

**Daniel Dittrich**

# **Proteine im Phloem**

Eine phytopathologische Untersuchung

**Bachelorarbeit**

**BACHELOR + MASTER**  
Publishing

**Dittrich, Daniel: Proteine im Phloem: Eine phytopathologische Untersuchung, Hamburg, Bachelor + Master Publishing 2013**

Originaltitel der Abschlussarbeit: Physiologische Änderungen durch mikrobielle Elicitoren im Phloem höherer Pflanzen: Eine phytopathologische Untersuchung

Buch-ISBN: 978-3-95549-465-0

PDF-eBook-ISBN: 978-3-95549-965-5

Druck/Herstellung: Bachelor + Master Publishing, Hamburg, 2013

Covermotiv: © Kobes - Fotolia.com

Zugl. Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen, Deutschland, Bachelorarbeit, August 2013

**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.

---

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung des Verlages unzulässig und strafbar. Dies gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Bearbeitung in elektronischen Systemen.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Die Informationen in diesem Werk wurden mit Sorgfalt erarbeitet. Dennoch können Fehler nicht vollständig ausgeschlossen werden und die Diplomica Verlag GmbH, die Autoren oder Übersetzer übernehmen keine juristische Verantwortung oder irgendeine Haftung für evtl. verbliebene fehlerhafte Angaben und deren Folgen.

Alle Rechte vorbehalten

© Bachelor + Master Publishing, Imprint der Diplomica Verlag GmbH  
Hermannstal 119k, 22119 Hamburg  
<http://www.diplomica-verlag.de>, Hamburg 2013  
Printed in Germany

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Verzeichnisse.....</b>	<b>3</b>
1.1	Abbildungsverzeichnis .....	3
1.2	Tabellenverzeichnis .....	4
1.3	Abkürzungsverzeichnis .....	5
1.4	Formelverzeichnis .....	6
<b>2</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>9</b>
3.1	Pflanzliche Abwehrmechanismen .....	9
3.1.1	<i>Elicitoren</i> .....	10
3.1.2	<i>Microbe-associated-molecular-patterns (MAMPs)</i> .....	10
3.2	Das Phloem.....	12
3.2.1	<i>Nährstofftransport im Phloem</i> .....	13
3.3	Verschluss der Siebelemente .....	14
3.3.1	<i>P-Proteine in den Siebelementen</i> .....	14
3.3.1.1	Proteine in <i>Cucurbita maxima</i> (PP1 und PP2).....	15
3.3.1.2	Forisome in <i>Vicia faba</i> .....	15
3.3.2	<i>Verschluss der Siebelemente durch Callose</i> .....	16
<b>4</b>	<b>Ziel der Arbeit .....</b>	<b>17</b>
<b>5</b>	<b>Material.....</b>	<b>18</b>
5.1	Pflanzenmaterial .....	18
5.2	Lösungen .....	19
5.2.1	<i>Puffer</i> .....	19
5.2.2	<i>Farbstoffe</i> .....	19
5.2.3	<i>Verbrauchsstoffe</i> .....	19
5.2.4	<i>Microbe-associated-molecular-patterns (MAMPs)</i> .....	19
5.3	SDS-Page (SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese) .....	20
5.4	Geräte .....	21

5.4.1	Mikroskopie .....	21
5.4.2	Software.....	21
5.5	Verbrauchsmittel.....	21
<b>6</b>	<b>Methoden .....</b>	<b>22</b>
6.1	Beobachtung im intakten Gewebe ( <i>in-vivo</i> -Technik).....	22
6.1.1	Aufbereitung der intakten Versuchspflanzen .....	22
6.1.1.1	Forisomreaktion durch einen Brennreiz .....	24
6.1.1.2	Forisomreaktion durch MAMPs.....	24
6.1.1.3	Färbung des Phloems.....	25
6.2	Probenentnahme von <i>Cucurbita maxima</i> .....	26
6.2.1	Eindimensionale SDS-Page.....	27
<b>7</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>29</b>
7.1	Beobachtung des intakten Phloems.....	29
7.1.1	Forisomreaktion nach <i>flg22</i> -Applikation .....	30
7.1.1.1	Untersuchung der Lage im Siebelement in <i>Vicia faba</i> .....	36
7.1.1.2	Fluoreszenzmikroskopie (CFDA).....	42
7.1.2	Forisomreaktion auf Chitin ( <i>N-acetylchitooctase</i> ).....	47
7.1.2.1	Position und Lage der Forisome bei <i>glc8</i> -Applikation .....	47
7.2	Eindimensionale SDS-Page mit Phloemsaft .....	48
<b>8</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>52</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>60</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>64</b>

