisco, USA) und SSOFast EvaGreen Supermix mit LowROX (Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). Die Analyse erfolgt nach Angaben des Herstellers. Die Daten wurden mit der Fluidigm Real-Time PCR Analysis Software (Fluidigm, San Francisco, USA, Version 3.1.3) ausgewertet.

Für die Genexpressionsstudien „Hormonanalysen“ wurde *SAND* als „Housekeeping“ Gen (HKG) verwendet. Das Experiment wurde dreimal unabhängig biologisch und je viermal technisch wiederholt. Der Freiland-Versuch mit Einzellocus-tragenden Genotypen wurden mit dem HKG *UBQ* durchgeführt und beruhte auf zwei unabhängigen biologischen und je zwei technischen Wiederholungen.

Einzelne Gene wurden zusätzlich mit Hilfe des ABI 7500 Fast PCR Systems (Applied Biosystems, Carlsbad, USA) analysiert. Hierfür wurden 2 µl cDNA, je 15 nM Primer und 1 x SYBR-Green Real Time PCR Master Mix (Applied Biosystems, Carlsbad, USA) verwendet. Die Real-time PCR wurde nach Angaben des Geräteherstellers durchgeführt.

Tabelle 5: Genbezeichnungen, Akzessionsnummern der NCBI-, TIGR- und Genoscope-Datenbanken, Primersequenzen, Annealingtemperaturen und erwartete Fragmentlängen der Gene, deren Expression in der Rebe während des Befalls mit *Plasmopara viticola* mittels einer qRT-PCR ermittelt wurde.

Gen	NCBI-Nr.	TIGR-Nr.	Genoscope	Fwd	Rev	Tm [°C]	Ampliconlänge
PR1	XM_002273752.2	TC148963	GSVIVT01037005001	TCACATGCAACTACGATCCA	TCACCATGCTCTAACAGTACCC	58,6/59,1	104
PR2	AF239617.2	TC160075	GSVIVT01035013001	TCGACTTAACACTTCTGGGCAACT	CAGAAGCGGCGACTTATTGTCTA	60,1/59,5	119
PR5	XM_002282957.1	TC155534	GSVIVT01019842001	GATAGGTGTCCGGTGGCTTA	GGGCATGTAAAGGTGCTTGT	60/60	62
PR10	XM_002274749.2	TC142423	GSVIVT01035055001	GCACATCCCGATGCCTATTAAG	ACTTACTGAGACTGATAGATGCAATG AATA	59,4/58,2	101
WRKY57	XM_002275540.1	TC149974	GSVIVT01010525001	GGGAATGGCCCTGTGTTT	AAATGAAATGAAATCAAACAACTGG	60,7/59	63
WRKY33	XM_002264938.2	TC155318	GSVIVT01030258001	TTTGAGGCCCTTTCATGC	GAGGCATTGTTGCCAGGTAT	59,7/60	91
WRKY7	XM_002283183.1	TC142590	GSVIVT01022067001	CAACTCCATGCTCTCCCTGT	CACCAACTCCACCATTTCCT	60,3/59,8	115
MYB	XM_002285157.2	TC153717	GSVIVT01027811001	CAGTCGCAGACGAATTACAGCTT	CTCCATGCCATCATCCATCA	60/59	80
ERF1	AM488026.2	TC149982	GSVIVT01021146001	CACTGTTGCGGAATCACAAGA	GCCCATGGATACTTACTTTGATCA	58/58	99
ERF5	XM_002281777.2	TC147564	GSVIVT01013913001	TATTCCATCTGCCACCGTTA	TCTTTGGTAAGGTAAACTCCTTTGA	59/59,6	97
CZF1/ZFAR1	XM_002269394.1	TC139360	GSVIVT01032807001	TTTCTCCCTTCTGGGAGTTG	GCTACACTTCTCAGCCAGCA	59,3/59,3	78
PAL	XM_002268220.2	TC150103	GSVIVT01024299001	TTGTCTCAGTGCTTGGAAACG	TTGAAAGCGTGCAGACAATC	60/60	136
EIN2	XM_002276363.1	TC139320	GSVIVT01025701001 + GSVIVT01025700001	TAATATGGGCTCTGGGTTGC	AGCCATAAGTCGATGAAGTCG	59,9/59,4	50
EIN3	XM_002276344.1	TC152044	GSVIVT01027355001	TGGGTTTCTCTTCTGCCACT	CGCCTAACATTTCAACAGCA	59,8/59,9	145
NPR1	XM_002281439.2	TC151886	GSVIVT01015181001	GGCTGCAGAACTGCATCTTT	TTGGAAACCATGTACAGGTAGG	60,5/58,9	89
JAZ	XM_002277121.1	TC156008	GSVIVT01015042001	TGAATGAATCAAGCATTCCAC	TCAGGACAGGGAGTACCGTAA	58,6/59,6	75
MYC2	NM_001281045	TC142944	GSVIVT01027162001	GCCGCACCAGCTAGAACTTA	AAATTTGCTGCCCTACTTGG	60,5/59,2	59
ORA59	XM_002264487.1	TC152096	GSVIVT01028315001	GATTCGGCCAGGAATCATT	AGGGAAACAAAGGCACAGAC	61,2/59,2	137
PTI4	XM_002279549.1	TC168774	GSVIVT01013903001	GTGAGAATCACGGCAAAGC	CCCACCTGAAACACATTGG	59,4/59,8	125
VRP1	EU669439.1	TC147102	GSVIVT01034428001	AGAGAGCTGCCACCATCAAT	AAATGGTGCTCTTCCCACAG	59,8/60,1	92
VRP2	EU669439.1	TC147102	GSVIVT01034429001	GTGGGATTGCCAGACTCAAT	TGCACAACTACCCATTTGT	59,9/60	106
VRP3	EU669439.1	TC147102	GSVIVT01034432001	AGAGTTGCCACCATCAATCA	GCTTGGCTGTCTCTGTGTCA	59,1/60,2	71
PDF1.2	XM_002281153.1	NP9537936	-	CCTCTCCTTCCCTCACCTCT	CTTTGGCAGACCTTTGCTTC	59,8/60	75
NHL10	XM_002280555.1	TC139859	-	TTCCTGGCTCTTTGATCCAC	AGGGAGGGAAATGGAAAGAA	60,2/59,9	110
EDS1	JF436934.1	TC144965	GSVIVT01007836001	GAATCCTGTTTCTGGGCTGA	GTTGCCGCTAGTTTGAATGC	60,2/60,8	54

Gen	NCBI-Nr.	TIGR-Nr.	Genoscope	Fwd	Rev	Tm [°C]	Amplicon- länge
NDR1	XM_002282169.2	TC140393	-	GGTTCGATTGGCTGAAGTA	CACATTTTCGTTTCCCTTTCG	60,1/60,5	131
RAR1	XM_002269142.1	TC139830	GSVIVT01018489001 + GSVIVT01018488001	ACCTGTGGAAACAAGGGATG	CTCTTAGCCGGTCATGGAAA	59,8/60,2	106
SGT1	XM_002276134.2	TC140339	GSVIVT01028818001	TTGTGGAGTCAAATGGGACA	GGCTTCCCTCAACCTTCTTC	59,9/60,2	72
SAG101	XM_003633760.1	TC148014	GSVIVT01032530001	AAGGAAGGAGCAATGGTTGA	TTCCCTCGGTTATGTTGTTTC	59,7/58,9	79
PAD4	XM_002275601.2	TC152816	GSVIVT01022328001	AGAGGAAGCCAAGGACTGGT	TGCCAGGACATCTATGGAAA	60,3/59,1	145
TGA2.1	XM_003632693.1	TC151464	GSVIVT01033632001	TGGGTAGTTGTATGCTTGTTCA	CATGATCACATTATTGGCACTG	59,6/58,4	91
TGA2.2	XM_002263123.2	TC151778	GSVIVT01036649001	TCAAAGCTTGACATCTTCTGGA	CAGAGACCCAGCATTCACAA	60/59,8	78
Why1	XM_002277242.1	TC144344	GSVIVT01020061001	ATGCCTATGCGAACTCCATC	CATTTCCCAGTCCATGCTTT	60,1/59,9	126
JAR1	XM_002280702.2	TC139399	GSVIVT01027057001	TTGGGTGAATGAACTGCAAA	TCACTTCCAAACAGCCATCA	60,1/60,2	116
MPK4	XM_003633911.1	TC141595	GSVIVT01026984001	AAGAAGCTGAGGCAGAACCA	GGAAGAAGATCCTGCACCAA	60,1/60,2	85
MAP3K	NM_001281276	TC145541	GSVIVT01017915001	CCAGCAGGAACCAGTCAGTT	AGATGCTGTCTTCCCTCCAA	60,3/59,8	133
NBS-LRR2	XM_002278902.1	TC145078	GSVIVT01017038001	AGGTTTGCAGGAATTGTTGG	TACCTGGCAGAGGAAGACCA	60,0/60,8	88
Ankyrin1	XM_003631776.1	TC166949	GSVIVT01035638001	CTGCGACATGGACAATTCTG	TCACCAACACCCACTTGGTA	60,3/59,8	54
Ankyrin2	XM_002278833.1	TC165735	GSVIVT01017031001	CGAAGTCGAAAGGGATGAAA	TGTTACGTTTGTGAGCAGCA	60,2/59,1	60
DREB3	XM_002278870.2	TC140927	GSVIVT01017034001	ACGAGTCGAGGAACGAGTTT	ATCGGATCACCGAAATATGC	58,9/59,8	106
NBS-LRR1	XM_002277817.2	TC153646		TCATGGCTTCTCTGGAGCTT	CGCATGCCCTACAACAGATA	60,1/59,7	140
SEBF	XM_002281606.2	TC141125	GSVIVT01025697001	CCAGAGCCAGCAATTGTGTA	TTCACTGATTCATGCACCAAC	59,9/59,6	125
NPR3.1	XM_002274009.1	TC147785	GSVIVT01026274001	GGACTGGCCCTGTTTGTA	ATGCGTTCTCTCATCTGCAA	60/59,6	140
NPR3.2	XM_003633009.1	TC147785	GSVIVT01026274001	TTTGTGGTTGGCTTTGTGAC	CGCGTCTCTTAATCTCTG	59,6/60	149
UBQ	EC922622			GAGGGTCGTCAGGATTTGGA	GCCCTGCACTTACCATCTTTAAG		75
GADPH	EF192466			TCAAGGTCAAGACTCTAACACC	CCAACAACGAACATAGGAGCA		226
SAND	CF405409			CAACATCCTTTACCCATTGACAGA	GCATTTGATCCACTTGAGATAAG		76
Actin	AY847627			GCCTGATGGGCAAGTCAT	GCTGGGAGCAAGAGCAGT		244

3 Ergebnisse

3.1 Vergleichende Promotoranalysen

In Vorarbeiten zur differentiellen Genexpression resistenter und anfälliger Rebsorten waren von Welter (2008) 27 Kandidatengene identifiziert worden. Aus diesen wurden die drei Strukturgene Pathogen-related Protein 5 (*PR5*), *PR10.1* und Phenylalanin-Lyase (*PAL*) sowie sieben Transkriptionsfaktorgene für weitere Untersuchungen ausgewählt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Genbanknummerierung, funktionelle Annotation und Lokalisation der Kandidatengene im Genom der Weinrebe. Die Promotoren der Kandidatengene sollen mit dem Reporter gen welches eine Luciferase kodiert fusioniert werden.

Vitis Genbanknr. (alt)	EST-Genbanknr. (neu)	Vitis Genbanknr. (neu)	EST-Genbanknr. (neu)	Funktionelle Annotation	Abkürzung	Chromosom
TC62118		TC153717		Myb-verwandter Transkriptionsfaktor, <i>Vitis vinifera</i>	<i>MYB</i>	5
TC55553		TC149974		WRKY-artiges DNA Bindeprotein, <i>Solanum tuberosum</i>	<i>WRKY57</i>	1
TC59548		TC155318		WRKY DNA Bindeprotein, <i>Nicotiana tabacum</i>	<i>WRKY33</i>	8
TC46952		TC142590		Vermutlicher Transkriptionsfaktor <i>Arabidopsis thaliana</i>	WRKY 15, <i>WRKY7</i>	7
TC55556		TC149982		Pathogenese-verwandter Gentranskriptions-Aktivator <i>Solanum tuberosum</i>	PTI5, <i>ERF1</i>	10
TC54435		TC147564		Ethylen-responsiver Transkriptionsfaktor 5, <i>Nicotiana tabacum</i>	<i>ERF5</i>	16
TC54167		TC139360		Zinkfinger CCCH Domäne-beinhaltendes Protein, <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>CZF1/ZFARI</i>	13
TC45048		TC142423		PR-10 Protein, <i>Malus domestica</i>	<i>PR10.1</i>	5
TC64228		TC155534		Pathogenese-verwandtes Protein 5-1, <i>Helianthus annuus</i>	<i>PR5</i>	2
TC66528		TC150103		Phenylalanine ammonia-lyase, <i>Vitis vinifera</i>	<i>PAL</i>	16

Für alle 10 Kandidatengene sollte der Promotor aus genomischer DNA resistenter und anfälliger Reben amplifiziert und in den Vektor pLuc (Horstmann *et al.*, 2004) kloniert werden. Bei der Insertion in pLuc erfolgt eine transkriptionelle Fusion der zu untersuchenden Promotoren mit dem Reporter gen für die Luciferase aus *Photinus pyralis*. Im Rahmen der Doktorarbeit von Patrick Merz wurden die Transkriptionsfaktoren in den Vektor pART27 (Gleave, 1992) hinter einen p35S-Promotor kloniert. Anschließend wurde der Luciferaseassay

mit den Promotoren und den konstitutiv exprimierten Genen am DLR in Neustadt in der Gruppe von J. Bogs als Kooperationspartner durchgeführt. Hierfür wurden die beiden Vektoren und ein Normalisierungsvektor mit einer konstitutiv exprimierten Luciferase von *Renilla reniformis* über Partikelbombardment in Suspensionszellen von 'Chardonnay' eingebracht. Positiv auf die Reporterexpression wirkende Transkriptionsfaktoren wurden dann weiter untersucht.

Für die Amplifikation der Promotoren wurden Primer auf Grundlage der veröffentlichten Genomsequenz von der Inzuchtlinie 'Pinot noir' PN40024 entwickelt (<http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>).

Für sieben Kandidatengene konnte der Promotorbereich von 'Regent' und 'Lemberger' amplifiziert und kloniert werden. Die erfolgreich klonierten Promotoren wurden anschließend sequenziert. Die Sequenzen sind im Anhang 1 hinterlegt. Für die Promotoren von *ERF1* und *PR10.1* wurden jeweils zwei Varianten (Allel A und B) für 'Regent' und 'Lemberger' identifiziert. Dagegen zeigte sich für die Promotorbereiche von *ERF5* und *WRKY7*, dass die Sequenzen von 'Regent' und 'Lemberger' identisch sind. Für den *PAL*-Promotor von 'Regent' wurde eine Variante ermittelt, die sich von den beiden Allelen des *PAL*-Promotors von 'Lemberger' unterscheidet.

Große Schwierigkeiten bezüglich der allelischen Zuordnung bereiteten die Promotoren von *MYB* und *WRKY33*. Der *MYB*-Promotor zeigte bei 'Lemberger' drei Varianten. Problematisch war auch die Amplifikation des Promotors von *WRKY33*. Hier wurden mehrere Varianten bei 'Lemberger' ermittelt. Daher wurde der Promotor von den weiteren Analysen ausgeschlossen und nicht auf SNPs und *cis*-regulative Motive hin untersucht. Für die Kandidatengene *CZF1/ZFAR1*, *PR5* und *WRKY57* konnten die Promotorbereiche nicht amplifiziert werden.

Die erhaltenen Sequenzen wurden auf SNPs (single nucleotide polymorphisms) untersucht. Dabei wurde auch die Referenzsequenz von PN40024 zum Vergleich herangezogen. Zusätzlich wurden Insertions-/Deletionsereignisse bestimmt (siehe Tabelle 7). Die durchschnittliche SNP-Frequenz für die Promotorbereiche liegt bei 1/39 und die durchschnittliche Indel-Frequenz bei 1/210.

Tabelle 7: Übersicht der sequenzierten Promotorbereiche mit ihrer Länge, der Anzahl der SNPs, der Frequenz der identifizierten SNPs, sowie der Anzahl von Insertionen/Deletionen mit Angabe des kürzesten bzw. längsten Indels.

Promotor	Länge [bp] des sequenzierten Promotors			Anzahl SNPs	SNP-Frequenz	Insertionen/Deletionen	
	Regent	Lemberger	PN40024			Anzahl	Länge [bp] (min, max)
<i>ERF1</i>	2247, 2258	2259, 2268	2208	57	1/39	14	1, 64
<i>ERF5</i>	1204	1204	1204	-	-	-	-
<i>MYB</i>	2554	2513, 2555, 2561	2616	108	1/23	27	1, 61
<i>PR10.1</i>	2530, 2531	2525, 2529	2531	86	1/29	7	1, 6
<i>WRKY7</i>	1513	1513	1528	20	1/76	3	1, 15
<i>PAL</i>	1713	1699, 1716	1713	29	1/59	5	1, 16

Der *PR10.1* Promotor wurde außerdem noch aus 'Chambourcin' (resistent) und 'Diana' (anfällig), den beiden Elternsorten von 'Regent', amplifiziert, kloniert und sequenziert. Die Auswertung der Sequenzen zeigte, dass das Allel B des *PR10.1* Promotors in 'Regent' vom resistenten Elternteil 'Chambourcin' abstammt. Allel A wird dagegen vom anfälligen Genotyp 'Diana' vererbt. In der Abbildung 12 wird die Abstammung mit einem Ausschnitt aus dem Alignment der verschiedenen Promotorsequenzen verdeutlicht.

PPR10 - PN40024	AAAAGGGCAA AAAAGAAAAATAAAAGGCAAACAAACAAAACAAAA
PPR10-Chambourcin allele AAA.....A.....
PPR10-Chambourcin allele BAA.....A.....
PPR10-Diana
PPR10-Regent allele A
PPR10-Regent allele BAA.....A.....
PPR10-Lemberger allele AA.....T.....
PPR10-Lemberger allele BA.....

Abbildung 12: Ausschnitt aus dem Alignment des *PR10.1*-Promotors von 'Chambourcin', 'Diana', 'Regent', 'Lemberger' und der Referenzsequenz PN40024. Das Allel B des Promotors *PR10.1* von 'Regent' stammt von dem resistenten Elternteil 'Chambourcin' ab.

Die Promotorsequenzen wurden anschließend mit Hilfe der Datenbanken PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) und PLACE DB (<http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/>) auf potenzielle *cis*-regulatorische Elemente untersucht. Im Folgenden soll nur der Promotor von *PR10.1* vorgestellt werden, da der Luciferaseassay mit diesem durchgeführt wurde. Dieser Promotor wurde ausgewählt, weil das Gen *PR10.1* eher am Ende der Signaltransduktionskaskade der Pathogenabwehr steht und seine Expression durch Transkriptionsfaktoren induziert wird. Zudem konnten alle Allele für den Promotor identifiziert werden. Für die Promotoren von *ERF1*, *ERF5*, *MYB*, *WRKY7* und *PAL* wurden ebenfalls die *cis*-regulatorischen Elemente bestimmt. Die Daten befinden sich im Anhang 2. Insgesamt wurden im Promotorbereich von *PR10.1* 718 potentielle *cis*-regulative Elemente identifiziert. 531 dieser Elemente waren bei allen Promotorvarianten identisch vorhanden.

Besonders interessant waren jedoch die verbliebenen 187 Elemente, die bei resistenten und anfälligen Reben Unterschiede aufzeigten. Die Promotoraktivität wurde weiterhin in Kombination mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren wie *WRKY*- und *MYB*-Faktoren gemessen. In der Abbildung 13 sind daher speziell die *cis*-regulativen Elemente für *MYB*- und *WRKY*-Transkriptionsfaktorbindestellen dargestellt. Insgesamt wurden 11 *WRKY*-Bindestellen, die bei allen Promotorvarianten vorhanden sind, eine zusätzliche Bindestelle im Promotor von `Regent` Allel B und eine Bindestelle im Promotor von `Lemberger` und Allel A von `Regent` aufgezeigt.

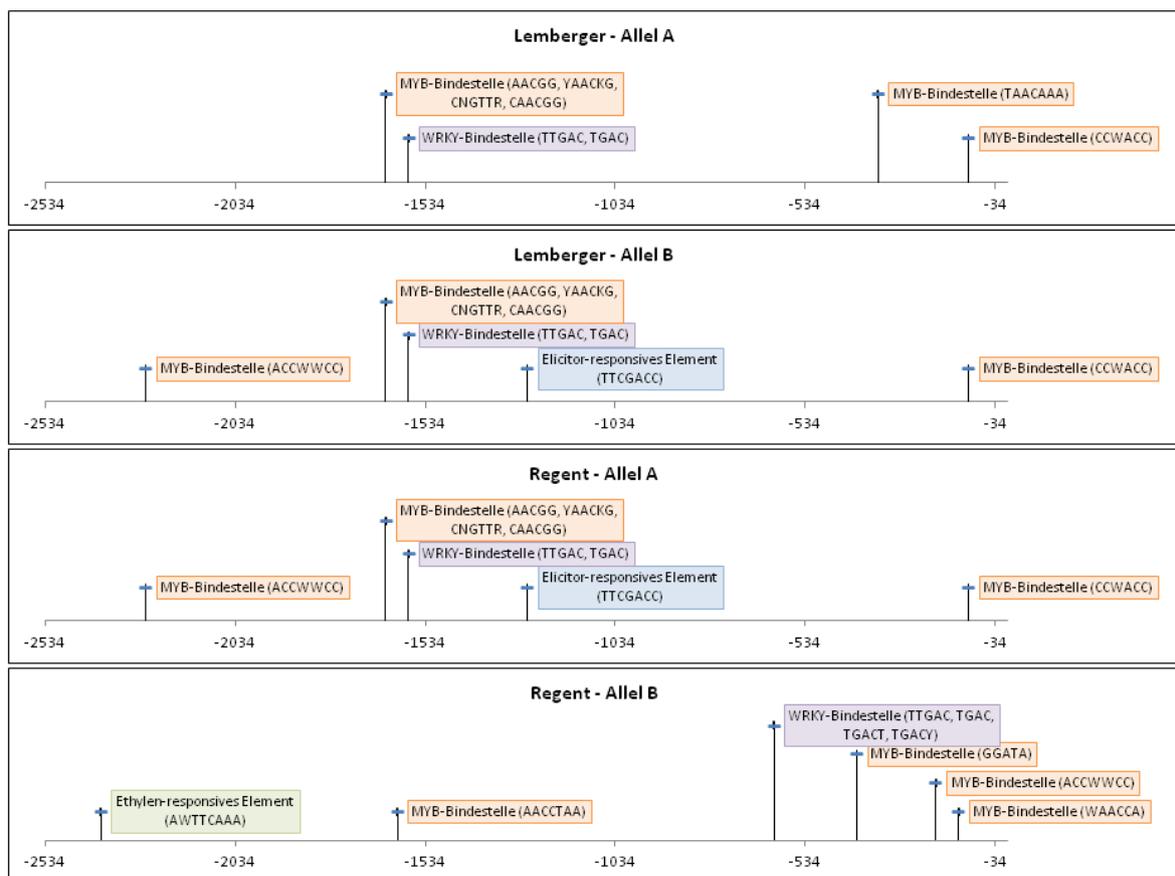


Abbildung 13: Darstellung der *cis*-regulativen Elemente für Bindestellen von *MYB*- (orange) und *WRKY*- (lila) Transkriptionsfaktoren, sowie Elicitor- (blau) und Ethylen- (grün) responsive Elemente für die allelischen Varianten des Promotors von *PR10.1* für `Regent` und `Lemberger`.

Der *PR10.1*-Promotor von `Lemberger` (beide Allele) und sein Allel A von `Regent` weisen eine Bindestelle für ein Silencing elemental binding factor (*SEBF*) auf. Dieses Element fehlt speziell bei Allel B des *PR10.1*-Promotors von `Regent`. Die Promotoren weisen außerdem noch Aktivatoren- und Enhancer-Elemente auf. Aktivatoren starten die Transkription und Enhancer verstärken diese. Die Ergebnisse sind in Abbildung 14 dargestellt.

Es wurde somit gezeigt, dass der *PR10.1*-Promotor potentiell verstärkende und reprimierende *cis*-Elemente aufweist. Außerdem wurden *ERF1*, *ERF5*, *MYBB*, *WRKY7*, *WRKY33* und *WRKY57* als mögliche Interaktionspartner identifiziert.

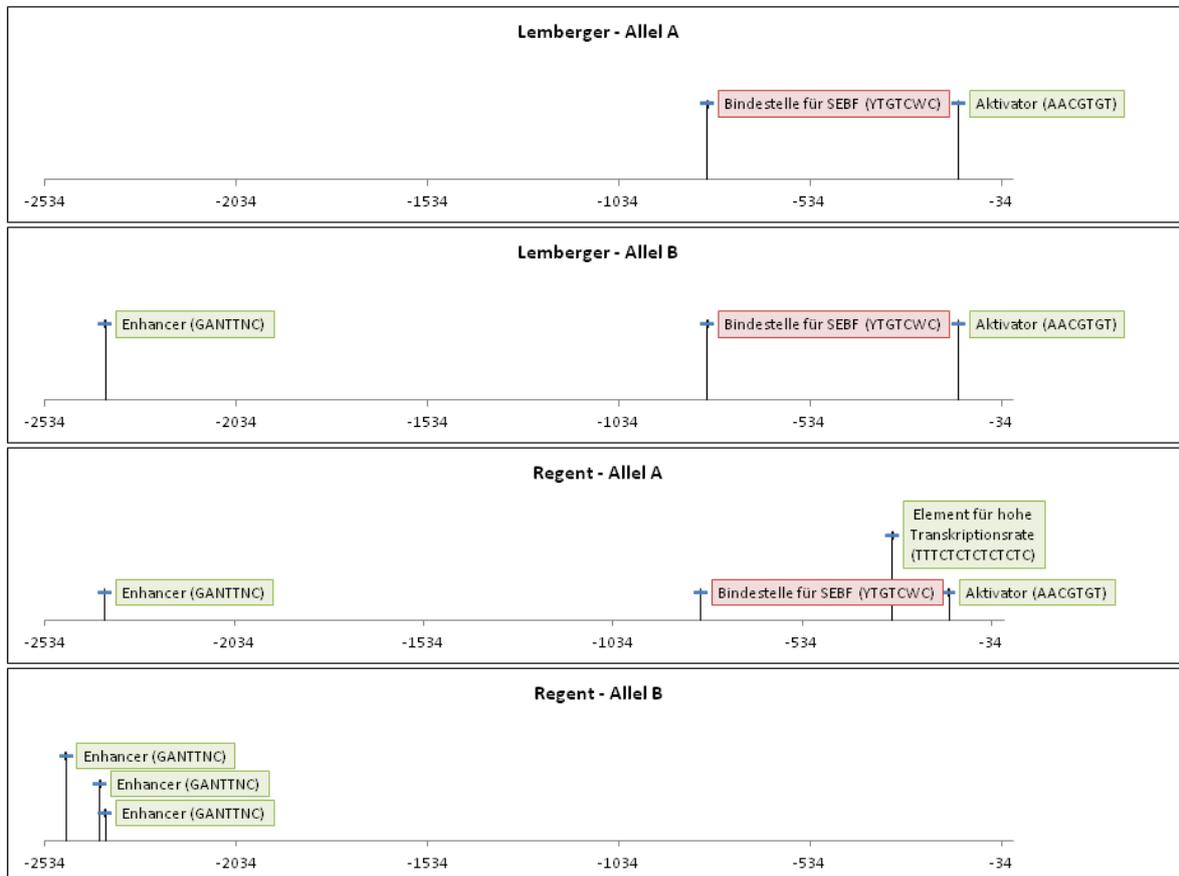


Abbildung 14: Darstellung der *cis*-regulativen Elemente für Enhancer (grün) und Repressoren (rot) für die allelischen Varianten des *PR10.1*-Promotors von 'Regent' und 'Lemberger'.

Der Luciferaseassay zur Bestimmung der Promotoraktivität in Kombination mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren der Weinrebe wurde in Kooperation durchgeführt. Es wurde gezeigt, dass die Transkriptionsfaktoren *WRKY33*, *CZF1* und *ERF5* von 'Regent' und 'Lemberger' den *PR10.1* Promotor positiv regulieren können (Abbildung 15). *WRKY33* verstärkt die Expression der Luciferase drei- bis sechsfach, unabhängig davon welche allelische Variante des Promotors verwendet wurde. *CZF1* konnte den *PR10.1* Promotor ebenfalls dreifach induzieren, jedoch konnte *CZF1* von 'Lemberger' nicht das Allel A des *PR10.1* Promotors von 'Regent' und *CZF1* von 'Regent' nicht das Allel A des Promotors von 'Lemberger' signifikant induzieren. Die stärkste Induktion wurde für das Allel B des 'Lemberger' Promotors mit dem Transkriptionsfaktor *ERF5* von 'Lemberger' (8,7-fach) erhalten. *MYBB* von 'Lemberger' konnte lediglich das Allel B des Promotors von 'Regent' induzieren. Für *MYBB* von 'Regent' war keine Verstärkung messbar. Zur Kontrolle wurde der Transkriptionsfaktor *MYBA* verwendet. Dieser spielt eine Rolle bei der Flavonolsynthese und

kann nachweislich den Promotor der Flavonolsynthese verstärken. Es wurde gezeigt, dass *MYBA* den *PR10.1* Promotor nicht regulieren kann (Abbildung 15).

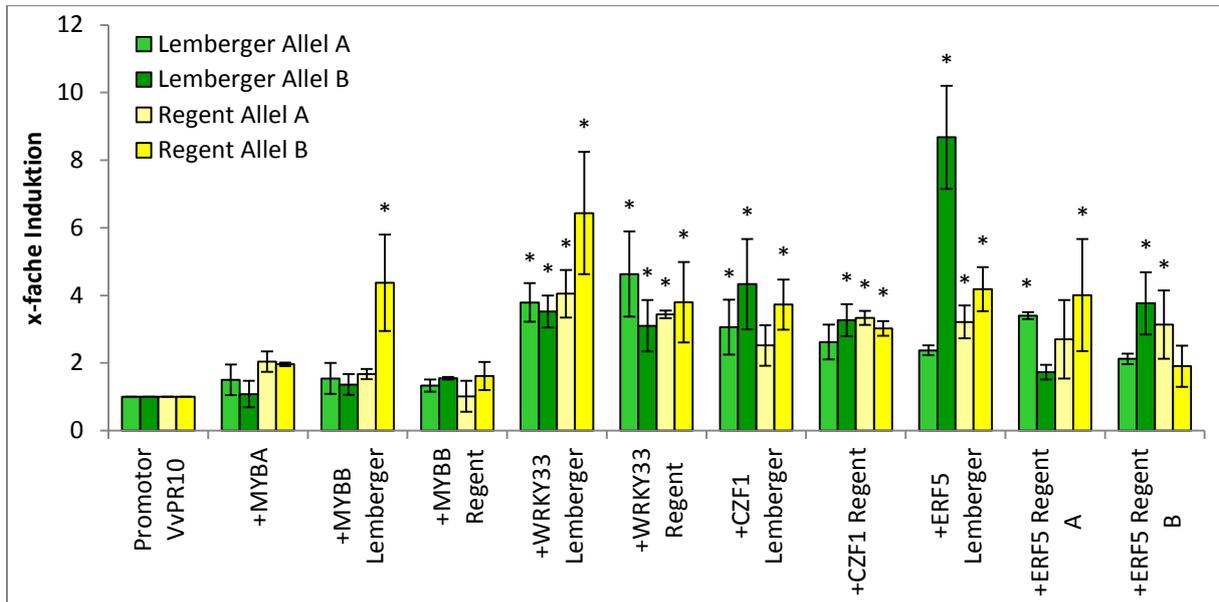


Abbildung 15: Induktion der allelischen Varianten des *PR10.1* Promotors durch die Transkriptionsfaktoren *MYBA*, *MYBB*, *WRKY33*, *CZF1/ZFARI* und *ERF5* vergleichend für 'Regent' und 'Lemberger'. * Signifikante Induktion des *PR10.1* Promotors zum Niveau $\alpha = 5\%$.

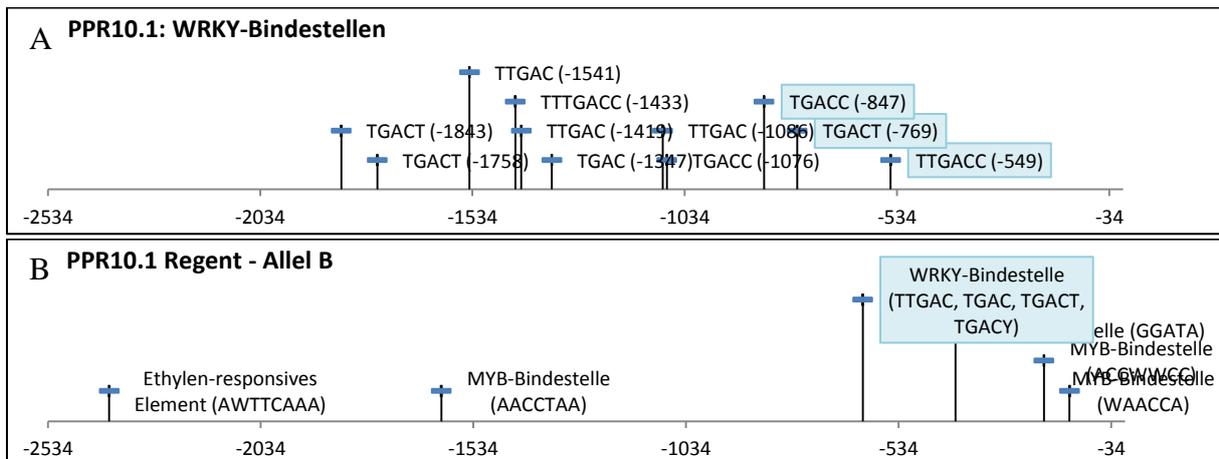


Abbildung 16: Ausgewählte *WRKY*-Bindestellen für die Mutationsanalyse (blau markiert). A: *WRKY*-Bindestellen des *PR10.1*-Promotors (*PPR10*), die sowohl bei 'Regent' als auch 'Lemberger' vorkommen. B: *WRKY*-Bindestelle (W2), die nur beim Allel B von 'Regent' vorkommt.

Aufgrund der Ergebnisse wurde der *PR10.1*-Promotor im Weiteren gezielt auf *WRKY*-Bindestellen analysiert (siehe Abbildung 16). Es wurde dabei festgestellt, dass die Promotorvarianten von 'Regent' und 'Lemberger' 11 gemeinsame Bindestellen aufweisen. Außerdem wurden weitere *WRKY*-Bindestellen nachgewiesen, die jeweils spezifisch für das Allel B 'Regent' bzw. die Allele A und B von 'Lemberger' sind (siehe Abbildung 13 und Abbildung 16). Zur Prüfung der funktionellen Relevanz der identifizierten *cis*-regulativen Transkriptionsfaktorbindesequenzen wurden die ersten vier *WRKY*-Bindestellen im Promotor zur Funktionslosigkeit mutagenisiert. Zugleich wurde ein Minimalpromotor (854 bp lang) mit

und ohne *WRKY*-Bindestellen generiert. Die Konstrukte sind in der Abbildung 17 graphisch dargestellt.



Abbildung 17: Schematische Darstellung der Promotorkonstrukte von *PR10.1*. Es wurden Konstrukte voller Länge mit vier bzw. drei mutierten *WRKY*-Bindestellen, sowie der Minimalpromotor und der Minimalpromotor mit vier bzw. drei mutierten *WRKY*-Bindestellen hergestellt. Die Stelle MutW2 existiert nur für den Promotor von 'Regent' Allel B.

Um sicher zu stellen, dass *WRKY*-Faktoren nicht mehr an den Promotor binden können, wurde das Kernmotiv (TGAC) der *WRKY*-Bindestellen zu CCTT mutiert. Hierfür wurden die Primerpaare so entwickelt, dass forward und reverse Primer das komplette Plasmid inklusive des Vektors pLuc linear amplifizierten. Ein Primer enthielt jeweils die mutierte *WRKY*-Bindestelle. Die Mutationen wurden nacheinander in die Testplasmide mit den Promotorfusionen von *PR10.1* vor der Luciferase eingebracht. Alle Produkte wurden resequenziert. Für den Minimalpromotor ohne bzw. mit drei mutierten *WRKY*-Bindestellen wurde das Primerpaar MinPPR10-for und MinPPR10-rev verwendet. Der Primer MinPPR10-for entspricht Primer PR10-MutW4-f, jedoch ohne Mutation der *WRKY*-Bindestelle. Für den Minimalpromotor mit allen vier mutierten *WRKY*-Bindestellen musste der Primer MinPPR10-for durch den Primer PR10-MutW4-f ersetzt werden. Im Anhang 3 ist aufgelistet, welche Konstrukte erstellt wurden. Der Kooperationspartner führte den darauffolgenden Luciferaseassay durch.

3.2 Untersuchung des Transkriptionsfaktors ERF5 der Weinrebe

Der Luciferaseassay zeigte, dass *WRKY33* und der Transkriptionsfaktor *ERF5* den *PR10.1* Promotor regulieren können. Im Rahmen der Kooperation wurde *WRKY33* vom Projektpartner weiter untersucht. In der hier vorliegenden Arbeit wurde *ERF5* genauer untersucht. Auf der Basis von *ERF5* Sequenzen von 'Regent' und 'Lemberger' wurde ein Sequenzvergleich mit 61 anderen, in Datenbanken verfügbaren Transkriptionsfaktoren der ERF-Familie, erstellt (Abbildung 18). Allerdings konnte keine abgesicherte Aussage über die Ähnlichkeit getroffen werden, da die Bootstrapwerte kleiner als 70 waren, d.h. in weniger als 70 % der Fälle konnten die beiden verglichenen Faktoren einander zugeordnet werden. Daher wurde für den ausgewählten rot markierten Bereich erneut ein Ähnlichkeitsvergleich erstellt. Es ist erkennbar, dass *ERF5* des Genus *Vitis* eine sehr hohe Ähnlichkeit aufweist und ein Cluster bildet. *ERF5* von *Vitis aestivalis* lag jedoch außerhalb des Clusters und wies eine höhere Ähnlichkeit mit *Arabidopsis thaliana ERF5* und *ERF6* auf (Abbildung 19).

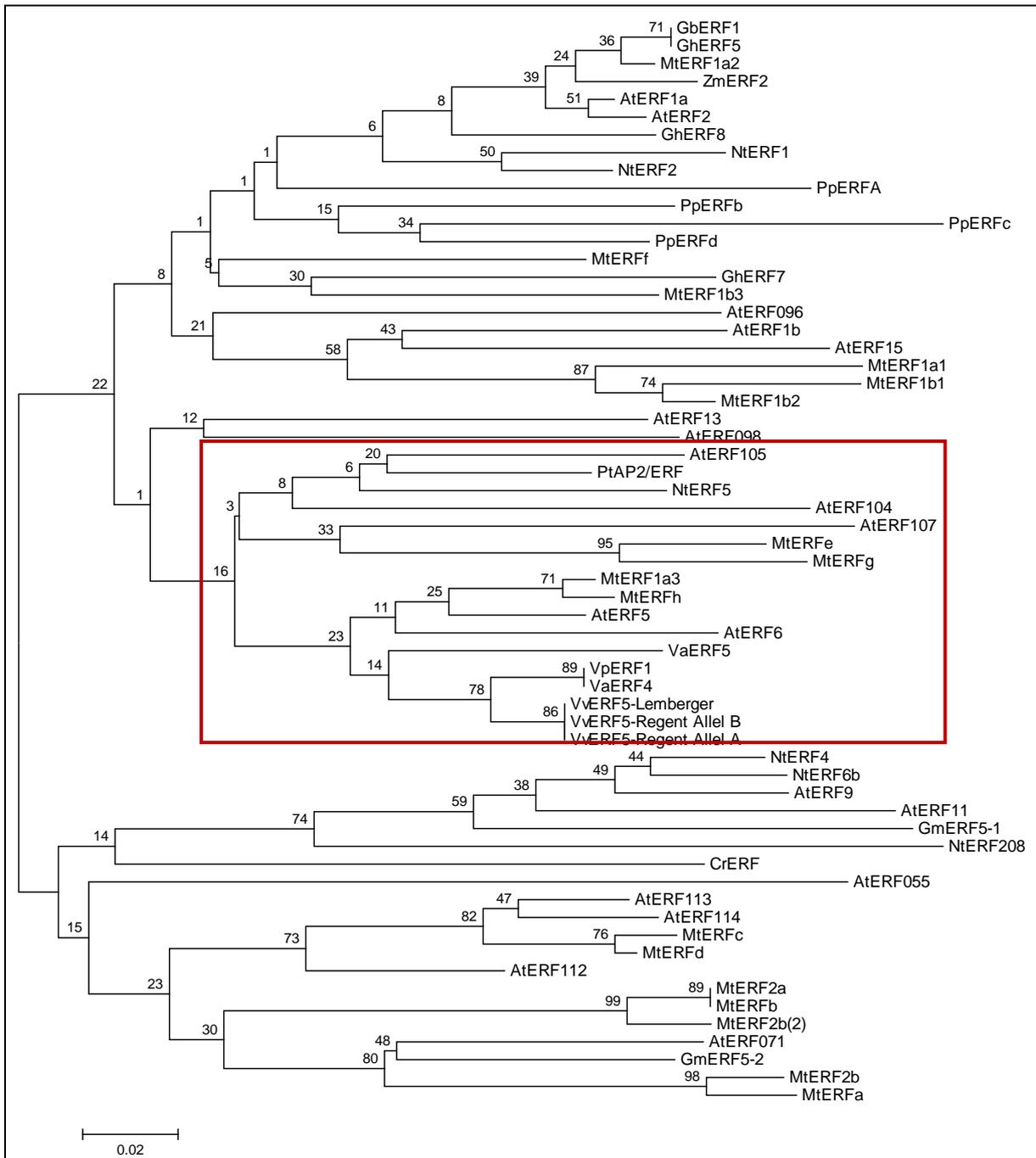


Abbildung 18: Sequenzvergleich von Ethylen-responsiven Transkriptionsfaktoren (ERF). Der phylogenetische Baum wurde mit dem Programm MEGA5 erstellt. Über den Ästen sind die Bootstrapwerte für 1000 Wiederholungen angegeben. At: *Arabidopsis thaliana*; Cr: *Chlamydomonas reinhardtii*; Gb: *Gossypium barbadense*; Gh: *Gossypium hirsutum*; Gm: *Glycine max*; Mt: *Medicago truncatula*; Nt: *Nicotiana tabacum*; Pp: *Physcomitrella patens*; Pt: *Populus trichocarpa*; Va: *Vitis aestivalis*; Vp: *Vitis pseudoreticulata*; Vv: *Vitis vinifera*; Zm: *Zea mays*.

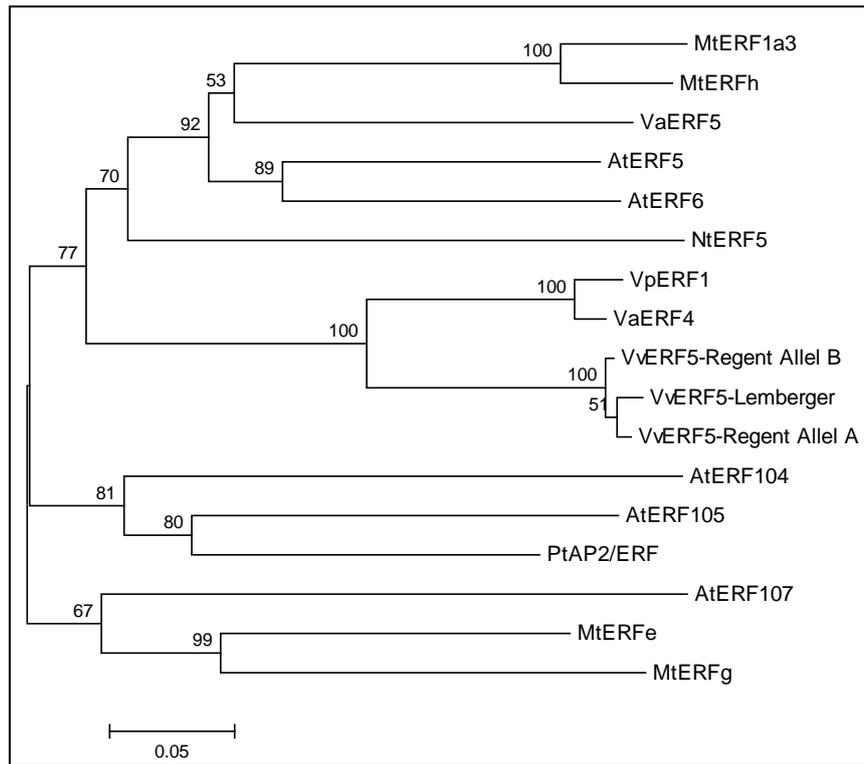


Abbildung 19: Ähnlichkeitsvergleich von 17 ERF Transkriptionsfaktoren. Der Baum wurde mit dem Programm MEGA5 erstellt. Die Bootstrapwerte für 1000 Replikate sind über den Ästen angegeben. At: *Arabidopsis thaliana*; Mt: *Medicago truncatula*; Nt: *Nicotiana tabacum*; Pt: *Populus trichocarpa*; Va: *Vitis aestivalis*; Vp: *Vitis pseudoreticulata*; Vv: *Vitis vinifera*.

Die Sequenzen für den kodierenden Bereich von *ERF5* wurden auf Aminosäure-Austausche hin untersucht (Abbildung 20). Das kodierende Raster von 'Regent' *ERF5* ist zwei Aminosäuren länger als das von 'Lemberger' *ERF5*. Außerdem wurden sechs Aminosäureaustausche zwischen 'Regent' und 'Lemberger', sowie drei Austausch bei den beiden 'Regent'-Varianten identifiziert. Die AP2-Domäne ist von diesen Mutationen allerdings nicht betroffen. Sie ermöglicht es den *ERF*-Transkriptionsfaktoren an DNA zu binden. Zwei bekannte Bindemotive in Promotoren sind die GCC-Box bzw. ERE (Ethylen-responsives Element; TAAGAGCCGCC) und das DRE-Element (drought responsive element; CCGAC).

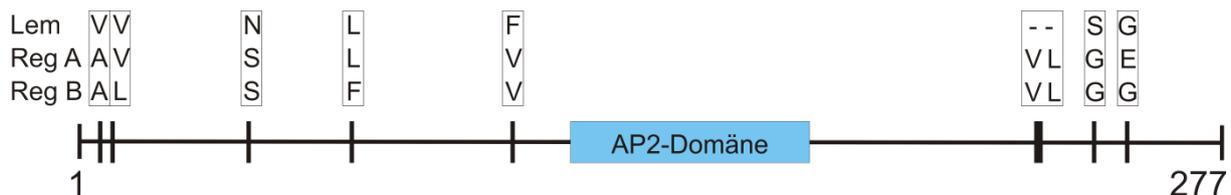


Abbildung 20: Darstellung der Unterschiede in den Proteinsequenzen von 'Regent' (277 aa) und 'Lemberger' *ERF5* (275 aa). Lem: 'Lemberger'; Reg A: 'Regent' Variante A; Reg B: 'Regent' Variante B.

ERF5 gehört in die große Familie der AP2/ERF-Transkriptionsfaktoren. Der untersuchte Faktor TC147564 liegt auf Chromosom 16 (6.676.152 – 6.676.980 bp) der Referenzsequenz PN40024 (12x, <http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>). Ein Blat-Abgleich (Abbildung 21) mit den Sequenzen von `Regent` zeigte, dass beide Varianten von `Regent` an genau dieser Stelle liegen und damit allelisch sind. Dagegen ist *ERF5* von `Lemberger` 30.000 Basen entfernt auf Chromosom 16 (6.705.921 – 6.706.748) lokalisiert. Es handelt sich damit um zwei unterschiedliche Varianten des *ERF*-Transkriptionsfaktors, welche sich in ihrer Sequenz um 1 % unterscheiden.

