

Identifizierung und Charakterisierung pflanzlicher Kompatibilitätsfaktoren für die Raps-*Verticillium longisporum*-Interaktion

Dipl.-Biologin Claudia Häder

1. Berichterstatter: Prof. Dr. D. Cai

Die Ausweitung der Rapsanbauflächen und einseitigere Fruchtfolgen führten zur Anreicherung bodenbürtiger Schadpathogene, z.B. des Erregers der krankhaften Abreife in Raps (*Brassica napus*), *Verticillium longisporum* (V1). Das Fehlen geeigneter Gegenmaßnahmen wie Fungizide oder resistente Sorten macht es schwierig, diesen Pilz zu kontrollieren. Es wird angenommen, dass pflanzliche Faktoren bei einer kompatiblen Pflanze-Pilz-Interaktion benötigt werden. Zur Identifizierung solcher Kompatibilitätsfaktoren wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Strategie entwickelt, die einerseits das Wissen der modernen funktionellen Genomforschung mit der molekularen phytopathologischen Forschung in *B. napus* kombiniert und andererseits durch Ausschalten solcher Faktoren die Entstehung einer inkompatiblen Interaktion bzw. einer „rezessiven Resistenz“ in der Pflanze zum Ziel hat. Zuerst wurde ein Faltschachtel-Infektionssystem für *B. napus* und *Arabidopsis thaliana* etabliert. Mittels der V1-spezifischen Primer konnte eine systemische Ausbreitung in allen Geweben infizierter *B. napus*-Pflanzen nachgewiesen werden. Die PCR-Ergebnisse wurden mittels CLSM-Mikroskopie bestätigt. Um diejenigen Gene zu identifizieren, welche in der frühen Phase der Infektion involviert sind, wurden mittels Subtraktiver Suppressiver Hybridisierung (SSH) aus infiziertem *B. napus*-Wurzelmateriale zwei EST-Bibliotheken erstellt. Insgesamt konnten 474 Gene aus der Forward-Bibliothek und 206 aus der Reversen-Bibliothek identifiziert werden. Die Sequenzanalyse und -annotation *in silico* ergab 20 Kandidatengene für putative Kompatibilitätsfaktoren. Davon sind 13 Gene in der frühen Phase der Infektion in den Wurzelgeweben stark herauf-reguliert und 7 herab-reguliert. Die transkriptionellen Veränderungen fanden in der frühen Phase der Infektion bis 5 dpi im Hypokotyl statt. Funktionelle *in silico*-Analysen stellten die Kandidatengene mit der pflanzlichen Abwehr, Stressreaktion, Signaltransduktion, RNA-Prozessierung, Zellwandmodifikation und dem Sekundärmetabolismus in Zusammenhang. Zur funktionellen Charakterisierung der Kandidatengene wurden *A. thaliana* knock-out-Mutanten charakterisiert. Während die Mehrheit der transgenen *A. thaliana*-Mutanten keinen Unterschied in der Anfälligkeit im Vergleich zur Kontrolle zeigte, konnten drei Mutanten identifiziert werden, welche signifikant reduzierte Krankheitssymptome aufwiesen. Bei diesen handelte es sich um die Mutanten von drei Genen: *Zwille/AGO10*, *HVA22c* und *CRT1a*. Die Identifizierung von *Arabidopsis*-Mutanten der Kandidatengene unterstreicht die Arbeitshypothese des Vorhandenseins pflanzlicher Kompatibilitätsfaktoren in der Raps-*Verticillium*-Interaktion. Obwohl die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen derzeit völlig ungeklärt sind, bietet diese Strategie neue Wege für die Züchtung resistenter Rapsorten gegen V1-Infektion und stellt eine wichtige Grundlage zur weiteren Erforschung der molekularen Raps-*Verticillium*-Interaktion dar. Ein Interaktionsmodell zwischen Pflanzen und *V. longisporum* wird postuliert.