# **1 Verzeichnisse**

## **1.1 Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1: <i>Vicia faba</i> (links) und <i>Cucurbita maxima</i> (rechts) -Versuchspflanzen im Gewächshaus des IFZ .....	18
Abb. 2: <i>in-vivo</i> -Technik des intakten Phloems.....	23
Abb. 3: Darstellung der <i>in-vivo</i> -Technik bei <i>Vicia faba</i> .....	23
Abb. 4: Brennreiz an <i>Vicia faba</i> .....	24
Abb. 5: Phloemsaftentnahme von <i>Cucurbita maxima</i> .....	27
Abb. 6: Konfokalmikroskopische Aufnahme eines Forisoms in <i>Vicia faba</i> .....	30
Abb. 7: Konfokalmikroskopische Aufnahme einer Forisomreaktion nach flg22-Applikation in <i>Vicia faba</i> .....	31
Abb. 8: Konfokalmikroskopische Aufnahmen einer Forisomreaktion nach flg22-Applikation mit CMEDA/CMFDA.....	32
Abb. 9: Konfokalmikroskopische Aufnahme einer Änderung der Lage nach der Rekondensation durch flg22 in <i>Vicia faba</i> .....	33
Abb. 10: Darstellung der Forisomreaktion in <i>Vicia faba</i> durch flg22.....	34
Abb. 11: Darstellung der Lageänderung der Forisome durch flg22.....	35
Abb. 12: Darstellung der verschiedenen Positionen im Siebelement .....	37
Abb. 13: Positionen der Forisome im Siebelement.....	38
Abb. 14: Darstellung der jeweiligen Kontaktmöglichkeiten der Forisome im Siebelement von <i>Vicia faba</i> .....	39
Abb. 15: Darstellung der Positionen und der jeweiligen Kontaktart der Forisome im Siebelement von <i>Vicia faba</i> .....	40

Abb. 16: Dispersion der Forisome durch flg22-Applikation in <i>Vicia faba</i> .....	41
Abb. 17: CFDA-behandeltes Phloem von <i>Vicia faba</i> .....	43
Abb. 18: Reaktion des mit CFDA gefärbten Phloems nach flg22-Applikation .....	44
Abb. 19: Änderung der Farbintensität von CFDA durch flg22.....	45
Abb. 20: Darstellung der Positionen der Forisome bei glc8-Applikation.....	48
Abb. 21: Coomassie-Blue-Färbung einer eindimensionalen SDS-Page mit Phloemsaft von Kontroll- und gereizten Pflanzen von <i>Cucurbita maxima</i> .....	49
Abb. 22: Darstellung der möglichen Wirkungsweise von Forisomenreaktionen.....	57

## 1.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anzahl der Forisome mit Dispersion durch flg22 .....	34
Tabelle 2: Lageänderung der Forisome durch flg22 .....	36
Tabelle 3 Gemessene Abweichung in % der Farbintensität von PP1/PP2 anhand der SDS-Page .....	50

### 1.3 Abkürzungsverzeichnis

μl	Mikroliter
μM	Mikromolar
Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
AVR-Gene	Avirulenz-Gene
CC	Geleitzellen
CF	Carboxyfluorescein
cm	Zentimeter
EPW	Electropotential Wave
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ET	Ethylen
ETI	Effector-Triggered-Immunity
FLS 2	Flagellin-Sensing-2-Rezeptor
h	Stunde
HR	Hypersensitivitätsreaktion (Hypersensitive Response)
IFZ	Interdisziplinäres Forschungszentrum in Gießen
ISR	Induced Systemic Resistance
JA	Jasmonsäure
kDa	Kilodalton
KLSM	Konfokal Laser Scanner Mikroskop
M	Marker
mA	Milliampere
MAMP	Molecular-associated-molecular-pattern
ml	Milliliter
mM	Millimolar
mW	Milliwatt
nm	Nanometer
PAMP	Pathogen-associated-molecular-pattern
pH	Potentia Hydrogenii
PM	Plasmamembran
PPU	Pore-Plasmodesmos-Units
PR-Protein	Pathogenesis Related-Protein