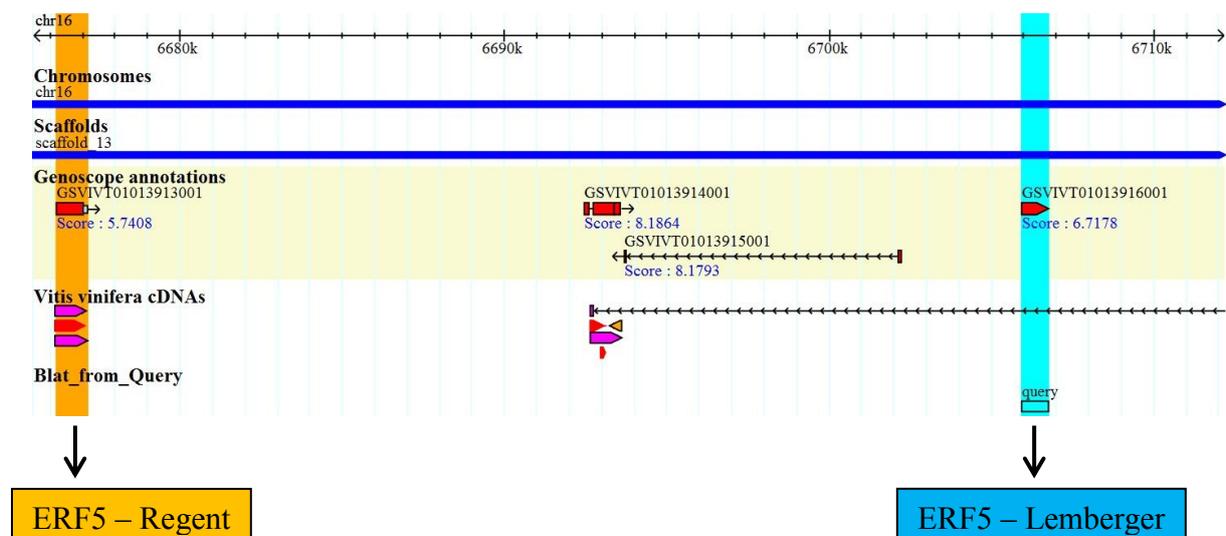


Abbildung 21: Lokalisation von `Regent` *ERF5* und `Lemberger` *ERF5* auf Chromosom 16 der Referenzsequenz PN40024 (<http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>). *ERF5* von `Lemberger` liegt 30.000 Basenpaare entfernt von *ERF5* von `Regent`.

Beide Varianten des *ERF*-Transkriptionsfaktors enthalten kein Intron. Daher wurde versucht *ERF5* von genomischer DNA von `Regent`, `Lemberger`, `Diana` und `Chambourcin` zu amplifizieren. In einer parallelen Diplomarbeit von Schneider (2012) wurden Primer für das offene Leseraster von *ERF5* erstellt. Diese Primer (*erf5_for2_BspHI*: aaaaaTCATGAATGGCAGAAGAGGCTTCATC und *erf5_rev_SalI*: aaaaaGTCGACTCAAACCTATAAGCTGAGAATATGCTAT) wurden für die folgende Amplifikation verwendet. Die Annealing-Temperatur wurde nach einer Optimierung durch Gradienten-PCR von 60 °C auf 72 °C angehoben (Abbildung 22).

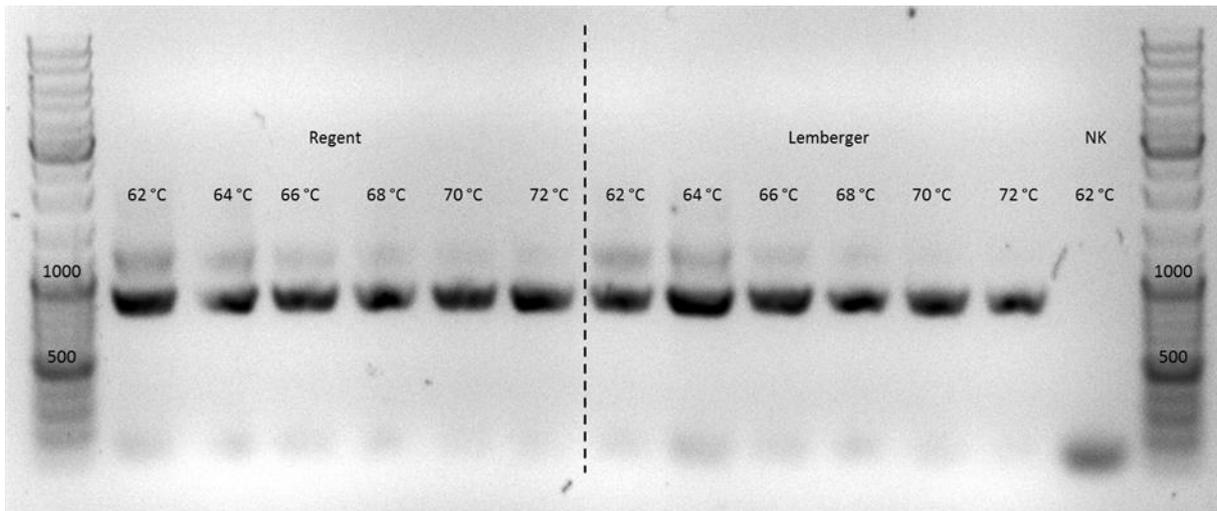


Abbildung 22: Agarosegel zur Gradienten-PCR zur Darstellung von ERF5 Amplifikaten mit genomischer DNA von 'Regent' und 'Lemberger'. Die verwendete Annealingtemperatur ist in jeder Spur angegeben. NK = Negativkontrolle.

Die erhaltenen Amplifikate wurden blunt-end in den dephosphorylierten Vektor pUC19 x *SmaI* kloniert und anschließend im Auftrag sequenziert. Für 'Lemberger' konnte der gewünschte *ERF* (TC147564) erfolgreich amplifiziert werden. TC147564 kommt somit bei 'Regent' und 'Lemberger' vor. Das Ergebnis zeigte außerdem, dass nur für 'Diana' ein Klon sequenziert wurde, welcher nicht dem gewünschten *ERF* (TC147564) entspricht (Tabelle 8). *ERF5* von 'Regent' Allel B aus der cDNA Klonierung von P. Merz und J. Bogs entspricht dem Klon 009 von 'Chambourcin'. Für 'Regent' wurde ein Klon (013) erhalten, der nur zu 95,7 % mit dem gewünschten Faktor übereinstimmt. Dieser Klon unterscheidet sich deutlich an 20 Positionen der Proteinsequenzen von dem Klon 001, welcher dem Allel A von P. Merz und J. Bogs bzw. dem Klon 001 von 'Chambourcin' entspricht (Abbildung 23).

ERF5_Lemberger (Merz)	LEADNWSGSDPPAISGRKRERDSETEERQQVEIKVLKQEEYLPESDSTLAAASH--GVSP LTPSNFRASWEEREMEGIF
ERF5_Regent_A (Merz)VL.....G.....E..
ERF5_Regent_B (Merz)VL.....G.....E..
ERF5 - Chambourcin 001VL.....G.....E..
ERF5 - Chambourcin 009VL.....G.....E..
ERF5 - Diana 003VL.....G.....E..
ERF5 - Diana 004T.....I.....H.....C.....P.....NVL.....C.....W.....V.....GD.....M..
ERF5 - Lemberger 012VL.....G.....E..
ERF5 - Lemberger 015VL.....G.....E..
ERF5 - Lemberger 016I.....VL.....G.....E..
ERF5 - Regent 001VL.....G.....E..
ERF5 - Regent 013K.F.V..F.C.....T.....A.....R..L.....A.V.....NVL.....W.....V.....D.....

Abbildung 23: Alignment der Proteinsequenzen aus cDNA Klonierungen des Kooperationspartners P. Merz mit den Proteinsequenzen abgeleitet von der genomischen DNA von 'Chambourcin', 'Diana', 'Lemberger' und 'Regent'. Die Zahlen hinter den Titeln geben die jeweilige Klonnummer wieder.

Um zu kontrollieren welche Variante des Transkriptionsfaktors *ERF5* nach Befall mit Plasmopara induziert wird, wurden spezifische forward Primer für die verschiedenen Varianten entwickelt (Abbildung 24). Als reverse Primer wurde jeweils *ERF5*-rev verwendet.

Tabelle 8: Ergebnis des Blat-Abgleichs mit *ERF*-Varianten von 'Chambourcin', 'Diana', 'Lemberger' und 'Regent' bei den Datenbanken Genoscope (<http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>) und Gramene (<http://www.gramene.org/>). Angegeben sind die ermittelte Lokalisation der Sequenzen im Referenzgenom, sowie deren Übereinstimmung mit dem Referenzgenom von Genoscope, das annotierte Gen für beide Datenbanken und Informationen zur ID bei UniProt (<http://www.uniprot.org/uniprot/>) und UniGene (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/unigene/>). Lediglich die rot-markierten Klone entsprechen nicht TC147564.

Sorte	Klonnr.	Lokalisation	Übereinstimmung	Gen (Genoscope)	Gen (Gramene)	Protein (UniProt)	ID (UniGene)
Chambourcin	1	Chr16: 6676172 - 6677005	99,70%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
	9	Chr16: 6676172 - 6677005	99,10%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
Diana	3	Chr16: 6676172 - 6677005	100,00%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
	4	Chr16: 6870574 - 6871400	99,80%	GSVIVT0101 3924001	VIT_16s001 3g01060	D7U791	Vvi.308.
Regent	1	Chr16: 6676172 - 6677005	99,70%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
	13	Chr16: 6676172 - 6677005	95,70%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
	Merz A	Chr16: 6676172 - 6677005	99,70%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
	Merz B	Chr16: 6676172 - 6677005	99,00%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
Lemberger	12	Chr16: 6676172 - 6677005	100,00%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
	15	Chr16: 6676172 - 6677005	99,30%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
	16	Chr16: 6676172 - 6677005	99,20%	GSVIVT0101 3913001	VIT_16s001 3g00950	D7U782	Vvi.24429.
	Merz	Chr16: 6705921 - 6706748	100,00%	GSVIVT0101 3916001	VIT_16s001 3g00980	D7U785	-

```

ERF5_Lemberger  GCTGGCGGCGGCCAGTCATG-----GGGTTAGTCCGTTAAC
ERF5_Regent_A   GCTGGCGGCAGCCAGTCATGTTTtaggggTTAGTCCGTTAAC
ERF5_Regent_B   GCTGGCGGCAGCCAGTCATGTTTtaggggTTAGTCCGTTAAC
ERF5-PN1-for    -----GGCAGCCAGTCATGTTTtag-----
ERF5-PN2-for    -----GGCCAGTCATG-----GGGTTAGT-----
    
```

Abbildung 24: Alignment der *ERF5*-Varianten von 'Regent' und 'Lemberger' mit den spezifischen Primern zur Untersuchung der Genexpression.

Es wurde eine quantitative Real-Time PCR mit diesen Primern von *in vitro* Reben von 'Regent' und 'Lemberger', welche mit *Plasmopara viticola* inokuliert worden waren, durchgeführt. Die Proben wurden sechs Stunden nach der Inokulation genommen. Die Genexpressionsanalyse zeigte, dass 'Regent' *ERF5* für beide *ERF*-Varianten stärker induziert wurde als bei 'Lemberger' (Abbildung 25). *ERF5*-PN1 von 'Regent' wurde sogar 13,3 – fach induziert. Zusammenfassend wurden beide Varianten sowohl bei 'Regent' als auch von 'Lemberger' exprimiert. Die Expression wurde jedoch bei 'Regent' deutlich stärker induziert. Die *ERF5*-PN1 Variante von 'Regent' wird außerdem wesentlich stärker exprimiert als die *ERF5*-PN2 Variante.

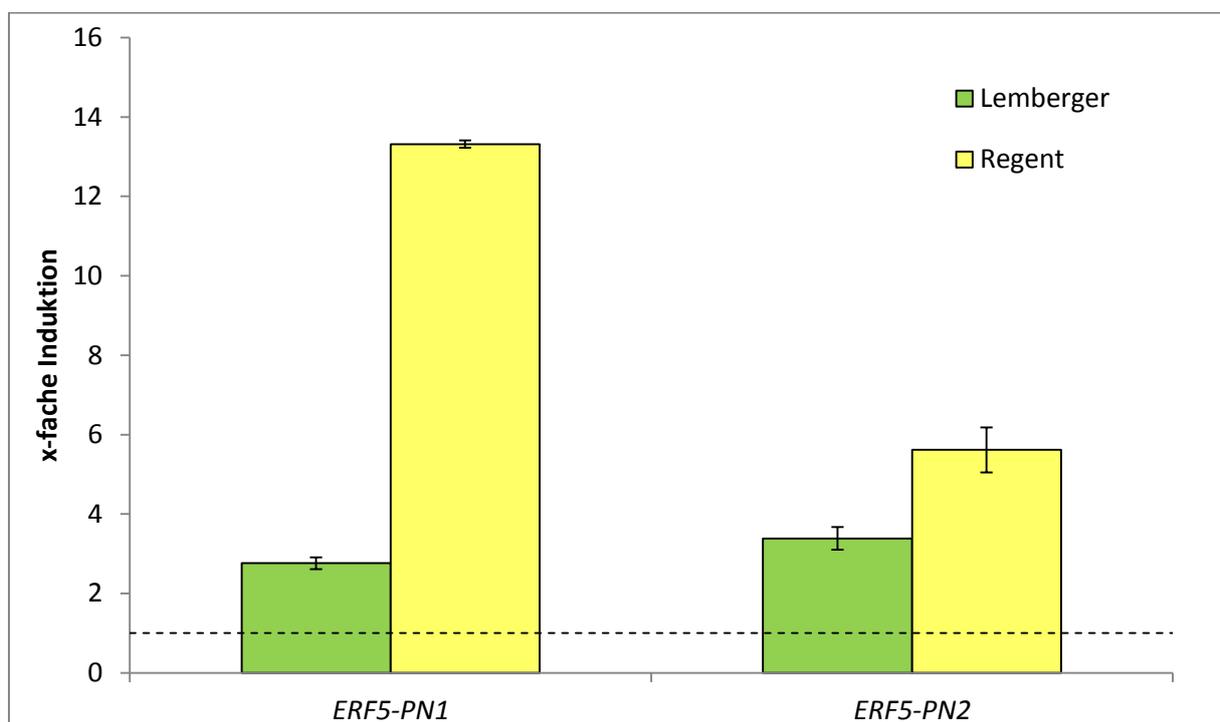


Abbildung 25: Vergleich der Genexpression der beiden *ERF5*-Varianten PN1 und PN2 von 'Regent' und 'Lemberger'.

3.3 SNP-Genotypisierung der Core-Kollektion von resistenten Weinreben

Die Analyse der Promotorsequenzdaten ergab insgesamt 271 SNPs, welche im weiteren Verlauf auf ihre Eignung zur Entwicklung von züchterisch nutzbaren SNP-Markern eingesetzt werden sollten. Besonders interessant erweisen sich hierfür die Promotoren von *PR10.1*, *ERF1* und *MYB*. Für den Promotor von *PR10.1* wurden 5 SNP Marker entwickelt, wobei das X-Allel mit dem Allel B von 'Regent' übereinstimmt. Wie bereits im Kapitel 3.1 beschrieben, kommt das Allel B von 'Regent' von dem Resistenzträger, da es vom resistenten Elternteil 'Chambourcin' abstammt. Eine Auflistung aller Marker ist in Tabelle 9 gezeigt. Die Tabelle zeigt auch die SNPs zur Markerentwicklung von *ERF1* und *MYB*.

Tabelle 9: Liste der SNP-Marker mit Angaben zum Basenaustausch und betroffenen *cis*-regulativen Motiven

SNP-Marker	X-Allel		Y-Allel	
	Base	Genotyp (cis-regulatives Motiv)	Base	Genotyp (cis-regulatives Motiv)
ERF1_P_SNP595	G	Reg A	A	Reg B, Lem A, Lem B, PN40024
ERF1_P_SNP819	C	Reg A, Lem B, PN40024	T	Reg B, Lem A
MYB_P_SNP2305	T	Reg, Lem C (pollen-specific)	C	Lem A, Lem B (GT1-binding)
PR10_P_SNP379	G	Reg B	A	Reg A, Lem (PolyA-Signal)
PR10_P_SNP1736	C	Reg B	T	Reg A, Lem (SEBF-Bindestelle)
PR10_P_SNP1917	G	Reg B (WRKY-Box W2)	T	Reg A, Lem (PolyA-Signal)
PR10_P_SNP2138	T	Reg B (MYB-Bindestelle)	A	Reg A, Lem (GT1-binding)
PR10_P_SNP2291	T	Reg B	A	Reg A, Lem (Sulfur-responsive)

Die SNP-Marker wurden über einen Satz von 376 Genotypen (Core-Collection für Resistenz, Institut für Rebenzüchtung, AG Zyprian) analysiert. Im Anhang 4 sind die Ergebnisse für alle Genotypen aufgelistet. Die Marker waren im Allgemeinen mit Ausnahme von *Ampelopsis bodinieri* (der „outgroup“) bei allen Proben amplifizierbar und genotypisierbar. Lediglich die Marker 11, 36, 17 und 42 wiesen wenige Ausfälle vor. Die Marker waren insgesamt für 98,8 % der Proben informativ.

Im Anschluss wurden Assoziationsstudien der SNPs mit verschiedenen Resistenzmerkmalen durchgeführt. Die Berechnung erfolgte mit Hilfe des Programms Tassel V4.3.4 (Bradbury *et al.*, 2007). Die auf eine Assoziation untersuchten Resistenzmerkmale waren der Befall an Blättern und Beeren mit *Erysiphe necator* und *Plasmopara viticola*. Für diese Merkmale liegen Boniturdaten aus dem Freiland für die Befallsstärken in den Jahren 1989 – 2008 für die meisten Genotypen vor. Die Boniturdaten des Jahres 2003 wurden für die Assoziationsstudien ausgeschlossen, da in diesem Jahr aufgrund extremer Wetterbedingungen keine gesicherte Aussage über Resistenzeigenschaften möglich war. In Tabelle 10 sind die signifikanten SNPs, die für mindestens zwei Jahre ermittelt wurden, zusammengestellt. Für das Merkmal Erysiphe-Befall auf der Beere ergaben sich somit drei signifikante Marker (17, 35 und 48). Alle drei Merkmals-assoziierten SNPs befinden sich im Promotor von *PR10.1* wieder. Diese drei Marker erweisen sich zudem auch für das Merkmal *Erysiphe*-Befall auf Blättern signifikant. Der Marker 36, welcher im Promotor von *ERF1* liegt, war für drei Jahre und den Mittelwert über alle Jahre signifikant.

Tabelle 10: Zusammenfassende Statistik für signifikante Assoziationen zwischen SNP-Markern und verschiedenen Merkmalen für $\alpha \leq 0,05$. Die Berechnung erfolgte mit dem General Linear Model unter Verwendung der Software Tassel 4.3.4.

Merkmal	SNP-Marker	Chromosom	Position [Bp]	Jahr	F-Test	p-Wert	
<i>Erysiphe</i> Beere	PR10_P_SNP2291	5	1.233.091	1998	4,16851	0,02094	
				MW	5,95576	0,00342	
	PR10_P_SNP2138	5	1.233.244	2006	3,83263	0,0238	
				2008	3,24125	0,04278	
	MYB_P_SNP2305	5	8.046.542	MW	3,9041	0,02277	
				1993	5,96345	0,00471	
<i>Erysiphe</i> Blatt	PR10_P_SNP2291	5	1.233.091	1998	3,91964	0,02597	
				2000	4,21362	0,02003	
	PR10_P_SNP2138	5	1.233.244	1997	3,77552	0,03195	
				2005	4,22605	0,01765	
	PR10_P_SNP1917	5	1.233.465	MW	8,96295	0,0002284	
				2005	4,22605	0,01765	
	PR10_P_SNP1736	5	1.233.646	MW	6,18066	0,00274	
				2005	8,10805	0,0005824	
	PR10_P_SNP379	5	1.235.000	MW	3,3119	0,03962	
				2001	4,07437	0,0202	
	MYB_P_SNP2305	5	8.046.542	2005	4,36485	0,01555	
				1995	3,3268	0,04385	
	ERF1_P_SNP595	10	1.820.929	2005	4,79724	0,01051	
				1989	4,39316	0,01519	
	ERF1_P_SNP819	10	1.821.153	1997	3,85942	0,02979	
				1992	8,35026	0,0007431	
	<i>Plasmopara</i> Beere	PR10_P_SNP2138	5	1.233.244	1993	7,35785	0,00158
					1997	3,27231	0,04884
PR10_P_SNP1917		5	1.233.465	1999	3,20249	0,04864	
				2001	3,81251	0,0257	
PR10_P_SNP379		5	1.235.000	MW	3,2013	0,04402	
				1999	4,45926	0,01622	
ERF1_P_SNP595		10	1.820.929	2005	3,41036	0,0374	
				1999	4,34442	0,0179	
ERF1_P_SNP819		10	1.821.153	2005	3,77638	0,02666	
				1994	3,25282	0,04107	
PR10_P_SNP2138		5	1.233.244	1999	5,90245	0,00485	
				2005	7,42604	0,00107	
PR10_P_SNP1917	5	1.233.465	2006	3,39798	0,03611		
			1990	4,15782	0,01897		
PR10_P_SNP379	5	1.235.000	2005	4,54434	0,01321		
			2006	4,17122	0,01727		
ERF1_P_SNP595	10	1.820.929	MW	3,44102	0,03645		
			1990	4,15782	0,01897		

Der Befall mit *Plasmopara* an den Blättern zeigte hingegen keine Assoziation mit einem der Marker. Der Befall an den Beeren wies jedoch Assoziationen mit fünf Markern auf. Besonders hervorzuheben ist auch hier der Marker 36, welcher wieder für die Merkmalsausprägung über drei Jahre und den Mittelwert über alle Jahre signifikant war.

Die einzelnen SNP-Daten wurden zusätzlich auf das Vorhandensein eines Hardy-Weinberg-Gleichgewichts/Ungleichgewichts überprüft. Das Ergebnis für alle acht SNP-Marker ist in Tabelle 11 dargestellt. Lediglich der Marker 35 (PR10-P-SNP2138) erfüllt das HWG, d. h. die Allele des Markers befinden sich im Gleichgewicht und unterlagen keinem Selektionsdruck.

Tabelle 11: Hardy-Weinberg χ^2 -Test für SNP-Marker zum Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$.

SNP #	Allelfrequenz 1	Allelfrequenz 2	χ^2	p-Wert
17	0,81	0,19	19,48	<0,001
42	0,72	0,28	7,63	<0,01
23	0,67	0,33	7,11	<0,01
29	0,64	0,36	15,39	<0,001
35	0,6	0,4	3,3	>0,05
48	0,59	0,41	6,32	<0,05
11	0,84	0,16	114,08	<0,001
36	0,5	0,5	125,77	<0,001

3.4 Untersuchung der hormonellen Regulation von Genen der Pathogenabwehr

Im zweiten Teil der Arbeit sollten differentielle Genexpressionsstudien für Gene der Pathogenabwehr durchgeführt werden. Es wurde untersucht, ob Unterschiede in der Genexpression zwischen einem anfälligen (‘Lemberger’) und resistenten (‘Regent’) Genotyp 0, 1, 2, 4, 6 und 24 Stunden nach dem Befall mit *Plasmopara viticola* vorliegen. Außerdem wurde noch untersucht, ob die Phytohormone Salicylsäure, Methyljasmonat und Ethylen einen Effekt auf die Expression dieser Gene haben. Die Studien umfassen 48 Gene, wobei vier davon klassische Housekeeping Gene (HKG) sind. Die untersuchten Gene umfassen die Kandidatengene aus Kapitel 3.1. Außerdem sind in dem Set auch Kandidatengene des *Rpv10*-Locus enthalten (Schwander et al., 2012). Zusätzlich wurden Gene ausgewählt, deren Beteiligung an der Pathogenabwehr bereits bei *Arabidopsis thaliana* oder anderen Pflanzen untersucht worden war. Für diese Gene wurden Homologe in der Weinrebe gesucht und anschließend Primerpaare entwickelt. Die komplette Auflistung der Gene ist im Kapitel 2.2.12 zu finden. Im Rahmen der Arbeit werden nur die wichtigsten Ergebnisse vorgestellt.

Die Daten aller signifikant veränderten Gene sind im Anhang 5 zu finden. Die Veränderung der Genexpression wurde nur dann als signifikant gewertet, wenn die Expression mindestens zweifach induziert oder reprimiert wurde.

Die Gene *EIN3*, *MPK4*, *Myc2*, *RAR1*, *SGT1*, *TGA2.2*, *Why1* und *WRKY7* wurden nicht in ihrer Expression beeinflusst. *JAR1*, *NPR1*, *NPR3.2*, *TGA2.1* und *VRP1-1* wurden fast gar nicht in der Expression verändert. Die Gene wurden ein- bis dreifach reprimiert oder blieben unverändert.

Der erste biologische Versuch unterschied sich deutlich in der Genauigkeit von den anderen unabhängig durchgeführten Versuchen (Abbildung 26). Das HKG *SAND* wies hier deutliche Schwankungen bei den Ct-Werten auf. Diese blieben auch bei den technischen Wiederholungen erhalten. Die erhaltenen Daten wurden dennoch verrechnet.

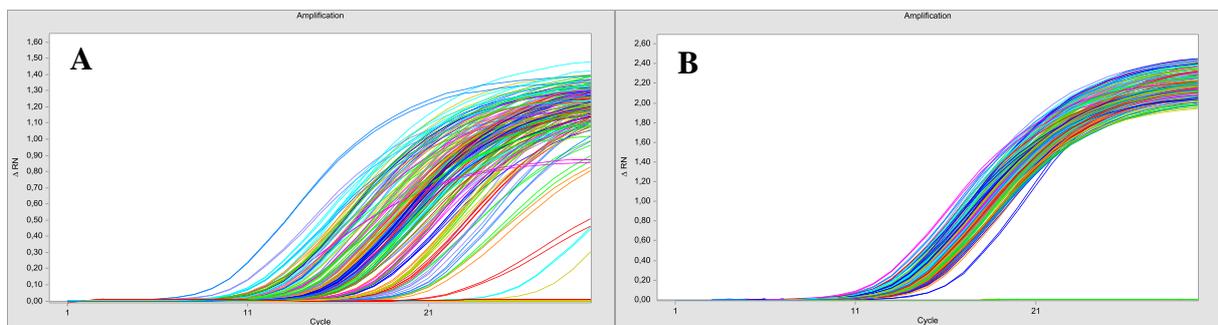


Abbildung 26: Darstellung der Amplifikationskurven des „Housekeeping“ Gens (HKG) *SAND* für zwei unabhängig durchgeführte Genexpressionsversuche (A, B). Die Diagramme stellen die Änderung des Fluoreszenzsignals über alle Zyklen der quantitativen Real-Time PCR dar. A: Das HKG *SAND* weist deutliche Schwankungen in der Expression aller Proben auf. B: Das HKG *SAND* ist gleichbleibend stabil für alle Proben.

Im ersten Abschnitt sollen die Ergebnisse der differentiellen Genexpressionsanalysen ohne zusätzliche Hormongabe vorgestellt werden. Der Fokus wird hier auf die Gene *CZF1/ZFAR1*, *ERF5*, *PR10.1* und *WRKY33* gelegt. Die Gene *ERF5* und *WRKY33* wurden bereits eine Stunde nach der Inokulation mit *Plasmopara viticola* bei 'Regent' induziert. *ERF5* wurde 2,44-fach und *WRKY33* 3,1-fach induziert. Bei 'Lemberger' dagegen erfolgte keine Induktion der Gene (Abbildung 27). Die Expression von *WRKY33* wurde auch zwei Stunden nach der Inokulation bei 'Regent' 3,3-fach verstärkt, sank danach aber in den nicht induzierten Zustand ab. Dafür wurden sechs Stunden nach der Inokulation die beiden Transkriptionsfaktoren *CZF1/ZFAR1* (5,6-fach) und *ERF5* (4,6-fach) bei 'Regent' induziert. Zusätzlich wurde auch *PR10.1* 7,6-fach in seiner Expression verstärkt. Bei 'Lemberger' wurde keine Verstärkung der Expression festgestellt.

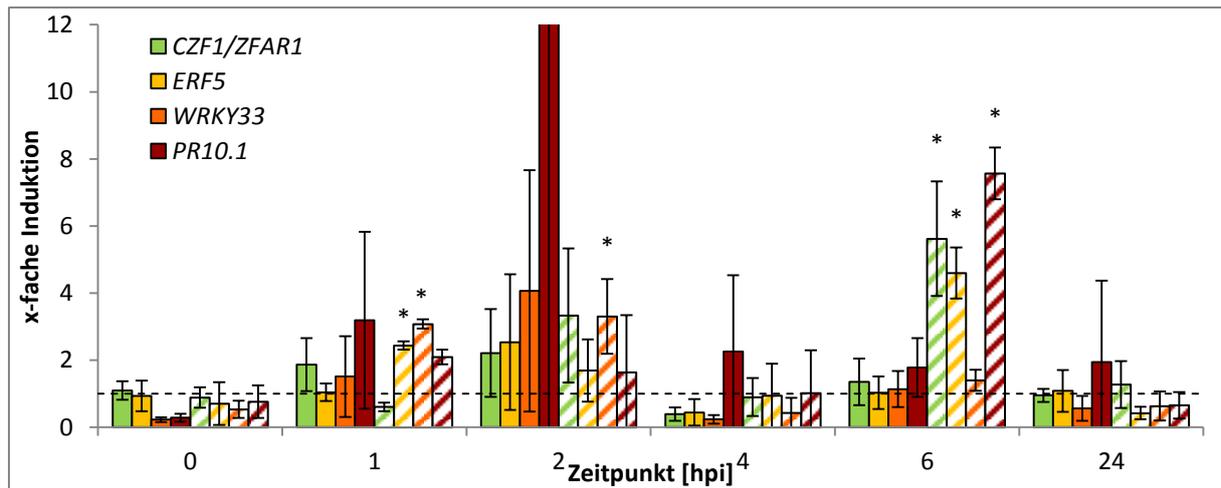


Abbildung 27: Induktion der Gene *CZF1/ZFAR1*, *ERF5*, *WRKY33* und *PR10.1* für 'Regent' (gestreift) und 'Lemberger' (gefüllt) nach dem Befall mit *Plasmopara viticola*. Die relative Genexpression (x-fache Induktion) wurde durch den Unterschied der inokulierten Proben zu nicht-infizierten Proben bestimmt. Als Referenzgen wurde *SAND* verwendet. Die gestrichelte Linie markiert den nicht induzierten Zustand. 'Lemberger' *PR10.1* wurde zwei Stunden nach der Inokulation 34,4-fach mit einer Standardabweichung von 40 induziert. Da dieser Wert nicht signifikant ist, wurde das Diagramm für die Übersicht verkürzt dargestellt. * Signifikant zum Niveau $\alpha = 2,5\%$.

Als Nächstes soll der Fall betrachtet werden, dass die Pflanzen 24 Stunden vor der Inokulation mit *Plasmopara viticola* mit Salicylsäure (100 μM) vorbehandelt worden waren. In der Abbildung 28a ist der Effekt der Salicylsäure-Behandlung vier Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* für alle Datenpunkte, d.h. in drei biologischen unabhängigen Durchführungen mit je vier technischen Wiederholungen, dargestellt. Direkt daneben wurde das Ergebnis für den gleichen Zeitpunkt und die gleiche Behandlung der Proben für lediglich zwei biologisch unabhängige Durchführungen gestellt (Abbildung 28b). Die Standardabweichung wurde durch das Einbeziehen der Daten der ersten biologischen Durchführung stark verzerrt. Die Induktion der Gene *Ankyrin2*, *DREB3*, *JAZ*, *NBS-LRR1*, *NBS-LRR2*, *NDR1*, *PAL*, *PDF1.2*, *PR5*, *VRP1-2* und *VRP1-3* für den resistenten Genotyp 'Regent' war bereits erkennbar und zum Niveau $\alpha = 2,5\%$ ebenfalls signifikant. Die Genauigkeit war aber ohne die Daten der ersten Durchführung besser. Zusätzlich war hier auch das Gen *NPR3.1* bei 'Regent' 3,7-fach in der Expression verstärkt, aber nicht bei dem anfälligen Genotyp 'Lemberger'.

Das Gen *Ankyrin2* wurde 25,1-fach induziert. Die Expression des Gens *NDR1* (Non-race specific disease resistance1) wurde 14,4-fach verstärkt. Die Verstärkung der Expression war ebenfalls für die Gene *JAZ* (Jasmonate ZIM Domain Protein, 13,9-fach) und den Transkriptionsfaktor *DREB3* (Dehydration responsive element-binding protein3, 13,6-fach) der AP2/ERF-Familie messbar. Die Expression der Gene wurde bei 'Lemberger' nicht beeinflusst.

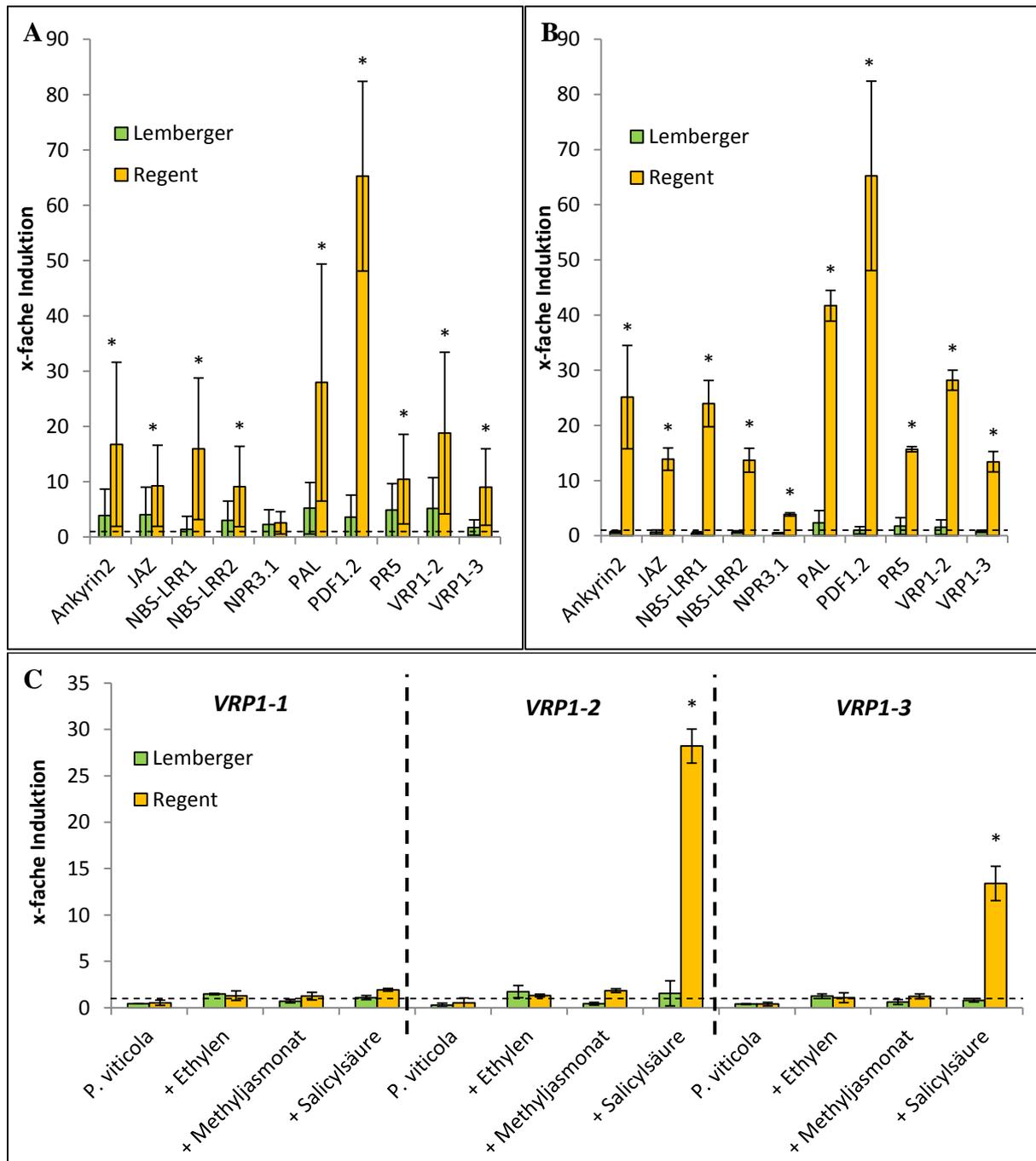


Abbildung 28: Effekt der Salicylsäure-Behandlung auf die Expression verschiedener Resistenzgene von 'Regent' und 'Lemberger' vier Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola*. A, B: Die Gene *NBS-LRR1*, *NBS-LRR2*, *Ankyrin2*, *JAZ1*, *NPR3.1*, *PAL*, *PDF1.2*, *PR5*, *VRP1-2* und *VRP1-3* wurden bei 'Regent' vier Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* und einer vorangegangenen Salicylsäure-Behandlung (100 µM) in der Expression verstärkt. A – alle Datensätze wurden verrechnet. B – die erste biologische Durchführung wurde nicht in die Berechnung einbezogen. C: *VRP1-2* und *VRP1-3* wurden bedingt durch die Behandlung mit Salicylsäure bei 'Regent' vier Stunden nach der Inokulation in der Expression verstärkt. Die Expression von *VRP1-1* bleibt unverändert. Die Berechnung erfolgte für zwei unabhängig biologische Wiederholungen mit je vier technischen Durchführungen. Als „Housekeeping“ Gen wurde *SAND* verwendet. * Signifikant zum Niveau $\alpha = 2,5\%$.

Das Pflanzen-Defensin-Gen *PDF1.2* wurde bei 'Regent' am stärksten induziert (65,2-fach). Auch hier wurde die Expression bei 'Lemberger' nicht verändert. Es wurde aber auch ein Gen des Phenylpropanoid-Stoffwechsels induziert. Die *PAL* (Phenylalanin ammonia lyase) wurde 41,7-fach bei 'Regent' induziert. Ebenfalls wurde *PR5* (Pathogenesis-related Protein5) von

‘Regent’ durch die Applikation von Salicylsäure und der anschließenden Inokulation mit *P. viticola* 15,7-fach in der Expression verstärkt. *PR5* von ‘Lemberger’ blieb unverändert.

Die vier Resistenzgene *NBS-LRR1*, *NBS-LRR2*, *VRP1-2* und *VRP1-3* vom NBS-LRR-Typ wurden vier Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* und einer vorausgegangen Applikation von Salicylsäure bei ‘Regent’ deutlich in der Expression verstärkt. *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* wurden 24- bzw. 13,7-fach verstärkt (Abbildung 28b). Es wurden drei *VRP1*-Varianten in den Genexpressionsstudien untersucht. *VRP1-2* und *VRP1-3* wurden 28,2- bzw. 13,4-fach induziert nach der Behandlung mit Salicylsäure. *VRP1-1* dagegen blieb unverändert. Alle *VRP1*-Varianten wurden nach der Inokulation mit *P. viticola* ohne Vorbehandlung mit Salicylsäure nicht in ihrer Expression verändert. Die Expression der Gene wurde auch durch die vorherige Applikation von Ethylen und Methyljasmonat nicht verändert (Abbildung 28c). Die Resistenzgene blieben ebenso in ‘Lemberger’ in ihrer Expression unverändert.

Die Transkriptionsfaktoren *EIN2* und *ERF1* sind bei allen Genexpressionsanalysen besonders aufgefallen. Die Amplifikationskurven des Transkriptionsfaktors konnten eindeutig den beiden Genotypen ‘Lemberger’ und ‘Regent’ zugeordnet werden. *ERF1* von ‘Regent’ wies Ct-Werte von 12 – 15 auf, dagegen wurden für den Transkriptionsfaktor von ‘Lemberger’ nur Ct-Werte von 21 – 26 erreicht (Abbildung 29). Dies resultierte in einem 1000-fachen Expressionsunterschied (siehe Abbildung 31 oben).

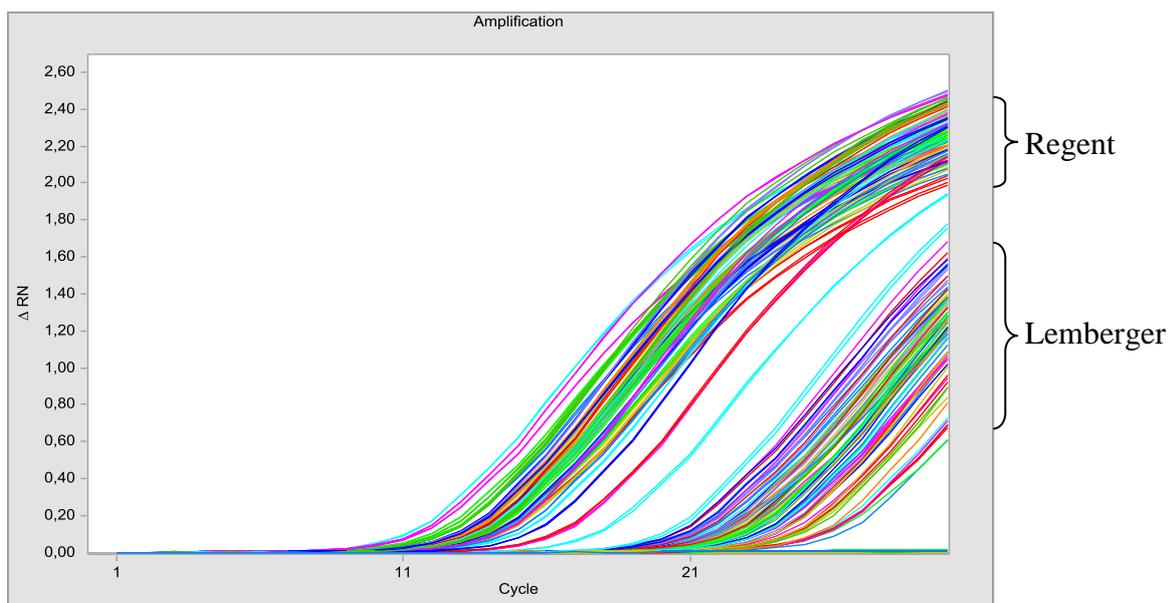


Abbildung 29: Amplifikationskurven der Genexpressionsanalyse von *ERFI* für *in vitro* Reben von 'Regent' und 'Lemberger' infiziert mit dem *Plasmopara viticola*.

Die verwendeten Primer waren von Leocir Welter im Rahmen seiner Doktorarbeit entwickelt worden (Welter, 2008). Um sicher zu gehen, dass das Primerpaar auch den gewünschten Faktor *ERFI* amplifiziert, wurden die Primer bei der Datenbank Genoscope (<http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>) überprüft (Abbildung 30). Das Primerpaar von Leocir Welter bindet laut Annotation von Genoscope im Intron des Gens. Es gibt allerdings auch EST-Sequenzen, die diesen Bereich mit abdecken. Um sicher zu stellen, dass der Bereich wirklich amplifiziert wird, wurden neue Primerpaare in dem angrenzenden Exon entwickelt.

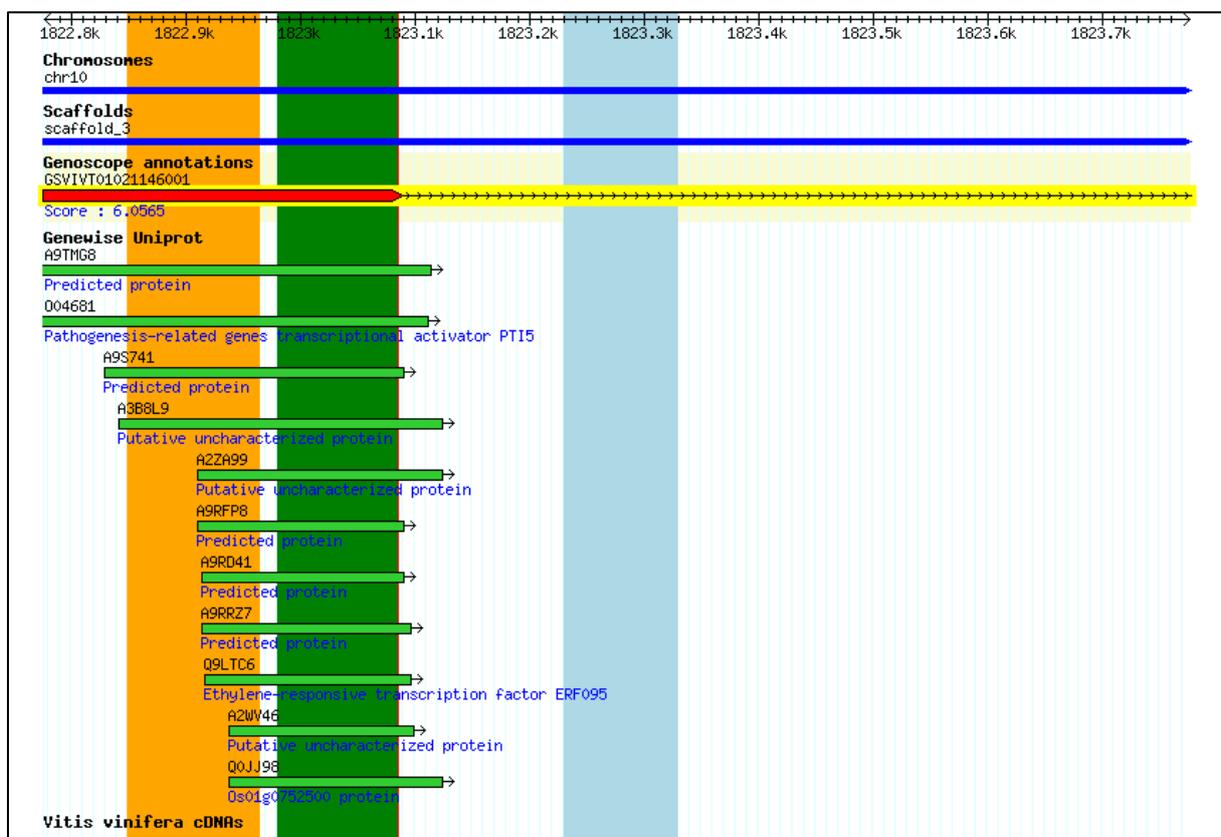


Abbildung 30: Lokalisation der Amplifikate von den Primerpaaren *ERFI* (Primer von Leocir Welter, hellblau), *ERFI-1* (orange) und *ERFI-2* (grün) auf dem Chromosom 10 von PN40024.

Alle 4 Primerpaare für *ERFI* wurden mittels Real-Time PCR für *in vitro* Material von 'Regent' und 'Lemberger' überprüft. Da der Expressionsunterschied auch für nicht infiziertes Material vorlag, wurde für die Überprüfung die RNA „Mock“-behandelter Proben verwendet. Das Ergebnis zeigte, dass die Expression von *ERFI* von 'Regent' nicht mehr 1000-fach erhöht war gegenüber dem Transkriptionsfaktor von 'Lemberger' (Abbildung 31). Im Gegenteil war die Expressionsrate bei 'Regent' nun sogar kleiner. Allerdings zeigten alle drei Primerpaare *ERFI-1*, *ERFI-2* und *ERFI-3* das gleiche Ergebnis.

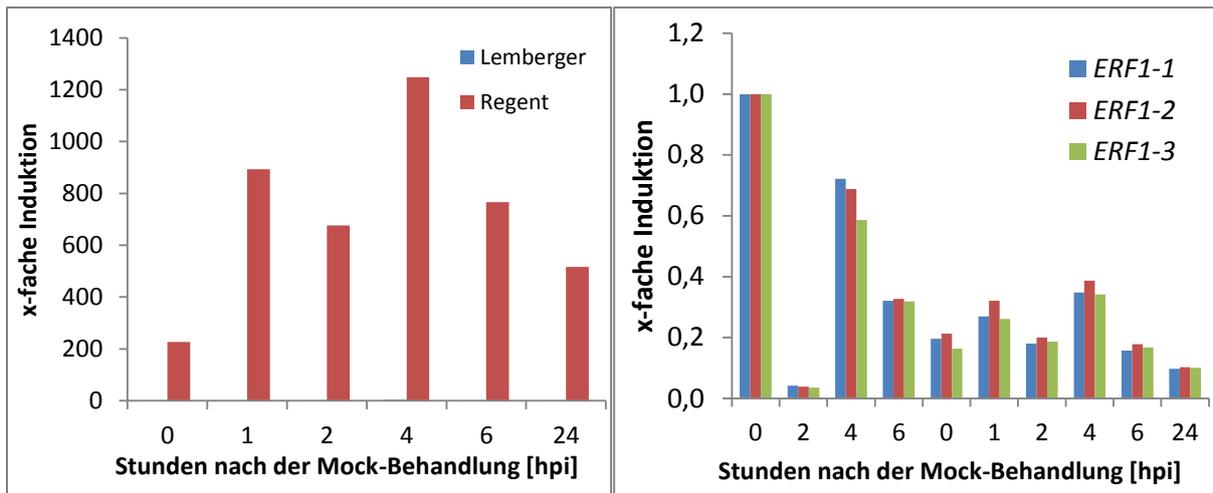


Abbildung 31: Links: Ergebnis der Genexpressionsanalyse von *ERF1* (Primer von Leocir Welter). Rechts: Ermittelte Induktionsraten für *ERF1-1*, *ERF1-2* und *ERF1-3*.

