

Investigation on the role of miRNAs in regulating plant- *Verticillium longisporum* interactions in oilseed rape (*Brassica napus*) and *Arabidopsis thaliana*

MSc Falk Hubertus Behrens

1. Berichterstatter: Prof. Dr. D. Cai

Intensiver Anbau von Raps hat zu schweren Problemen wie z.B. Krankheiten durch bodenbürtige Pathogene geführt. Der hemibiotrophe pilzliche Schaderreger *Verticillium longisporum* parasitiert an Raps, was dessen Anbau beeinträchtigt. Ein wichtiger Mechanismus, der die Interaktion von Pflanze und Pathogen beeinflusst ist die posttranskriptionelle Genregulation, die durch nicht codierende micro RNAs (miRNAs) bestimmt wird. In dieser Dissertation werden drei Kapitel präsentiert, die auf die Identifikation, Charakterisierung und funktionelle Analyse von miRNAs aus *B. napus* abzielen. Dabei wird im Besonderen die Rolle der rapsspezifischen miR1885 in der Pflanzen-*V. longisporum*-Interaktion herausgestellt.

Kapitel I: Durch small RNA-Sequenzierung konnten 280 konservierte und 365 neue miRNAs identifiziert werden. Zahlreiche neue miRNA-Zielgen-Interaktionen wurden bestätigt, zu denen u. a. neue miRNAs, welche Gene aus dem Glucosinolatmetabolismus unterdrücken, gehören. Durch Syntänie-Analysen konnte eine hohe Konservierung (75.9%) von Raps miRNA Loci sowie miRNA Verlust und Zugewinn identifiziert werden. Diese Ergebnisse bilden eine Plattform zur Identifikation und Charakterisierung von miRNAs mit agronomischer Bedeutung.

Kapitel II: Vergleichende Transkriptomsequenzierung von Kontroll- und *V. longisporum* inokulierten Pflanzen aus Wurzelmaterial der frühen Phase der Infektion lässt eine Schlüsselrolle des Phytohormons Abscisinsäure (ABA) vermuten. Eine generelle Unterdrückung von ABA regulierten Genen konnte durch den Nachweis reduzierter ABA Gehalte und qPCR Analysen bestätigt werden. Die funktionelle Charakterisierung der *nced3* Mutante, die in der ABA Biosynthese beeinträchtigt ist, zeigte phänotypisch eine erhöhte Toleranz dieser Pflanzen gegenüber *V. longisporum*, obwohl sich der Pilz effizienter in diesen Pflanze ausbreiten konnte. Darüber hinaus zeigte diese Mutante, wie auch Rapskeimlinge im Vergleich zu *Arabidopsis*, eine reduzierte Expression des Jasmonsäure-Markergens *PDF1.2*, wohingegen der Salicylsäuremarker *PR1* induziert war. Diese Ergebnisse legen nahe, dass während der frühen Phase der Interaktion die Unterdrückung von ABA die Verbreitung des Pathogens im Wirt unterstützt und Krankheitssymptome reduziert, was phänotypisch die Toleranz gegenüber dem Pathogen erhöht.

Kapitel III: In vorangegangenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass während der Interaktion von Raps und *V. longisporum* miRNAs differenziell exprimiert werden. Während die meisten miRNAs durch die Infektion herunter reguliert waren, zeigte miR1885 eine erhöhte Abundanz. Zwei TIR-Rezeptoren, von denen einer eine TIR-NBS und der andere eine TIR-Struktur aufwies, konnten als hauptsächliche Ziele herausgestellt werden. Die ektopische Expression dieser miRNA führte in *Arabidopsis*, die selbst keine Kopie dieser miRNA besitzen, zur Ausprägung eines analogen Mechanismus wie in Raps. Die funktionelle Charakterisierung dieser Pflanzen zeigte, dass diese eine erhöhte Resistenz gegenüber *V. longisporum* und *S. sclerotiorum* aufweisen. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass miR1885 eine Reduktion der Expression von Salicylsäure assoziierten Genen zur Folge hatte.

Neben einer generell hohen Bedeutung von Raps miRNAs, spielt die miRNA regulierte Anpassung der Hormonsignalwege eine zentrale Rolle in der Raps-*V. longisporum*-Interaktion. Es konnten zwei rapsspezifische Aspekte dieser Pflanzen-Pathogen-Interaktion identifiziert und charakterisiert werden. Die erzielten Ergebnisse bieten neue Möglichkeiten, um Strategien zur Kontrolle dieses Schaderregers zu entwickeln.