



Robert Fleischer (Autor)

Analyse der genetischen Variabilität im Tettninger Hopfen mit Hilfe von AFLP-Fingerabdrücken

Robert Fleischer

**Analyse der genetischen Variabilität
im Tettninger Hopfen
mit Hilfe von AFLP-Fingerabdrücken**



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3365>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	i
Abkürzungsverzeichnis	v
Glossar	vi
1 Einleitung	1
2 Material	8
2.1 Chemikalien	8
2.2 Feinchemikalien für die Gewebekultur	9
2.3 Nukleinsäuren	9
2.4 Enzyme	10
2.5 Reaktionssysteme, gebrauchsfertig (Kit's)	10
2.6 Verbrauchsmaterial	12
2.7 Geräte	12
2.8 Fotomaterial	13
2.9 Software	13
2.10 Gewächshausbedarf	14
2.11 Pflanzenmaterial	14
3 Methoden	17
3.1 Probenahme und Materialanzucht	17
3.1.1 Tettninger Material	17
3.1.1.1 Auswahl von Pflanzen für eine repräsentative Stichprobe	17
3.1.1.2 Pflanzenanzucht im Gewächshaus	18
3.1.1.3 Klone aus Straß	20
3.1.2 Probenahme Spalt	20
3.1.3 Pflanzenanzucht in steriler Gewebekultur	20
3.2 DNA-Extraktion	22
3.2.1 DNA-Extraktion aus Blattmaterial	22

3.2.1.1	DNA-Extraktion aus frischem Blattmaterial	22
3.2.1.2	DNA-Extraktion aus gefriergetrocknetem Blattmaterial	23
3.2.2	DNA-Extraktion aus Hopfendolden	23
3.2.3	DNA-Extraktion aus Pellets	23
3.3	Quantifizierung und Qualitätskontrolle der DNA-Extraktionen	24
3.4	Standardtechniken	24
3.4.1	Restriktionsverdau der DNA	24
3.4.2	Agarosegelelektrophorese	24
3.5	AFLP-Analyse (Amplified Fragment Length Polymorphism)	25
3.5.1	Restriktionsverdau und Ligation	25
3.5.2	Präamplifikation	25
3.5.3	Primer-Markierung	26
3.5.4	Selektive Hauptamplifikation	26
3.5.5	Maßnahmen zur Vermeidung von Kontaminationen bei der PCR	27
3.6	Markierung des AFLP-Längenstandards	27
3.7	Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE)	28
3.8	EDV-gestützte Datenanalyse	29
3.9	Bilddokumentation	30
3.10	Kontrollierte Scherung von DNA	30
4	Ergebnisse	31
4.1	Probenahme und Materialanzucht	31
4.1.1	Probenahme und Anzucht der Stecklinge im Gewächshaus	31
4.1.2	Adaptierung eines Kulturmediums für die sterile Gewebekultur von Hopfen	33
4.2	Einfluss der DNA-Extraktions-Methode auf die Quantität und Qualität der DNA	34
4.2.1	Quantität der DNA aus Blattmaterial	34
4.2.2	Quantität der DNA aus Hopfendolden	34
4.2.3	Quantität der DNA aus Pellets	35
4.2.4	Qualität der extrahierten DNAs	35
4.3	Etablierung der AFLP-Technik für Hopfen	37
4.3.1	Optimierung der PCR-Bedingungen für die Hauptamplifikation	38

4.3.2	Bestimmung der optimalen Primerselektivität für Hopfen	38
4.3.3	Differenzierbarkeit von Hopfensorten mittels AFLP	40
4.3.4	Ausgangsmaterial für weitere Untersuchungen	40
4.3.5	Auswirkung verschiedener DNA-Quellen auf die Ausprägung von AFLP- Bandenmustern	42
4.3.5.1	Einfluss unterschiedlicher entwicklungsphysiologischer Stadien .	42
4.3.5.2	Einfluss unterschiedlicher Pflanzenorgane und deren Verarbeitungs- form	42
4.3.5.3	Analyse der Gründe für die Abweichungen der AFLP-Fingerab- drücke aus Pellet-DNA	45
4.4	Bestimmung der genetischen Variabilität innerhalb des Tettninger Hopfen	48
4.4.1	Identifizierung des Klons 'K15-211'	48
4.4.2	Identifizierung von polymorphen Klonen in einer Stichprobe von 279 Tettninger Hopfenpflanzen	48
4.4.3	Identifizierung weiterer polymorpher Pflanzen innerhalb des Klon 15 .	50
4.5	Klassifizierung des Tettninger Materials in Relation zu anderen Hopfen- sorten	53
4.5.1	Grad der Polymorphie	53
4.5.2	Bestimmung der Genetischen Ähnlichkeit	55
5	Diskussion	59
5.1	Wahl der Methode zur Extraktion qualitativ hochwertiger DNA	59
5.1.1	Anpassung der Extraktionsmethode auf große Probenzahlen	60
5.1.2	Anpassung der Extraktionsmethode auf Doldenmaterial	60
5.1.3	Vergleich der DNA-Qualität der Extrakte aus verschiedenen Pflanzen- materialien	61
5.2	Etablierung der AFLP-Technik für Hopfen	62
5.2.1	Wahl der Restriktionsenzyme und Bestimmung der Primerselektivität	62
5.2.2	Differenzierbarkeit von Hopfensorten	63
5.2.3	Einfluss verschiedener DNA-Quellen auf die Ausprägung von AFLP- Bandenmustern	63
5.3	Grad der genetischen Variabilität im Tettninger Hopfen	67

5.4 Vergleich des 'Tettnanger' mit anderen Hopfensorten und Klassifizierung der untersuchten Sorten	69
5.5 Schlussfolgerungen und Ausblick	76
6 Zusammenfassung	79
7 Literatur	82
8 Anhang	92
Anhang 1: Lage der beprobten Hopfengärten im Tettnanger Anbaugebiet	92
Anhang 2: Aufstellung der beprobten Pflanzen der Tettnanger Stichprobe	93
Danksagung	100
<i>Curriculum vitae</i>	102