Um sicher zu stellen, dass das Primerpaar *ERF1* sich in der Expressionsanalyse nicht von den anderen drei Primerpaaren unterscheidet, wurde abschließend eine Real-Time PCR mit *ERF1* und *ERF1-1* durchgeführt. Es war deutlich erkennbar, dass *ERF1* für 'Regent' zu einer höheren Induktion als *ERF1-1* führte. Für 'Lemberger' hingegen unterschieden sich die Induktionsraten nicht (Abbildung 32). Dies zeigt, dass es bei 'Regent' zwei unterschiedliche *ERF1*-Varianten gibt.

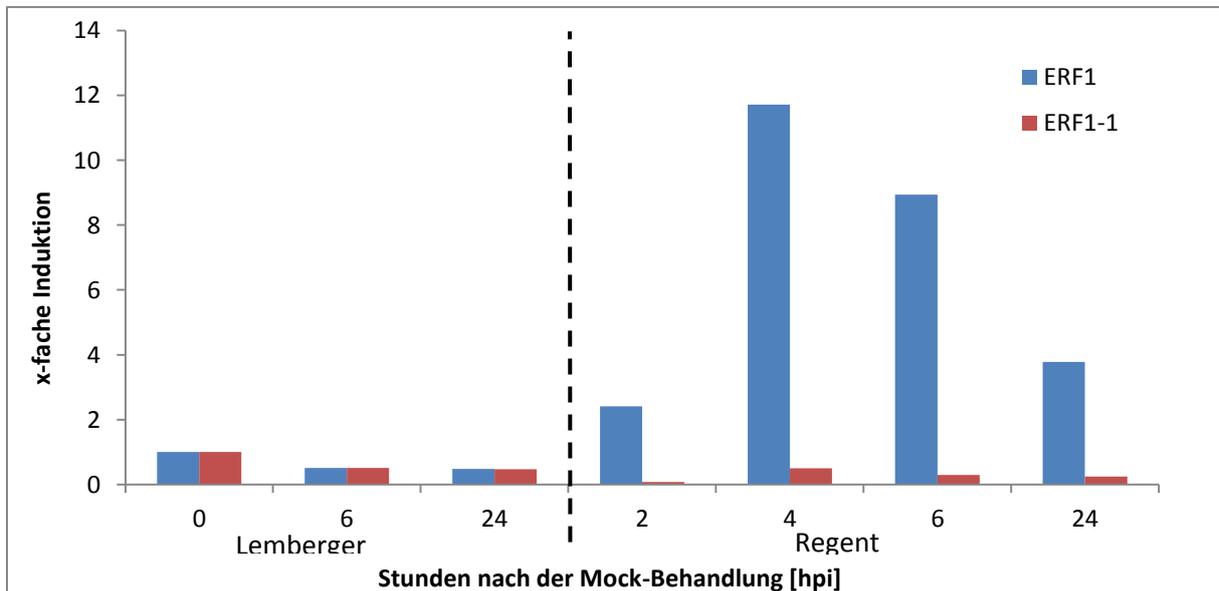


Abbildung 32: Ergebnis der Real-Time PCR mit *ERF1* und *ERF1-1* für nicht infiziertes *in vitro* Material von 'Regent' und 'Lemberger'

3.5 Genexpressionsanalysen von Einzelloci-tragenden Genotypen

Für die Genexpressionsanalysen der hormonellen Regulation wurde ein Primerset für Gene, die an der Resistenzabwehr beteiligt sind, entwickelt (siehe Kapitel 3.4). Mit diesem Set wurden nun Genotypen analysiert, die nach genetischen Analysen mit Merkmals-gekoppelten Markern einen einzelnen Resistenzlocus gegen *Plasmopara viticola* aufweisen. Der Versuch

sollte vor allem aufzeigen, ob Unterschiede in der Expression der Kandidatengene für unterschiedliche Resistenzloci existieren, d.h. ob eventuell die Pathogenabwehr verschiedenartig abläuft. Die Untersuchung wurde mit Pflanzen durchgeführt, die einen der drei Resistenzloci *Rpv3*, *Rpv10* und *Rpv12* (*Rpv* = Resistenz gegen *Plasmopara viticola*) tragen. Die drei Loci sind unterschiedlicher genetischer Herkunft. *Rpv3* wurde in der Kreuzungspopulation 'Regent' x 'Lemberger' bei 'Regent' identifiziert (Welter *et al.*, 2007), *Rpv10* in einer Kreuzungspopulation von 'Solaris' und dem Zuchtstamm Gf.Ga52-42 (Schwander *et al.*, 2012) und *Rpv12* in der Kreuzungspopulation 99-1-48 x 'Pinot noir' (Venuti *et al.*, 2013). Die Resistenzträger von *Rpv10* und *Rpv12* stammen von der asiatischen Wildrebe *Vitis amurensis* ab, welche in 'Solaris' und in den Zuchtstamm 99-1-48 eingekreuzt worden ist.

Bei dem Pflanzenmaterial handelte es sich meist um Freilandmaterial (siehe Tabelle 12). Lediglich das Blattmaterial der für den *Rpv10* Locus homozygoten Pflanze stammte aus dem Gewächshaus. Die physiologischen Bedingungen sind daher nicht mit denen von *in vitro* Pflanzen zu vergleichen und der Zeitpunkt der höchsten Expression musste daher zumindest für eine Sorte in einem Vortest detailliert bestimmt werden. Die Wahl der Sorte fiel hierbei auf 'Regent', da diese Sorte den Locus *Rpv3* trägt und bereits in den vorangegangenen Analysen getestet worden war. Für die Genexpressionsanalysen wurden die Zeitpunkte 0, 1, 2, 4, 6, 8 und 10 Stunden nach der Inokulation mit *Plasmopara viticola* ausgewählt. Für die Voranalysen wurden die Primerpaare für *CZF1*, *EDS1*, *EIN2*, *ERF1*, *ERF5*, *Ankyrin2*, *Myb*, *NHL10*, *PAL*, *PR10.1*, *PR5* und das HKG (Housekeeping Gen) *GAPDH* ausgewählt. Diese Gene wurden getestet, da sie bei den vorherigen Genexpressionsanalysen für 'Regent' signifikant hochreguliert gewesen waren. In der Abbildung 33 sind die Expressionsänderungen der verschiedenen Gene gegenüber dem Nullzeitpunkt dargestellt. *CZF1*, *ERF5* und *PAL* waren bis zu 100-fach reprimiert. Dagegen war bei den Genen *EIN2* und *ERF1* eine 4 – 13-fache Verstärkung der Expression erkennbar. Nach sechs bzw. acht Stunden war die Induktion am stärksten. In Folge dessen wurde als Zeitpunkt der nachfolgenden Analyse die Probennahme acht Stunden nach der Inokulation mit *Plasmopara viticola* vorgenommen.

Tabelle 12: Genotypen mit einem einzelnen genetisch definierten *Plasmopara*-Resistenzlocus (*Rpv3*, *Rpv10* oder *Rpv12*) mit den Angaben zu den Eltern und ihrer Akzessionsnummer im Rebsortiment.

Nr.	Kultivar	Elter 1	Elter 2	Akzessions-Nr.	<i>Rpv</i>
1	GfGa-52-42	Bacchus Weiss	Villard Blanc	DEU098-2010-069	3
2	Galja	Seibel 13666	Aleatico	DEU098-1988-076	3
3	Regent	Diana	Chambourcin	DEU098-1980-701	3
4	310	GfGa- 52- 42	Solaris	2008-059-310	3
5	347	GfGa- 52- 42	Solaris	2008-059-347	3
6	<i>Rpv10</i> Homozygot	Solaris	2000-305-0051	2011-003-013	10
7	Olimpijec	Cabernet Sauvignon x Muskat Donskoj	Stepnyak	DEU098-1993-093	10
8	Rondo	Zarya Severa	Saint Laurent	DEU098-1998-008	10
9	Severnyi	Seyanets Malengra	<i>V. amurensis</i> Ruprecht	DEU098-1993-151	10
10	Solaris	Merzling	Geisenheim 6493	DEU098-2001-044	10
11	316	GfGa- 52- 42	Solaris	2008-059-316	10
12	Agat Donskoi	Zarya Severa x Dolores	Russkii Rannii	DEU098-2007-003	12
13	Droujba	Misket Kailachki	Zarya Severa x Muscat Hamburg	DEU098-1990-161	12
14	Kunbarat	<i>Vitis amurensis</i> x <i>Vitis vinifera</i>	Italia	DEU098-1988-060	12
15	Kunleany	<i>V. amurensis</i> x <i>V. vinifera</i>	Afus Ali	DEU098-1988-061	12
16	Michurinets	<i>V. amurensis</i> Ruprecht	Getsh	DEU098-1993-025	12

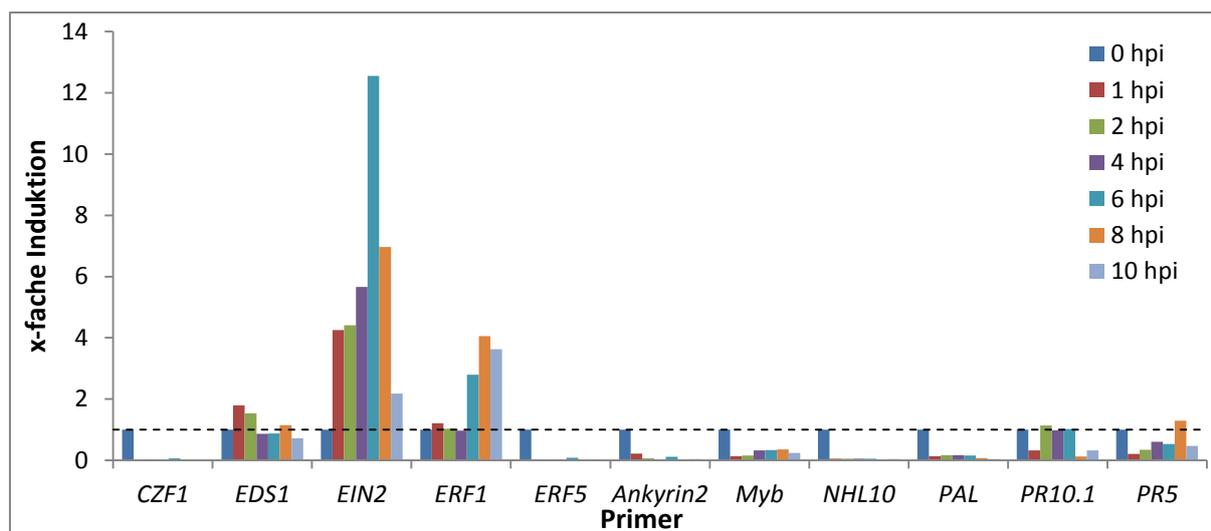


Abbildung 33: Induktion der verschiedenen Kandidatengene für Resistenz bei 'Regent' zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Infektion mit *Plasmopara viticola*. Hpi = hours past inoculation

Für den Hauptversuch wurde das stabilste HKG mit dem Programm Normfinder (Andersen *et al.*, 2004) bestimmt (Tabelle 13). Die Analyse zeigte, dass *SAND* und *UBQ* die stabilsten HKGs sind. Für die weitere Auswertung wurden daher *UBQ* als HKG verwendet.

Tabelle 13: Stabilitätswert und Standardabweichung ausgewählter Gene bestimmt mit dem Programm Normfinder (Andersen *et al.*, 2004).

Gene Name	Stabilitätswert	Standardabweichung
<i>Actin</i>	0,593	0,032
<i>GAPDH</i>	0,519	0,030
<i>TGA2.1</i>	0,387	0,026
<i>TGA2.2</i>	0,448	0,027
<i>SAND</i>	0,459	0,028
<i>UBQ</i>	0,437	0,027

In den folgenden Auswertungen werden die verschiedenen Genotypen aus Gründen der Übersichtlichkeit nur noch mit Zahlen aufgeführt. In der Tabelle 12 ist die Zuordnung aufgeführt. Die Nummern 1 – 5 besitzen den *Rpv3*-Locus, 6 – 11 den *Rpv10*-Locus und 12- 16 den *Rpv12*-Locus.

Für alle Proben wurde der Nullzeitpunkt von Gf.Ga-52-42 als Referenz gewählt. Der Übersicht halber werden hier auch die Daten für die Expressionsänderung der Gene *Actin*, *GAPDH* und *SAND* vorgestellt (Abbildung 34). Diese waren neben *UBQ* auch sehr stabil in der Analyse mit Normfinder. *SAND* wies leichte Schwankungen auf, war aber nicht induziert. Für *GAPDH* dagegen war erkennbar, dass die Expression in allen Versuchen nach acht Stunden verringert war. *Actin* war weitgehend stabil, aber insgesamt in der Expression leicht vermindert.

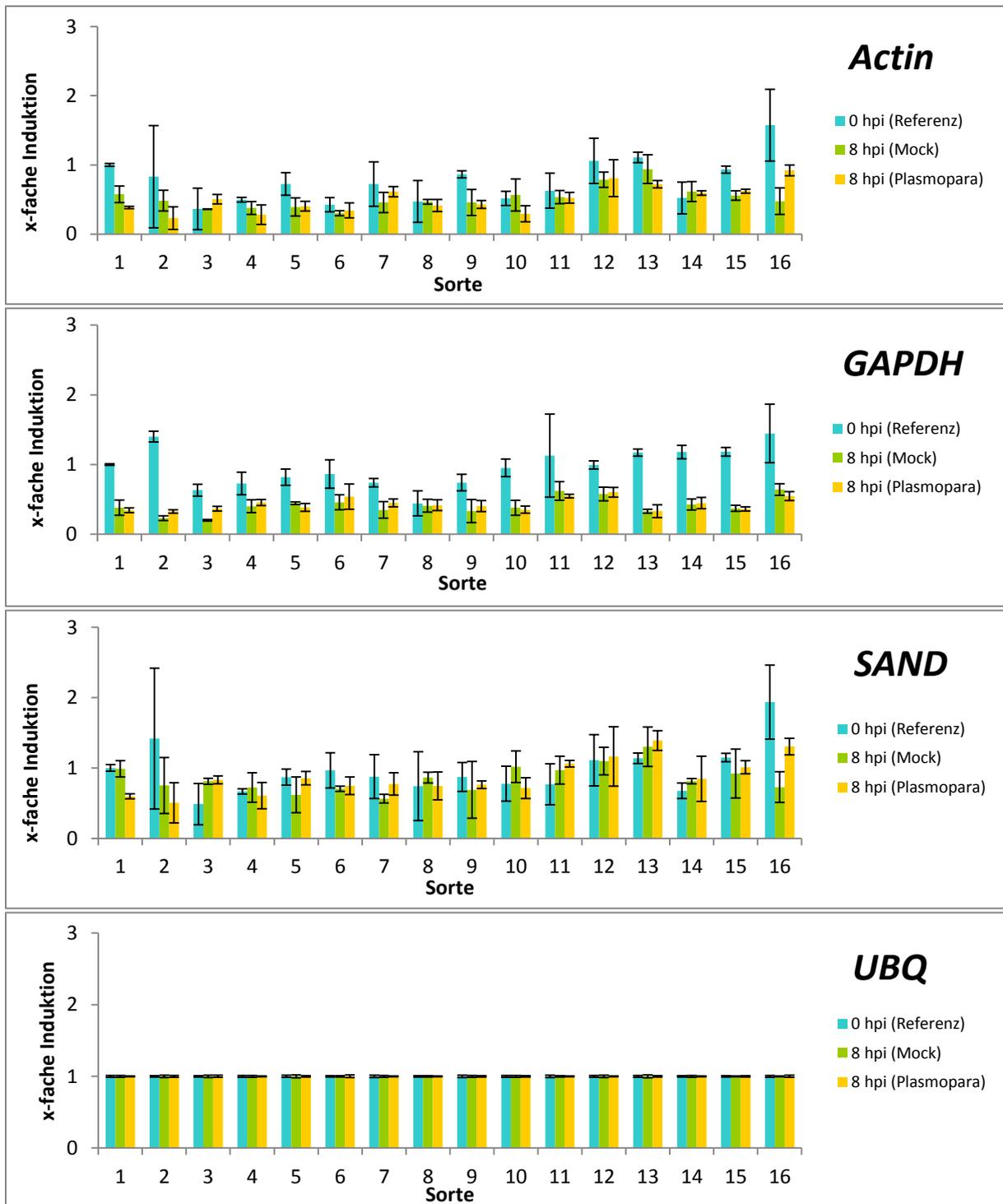


Abbildung 34: Induktion der Housekeeping Gene (*Actin*, *GAPDH*, *SAND* und *UBQ*) für die 16 Einzelloci-tragenden Genotypen zu dem Nullzeitpunkt, sowie acht Stunden nach der Infektion mit Wasser oder *Plasmopara viticola*.

Im Weiteren können auf Grund des großen Umfangs nicht alle Ergebnisse für alle getesteten Gene vorgestellt werden. Der Fokus liegt daher auf den Genen *NBS-LRR1*, *NBS-LRR2*, *EIN2*, *ERF1*, *NPR3.1*, *PR2*, *RAR1*, *SEBF*, *Why1* und *WRKY57*. Die vollständigen Ergebnisse sind im Anhang 6 in Tabellenform aufgeführt.

Die beiden Gene *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* erwiesen sich in den Genotypen mit *Rpv10*-Locus immer als stärker exprimiert, als in den Genotypen mit *Rpv3* oder *Rpv12* (Abbildung 35). Dies zeigt, dass die mRNA der Gene *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* bei Pflanzen mit dem *Rpv10* Locus immer in einer viel größeren Menge vorlag.

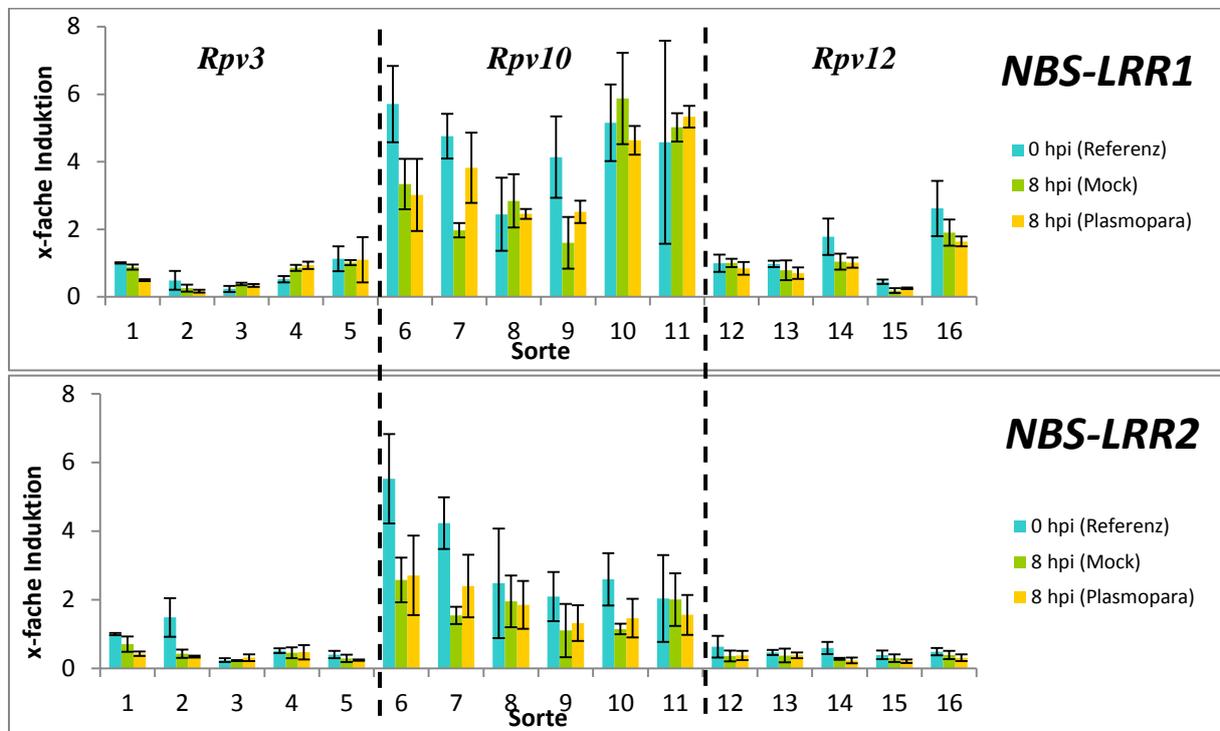


Abbildung 35: Induktion der Gene TC153646 (*NBS-LRR1*) und TC145078 (*NBS-LRR2*) für Einzelloci (*Rpv3*, *Rpv10* und *Rpv12*)-tragender Genotypen zum Nullpunkt sowie acht Stunden nach der Infektion mit *Plasmopara viticola* bzw. Wasser (Mock).

Um sicher zu stellen, dass die beiden Gene bei anfälligen Pflanzen ohne Resistenzlocus nur wenig exprimiert werden, wurde ein weiteres Experiment durchgeführt. Hierfür wurden Blätter vom Zuchtstamm Gf.Ga-52-42, der *Rpv10* Homozygoten, 'Solaris' (alle drei resistent) und der anfälligen Sorte 'Riesling' gesammelt. Die Blätter wurden nicht infiziert direkt in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Es wurde der Nullzeitpunkt vom Zuchtstamm Gf.Ga-52-42 als Referenz verwendet. Das Ergebnis zeigte, dass *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* bei der *Rpv10*-Homozygoten und 'Solaris' wesentlich stärker exprimiert (mind. 12,8-fach bzw. 4,9-fach) waren. Bei 'Riesling' dagegen war keine bzw. nur eine schwache Aktivierung erkennbar. *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* wurden bei *Rpv10*-Trägern mindestens fünfmal stärker exprimiert als bei Genotypen ohne diesen Locus (Abbildung 36).

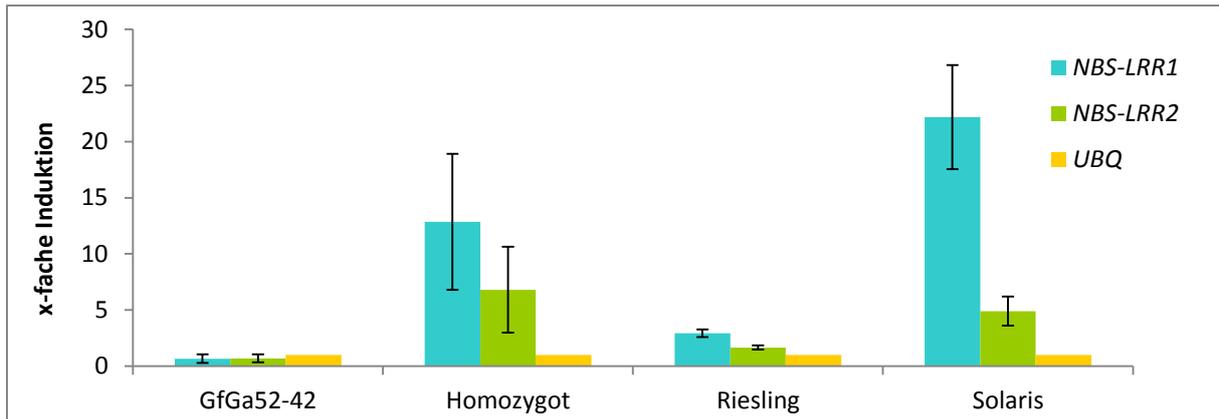


Abbildung 36: Expression der Gene *NBS-LRR1*, *NBS-LRR2* und Ubiquitin (*UBQ*) für die Genotypen Gf.Ga-52-42, die Homozygote für den *Rpv10*-Locus, Riesling und Solaris ohne Inokulation.

Einige Gene waren acht Stunden nach der Inokulation deutlich in ihrer Expression reprimiert. Hierfür sind *SEBF* (silencing elemental binding factor) und *Why1* als Beispiele aufzuführen (Abbildung 37). Beide Gene waren im Vergleich zum Nullzeitpunkt nur noch bis zu einem Hundertstel exprimiert, z. B. bei Gf.Ga-52-42 (1), `Severnyi` (9) oder `Kunbarat` (14). Für die *Rpv10* Homozygote (6) hingegen trat keine Repression auf.

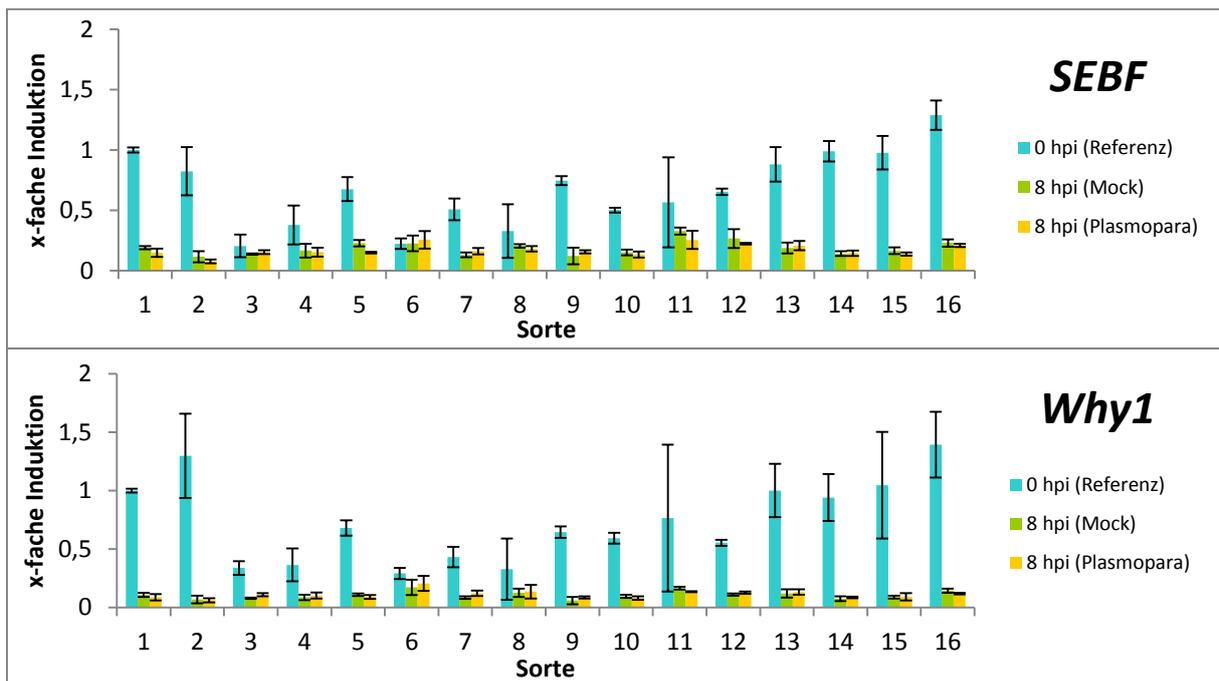


Abbildung 37: *SEBF* und *Why1* werden acht Stunden nach der Infektion mit *Plasmopara viticola* oder Wasser (Mock) reprimiert.

Einige Primer erwiesen sich nicht für alle Genotypen als funktionsfähig. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Weinrebe eine sehr hohe Diversität in ihrem Genom und somit auch Sequenzvariation an den Primerbindestellen aufweist (Emanuelli *et al.*, 2013; Le Paslier *et al.*, 2013). Vor allem das Primerpaar für das Gen *WRKY57* funktionierte lediglich für die drei Genotypen Gf.Ga-52-42, `Olimpijec` und `Droujba` (Abbildung 38).

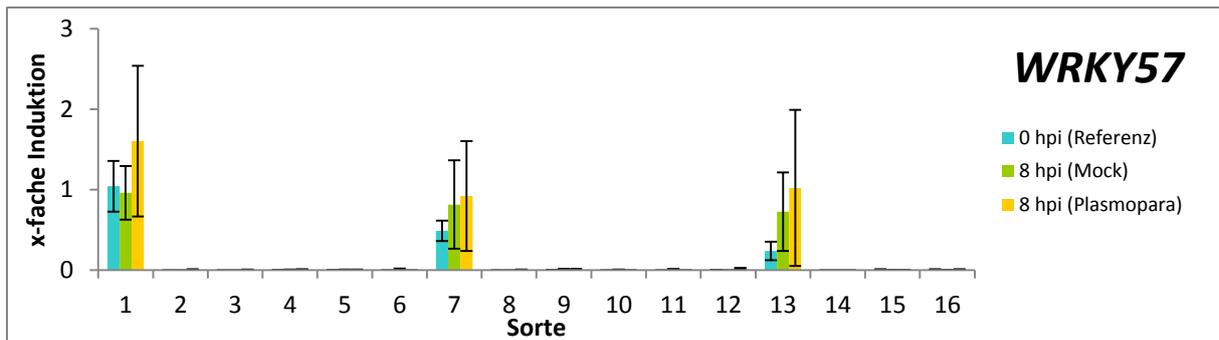


Abbildung 38: Ergebnis der differentiellen Genexpressionsanalysen von *WRKY57* für die 16 Einzelloci-tragenden Sorten.

Die Expression von *NPR3.1* ergab Unterschiede, die nicht auf den entsprechenden Resistenzlocus zurückzuführen waren (Abbildung 39). In den Genotypen `Galja` (2), Homozygot *Rpv10* (6), `Severnyi` (9), `Solaris` (10) und `Droujba` (13) wurde *NPR3.1* im Vergleich mit Gf.Ga-52-42 (1) nur mit dem Faktor 0,01 exprimiert.

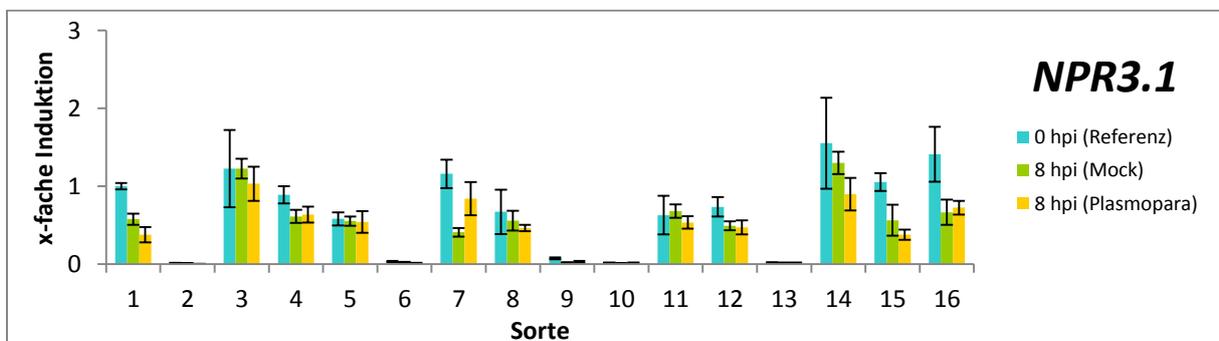


Abbildung 39: *NPR3.1* wird bei den Genotypen `Galja` (2), Homozygot *Rpv10* (6), `Severnyi` (9), `Solaris` (10) und `Droujba` (13) im Vergleich zu Gf.Ga-52-42 (1) kaum exprimiert.

Besonders die PR-Proteine wurden acht Stunden nach der Infektion hochreguliert. Am deutlichsten ausgeprägt war dieses Phänomen bei *PR2* (Abbildung 40), welches zum Teil 30-fach gegenüber dem Nullzeitpunkt induziert war. Nicht alle Genotypen zeigten das gleiche Expressionsmuster. Die Homozygote *Rpv10* (6) zeigte acht Stunden nach der Infektion eine vergleichsweise geringe vierfache Induktion auf.

Neben der höheren bzw. niedrigeren Expression der untersuchten Gene sollte auch analysiert werden, ob eine Hochregulation von Genen durch den Pathogenbefall erfolgte. Um dies zu untersuchen, wurde die „Mock“-Kontrolle jedes Genotyps als Referenz für diesen gesetzt. Als HKG wurde auch hier wieder *UBQ* verwendet. Die Gene *NBS-LRR1* (TC153646) und *NBS-LRR2* (TC145078) zeigten unter Anwendung der o. g. Parameter keine Expressionsunterschiede mehr (Daten nicht gezeigt).

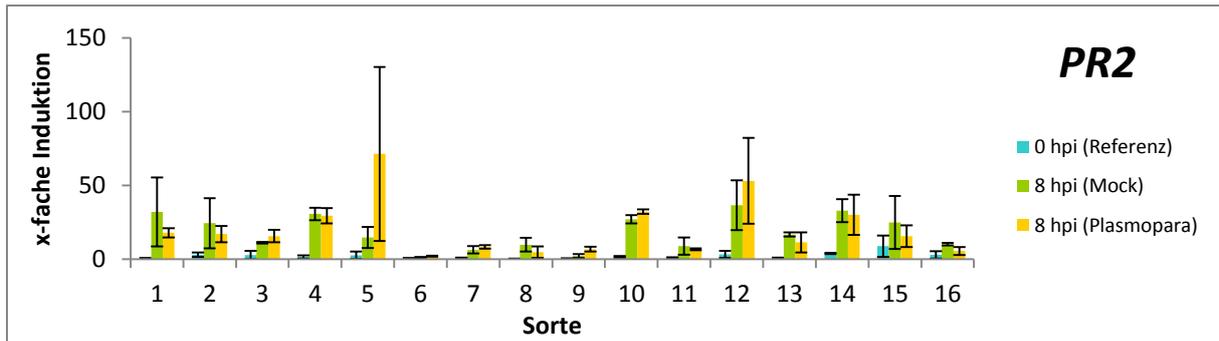


Abbildung 40: Stressinduktion von *PR2* kann acht Stunden nach der Infektion mit *Plasmopara viticola*, aber auch bei der Kontrolle (Mock) beobachtet werden.

Hingegen blieben die Unterschiede von *SEBF* und *Why1* erhalten. Die Expression war acht Stunden nach der Inokulation deutlich inhibiert (Abbildung 41). *PR2* wurde induziert (Abbildung 41). Insgesamt gesehen wurden zwischen den Proben acht Stunden nach der Inokulation kaum signifikante Unterschiede unabhängig von der Behandlung mit Wasser bzw. der Sporangiensuspension nachgewiesen.

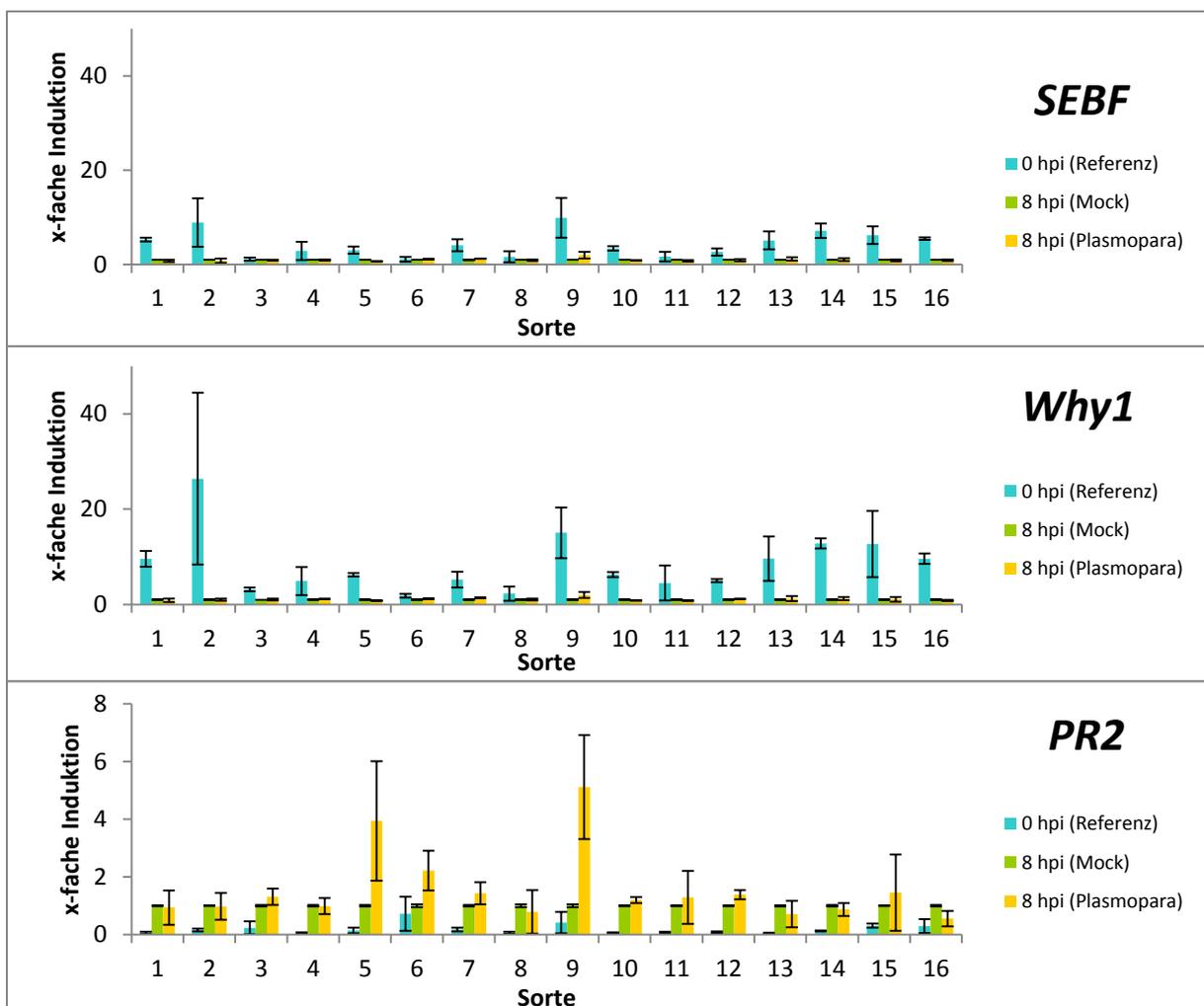


Abbildung 41: Induktion der Gene *SEBF*, *Why1* und *PR2* nach der differentiellen Genexpressionsanalyse für 16 Einzelloci-tragende Genotypen.

4 Diskussion

4.1 *In silico* Analyse von Promotorbereichen

Die Rebe weist eine hohe Diversität in ihrem Genom auf (Emanuelli *et al.*, 2013; Le Paslier *et al.*, 2013). Dies war auch bei den untersuchten Promotorbereichen von *ERF1*, *ERF5*, *MYBB*, *WRKY7*, *WRKY33* und *PR10.1* erkennbar. Die ermittelte durchschnittliche SNP (single nucleotide polymorphism) Frequenz entspricht den Daten für nicht-codierende Regionen von *Vitis vinifera* (Lijavetzky *et al.*, 2007; Riahi *et al.*, 2013a; Riahi *et al.*, 2013b) oder *Zea mays* (Ching *et al.*, 2002). Die Häufigkeit von Insertions-/Deletionsereignissen variiert stark. Die hier beobachtete Rate von 1/210 ist vergleichbar mit den Raten von Mais (1/126-1/186 bp; (Ching *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2009), Apfel (1/133 bp; (Micheletti *et al.*, 2011)), Sonnenblume (1/277 bp; (Kolkman *et al.*, 2007)) und der Rebe (1/450; (Velasco *et al.*, 2007)). Im Gegensatz zu Melone (1/3009 bp; (Deleu *et al.*, 2009)) und Pfirsich (1/4189 bp; (Aranzana *et al.*, 2012)) ist die beobachtete Rate für Insertions-/Deletionsereignisse wesentlich kleiner. Bedingt durch die hohe Variabilität im Genom können auch die Primerbindestellen, welche von der Referenzsequenz abgeleitet wurden, in ihrer Sequenz variieren. Dies könnte eine Ursache für die fehlgeschlagenen Amplifikationen der Promotoren sein. Die untersuchten Transkriptionsfaktoren (z.B. *ERF5*, *WRKY33* oder *MYBB*) gehören zu großen Genfamilien. Bislang sind 98 WRKY Transkriptionsfaktoren (Velasco *et al.*, 2007) und 279 MYB Transkriptionsfaktoren bei der Weinrebe (Bogs *et al.*, 2007; Czermel *et al.*, 2009; Höll *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2014; Velasco *et al.*, 2007) beschrieben. Diese weisen eine sehr hohe Ähnlichkeit untereinander auf. Aufgrund dessen, war es möglich mit den Primerpaaren die Promotorbereiche mehrerer WRKY- oder MYB-Faktoren zu amplifizieren. Dies resultierte in einer erhöhten Anzahl an Promotorvarianten.

Die Analyse der *cis*-regulativen Elemente für den *PR10.1* Promotor zeigte, dass mehrere potentielle Bindestellen für die Transkriptionsfaktoren der WRKY-, ERF- und MYB-Familien vorliegen. Es wurde gezeigt, dass die W-Box (TGAC) für WRKY-Transkriptionsfaktoren (Eulgem *et al.*, 2000; Rushton *et al.*, 1996; Zhang *et al.*, 2004), ERE (TAAGAGCCGCC, Ethylene responsive element) für ERF-Transkriptionsfaktoren (Itzhaki *et al.*, 1994; Rawat *et al.*, 2005; Tapia *et al.*, 2005; Van der Does *et al.*, 2013) und MBS (MYB binding site) - Element für MYB-Faktoren (Maeda *et al.*, 2005; Solano *et al.*, 1995; Urao *et al.*, 1993) Bindestellen darstellen. Dies sind Hinweise auf mögliche Interaktionspartner des *PR10.1* Promotors.

Zusätzlich wurden auch *cis*-regulative Elemente identifiziert, welche die Expression verringern. Die Bindestelle für *SEBF* (silencing elemental binding factor) wurde bereits für den *PR10*-Promotor der Kartoffel charakterisiert (Boyle & Brisson, 2001). Im nichtinduzierten Zustand der Pflanze ist *SEBF* an den Promotor gebunden. In Folge dessen kann der Transkriptionsapparat nicht an den Promotor binden und es wird kein *PR10* gebildet. Dieses Element wurde auch hier bei der Rebe identifiziert und fehlt lediglich bei dem Allel B des *PR10.1* Promotor von 'Regent', welcher vom resistenten Elter 'Chambourcin' abstammt.

4.2 Transkriptionelle Regulation von *PR10.1*

Der duale Luciferaseassay ist eine gut etablierte Methode zur Analyse der transkriptionellen Regulation von Promotoren (Bogs *et al.*, 2007; Czermel *et al.*, 2009; Deluc *et al.*, 2008; Walker *et al.*, 2007). Der *PR10* Promotor wurde u.a. bereits für *Pinus monticola* (Liu & Ekramoddoullah, 2003; Liu *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2013), *Asparagus officinalis* (Mur *et al.*, 2004), *Malus x domestica* (Pühringer *et al.*, 2000) und *Solanum tuberosum* (Boyle & Brisson, 2001; González-Lamothe *et al.*, 2008; Vaas *et al.*, 2013) untersucht. Es wurde hierbei festgestellt, dass der *PR10*-Promotor durch Verwundung (Liu *et al.*, 2005; Mur *et al.*, 2004), Stress (Pühringer *et al.*, 2000; Vaas *et al.*, 2013) oder Pathogenbefall (Liu *et al.*, 2005; Mur *et al.*, 2004; Pühringer *et al.*, 2000) induzierbar ist. Für den *PR10* Promotor von *Solanum tuberosum* wurde gezeigt, dass der Promotor nach Pathogenbefall durch den Whirly-Transkriptionsfaktor *Why1*, welcher an das *cis*-regulative Element ERE bindet, induzierbar ist (Desveaux *et al.*, 2000; González-Lamothe *et al.*, 2008).

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass *PR10.1* durch die Transkriptionsfaktoren *WRKY33*, *ERF5* und *CZF1* positiv reguliert wird. Die positive Regulation erfolgte sowohl bei 'Regent' als auch bei 'Lemberger'. Der Transkriptionsfaktor *MYBB* konnte den Promotor von *PR10.1* nur dann regulieren, wenn der Transkriptionsfaktor von 'Lemberger' mit dem Resistenz-vermitteltem Allel des Promotors von 'Regent' zusammen kam. Diese Kombination kommt aber in der Natur nicht vor, daher ist es wahrscheinlich, dass *MYBB* die Transkription von *PR10.1* nicht regulieren kann.

4.3 Analyse des Transkriptionsfaktors *ERF5*

Der Transkriptionsfaktor *ERF5* spielt eine Rolle in der Pathogenabwehr (Moffat *et al.*, 2012; Welter, 2008). Bei *A. thaliana* konnte sogar gezeigt werden, dass *ERF5* an der Chitin-induzierten angeborenen Immunabwehr beteiligt ist (Son *et al.*, 2011). In der Weinrebe gibt es zwei *ERF5*-Varianten. Diese wurden als *ERF5*-PN1 (kurz: *ERF5-1*) und *ERF5*-PN2 (kurz:

ERF5-2) bezeichnet. Beide Varianten sind auf dem Chromosom 16 des Genoms lokalisiert. Es konnte gezeigt werden, dass beide Varianten bei 'Regent' und 'Lemberger' vorkommen. Außerdem wurde gezeigt, dass beide *ERF5*-Varianten sechs Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* bei *in vitro* Pflanzen von 'Regent' und 'Lemberger' in der Expression verstärkt werden. Die Expression von *ERF5* von 'Regent' wird auch nach der Inokulation mit *E. necator* induziert (Welter, 2008). Dies zeigt, dass *ERF5* der Weinrebe an der Resistenzabwehr gegen verschiedene Pathogene beteiligt ist. In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, dass bei 'Regent' die Expression von *ERF5-1* wesentlich stärker induziert wird als die Expression von *ERF5-2*. Bei 'Lemberger' hingegen werden beide Varianten gleich schwach induziert. Dies deutet daraufhin, dass *ERF5-1* eine wichtigere Rolle bei der Pathogenabwehr einnimmt. Um diese Hypothese zu überprüfen, sollte ein anfälliger Genotyp mit dem konstitutiv exprimierten *ERF5*-Varianten von 'Regent' und 'Lemberger' stabil transformiert werden. Da bisher nicht bekannt ist, welche Gene *ERF5* reguliert, wäre eine Alternative der Knockout der *ERF5*-Varianten in 'Regent' über einen RNAi-Ansatz. Eine anschließende Infektion mit *P. viticola* oder *E. necator* könnte zeigen, welche *ERF5*-Variante einen Einfluss auf die Resistenz hat.

4.4 Assoziationsanalysen für SNP-Daten der Core-Kollektion von resistenten Weinreben

SNP-Marker sind ein leistungsstarkes Werkzeug zur Unterstützung der Marker-gestützten Selektion. Ihr Vorteil gegenüber SSR (single sequence repeat) – Markern besteht in der höheren Verfügbarkeit und Stabilität (Lijavetzky *et al.*, 2007). SNP-Marker werden immer häufiger in der Weinrebe eingesetzt (Lijavetzky *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2013; Myles *et al.*, 2010; Salmaso *et al.*, 2008; Troggio *et al.*, 2007; Vezzulli *et al.*, 2008) und können ebenfalls Gen-basierte Marker zur Identifizierung von Kandidatengen, die mit einem QTL assoziiert sind, liefern (Rafalski, 2002).

In der vorliegenden Arbeit wurden die Sequenzdaten der Promotorbereiche von *ERF1*, *PR10.1* und *MYBB* für die Entwicklung von SNP-Markern verwendet. Es wurden zwei Marker für *ERF1*, sechs für *PR10.1* und ein Marker für *MYBB* entwickelt. Diese Marker wurden zur Genotypisierung einer „Core collection“ von resistenten Weinreben verwendet. Für 98,8 % konnten Daten ermittelt werden, die für Assoziationsstudien verwendet wurden.

Es wurden die Resistenzmerkmale Befall an Blättern und Beeren mit *E. necator* und *P. viticola* in den Assoziationsanalysen untersucht. Für die meisten Genotypen lagen

Boniturdaten für die Befallsstärken in den Jahren 1989 – 2008 vor. Die Daten des Jahres 2003 wurden aufgrund der extremen Wetterbindungen in diesem Jahr für die Assoziationsanalysen ausgeschlossen. Die Berechnung der Assoziationen erfolgte mit TASSEL, einem häufig genutztem und etablierten Programm zur Ermittlung von Assoziationen (Bradbury *et al.*, 2007). Die ermittelten Assoziationen wurden dann als signifikant gewertet, wenn sie für mindestens zwei Jahre bestimmt werden konnten. Assoziationen, die nicht reproduzierbar sind, deuten daraufhin, dass eventuell die allgemeinen Umweltbedingungen in einem Jahr stark vom Mittel abgewichen sind. Weitere Ursachen könnten der variierende Zeitpunkt der Bonitur oder die leicht variierende Einschätzung der bonitierenden Personen sein.

Die Assoziation des SNP-Markers 36 (ERF1-P-SNP819) mit den Resistenzmerkmalen *Erysiphe*-Befall auf Blättern und *Plasmopara*-Befall auf Beeren war für drei Jahre sowie den Mittelwert über alle Jahre reproduzierbar. Der SNP befindet sich im Promotorbereich des Transkriptionsfaktors *ERF1*. In unmittelbarer Nähe befinden sich zwei weitere SNPs, welche von Myles *et al.* (2010) identifiziert worden sind (siehe Abbildung 42). Dies ist ein Hinweis darauf, dass dieser Bereich des Genoms einem starken Selektionsdruck ausgesetzt war. Der Transkriptionsfaktor *ERF1* gehört zur AP2/ERF-Familie. Die Überexpression von *ERF1* führt bei der Tomate (*Solanum lycopersicum*) zu einer erhöhten Resistenz der Früchte gegen das Pathogen *Rhizopus nigricans* (Pan *et al.*, 2013) und bei *A. thaliana* zu einer erhöhten Resistenz gegen *Botrytis cinerea*, *Plectosphaerella cucumerina*, *Fusarium oxysporum* sp. *conglutinans* and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Berrocal-Lobo *et al.*, 2002; Berrocal-Lobo & Molina, 2004). Außerdem kommt es zur Induktion der Expression durch die Phytohormone Jasmonsäure und Ethylen bei *A. thaliana* (Lorenzo *et al.*, 2003). *ERF1* spielt somit eine wichtige Rolle bei der Pathogenabwehr von Pflanzen. Die Assoziation deutet darauf hin, dass *ERF1* auch bei der Weinrebe eine wichtige Rolle bei der Pathogenabwehr einnimmt. (Licausi *et al.*, 2010) haben alle Gene der AP2/ERF Familie in *Vitis vinifera* genomisch und transkriptomisch analysiert. Der Faktor *VvERF075* entspricht dem korrespondierenden Gen zu dem hier untersuchten *ERF1*-Promotor. Zhu *et al.* (2013) zeigten, dass *VpERF3* zu 80,3% identisch mit *VvERF075* ist. Sie konnten außerdem zeigen, dass die Expression von *VpERF3* durch Salicylsäure, Methyljasmonat und Ethylen induziert wird und die Überexpression von *VpERF3* in transgenem Tabak zu einer erhöhten Resistenz gegen die Pathogene *Ralstonia solanacearum* und *Phytophthora parasitica* führt.

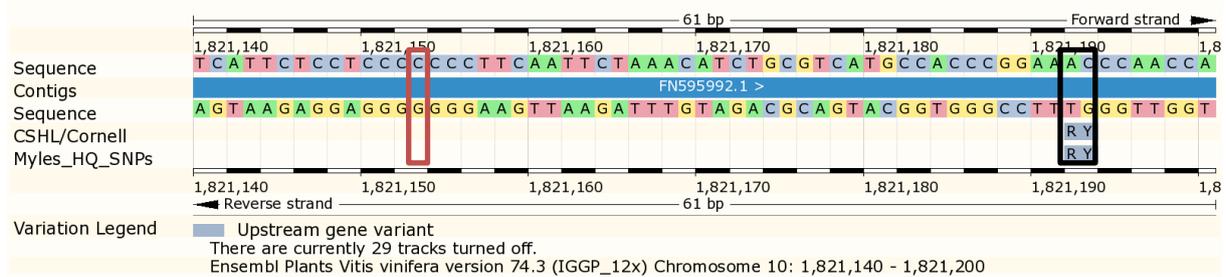


Abbildung 42: Lokalisation des SNPs 36 (ERF1-P-SNP819, rote Markierung) im Promotorbereich des Transkriptionsfaktors *ERF1* auf Chromosom 10 der Referenzsequenz von PN40024 (http://ensembl.gramene.org/Vitis_vinifera/Info/Index). In unmittelbarer Nähe befinden sich zwei SNPs (schwarze Markierung), welche von Miller *et al.* (2013) und Myles *et al.* (2010) untersucht worden sind.

Lediglich für den Marker 35 (PR10-P-SNP2138) liegt ein Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vor, d.h. alle anderen Marker unterlagen einem Selektionsdruck, der zu Verschiebungen im HWG führt. Dieser Selektionsdruck kann sich z.B. in der Ausbildung von SNPs widerspiegeln und daher auch mit Resistenzmerkmalen assoziiert sein. Der SNP-Marker 35 unterlag keiner Selektion und sollte daher nicht für weitere Assoziationsstudien verwendet werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der SNP-Marker ERF1-P-SNP819 (36) mit dem Merkmal *Erysiphe*-Befall auf Blättern und *Plasmopara*-Befall auf Beeren assoziiert ist. Der SNP-Marker PR10-P-SNP2138 (35) scheint für weitere Assoziationsstudien weniger geeignet, da hier ein Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vorlag.

4.5 Hormonelle Regulation von Resistenzgenen

Die beste Methode für die Bestimmung der Genexpression ist aktuell die quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR), aufgrund der Sensitivität und Reproduzierbarkeit (Bustin, 2002; Bustin, 2000; Derveaux *et al.*, 2010). Für die Normalisierung der Genexpressionsdaten sollten Referenzgene, sogenannte Housekeeping Gene (HKG), verwendet werden. Es wurden bereits umfangreiche Studien zur Bestimmung der optimalen HKGs für Genexpressionsstudien an der Weinrebe nach der Inokulation mit *Plasmopara viticola* durchgeführt (Monteiro *et al.*, 2013; Selim *et al.*, 2012). Selim *et al.* (2012) identifizierten Actin, GAPDH (Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase), SAND (Protein der SAND-Familie) und UBQ (Ubiquitin C) als die stabilsten HKGs. Daher wurden diese Gene auch in der vorliegenden Arbeit verwendet. Die Studie wurde mit Gewächshauspflanzen durchgeführt und die Probennahme erfolgte Tageweise. Der frühe Zeitpunkt der Genexpression wurde von Monteiro *et al.* (2013) betrachtet. Hier stellte sich heraus, dass GAPDH, EF1 α und UBQ am stabilsten waren für 'Regent'. In beiden Analysen wurde jedoch nicht mit Phytohormonen gearbeitet, daher wurde die Stabilität der HKG mit Hilfe des Programms Normfinder (Andersen *et al.*, 2004) für die

hier vorgenommenen Versuche neu bestimmt. Es stellte sich heraus, dass SAND am stabilsten war (Tabelle 14).

Tabelle 14: Bestimmung der Stabilitätswerte und Standardfehler der Expression der „Housekeeping“-Gene mit Normfinder (Andersen et al., 2004).

Gen	Stabilitätswert	Standardfehler
<i>Actin</i>	0,555	0,032
<i>GAPDH</i>	0,437	0,027
<i>SAND</i>	0,346	0,024
<i>UBQ</i>	0,518	0,030

Differentielle Genexpressionsstudien wurden für Weinreben, die mit *P. viticola* inokuliert worden sind, bereits durchgeführt (Casagrande *et al.*, 2011; Chong *et al.*, 2008; Figueiredo *et al.*, 2012; Kortekamp, 2006; Kortekamp *et al.*, 2008; Malacarne *et al.*, 2011; Polesani *et al.*, 2010). Figueiredo *et al.* (2012) untersuchten die Zeitpunkte sechs und zwölf Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola*. Ein früherer Zeitpunkt (4 hpi) wurde bisher nur von Fung *et al.* (2008) untersucht. Bisher gab es noch keine Studien zu den ganz frühen Zeitpunkten. Diese wurden in der vorliegenden Arbeit untersucht. Die Genexpressionsstudien wurden vergleichend für `Regent` (resistent) und `Lemberger` (anfällig) zu den Zeitpunkten 0, 1, 2, 4, 6 und 24 Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* durchgeführt. Bereits eine Stunde nach der Inokulation wurden die Transkriptionsfaktoren *WRKY33* und *ERF5* bei `Regent` induziert. *WRKY33* war auch zwei Stunden nach der Inokulation noch 3,3-fach induziert. Es wurde bereits gezeigt, dass beide Transkriptionsfaktoren auch nach der Inokulation mit *Erysiphe necator* induziert werden (Welter, 2008). Dies deutet daraufhin, dass die Transkriptionsfaktoren an der allgemeinen Pathogenabwehr beteiligt sind. Vier Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* ist keine Induktion mehr messbar. Es ist möglich, dass durch das Vorhandensein eines Effektors von *P. viticola* die PTI unterbunden wird. Sechs Stunden nach der Inokulation wurden die beiden Transkriptionsfaktoren *CZF1/ZFAR1* und *ERF5* aktiviert. Dies spricht dafür, dass nur die Immunantwort, welche durch Effektoren ausgelöst wird, aktiv ist. Außerdem wurde die Expression von *PR10.1* 7,6-fach induziert. Diese Induktion der Gene konnte nur bei `Regent` beobachtet werden. Wie bereits gezeigt, kann *PR10.1* durch die Transkriptionsfaktoren *WRKY33*, *CZF1/ZFAR1* und *ERF5* reguliert werden. *WRKY33* und *ERF5* waren bereits eine Stunde nach der Inokulation induziert. Die Gene wurden nun in Proteine umgeschrieben und könnten die Expression von *PR10.1* induzieren. Für den weiteren Verlauf wäre es gut, weitere Zeitpunkte zwischen 6 und 12 hpi zu untersuchen. Dies könnte Hinweise auf den weiteren Verlauf geben.

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die Gene *EIN3* (Ethylene insensitive 3), *MPK4* (Mitogen-activated Proteinkinase 4), *Myc2*, *RAR1* (required for *Mla12* resistance), *SGT1* (suppressor of the G2 allele of *skp1*), *TGA2.2*, *Why1* und *WRKY7* überhaupt nicht in der Expression nach der Inokulation mit *P. viticola* verändert wurden. Daran änderte auch die vorherige Applikation eines Phytohormons wie Salicylsäure, Methyljasmonat und Ethylen nichts. Die Gene *JAR* (Jasmonate resistant), *NPR1* (Nonexpressor of PR-Proteins), *NPR3.2*, und *TGA2.1* wurden nur sehr geringfügig in ihrer Expression beeinflusst. *NPR1* spielt eine wichtige Rolle bei der Pathogenabwehr der Weinrebe gegen *E. necator* (Le Henanff *et al.*, 2009; Le Henanff *et al.*, 2011). Le Henanff *et al.* (2009) konnten jedoch auch zeigen, dass *NPR1* in der Weinrebe nach der Inokulation mit *P. viticola* zu den Zeitpunkten 12, 24, 48, 72, 102 und 168 hpi nicht in der Expression verändert wurde. In der vorliegenden Arbeit konnten nun gezeigt werden, dass *NPR1* auch nicht nach ein, zwei, vier, sechs oder 24 Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* in der Expression verändert wurde. Somit steht fest, dass *NPR1* keine bedeutende Rolle bei der Abwehr gegen *P. viticola* spielt. In *A. thaliana* kann *NPR1* mit *TGA2* interagieren (Després *et al.*, 2000; Fan & Dong, 2002; Johnson *et al.*, 2008). (Wu *et al.*, 2012) zeigten außerdem, dass *NPR1* der Rezeptor für Salicylsäure ist. In Folge der Salicylsäure-Perzeption bildet *NPR1* einen Dimer und interagiert dann mit *TGA2*. In der vorliegenden Arbeit wurden die beiden Transkriptionsfaktoren *TGA2.1* und *TGA2.2* analysiert. Beide Faktoren werden wie *NPR1* nicht wesentlich reguliert. Dies zeigt noch deutlicher, dass die bekannte Signaltransduktionskaskade, eingeleitet durch das Phytohormon Salicylsäure, von *A. thaliana* nicht auf die Pathogenabwehr gegen *P. viticola* in der Weinrebe übertragbar ist. *SGT1* und *RAR1* sind essentiell für die ETI (Effector-triggered immunity) ausgelöst durch Resistenzgene (Azevedo *et al.*, 2002; Botër *et al.*, 2007; Meldau *et al.*, 2011; Peart *et al.*, 2002; Shen *et al.*, 2003; Takahashi *et al.*, 2003). Beide Gene wurden allerdings nicht nach der Inokulation mit *P. viticola* verstärkt. Dies deutet daraufhin, dass eventuell andere Gene bei der Weinrebe für die ETI gegen *Plasmopara* benötigt werden. Ein weiteres Gen, das nicht in der Expression beeinflusst worden war, ist *JAR1*. *JAR1* katalysiert die Bildung von JA-Ile (Jasmonyl-Isoleucin), welches die endogen aktive Form der Jasmonsäure darstellt (Fonseca *et al.*, 2009; Staswick & Tiryaki, 2004; Staswick, 2008). In Folge dessen kommt es zur Ubiquitinierung des JAZ-Repressoms, wodurch der Abbau im Proteosom eingeleitet wird (Pauwels & Goossens, 2011). Anschließend kommt es zur Expression verschiedener Transkriptionsfaktoren u.a. *Myc2*, dessen Expression in der vorliegenden Arbeit aber stets gleichbleibend war. Dies deutet daraufhin, dass der Jasmonat-Signalweg nicht aktiviert wurde. Song *et al.* (2014) zeigten, dass *EIN3* die Expression von *Myc2*

hemmen kann, sowie *Myc2* die Expression von *EIN3*. Aber auch *EIN3* zählt zu den Genen, die nicht verändert wurden. *EIN3* ist im Ethylen-Signalweg lokalisiert. Somit kann festgehalten werden, dass die Signaltransduktionswege, eingeleitet durch Methyljasmonat und Ethylen zur Pathogenabwehr, wie sie bei *A. thaliana* bekannt sind, in der Pathogenabwehr von *P. viticola* wahrscheinlich nicht aktiviert werden.

Die *in vitro* Pflanzen wurden mit dem Phytohormon Ethylen vorbehandelt. Ethylen ist gasförmig und lässt sich daher schlecht applizieren. Eine gut erprobte Alternative stellt Ethephon dar (Brederode *et al.*, 1991; Ugare *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2013). Ethephon setzt Ethylen erst frei sobald der pH-Wert über 3,5 ansteigt. Allerdings wiesen die Werte der differentiellen Genexpression nach Ethylenapplikation große Schwankungen auf. Dies könnte darauf zurückgeführt werden, dass die Kulturgefäße zu jeder Probenahme geöffnet wurden. Die Dauer der Probenahme variierte bei jedem Glas, so dass immer auch eine unterschiedliche Menge an Ethylen entweichen konnte. Die Behandlung mit Methyljasmonat führte wieder zu stabileren Werten, allerdings war hier kein deutlicher Effekt erkennbar. Daher wurden diese Daten nicht weiter erläutert.

Die Applikation von Salicylsäure vor der Inokulation von *P. viticola* führte zur kompletten „Umprogrammierung“ der Transkription. Vier Stunden nach der Inokulation wurde eine Verstärkung der Gene *PAL*, *PDF1.2* und *PR5* bei `Regent`, aber nicht bei `Lemberger` nachgewiesen. *PAL* ist das Schlüsselenzym des Phenylpropanoid-Stoffwechsels zur Bildung von Sekundärmetaboliten, z.B. Zimtsäure, eine Vorstufe der Salicylsäure. Wen *et al.* (2005) konnten bereits zeigen, dass die Expression der *PAL* durch Salicylsäure in Beeren induziert werden kann. Dieser Versuch zeigte nun auch noch, dass die *PAL* auch in den Blättern durch Salicylsäure induziert wurde. *PDF1.2* ist durch das Phytohormon Methyljasmonat induzierbar (Brown *et al.*, 2003; Manners *et al.*, 1998) und die Expression wird durch Salicylsäure unterdrückt (Ndamukong *et al.*, 2007). Dies zeigt, dass die Pathogenabwehr von *Arabidopsis* nicht auf die Weinrebe übertragbar ist. *PR5* gehört zu einer weitverbreiteten Gruppe von Abwehrproteinen, die eine große Ähnlichkeit zu Thaumatin aufweisen (Liu *et al.*, 2010). Eine bekannte Funktion von *PR5* ist die fungizide Wirkung. Diese wurde bereits für verschiedene Pathogene wie *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Phomopsis viticola* und *Elsinoe ampelina* (Chu & Ng, 2003; Jayasankar *et al.*, 2003; Monteiro *et al.*, 2003). Die Gene *PDF1.2*, *PAL* und *PR5* werden durch Salicylsäure und die anschließende Inokulation mit *P. viticola* induziert.

Durch die Salicylsäure-Applikation wurde auch die Expression von *JAZ* induziert. Diese Gene sind normalerweise an der Pathogenabwehr, die durch Methyljasmonat vermittelt wird, beteiligt. Im nicht induzierten Zustand binden JAZ-Proteine als Repressoren an Promotoren z.B. von *Myc2* und *ORA59* (Sheard *et al.*, 2010). Die induzierte Expression führt somit zu einer Unterdrückung des Methyljasmonat-Wegs.

Ankyrin2 ist durch eine Ankyrin-Domäne charakterisiert. Diese Domäne ist ein funktionell essentieller Bestandteil von *NPR1*. Die differentiellen Genexpressionsstudien zeigten, dass *NPR1* nicht induziert wird. *NPR1* ist aber der Hauptfaktor der Salicylsäure-vermittelten Pathogenabwehr (Durrant & Dong, 2004; Koornneef & Pieterse, 2008). Im Gegensatz zu *NPR1* wurde *Ankyrin2* in der Expression verstärkt. Dies deutet daraufhin, dass bei der Weinrebe *Ankyrin2* die Rolle von *NPR1* einnehmen könnte.

Salicylsäure ist einer der Auslöser der SAR (Systemic acquired resistance). Nach der Erkennung des Pathogens können so die nicht befallenen Pflanzenzellen gewarnt werden. Ein möglicher Effekt der SAR könnte sein, dass die nicht infizierten Zellen die Expression von NBS-LRR Genen induzieren. Dieser Effekt konnte hier für *NBS-LRR1*, *NBS-LRR2*, *VRP1-2* und *VRP1-3* beobachtet werden. Bevor die *in vitro* Pflanzen mit *Plasmopara viticola* inokuliert wurden, wurden die Pflanzen mit Salicylsäure besprüht. Vier Stunden nach der Inokulation war eine Verstärkung der Induktion für die vier NBS-LRR Gene bei 'Regent' messbar. Bei 'Lemberger' wurde die Expression der Gene nicht induziert. *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* wurden im Bereich des Resistenzlocus *Rpv10* identifiziert. Die Tatsache, dass die Expression der Gene durch Salicylsäure und den anschließenden *Plasmopara*-Befall induziert wurde, deutet auf die Beteiligung der Resistenzgene an der Pathogenabwehr gegen *P. viticola* hin. Die VRP1 Gene wurden ursprünglich zwölf Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* bei der resistenten *V. riparia* 'Gloire de Montpellier' identifiziert (Kortekamp *et al.*, 2008). Die differentiellen Genexpressionsstudien zeigten, dass die drei VRP1 Gene zu den Zeitpunkten 1, 2, 4, 6 und 24 Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* ohne Phytohormonbehandlung nicht in der Expression induziert wurden. Dies deutet daraufhin, dass die VRPs frühestens nach mehr als sechs Stunden gebildet werden. Kortekamp *et al.* (2008) haben nur einen Zeitpunkt untersucht, so kann keine Aussage darüber getroffen werden, wann und wie lange die Expression der VRP1 Gene induziert wird. Außerdem wurden die Untersuchungen mit unterschiedlichen Genotypen durchgeführt, dies kann auch zu Unterschieden in der Genexpression führen. Die differentiellen Genexpressionsstudien konnten jedoch zeigen, dass die Expression von *VRP1-2* und *VRP1-3* bei 'Regent', aber nicht

von *VRP1-1*, durch Salicylsäure positiv beeinflusst wurde. Die Expression von *VRP1-2* und *VRP1-3* war bereits zwei Stunden nach der Inokulation mit vorangegangener Salicylsäurebehandlung 2,6- bzw. 2,4-fach induziert (Daten nicht gezeigt).

Der Transkriptionsfaktor *ERF1* ist an der Pathogenabwehr, die durch die Phytohormone Methyljasmonat und Ethylen vermittelt wird, beteiligt (Berrocal-Lobo *et al.*, 2002; Berrocal-Lobo & Molina, 2004; Lorenzo *et al.*, 2003). Die Untersuchung des Faktors bei *Vitis pseudoreticulata* ergab, dass eine Überexpression die Anfälligkeit der Pflanzen gegenüber Pathogenen erhöht (Zhu *et al.*, 2013). Außerdem ist *VpERF1* zu 91 % identisch mit *VvERF090*, welches auf Chromosom 16 des Referenzgenoms lokalisiert ist (Licausi *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2013). Das hier untersuchte *VvERF1* ist auf Chromosom 10 lokalisiert, somit handelt es sich um zwei verschiedene *ERF1*-Varianten. Differentielle Genexpressionsstudien für den Transkriptionsfaktor *ERF1* zeigten, dass es einen 1000-fachen basalen Unterschied in der Expression zwischen 'Regent' und 'Lemberger' gab, wobei die Expression für 'Regent' erhöht war. Der Unterschied war nach einer Überprüfung mit neuen Primerpaaren im angrenzenden Exon nicht mehr feststellbar. Das Originalprimerpaar wies jedoch immer noch einen Unterschied zwischen 'Regent' und 'Lemberger' auf. Dies deutet daraufhin, dass es hier zwei unterschiedlich exprimierte Gene gibt, wobei ein Gen nur bei 'Regent' exprimiert wird. Dies sollte nach Möglichkeit weiter untersucht werden. Die differentiellen Genexpressionsstudien sollten zudem mit Pflanzenmaterial, was zuvor mit *P. viticola* inokuliert wurde, für alle vier Primerpaare durchgeführt werden. Erst dann kann eine sichere Aussage getroffen werden, ob eine der beiden *ERF1*-Varianten an der Pathogenabwehr beteiligt ist.

4.6 Expression von Resistenzgenen bei Einzelloci-tragenden Genotypen

Für die Weinrebe sind aktuell 13 Loci für *Plasmopara*-Resistenz bekannt (Bellin *et al.*, 2009; Blasi *et al.*, 2011; Fischer *et al.*, 2004; Marguerit *et al.*, 2009; Merdinoglu *et al.*, 2003; Moreira *et al.*, 2011; Schwander *et al.*, 2012; Venuti *et al.*, 2013; Welter *et al.*, 2007; Wiedemann-Merdinoglu *et al.*, 2006). In der vorliegenden Arbeit wurden allerdings nur die Resistenzloci *Rpv3*, *Rpv10* und *Rpv12* genauer untersucht.

Rpv3 wurde anhand der Kreuzungspopulation 'Regent' (Resistenzträger) x 'Lemberger' identifiziert (Welter *et al.*, 2007). Der Locus ist im Genom auf Chromosom 18 lokalisiert. Es wird vermutet, dass die Resistenz auf eine *V. rupestris*-Akzession zurückzuführen ist (Casagrande *et al.*, 2011). Bellin *et al.* (2009) konnten zeigen, dass die Resistenz durch eine

hypersensitive Reaktion (HR), einer anschließenden signifikanten Reduktion des Mycelwachstum im Mesophyll und folglich einer spärlichen Bildung von Sporangienträgern charakterisiert ist. Die durch den *Rpv3*-Locus vermittelte Resistenz konnte bereits durch ein tschechisches *Plasmopara*-Isolat überwunden werden (Peressotti *et al.*, 2010).

Der *Rpv10*-Locus wurde für die Kreuzungspopulation zwischen dem Zuchtstamm Gf.GA-52-42 x 'Solaris' (Träger des *Rpv10*-Locus) identifiziert und ist auf Chromosom 9 des Genoms lokalisiert (Schwander *et al.*, 2012). Die Resistenz wurde über die asiatische Wildart *V. amurensis* eingebracht. Schwander *et al.* (2012) zeigten zusätzlich, dass im Bereich des Resistenzlocus ein NBS-LRR Gen, ein ERF-Transkriptionsfaktor und ein Ankyrin-ähnliches Protein liegen. In der vorliegenden Arbeit wurden u.a. diese Gene mittels qRT-PCR für Sorten mit einem Resistenzlocus analysiert.

Der *Rpv12*-Locus wurde ebenfalls über die asiatische Wildart *V. amurensis* eingebracht. Im Bereich des Resistenzlocus auf Chromosom 14 wurde ein Cluster von 13 CC-NBS-LRR Genen identifiziert (Venuti *et al.*, 2013). Die Resistenz geht ebenfalls mit einer lokalisierten HR in den Blättern, die mit *P. viticola* infiziert wurden, einher.

Die Genexpressionsanalysen für Resistenzgene von Einzellocus-tragenden Genotypen sollten Expressionsunterschiede aufdecken, die spezifisch für einen *Rpv*-Locus sind. Es wurde sowohl die Veränderung der Expression, bedingt durch die Inokulation mit *P. viticola*, als auch die basale Expression der Gene verglichen. In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die basale Expression von *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* bei Genotypen mit dem *Rpv10*-Locus mindestens fünffach erhöht ist. Auch für Riesling, ein Genotyp ohne Resistenzlocus, ist die basale Expression von den beiden Genen geringer. Die beiden Gene wurden im Bereich des *Rpv10*-Locus identifiziert. *NBS-LRR2* entspricht dem NBS-LRR, welches von Schwander *et al.* (2012) in der Referenzsequenz identifiziert worden ist. Dies ist ein Hinweis dafür, dass die beiden NBS-LRR Gene für die Resistenz gegenüber *P. viticola* verantwortlich sein könnten. Durch die erhöhte basale Expression ist es möglich, dass Effektoren des Pathogens schneller und effizienter wahrgenommen werden können.

Die Gene *SEBF*, *Why1* und *PR2* wurden acht Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* oder der Kontrolle mit Wasser in der Expression verändert. Dies zeigt, dass die Gene durch Stress reguliert werden können. *PR2* wird durch Stress induziert, wohingegen *SEBF* und *Why1* reprimiert werden. *SEBF* wurde ursprünglich als Repressor für PR10 bei *Solanum lycopersicum* identifiziert (Boyle & Brisson, 2001). Die verringerte Expression zeigt, dass in

Stresssituationen der Repressor nicht benötigt wird. González-Lamothe *et al.* (2008) haben gezeigt, dass in Folge eines Pathogenbefalls der Repressor *SEBF* entfernt wird und die Expression von *PR10* durch den Transkriptionsfaktor *Why1* induziert wird. In der Weinrebe ist es eher unwahrscheinlich, dass *Why1* die Expression von *PR10.1* induziert, da die Expression von *Why1* reprimiert wird.

4.7 Schlussfolgerung

Differentielle Genexpressionsstudien hatten in Vorarbeiten gezeigt, dass die Expression der Transkriptionsfaktoren *CZF1/ZFARI* und *MYBB*, der Ethylen-responsiven Faktoren *ERF1* und *ERF5*, der *PAL* (Phenylalanine-ammonia Lyase), der Pathogen-related Proteine *PR5* und *PR10.1* und den WRKY-Transkriptionsfaktoren *WRKY7*, *WRKY33* und *WRKY57* zehn Stunden nach der Inokulation mit *Erysiphe necator* bei einem resistenten Genotyp verstärkt transkribiert werden (Welter, 2008). Für die Gene *ERF1*, *ERF5*, *MYBB*, *PAL*, *PR10.1* und *WRKY7* konnte jetzt in der vorliegenden Arbeit erfolgreich der Promotor für die beiden Genotypen 'Regent' und 'Lemberger' amplifiziert werden. Die *in silico* Analyse zeigte, dass die durchschnittliche SNP-Häufigkeit 1/39 und die Frequenz der Insertions-/Deletionsereignisse bei 1/210 in den Promotorbereichen lagen. Eine Bindestelle für den Repressor *SEBF* (silencing elemental binding factor) wurde für beide Allele von 'Lemberger' und Allel A von 'Regent' des *PR10.1* Promotors identifiziert, während es im Allel B von 'Regent' fehlt. Zudem konnte gezeigt werden, dass das Allel B des *PR10.1* Promotors von dem resistenten Genotyp 'Regent' eindeutig von dem resistenten Elternteil 'Chambourcin' vererbt wurde. In der Sequenz des *PR10.1* Promotors wurden insgesamt vier ERF-, 22 MYB- und 13 WRKY-Bindestellen bestimmt. Es stellte sich außerdem heraus, dass die Transkription von *PR10.1* durch die Transkriptionsfaktoren *CZF1/ZFARI*, *ERF5* und *WRKY33* positiv reguliert wurde.

Jetzt weitere detailliert vorgenommene differentielle Genexpressionsstudien mit *in vitro* Reben von 'Regent' (resistent gegen *E. necator* und *Plasmopara viticola*) und 'Lemberger' (anfällig gegen *E. necator* und *P. viticola*) für die Zeitpunkte 0, 1, 2, 4, 6, und 24 Stunden nach der Inokulation mit *P. viticola* zeigten, dass bereits eine Stunde nach der Inokulation die Transkriptionsfaktoren *ERF5* und *WRKY33* für den resistenten Genotyp in der Expression verstärkt wurden. *PR10.1* wurde sechs Stunden nach der Inokulation 7,6-fach bei 'Regent', aber nicht bei 'Lemberger' induziert. Pflanzen, die 24 Stunden vor der Inokulation mit *P. viticola* mit Salicylsäure (100 µM) besprüht worden waren, stellten die Genexpression komplett um. Die NBS-LRR-Gene *VRP1-2*, *VRP1-3*, *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* wurden vier

Stunden nach der Inokulation mindestens 13,4-fach bei dem resistenten Genotyp induziert. *VRPI-1* hingegen wurde nicht beeinflusst. *NBS-LRR* Gene bilden Rezeptoren für die Effektoren der Pathogene. Dies deutet somit daraufhin, dass durch Salicylsäure die Effektor-gesteuerte Immunantwort der Weinrebe verstärkt wird.

NBS-LRR1 und *NBS-LRR2* waren im Bereich des *Rpv10*-Locus identifiziert worden (Schwander *et al.*, 2012). Es wurde gezeigt, dass die basale Expression von *NBS-LRR1* und *NBS-LRR2* bei Genotypen mit einem *Rpv10*-Locus fünffach höher ist als bei Genotypen mit *Rpv3*, *Rpv12* oder keinem dieser Resistenz-Loci. Dies unterstützt die Hypothese, dass die beiden *NBS-LRR* Gene für die Resistenz der *Rpv10*-Träger mit verantwortlich sein könnten.

Einige der ablaufenden Resistenzmechanismen beim Befall der Rebe mit falschem Mehltau scheinen mit denen des echten Mehltaus (Welter, 2008) übereinzustimmen, d.h. dass ein genereller Abwehrmechanismus vorliegt. Weitere in dieser Arbeit untersuchte Gene (*NBS-LRR1*, *NBS-LRR2*, *VRPI-2*, *VRPI-3*) deuten zudem auf zusätzliche spezifische Resistenzmechanismen für *P. viticola*-Befall hin. Die Expression dieser Gene wurde durch die Applikation von Salicylsäure als Signalstoff und den Befall mit *P. viticola* induziert. Dies deutet daraufhin, dass diese Gene an der SAR (Systemic acquired resistance) beteiligt sind.

Literaturverzeichnis

Ade, J., DeYoung, B. J., Golstein, C. & Innes, R. W. (2007). Indirect activation of a plant nucleotide binding site–leucine-rich repeat protein by a bacterial protease. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 2531-2536.

Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Farmer, M. A. & other authors (2005). The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. *J Eukaryot Microbiol* **52**, 399-451.

Agarwal, P., Bhatt, V., Singh, R., Das, M., Sopory, S. & Chikara, J. (2013). Pathogenesis-Related Gene, JcPR-10a from *Jatropha curcas* Exhibit RNase and Antifungal Activity. *Mol Biotechnol* **54**, 412-425.

Alonso-Ramírez, A., Rodríguez, D., Reyes, D., Jiménez, J. A., Nicolás, G., López-Climent, M., Gómez-Cadenas, A. & Nicolás, C. (2009). Cross-talk between gibberellins and salicylic acid in early stress responses in *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Signal Behav* **4**, 750-751.

Andersen, C. L., Jensen, J. L. & Ørntoft, T. F. (2004). Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer Res* **64**, 5245-5250.

Aranzana, M. J., Illa, E., Howad, W. & Arús, P. (2012). A first insight into peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] SNP variability. *Tree Genet Genom* **8**, 1359-1369.

Azevedo, C., Sadanandom, A., Kitagawa, K., Freialdenhoven, A., Shirasu, K. & Schulze-Lefert, P. (2002). The RAR1 Interactor SGT1, an Essential Component of R Gene-Triggered Disease Resistance. *Science* **295**, 2073-2076.

Bao Do, C. & Cormier, F. (1991). Effects of low nitrate and high sugar concentrations on anthocyanin content and composition of grape (*Vitis vinifera* L.) cell suspension. *Plant Cell Rep* **9**, 500-504.

Belhadj, A., Saigne, C., Telef, N., Cluzet, S., Bouscaut, J., Corio-Costet, M.-F. & Mérillon, J.-M. (2006). Methyl Jasmonate Induces Defense Responses in Grapevine and Triggers Protection against *Erysiphe necator*. *J Agric Food Chem* **54**, 9119-9125.

Belhadj, A., Telef, N. g., Cluzet, S. p., Bouscaut, J. r. m., Corio-Costet, M.-F. & Mérillon, J.-M. (2008). Ethephon Elicits Protection Against *Erysiphe necator* in Grapevine. *J Agric Food Chem* **56**, 5781-5787.

- Bellin, D., Peressotti, E., Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Adam-Blondon, A.-F., Cipriani, G., Morgante, M., Testolin, R. & Di Gaspero, G. (2009).** Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. *Theor Appl Genet* **120**, 163-176.
- Bent, A. F. & Mackey, D. (2007).** Elicitors, effectors, and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annu Rev Phytopathol* **45**, 399-436.
- Bernoux, M., Ellis, J. G. & Dodds, P. N. (2011).** New insights in plant immunity signaling activation. *Curr Opin Plant Biol* **14**, 512-518.
- Berrocal-Lobo, M., Molina, A. & Solano, R. (2002).** Constitutive expression of ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1 in *Arabidopsis* confers resistance to several necrotrophic fungi. *The Plant Journal* **29**, 23-32.
- Berrocal-Lobo, M. & Molina, A. (2004).** Ethylene response factor 1 mediates *Arabidopsis* resistance to the soilborne fungus *Fusarium oxysporum*. *Mol Plant-Microbe Interact* **17**, 763-770.
- Blaeser, M. (1978).** Untersuchungen zur Epidemiologie des falschen Mehltaus an Weinrebe, *Plasmopara viticola* (Berk, et Siph. ex de Bary) Beri. et. de Toni: Ph. D. Thesis. Univ. Bonn, Germany.
- Blaeser, M. & Weltzien, H. (1979).** Epidemiological studies of *Plasmopara viticola* for improving determination of spraying dates. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **86**, 489-498.
- Blasi, P., Blanc, S., Wiedemann-Merdinoglu, S., Prado, E., Rühl, E., Mestre, P. & Merdinoglu, D. (2011).** Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of Rpv8, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. *Theor Appl Genet* **123**, 43-53.
- Bogs, J., Jaffé, F. W., Takos, A. M., Walker, A. R. & Robinson, S. P. (2007).** The Grapevine Transcription Factor VvMYBPA1 Regulates Proanthocyanidin Synthesis during Fruit Development. *Plant Physiol* **143**, 1347-1361.
- Botër, M., Amigues, B., Peart, J. & other authors (2007).** Structural and Functional Analysis of SGT1 Reveals That Its Interaction with HSP90 Is Required for the Accumulation of Rx, an R Protein Involved in Plant Immunity. *The Plant Cell Online* **19**, 3791-3804.
- Boyle, B. & Brisson, N. (2001).** Repression of the Defense Gene PR-10a by the Single-Stranded DNA Binding Protein SEBF. *The Plant Cell Online* **13**, 2525-2537.

Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y. & Buckler, E. S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* **23**, 2633-2635.

Brederode, F., Linthorst, H. M. & Bol, J. (1991). Differential induction of acquired resistance and PR gene expression in tobacco by virus infection, ethephon treatment, UV light and wounding. *Plant Mol Biol* **17**, 1117-1125.

Breiteneder, H., Pettenburger, K., Bito, A., Valenta, R., Kraft, D., Rumpold, H., Scheiner, O. & Breitenbach, M. (1989). The gene coding for the major birch pollen allergen Betv1, is highly homologous to a pea disease resistance response gene. *The EMBO journal* **8**, 1935.

Breiteneder, H., Hoffmann-Sommergruber, K., O'Riordain, G., Susani, M., Ahorn, H., Ebner, C., Kraft, D. & Scheiner, O. (1995). Molecular Characterization of Api g 1, the Major Allergen of Celery (*Apium graveolens*), and Its Immunological and Structural Relationships to a Group of 17-kDa Tree Pollen Allergens. *Eur J Biochem* **233**, 484-489.

Brown, R. L., Kazan, K., McGrath, K. C., Maclean, D. J. & Manners, J. M. (2003). A Role for the GCC-Box in Jasmonate-Mediated Activation of the PDF1.2 Gene of Arabidopsis. *Plant Physiol* **132**, 1020-1032.

Bustin, S. (2002). Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *Journal of molecular endocrinology* **29**, 23-39.

Bustin, S. A. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of molecular endocrinology* **25**, 169-193.

Caffi, T., Rossi, V. & Lusitani, M. (2011). Long-term survival of *Plasmopara viticola* oospores. *IOBC/WPRS Bulletin*.

Campbell, C. (2004). *Phylloxera: how wine was saved for the world*: HarperCollins Publishers.

Caplan, J., Padmanabhan, M. & Dinesh-Kumar, S. P. (2008). Plant NB-LRR Immune Receptors: From Recognition to Transcriptional Reprogramming. *Cell Host & Microbe* **3**, 126-135.

Casagrande, K., Falginella, L., Castellarin, S., Testolin, R. & Di Gaspero, G. (2011). Defence responses in Rpv3-dependent resistance to grapevine downy mildew. *Planta* **234**, 1097-1109.

- Chakravarthy, S., Tuori, R. P., D'Ascenzo, M. D., Fobert, P. R., Despres, C. & Martin, G. B. (2003).** The tomato transcription factor Pti4 regulates defense-related gene expression via GCC box and non-GCC box cis elements. *The Plant cell* **15**, 3033-3050.
- Chang, C., Kwok, S., Bleecker, A. & Meyerowitz, E. (1993).** Arabidopsis ethylene-response gene ETR1: similarity of product to two-component regulators. *Science* **262**, 539-544.
- Chen, L., Sun, N., Wang, J., Ling, H., Zhang, L. & Zuo, K. (2013).** Functional Analysis of a Wilt Fungus Inducible PR10-1 Gene from Cotton. *American Journal of Plant Sciences* **4**, 417.
- Ching, A., Caldwell, K. S., Jung, M., Dolan, M., Smith, O. S., Tingey, S., Morgante, M. & Rafalski, A. J. (2002).** SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *BMC Genet* **3**, 19.
- Chong, J., Le Henanff, G., Bertsch, C. & Walter, B. (2008).** Identification, expression analysis and characterization of defense and signaling genes in *Vitis vinifera*. *Plant Physiol Biochem* **46**, 469-481.
- Chu, K. T. & Ng, T. B. (2003).** Isolation of a large thaumatin-like antifungal protein from seeds of the Kweilin chestnut *Castanopsis chinensis*. *Biochem Biophys Res Commun* **301**, 364-370.
- Czemmel, S., Stracke, R., Weisshaar, B., Cordon, N., Harris, N. N., Walker, A. R., Robinson, S. P. & Bogs, J. (2009).** The Grapevine R2R3-MYB Transcription Factor VvMYBF1 Regulates Flavonol Synthesis in Developing Grape Berries. *Plant Physiol* **151**, 1513-1530.
- Dangl, J. L. & Jones, J. D. G. (2001).** Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* **411**, 826-833.
- De Vos, M., Van Oosten, V. R., Van Poecke, R. M. P. & other authors (2005).** Signal Signature and Transcriptome Changes of Arabidopsis During Pathogen and Insect Attack. *Mol Plant-Microbe Interact* **18**, 923-937.
- Deleu, W., Esteras, C., Roig, C. & other authors (2009).** A set of EST-SNPs for map saturation and cultivar identification in melon. *BMC Plant Biol* **9**, 90.
- Deluc, L., Bogs, J., Walker, A. R., Ferrier, T., Decendit, A., Merillon, J.-M., Robinson, S. P. & Barrieu, F. (2008).** The Transcription Factor VvMYB5b Contributes to the Regulation of Anthocyanin and Proanthocyanidin Biosynthesis in Developing Grape Berries. *Plant Physiol* **147**, 2041-2053.

Derveaux, S., Vandesomepele, J. & Hellemans, J. (2010). How to do successful gene expression analysis using real-time PCR. *Methods* **50**, 227-230.

Després, C., DeLong, C., Glaze, S., Liu, E. & Fobert, P. R. (2000). The Arabidopsis NPR1/NIM1 Protein Enhances the DNA Binding Activity of a Subgroup of the TGA Family of bZIP Transcription Factors. *The Plant Cell Online* **12**, 279-290.

Desveaux, D., Després, C., Joyeux, A., Subramaniam, R. & Brisson, N. (2000). PBF-2 Is a Novel Single-Stranded DNA Binding Factor Implicated in PR-10a Gene Activation in Potato. *The Plant Cell Online* **12**, 1477-1490.

Dong, X. (2004). NPR1, all things considered. *Curr Opin Plant Biol* **7**, 547-552.

Durrant, W. E. & Dong, X. (2004). SYSTEMIC ACQUIRED RESISTANCE. *Annu Rev Phytopathol* **42**, 185-209.

Ellis, J., Dodds, P. & Pryor, T. (2000). Structure, function and evolution of plant disease resistance genes. *Curr Opin Plant Biol* **3**, 278-284.

Emanuelli, F., Lorenzi, S., Grzeskowiak, L. & other authors (2013). Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape. *BMC Plant Biol* **13**, 39.

Eulgem, T., Rushton, P. J., Robatzek, S. & Somssich, I. E. (2000). The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Sci* **5**, 199-206.

Fan, W. & Dong, X. (2002). In Vivo Interaction between NPR1 and Transcription Factor TGA2 Leads to Salicylic Acid-Mediated Gene Activation in Arabidopsis. *The Plant Cell Online* **14**, 1377-1389.

Figueiredo, A., Monteiro, F., Fortes, A., Bonow-Rex, M., Zyprian, E., Sousa, L. & Pais, M. (2012). Cultivar-specific kinetics of gene induction during downy mildew early infection in grapevine. *Functional & Integrative Genomics* **12**, 379-386.

Fischer, B. M., Salakhutdinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K. J., Töpfer, R. & Zyprian, E. M. (2004). Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. *Theor Appl Genet* **108**, 501-515.

Fonseca, S., Chico, J. M. & Solano, R. (2009). The jasmonate pathway: the ligand, the receptor and the core signalling module. *Curr Opin Plant Biol* **12**, 539-547.

Fung, R. W. M., Gonzalo, M., Fekete, C., Kovacs, L. G., He, Y., Marsh, E., McIntyre, L. M., Schachtman, D. P. & Qiu, W. (2008). Powdery Mildew Induces Defense-Oriented Reprogramming of the Transcriptome in a Susceptible But Not in a Resistant Grapevine. *Plant Physiol* **146**, 236-249.

Garcion, C., Lohmann, A., Lamodière, E., Catinot, J., Buchala, A., Doermann, P. & Métraux, J.-P. (2008). Characterization and Biological Function of the ISOCHORISMATE SYNTHASE2 Gene of Arabidopsis. *Plant Physiol* **147**, 1279-1287.

Gessler, C., Pertot, I. & Perazzolli, M. (2011). Plasmopara viticola: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea* **50**.

Gleave, A. P. (1992). A versatile binary vector system with a T-DNA organisational structure conducive to efficient integration of cloned DNA into the plant genome. *Plant Mol Biol* **20**, 1203-1207.

Gobbin, D. (2004). Redefining Plasmopara viticola epidemiological cycle by molecular genetics. *Dissertation (Swiss Federal Institute of Technology, Zürich)*

Gonneau, M., Pagant, S., Brun, F. & Laloue, M. (2001). Photoaffinity labelling with the cytokinin agonist azido-CPPU of a 34 kDa peptide of the intracellular pathogenesis-related protein family in the moss Physcomitrella patens. *Plant Mol Biol* **46**, 539-548.

González-Lamothe, R., Boyle, P., Dulude, A., Roy, V., Lezin-Doumbou, C., Kaur, G. S., Bouarab, K., Després, C. & Brisson, N. (2008). The Transcriptional Activator Pti4 Is Required for the Recruitment of a Repressosome Nucleated by Repressor SEBF at the Potato PR-10a Gene. *The Plant Cell Online* **20**, 3136-3147.

Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series*, pp. 95-98.

He, M., Xu, Y., Cao, J. & other authors (2012). Subcellular localization and functional analyses of a PR10 protein gene from Vitis pseudoreticulata in response to Plasmopara viticola infection. *Protoplasma*, 1-12.

Higo, K., Ugawa, Y., Iwamoto, M. & Korenaga, T. (1999). Plant cis-acting regulatory DNA elements (PLACE) database: 1999. *Nucleic Acids Res* **27**, 297-300.

Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P. S. & Griffith, R. (1992). Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/technology* **10**, 413-417.

- Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G. & Watson, R. (1993).** Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology* **11**, 1026-1030.
- Höll, J., Vannozzi, A., Czermel, S. & other authors (2013).** The R2R3-MYB Transcription Factors MYB14 and MYB15 Regulate Stilbene Biosynthesis in *Vitis vinifera*. *The Plant Cell Online* **25**, 4135-4149.
- Horstmann, V., Huether, C. M., Jost, W., Reski, R. & Decker, E. L. (2004).** Quantitative promoter analysis in *Physcomitrella patens*: a set of plant vectors activating gene expression within three orders of magnitude. *BMC Biotechnol* **4**, 13.
- Hua, J. & Meyerowitz, E. M. (1998).** Ethylene Responses Are Negatively Regulated by a Receptor Gene Family in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* **94**, 261-271.
- Huang, Y. F., Vialet, S., Guiraud, J. L., Torregrosa, L., Bertrand, Y., Cheynier, V., This, P. & Terrier, N. (2014).** A negative MYB regulator of proanthocyanidin accumulation, identified through expression quantitative locus mapping in the grape berry. *New Phytol* **201**, 795-809.
- Ingram, D. (1981).** Physiology and biochemistry of host-parasite interaction. *The downy mildews*, 143-163.
- Itzhaki, H., Maxson, J. M. & Woodson, W. R. (1994).** An ethylene-responsive enhancer element is involved in the senescence-related expression of the carnation glutathione-S-transferase (GST1) gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91**, 8925-8929.
- Jaillon, O., Aury, J.-M., Noel, B. & other authors (2007).** The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* **449**, 463-467.
- Jayasankar, S., Li, Z. & Gray, D. J. (2003).** Constitutive expression of *Vitis vinifera* thaumatin-like protein after in vitro selection and its role in anthracnose resistance. *Funct Plant Biol* **30**, 1105-1115.
- Jellouli, N., Ben Jouira, H., Daldoul, S., Chenennaoui, S., Ghorbel, A., Ben Salem, A. & Gargouri, A. (2010).** Proteomic and Transcriptomic Analysis of Grapevine PR10 Expression During Salt Stress and Functional Characterization in Yeast. *Plant Molecular Biology Reporter* **28**, 1-8.
- Johnson, C., Mhatre, A. & Arias, J. (2008).** NPR1 preferentially binds to the DNA-inactive form of *Arabidopsis* TGA2. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms* **1779**, 583-589.

Jones, E., Chu, W.-C., Ayele, M. & other authors (2009). Development of single nucleotide polymorphism (SNP) markers for use in commercial maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Mol Breed* **24**, 165-176.

Jones, J. D. G. & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *Nature* **444**, 323-329.

Kazan, K. & Manners, J. M. (2012). JAZ repressors and the orchestration of phytohormone crosstalk. *Trends Plant Sci* **17**, 22-31.

Kim, S., Yu, S., Kang, Y., Kim, S., Kim, J.-Y., Kim, S.-H. & Kang, K. (2008). The rice pathogen-related protein 10 (JIOsPR10) is induced by abiotic and biotic stresses and exhibits ribonuclease activity. *Plant Cell Rep* **27**, 593-603.

Kizis, D. & Pagès, M. (2002). Maize DRE-binding proteins DBF1 and DBF2 are involved in rab17 regulation through the drought-responsive element in an ABA-dependent pathway. *The Plant Journal* **30**, 679-689.

Koistinen, K. M., Soininen, P., Venäläinen, T. A., Häyrynen, J., Laatikainen, R., Peräkylä, M., Tervahauta, A. I. & Kärenlampi, S. O. (2005). Birch PR-10c interacts with several biologically important ligands. *Phytochemistry* **66**, 2524-2533.

Kolkman, J. M., Berry, S. T., Leon, A. J., Slabaugh, M. B., Tang, S., Gao, W., Shintani, D. K., Burke, J. M. & Knapp, S. J. (2007). Single nucleotide polymorphisms and linkage disequilibrium in sunflower. *Genetics* **177**, 457-468.

Koornneef, A. & Pieterse, C. M. J. (2008). Cross Talk in Defense Signaling. *Plant Physiol* **146**, 839-844.

Kortekamp, A., Wind, R. & Zyprian, E. (1998). Investigation of the interaction of *Plasmopara viticola* with susceptible and resistant grapevine cultivars. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **105**, 475-488.

Kortekamp, A. (2006). Expression analysis of defence-related genes in grapevine leaves after inoculation with a host and a non-host pathogen. *Plant Physiol Biochem* **44**, 58-67.

Kortekamp, A., Welter, L., Vogt, S., Knoll, A., Schwander, F., Töpfer, R. & Zyprian, E. (2008). Identification, isolation and characterization of a CC-NBS-LRR candidate disease resistance gene family in grapevine. *Mol Breed* **22**, 421-432.

Kunkel, B. N. & Brooks, D. M. (2002). Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. *Curr Opin Plant Biol* **5**, 325-331.

Lande, R. & Thompson, R. (1990). Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* **124**, 743-756.

Langcake, P. & Lovell, P. (1980). Light and electron microscopical studies of the infection of *Vitis* spp. by *Plasmopara viticola*, the downy mildew pathogen. *Vitis* **19**, 321-337.

Lawton, K. A., Potter, S. L., Uknes, S. & Ryals, J. (1994). Acquired Resistance Signal Transduction in Arabidopsis Is Ethylene Independent. *The Plant Cell Online* **6**, 581-588.

Le Henanff, G., Heitz, T., Mestre, P., Mutterer, J., Walter, B. & Chong, J. (2009). Characterization of *Vitis vinifera* NPR1 homologs involved in the regulation of Pathogenesis-Related gene expression. *BMC Plant Biol* **9**, 54.

Le Henanff, G., Farine, S., Kieffer-Mazet, F., Miclot, A.-S., Heitz, T., Mestre, P., Bertsch, C. & Chong, J. (2011). *Vitis vinifera* VvNPR1.1 is the functional ortholog of AtNPR1 and its overexpression in grapevine triggers constitutive activation of PR genes and enhanced resistance to powdery mildew. *Planta* **234**, 405-417.

Le Paslier, M.-C., Choisne, N. & Bacilieri, R. (2013). The GrapeReSeq 18k *Vitis* genotyping chip. *9th Inter Symp Grapevine Physiol Biotech*, p 123.

Lebel, S., Schellenbaum, P., Walter, B. & Maillot, P. (2010). Characterisation of the *Vitis vinifera* PR10 multigene family. *BMC Plant Biol* **10**, 184.

Lescot, M., Déhais, P., Thijs, G., Marchal, K., Moreau, Y., Van de Peer, Y., Rouzé, P. & Rombauts, S. (2002). PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Res* **30**, 325-327.

Licausi, F., Giorgi, F., Zenoni, S., Osti, F., Pezzotti, M. & Perata, P. (2010). Genomic and transcriptomic analysis of the AP2/ERF superfamily in *Vitis vinifera*. *BMC Genomics* **11**, 719.

Lijavetzky, D., Cabezas, J. A., Ibáñez, A., Rodríguez, V. & Martínez-Zapater, J. M. (2007). High throughput SNP discovery and genotyping in grapevine (*Vitis vinifera* L.) by combining a re-sequencing approach and SNPlex technology. *BMC Genomics* **8**, 424.

Liu, J.-J. & Ekramoddoullah, A. K. M. (2003). Root-specific expression of a western white pine PR10 gene is mediated by different promoter regions in transgenic tobacco. *Plant Mol Biol* **52**, 103-120.

Liu, J.-J., Ekramoddoullah, A. K. M., Piggott, N. & Zamani, A. (2005). Molecular cloning of a pathogen/wound-inducible PR10 promoter from *Pinus monticola* and characterization in transgenic Arabidopsis plants. *Planta* **221**, 159-169.

Liu, J.-J., Sturrock, R. & Ekramoddoullah, A. (2010). The superfamily of thaumatin-like proteins: its origin, evolution, and expression towards biological function. *Plant Cell Rep* **29**, 419-436.

Liu, J.-J., Ekramoddoullah, A. M., Hawkins, B. & Shah, S. (2013). Overexpression of a western white pine PR10 protein enhances cold tolerance in transgenic Arabidopsis. *Plant Cell Tiss Organ Cult* **114**, 217-223.

Liu, X., Huang, B., Lin, J., Fei, J., Chen, Z., Pang, Y., Sun, X. & Tang, K. (2006). A novel pathogenesis-related protein (SsPR10) from *Solanum surattense* with ribonucleolytic and antimicrobial activity is stress- and pathogen-inducible. *J Plant Physiol* **163**, 546-556.

Lorenzo, O., Piqueras, R., Sánchez-Serrano, J. J. & Solano, R. (2003). ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 Integrates Signals from Ethylene and Jasmonate Pathways in Plant Defense. *The Plant Cell Online* **15**, 165-178.

Lorenzo, O., Chico, J. M., Sánchez-Serrano, J. J. & Solano, R. (2004). JASMONATE-INSENSITIVE1 Encodes a MYC Transcription Factor Essential to Discriminate between Different Jasmonate-Regulated Defense Responses in Arabidopsis. *The Plant Cell Online* **16**, 1938-1950.

Maeda, K., Kimura, S., Demura, T., Takeda, J. & Ozeki, Y. (2005). DcMYB1 Acts as a Transcriptional Activator of the Carrot Phenylalanine Ammonia-lyase Gene (DcPAL1) in Response to Elicitor Treatment, UV-B Irradiation and the Dilution Effect. *Plant Mol Biol* **59**, 739-752.

Malacarne, G., Vrhovsek, U., Zulini, L., Cestaro, A., Stefanini, M., Mattivi, F., Delledonne, M., Velasco, R. & Moser, C. (2011). Resistance to *Plasmopara viticola* in a grapevine segregating population is associated with stilbenoid accumulation and with specific host transcriptional responses. *BMC Plant Biol* **11**, 114.

Manners, J., Penninckx, I. M. A., Vermaere, K. & other authors (1998). The promoter of the plant defensin gene PDF1.2 from Arabidopsis is systemically activated by fungal pathogens and responds to methyl jasmonate but not to salicylic acid. *Plant Mol Biol* **38**, 1071-1080.

Marguerit, E., Boury, C., Manicki, A. & other authors (2009). Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine. *Theor Appl Genet* **118**, 1261-1278.

McGrath, K. C., Dombrecht, B., Manners, J. M., Schenk, P. M., Edgar, C. I., Maclean, D. J., Scheible, W.-R., Udvardi, M. K. & Kazan, K. (2005). Repressor- and Activator-Type Ethylene Response Factors Functioning in Jasmonate Signaling and Disease Resistance

Identified via a Genome-Wide Screen of Arabidopsis Transcription Factor Gene Expression. *Plant Physiol* **139**, 949-959.

McHale, L., Tan, X., Koehl, P. & Michelmore, R. (2006). Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards. *Genome Biology* **7**, 1-11.

Meldau, S., Baldwin, I. T. & Wu, J. (2011). SGT1 regulates wounding- and herbivory-induced jasmonic acid accumulation and *Nicotiana attenuata*'s resistance to the specialist lepidopteran herbivore *Manduca sexta*. *New Phytol* **189**, 1143-1156.

Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Coste, P., Dumas, V., Haetty, S., Butterlin, G. & Greif, C. (2003). Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia*. *Acta Horticulturae* **1**, 451-456.

Merz, P. (2014) Die Untersuchung der Erkennung von *Plasmopara viticola* durch VRP1 Rezeptoren und der Regulation der Pathogenabwehr durch die Transkriptionsfaktoren VvWRKY33 und VvERF5 in der Weinrebe (*Vitis* sp.). *Dissertation (Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg)*

Mhlanga, M. M. & Tyagi, S. (2006). Using tRNA-linked molecular beacons to image cytoplasmic mRNAs in live cells. *Nat Protocols* **1**, 1392-1398.

Micheletti, D., Troggio, M., Zharkikh, A., Costa, F., Malnoy, M., Velasco, R. & Salvi, S. (2011). Genetic diversity of the genus *Malus* and implications for linkage mapping with SNPs. *Tree Genet Genom* **7**, 857-868.

Miller, A. J., Matasci, N., Schwaninger, H., Aradhya, M. K., Prins, B., Zhong, G.-Y., Simon, C., Buckler, E. S. & Myles, S. (2013). *Vitis* Phylogenomics: Hybridization Intensities from a SNP Array Outperform Genotype Calls. *PloS one* **8**, e78680.

Moffat, C. S., Ingle, R. A., Wathugala, D. L., Saunders, N. J., Knight, H. & Knight, M. R. (2012). ERF5 and ERF6 Play Redundant Roles as Positive Regulators of JA/Et-Mediated Defense against *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis*. *PloS one* **7**, e35995.

Mohr, H. D. (2005). Farbatlas Krankheiten, Schädlinge und Nützlinge an der Weinrebe.

Monaco, M. K., Stein, J., Naithani, S. & other authors (2014). Gramene 2013: comparative plant genomics resources. *Nucleic Acids Res* **42**, D1193-D1199.

Monteiro, F., Sebastiana, M., Pais, M. S. & Figueiredo, A. (2013). Reference Gene Selection and Validation for the Early Responses to Downy Mildew Infection in Susceptible and Resistant *Vitis vinifera* Cultivars. *PloS one* **8**, e72998.

Monteiro, S., Barakat, M., Piçarra-Pereira, M. A., Teixeira, A. R. & Ferreira, R. B. (2003). Osmotin and Thaumatin from Grape: A Putative General Defense Mechanism Against Pathogenic Fungi. *Phytopathology* **93**, 1505-1512.

Moore, J. W., Loake, G. J. & Spoel, S. H. (2011). Transcription Dynamics in Plant Immunity. *The Plant Cell Online* **23**, 2809-2820.

Moreira, F., Madini, A., Marino, R., Zulini, L., Stefanini, M., Velasco, R., Kozma, P. & Grando, M. S. (2011). Genetic linkage maps of two interspecific grape crosses (*Vitis* spp.) used to localize quantitative trait loci for downy mildew resistance. *Tree Genet Genom* **7**, 153-167.

Morris, K., Mackerness, S. A. H., Page, T., John, C. F., Murphy, A. M., Carr, J. P. & Buchanan-Wollaston, V. (2000). Salicylic acid has a role in regulating gene expression during leaf senescence. *The Plant Journal* **23**, 677-685.

Müller-Dieckmann, H.-J., Grantz, A. A. & Kim, S.-H. (1999). The structure of the signal receiver domain of the Arabidopsis thaliana ethylene receptor ETR1. *Structure* **7**, 1547-1556.

Mur, L. A. J., Sturgess, F. J., Farrell, G. G. & Draper, J. (2004). The AoPR10 promoter and certain endogenous PR10 genes respond to oxidative signals in Arabidopsis. *Mol Plant Pathol* **5**, 435-451.

Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol Plant* **15**, 473-497.

Myles, S., Chia, J.-M., Hurwitz, B., Simon, C., Zhong, G. Y., Buckler, E. & Ware, D. (2010). Rapid genomic characterization of the genus vitis. *PloS one* **5**, e8219.

Nakano, T., Suzuki, K., Fujimura, T. & Shinshi, H. (2006). Genome-Wide Analysis of the ERF Gene Family in Arabidopsis and Rice. *Plant Physiol* **140**, 411-432.

Ndamukong, I., Abdallat, A. A., Thurow, C., Fode, B., Zander, M., Weigel, R. & Gatz, C. (2007). SA-inducible Arabidopsis glutaredoxin interacts with TGA factors and suppresses JA-responsive PDF1.2 transcription. *The Plant Journal* **50**, 128-139.

Nicholas, P., Magarey, P. & Wachtel, M. (1994). *Diseases and pests: Winetitles.*

Ohme-Takagi, M. & Shinshi, H. (1995). Ethylene-Inducible DNA Binding Proteins That Interact with an Ethylene-Responsive Element. *The Plant Cell Online* **7**, 173-182.

- Pan, X.-Q., Fu, D.-Q., Zhu, B.-Z., Lu, C.-W. & Luo, Y.-B. (2013).** Overexpression of the ethylene response factor SlERF1 gene enhances resistance of tomato fruit to *Rhizopus nigricans*. *Postharvest Biol Technol* **75**, 28-36.
- Park, C.-J., Kim, K.-J., Shin, R., Park, J. M., Shin, Y.-C. & Paek, K.-H. (2004).** Pathogenesis-related protein 10 isolated from hot pepper functions as a ribonuclease in an antiviral pathway. *The Plant Journal* **37**, 186-198.
- Pauwels, L. & Goossens, A. (2011).** The JAZ Proteins: A Crucial Interface in the Jasmonate Signaling Cascade. *The Plant Cell Online* **23**, 3089-3100.
- Pearl, J. R., Lu, R., Sadanandom, A. & other authors (2002).** Ubiquitin ligase-associated protein SGT1 is required for host and nonhost disease resistance in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**, 10865-10869.
- Peressotti, E., Wiedemann-Merdinoglu, S., Delmotte, F., Bellin, D., Di Gaspero, G., Testolin, R., Merdinoglu, D. & Mestre, P. (2010).** Breakdown of resistance to grapevine downy mildew upon limited deployment of a resistant variety. *BMC Plant Biol* **10**, 147.
- Pieterse, C. M. J., Leon-Reyes, A., Van der Ent, S. & Van Wees, S. C. M. (2009).** Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nat Chem Biol* **5**, 308-316.
- Polesani, M., Bortesi, L., Ferrarini, A. & other authors (2010).** General and species-specific transcriptional responses to downy mildew infection in a susceptible (*Vitis vinifera*) and a resistant (*V. riparia*) grapevine species. *BMC Genomics* **11**, 117.
- Pré, M., Atallah, M., Champion, A., De Vos, M., Pieterse, C. M. J. & Memelink, J. (2008).** The AP2/ERF Domain Transcription Factor ORA59 Integrates Jasmonic Acid and Ethylene Signals in Plant Defense. *Plant Physiol* **147**, 1347-1357.
- Puehringer, H. M., Zinoecker, I., Marzban, G., Katinger, H. & Laimer, M. (2003).** MdAP, a novel protein in apple, is associated with the major allergen Mal d 1. *Gene* **321**, 173-183.
- Pühringer, H., Moll, D., Hoffmann-Sommergruber, K., Watillon, B., Katinger, H. & da Câmara Machado, M. L. (2000).** The promoter of an apple Ypr10 gene, encoding the major allergen Mal d 1, is stress- and pathogen-inducible. *Plant Sci* **152**, 35-50.
- Pulla, R. K., Lee, O. R., In, J.-G., Kim, Y.-J., Senthil, K. & Yang, D.-C. (2010).** Expression and functional characterization of pathogenesis-related protein family 10 gene, PgPR10-2, from *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Physiol Mol Plant Pathol* **74**, 323-329.

Qi, D., DeYoung, B. J. & Innes, R. W. (2012). Structure-Function Analysis of the Coiled-Coil and Leucine-Rich Repeat Domains of the RPS5 Disease Resistance Protein. *Plant Physiol.*

Rafalski, A. (2002). Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Curr Opin Plant Biol* **5**, 94-100.

Rajjou, L., Belghazi, M., Huguet, R., Robin, C., Moreau, A., Job, C. & Job, D. (2006). Proteomic Investigation of the Effect of Salicylic Acid on Arabidopsis Seed Germination and Establishment of Early Defense Mechanisms. *Plant Physiol* **141**, 910-923.

Raskin, I., Ehmann, A., Melander, W. R. & Meeuse, B. J. (1987). Salicylic acid: a natural inducer of heat production in Arum lilies. *Science* **237**, 1601-1602.

Rawat, R., Xu, Z.-F., Yao, K.-M. & Chye, M.-L. (2005). Identification of cis-elements for ethylene and circadian regulation of the *Solanum melongena* gene encoding cysteine proteinase. *Plant Mol Biol* **57**, 629-643.

Riahi, L., Ayari, B., Zoghalmi, N., Dereeper, A., Laucou, V., Mliki, A. & This, P. (2013a). High efficiency and informativeness of a set of SNP molecular markers in Tunisian local grapevines discrimination. *Biochem Syst Ecol* **51**, 175-183.

Riahi, L., Zoghalmi, N., Fournier-Level, A., Dereeper, A., Le Cunff, L., Laucou, V., Mliki, A. & This, P. (2013b). Characterization of single nucleotide polymorphism in Tunisian grapevine genome and their potential for population genetics and evolutionary studies. *Genet Resour Crop Evol* **60**, 1139-1151.

Riechmann, J. L. & Meyerowitz, E. M. (1998). The AP2/EREBP family of plant transcription factors. *Biol Chem* **379**, 633-646.

Rombauts, S., Déhais, P., Van Montagu, M. & Rouzé, P. (1999). PlantCARE, a plant cis-acting regulatory element database. *Nucleic Acids Res* **27**, 295-296.

Rushton, P. J., Torres, J. T., Parniske, M., Wernert, P., Hahlbrock, K. & Somssich, I. E. (1996). Interaction of elicitor-induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley PR1 genes. *EMBO J* **15**, 5690-5700.

Sakuma, Y., Liu, Q., Dubouzet, J. G., Abe, H., Shinozaki, K. & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2002). DNA-Binding Specificity of the ERF/AP2 Domain of Arabidopsis DREBs, Transcription Factors Involved in Dehydration- and Cold-Inducible Gene Expression. *Biochem Biophys Res Commun* **290**, 998-1009.

- Salmaso, M., Malacarne, G., Troglio, M., Faes, G., Stefanini, M., Grando, M. & Velasco, R. (2008).** A grapevine (*Vitis vinifera* L.) genetic map integrating the position of 139 expressed genes. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **116**, 1129-1143.
- Samanani, N., Liscombe, D. K. & Facchini, P. J. (2004).** Molecular cloning and characterization of norcochlorogenic acid synthase, an enzyme catalyzing the first committed step in benzyloisoquinoline alkaloid biosynthesis. *The Plant Journal : for cell and molecular biology* **40**, 302-313.
- Scheurer, S., Metzner, K., Haustein, D. & Vieths, S. (1997).** Molecular cloning, expression and characterization of Pru a 1, the major cherry allergen. *Mol Immunol* **34**, 619-629.
- Schneider, P. (2012).** Klonierung von Resistenzgen-Kandidaten gegen Mehltau Erreger und Transformation in regeneratives Pflanzenmaterial. *Diplomarbeit*.
- Schwander, F., Eibach, R., Fechter, I., Hausmann, L., Zyprian, E. & Töpfer, R. (2012).** *Rpv10*: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **124**, 163-176.
- Selim, M., Legay, S., Berkelmann-Löhnertz, B., Langen, G., Kogel, K. H. & Evers, D. (2012).** Identification of suitable reference genes for real-time RT-PCR normalization in the grapevine-downy mildew pathosystem. *Plant Cell Rep* **31**, 205-216.
- Shao, F., Golstein, C., Ade, J., Stoutemyer, M., Dixon, J. E. & Innes, R. W. (2003).** Cleavage of Arabidopsis PBS1 by a Bacterial Type III Effector. *Science* **301**, 1230-1233.
- Sharoni, A. M., Nuruzzaman, M., Satoh, K., Shimizu, T., Kondoh, H., Sasaya, T., Choi, I.-R., Omura, T. & Kikuchi, S. (2011).** Gene structures, classification and expression models of the AP2/EREBP transcription factor family in rice. *Plant and cell physiology* **52**, 344-360.
- Sheard, L. B., Tan, X., Mao, H. & other authors (2010).** Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor. *Nature* **468**, 400-405.
- Shen, Q.-H., Zhou, F., Bieri, S., Haizel, T., Shirasu, K. & Schulze-Lefert, P. (2003).** Recognition Specificity and RAR1/SGT1 Dependence in Barley Mla Disease Resistance Genes to the Powdery Mildew Fungus. *The Plant Cell Online* **15**, 732-744.
- Soh, H., Park, A., Park, S., Back, K., Yoon, J., Park, H. & Kim, Y. (2012).** Comparative analysis of pathogenesis-related protein 10 (PR10) genes between fungal resistant and susceptible peppers. *Eur J Plant Pathol* **132**, 37-48.

Solano, R., Nieto, C., Avila, J., Canas, L., Diaz, I. & Paz-Ares, J. (1995). Dual DNA binding specificity of a petal epidermis-specific MYB transcription factor (MYB. Ph3) from *Petunia hybrida*. *The EMBO journal* **14**, 1773.

Somssich, I. E. & Hahlbrock, K. (1998). Pathogen defence in plants — a paradigm of biological complexity. *Trends Plant Sci* **3**, 86-90.

Son, G. H., Wan, J., Kim, H. J., Nguyen, X. C., Chung, W. S., Hong, J. C. & Stacey, G. (2011). Ethylene-Responsive Element-Binding Factor 5, ERF5, Is Involved in Chitin-Induced Innate Immunity Response. *Mol Plant-Microbe Interact* **25**, 48-60.

Song, C.-P., Agarwal, M., Ohta, M., Guo, Y., Halfter, U., Wang, P. & Zhu, J.-K. (2005). Role of an Arabidopsis AP2/EREBP-Type Transcriptional Repressor in Abscisic Acid and Drought Stress Responses. *The Plant Cell Online* **17**, 2384-2396.

Song, S., Huang, H., Gao, H. & other authors (2014). Interaction between MYC2 and ETHYLENE INSENSITIVE3 Modulates Antagonism between Jasmonate and Ethylene Signaling in Arabidopsis. *The Plant Cell Online*.

Staswick, P. E. & Tiryaki, I. (2004). The Oxylin Signal Jasmonic Acid Is Activated by an Enzyme That Conjugates It to Isoleucine in Arabidopsis. *The Plant Cell Online* **16**, 2117-2127.

Staswick, P. E. (2008). JAZing up jasmonate signaling. *Trends Plant Sci* **13**, 66-71.

Takahashi, A., Casais, C., Ichimura, K. & Shirasu, K. (2003). HSP90 interacts with RAR1 and SGT1 and is essential for RPS2-mediated disease resistance in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **100**, 11777-11782.

Tapia, G., Verdugo, I., Yañez, M., Ahumada, I., Theoduloz, C., Cordero, C., Poblete, F., González, E. & Ruiz-Lara, S. (2005). Involvement of Ethylene in Stress-Induced Expression of the TLC1.1 Retrotransposon from *Lycopersicon chilense* Dun. *Plant Physiol* **138**, 2075-2086.

This, P., Lacombe, T. & Thomas, M. R. (2006). Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends Genet* **22**, 511-519.

Thomas, M., Matsumoto, S., Cain, P. & Scott, N. (1993). Repetitive DNA of grapevine: classes present and sequences suitable for cultivar identification. *Theor Appl Genet* **86**, 173-180.

Töpfer, R., Hausmann, L. & Eibach, R. (2011a). Molecular breeding. pp. 160-185. Lebanon: Science Publishers, Inc.

Töpfer, R., Hausmann, L., Harst, M., Maul, E., Zyprian, E. & Eibach, R. (2011b). New horizons for grapevine breeding. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology Eds Hendryk Flachowsky und M-V Hanke*, 79-100.

Torregrosa, L., Verries, C. & Tesniere, C. (2002). Grapevine (*Vitis vinifera* L.) promoter analysis by biolistic-mediated transient transformation of cell suspensions. *VITIS-GEILWEILERHOF* **41**, 27-32.

Troggio, M., Malacarne, G., Coppola, G. & other authors (2007). A dense single-nucleotide polymorphism-based genetic linkage map of grapevine (*Vitis vinifera* L.) anchoring Pinot Noir bacterial artificial chromosome contigs. *Genetics* **176**, 2637-2650.

Ugare, B., Banerjee, K., Ramteke, S. D., Pradhan, S., Oulkar, D. P., Utture, S. C. & Adsule, P. G. (2013). Dissipation kinetics of forchlorfenuron, 6-benzyl aminopurine, gibberellic acid and ethephon residues in table grapes (*Vitis vinifera*). *Food Chem* **141**, 4208-4214.

Untergasser, A., Nijveen, H., Rao, X., Bisseling, T., Geurts, R. & Leunissen, J. A. M. (2007). Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Res* **35**, W71-W74.

Urao, T., Yamaguchi-Shinozaki, K., Urao, S. & Shinozaki, K. (1993). An Arabidopsis myb homolog is induced by dehydration stress and its gene product binds to the conserved MYB recognition sequence. *The Plant Cell Online* **5**, 1529-1539.

Vaas, L. A., Marheine, M., Sikorski, J., Göker, M. & Schumacher, H.-M. (2013). Impacts of pr-10a overexpression at the molecular and the phenotypic level. *International journal of molecular sciences* **14**, 15141-15166.

Van der Does, D., Leon-Reyes, A., Koornneef, A. & other authors (2013). Salicylic Acid Suppresses Jasmonic Acid Signaling Downstream of SCFCO11-JAZ by Targeting GCC Promoter Motifs via Transcription Factor ORA59. *The Plant Cell Online* **25**, 744-761.

van Loon, L. C., Rep, M. & Pieterse, C. M. J. (2006). Significance of Inducible Defense-related Proteins in Infected Plants. *Annu Rev Phytopathol* **44**, 135-162.

Vanacker, H., Lu, H., Rate, D. N. & Greenberg, J. T. (2001). A role for salicylic acid and NPR1 in regulating cell growth in Arabidopsis. *The Plant Journal* **28**, 209-216.

Vanek-Krebitz, M., Hoffmannsommergruber, K., Machado, M. L. D., Susani, M., Ebner, C., Kraft, D., Scheiner, O. & Breiteneder, H. (1995). Cloning and Sequencing of Mal d 1, the Major Allergen from Apple (*Malus domestica*), and Its Immunological Relationship to Bet v 1, the Major Birch Pollen Allergen. *Biochem Biophys Res Commun* **214**, 538-551.

Velasco, R., Zharkikh, A., Troggio, M. & other authors (2007). A High Quality Draft Consensus Sequence of the Genome of a Heterozygous Grapevine Variety. *PLoS one* **2**, e1326.

Venuti, S., Copetti, D., Foria, S. & other authors (2013). Historical Introgression of the Downy Mildew Resistance Gene Rpv12 from the Asian Species *Vitis amurensis* into Grapevine Varieties. *PLoS one* **8**, e61228.

Verberne, M. C., Hoekstra, J., Bol, J. F. & Linthorst, H. J. M. (2003). Signaling of systemic acquired resistance in tobacco depends on ethylene perception. *The Plant Journal* **35**, 27-32.

Vezzulli, S., Troggio, M., Coppola, G. & other authors (2008). A reference integrated map for cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) from three crosses, based on 283 SSR and 501 SNP-based markers. *Theor Appl Genet* **117**, 499-511.

Walker, A. R., Lee, E., Bogs, J., McDavid, D. A. J., Thomas, M. R. & Robinson, S. P. (2007). White grapes arose through the mutation of two similar and adjacent regulatory genes. *The Plant Journal* **49**, 772-785.

Wang, P., Du, Y., Zhao, X., Miao, Y. & Song, C.-P. (2013). The MPK6-ERF6-ROS-Responsive cis-Acting Element7/GCC Box Complex Modulates Oxidative Gene Transcription and the Oxidative Response in Arabidopsis. *Plant Physiol* **161**, 1392-1408.

Welter, L., Göktürk-Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R. & Zyprian, E. (2007). Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L). *Mol Breed* **20**, 359-374.

Welter, L. (2008). Genetic and molecular analysis of mildew disease resistance to grapevine. *Dissertation*.

Wen, P.-F., Chen, J.-Y., Kong, W.-F., Pan, Q.-H., Wan, S.-B. & Huang, W.-D. (2005). Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene in grape berry. *Plant Sci* **169**, 928-934.

Wiedemann-Merdinoglu, S., Prado, E., Schneider, C., Coste, P., ON-IMUS, C., Dumas, V., Butterlin, G., Bouquet, A. & Merdinoglu, D. (2006). Resistance to downy mildew derived from *Muscadinia rotundifolia*: genetic analysis and use of molecular markers for breeding. In *Proc 5th Int Workshop on Grapevine Downy Mildew and Powdery Mildew*, pp. 18-23.

Wiermer, M., Feys, B. J. & Parker, J. E. (2005). Plant immunity: the EDS1 regulatory node. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 383-389.

Wong, F. P., Burr, H. N. & Wilcox, W. F. (2001). Heterothallism in *Plasmopara viticola*. *Plant Pathol* **50**, 427-432.

Wu, Y., Zhang, D., Chu, Jee Y., Boyle, P., Wang, Y., Brindle, Ian D., De Luca, V. & Després, C. (2012). The Arabidopsis NPR1 Protein Is a Receptor for the Plant Defense Hormone Salicylic Acid. *Cell Reports* **1**, 639-647.

Xiao, S., Ellwood, S., Calis, O., Patrick, E., Li, T., Coleman, M. & Turner, J. G. (2001). Broad-Spectrum Mildew Resistance in *Arabidopsis thaliana* Mediated by RPW8. *Science* **291**, 118-120.

Zhang, C., Shanguan, L., Ma, R., Sun, X., Tao, R., Guo, L., Korir, N. & Yu, M. (2012). Genome-wide analysis of the AP2/ERF superfamily in peach (*Prunus persica*). *Genetics and molecular research: GMR* **11**.

Zhang, Z.-L., Xie, Z., Zou, X., Casaretto, J., Ho, T.-h. D. & Shen, Q. J. (2004). A Rice WRKY Gene Encodes a Transcriptional Repressor of the Gibberellin Signaling Pathway in Aleurone Cells. *Plant Physiol* **134**, 1500-1513.

Zhu, Z., Shi, J., Xu, W. & other authors (2013). Three ERF transcription factors from Chinese wild grapevine *Vitis pseudoreticulata* participate in different biotic and abiotic stress-responsive pathways. *J Plant Physiol* **170**, 923-933.

Zhuang, J., Cai, B., Peng, R.-H. & other authors (2008). Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Populus trichocarpa*. *Biochem Biophys Res Commun* **371**, 468-474.

Zhuang, J., Peng, R.-H., Cheng, Z.-M. & other authors (2009). Genome-wide analysis of the putative AP2/ERF family genes in *Vitis vinifera*. *Scientia Horticulturae* **123**, 73-81.

Anhang

Anhang 1: Promotorsequenzen

>Promotor ERF1-Lemberger-Allel A (2259 bp)

```
TCATCACATGAAAAGGTCGAAAAATTCCTAATGAAAAGACTATCCAATATATAAAAAGATAAACTTTTATACTTG
AAGCAATTATTTTCATCGGTACTTGATAGGTTTTTCCTTCTATATGTTCAAACACTACAAATTTTAGGGTCTAAAA
CCCATTTATTTTCAAACAAAACATAAGTTTTCCATTACAAAAAGCCGAATATACTTTCACTAAAATCACTTCCAA
ATTACAACCTATCAAAAAAATTCGATATCCACGACTTATCATTTAAAGTTTAAATCCATGTGTAGTCAATACCCCT
CTAGCCTTTTTTACCATAATAATCCAACACCCATCATCATCACAAACAAAAGGTTCAAAAACATTATTATATATAAA
AAAAATATTATACTCCATGATATCTAATGATATATCCTGTTTTGTCTATTAAAAAGGGATAAAAATAATTTCTAAA
AACAAATTTTCAATTTTTGAAACATTAATATGATTTTTTTTTTTTTAAAAAACTTAGAAGTTTAGAAGATTTTTCAA
GTGGATGGCGGTTGGTTCATTTGGCACAATAATCCATTTTGTATGAATGTATACGAGTCAGGTCAATGTGTTT
TATTCAAAGCACGTGTAATTCGACTTTTTCTCATTTTTTCATCCCCTTAGTCTTCAAGTGGGACCCCTCTCTTGATG
AGTTTGTAACTTTGGAAAAGTCAAGATGGGGAAGGTGATTTAGATTCCCTTCCCTTTTCATGGTGGGTGCTACCA
CCCAAAGAAAAATCAAACCTTATGTTACGAATTGGATGACGTCAATTCCTCCCTCCCTCAATTTCAAACATCTG
CGTCATGCCACCCGAAACCCAACCACCTTTATCACCTCTTTGTATATATCTCTTTGTGCTTGTTTTTAGTCA
CCAGGATGACGTGACCCAAGCCTAAGTGTGTTTTGCTATAAATTTGCCATCGTATTCGGCCTAAATTCGAGAATTAC
CCTTCATCAAACAAATTTATTAAGAATTTGCTTTTTGTTATTATTTATTTTTTGTACTTTAAAAATAGAAAAGGAAAT
TCAAATGTGTTTATGTTAAAATCGGGTTTTATTTTATTTATCTCTTTAATCCAATTCAGTTAATCCCTTTTGTA
CTCTATTTAATTTAAAAATATTGAATTTCTTTTTATATGATTTTTTAATAACCCTTTTTGAATTTCTCATCATCA
AGCTTGTGAAAAGATAAAAAGAAGTCTTGAGCCCCAAGTGTGCCAAGCCATTTGAGAGAGAATTTAAGTGGTT
TGAGTCGAAAACCCCTCAATGCACGACATGTCCATATATGCATTTTTCGTAAGGTTTTTAATTTCTGAATTTAAAG
GTAGGCCGTCAACCCTTTTCTACACCAAGTTTGTATTCTTGAAAAGACGAATCTATTTTAGTCATAATTTGGGTTT
TGTCATTTTTAGTTTTAGTCTTATTCTTTGAGACCTATTTTTAAAAATATATATATATATATAAACCCTTAG
TATAAGATTATCTATGTATAAAGACTTTTTGTTAAAAGAATTTTTTCAACCTTTAGATGAAACTTAGTTCATTGTT
CGGACCTTTCACTAAAGTCTACTAAACTCTGTGAGTTTTATTACAAAAGCATTGAAAAGTAAATATATATATAAAAT
GAATGGTATTTACTTCAATGGCATAATGAACACATGTCTTCACGGTAATTTCTAGAGCTTTTATGACATATTTACT
AAGGCCTTTTTTTTTTAAAAAAGAAAACCAATGAAAAGAAAAGAACCATAACAATAATGAAAAATAAAGGAA
ATGAAAATAGAGTTGAGAATCTTTGAAGTATTGAAAACCCCAATACTACGGCAGATGCAAATAAGAATATTTT
CAACATTTTATAGGGCAGGTAACCTTGTCCGAGTTAATTAACCCAATATCTACGGTGGAAGAAAAGAAGCAAACA
ATAATAAGCCAAGTGCAGGGGCTCTTGGAGTGAGGACAATGACCCACATGGAAACTCACTGCCGTTAAACAAA
TAAATTAATCTTTTTTAGGCATTTCCAAACCTAAGATATGCGGATAAGCAGATCTTTATGCATTAGAGTACAAAA
TTATGTATATGGGCCCTTTTATATGATGTTTGGTAGTGCAATGGTGAATATGATGGAAAAGCAAGGGCAAAGCT
TTTGAGTTTTGATAAATGAGTAGAAAACACATGCCCTGCCCCACGATTTTTTCACTCTTTCTATTTCCCCCAT
GACTTCTCC
```

>Promotor ERF1-Lemberger-Allel B (2268 bp)

```
TCATCACATGAAAAGGTCGAAAAATTCCTAATGAAAAGACTATCCAATATATAAAAAGATAATCTTCTATACTTG
AAGCAATTATTTTCATCGGTACTTGATAGATTTTTTCCTTCTATATGTTCAAACACTACAAATTTTAGGGTCTAAAA
CCCATTTATTTTCAAATGACTTGTTCAAAACATAAGTTTTCCATTACAAAAAGCCGAATATACTTTCACTAAAAT
CACTTCCAAATTACAACCTATCAAAAAAATTCGATATCCACGACTTATCATTTAAAGTTTAAATCCATGTGTAGT
CAATACCCTCTAGCCTTTTTTACCATAATAATCCAACACCCATCATCATCACAAACAAAAGGTTCAAAAACATTATT
ATATATAAAAAAATATATTATACTCCATGATATCTAATGATATATCCTGTTTTGTCTATTAAAAAGGGATAAAA
TAATTTCAAAAACAAATTTTCAATTTTTGAAACATTAATATGATTTTTTTTTTAAAAAATAAAGGTTTAGAAG
ATTTTTCAAGTGGATGGCGGTTGGTTCATTTGGCACAATAATCCATTTTGTATGAATGTATACGAGTCAGGTC
AATGTGTTTTATTCAAAGCACGTGTAATTCGACTTTTCTCATTTTTTCATCCCCTTAGTCTTCAAGTGGGACCCCTC
TTCTTGATGAGTTTGTAACTTTGGAAAAGTCAAGATGGGGAAGGTGATTTAGATTCCCTTCCCTTTTCATGATGGG
TTGCTACCACCAAGAAAATAAATAAATCAAACCTTATGTTACGAATTGGATGACGTCAATTCCTCCCCCCTTCAATTTCT
AAACATCTGCCTTATGCCACCCGAAACCCAACCACCTTTATCACCTCTTTGTATATATCTCTTTGTGCTTGTGCTTGT
TTTTAGTCACCGGATGACGTGACCCAAGCCTAAGTGTGTTTTGCTATAACTTGCCATCGTATTCGGCCTAAATTTG
CAGAATTACCCTTCATCAAACAAATTTATTAAGAATTTGCTTTTGTATTATTTATTTTTTGTACTTTAAAAATAG
AAAGGAAATTCAAATGCGTTTTATGTTAAAATCGGGTTTTATTTTATTTATCTCTTTAATCCAATTCAGTTAATCC
CCTTTTTGTACTCCATTTAATTTAAAAATATTGAATTTCTTTTTATATGATTTTTTAATAACCCTTTTTGAATTTCT
TCATCATCAAGCTTGTGAAAAGATAAAAAGAAGTCTTGAGCCCCAAGTGTGCCAAGCCATTTGAGAGAGAATTT
TAAGTGGTTTTGAGTCGAAAACCCCTCAATGCACGACATGTCCATATATGCATTTTTCGTAAGGTTTTTAATTTGTTG
AATTTAAAGGTAGGCCGTCAACCCTTTCTACACCAAGTTTGTATTCTTGAAAAGACGAATCTATTTTAGTCATA
ATTGGGTTTTGTCAATTTCTAGTTTTAGTCTTATTCTTTGAGACCTATTTTTAAAAATATATATATATATATATAT
AACCTTAGTATAAGATTATCTATGTATAAAGACTTTTTGTTAAAAGAATTTTTTCAACCTTTAGATGAAACTTAG
```

TTCATTGTTTCGGACCTTTCACTAAAGTCTACTAAACTCTATGAGTTTATTACAAAAGCATTGAAAGTAAATATAT
ATATAAAATGAATGGTATTTACTTCAATGGCATAATGAACACATGTCTTCACGGTAATTCTAGAGCTTTTATGAC
ATATTTACTAAGGCCTTTTTTTTTTAAAAAAGAAACCAAATGAAAAAGAAAAGAACCCATAACAATAATGAAAA
TAAAAGGAAATGAAAAATAGAGTTGAGAATCTTTGAAGTATTCGAAAAACCCCAATACTACGGCAGATGCAAAATA
GAATATTTTCAACATTTTATAGGGCAGGTAACCTTGTCGGAGTTAATTAACCCAATATCTACGGTGGAAAGAAA
AGCAAACAATAATAAGCCAAGTGCAGGGGGCTCTGGAGTGAGGACAATGACCCACATGGAAACTCACTGCCG
TTAAACAATAAATTAATCTTTTAGGCATTTCCAAACCTAAGATATGCGGATAAGCAGATCTTTATGCATTAGA
GTACAAAATTATGTATATGGGCCCTTTTATATGATGTTTGGTAGTGCAATGGTGTAATATGATGGAAAAGCAAG
GGCAAAGCTTTTGAGTTTTGATAAATGAGTAGAAAACACATGCCCTGCCCCACGATTTTCACTCTTCTCTAT
TTCCCCATGACTTCTCC

>Promotor ERF1-Regent-Allel A (2247 bp)

TCATCACATGAAAAGGTGAAAAATTTCCCTAATGAAAAGACTATCCAATATATAAAAAGATAAATCTTCTATACTTG
AAGCAATTATTTTCATCGGTACTTGATAGGTTTTCTTCTATATGTTCAAACACTACAAATTTTACGATCTAAAAA
CCCATTTATTTTCAAACGACTGGCTCAAAATATAAGTTTTCCATTACAAAAAGCCGAATATACTTTCACTAAAAAT
CACTTCCAAATTACAACCTATCAAAAAAATTCGATATCTACGACTTATCATTTAAAGTTTAAATCGATGTGTAGT
CAATACCCTCTAGCCTTTTTACCATAATAATCCAACACCCATCATCATCAAAAACAAAAGGTTCAAAACATTATT
ATATACAAAAAATATTATACTCCTGATATCTAATGATATATCCTGTTTTGTCTATTAAAAAGGGATAAAAATA
ATTCTAAAAACAAATTTCAATTTTTGAAACATTAATATGATTTTTTTTTTAAAAAATAATAGAAGTTTAGAAGAT
TTTTCAAGTGGATGGCGGTTGGTTCATTTGGCACAAATATTCCATTTTGTATGAATGTATGCGAGTCAGGTCAA
TGTGTTTTATTCAAAGCACGTGTAATTCGACTTTTCTCATTTTTTCATCCCCCTTAGTCTTCAAGTGGGACCCCTCTT
CTTGATGAGTTTGTAAACGTTGGAAAAGTCAAGATGGGGAAGGTGATTAGATTCCCTTCCCTTTTCATGGTGGGTTG
CTACCACCCAAAGAAAAATCAAACCTTATGTTACGAATTGGATGACGTCAATCTCCTCCCCCCTTCAATTTCTAAA
CATCTGCGTCATGCCACCCGAAACCCAACCACCTTTATCACCTCTTTGTATATATCTCTTTGTGCTTGTFTTT
TAGCCACCGGGATGACGTGACCCAAGCCTAAGTGTGTTTGTCTATAATTTGCCATCGTATTCGGCCTAAATTCGAG
AATTACCCTTCATCAACAATAATTTAATAAGAATTTGCTTTTGTATTATTTATTTTGTACTTTAAAAATGAAA
GAAATTCAAATGCGTTTTATGTTAAAATCGGGTTTTATTTATTTATCTCTTTAATCCAATTCAGTTAATCCCCT
TTTGTACTCCATTTAATTTAAAAATATTGAATTTCTTTTTATATGTATTTTTAATAACCCTTTTGAATTTCTCA
TCATCAAGCTTGTGAAAAGATAAAAAGAAGTCTTGAGCCCCAAGTGTGCCCAAGCCATTTGAGAGAGAATTTAA
GTGGTTTGTAGTCGAAAACCTCAATGCACGACATGTCCATATATGCATTTTGCCTAAGGTTTTTAATTGTTGAAT
TTAAAGGTAGGCCGTCACCCCTTTCTACACCAAGTTTGATTCTTGAAAAAGACGAATCCATTTTAGTCATAATT
GAGTTTTGTCAATTCTAGTTTTAGTCTTATTCTTTGAGACCTATTTTTTTTTTTTTAAAAATATATATAACCCTTAC
CTAGTATAAGATTATCTATGCATAACGACTTTTGTAAAAGAAATTTTTCAACCTTGATGAAGCTTAGTTCATTC
TACGGACCTTTCACTAAAGTCTAGTAAACTCTATGAGTTTATTACAAAAGCATTGAAAGTGAATATATATAAAAT
GAATGGTATTTACTTCAATGGCATAATGAACACATGTCTTCACGGTAATTCTAGAGCTTTTATGACATATTTACT
AAGACTTTTTTTTTTAAAAAAGAAACCAAATGAAAAAGAAAAGAACCCATAACAATGATGAAAATAAAAGGA
AATGAAAATAGAGTTGAGAATCTTTGAAAGTATTCGAAAACCCCAATACTACGGCAGATGCAAAATAAGAATATT
TTCAACATTTTATAGGGCAGGTAACCTTGTCGGAGTTAATTAACCCAATATCTACGGTGGAAAGAAAAGCAAAAC
AAATAATAAGCCAAGTGCAGGGGGCTGAGGACAATGACTCACATGGAAACTCACTGCCGTTAAACAAAATAAAT
TAATCTTTTAGGCATTTCCAAACCTAAGATATGCGGATAAGCAGATCTTTATGCATTAGAGTACAAAAATATG
TATATGGGCCCTTTTATATGATGTTTGGTAGTGCAATGGTGTAATATGATGGAAAAGCAAGGGCAAAGCTTTTGA
TAAATGAGTAGAAAACACATGCCCTGCCCCACGATTTTTTCACTTTTCTATTTCCCCATGACTTCTCC

>Promotor ERF1-Regent-Allel B (2258 bp)

TCATCACATGAAAAGGTGAAAAATTTCCCTAATGAAAAGACTATCCAATATATAAAAAGATAAACTTTTATACTTG
AAGCAATTATTTTCATCGGTACTTGATAGGTTTTCTTCTATATGTTCAAACACTACAAATTTTAGGGTCTAAAAA
CCCATTTATTTTCAAACAAAACATAAGTTTTCCATTACAAAAAGCCGAATATACTTTCACTAAAAATCACTTCCAA
ATTACAACCTATCAAAAAAATTCGATATCCACGACTTATCATTTAAAGTTTAAATCCATGTGTAGTCAATACCCT
CTAGCCTTTTTACCATAATAATCCAACACCCATCATCATCAAAAACAAAAGGTTCAAAACATTATATATATAAAA
AAAAATATTATACTCCATGATATCTAATGATATATCCTGTTTTGTCTATTAAAAAGGGATAAAAATAATTTCTAAA
AACAAATTTCAATTTTTGAAACATTAATATGATTTTTTTTTTTTTAAAAAATAATAGAAGTTTAGAAGATTTTCAA
GTGGATGGCGGTTGGTTCATTTGGCACAAATATTCCATTTTGTATGAATGTATACGAGTCAGGTCAATGTGTTT
TATTCAAAGCACGTGTAATTCGACTTTTCTCATTTTTTCATCCCCCTTAGTCTTCAAGTGGGACCCCTCTCTTGATG
AGTTTGTAAACGTTGGAAAAGTCAAGATGGGGAAGGTGATTTAGATTCCCTTCCCTTTTCATGGTGGGTTGCTACCA
CCCAAAGAAAAATCAAACCTTATGTTACGAATTGGATGACGTCAATCTCCTCCCTCCCTTCAATTTCTAAACATCTG
CGTCATGCCACCCGAAACCCAACCACCTTTATCACCTCTTTGTATATATCTCTTTGTGCTTGTFTTTTAGTCA
CCAGGATGACGTGACCCAAGCCTAAGTGTGTTTGTCTATAATTTGCCATCGTATTCGGCCTAAATTCGAGAATTAC
CCTTCATCAACAATAATTTAATAAGAATTTGCTTTTGTATTATTTATTTTGTACTTTAAAAATAGAAAAGGAAAT
TCAAATGTGTTTATGTTAAAATCGGGTTTTATTTATTTATCTCTTTAATCCAATTCAGTTAATCCCCTTTTGT
CTCTATTTAATTTAAAAATATTGAATTTCTTTTTATATGTATTTTTAATAACCCTTTTGAATTTCTCATCATCA
AGCTTGTGAAAAGATAAAAAGAAGTCTTGAGCCCCAAGTGTGCCCAAGCCATTTGAGAGAGAATTTAAGTGGTT
TGAGTCGAAAACCTCAATGCACGACATGTCCATATATGCATTTTGCCTAAGGTTTTTAATTTCTGAATTTAAAG

GTAGGCCGTC AACCTTTTCTACACCAAGTTTGATTCTTGAAAAAGACGAATCTATTTTAGTCATAATTGGGTTT
TGTC AATTTT TAGTTT TAGTCTTATTCTTTGAGACCTATTTTTAAAAATATATATATATATATAAAACCTTAGT
ATAAGATTATCTATGTATAAAGACTTTTTGTTAAAAGAATTTTTTCAACCTTTAGATGAAACTTAGTTCATTGTTT
GGACCTTTTACTAAAGTCTACTAACTCTGTGAGTTTATTACAAAAGCATTGAAAAGTAAATATATATATAAAATG
AATGGTATTTACTTCAATGGCATAATGAACACATGTCTTACGGTAATTCTAGAGCTTTTATGACATATTTACTA
AGGCCTTTTTTTTTAAAAAACC AAATGAAAAAGAAAAGAACCCATAACAATAATGAAAAATAAAAGGAAA
TGAAAAATAGAGTTGAGAATCTTTGAAGTATTCGAAAACCCCAATACTACGGCAGATGCAATAAGAATATTTTC
AACATTTTATAGGGCAGGTAACCTTGTCTGGAGTTAATTAACCCAATATCTACGGTGGAAGAAAAGCAACAAA
TAATAAGCCAAGTGCAGGGGCTCTTGGAGTGAGGACAATGACCCACATGGAACCTACTGCCGTAAACAAAAT
AAATTAATCTTTTTAGGCATTTCCAAACCTAAGATATGCGGATAAGCAGATCTTTATGCATTAGAGTACAAAAT
TATGTATATGGGCCCTTTTATATGATGTTTGGTAGTGCAATGGTGTAAATATGATGGAAAAGCAAGGC AAAGCTT
TTGAGTTTTGATAAATGAGTAGAAAACACATGCCCTGCCCCACGATTTTTTCACTCTTTCTATTTCCCCCATG
ACTTCTCC

>Promotor ERF5-Lemberger und Regent (1204 bp)

GTCAAGTATGGCAGAGATGCTGCCAATTGAAGGCATGCGATAAACCTCCTGTGTTTCGTAGCACTGGTATGTTCTC
CCATGGAAGCATCTACACAATCAATTAGCTTGAGGTTGAGAATTTTATTTTGATATGATTCTAAATTTTTTAGA
GATAATTATATTATTTATTATGATGATTATCATTCAATTTAATTATGATAATTAACCTAACTAATTATGAAAATTA
TAATATTTATTTTATGTGACATGTCAATATATTATTAGCAAATTTATTAACATATGAAAAATAACTTAGTGAAAA
ATTTATTTCTACGTACACACGTATAAATATTAATACAAATAAATTTCTTTTTTATTATCAAAGATTTATTTCAAAT
TTTTCCAACAAAATGTATCATAAAAATTTGAAGAAGGGACATGTCATTCGACCTTGAAAACTTCTTTTTAGCCAT
AAAATTTGAAACAAGAAAGACACAACAAATTTATCTTTTTCTTTTTTCTCATTCAAGAAAACCTTTTTCTTCAAC
AACGTTAAAATCTGTACTCTTTCCCAAACCTTATTCGTTATGTGCATGCACAATCTAAAATATATAAAAAATAACC
CCACATCTTATGCGCATATGATTGATTTTCATAGCCTTCCCCTCTTAGTTACAATTATGCAATTATCCTATTTAT
TGTTATTTTTCTGCAGAAATTTAGCTTTAAAATGTTATAAAGTTGAATTAATAAATAAAAAATAGTTATTCAT
TGGGCGGTAGCAACTGGGCAGCCAGCTGGTGGGATGTGGTTGAGGGGAAACTATGCGGATGGAACCCATAGG
AGAGCCCAAGTTGAGAAGCTGTCCGGTCCAAGGGGATAAACCCAGCTTCATCCAGAGTCAGATCTATCATTTGA
ATAGTATTGGACACAAAATAAGTCAAAAATATAGGATCTCAGAGTCTCTGTATTAACCATAAGTTCCTCTATACA
TGTGGGAAGAACCCAAGAAACCACTGTCTGGACTAATAATATAAACCATAAAGTTTGAATATATAAATCCCACTTGC
GATGTTGACATATGGATACCACAAGAAAGTTTCAATCCCCGACTTGGAACCTCATCTGAAGCCTCCTCTTTCTA
TCTATCGTGTATATATAGCTCCACCACACTCTCTCCTCTCCACTCACTCTCACTCTCTACTTCTCAGTGCTCAT
CTCC

>Promotor MYBB-Lemberger-Variante 1 (2513 bp)

CGGTTAACGACAAGAGTGGTTAAGCAGGGAGGCCCCACACAACATCTTGGTTATCATTGAGTTATCATTGAAAT
GAGATCATTTGCAGACACAATATCACTGGACTAGCTTCAGAGTTCAGACCATCTTGATATCTTGTGTTGAATAAA
TGAAGGCAGCCAGTTGTCTGCAGAGTCAACCACCGCAACCATGAAAGATATTTAGTTAGACTATTCCATTCCATT
CCATTCCATTTTCAATTAATTTTCGTTTTCAACGCACATGAGGCAAATCCCATCTGAAATATTTAGGCTACATTTGA
TTTTTAGGAATTTTGAACAAAAATACAAGAAAAATTCATTTATTTTAAATTTATTTATGTAATAATTTAAATTA
AATTTAATATTTTTTTCCCTTCCCTAAATACTTTCCCTAAATTTATATTACTCACCACACATGTGGATTTGCAAAAG
AACTAATAAAAAAAGCCTTTTCTTACAAATTTATTCTAGCATGCCTTTTACATATTTTTTATGATTCATTTTA
TTTTTAAATTAATAATCATAAATAATGGTAGAGAAATAAATAAATAAATAAACCATATTTTAAAAATACAATTTCCG
CTATAAATAATGAGTGGCATTTTTCAAATGTGATTTCCATCTTATTTTTTAAATGGGTTCGATTCTATTTTTTT
TTTAAAAAATAAATAATCTTTAAATTTTAAAGAATGTAGATATGTGATTTTTTTTTTTCTATTTTGGGTCAAAT
ATATATATATCTATGTGTCAAGTCTCAATGGAATGTGACTTAATAAAAAACATTTGGCCAAGGACTGACTTGGA
AATGGCTGACCAGTCATTTTTTCAATCATCTTATTGTTCTAAGTTGCAAGCTATTGCCCTTGCTGCTTCCCGGAT
CCTCCCAACTTACATTCCTTTTACACCCAAGTAACCTCAGTCAACAAAATGTGTACTCTCCCCATCACTTTTCAAT
GGCTACTGGAGTCAAATTTATGATCCTCTTCTTTGACATACATGCCTTGTGTATCAGACTTGAGATGCTCTTCTTT
TTTTTTTTTTTTTCAAATTTTTGAAATCTTTATCAAAAAATACATTTTTAAAAATGCTTCTTAAAAATATAATTTTA
AATCATTTTCAAGAGTAAAGTTATATTTAAAAATTTAAAAATAAATAAATTTTTCGAATTTATTTCTAATTTAAA
TAAACGTTGAACAATCAAATATCATTTTTTAGACTATCAAGTTAAACTTTGAACTCATAATAATAATATATACAG
GTTGAAAAAAGAGAGAAAAATATTAATAAATCCAATCAATCTTGAATTTACGATCCGGAACATGTGACTTA
TTTTTGTCTGGGACCATATATGATATGTCACGTTAAGGTTACTTTTTCTAATTTCAAAGTGTATGCACAATTTTT
CCACGGTGCATGGCCAACCTCCTGCCTTGGAAATCAATAGCCAGGGCTTATGGAGGTTTATGACTCAGGAGGATCA
TAAATTTATTTTTAATTAATTAACAGTTTCTGTCTTAAATTAAAAAATATTTATATATAAAAAAATATTAGAA
TTTATTCAGTTGTTTTTATTTTTAAAAATAAAAAACTGTTTATAAAAAATTTATTTTTTCAATCAGTTGTTTTTTGA
AATTAACCTTTAAAAATAAAGAACAATTTTTAAAAATAAATTAATAATTTTATTTTTTAAATTTTAAATTTAAT
TTAAAAATAATTTAAAAAACAAGTTAAGAGAAAAAGGCAACAAACCTTAAATTTTTGTTATGTTTTTCAAAT
TTATTCGGTTGTTTTGTTTTTAAAGTAAAAACTATTTTTAAAAATTTGTAATCTTGTTCATCAATTTGTTTT
TTGAAATTAACCTTTAAAAATAAAGAACAATTTTTAAAAATAAATTAATAATTTTTCATCTATTTTTTTTTTTTA
AAAAAATAATTTGGGATCCGTCTTATCATATTTTTAGAAATTTAATTTTAAAAATTAATTTTTTAACTTTT

AATTTAAAAATAATTTTTTAAAAACAAGTTTAAAGAGAAGAAGACAAACAAGCCTTAAATTTTTTCCTATGTTTTTCA
ACGTTTTTACAATTTATTAAAAATCGGTTTTTAAAGAATTTTTTACATCCAATGTAGAATCTAGTAATCTACTGTTTGC
TTTTATATTTAAAAATAGAAATAGGAAAGCCTATTGAAGCCAACCTAACTCATTCAAACCTTGAAGAGAGAGAGAGA
GAAAATATCCTCCTTCCGGGAAATTGCAGCAAAGTTGCTTTCTTGGACTACTAATCTTCCAGCACATTAACCCCTC
GTGGCTTTGGAATAGTACGTCTATATGGTAGGATAAATACCCACACGACAACAGGGAAAAATCACCTCCAGATTGA
GGAAAGCAGAGCTAGCCAGAGGTTAGAGTAGTGGTGT

>Promotor MYBB-Lemberger-Variante 2 (2561 bp)

CGGTTAACGACAAGAGTGGTTAAGCAGGGAGGCCCCACACAAAACATCTTGGTTATCATTGAGTTATCATTGATA
TATTAGAAATATGAATGAGATCATTGTCAGACACAATATCACTGGACTAGCTTCAGAGTTCAGACCATCTTGATA
TCTTGTGTTGAATAAATGAAGGCAGCCAGTTGTCTGCAGAGTCACCACCGCCAACCATGAAAAGATATTTAGTTAG
ACTATTCCATTCCATTCTATTCCATTCCATTAATTTTCGTTTTCAACGCACATGAGGCCAAATCCCATCTGAAATA
TTTAGGCTACATTTGATTTTTTAGGAATTTTTGAAAACAAAATTAATAAATCATTTTAAATCTAATTCATTTATGTA
AAATTATTGAATTAATAATTTTTAAAATACATAAATATGTAATTAATTTAATTATATTGGATTTTTTTTTTAAAT
TTTTTGATGATAAAATCAAATATAAAAATTTATAATATTTTTTCCCTTCTAAATACTTCTAAATTTATATTA
CTCACACACATGTGGATTTGCAAAGAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
TGCCTTTTACATATTTTTTATGATTCATTTTATTTTTTAAATTAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
ATATAAAACCATATTTTTAAAATACAATTTTCGCTATAAATAATAGAGTGGGCATTTTCAAATGTGATTTCCATCT
TATTTTTTAAATGGGTTTCGATTCATTTTTTTTTTTTTTAAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
GATTTTTTTTTTCTATTTTGGGTCAAATTTATATATATATCTATGTGTCAAGTCGTCAATGTTTTTCATTCATCTT
ATTGTTCTAAGTTGCAAGCTATTGCCCTTGCTTCCCGGATCCTCCCAACTTACATTCCTTTTACACCCAAG
TAACCTCAGTCAACAAATGTGTACTCTCCCCATCACTTTTCATTGGCTACTGGAGTCAAATTTATGATCCTCTTCT
TTGACATACATGCCTTGTGTAACAGACTTGAGATGCTCTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTCAAATTTTTGAAATCTTT
ATCAAAAATAACATTTTAAAATGCTTCTTAAAATATAATTTTAAATCATTTCAGAGTAAAGTTATATTTAA
AATTTAAAAATAAATTAATTTTTTCGAATTTATTCTAATTTAAATAAACGTTGAACAATCAAATATCATTTTTA
GACTATCAAGTTAAACTTTCAACTCATAATAATAATATACAGGTTGAAAAAAGAGAGAAAAATATAAAAA
ATCCAATCAATCTTGAATTAACGATCCGGAACATGTGACTTATTTTTGTGCGGGACCATATATGATATGTCACG
TTAAGGTTACTTTTTCTAATTTCAAAGTGTATGCACAATTTTTTCCACGGTGCATGGCCAACCTCTGTACTTGGA
ATCAATAGCCAGGGCTTATGGAGGTTTCATGACTCACGAGGATCATAAATTAATTTTTAATTAATTAACAGTTCC
TGACCTAAAATTAAAAATATTTATATATATAAAAATATTAGAATTTATTCAGTTGTTTTTGTTTTTAAAAATAA
AAAATGTTTTATAAAAATTTATAAAAATTTATTTTTTCATCAGTTGTTTTTGAATTAACCTTTAAAAATAAAGAA
CAATTTTTAAAAATAAATTAATAATTTATTTTTATCTATTTTTAAAAATAAAGAAAAATAGGATTCACCTTATC
ATATTTTTTAGAAAATTTATTTTTAATAATTAATTTTATTTTTTAAATTTTAAATTTAAAAATAAATTTAAAAA
GTTTAAAGAGAAAAAGGCAACAAACCTTAAATTTTTGTTATGTTTTTCAAATTTATTCGGTTGTTTTGTTTTTA
AAAGTAAAAAACTATTTTTTAAAATTTGTAATCTTGTTCATCAATGTTTTTGAATTAACCTTTAAAAATAA
AGAACAATTTTTAAAAATAAATTAATAATTTATTTTCATCTATTTTTTTTTTAAAAAATAAATTTGGGATCCGTC
TATTTTTTAGAAAATTTAATTTTTAAAATTTACTTTTATTTTTTAACTTTTAAATTTAAAAATAAATTTTTTAA
TTAAGAGAAGAAGACAAACAAGCCTTAAATTTTTTCTATGTTTTTCAAAGTTTTTACAATTTATTTAAATTCGGT
TTTTAAGAATTTTTTACATCCAATGTAGAATCTAGTAATCTACTGTTTGTCTTTTATATTTAAAAATAGAAA
GCCTATTGAAGCCAACCTAACTCATTCAAACCTGAAGAGAGAGAGAGAAAAATATCCTCCTTCCGGGAAATTC
AGCAAAGTTGCTTTCTTGGACTACTAATCTTCCAGCACATTAACCCCTCGTGGCTTTGGAATAGTACGTCTATAT
GTAGGATAAATAACCCACACGACAACAGGGAAAAATCACTTCCAGATTGAGGAAAGCAGAGCTAGCCAGAGGTTAGA
GTAGTGGTGT

>Promotor MYBB-Lemberger-Variante 3 (2555 bp)

CGGTTAACGACAAGAGTGGTTAAGCAGGGAGGCCCCACACAAAACATCTTGGTTATCATTGAGTTATCATTGATA
TATTAGAAATATGAATGAGACCATTTGTCAGACACAATATCACTGGACTAGCTTCAGAGTTCAGACCATCTTGATA
TCTTGTGTTGAATAAATGAAGGCAGCCAGTTGTCTGCAGAGTCACCACCGCCAACCATGAAAAGATATTTAGTTAG
ACTATTCCATTCCATTCCATTCCATTTCATTAATTTTCGTTTTCAACGCACATGAGGCCAAATCCCATCTG
AAATATTTAGGCTACATTTGATTTTTTAGGAATTTTTGAAACAAAATAAAGAAAAATTCATTTATTTTAAATTTAT
TTCTGTAATAATTTAATAATTAATTTTTAATATTGTTTTCCCTTCTAAATACTTCTAAATTTATATTAATCTCAC
CACACATGTGGATTTGCAAAGAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA
ATATTTTTTTAATGATTAATTTTATTTTTTAAATTAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATA
CCATATTTTTAAAAATACAATTTTCGCTATAAATAATATAGAGTGGGCATTTTCAAATGTGATTTCCATCTTATTT
TAAATGGGTTTCGATTCATTTTTTTTTTTTTTAAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATA
TTTTTTTTTCTATTTTGGGTCAAATTTATATATATATCTATGTGTCAAGTCAATGGAATGTGACTTAATAAAAA
TTGGCCAAGGACTTGACTTGGAAAATGGCTGACCAGTCATTTTTTCATTCATCTTATTTGTTCTAAGTTGCAAGCAA
TTGCCCTTGCTTCCCGGATCCTCCCAACTTACATTCCTTTTACACCCAAGTAACTCAGTCAACAAATGTG
TACTCTCCCCATCACTTTTCATTGGCTACTGGAGTCAAATTTATGATCCTCTTCTTTGACATACATGCCTTGTGTA
TCAGACTTGAGATGCTCCTTTTTCTTTTTCTTTTTCAAATTTTTTAAATCTTTATCAAAAAATACATTTTAAAA
TGCTTCTTAAATATAAATTTTAAATCATTTCAGAGTAAAGTTATATTTAAAAATTTTAAAAATAAATTAATTT
TTTGAATTTATTCTAATTTAAATAAATAAATTTGAACAATCAAATAACATTTTTTAGACTATCAAGTTAACTTTGAA

CTCATAATAATAATATATAGGGGTTGAAAAAAGAGAGGAAAAATATTAATAATCCAATCAATCTTGAATTAA
 ACGATCCGGAAACATGTGACTTATTTTTGTGCGGGACCATATATGATATGTCACGTTAAGGTTACTTTTTCTAGTT
 TCAAAGTGTTTTGCACAATTTTTCCACGGTGCATGGCCAACCTCCTGTACTTGAATCAATAGCCAGGCTTATGGA
 GGGTGATCATGACTCACGAGGATCATAAATAATTATTTAATTAATTAATAGTTCTGTCTTAAAAATTTATATA
 TTAATAAATATTTGTATATAAAAAAATATTAGAATTTATTCAGTTTTTTCTTGTTTTTAAAAATAAAAAAATAT
 TTTTAAAAATTTGTAATCTTGTTCATCAGTTGTTTTTTGAAATTAACTTTTAAAAATGAAGAACAATTTTTATA
 AAATAAATTAATAATTTTTCATCTATTTTTTAAAAAATAAAAGAAAATTAGGCATCGGTCTTATCATAGTTTTA
 GAAATTTATTTTTAAAAATTACTTTTTATTTTTTAACTTTTAATTTAAAAATAATTTTTAAAAACAAGTTTAAAG
 AAGGAGGCAAAACAAGCCTTAAATTTTTCTTATGTTTTTCAAATTTATTCAGTTGTTTTTGTTTTTAAAAATAAAA
 AATTATTTTTTAAAAACTTGAATCTTGTTCATCAGTTGTTTTTTGAAATTAACTTTTAAAAATAAAAAACAAT
 TTTAAAAATAAATTAATAATTTTCCATCTATTTTTTAAAAATAAAAGAAAAATTGGGATCCGTCTTATCATATTT
 TTAGAATTTTTATTTTTAAAAATTACTTTTTATTTTTTAACTTTTAATTTAAAAACAATTTTTTAAAAACAAGTTTAA
 GAGAAGAAGACAAACAAGCCTTAAATTTTTCTTATGTTTTTCAACGTTTTTACAATTTATTAATAATCGGTTTTTAA
 GAATTTTTTACATCCAATGTAGAATCTACTGTTTGCTTTTTATTTTTAAAAATAGAAAATAGGAAAAGCCTATCGAAGCC
 AACCTAACTCATTCAAACCTTGAAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAAAATATCCTCCTTCCGGGAAATTGCA
 GCAAAGTTGCTTTCTTGGACTAATCTTCCAGCACATTAACCCTCGTGGCTTTGGAATAGTACGTCTATGTTAGGA
 TAAATACCCACTCGACGACAGGGAAAATCATCTCCAGATTGAGGAAGGCAGAGCTAGCCAGAGGTTAGAGTAGTG
 GTGTT

>Promotor MYBB-Regent (2554 bp)

CGGTTAACGACAAGAGTGGTTAAGCAGGGAGGCCCCACACAAACATCTTGGTTATCATTGAGTTATCATTGATA
 TATTAGAAATATGAATGAGACCATTTGCAGACACAATATCACTGGACTAGCTTCAGAGTTCAGACCATCTTGATA
 TCTTGTGTTGAATAAATGAAGGCAGCCAGTTGTCTGCAGAGTACCACCGCCAACCATGAAAAGATATTTAGTTAG
 ACTATTCATTCCATTCCATTCCATTCCATTCCATTCCATTCCATTCAAATTTTCGTTTTCAACGCACATGAGGCAAAATCCC
 ATCTGAAATTTTTAGGCTACATTTGATTTTTTAGGAATTTTGAACAAAAATAAAAGAAAAATTCATTTATTTTTAA
 TTTATTTCTGTAAATTTATTAATTTAAATTTAATTTAATTTGTTTTTCCCTTCTTAAATCTTCTTAAATTTATATTA
 CTCACCACACATGTGGATTTGCAAAGAACAATAAATAAAAAACCTTTTTCTTACAATTTATTTCTAGCATGCCT
 TTTACATATTTTTTTTTATGATTAATTTTTATTTTTTAAATTAAAAAATCATAAATAATGGTAGAGAAAATAAATAAATA
 TAAAACCATATTTTTAAAAATACAATTTTCGCTATAAATAATATGAGTGGGCATTTTTCAAAATGTGATTTCCATCTT
 ATTTTTTAAATGGGTTTCGATTCTATTTTTTTTTTAAAAAATAAATCTTTAAAAATTTTAAAGAAATGTAGATATGTG
 ATTTTTTTTTTCTATTTTGGGTCAAATTTATATATATATCTATGTGTCAAGTCAATGGAATGTGACTTAATAAAAA
 ACATTGGCCAAGGACTTGACTTGGAAAATGGCTGACCAGTCATTTTTTCAATTCATCTTATTTGTTCTAAGTTGCAAG
 CAATTGCCCTTGCTGCTTCCCGGATCCTCCCAACTTACATTCCTTTTACACCAAGTAACCTCAGTCAACAAAT
 GTGTACTCTCCCCATCATTTCATTGGCTACTGGAGTCAAATTTATGATCCTCCTTCTTTGACATACATGCCTTGT
 GTATCAGACTTGAGATGCTCCTTTTTTCTTTTTTCTTTTTTCAAATTTTTTAAATCTTTATCAAAAAATACATTTTAA
 AAATGCTTCTTAAATATAAATTTTAAATCATTTTTCAAGAGTAAAGTTATATTTAAAAATTTTAAAAATAAAATTA
 TTTTTTGAATTTATTTCAATTTAAATAAATTTGAACAATCAAAATACCATTTTTAGACTATCAAGTTAAACTTT
 GAACTCATAATAATAATATATAGGGGTTGAAAAAAGAGAGGAAAATATTAATAAATCCAATCAATCTTGAAT
 TAACGATCCGGAAACATGTGACTTATTTTTGTGCGGGACCATATATGATATGTCACGTTAAGGTTACTTTTTCTAG
 TTTCAAAGTGTTTTGCACAATTTTTCCACGGTGCATGGCCAACCTCCTGTACTTGAATCAATAGCCAGGCTTATG
 GAGGGTGATCATGACTCACGAGGATCATAAATAATTATTTAATTAATTAATAGTTCTGTCTTAAAAATTTATA
 TATTAATAAATATTTGTATATAAAAAAATATTAGAATTTATTCAGTTTTTTCTTGTTTTTAAAAATAAAAAAATA
 TTTTAAAAATTTGTAATCTTGTTCATCAGTTGTTTTTTGAAATTAACTTTTAAAAATGAAGAACAATTTTTAT
 AAATAAATTAATAATTTTTCATCTATTTTTTAAAAAATAAAAGAAAATTAGGCATCGGTCTTATCATAGTTTTT
 AGAAATTTATTTTTAAAAATTACTTTTTTAACTTTTAAATTTAAAAATAAATTTTTTAAAAACAAGTTTAAAA
 GAAGGAGGCAAAACAAGCCTTAAATTTTTCTTATGTTTTTCAAATTTTAAATTTTAAATTTTAAATTTTAAATTT
 AAATTTATTTTTTAAAACTTGAATCTTGTTCATCAGTTGTTTTTTGAAATTAACTTTTAAAAATAAAAAACAAT
 TTTTAAAAATAAATTAATAATTTTCCATCTATTTTTTAAAAATAAAAGAAAAATTGGGATCCGTCTTATCATATTT
 TTTAGAATTTTTATTTTTAAAAATTACTTTTTATTTTTTAACTTTTAATTTAAAAACAATTTTTTAAAAACAAGTTTAA
 AGAGAAGAAGACAAACAAGCCTTAAATTTTTCTTATGTTTTTCAACGTTTTTACAATTTATTAATAATCGGTTTTTAA
 AGAATTTTTTACATCCAATGTAGAATCTACTGTTTGCTTTTTATTTTTAAAAATAGAAAATAGGAAAAGCCTATCGAAGC
 CAACCTAACTCATTCAAACCTTGAAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAAAATATCCTCCTTCCGGGAAATTGCA
 CAAAGTTGCTTTCTTGGACTAATCTTCCAGCACATTAACCCTCGTGGCTTTGGAATAGTACGTCTATGTTAGGAT
 AAATACCCACTCGACGACAGGGAAAATCATCTCCAGATTGAGGAAGGCAGAGCTAGCCAGAGGTTAGAGTAGTGG
 TGTT

>Promotor PAL-Lemberger-Allel A (1716 bp)

CCCTAACCTGTACTTTATGACCTTGTCTGTACAAAAGAGTATATAATATAATATTAAGAAAAGTTCATGATCAT
 AAAAAATATATATATATTTTTATTCACCACAATATAATACATTTGCAATTGCACGAGAAAATCCACGGTTACTCCA
 TAATTGCATAAACTTCAATTAACAATATGCCACAATCCGTTCTGCAAATAGTAATTAAGGAAAATATAAGTCAAT
 GGGTATCAAATTAGTAAATTTATAACCTAATTTGCTTTGCATAGGGTATCAAATTAGTCAATTTGGGTATCAAAT
 AGTGAATAAAAAATCTTCCATTTCAATTTGTCTCCAAAAATATATCACCCCTCACACAAGCAAAATCAAATCAAC

CTTTTCAATTGACCATACTGCTTCCACCAACCAAGTCAGCCCCAAAAAATAGAAAAAAGCCAACCCAAAAA
GAAAATCAAATCATACTTTTCAATTTACTGTAAATGCAATTTTATATTATAATGTGTCCACAAAGGTTCAAAGAC
AAGAGTTCTGACAGGGGTGGTTTTGGAGGTGGAGGCGGAGGTGATTGACAGAGGGGTGGTTTTGGAGATAGGGGC
CGTGAAGGAGGGATCAAAGTGGTGGCTGGAACAACAGAAACAATTTCTGGTGAGAATAATAAGTCCTTTTGAATGG
AACAAAGAGTCAAACAATAATGGGGAAGGGTGAAGAGGTCATGATAGTGTGTTGGTTGGGGCCAAGGAGGTGGT
GATAAGGGGCCAAGGAATTGGAATTCTGGGACTGGCAGAACTAGCAATCAATTGAGGGTAAATTAGTCTAATAAA
AATATAAGGCCTTCAAAGAATTATCAAATTTACCCACTCTTTTCAGTCATTTTTTCTCCAACCGACCTTTAA
GGTAATTCTCCCTATGTTTTTAGCTAGAGTACGAGTACATAATTTTTTATTATTATTTTTTAAACGAGTTCGGA
TTTGGAGGAATAGAAATTACATTACGTAGGCCAACAAATTTCAATTTAGTATTCCACATGCCACCAACCCATTGACC
GCACACCACAGTTGTCTTTGAGGTCTGACCAGTACGAACATAACGAGCTCCATTCCCTAAATCCACATGCATATCAG
TTGCAGCATCTGAGCCTTTAGCGTAGACAGATCAAGGGTCTGGATTGGTTTTCAACAAACCTCATGAAGCCACTT
TGCCATCCCGCCACCTACCATTGACCTGTTGCATTTTTAAAGACTCCTAGGCTCAAGGCACTCTATATAAGGAAA
AGCCTCTGTCACCGTACTTCTCAGGAACTCAGAATTTTCAAGACCTTTCAGATTTTCTCCAGTTCTCTCTCT
CCCT
TTCGAAGACATGGAAGCAATGAACTGCCACGGAAGCAAAAAGGTGGAGAGTTTCGTGAGTATCCGCTGAAC
TGGGGAGTGGCAGCGGAGGCGTTGAAGGGGAGCCATTTGGATGAAGTAAAGCGCATGGTGGCAGAGTACCGGAAG
CCGGTGGTTCCGCTTGGTGGTGAACGCTTACGATATCGCAAGTGGCGGCTATCGCGGGGCGGGAGGAGGATGTG
AGTGTGGAGTTGTCGGAGACGGCGAGAGCGGGCGTGAACGCGAGCAGTGAAGTGGGTGATGGAGAGC

>Promotor PAL-Lemberger-Allel B (1699 bp)

CCCTAACCTGTACTTTATGACCTTGTCTGTACAAAAGAGTATATAATATAATATTAAGAAAAAGTTCATGATCAT
AAAAATATATATATATATATTTTATTACCACAATATAATACATTTGCAATTGCACGAGAAAATTCACCGTTACTCCA
TAATTGCATAAACTTCATTACAAATATGCCACAATTCGTTCTGCAAATAGTAATTAAGGAAAATATAAGTCAATT
GGGTATCAAATAGTAAATTTATAACCTGATTTGCTTTCCATAGGGTATCAAATAGTCAATTGGGTATCAAAT
AATGGAATAAAAAATCTTCCATTTCAATTTGTCTCCAAAAATATATCACCCCTCACACAAGCAAAAATCAAATCAAC
CTTTTCAATTGACCATACTGCTTCCACCAACCAAGTCAGCCCCAAAAAAGAGAAAAAAGCCAACCCAAAAA
GAAAATCAAATCATACTTTTCAATTTACTGTAAATGCAATTTTATATTATAATGTGTCCACAAAGGTTCAAAGAC
AAGGGTTCTGACAGGGGTGGTTTTGAAGGTGGAAGCGGAGGTGATTGACAGAGGGGTGGTTTTGGAGTAGGGGC
CGTGAAGGAGGGATCAAAGTGGTGGTTGAAACAACAGAAACAATTTCTGGTGAGAATAATAAGTCCTTTTGAATGG
AACAAAGAGTCAAACAATAATGGGGAAGGGTGAAGAGGTCATGATGGTGTGCGGTTGGGGCCAAGGAGGTGGT
GATAAGGGGCCAAGGAATTGGAATTCTGGGACTGGCAAACTAGCAATCAATTGAGGGTAAATTAGTCTAATAAA
AATATAAGGCCTTCAAAGAATTATCAAATTTACCCACTTTTTTCAGTCATTTTTTCTCCAGCCTACCTTAAGG
GTAATTCTCCCTATGTTTTTAGTTAGAGTACGAGTACGTAATTTTTTATTATTATTTTTTAAACGAGTTCGGATT
TGGAGGAATAGAAATTACATTACGTAGGCCAACAAATTTCAATTTGTATTCCACATGCCACCAACCCATTGACCGC
ACACCACAGTTGTCTTTGGGGTCTGACCAGTACGAACATAACGAGCTCCATTCCCTAAATCCACATGCATATCACGTT
GCAGCATCTGAGCCTTTAGCGTAGACAGATCAAGGGTCAAGGATTGGTTTTCAACAAACCTCATGAAGCCACTTTG
CCATCCCGCCACCTACCATTGACCTGTGGCTTTTTTAAAGACTCCTAGGCTCAAGGCACTCTATATAAGGAAA
GCCTCTGTACCCGACTTCTCAGGAACTCAGAATTTTCAAGACCTTTCAGATTTTCTCCAGTTTCTCTCTCTC
TCTTTCTTCTTAGTTGTGCGTGA AAAAACCAGCTTTTTTGCAGTTGTTTCTTTGTGGGGATTGGAAGACATGGAAGC
AATGAACTGCCACGGAAGCAAAAAGGTGGAGAGTTTCGTGAGTATCCGCTGAACTGGGGAGTGGCAGCGGA
GGCGTTGAAGGGGAGCCATTTGGATGAAGTAAAGCGCATGGTGGCAGAGTACCGGAAGCCGGTGGTTCCGCTTGG
TGGTGAACGCTTACGATATCACAAGTGGCGGCTATCGCGGGGCGGGAGGAGGATGTGAGTGTGGAGTTGTGCGGA
GACGGCGAGAGCGGGCGTGAACGCGAGCAGTGAAGTGGGTGATGGAGAGC

>Promotor PAL-Regent (1713 bp)

CCCTAACCTGTACTTTATGACCTTGTCTGTACAAAAGAGTATATAATATAATATTAAGAAAAAATTCATGATCAT
AAAAATATATATATATATATTTTATTACCACAATATAATACATTTGCAATTGCACGAGAAAATTCACCGTTACTCCA
TAATTGCATAAACTTCATTACAAATATGCCACAATCCGTTCTGCAAATAGTAATTAAGGAAAATATAAGTCAATT
GGGTATCAAATAGTAAATTTATAACCTAATTTGCTTTGCATAGGGTATCAAATAGTCAATTGGGTATCAAAT
AGTGAATAAAAAATCTTCCATTTCAATTTGTCTCCAAAAATATATCACCCCTCACACAAGCAAAAATCAAATCAAC
CTTTTCAATTGACCATACTGCTTCCACCAACCAAGTCAGCCCCAAAAAATAGAAAAAAGCCAACCCAAAAA
GAAAATCAAATCATACTTTTCAATTTACTGTAAATGCAATTTTATATTATAATGTGTCCACAAAGGTTCAAAGAC
AAGGGTTCTGACAGGGGTGGTTTTGGAGGTGGAGGCGGAGGTGATTGACAGAGGGGTGGTTTTGGAGATAGGGGC
CGTGAAGGAGGGATCAAAGTGGTGGCTGGAACAACAGAAACAATTTCTGGTGAGAATAATAAGTCCTTTTGAATGG
AACAAAGAGTCAAACAATAATGGGGAAGGGTGAAGAGGTCATGATAGTGTGCGGTTGGGGCCAAGGAGGTGGT
GATAAGGGGCCAAGGAATTGGAATTCTGGGACTGGCAGAACTAGCAATCAATTGAGGGTAAATTAGTCTAATAAA
AATATAAGGCCTTCAAAGAATTATCAAATTTACCCACTCTTTTCAGTCATTTTTTCTCCAACCGACCTTTAAG
GGTAATTCTCCCTATGTTTTTAGCTAGAGTACGAGTACATAATTTTTTATTATTATTTTTTAAACGAGTTCGGAT
TTGGAGGAATAGAAATTACATTACGTAGGCCAACAAATTTCAATTTAGTATTCCACATGCCACCAACCCATTGACCG
CACACCACAGTTGTCTTTGAGGTCTGACCAGTACGAACATAACGAGCTCCATTCCCTAAATCCACATGCATATCACGTT
TGCAGCATCTGAGCCTTTAGCGTAGACAGATCAAGGGTCTGGATTGGTTTTCAACAAACCTCATGAAGCCACTTT
GCCATCCCGCCACCTACCATTGACCTGTTGCATTTTTAAAGACTCCTAGGCTCAAGGCACTCTATATAAGGAAA

GCCTCTGTCACCGTACTTCTCAGGAAACTCAGAATTTTCAGAGCCCAACTTTTCAGATTTCTCCAGTTCTCTCTC
CCTCTCTCTCTCTCTCTTTTCTTCTTAGTTGTGCGTGAAAAACCAGCTTTTTTCAGTTGTTTCTTTGTGGGGATT
GAAGACATGGAAGCAATGAACTGCCACGGAAGCAAAAAGGTGGAGAGTTTTCGTTCGTGAGTGATCCGCTGAACTGG
GGAGTGGCAGCGGAGGCGTTGAAGGGGAGCCATTTGGATGAAGTAAAGCGCATGGTGGCAGAGTACCGGAAGCCG
GTGGTTTCGGCTTGGTGGTGAACGCTTACGATATCGCAAGTGGCGGCTATCGCGGGGCGGGAGGAGGATGTGAGT
GTGGAGTTGTTCGGAGACGGCGAGAGCGGGCGTGAACGCGAGCAGTGAGTGGGTGATGGAGAGC

>Promotor PR10.1-Lemberger-Allel A (2529 bp)

GCCTTTAAGTGGCTCATTGTTAAATCTTATTCCATTTTCACTACCATCGCATAGAGTTTTGAATCACTCATAATG
AATGAATCCACTTTTATACATCAACATTAAGTTATATCAAATTTCTTCTCAATCTTGAATGATATATGATATTCA
AAATAAGAGTTGCAAAGCAATTTATAACCATTATTCTCATTCTCTATTCTATTGTGATACACAATAAAAAAACCC
ATTACTGCAATCAAACTAATAAAAAATTTTCAAAACCCCATCCTCAGGTAATTGTATAGGAGTTGTTGGTATTTT
AGCATCAAATACATACTTCAATTGAAACAAAATACTTTCTTGGATCTAGCTTTAGAATATCATAACACAAGCCCTAA
TAATTCTTCATATGAAATAATCTTCAAGACTTCAAAGCCTTTAACTCTACATCCTTCAAAACAAAAATCATTTTG
ATCATGTACCTAGTCTTTTTTCATATAGAAACATTATTCCCTAATTCCTTAACCATTAAGATAATAAAAAATCCCA
ACTATTAATATAATTACACAATAGTAGAATATTTTTAAACTATAATAGAGCATTACTATCTATAAAATGGTATTC
ATTTTCGAAAACCTTATTCAATTGCTAAATTTGATATCATTTTAGTAGACATTTAATACATTTTTTTTAGTGAATAAG
AAACAAACAAAAATTAGTCATATCTACTATCACAAATACTACCAATATTAATGCTACAAAAATAAAATGTTTCTC
AAAAATTAATAATTTCAAATATTGTGACTCTCAACCTTTTTAACCACAAAAAATCATTAAAAGAATGATGTA
TTTAGGCTTTAGTTCATGCCATGAATTTCAAGGTTAATGTGCCAATGATTCAACTCCAAGTTGAATACAACGGAG
AATAATAATAATATAGAGAGACTTAACCTACGTTCAAAACGTGGTAAAAATTTGTCAACCAAAAAATTTGATGCTTTA
TAGCTTTATCTATTATGTCAAACCCCTATTTTACAGACACACATTGGTATAAAGAGCAAAATATGCCAACAACTTC
AAAATCACCATAAAAATTCATAATTGAGTTTCATTAGTTACCATTTTTTTGACCTTGGGATATTGACAATGATTTA
ATACACATGTTATGTCTATTTTCTGTTTTTAACTTACCTTTTCATGGCTGCAAAATTAATGACAAAAAATGGTC
CAACTTTCTTATATATTTCAAAAAATTCATGAATAAAAAATGAAAGAGAAATAGATGGAAAAATGGTCCAACCTT
CTTATATATATTTCAAAAAATTCATGAATAACAAATGAAAGAGAAATAGATGTGTGTGAAGAGAAGAAACACATA
TTGATGTTGAAAATTTGAAGAGATGATATGATAAATAAAATGAGAATGGAAGAAAAAGCTAGAATTGGATGAAAA
TAAGTTGAAGGGTATTTTTGTCAAGAATGGGTCAATTTTTTAGATTGAAATATGTGAAGGATTAGATTTGCAAAAT
TACAATTTCTCATTCATTTTAATCAAATAGCCTCTTAACTATGGCCGGTTTTCTTTTTGATTTTTCTTTTTGATTTGCCA
ATCAAAGAACATATTTCCCTCTATATTGTAATTACTACTGGCCTTCATTCTACTGCACTCCAAAAATATTCCCTC
TATATCTCAATCAATCTATTTTTGATCTCCAGGGTCATTTCCAAGTTACCGTTATGATCAGGTAGGCCAGGGGA
TTTGTCTCCATTGCTATTCTTCTTCAATCTTGTGGAGTCATTGCAGCAATCCATTTTTGAATAAAGTCCAAGCT
TCTAGTTGTTTAGAAAATTAGTAAAGCCTCCTTGAATATAGAAGAGCGCATTTGAACATTCAGGATTTGTTTTT
ATCAATTTAAAGGGACTTCTCACTTTGTAGTTATTTATTCAATTCAGCCTGCATTTATGGACTTGTATTGCGCC
ATTCTCCATGAATCACCATATTTCCACAATGTTGACCCACAAACGGTGTGCCACCGACTACAAATATATGATCAA
AAGTAACCTGAATTCCTCGTCTGTTACTATGTTTATATCATGGAAAATATTTATTTCTGTTGTGCTCTACATAT
CGTTTGCCTGCAATGCCTGAAAGTAGAAGGAAAAGTTTCTCATTAAATGGTTAATAGTAAGATCCACACATTT
GTTTTGTTTTGTTTTGTTAGCCTTTTTTTTTCTTTTTTGCCTTTTTCCCCCTCTCCGCTGAGAAAAGAAAAAAT
GGAATTAGACCACCTTGAATTTAACCAGCCGAGACCAACATGAGATCATAGTACTCCTTTATGGAAAAATAGT
GGATTACTTTGAACGTTTCTTAGATGCAACCGTATCTGCCTTTGAAAATAGAGACACACGTTTACACGAGGGAA
CCTTGGTCTCCATCTATAAATGCCAACCTTGTCTTAGATCTCTTCTCACCTCAAACCATTTCTTGCAAAACCA
ACCAATCTCCTTCTTCTTCTTCTTTTGTATCCTTTTCAATTTCAAACCTCTAAGATC

>Promotor PR10.1-Lemberger-Allel B (2525 bp)

GCCTTTAAGTGGCTCATTGTTAAACCTTATTCCATTTTCACTACCATCGCATAGAGTTTTGAATCACTCATAATG
AATGAATCCACTTTTATACATCAACATTAAGTTATATCAAATTTCTTCTCAATCTCGAATGATATATGATATTCA
AAATAAGAGTTGCAAATCAATTTATAACCATTATTCTCATTCTCTATTCTATTGTGATACACAATAAAAAAACCC
CATTACTGCAATCAAACTAATAAAAAATTTTCAAAACACCATCCTTAGTTAATTGTATAGGAGTTGTTGGTATTT
TAGCATCGAATACATACTTCAATTGAAGCAAAACACTTTCTTGGATCTAGCTTTAGAATATCATAACACAAGCCCTA
ATAATTCTTCATATGAAATAATCTTCAAGACTTCAAAGCCTTTAACTCTACATCCTTCAAAACAAAAATCATTTT
GATCATGTACCTAGTCTTTTTTCATATAGAAACATTATTCCCTAATTCATTAACCATTAAGATAATAAAAAATCCC
AACTATTAATATAATTACACAATAGTAGAATATTTTTAAGCTATAATAGAGCATTACTATCTATAAAATGGTATT
CATTTTCGAAATCATTGCTAAATTCATATCATTTTAGTAGACATTTAATATATATTTTTTTAGTGAATAAGAAACA
AACAAAAATTAGTCATATCTACTATCACAAATACTACCAATATTAATGCTACAAAAATAAAATGTTTCTCAAAAA
TTAATAATTTCAAATATTGTGACTCTCAACCTTTTTAACCACAAAAAATCATTAAAAGAATGATGATTTTAG
GCTTTAGTTCATGCCATGAATTTCAAGGTTAATGTGCCAATGATTCAACTCCAAGTTGAATACAACGGAGAATAA
TAATAATATAGAGAGACTTAACCTACGTTCAAAACATGGTAAAAATTTGTCAACCAAAAAATTTGATGCTTTATATCT
TTATCTATTATGTCAAACCCCTATTTTACACACACACATTGGTATAAAGAGGAAATATGCCAACAACTTCAAAAT
CACCATAAAAATTCATAATTGAGTTTCATTACTTACCATTATTTGACCTTGGGATATTGACAATGATTTAATACA
CATGTTATGTCTATTTCTGTTTTTAACTTACCTTTCCATGGCTGCAAGTTAATGACAAAAAATGGTCCAACCT
TTCTTATATATTTCAAAAAATTCATGAATAAAAAATGAAAGAGAAATAGATGGAAAAATGGTCAACTTTCTTAT
ATATATTTCAAAAAATTCATGAATAACAAATGAAAGAGAAATAGATGGGAGTGAAGAGAAGAAACACATATTGAT

GTTGAAAATTTGAAGAGATGATATGATAAAATAAATGAGAATGGAAGAAAAAGCTAGAAATTGGATGAAAAATAAGC
TGAAGGGTATTTTTGTCAAGAATGGGTCAATTTTTTAGATTGAAATATGTGAAGGATTAGATTTGCAAAAATACAA
TTCTCATTCAATTTAATCAAATAGCCTTTTTAACTATGGCCGGTTTTCTTTTGATTTTCTTTTGATTTGCCAATCAA
AAGAACATATTTCCCTCTACATTGTAATTACTACTGGCCTTCATTCTACTGCCTCCAAAAATGTTCCCTCTATAT
CTCAATCAATCTATTTTTGATCTCCCAGGGTCATTTCCAAGTTACCGTTATGATCAGGTAGGCCAGGGGATTTGT
CTCCATTGCTATTCTTCTTCAATCTTGTGGAGTCATTGCAGCAATCCATTTTTGAATAAAGTCCAAGCTTCTAG
TTGTTTAGAAAATTAGTAAAGCCTCCTTGAATATAGAAGAGCGCATTGAAACATTCCAGGATTTGTTTTCATCAA
TTTAAAGGGACTTCTCACTTTGTAGTTATTTATTCAATTCCAGCCTGCATTTATGGACTTGATTTGCGCCATTCT
CCATGAATCACCAATATCCACAATGTTGACCCACAAACGGTGTGCCACCGACTACAAATATATGATCAAAAGTA
ACTTGAATTTCCCGTCTGTTACTATGTTTATATCATGGAAAATATTTTATTCTGTTGTCTACATATCGTTT
GCCTGCAAATGCACTGAAAGTAGAAGGAAAAGTTTCTCATTAAATTGGTTAATAGTAAGATCCACACATTTGTTTT
GTTTTGTTTTGTTTTGCCTTTTTTTTTCTTTTTTGCCTTTTTCCCCCTCTCCGCTGAGAAAAGAAAAGAAAAGGAA
TTAGACCACCCTTGAATTTAACCAGCCGAGACCAACATGAGATCATAGTACTCCTTTATGGAAAAATAGTGGAT
TACTTTGAACGTTTCTTAGATGCAACCGTATCTGCCTTTGAAAACCTAGAGACACACGTTTACACGAGGGAACCTT
GGTCTCCATCTATAAATGCCAACCTTGTCTTAGATCTCTTCTCACCTCAAACCATTCTCTGCAAAACCAACCA
ATCCTCCTCCTCTTCTCTTTTCGATCCTTTTTCATTTCAAACCTCTAAGATC

>Promotor PR10.1-Regent-Allel A (2531 bp)

GCCTTTAAGTGGCTCATTGTTAAATCTTATTCCATTTTCACTACCATCGCATAGAGTTTTGAATCACTCATAATG
AATGAATCCACTTTTATACATCAACATTAAGTTATATCAAATTTCTTCTCAATCTCGAATGATATATGATATTTCA
AAATAAGAGTTGCAAATCAATTTATAACCATTATTCTCATTCTCTATTCTATTGTGATACACAATAAAAAAACC
CATTACTGCAATCAAACTAATAAAAAATTTTCAAAACACCATCCTTAGTTAATTGTATAGGAGTTGTTGGTATTT
TAGCATCGAATACATACTTCATTGAAGCAAAACACTTTCTTGGATCTAGCTTTAGAATATCATACACAAGCCCTA
ATAATTTCTCATATGAAATAATCTTCAAGACTTCAAAGCCTTTAACTCTACATCCTTCAAAACAAAAATCATTTT
GATCATGTACCTAGTCTTTTTCATATAGAAACATTATTCCTAATTCATTAACCATTAAGATAATAAAAAATATCCC
AACTTAATATAAATTACACAATAGTAGAATATTTTTAAGCTATAATAGAGCATTACTATCTATAAATTTGGTATT
CATTTTTCGAAAACCTTATTGCTAAATTCATATCATATTTAATAGACATTTAATATATATTTTTTAGTGAATAA
GAAACAAACAAAAATTAGTCATATCTACTATCACAAATACTACCAATATTAATGCTACAAAAATAAAATGTTTCT
CAAAATTAATAAATTTCAAATATTGTGACTCTCAACCTTTTTAACCAAAAAAAAAATCATTAAAGAAATGATGT
ATTTAGGCTTTAGTTCATGCCATGAATTTCAAGGTTAATGTGCCAATGATTCAACTCCAAGTTGAATACAACGGA
GAATAATAATAATATAGAGAGACTTAACCTACGTTCAAACATGATAAAATTTGTCAACCAAAAAATTTGTAGCTTT
ATATCTTTATCTATTATGTCAAAACCCTATTTACACACACACATTGGTATAAAGAGGAAATATGCCAACAACTT
CAAAATCACCATAAAATTTCCATAAATTGAGTTTCACTACTTACCATTATTTGACCTTGCATATTGACAATGATTT
AATACACATGTTATGTCTATTTCTGTTTTTAACTTACCTTTCCATGGCTGCAAGTTAATGACAAAAAAATGGT
CCAACCTTCTTATATATTTCAAAAAATTCATGAATAAAAAATGAAAGAGAAATAGATGGAAAAATGGTCAACTT
TCTTATATATATTTCAAAAAATTCATGAATAACAAATGAAAGAGAAATAGATGGGAGTGAAGAGAAGAAACACAT
ATTGATGTTGAAAATTTGAAGAGATGATATGATAAAATAAATGAGAATGGAAGAAAAAGCTAGAAATTGGATGAAA
ATAAGCTGAAGGGTATTTTTGTCAAGAATGGGTCAATTTTTTAGATTGAAATATGTGAAGGATTAGATTTGCAAAA
TTACAATTTCTCATTCAATTTAATCAAATAGCCTTTTTAACTATGGCCGGTTTTCTTTTGATTTTCTTTTGATTTGCC
AATCAAAAGAACATATTTCCCTCTACATTGTAATTACTACTGGCCTTCATTCTACTGCCTCCAAAAATGTTCCCT
CTATATCTCAATCAATCTATTTTTGATCTCCCAGGGTCATTTCCAAGTTACCGTTATGATCAGGTAGGCCAGGGG
ATTTGTCTCCATTGCTATTCTTCTTCAATCTTGTGGAGTCATTGCAGCAATCCATTTTTGAATAAAGTCCAAGC
TTCTAGTTGTTTAGAAAATTAGTAAAGCCTCCTTGAATATAGAAGAGCGCATTGAAACATTCCAGGATTTGTTTT
CATCAATTTAAAGGGACTTCTCACTTTGTAGTTATTTATTCAATTTCCAGCCTGCATTTGATTTGCGC
CATTCTCCATGAATCACCAATATCCACAATGTTGACCCACAAACGGTGTGCCACCGACTACAAATATATGATCA
AAAGTAACTTGAATTTCCCGTCTGTTACTATGTTTATATCATGGAAAATATTTATTCTGTTGTCTACATA
TCGTTTGCCTGCAAATGCACTGAAAGTAGAAGGAAAAGTTTCTCATTAAATTGGTTAATAGTAAGATCCACACATT
TGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGCCTTTTTATTTTTCTTTTTTGCCTTTTTCCCCCTCTCCGCTGAGAGAGAAAAGAAA
AAGGAATTAGACCACCCTTGAATTTAACCAGCCGAGACCAACATGAGATCATAGTACTCCTTTATGGAAAAATA
GTGGATTACTTTGAACGTTTCTTAGATGCAACCGTATCTGCCTTTGAAAACCTAGAGACACACGTTTACACGAGGG
AACCTTGGTCTCCATCTATAAATGCCAACCTTGTCTTAGATCTCTTCTCACCTCAAACCATTCTCTGCAAAAC
CAACCAATCCTACTCCTCTTCTCTTTTCGATCCTTTTTCATTTCAAACCTCTAAGATC

> Promotor PR10.1-Regent-Allel B (2530 bp)

GCCTTTAAGTGGCTCATTGTTAAATCTTATTCCATTTTCAACCATCGCATAGAGTTTGAATCACTCATAATG
AATGAGTCCACTTTTATACATCAACATTAAGCTATATCAAATTTCTTCTCAATCTCAAATGATATATGAAATTTCA
AAATAAGAGTTGCAAATCAATTTATAACCATTATTCTCATTCTCTATTCTATTGTGATACACAATAAAAAAACC
CATTACTGCAATCAAACTAATAAAAAATTTTCAAAACCCCATCCTCAGGTAATTGTATAGGAGTTGTTGGTATTT
TAGCATCAAATACATACTTCATTGAAACAAAATACTTTCTTGGATCTAGCTTTAGAATATCATACACCAGCCTTA
ATAGTTCTTATATGAAATAATCTTCAAGACTTCAAAGCCTTTAACTCTACATCCTTCAAAACAAAAATCATTTT
GATCATGTACCCGGTCTTTTTCATATAGAAACATTATTCCTAATTCATTAACCATTAAGATAATAAAAAATATCCC
AACTAATAATAAATTACACAATAGTAGAATATTTTTAAGCTATAATAGAGCATTACTATCTATAAATTTGGTATT

Anhang 2: Cis-regulative Elemente der Promotoren von *MYBB*, *WRKY7*, *ERF5*, *ERF1* und *PR10.1*

Angegeben sind alle Elemente, die eine Rolle bei der Pathogenabwehr spielen. Für jedes Element ist die Position im Promotor angegeben. Außerdem markieren Kreuze (x) das Vorkommen des Elements bei den unterschiedlichen allelischen Ausprägungen der Promotoren von 'Regent' und 'Lemberger'. Für die Promotoren von *ERF5* und *WRKY7* ist nur die Position der Elemente angegeben, da hier die Promotoren von 'Regent' und 'Lemberger' identisch waren. Bindestellen für Transkriptionsfaktoren wurden oft für mehrere Pflanzen beschrieben. Zur Übersicht wurde hier immer nur ein Element für diese Position angegeben. Die Position gibt die Entfernung upstream vom Startcodon an.

MYBB-Promotor

Element	Promotor-Position	Reg	Lem V1	Lem V2	Lem V3
EECCRCAH1	-59	x	x	x	x
MYBCORE	-66		x	x	
MYBST1	-84	x	x	x	x
MYBPZM	-88		x	x	
MYBST1	-184	x	x	x	x
CTRMCAMV35S	-196				x
5UTR Py-rich stretch	-197				x
CTRMCAMV35S	-198	x			x
5UTR Py-rich stretch	-199	x			x
CTRMCAMV35S	-200	x			x
5UTR Py-rich stretch	-201	x			x
CTRMCAMV35S	-202	x			x
5UTR Py-rich stretch	-203	x			x
GAGA8HVBKN3	-203				x
CTRMCAMV35S	-204	x			x
5UTR Py-rich stretch	-205	x			x
GAGA8HVBKN3	-205	x			x
CTRMCAMV35S	-206	x			x
5UTR Py-rich stretch	-207	x			x
GAGA8HVBKN3	-207	x			x
CTRMCAMV35S	-208	x	x	x	x
5UTR Py-rich stretch	-209	x	x	x	x
GAGA8HVBKN3	-209	x			x
CTRMCAMV35S	-210	x	x	x	x
5UTR Py-rich stretch	-211	x	x	x	x
GAGA8HVBKN3	-211	x			x
CTRMCAMV35S	-212	x	x	x	x

Element	Promotor-Position	Reg	Lem V1	Lem V2	Lem V3
GAGA8HVBKN3	-213	x			x
CTRMCAV35S	-214	x	x	x	x
MYBPLANT	-236	x	x	x	x
ERE	-283		x		
TCA-element	-392	x	x	x	x
5UTR Py-rich stretch	-393	x	x	x	x
TCA-element	-518	x			x
ERE	-575	x	x	x	x
MYBCORE	-586	x			x
MYBCORE	-646	x			x
MYBGAHV	-670		x	x	
ERE	-881	x	x	x	x
MYBCORE	-892	x	x	x	x
MYBCORE	-957		x	x	
WBOXNTERF3	-1016			x	
MYBCORE	-1026		x	x	
WRKY71OS	-1063	x	x	x	x
ERE	-1149		x	x	
T/GBOXATPIN2	-1173	x	x	x	x
WRKY71OS	-1175	x	x	x	x
WRKY71OS	-1207	x	x	x	x
TCA-element	-1261		x	x	
5UTR Py-rich stretch	-1264	x			x
ERELEE4	-1373	x			x
ERE	-1483			x	
MYBCORE	-1526			x	
WBOXATNPR1	-1545	x	x	x	x
WBOXATNPR1	-1566	x	x	x	x
WBOXATNPR1	-1612	x	x	x	x
WRKY71OS	-1714	x	x		x
WBOXNTERF3	-1720	x	x		x
WBOXATNPR1	-1737	x	x		x
WBOXHVIS01	-1765	x	x		x
ASF1MOTIFCAMV	-1778		x	x	
CGTCA-motif	-1779		x	x	
TGACG-motif	-1779		x	x	
WBOXATNPR1	-1780	x			x
WBOXATNPR1	-1785	x	x	x	x
WBOXATNPR1	-1810	x	x	x	x
TCA-element	-1916	x	x	x	x
EECCRCAH1	-1920	x	x	x	x
MYB1AT	-1981	x	x	x	x
TC-rich repeats	-2089	x	x	x	x
EECCRCAH1	-2123	x	x	x	x

Element	Promotor-Position	Reg	Lem V1	Lem V2	Lem V3
EECCRCAH1	-2384	x	x	x	x
MYBPZM	-2475	x	x	x	x
WRKY71OS	-2485	x	x	x	x
MYBCORE	-2499	x	x	x	x
MYB1AT	-2627	x	x	x	x
MYB1AT	-2659	x	x	x	x
TGA-element	-2671	x	x	x	x
MYBCORE	-2675	x	x	x	x

ERF5 Promotor

Element	Promotor Position
TCA-element	-105
MYBST1	-141
WRKY71OS	-149
WBOXATNPR1	-150
ARR1AT	-166
MYB1AT	-188
MYB1AT	-212
MYB1AT	-251
WBBOXPCWRKY1	-284
WBOXNTCHN48	-323
MYB1AT	-340
MYBST1	-344
MYB2CONSENSUSAT	-444
MYBST1	-541
ARR1AT	-582
ARR1AT	-586
ARR1AT	-628
ARR1AT	-671
TC-rich repeats	-692
ARR1AT	-771
EIRE	-784
WRKY71OS	-787
ERE	-839
ARR1AT	-844
WBOXATNPR1	-957
WRKY71OS	-963
MYB1LEPR	-1001
ARR1AT	-1031
ARR1AT	-1074
ARR1AT	-1111
WBOXATNPR1	-1204

WRKY7 Promotor

Element	Promotor Position
WBOXHVIS01	-74
WBOXNTERF3	-81
ASF1MOTIFCAMV	-125
WRKY71OS	-125
WBOXNTERF3	-131
ASF1MOTIFCAMV	-136
WRKY71OS	-136
WBOXATNPR1	-155
CATATGGMSAUR	-245
WBOXATNPR1	-258
WBOXNTERF3	-312
BOXLCOREDPCAL	-359
EECCRCAH1	-512
WRKY71OS	-574
ASF1MOTIFCAMV	-575
MYBPLANT	-634
WBOXATNPR1	-665
EECCRCAH1	-683
ARFAT	-704
MYB2CONSENSUSAT	-815
WRKY71OS	-936
SEBFCONSSTPR10A	-938
WBOXATNPR1	-988
MYBGAHV	-1061
ERELEE4	-1148
ARFAT	-1183
SEBFCONSSTPR10A	-1184
MYB1AT	-1188
WBOXATNPR1	-1236
WRKY71OS	-1319
ERELEE4	-1347

ERF1 Promotor

Element	Pro-Pos	Reg A	Reg B	Lem A	Lem B
WBOXHVIS01	-10	x	x	x	x
MYBST1	-194	x	x	x	x
MRE	-208	x	x	x	x
MYB2CONSENSUSAT	-246	x	x	x	x
EECCRCAH1	-257	x	x	x	x
WBOXHVIS01	-268	x	x	x	x
TC-rich repeats	-478	x			

Element	Pro-Pos	Reg A	Reg B	Lem A	Lem B
MYB1AT	-511	x	x	x	x
WRKY71OS	-549	x	x	x	x
EECCRCAH1	-567	x	x	x	x
TC-rich repeats	-604	x	x	x	x
MYBGAHV	-735	x	x	x	x
TGA-element	-742	x			
TA-rich region	-793		x	x	x
TA-rich region	-795		x	x	x
TA-rich region	-797		x	x	x
TA-rich region	-799			x	
WRKY71OS	-839	x	x	x	x
WRKY71OS	-855	x	x	x	x
WRKY71OS	-908	x	x	x	x
ASF1MOTIFCAMV	-909	x	x	x	x
CGTCA-motif	-909	x	x	x	x
TGACG-motif	-909	x	x	x	x
MYBPZM	-916	x	x	x	x
SV40COREENHAN	-996	x	x	x	x
EECCRCAH1	-1081	x	x	x	x
ERELEE4	-1084	x	x	x	x
EECCRCAH1	-1118	x	x	x	x
P-box	-1149	x	x	x	x
MYB2AT	-1159	x	x	x	x
ERELEE4	-1218	x	x	x	x
EECCRCAH1	-1220	x	x	x	x
MYBGAHV	-1258	x	x	x	x
EECCRCAH1	-1297	x	x	x	x
TRANSINITDICOTS	-1322	x	x	x	x
TRANSINITMONOCOTS	-1322	x	x	x	x
WRKY71OS	-1354	x	x	x	x
ASF1MOTIFCAMV	-1359	x	x	x	x
WRKY71OS	-1359	x	x	x	x
CGTCA-motif	-1359	x	x	x	x
TGACG-motif	-1359	x	x	x	x
WRKY71OS	-1369		x	x	x
box S	-1370	x			
MYBPZM	-1421	x	x	x	x
WRKY71OS	-1439	x	x	x	x
ASF1MOTIFCAMV	-1440	x	x	x	x
CGTCA-motif	-1440	x	x	x	x
TGACG-motif	-1440	x	x	x	x
WRKY71OS	-1476	x	x	x	x
ASF1MOTIFCAMV	-1477	x	x	x	x
CGTCA-motif	-1477	x	x	x	x

Element	Pro-Pos	Reg A	Reg B	Lem A	Lem B
TGACG-motif	-1477	x	x	x	x
ASF1MOTIFCAMV	-1480	x	x	x	x
WRKY7IOS	-1480	x	x	x	x
CGTCA-motif	-1480	x	x	x	x
TGACG-motif	-1480	x	x	x	x
box E	-1533				x
BOXLCOREDPCAL	-1561	x	x	x	x
WRKY7IOS	-1571	x	x	x	x
box E	-1597	x	x	x	x
EECCRCAH1	-1651	x	x	x	x
ABRERATCAL	-1656	x	x	x	x
WRKY7IOS	-1677	x	x	x	x
WRKY7IOS	-1682	x	x	x	x
MYBGAHV	-1702	x	x	x	x
MYBPLANT	-1731	x	x	x	x
MYBST1	-1833	x	x	x	x
MYBST1	-1858	x	x	x	x
P-box	-1921	x	x	x	x
WRKY7IOS	-1977	x	x	x	x
MYBST1	-2016		x	x	x
WRKY7IOS	-2109				x
TGA-element	-2111	x			
EECCRCAH1	-2173				x
box E	-2180	x	x	x	
MYBST1	-2234	x	x	x	x
WUN-motif	-2250	x			x
WUN-motif	-2254	x			x
EIRE	-2261	x	x	x	x

PR10.1 Promotor

Element	Pro-Pos	Reg A	Reg B	Lem A	Lem B
ERE	-19	x	x	x	x
TCA-element	-37		x	x	
MYBPLANT	-59	x	x	x	x
MYB1AT	-74	x	x	x	x
MYBPZM	-106	x		x	x
MYB1AT	-132		x		
T/GBOXATPIN2	-147	x		x	x
ABRERATCAL	-148	x		x	x
ARFAT	-153	x	x	x	x
MYBCORE	-178	x	x	x	x
BOXLCOREDPCAL	-192		x		
NRRBNEXTA	-208	x	x	x	x

Element	Pro-Pos	Reg A	Reg B	Lem A	Lem B
MYB1AT	-256	x	x	x	x
5UTR Py-rich stretch	-297	x			
MYBGAHV	-344			x	
MYB1AT	-381	x	x	x	x
MYBST1	-400		x		
MYBCORE	-448	x	x	x	x
MYBCORE	-485	x	x	x	x
EECCRCAH1	-496	x	x	x	x
MYBCOREATCYCB1	-539	x	x	x	x
WBOXNTERF3	-548	x	x	x	x
WBOXATNPR1	-618		x		
WRKY71OS	-768	x	x	x	x
TCA-element	-792	x	x	x	x
ARFAT	-803	x		x	x
SEBFCONSSTPR10A	-804	x		x	x
MYBPZM	-819	x	x	x	x
MYB2CONSENSUSAT	-831	x	x	x	x
WRKY71OS	-846	x	x	x	x
EECCRCAH1	-964	x	x	x	x
EECCRCAH1	-975	x	x	x	x
EECCRCAH1	-1042	x	x	x	x
WRKY71OS	-1075	x	x	x	x
WBOXATNPR1	-1086	x	x	x	x
5UTR Py-rich stretch	-1197	x	x	x	x
TCA-element	-1213	x	x		x
MYBGAHV	-1227	x	x	x	x
EIRE	-1267	x			x
SARE	-1272	x			x
TCA-element	-1283	x	x	x	x
TCA-element	-1343	x	x	x	x
WRKY71OS	-1347	x	x	x	x
WRKY71OS	-1418	x	x	x	x
WBOXNTERF3	-1432	x	x	x	x
EECCRCAH1	-1455	x	x	x	x
WBOXATNPR1	-1541	x	x	x	x
WBOXATNPR1	-1580	x		x	x
ABRERATCAL	-1595		x	x	
T/GBOXATPIN2	-1595		x	x	
MRE	-1609		x		
TCA-element	-1636	x	x	x	x
MYBCOREATCYCB1	-1639	x		x	x
CCAAT-box	-1641	x		x	x
ABRERATCAL	-1672		x		
T/GBOXATPIN2	-1672		x		

Element	Pro-Pos	Reg A	Reg B	Lem A	Lem B
EECCRCAH1	-1685	x	x	x	x
MYB1AT	-1742	x	x	x	x
WBOXNTERF3	-1758	x	x	x	x
ERE	-1772	x	x	x	x
WRKY71OS	-1842	x	x	x	x
MYB1AT	-2036	x	x	x	x
CATATGGMSAUR	-2150	x	x	x	x
AGMOTIFNTMYB2	-2195	x	x	x	x
BOXLCOREDPCAL	-2272	x			x
MYB1AT	-2360	x	x	x	x
EECCRCAH1	-2373	x	x		x
EECCRCAH1	-2378	x	x	x	x
ERELEE4	-2390		x		
EECCRCAH1	-2392		x		
EECCRCAH1	-2481		x		
Box III	-2503			x	x

Anhang 3: Weitere Promotorkonstrukte von *PR10.1*

Promotorkonstrukte von *PR10.1* mit Angaben zur Länge des Promotorfragments und den mutagenisierten WRKY-Bindestellen (MutW)

Promotor	Promotorlänge [bp]	MutW1	MutW2	MutW3	MutW4	keine Mutation
PR10 Lemberger Allel A	2534	x				
	854					x
PR10 Lemberger Allel B	2534			x		
	854					x
PR10 Regent Allel A	2534			x		
		x		x		
		x			x	
		x		x	x	
	854					x
PR10 Regent Allel B	2534	x				
			x			
				x		
					x	
		x	x			
		x		x		
			x	x		
					x	x
		x	x	x		
			x	x	x	
		x		x	x	
		x	x	x	x	
	834	x	x	x		
	x	x	x	x		

Anhang 4: SNP-Daten der Core Collection

Auflistung der Daten der SNP-Analyse für Promotoren. Grün markiert sind die Allelkombinationen vom Typ XX und gelb ist der Typ XY. 11 = ERF1 - Chr. 10, 1.820.929 Bp; 36 = ERF1 – Chr. 10, 1.821.153 Bp; 48 = PR10 – Chr. 5, 1.233.091 Bp; 35 = PR10 – Chr. 5, 1.233.244 Bp; 29 = PR10 – Chr. 5, 1.233.465 Bp; 23 = PR10 – Chr. 5, 1.233.646 Bp; 42 = PR10 – Chr. 5, 1.235.000 Bp; 17 = MYB – Chr. 5, 8.046.542 Bp.

Probenname	Accessionsnr.	SNP Nr.								
		11	36	48	35	29	23	42	17	
Burdin 7515	DEU098-1990-371	GA	CT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Ravat 253	DEU098-1993-164	GA	CT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Bailey	DEU098-1994-034	AA	CT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Buffalo	DEU098-1988-046	AA	TT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Chambourcin	DEU098-1980-506	AA	CT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Champanel	DEU098-1989-152	AA	CC	TT	TT	GG	CT	GG	TT	
Couderc 12	DEU098-1995-007	AA	CT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Couderc 16	DEU098-1995-008	AA	CT	TT	TT	GG	CT	GG	TT	
Noah	DEU098-1980-537	AA	CT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Reliance	DEU098-1989-127	AA	TT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Seibel 5474	DEU098-1998-033	AA	TT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Seyval	DEU098-1980-655	AA	TT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Seyve Villard 12-622	DEU098-1994-033	AA	TT	TT	TT	GG	CC	GG	CC	
Seyve Villard 23-504	DEU098-1991-023	AA	CT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Tissier Ravat	DEU098-1980-661	AA	TT	TT	TT	GG	CC	GG	TT	
Elvira	DEU098-1980-519	GG	CC	TT	TT	GG	CT	GA	TT	
unknown (Othello)	DEU098-1980-539	GG	CC	TT	TT	GG	CC	GA	TT	
Bluestar	DEU098-1980-501	GA	CC	TT	TT	GG	CT	GA	TC	
Fredonia	DEU098-1990-460	GA	CC	TT	TT	GG	CT	GA	TT	
Seibel 6045	DEU098-1995-020	GA	CC	TT	TT	GG	CC	GA	TT	
Bertille Seyve 1372	DEU098-1987-041	AA	CC	TT	TT	GG	CT	GA	TT	
Beta	DEU098-1987-075	AA	TT	TT	TA	GT	CT	GA	TT	
Campbell Early	DEU098-1988-181	AA	CC	TT	TT	GG	CT	GA	TC	
Cayuga White	DEU098-1980-504	AA	CC	TT	TT	GG	CT	GA	TT	
Couderc 8	DEU098-1995-006	AA	CC	TT	TT	GT	CC	GA	CC	
Landot 304	DEU098-1989-188	AA	CC	TT	TT	GG	CT	GA	TC	
Ravat Blanc	DEU098-1980-636	AA	TT	TT	TT	GG	CT	GA	TT	
Rudelin 17-5	DEU098-1990-166	AA	CC	TT	TT	GG	CC	GA	TT	
Rudelin 6-96	DEU098-1990-169	AA	CC	TT	TT	GG	CC	GA	TT	
Seibel 11701	DEU098-1990-317	AA	CC	TT	TT	GG	CT	GA	TT	
Seibel 6093	DEU098-1998-039	AA	CC	TT	TT	GG	CC	GA	TT	
Seibel 8748	DEU098-1989-269	AA	CC	TT	TT	GG	CT	GA	TC	
Seyve Villard 12-358	DEU098-1992-043	AA	TT	TT	TT	GT	CT	GA	TT	

Probenname	Accessionsnr.	SNP Nr.								
		11	36	48	35	29	23	42	17	
Vincent	DEU098-1980-559	AA	TT	TT	TT	GG	CT	GA	TT	
Seibel 11027	DEU098-1994-014	--	TT	TT	TT	GG	CT	GA	TT	
Dog Ridge	DEU098-2007-023	AA	TT	TT	TT	GG	CT	AA	TT	
Kober 5 BB	DEU098-1980-484	AA	CT	TT	TA	GT	CT	AA	TT	
Millardet et Grasset 125-1	DEU098-1980-622	AA	TT	TT	TA	GT	TT	AA	TT	
Remaily 66-54-4	DEU098-1990-164	AA	TT	TT	TT	GT	TT	AA	TT	
Seibel 5351	DEU098-1995-017	AA	CC	TT	TT	GG	TT	AA	TC	
Teleki 5 C	DEU098-1980-477	AA	TT	TT	TA	GT	CT	AA	TT	
<i>V. riparia</i> cl. Goldwater	DEU098-1990-491	AA	CT	TT	AA	TT	TT	AA	TC	
<i>V. riparia</i> pubescens	DEU098-1990-486	AA	--	TT	TA	GT	TT	AA	TT	
Millardet et Grasset 106-8	DEU098-1987-074	--	TT	TT	AA	GT	TT	AA	TT	
unknown (Diamond)	DEU098-1988-047	--	TT	TT	TA	GT	CC	AA	TT	
<i>V. coignetiae</i> Pulliat	DEU098-1990-456	--	TT	TT	TT	TT	TT	AA	TT	
<i>V. riparia</i> Penetanguiskene	DEU098-1990-494	AA	CT	TT	AA	TT	TT	--	--	
Castor	DEU098-1980-587	AA	TT	TA	TA	GG	CC	GG	TT	
Seibel 14404	DEU098-1993-075	AA	CC	TA	TA	GG	CC	GG	TT	
Baco Blanc	DEU098-1980-496	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Burdin 4503	DEU098-1989-138	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Chelois	DEU098-1980-508	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Estellat	DEU098-1989-091	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Geilweilerhof F.S.4-206-36	DEU098-1980-604	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Neron	DEU098-1990-307	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	CC	
Seibel 10855	DEU098-1994-013	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Seibel 11486	DEU098-1994-017	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seibel 11846	DEU098-1994-021	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seibel 12583	DEU098-1990-319	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seyve Villard 10-271	DEU098-1987-025	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Seyve Villard 27-531	DEU098-1994-029	GG	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Storgoziya	DEU098-1990-167	GG	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Bath	DEU098-1980-499	GA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Couderc 1615	DEU098-1998-014	GA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Landot204	DEU098-1989-185	GA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Perkins	DEU098-1990-312	GA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Regent	DEU098-1980-701	GA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seibel 10123	DEU098-1994-046	GA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seibel 12084	DEU098-1994-022	GA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Seibel 8337	DEU098-1995-029	GA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Seinoir	DEU098-1991-081	GA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Alwood	DEU098-1988-178	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Amber	DEU098-1987-036	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Aurore	DEU098-1980-495	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Bailey Alicante A	DEU098-1980-498	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Bellandais	DEU098-1980-500	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	

Probenname	Accessionsnr.	SNP Nr.							
		11	36	48	35	29	23	42	17
Birstaler Muskat	DEU098-1998-010	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Black Eagle	DEU098-1988-044	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Cazalet	DEU098-1994-036	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Century 1	DEU098-1980-505	AA	CT	TA	TT	GG	CC	GA	TT
Concord	DEU098-1980-511	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Concord(4N)	DEU098-1980-512	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Cook	DEU098-1980-513	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Couderc 2	DEU098-1990-180	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Couderc 25	DEU098-1989-086	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Couderc 71-60	DEU098-1980-582	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Couderc 98-76	DEU098-1989-157	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
De Chaunac	DEU098-1980-507	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Delaware	DEU098-1980-514	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Eger1	DEU098-1985-001	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Eger7	DEU098-1985-002	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Egri Csillagok28	DEU098-1994-009	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Egri Csillagok36	DEU098-1994-011	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Excelsior	DEU098-1998-006	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Florental	DEU098-1980-522	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Geilweilerhof 64-170-1	DEU098-1980-695	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Geilweilerhof 67-198-2	DEU098-1980-696	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Geilweilerhof B-8-8	DEU098-1980-597	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Geilweilerhof GA-47-42	DEU098-1988-111	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
GeilweilerhofVI.5861	DEU098-1980-610	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Herbert	DEU098-1980-523	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Humbert-Chapon 3	DEU098-1991-041	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Joannes Seyve 11369	DEU098-1990-215	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	CC
Joannes Seyve 12426	DEU098-1989-172	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Joannes Seyve 12428	DEU098-1989-253	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Joannes Seyve 13733	DEU098-1987-022	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Joannes Seyve 14928	DEU098-1992-006	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Joannes Seyve 14982	DEU098-1989-254	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Joannes Seyve 23416	DEU098-1987-024	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Joannes Seyve 26487	DEU098-1989-255	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	CC
Joannes Seyve 26654	DEU098-1992-021	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Joannes Seyve 26674	DEU098-1992-022	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Joannes Seyve 26924	DEU098-1990-217	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Kyoho	DEU098-1980-527	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Landal	DEU098-1980-530	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Landot 2281	DEU098-1994-030	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Landot 2282	DEU098-1989-061	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Landot 2283	DEU098-1989-186	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Landot 508	DEU098-1990-382	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC

Probenname	Accessionsnr.	SNP Nr.							
		11	36	48	35	29	23	42	17
Landot Excelsior	DEU098-1989-035	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Leon Millot	DEU098-1980-531	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Lucie Kuhlmann	DEU098-1989-002	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Muscat Bailey A	DEU098-1980-536	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
New York 34762	DEU098-1989-004	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
New York 36095	DEU098-1989-006	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Nezhnyi	DEU098-1989-037	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	CC
Norwood	DEU098-1980-538	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Phoenix	DEU098-1980-703	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Picadoul Noir	DEU098-1988-131	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Plantet	DEU098-1991-102	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Pollux	DEU098-1980-589	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Pomriiski Biser	DEU098-1990-163	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Pontiac	DEU098-1988-200	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Pougette Musquee	DEU098-1988-132	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Price	DEU098-1980-541	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Ravat 263	DEU098-1994-038	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Ravat Noir	DEU098-1980-635	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Richter 110	DEU098-1980-637	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Rommel	DEU098-1985-004	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Roucaneuf	DEU098-1980-649	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	CC
Rougeon	DEU098-1980-547	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Rudelin 20	DEU098-1990-168	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 10796	DEU098-1994-012	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	CC
Seibel 11342	DEU098-1989-066	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 11705	DEU098-1994-019	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 12393	DEU098-1990-318	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Seibel 13047	DEU098-1990-320	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 14266	DEU098-1992-036	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 14676	DEU098-1990-227	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 14994	DEU098-1994-026	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 4629	DEU098-1992-008	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 4681	DEU098-1990-235	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	CC
Seibel 5450	DEU098-1992-032	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 5689	DEU098-1995-018	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Seibel 5915	DEU098-1992-031	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Seibel 607	DEU098-1998-038	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 6606	DEU098-1995-021	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seibel 7324	DEU098-1995-026	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Seibel 78	DEU098-1980-647	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seyve Villard 12-129	DEU098-1990-242	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC
Seyve Villard 12-286	DEU098-1991-006	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT
Seyve Villard 12-308	DEU098-1991-007	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	TT

Probenname	Accessionsnr.	SNP Nr.								
		11	36	48	35	29	23	42	17	
Seyve Villard 12-390	DEU098-1989-107	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	CC	
Seyve Villard 12-395	DEU098-1990-340	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seyve Villard 12-401	DEU098-1989-075	AA	CT	TA	TA	GT	CT	GA	CC	
Seyve Villard 12-413	DEU098-1990-246	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seyve Villard 16-207	DEU098-1994-028	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seyve Villard 1-72	DEU098-1980-648	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seyve Villard 2-108	DEU098-1994-031	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seyve Villard 23-356	DEU098-1991-019	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Seyve Villard 5-247	DEU098-1980-654	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Sorilis	DEU098-1980-658	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Subereux	DEU098-1991-100	AA	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Villard blanc	DEU098-1980-650	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Vivarais	DEU098-1994-040	AA	CC	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
McDonald Blue	DEU098-1980-535	--	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Rayon d'Or	DEU098-1980-543	--	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seibel 11697	DEU098-1994-018	--	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TC	
Seyve Villard 26-166	DEU098-1980-653	--	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Seyve Villard 7-135	DEU098-1990-253	--	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
V.rupestris du Lot	DEU098-1990-504	--	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Varousset	DEU098-1980-652	--	TT	TA	TA	GT	CT	GA	TT	
Cascade	DEU098-1980-644	GG	CC	TA	TA	GT	TT	AA	CC	
Castel 19637	DEU098-1980-571	GG	CC	TA	AA	TT	TT	AA	TT	
Millardet et Grasset 41B	DEU098-2007-024	GG	CC	TA	AA	TT	TT	AA	TC	
Ventura	DEU098-1980-556	GG	CC	TA	TA	GT	TT	AA	TC	
Alden	DEU098-1980-494	GA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT	
Castel 196-17	DEU098-1989-052	GA	TT	TA	TA	TT	TT	AA	TC	
Colorado Jardin	DEU098-1980-510	GA	CC	TA	TA	GT	CT	AA	TT	
Douriou	DEU098-1989-089	GA	CC	TA	TA	GT	TT	AA	TC	
Gropel	DEU098-1998-017	GA	CC	TA	TA	TT	TT	AA	TC	
Isabella	DEU098-1980-525	GA	CC	TA	TA	GT	TT	AA	TC	
Agawam	DEU098-1980-493	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT	
Aris	DEU098-1980-478	AA	TT	TA	AA	TT	TT	AA	TT	
Aris (4N)	DEU098-1980-479	AA	TT	TA	TA	GT	CT	AA	TT	
Binova	DEU098-1980-480	AA	TT	TA	TA	GT	CT	AA	TT	
Burdin 1580	DEU098-1980-568	AA	CC	TA	TA	GT	TT	AA	TC	
Burdin 7575	DEU098-1994-035	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TC	
Canada	DEU098-1998-007	AA	CC	TA	TA	GT	TT	AA	TT	
Canada Muscat	DEU098-1980-566	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT	
Castel 16525	DEU098-1998-011	AA	CC	TA	TA	GT	CT	AA	CC	
Catawba(4N)	DEU098-1980-503	AA	CT	TA	TA	GT	TT	AA	TC	
Couderc 161-49	DEU098-1980-574	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT	
Diana	DEU098-1980-515	AA	CT	TA	TT	GG	CT	AA	TT	
Emerald	DEU098-1980-520	AA	CT	TA	TT	GT	TT	AA	TT	

Probenname	Accessionsnr.	SNP Nr.							
		11	36	48	35	29	23	42	17
Freiburg 423-51	DEU098-1980-631	AA	CT	TA	TA	TT	TT	AA	TT
Geisenheim 26	DEU098-1980-482	AA	TT	TA	AA	TT	TT	AA	CC
General	DEU098-1988-184	AA	CC	TA	TA	GT	CT	AA	TC
Hanover	DEU098-1988-189	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Hector	DEU098-1988-190	AA	CC	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Himrod	DEU098-1980-524	AA	CC	TA	TA	GT	TT	AA	TC
Interlaken Seedless	DEU098-1988-049	AA	CC	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Kober 125 AA	DEU098-2006-075	AA	TT	TA	TA	GT	CT	AA	TT
Lakemont Seedless	DEU098-1980-529	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Malegue 57	DEU098-1998-026	AA	CT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Mandl 28	DEU098-1980-617	AA	TT	TA	TT	GG	CT	AA	TT
Naumburg 5004-51	DEU098-1980-627	AA	TT	TA	TT	GT	CC	AA	TT
Naumburg 5004-791	DEU098-1980-677	AA	TT	TA	TT	GT	CC	AA	TT
Naumburg 5028-670	DEU098-1980-630	AA	TT	TA	TT	GT	CC	AA	TT
Oberlin604	DEU098-1989-063	AA	TT	TA	AA	TT	TT	AA	TT
Oberlin705	DEU098-1987-069	AA	CC	TA	AA	TT	TT	AA	TT
Orlando Seedless	DEU098-1991-055	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Remaily 66-54-5	DEU098-1990-165	AA	TT	TA	TT	GG	CT	AA	TT
Rubilande	DEU098-1980-643	AA	CT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Salem	DEU098-1990-314	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Seibel 12242	DEU098-1994-023	AA	CC	TA	AA	TT	TT	AA	TC
Seibel 8229	DEU098-1990-333	AA	CC	TA	TA	GT	TT	AA	CC
Selektion Oppenheim 4	DEU098-1980-485	AA	TT	TA	TA	GT	CT	AA	TT
Selektion Oppenheim 4(4N)	DEU098-1980-486	AA	TT	TA	TA	GT	CT	AA	TT
Seneca	DEU098-1980-549	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Seyve Villard 12-259	DEU098-1990-245	AA	CT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Sori	DEU098-1980-488	AA	TT	TA	AA	TT	TT	AA	TT
Sovereign Emerald	DEU098-1988-163	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Sovereign Royale	DEU098-1988-172	AA	TT	TA	TA	GT	TT	AA	TT
Teleki 5A	DEU098-1980-659	AA	TT	TA	AA	TT	TT	AA	TT
<i>V.doaniana</i> Munson	DEU098-1990-458	AA	TT	TA	TT	GT	CT	AA	TT
Millardet et Grasset 101-10	DEU098-1980-620	--	TT	TA	AA	TT	TT	AA	TT
Naumburg 5007-9	DEU098-1980-628	--	TT	TA	TA	TT	TT	AA	TT
Ontario1616	DEU098-1980-657	--	TT	TA	TT	TT	TT	AA	TT
Teleki 9 A	DEU098-1980-660	--	TT	TA	TA	TT	TT	AA	TT
<i>V.riparia</i> cl.Gloire de Montpellier	DEU098-1990-483	--	TT	TA	AA	TT	TT	AA	TT
<i>V.riparia</i> Portalis Rouge	DEU098-1990-485	--	--	TA	AA	TT	TT	AA	--
Duc Petit	DEU098-1980-646	GG	CC	AA	AA	TT	CT	GA	CC
Lady Washington	DEU098-1989-182	GG	CC	AA	AA	TT	CT	GA	TT
Seyve Villard 10-374	DEU098-1990-240	GG	CC	AA	AA	TT	CT	GA	CC
Flot Rouge	DEU098-1980-642	GA	CC	AA	AA	TT	CT	GA	TC
Couderc 18	DEU098-1995-009	AA	CC	AA	AA	TT	CT	GA	TC
Couderc noir	DEU098-1980-581	AA	CC	AA	AA	TT	CT	GA	TT

Probenname	Accessionsnr.	SNP Nr.								
		11	36	48	35	29	23	42	17	
Rosette	DEU098-1980-640	AA	CC	AA	AA	TT	CT	GA	TT	
Seibel 1	DEU098-1980-639	AA	TT	AA	AA	TT	CT	GA	TT	
Seibel 8820	DEU098-1995-032	AA	TT	AA	AA	TT	CT	GA	TT	
Seyve Villard 7-111	DEU098-1990-252	AA	CT	AA	AA	TT	CT	GA	TC	
Baco Noir	DEU098-1980-497	GG	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Bronx Seedless	DEU098-1988-045	GG	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Freiburg 54-64	DEU098-1980-671	GG	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Geilweierhof Koe 48-43	DEU098-1980-607	GG	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Landot2517	DEU098-1993-161	GG	CC	AA	AA	GT	TT	AA	TT	
Mills	DEU098-1985-003	GG	CC	AA	TA	GT	CT	AA	TT	
Naumburg 2-76-24	DEU098-1980-626	GG	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Pinard	DEU098-1980-540	GG	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Seibel 10417	DEU098-1991-099	GG	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Seibel 10868	DEU098-1989-264	GG	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Seibel 4762	DEU098-1990-237	GG	CC	AA	AA	GT	TT	AA	TT	
Seyve Villard 12-331	DEU098-1990-265	GG	CC	AA	AA	GT	TT	AA	TT	
Freiburg 52-64	DEU098-1980-669	GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Freiburg 8-62	DEU098-1980-667	GA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Goecseji Zamos	DEU098-1994-010	GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Golden Muscat	DEU098-1988-188	GA	CC	AA	TA	GT	CT	AA	TT	
Iona	DEU098-1988-048	GA	CC	AA	TA	GT	CT	AA	TC	
Mandl 24	DEU098-1980-616	GA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Olmo 3-54	DEU098-1993-008	GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Olmo 3-84	DEU098-1993-009	GA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Rondo	DEU098-1998-008	GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Seibel 14660	DEU098-1990-225	GA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Seibel 8120	DEU098-1995-045	GA	CT	AA	AA	GT	TT	AA	TT	
Seibel 8906	DEU098-1995-033	GA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Seyve Villard 10-319	DEU098-1990-239	GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	CC	
<i>V.riparia</i> cl.Orilla	DEU098-1990-493	GA	--	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Elbling Weiss		GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Gelbhoelzer Blau		GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Hans		GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Knipperle		GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Raeuschling Weiss		GA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Riesling Weiss		GA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC	
Blanc Du Bois	DEU098-1989-119	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Brighton	DEU098-1980-565	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Catawba	DEU098-1980-502	AA	CC	AA	TA	GT	CT	AA	TT	
Couderc 160-19	DEU098-1998-013	AA	CC	AA	TA	GT	TT	AA	TC	
Couderc 3309	DEU098-1980-481	AA	TT	AA	TA	GT	CT	AA	TT	
Croushevskil Bely	DEU098-1998-015	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT	
Csarenci	DEU098-1993-084	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC	

Probenname	Accessionsnr.	SNP Nr.							
		11	36	48	35	29	23	42	17
Droujba	DEU098-1990-161	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Dunkirk	DEU098-1980-517	AA	--	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Dutchess	DEU098-1980-518	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Festivee	DEU098-1988-160	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Fin Noir	DEU098-1995-013	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Freiburg 6147	DEU098-1980-665	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Geilweilerhof A-100-3	DEU098-1980-590	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Geilweilerhof B-2-11	DEU098-1980-593	AA	TT	AA	AA	GT	TT	AA	TT
Geilweilerhof C-43-39	DEU098-1980-601	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Geilweilerhof GA-50-34	DEU098-1980-692	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Geilweilerhof GA-52-42	DEU098-1980-694	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Granatovyi	DEU098-1998-016	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Jacquez	DEU098-1980-526	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Joannes Seyve 16150	DEU098-1987-023	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Joannes Seyve 23284	DEU098-1989-175	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Joannes Seyve 24398	DEU098-1993-183	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Joannes Seyve 25444	DEU098-1992-012	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Joannes Seyve 26482	DEU098-1992-018	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Joannes Seyve 26490	DEU098-1992-019	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Joannes Seyve 26855	DEU098-1993-071	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Landot 234	DEU098-1990-373	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Lednice C 62	DEU098-1986-002	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Marechal Joffre	DEU098-1980-534	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Merbein 46-32	DEU098-1980-625	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Misket Kailachki	DEU098-1990-162	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Moldova	DEU098-1988-086	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Niabell	DEU098-1989-198	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Oberlin 782	DEU098-1989-202	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Oberlin noir	DEU098-1980-633	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Oberlin605	DEU098-1989-064	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Olmo 4-166	DEU098-1993-011	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Othello	DEU098-1995-038	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Reform	DEU098-1980-664	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Remaily Seedless	DEU098-1980-544	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Roi des Noirs	DEU098-1991-058	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Romulus	DEU098-1980-545	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Rose Queen	DEU098-1980-546	AA	TT	AA	TA	GT	CT	AA	TT
Rosela	DEU098-1988-101	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seibel 11259-16	DEU098-1994-015	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Seibel 11437	DEU098-2006-074	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seibel 11815	DEU098-1994-020	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seibel 13663	DEU098-1994-024	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seibel 13682	DEU098-1994-025	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT

Probenname	Accessionsnr.	SNP Nr.							
		11	36	48	35	29	23	42	17
Seibel 14866	DEU098-1991-001	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seibel 14937	DEU098-1990-230	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seibel 15245	DEU098-1991-005	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seibel 6468	DEU098-1990-211	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seibel 7347	DEU098-1998-042	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seyve Villard 10-300	DEU098-1989-229	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seyve Villard 11-318	DEU098-1990-241	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seyve Villard 12-132	DEU098-1990-243	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seyve Villard 12-267	DEU098-1994-027	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seyve Villard 12-303	DEU098-1989-073	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seyve Villard 12-327	DEU098-1987-026	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seyve Villard 12-345	DEU098-1994-032	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seyve Villard 12-347	DEU098-1989-074	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Seyve Villard 12-391	DEU098-1990-339	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seyve Villard 12-397	DEU098-1992-044	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seyve Villard 23-400	DEU098-1991-021	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seyve Villard 23-898	DEU098-1991-026	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seyve Villard 3-54	DEU098-1987-031	AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seyve Villard 39-639	DEU098-1994-039	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Siegfriedrebe	DEU098-1980-487	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Sovereign Noir	DEU098-1988-168	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Telegraph	DEU098-1980-509	AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Vertes Csillaga	DEU098-1994-008	AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Affenthaler		AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Elbling_Schwarz		AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	--
Fischtraube		AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Heunisch Weiss		AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Himbertscha		AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	--
Lamberttraube		AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Putzscheere		AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Riesling Rot		AA	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Sylvestris Dirmstein		AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Sylvestris Ketsch 32		AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Sylvestris Kollerinsel 1-36		AA	CC	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Tauberschwarz		AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	CC
Wildbacher Blau		AA	CT	AA	AA	TT	TT	AA	TC
Seyve Villard 22-25	DEU098-1991-016	--	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Seyve Villard 61-339	DEU098-1998-044	--	TT	AA	AA	TT	TT	AA	TT
Muscat d'Eisenstadt		AA	TT	AA	AA	TT	TT	--	TT
Lady Patricia	DEU098-1980-528	GA	CT	--	TA	GG	CC	GA	TT
Ampelopsis bodinieri	DEU098-1980-490	--	--	--	--	--	CC	--	CC

Anhang 5: Genexpressionsdaten „Hormonanalysen“

In den beiden nachfolgenden Tabellen sind nur die Gene angegeben, die mindestens zweifach induziert oder reprimiert wurden. Als „Housekeeping“ Gen wurde SAND verwendet. Die Normalisierung erfolgte mit nicht infizierten Kontrollen zum gleichen Zeitpunkt. Es wurden die Daten von drei unabhängigen biologischen Wiederholungen mit je vier technischen Wiederholungen verrechnet (N = 12). Die Signifikanz wurde mit Hilfe eines einseitigen Ein-Stichproben-t-Tests bestimmt. Als Signifikanzniveau wurden $\alpha = 5\%$ (*), $\alpha = 2,5\%$ (**), $\alpha = 1\%$ (***) und $\alpha = 0,05\%$ (****) verwendet. Für den Ergebnisteil (siehe 3.4) wurden nur die Werte betrachtet, welche signifikant zum Niveau $\alpha = 2,5\%$ waren.

Induzierte Gene nach der Inokulation mit *Plasmopara viticola*

Genotyp	Hormon-Behandlung	Zeit [hpi]	Gen	MW	Standardabw.	Sign.
Regent	Wasser	6	CZF1/ZFAR1	5,62	1,71	****
Lemberger	Methyljasmonat	1	EDS1	5,53	3,00	***
Regent	Methyljasmonat	24	EDS1	5,66	5,23	*
Lemberger	Ethylen	0	EIN2	2,67	1,00	*
Regent	Wasser	2	EIN2	4,98	4,18	*
Lemberger	Methyljasmonat	1	ERF1	7,84	3,86	****
Lemberger	Wasser	2	ERF1	4,09	2,91	*
Lemberger	Wasser	4	ERF1	2,31	0,43	*
Lemberger	Wasser	6	ERF1	3,58	2,25	*
Lemberger	Ethylen	0	ERF5	9,15	3,95	****
Lemberger	Methyljasmonat	2	ERF5	5,76	4,02	**
Regent	Wasser	1	ERF5	2,44	0,13	****
Regent	Wasser	6	ERF5	4,60	0,76	****
Lemberger	Ethylen	0	NBS-LRR1	147,86	189,23	*
Lemberger	Methyljasmonat	6	NBS-LRR1	6,47	4,97	**
Lemberger	Salicylsäure	2	NBS-LRR1	6,64	2,98	****
Regent	Salicylsäure	4	NBS-LRR1	15,98	12,80	***
Lemberger	Ethylen	4	Ankyrin1	9,22	9,10	*
Lemberger	Methyljasmonat	1	Ankyrin1	17,47	21,85	*
Lemberger	Methyljasmonat	2	Ankyrin1	4,30	2,07	***
Lemberger	Methyljasmonat	6	Ankyrin1	4,98	3,98	*
Lemberger	Salicylsäure	4	Ankyrin1	15,97	18,88	*
Regent	Salicylsäure	4	Ankyrin1	4,25	2,71	*
Lemberger	Ethylen	0	Ankyrin2	209,61	215,86	**
Lemberger	Ethylen	6	Ankyrin2	31,47	33,55	**
Lemberger	Methyljasmonat	1	Ankyrin2	2,82	0,71	***
Lemberger	Methyljasmonat	2	Ankyrin2	9,26	9,86	*
Lemberger	Methyljasmonat	6	Ankyrin2	11,56	13,45	*
Lemberger	Salicylsäure	0	Ankyrin2	12,80	15,17	*

Genotyp	Hormon-Behandlung	Zeit [hpi]	Gen	MW	Standardabw.	Sign.
Lemberger	Salicylsäure	2	Ankyrin2	20,19	9,78	****
Lemberger	Wasser	6	Ankyrin2	8,61	8,77	*
Regent	Salicylsäure	2	Ankyrin2	4,47	1,09	****
Regent	Salicylsäure	4	Ankyrin2	16,76	14,85	**
Regent	Wasser	2	Ankyrin2	7,78	5,95	**
Lemberger	Ethylen	0	DREB3	75,55	75,58	**
Lemberger	Ethylen	24	DREB3	2,95	1,21	*
Lemberger	Methyljasmonat	2	DREB3	9,67	7,82	**
Lemberger	Methyljasmonat	6	DREB3	5,40	4,81	*
Lemberger	Salicylsäure	2	DREB3	11,03	8,97	**
Regent	Ethylen	1	DREB3	4,31	2,09	***
Regent	Salicylsäure	1	DREB3	7,64	7,01	*
Regent	Salicylsäure	2	DREB3	3,35	1,47	**
Regent	Salicylsäure	4	DREB3	9,07	6,98	**
Lemberger	Ethylen	0	NBS-LRR2	32,11	39,00	*
Lemberger	Salicylsäure	2	NBS-LRR2	3,72	2,17	*
Regent	Salicylsäure	4	NBS-LRR2	9,14	7,26	**
Regent	Salicylsäure	24	NBS-LRR2	5,26	3,92	*
Lemberger	Ethylen	0	JAR1	5,79	5,12	*
Regent	Salicylsäure	4	JAZ	9,27	7,33	**
Lemberger	Methyljasmonat	6	MAP3K	6,04	6,00	*
Lemberger	Wasser	0	MAP3K	8,31	5,45	***
Lemberger	Wasser	4	MAP3K	3,46	1,20	***
Lemberger	Wasser	24	MAP3K	3,68	1,14	****
Lemberger	Ethylen	4	Myb	8,66	8,57	*
Lemberger	Methyljasmonat	1	Myb	10,49	3,31	****
Lemberger	Salicylsäure	4	Myb	19,37	21,39	*
Lemberger	Wasser	2	Myb	39,70	49,64	*
Regent	Methyljasmonat	2	Myb	8,00	6,83	**
Regent	Methyljasmonat	4	Myb	4,99	2,23	****
Regent	Salicylsäure	2	Myb	2,38	0,35	***
Regent	Salicylsäure	4	Myb	8,28	5,57	***
Regent	Wasser	1	Myb	4,38	0,59	****
Regent	Wasser	6	Myb	2,96	0,88	***
Lemberger	Ethylen	0	NDR1	7,22	7,62	*
Lemberger	Methyljasmonat	2	NDR1	5,93	4,83	*
Regent	Salicylsäure	4	NDR1	9,59	7,45	**
Lemberger	Ethylen	4	NHL10	30,01	40,44	*
Lemberger	Methyljasmonat	1	NHL10	34,95	12,32	****
Lemberger	Salicylsäure	4	NHL10	6,71	4,92	**
Lemberger	Wasser	2	NHL10	15,08	17,62	*
Regent	Salicylsäure	2	NHL10	4,05	0,95	****
Regent	Salicylsäure	4	NHL10	7,22	5,57	**
Regent	Wasser	1	NHL10	2,95	0,56	****

Genotyp	Hormon-Behandlung	Zeit [hpi]	Gen	MW	Standardabw.	Sign.
Lemberger	Ethylen	0	NPR3.1	11,95	12,28	*
Lemberger	Methyljasmonat	2	NPR3.2	4,83	3,48	*
Lemberger	Salicylsäure	4	ORA59	3,74	2,59	*
Regent	Salicylsäure	1	ORA59	3,35	1,83	*
Regent	Wasser	1	ORA59	4,18	0,31	****
Regent	Wasser	6	ORA59	4,26	2,74	*
Lemberger	Methyljasmonat	1	PAD4	3,12	0,62	****
Regent	Salicylsäure	2	PAD4	2,52	0,52	**
Lemberger	Ethylen	4	PAL	30,60	34,10	**
Lemberger	Methyljasmonat	1	PAL	14,64	16,65	*
Lemberger	Salicylsäure	4	PAL	5,22	4,65	*
Lemberger	Wasser	2	PAL	12,03	12,92	*
Lemberger	Wasser	6	PAL	5,88	4,47	**
Regent	Ethylen	4	PAL	5,92	2,86	****
Regent	Ethylen	6	PAL	4,32	2,67	**
Regent	Methyljasmonat	2	PAL	3,38	1,43	**
Regent	Methyljasmonat	4	PAL	5,13	2,17	****
Regent	Salicylsäure	2	PAL	6,05	2,01	****
Regent	Salicylsäure	4	PAL	27,95	21,42	***
Regent	Wasser	1	PAL	5,14	0,65	****
Regent	Wasser	2	PAL	3,99	2,07	**
Regent	Wasser	6	PAL	4,05	1,17	****
Lemberger	Ethylen	0	PDF1.2	75,74	77,58	**
Lemberger	Salicylsäure	2	PDF1.2	6,25	1,00	****
Regent	Ethylen	4	PDF1.2	4,79	2,87	**
Regent	Ethylen	24	PDF1.2	4,18	0,68	****
Regent	Salicylsäure	1	PDF1.2	17,22	18,55	*
Regent	Salicylsäure	4	PDF1.2	65,25	17,16	****
Regent	Salicylsäure	24	PDF1.2	11,13	8,84	**
Lemberger	Methyljasmonat	0	PR1	62,78	72,34	**
Lemberger	Methyljasmonat	2	PR1	10,56	3,13	****
Lemberger	Methyljasmonat	6	PR1	7,96	6,70	**
Lemberger	Salicylsäure	1	PR1	5,35	4,16	*
Lemberger	Salicylsäure	4	PR1	93,55	134,69	*
Lemberger	Wasser	6	PR1	13,63	14,79	*
Regent	Ethylen	1	PR1	5,49	4,13	**
Regent	Methyljasmonat	1	PR1	97,31	115,89	*
Regent	Methyljasmonat	24	PR1	39,10	46,69	*
Regent	Salicylsäure	1	PR1	10,35	7,12	***
Regent	Salicylsäure	4	PR1	5,59	4,07	**
Regent	Salicylsäure	24	PR1	4,77	3,86	*
Regent	Wasser	24	PR1	16,18	20,45	*
Lemberger	Ethylen	4	PR10.1	16,88	17,63	**
Lemberger	Methyljasmonat	1	PR10.1	57,89	13,05	****

Genotyp	Hormon-Behandlung	Zeit [hpi]	Gen	MW	Standardabw.	Sign.
Lemberger	Salicylsäure	4	PR10.1	4,77	3,95	*
Lemberger	Wasser	2	PR10.1	34,40	43,71	*
Regent	Ethylen	4	PR10.1	4,19	2,17	**
Regent	Ethylen	6	PR10.1	9,49	9,94	*
Regent	Methyljasmonat	2	PR10.1	5,65	4,40	*
Regent	Methyljasmonat	4	PR10.1	5,11	2,14	****
Regent	Methyljasmonat	6	PR10.1	2,72	0,92	*
Regent	Salicylsäure	2	PR10.1	3,66	1,49	***
Regent	Salicylsäure	4	PR10.1	9,62	6,64	***
Regent	Wasser	6	PR10.1	7,57	0,77	****
Lemberger	Ethylen	4	PR2	4,89	4,26	*
Lemberger	Methyljasmonat	1	PR2	6,23	4,78	**
Lemberger	Salicylsäure	0	PR2	2,88	1,18	*
Regent	Ethylen	6	PR2	2,53	0,26	****
Regent	Methyljasmonat	24	PR2	24,86	28,92	*
Lemberger	Ethylen	0	PR5	32,39	34,41	**
Lemberger	Ethylen	2	PR5	18,55	20,84	*
Lemberger	Ethylen	6	PR5	86,01	97,01	**
Lemberger	Methyljasmonat	0	PR5	3,55	2,04	*
Lemberger	Methyljasmonat	1	PR5	228,71	187,51	***
Lemberger	Salicylsäure	0	PR5	7,28	1,51	****
Lemberger	Wasser	2	PR5	44,26	55,03	*
Regent	Methyljasmonat	2	PR5	23,01	24,10	**
Regent	Methyljasmonat	4	PR5	27,00	17,71	****
Regent	Salicylsäure	4	PR5	10,46	8,10	**
Regent	Salicylsäure	24	PR5	3,99	1,95	**
Lemberger	Ethylen	6	PTI4	4,24	2,70	*
Lemberger	Methyljasmonat	2	PTI4	8,57	4,68	****
Lemberger	Methyljasmonat	24	PTI4	4,29	2,77	*
Lemberger	Methyljasmonat	2	SAG101	3,24	1,20	**
Lemberger	Salicylsäure	4	SAG101	5,84	4,33	**
Lemberger	Salicylsäure	24	SAG101	4,14	1,82	***
Regent	Salicylsäure	2	SAG101	2,83	0,20	****
Regent	Salicylsäure	4	SAG101	10,32	7,93	**
Regent	Salicylsäure	4	UBQ	3,05	1,55	*
Lemberger	Ethylen	1	VRP1-2	33,16	42,78	*
Lemberger	Ethylen	4	VRP1-2	38,01	47,97	*
Lemberger	Methyljasmonat	2	VRP1-2	6,39	4,78	**
Lemberger	Salicylsäure	24	VRP1-2	4,05	1,11	****
Regent	Salicylsäure	2	VRP1-2	2,64	0,95	*
Regent	Salicylsäure	4	VRP1-2	18,82	14,61	***
Regent	Salicylsäure	2	VRP1-3	2,39	0,20	****
Regent	Salicylsäure	4	VRP1-3	9,05	6,89	**
Lemberger	Ethylen	0	Why1	2,79	1,12	*

Genotyp	Hormon-Behandlung	Zeit [hpi]	Gen	MW	Standardabw.	Sign.
Lemberger	Methyljasmonat	1	WRKY57	21,65	5,54	****
Lemberger	Salicylsäure	4	WRKY57	14,34	15,05	*
Lemberger	Wasser	2	WRKY57	13,55	16,06	*
Lemberger	Methyljasmonat	2	WRKY33	6,63	6,45	*
Regent	Salicylsäure	4	WRKY33	5,24	3,87	*
Regent	Wasser	1	WRKY33	3,08	0,14	****
Regent	Wasser	2	WRKY33	3,30	1,12	***

Reprimierte Gene nach der Inokulation mit *Plasmopara viticola*

Genotyp	Hormon-Behandlung	Zeit [hpi]	Gen	MW	Standardabw.	Sign.
Regent	Salicylsäure	1	CZF1/ZFAR1	0,42	0,08	**
Lemberger	Ethylen	24	EDS1	0,39	0,04	****
Lemberger	Ethylen	24	ERF1	0,21	0,13	****
Lemberger	Salicylsäure	0	ERF1	0,33	0,19	**
Lemberger	Salicylsäure	2	ERF1	0,38	0,07	****
Lemberger	Wasser	0	ERF1	0,15	0,13	****
Regent	Salicylsäure	0	ERF1	0,28	0,29	*
Regent	Methyljasmonat	1	ERF5	0,41	0,11	*
Lemberger	Wasser	0	NBS-LRR1	0,06	0,02	****
Lemberger	Wasser	4	NBS-LRR1	0,22	0,21	****
Regent	Methyljasmonat	24	NBS-LRR1	0,32	0,22	*
Regent	Wasser	0	NBS-LRR1	0,26	0,21	***
Regent	Wasser	24	NBS-LRR1	0,28	0,05	****
Lemberger	Wasser	0	Ankyrin2	0,03	0,01	****
Lemberger	Wasser	4	Ankyrin2	0,23	0,22	***
Regent	Methyljasmonat	24	Ankyrin2	0,18	0,15	****
Lemberger	Wasser	0	DREB3	0,29	0,10	****
Lemberger	Wasser	4	DREB3	0,29	0,16	****
Regent	Methyljasmonat	4	DREB3	0,33	0,15	***
Lemberger	Wasser	4	NBS-LRR2	0,32	0,19	**
Lemberger	Wasser	0	JAR1	0,22	0,02	****
Lemberger	Wasser	4	JAR1	0,28	0,11	****
Regent	Salicylsäure	6	JAR1	0,29	0,09	****
Lemberger	Ethylen	1	JAZ	0,22	0,07	****
Lemberger	Salicylsäure	2	JAZ	0,34	0,03	****
Lemberger	Wasser	0	JAZ	0,12	0,01	****
Lemberger	Wasser	4	JAZ	0,22	0,18	****
Regent	Methyljasmonat	24	JAZ	0,40	0,11	**
Regent	Salicylsäure	0	JAZ	0,28	0,14	****
Regent	Wasser	0	JAZ	0,30	0,22	**
Regent	Wasser	4	JAZ	0,17	0,19	****
Lemberger	Methyljasmonat	1	MAP3K	0,05	0,03	****

Genotyp	Hormon-Behandlung	Zeit [hpi]	Gen	MW	Standardabw.	Sign.
Lemberger	Methyljasmonat	24	MAP3K	0,26	0,11	****
Lemberger	Salicylsäure	0	MAP3K	0,38	0,08	****
Lemberger	Salicylsäure	4	MAP3K	0,29	0,30	*
Lemberger	Wasser	2	MAP3K	0,29	0,21	**
Regent	Salicylsäure	6	MAP3K	0,27	0,17	****
Lemberger	Ethylen	24	Myb	0,35	0,08	****
Lemberger	Salicylsäure	0	Myb	0,13	0,09	****
Lemberger	Salicylsäure	2	Myb	0,07	0,04	****
Lemberger	Wasser	0	Myb	0,07	0,03	****
Lemberger	Salicylsäure	2	NDR1	0,25	0,03	****
Lemberger	Wasser	0	NDR1	0,18	0,02	****
Lemberger	Ethylen	24	NHL10	0,41	0,10	**
Lemberger	Salicylsäure	2	NHL10	0,12	0,01	****
Lemberger	Wasser	0	NHL10	0,15	0,02	****
Regent	Ethylen	4	NHL10	0,18	0,09	****
Regent	Wasser	24	NHL10	0,23	0,12	****
Lemberger	Wasser	0	NPR1	0,25	0,06	****
Lemberger	Salicylsäure	0	NPR3.1	0,39	0,05	****
Lemberger	Salicylsäure	2	NPR3.1	0,44	0,07	**
Lemberger	Wasser	0	NPR3.1	0,23	0,06	****
Lemberger	Wasser	4	NPR3.1	0,20	0,05	****
Regent	Wasser	0	NPR3.1	0,24	0,10	****
Regent	Wasser	4	NPR3.1	0,25	0,31	*
Lemberger	Salicylsäure	0	NPR3.2	0,34	0,04	****
Lemberger	Wasser	4	NPR3.2	0,27	0,05	****
Regent	Wasser	4	NPR3.2	0,18	0,16	****
Lemberger	Salicylsäure	2	ORA59	0,13	0,02	****
Lemberger	Wasser	0	ORA59	0,13	0,06	****
Regent	Salicylsäure	0	ORA59	0,24	0,06	****
Regent	Wasser	0	ORA59	0,35	0,15	**
Regent	Wasser	4	ORA59	0,29	0,08	****
Lemberger	Wasser	0	PAL	0,06	0,01	****
Lemberger	Wasser	4	PAL	0,26	0,24	**
Lemberger	Wasser	0	PDF1.2	0,24	0,02	****
Lemberger	Wasser	4	PDF1.2	0,31	0,24	*
Regent	Ethylen	0	PDF1.2	0,18	0,07	****
Regent	Methyljasmonat	24	PDF1.2	0,18	0,24	****
Regent	Wasser	0	PDF1.2	0,02	0,00	****
Regent	Wasser	24	PDF1.2	0,27	0,11	****
Lemberger	Ethylen	2	PR1	0,18	0,06	****
Lemberger	Ethylen	6	PR1	0,42	0,10	*
Lemberger	Wasser	0	PR1	0,26	0,12	****
Lemberger	Wasser	4	PR1	0,18	0,17	****
Regent	Methyljasmonat	4	PR1	0,24	0,16	****

Genotyp	Hormon-Behandlung	Zeit [hpi]	Gen	MW	Standardabw.	Sign.
Regent	Wasser	0	PR1	0,20	0,09	****
Regent	Wasser	1	PR1	0,06	0,01	****
Regent	Wasser	4	PR1	0,05	0,02	****
Lemberger	Methyljasmonat	0	PR10.1	0,41	0,04	****
Lemberger	Wasser	0	PR10.1	0,29	0,12	****
Regent	Ethylen	24	PR10.1	0,25	0,24	**
Regent	Salicylsäure	0	PR10.1	0,35	0,21	*
Lemberger	Ethylen	24	PR2	0,28	0,26	**
Lemberger	Salicylsäure	24	PR2	0,14	0,04	****
Regent	Wasser	4	PR2	0,21	0,06	****
Lemberger	Ethylen	1	PR5	0,02	0,01	****
Lemberger	Wasser	0	PR5	0,02	0,01	****
Regent	Ethylen	4	PR5	0,28	0,27	*
Regent	Wasser	24	PR5	0,30	0,07	****
Regent	Salicylsäure	0	PTI4	0,34	0,14	***
Regent	Wasser	4	PTI4	0,33	0,14	***
Lemberger	Wasser	4	SAG101	0,28	0,18	***
Regent	Wasser	4	SAG101	0,29	0,28	*
Lemberger	Methyljasmonat	24	SEBF	0,38	0,15	*
Lemberger	Wasser	0	TGA2.1	0,41	0,13	*
Lemberger	Wasser	4	TGA2.1	0,47	0,03	**
Lemberger	Wasser	0	UBQ	0,39	0,02	****
Lemberger	Wasser	4	VRP1-1	0,45	0,03	****
Lemberger	Salicylsäure	0	VRP1-2	0,29	0,27	*
Lemberger	Wasser	0	VRP1-2	0,18	0,09	****
Lemberger	Wasser	4	VRP1-2	0,29	0,21	**
Lemberger	Salicylsäure	0	VRP1-3	0,32	0,21	*
Lemberger	Wasser	4	VRP1-3	0,40	0,04	****
Regent	Wasser	4	VRP1-3	0,30	0,22	**
Lemberger	Ethylen	24	WRKY57	0,26	0,16	****
Lemberger	Salicylsäure	2	WRKY57	0,23	0,02	****
Lemberger	Wasser	0	WRKY57	0,03	0,01	****
Lemberger	Ethylen	24	WRKY33	0,38	0,13	**
Lemberger	Salicylsäure	0	WRKY33	0,15	0,03	****
Lemberger	Wasser	0	WRKY33	0,23	0,07	****
Lemberger	Wasser	4	WRKY33	0,24	0,13	****
Regent	Methyljasmonat	24	WRKY33	0,33	0,06	****

Anhang 6: Genexpressionsdaten “*Rpv* – Einzelloci”

In den beiden nachfolgenden Tabellen sind nur die Gene angegeben, die mindestens zweifach induziert oder reprimiert wurden. Als „Housekeeping“ Gen wurde UBP verwendet. Die Normalisierung mit nicht infizierten Kontrollen variierte. Es wurde bei jeder Tabelle angegeben, welche Proben zur Normalisierung verwendet wurden. Es wurden die Daten von zwei unabhängigen biologischen Wiederholungen mit je zwei technischen Wiederholungen verrechnet (N = 4). Die Signifikanz wurde mit Hilfe eines einseitigen Ein-Strichproben-t-Test bestimmt. Als Signifikanzniveau wurden $\alpha = 5\%$ (*), $\alpha = 2,5\%$ (**), $\alpha = 1\%$ (***) und $\alpha = 0,05\%$ (****) verwendet. Für den Ergebnisteil (siehe 3.5) wurden nur die Werte betrachtet, welche signifikant zum Niveau $\alpha = 2,5\%$ waren.

Die Normalisierung erfolgte mit dem Referenzwert von Gf.Ga52-42 zum Nullzeitpunkt.

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
316	0 hpi (Referenz)	EIN2	39,84	2,54	****
316	8 hpi (Mock)	EIN2	69,56	5,72	****
316	8 hpi (Plasmopara)	EIN2	66,54	2,85	****
347	0 hpi (Referenz)	EIN2	41,46	17,85	****
347	8 hpi (Mock)	EIN2	52,46	2,77	****
347	8 hpi (Plasmopara)	EIN2	50,40	12,25	****
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	EIN2	40,84	6,44	****
Kunbarat	8 hpi (Mock)	EIN2	54,39	9,09	****
Kunbarat	8 hpi (Plasmopara)	EIN2	42,15	7,56	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	EIN2	62,30	4,31	****
Kunleany	8 hpi (Mock)	EIN2	52,58	14,98	****
Kunleany	8 hpi (Plasmopara)	EIN2	41,16	7,66	****
Rondo	0 hpi (Referenz)	EIN2	30,66	10,85	****
Rondo	8 hpi (Mock)	EIN2	61,51	4,45	****
Rondo	8 hpi (Plasmopara)	EIN2	44,15	3,91	****
AgatDonskoi	8 hpi (Mock)	EIN3	2,23	0,13	****
347	0 hpi (Referenz)	ERF1	3,44	1,29	**
347	8 hpi (Plasmopara)	ERF1	3,25	1,63	*
Droujba	0 hpi (Referenz)	ERF1	358,40	293,34	**
Droujba	8 hpi (Mock)	ERF1	1973,35	2062,75	*
Droujba	8 hpi (Plasmopara)	ERF1	2589,28	2712,05	*
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	ERF1	198,53	165,62	**
Kunbarat	8 hpi (Mock)	ERF1	710,84	721,32	*
Kunbarat	8 hpi (Plasmopara)	ERF1	425,46	417,64	**
Kunleany	0 hpi (Referenz)	ERF1	165,40	126,62	**
Kunleany	8 hpi (Mock)	ERF1	296,28	241,29	**
Kunleany	8 hpi (Plasmopara)	ERF1	377,97	408,14	*

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
Michurinets	0 hpi (Referenz)	ERF1	441,11	385,48	**
Michurinets	8 hpi (Mock)	ERF1	1351,83	1291,96	**
Michurinets	8 hpi (Plasmopara)	ERF1	709,84	730,98	*
Olimpijec	8 hpi (Mock)	ERF1	7,41	6,81	*
Regent	0 hpi (Referenz)	ERF1	1770,05	1729,52	**
Regent	8 hpi (Mock)	ERF1	2769,63	906,05	****
Regent	8 hpi (Plasmopara)	ERF1	1848,14	1992,97	*
Rondo	0 hpi (Referenz)	ERF1	570,84	493,53	**
Rondo	8 hpi (Mock)	ERF1	1744,31	1230,14	***
Rondo	8 hpi (Plasmopara)	ERF1	1549,04	1160,84	***
316	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR1	4,58	3,00	*
316	8 hpi (Mock)	NBS-LRR1	5,02	0,42	****
316	8 hpi (Plasmopara)	NBS-LRR1	5,34	0,32	****
Homozygot	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR1	5,71	1,13	****
Homozygot	8 hpi (Mock)	NBS-LRR1	3,34	0,75	****
Homozygot	8 hpi (Plasmopara)	NBS-LRR1	3,02	1,07	*
Michurinets	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR1	2,62	0,82	*
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR1	4,76	0,66	****
Olimpijec	8 hpi (Plasmopara)	NBS-LRR1	3,82	1,04	****
Rondo	8 hpi (Mock)	NBS-LRR1	2,84	0,79	**
Rondo	8 hpi (Plasmopara)	NBS-LRR1	2,46	0,14	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR1	4,14	1,21	****
Severnyi	8 hpi (Plasmopara)	NBS-LRR1	2,52	0,33	***
Solaris	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR1	5,16	1,14	****
Solaris	8 hpi (Mock)	NBS-LRR1	5,87	1,35	****
Solaris	8 hpi (Plasmopara)	NBS-LRR1	4,64	0,43	****
Droujba	8 hpi (Mock)	Ankyrin2	3,20	0,24	****
Galja	0 hpi (Referenz)	Ankyrin2	4,86	1,44	****
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	Ankyrin2	4,22	1,98	**
Olimpijec	8 hpi (Plasmopara)	Ankyrin2	3,47	0,31	****
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	DREB3	2,96	0,85	**
AgatDonskoi	8 hpi (Mock)	DREB3	4,37	2,48	*
Michurinets	0 hpi (Referenz)	DREB3	5,51	3,94	*
Homozygot	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR2	5,53	1,30	****
Homozygot	8 hpi (Mock)	NBS-LRR2	2,58	0,65	*
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR2	4,23	0,75	****
Solaris	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR2	2,60	0,76	*
Homozygot	0 hpi (Referenz)	JAR1	3,43	0,91	***
Homozygot	8 hpi (Mock)	JAR1	4,11	1,64	**
Homozygot	8 hpi (Plasmopara)	JAR1	3,53	0,36	****
316	0 hpi (Referenz)	JAZ	6,51	2,09	****
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	JAZ	3,91	0,49	****
Galja	0 hpi (Referenz)	JAZ	5,11	0,80	****

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
Homozygot	0 hpi (Referenz)	JAZ	17,07	5,42	****
Homozygot	8 hpi (Plasmopara)	JAZ	2,60	0,31	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	JAZ	3,25	1,11	**
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	JAZ	12,52	10,87	*
Rondo	0 hpi (Referenz)	JAZ	3,12	0,95	**
Solaris	0 hpi (Referenz)	JAZ	8,53	7,24	*
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	MAP3K	3,14	1,31	*
Droujba	0 hpi (Referenz)	MAP3K	3,86	0,32	****
Galja	0 hpi (Referenz)	MAP3K	6,28	5,54	*
Michurinets	0 hpi (Referenz)	MAP3K	7,62	6,55	*
Regent	0 hpi (Referenz)	MYBB	6,51	5,93	*
Homozygot	0 hpi (Referenz)	Myc2	3,33	1,27	**
Homozygot	0 hpi (Referenz)	NDR1	2,63	0,46	****
310	0 hpi (Referenz)	NHL10	12,67	6,17	****
310	8 hpi (Mock)	NHL10	4,06	2,72	*
310	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	9,18	7,32	*
316	0 hpi (Referenz)	NHL10	14,08	3,38	****
316	8 hpi (Mock)	NHL10	4,29	2,40	*
347	0 hpi (Referenz)	NHL10	10,93	8,05	**
347	8 hpi (Mock)	NHL10	2,36	0,27	**
347	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	11,20	7,08	**
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	NHL10	50,36	29,64	****
AgatDonskoi	8 hpi (Mock)	NHL10	6,63	3,08	***
AgatDonskoi	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	17,98	15,29	**
Droujba	0 hpi (Referenz)	NHL10	33,60	12,32	****
Droujba	8 hpi (Mock)	NHL10	19,71	4,87	****
Droujba	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	29,36	26,73	**
Galja	0 hpi (Referenz)	NHL10	25,93	22,17	**
Galja	8 hpi (Mock)	NHL10	12,66	12,59	*
Galja	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	4,85	2,45	**
Homozygot	0 hpi (Referenz)	NHL10	23,27	5,32	****
Homozygot	8 hpi (Mock)	NHL10	5,64	3,91	*
Homozygot	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	3,02	0,79	**
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	NHL10	9,36	4,28	****
Kunbarat	8 hpi (Mock)	NHL10	7,27	2,81	****
Kunbarat	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	4,61	1,94	***
Kunleany	0 hpi (Referenz)	NHL10	14,57	5,34	****
Michurinets	0 hpi (Referenz)	NHL10	19,61	13,99	**
Michurinets	8 hpi (Mock)	NHL10	9,47	6,30	**
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	NHL10	110,51	60,22	****
Olimpijec	8 hpi (Mock)	NHL10	16,04	7,87	****
Olimpijec	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	22,14	10,80	****
Regent	0 hpi (Referenz)	NHL10	92,63	80,62	**

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
Regent	8 hpi (Mock)	NHL10	7,06	0,26	****
Regent	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	5,46	3,23	**
Rondo	0 hpi (Referenz)	NHL10	21,40	15,61	**
Rondo	8 hpi (Mock)	NHL10	14,45	12,99	*
Rondo	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	3,75	1,69	**
Severnyi	0 hpi (Referenz)	NHL10	25,15	23,37	**
Severnyi	8 hpi (Mock)	NHL10	2,77	0,65	**
Solaris	0 hpi (Referenz)	NHL10	32,41	26,08	**
Solaris	8 hpi (Mock)	NHL10	30,54	19,20	***
Solaris	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	11,03	7,64	**
347	8 hpi (Plasmopara)	PAL	8,73	6,45	**
316	8 hpi (Mock)	PDF1.2	2,26	0,28	*
Michurinets	0 hpi (Referenz)	PDF1.2	2,65	0,35	****
310	0 hpi (Referenz)	PR1	6,86	6,44	*
310	8 hpi (Mock)	PR1	6,44	1,95	****
310	8 hpi (Plasmopara)	PR1	11,28	6,24	***
347	8 hpi (Plasmopara)	PR1	7,33	2,52	****
Galja	0 hpi (Referenz)	PR1	7,74	6,94	*
Galja	8 hpi (Mock)	PR1	5,93	3,15	**
Galja	8 hpi (Plasmopara)	PR1	10,54	2,65	****
Gf.Ga-52-42	8 hpi (Mock)	PR1	11,09	1,25	****
Gf.Ga-52-42	8 hpi (Plasmopara)	PR1	5,74	4,21	*
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	PR1	2,65	0,44	***
Kunbarat	8 hpi (Mock)	PR1	19,49	4,74	****
Kunbarat	8 hpi (Plasmopara)	PR1	11,38	2,14	****
Kunleany	8 hpi (Mock)	PR1	12,48	6,87	***
Olimpijec	8 hpi (Mock)	PR1	3,77	2,25	*
Olimpijec	8 hpi (Plasmopara)	PR1	5,81	2,41	***
Regent	0 hpi (Referenz)	PR1	9,69	3,27	****
Regent	8 hpi (Mock)	PR1	34,45	1,66	****
Regent	8 hpi (Plasmopara)	PR1	26,41	25,54	*
Rondo	8 hpi (Mock)	PR1	5,26	4,14	*
Rondo	8 hpi (Plasmopara)	PR1	3,01	0,14	****
Solaris	8 hpi (Mock)	PR1	11,57	8,33	**
Solaris	8 hpi (Plasmopara)	PR1	29,71	10,13	****
347	8 hpi (Plasmopara)	PR10	7,62	6,27	*
310	8 hpi (Mock)	PR2	30,73	4,17	****
310	8 hpi (Plasmopara)	PR2	29,49	5,24	****
316	8 hpi (Mock)	PR2	8,85	5,83	**
316	8 hpi (Plasmopara)	PR2	6,79	0,73	****
347	8 hpi (Mock)	PR2	14,82	7,21	****
347	8 hpi (Plasmopara)	PR2	71,38	58,90	**
AgatDonskoi	8 hpi (Mock)	PR2	36,70	16,92	****

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
AgatDonskoi	8 hpi (Plasmopara)	PR2	53,14	29,12	****
Droujba	8 hpi (Mock)	PR2	16,80	1,38	****
Droujba	8 hpi (Plasmopara)	PR2	11,46	6,84	***
Galja	8 hpi (Mock)	PR2	24,47	17,01	**
Galja	8 hpi (Plasmopara)	PR2	17,07	5,48	****
Gf.Ga-52-42	8 hpi (Mock)	PR2	32,08	23,45	**
Gf.Ga-52-42	8 hpi (Plasmopara)	PR2	17,93	3,13	****
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	PR2	3,99	0,51	****
Kunbarat	8 hpi (Mock)	PR2	32,98	7,83	****
Kunbarat	8 hpi (Plasmopara)	PR2	30,14	13,56	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	PR2	8,85	7,28	*
Kunleany	8 hpi (Mock)	PR2	24,94	17,89	**
Kunleany	8 hpi (Plasmopara)	PR2	15,66	7,42	****
Michurinets	8 hpi (Mock)	PR2	10,26	0,93	****
Michurinets	8 hpi (Plasmopara)	PR2	5,65	2,71	***
Olimpijec	8 hpi (Mock)	PR2	6,41	2,48	****
Olimpijec	8 hpi (Plasmopara)	PR2	8,40	1,27	****
Regent	8 hpi (Mock)	PR2	11,24	0,62	****
Regent	8 hpi (Plasmopara)	PR2	15,70	4,23	****
Rondo	8 hpi (Mock)	PR2	9,84	4,61	****
Severnyi	8 hpi (Plasmopara)	PR2	6,86	1,55	****
Solaris	8 hpi (Mock)	PR2	27,14	2,81	****
Solaris	8 hpi (Plasmopara)	PR2	32,30	1,60	****
Regent	8 hpi (Mock)	PR5	2,62	0,13	****
Solaris	8 hpi (Mock)	PR5	4,75	2,07	***
Galja	0 hpi (Referenz)	PTI4	2,47	0,18	****

Die Normalisierung erfolgte mit dem nicht infizierten Proben jedes Genotyps (8 hpi)

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
Michurinets	0 hpi (Referenz)	Actin	4,30	2,80	*
310	0 hpi (Referenz)	CZF1 ZFAR1	4,40	1,40	****
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	CZF1 ZFAR1	4,86	1,14	****
Regent	0 hpi (Referenz)	EDS1	2,78	0,70	**
Severnyi	0 hpi (Referenz)	EDS1	4,09	2,25	*
310	0 hpi (Referenz)	ERF5	3,47	0,33	****
347	0 hpi (Referenz)	ERF5	15,39	13,80	*
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	ERF5	3,23	1,31	*
Galja	0 hpi (Referenz)	ERF5	13,63	7,45	***
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	ERF5	7,79	1,34	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	ERF5	9,06	4,41	***
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	ERF5	3,98	0,51	****

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
Rondo	0 hpi (Referenz)	ERF5	7,55	1,94	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	ERF5	6,76	4,17	**
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR1	2,43	0,40	**
Severnyi	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR1	3,21	0,56	****
347	8 hpi (Plasmopara)	Ankyrin1	4,11	0,18	****
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	Ankyrin1	7,89	5,84	**
Regent	0 hpi (Referenz)	Ankyrin1	3,08	0,31	****
310	0 hpi (Referenz)	Ankyrin2	6,09	3,38	**
Kunleany	0 hpi (Referenz)	Ankyrin2	3,09	0,50	****
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	Ankyrin2	2,34	0,23	***
Droujba	0 hpi (Referenz)	DREB3	3,45	0,83	****
Galja	0 hpi (Referenz)	DREB3	7,93	6,54	*
Severnyi	0 hpi (Referenz)	DREB3	2,64	0,64	**
Galja	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR2	4,04	2,39	*
Homozygot	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR2	2,15	0,09	****
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR2	2,73	0,07	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	NBS-LRR2	3,04	1,00	**
Droujba	0 hpi (Referenz)	GAPDH	3,45	0,54	****
Galja	0 hpi (Referenz)	GAPDH	5,89	1,17	****
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	GAPDH	2,84	0,86	*
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	GAPDH	2,84	0,58	***
Kunleany	0 hpi (Referenz)	GAPDH	3,21	0,32	****
Regent	0 hpi (Referenz)	GAPDH	2,71	0,13	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	GAPDH	3,08	0,80	***
Solaris	0 hpi (Referenz)	GAPDH	2,61	0,42	***
310	0 hpi (Referenz)	JAZ	4,01	1,17	****
316	0 hpi (Referenz)	JAZ	6,78	1,26	****
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	JAZ	4,04	0,31	****
Galja	0 hpi (Referenz)	JAZ	10,65	8,54	**
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	JAZ	2,87	0,53	****
Homozygot	0 hpi (Referenz)	JAZ	10,46	7,74	**
Kunleany	0 hpi (Referenz)	JAZ	5,03	0,48	****
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	JAZ	10,11	8,61	*
Severnyi	0 hpi (Referenz)	JAZ	19,10	16,31	**
Severnyi	8 hpi (Plasmopara)	JAZ	7,50	5,24	**
Solaris	0 hpi (Referenz)	JAZ	5,42	2,42	***
310	0 hpi (Referenz)	MAP3K	2,55	0,34	***
Droujba	0 hpi (Referenz)	MAP3K	5,01	2,86	**
Galja	0 hpi (Referenz)	MAP3K	18,00	18,48	*
Homozygot	0 hpi (Referenz)	MAP3K	3,94	1,53	**
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	MAP3K	2,97	0,28	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	MAP3K	8,44	7,52	*
Michurinets	0 hpi (Referenz)	MAP3K	11,06	10,95	*
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	MAP3K	5,06	0,40	****

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
Olimpijec	8 hpi (Plasmopara)	MAP3K	5,59	2,91	**
Severnyi	0 hpi (Referenz)	MAP3K	5,54	0,68	****
347	8 hpi (Plasmopara)	Myb	4,81	2,47	**
Regent	0 hpi (Referenz)	Myb	7,84	5,11	**
316	0 hpi (Referenz)	Myc2	2,42	0,29	***
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	Myc2	2,72	0,30	****
310	0 hpi (Referenz)	NDR1	5,61	1,61	****
316	0 hpi (Referenz)	NDR1	3,61	1,80	*
347	0 hpi (Referenz)	NDR1	2,74	0,13	****
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	NDR1	6,25	0,99	****
Droujba	0 hpi (Referenz)	NDR1	4,10	0,80	****
Galja	0 hpi (Referenz)	NDR1	8,98	3,01	****
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	NDR1	3,50	0,49	****
Homozygot	0 hpi (Referenz)	NDR1	3,74	0,89	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	NDR1	2,32	0,36	*
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	NDR1	2,37	0,46	*
Regent	0 hpi (Referenz)	NDR1	3,73	0,68	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	NDR1	8,65	4,88	***
Solaris	0 hpi (Referenz)	NDR1	3,92	0,69	****
310	0 hpi (Referenz)	NHL10	3,69	1,01	****
316	0 hpi (Referenz)	NHL10	3,97	1,44	***
347	0 hpi (Referenz)	NHL10	4,40	3,05	*
347	8 hpi (Plasmopara)	NHL10	5,04	3,47	*
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	NHL10	7,15	1,41	****
Galja	0 hpi (Referenz)	NHL10	3,63	1,86	*
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	NHL10	4,95	3,48	*
Homozygot	0 hpi (Referenz)	NHL10	6,06	3,22	**
Kunleany	0 hpi (Referenz)	NHL10	9,09	7,73	*
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	NHL10	10,74	9,02	*
Regent	0 hpi (Referenz)	NHL10	14,87	9,56	***
Severnyi	0 hpi (Referenz)	NHL10	11,80	10,57	*
Severnyi	0 hpi (Referenz)	NPR1	3,24	1,54	*
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	NPR3.1	2,89	0,70	**
Severnyi	0 hpi (Referenz)	NPR3.1	3,93	0,75	****
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	NPR3.2	3,19	1,31	*
Severnyi	0 hpi (Referenz)	NPR3.2	3,39	1,81	*
310	0 hpi (Referenz)	ORA59	5,26	1,49	****
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	ORA59	5,03	2,48	**
Droujba	0 hpi (Referenz)	ORA59	7,36	2,18	****
Galja	0 hpi (Referenz)	ORA59	21,78	19,23	**
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	ORA59	3,57	0,97	***
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	ORA59	3,50	1,32	**
Regent	0 hpi (Referenz)	ORA59	5,90	0,99	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	ORA59	6,92	3,34	***

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
Solaris	8 hpi (Plasmopara)	ORA59	6,44	2,41	****
310	0 hpi (Referenz)	PAD4	3,45	0,22	****
Galja	0 hpi (Referenz)	PAD4	8,69	7,66	*
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	PAD4	3,01	0,66	***
Michurinets	0 hpi (Referenz)	PAD4	2,55	0,65	*
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	PAD4	3,81	1,50	**
Severnyi	0 hpi (Referenz)	PAD4	5,69	3,88	*
347	8 hpi (Plasmopara)	PAL	13,89	10,95	**
Regent	0 hpi (Referenz)	PAL	2,93	0,42	****
Michurinets	0 hpi (Referenz)	PDF1.2	2,87	0,82	**
Severnyi	0 hpi (Referenz)	PDF1.2	5,12	2,72	**
347	8 hpi (Plasmopara)	PR1	3,71	1,40	**
Homozygot	0 hpi (Referenz)	PR1	4,07	0,33	****
Severnyi	8 hpi (Plasmopara)	PR1	9,01	7,96	*
347	8 hpi (Plasmopara)	PR10	8,25	7,49	*
347	8 hpi (Plasmopara)	PR2	3,94	2,07	*
Severnyi	8 hpi (Plasmopara)	PR2	5,12	1,80	****
347	8 hpi (Plasmopara)	PR5	4,07	2,43	*
AgatDonskoi	8 hpi (Plasmopara)	PR5	2,85	0,79	**
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	PTI4	8,80	5,37	**
Galja	0 hpi (Referenz)	PTI4	8,61	6,66	**
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	PTI4	2,21	0,21	**
310	0 hpi (Referenz)	SAG101	4,41	2,05	**
347	8 hpi (Plasmopara)	SAG101	2,26	0,19	***
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	SAG101	6,03	0,86	****
Galja	0 hpi (Referenz)	SAG101	12,54	11,06	*
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	SAG101	3,55	1,36	**
Kunleany	0 hpi (Referenz)	SAG101	3,43	0,17	****
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	SAG101	3,64	2,12	*
Regent	0 hpi (Referenz)	SAG101	5,29	1,42	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	SAG101	7,75	5,38	**
Michurinets	0 hpi (Referenz)	SAND	2,68	0,13	****
347	0 hpi (Referenz)	SEBF	3,03	0,77	***
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	SEBF	2,66	0,78	*
Droujba	0 hpi (Referenz)	SEBF	5,12	1,93	***
Galja	0 hpi (Referenz)	SEBF	8,88	5,14	***
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	SEBF	5,28	0,41	****
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	SEBF	7,18	1,52	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	SEBF	6,22	1,87	****
Michurinets	0 hpi (Referenz)	SEBF	5,49	0,30	****
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	SEBF	4,07	1,27	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	SEBF	9,88	4,21	****
Solaris	0 hpi (Referenz)	SEBF	3,39	0,47	****
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	SGT1	2,25	0,16	***

Genotyp	Zeitpunkt (Behandlung)	Primer	Mittelwert	Standardabweichung	Signifikanz
Galja	0 hpi (Referenz)	SGT1	5,78	4,50	*
Kunleany	0 hpi (Referenz)	SGT1	2,53	0,11	****
Regent	0 hpi (Referenz)	SGT1	3,26	0,44	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	SGT1	4,38	1,99	**
Regent	0 hpi (Referenz)	VRP1	3,31	0,87	***
310	0 hpi (Referenz)	VRP2	3,05	0,79	***
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	VRP2	4,05	0,84	****
Galja	0 hpi (Referenz)	VRP2	9,48	6,79	**
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	VRP2	2,32	0,18	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	VRP2	2,18	0,19	*
Regent	0 hpi (Referenz)	VRP2	8,65	5,03	**
Severnyi	0 hpi (Referenz)	VRP2	4,60	1,70	***
Galja	0 hpi (Referenz)	VRP3	5,75	3,89	*
Regent	0 hpi (Referenz)	VRP3	9,04	3,19	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	VRP3	2,51	0,63	*
310	0 hpi (Referenz)	Why1	4,92	2,95	**
347	0 hpi (Referenz)	Why1	6,23	0,38	****
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	Why1	5,00	0,33	****
Droujba	0 hpi (Referenz)	Why1	9,63	4,68	****
Galja	0 hpi (Referenz)	Why1	26,42	18,03	***
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	Why1	9,56	1,67	****
Kunbarat	0 hpi (Referenz)	Why1	12,82	1,04	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	Why1	12,68	6,95	***
Michurinets	0 hpi (Referenz)	Why1	9,61	1,07	****
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	Why1	5,22	1,63	****
Regent	0 hpi (Referenz)	Why1	3,15	0,40	****
Severnyi	0 hpi (Referenz)	Why1	15,04	5,34	****
Solaris	0 hpi (Referenz)	Why1	6,27	0,51	****
Kunleany	8 hpi (Plasmopara)	WRKY57	2,99	0,60	****
Michurinets	0 hpi (Referenz)	WRKY57	12,58	8,74	**
310	0 hpi (Referenz)	WRKY33	3,39	1,29	**
347	8 hpi (Plasmopara)	WRKY33	2,30	0,27	**
AgatDonskoi	0 hpi (Referenz)	WRKY33	4,87	2,93	*
Gf.Ga-52-42	0 hpi (Referenz)	WRKY33	4,16	0,30	****
Kunleany	0 hpi (Referenz)	WRKY33	3,89	0,27	****
Olimpijec	0 hpi (Referenz)	WRKY33	2,95	0,61	***
Regent	0 hpi (Referenz)	WRKY33	5,89	3,45	**
Severnyi	0 hpi (Referenz)	WRKY33	3,96	2,38	*

Danksagung

Ich danke allen, die mir geholfen haben diese Arbeit fertigzustellen:

- Apl. Prof. Dr. Eva Zyprian für die Betreuung des Projekts und der Promotion, der Unterstützung bei allen Fragen und der hilfreichen Korrektur der Arbeit
- Dr. habil Reinhard Töpfer für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof
- Patrick Merz und Prof. Dr. Jochen Bogs für die gute Zusammenarbeit im Projekt
- Dr. Iris Fechter, Dr. Friederike Rex und Dr. Florian Schwander für fruchtbare Diskussionen, gute Zusammenarbeit und stete Hilfsbereitschaft
- Fr. Margit Schneider, Fr. Heike Bennek und Fr. Charlotte Gleich für die gute Unterstützung bei den praktischen Arbeiten
- Allen Mitarbeitern/innen im Labor für die gute Zusammenarbeit und das tolle Arbeitsklima im Labor
- Dem Team der Bibliothek für die Beschaffung der Literatur
- Claudia Welsch für ihre stete Hilfsbereitschaft bei der Materialsuche und – beschaffung
- Ulla Müller für ihre Hilfe bei allen Computerfragen
- Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) für die Finanzierung des Projekts „Pilzabwehr“ (DFG Zy11/8-1)

Ich möchte außerdem meinen Eltern, Dorothea und Ralf Moser, meinen Brüdern Pierre und Rico und meiner Oma Renate für die Unterstützung zur Erstellung dieser Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Oli, der mich immer wieder unterstützt, motiviert und angetrieben hat. Danke schön!

