

## Zusammenfassung

Das hemi-biotrophe pilzliche Pathogen *Verticillium longisporum* infiziert Raps (*Brassica napus*) und stellt eine reale Bedrohung für dessen Kultivierung dar. Nach Eurostat (2019) war Raps 2017 die wichtigste Ölf Frucht in Deutschland mit 1,3 Mio. ha Anbaufläche. Obwohl es durch Untersuchungen an der Modellpflanze *Arabidopsis* bereits Fortschritte im Verständnis der Pflanzen-*Verticillium* Interaktion gibt muss weiterhin geforscht werden, um die aktuelle landwirtschaftliche Nachfrage hinsichtlich fortschrittlicher Strategien in der Resistenzzüchtung zu bedienen. Konventionelle Ansätze sind limitiert und basieren in erster Linie auf der Verfügbarkeit eines breiten Genpools, um geeignete Genotypen für die Züchtung zu identifizieren um so eine verbesserte Resistenz, z.B. gegen abiotischen Stress oder Pathogene zu erzielen. Um dieses Ziel auch in Kulturpflanzen mit sehr engem Genpool wie beim Raps zu erreichen, müssen neue Strategien entwickelt werden. Ein Beispiel stellt die Expression pflanzlicher Defensine (PDFs), die für ihre anti-fungale Wirkung bekannt sind. In unserem Labor wurden im Vorfeld Kompatibilitätsfaktoren (KF) in *Arabidopsis* identifiziert, deren Verlust zu einer gesteigerten Ethylen-Antwort und Expression von AtPDF2.2 führte. Es gibt bereits zahlreiche Beispiele, wie die Überexpression solcher PDFs in Modell- und Kulturpflanzen zu einer verbesserten und anhaltenden Resistenz führte. In dieser Arbeit wird in zwei Kapiteln gezeigt, wie die Charakterisierung und Funktionale Analyse der Rolle antifungaler AtPDFs zur Regulierung der *Arabidopsis*-*Verticillium* Interaktion beitragen kann.

**Kapitel I:** Durch GUS Expression unter dem *AtPDF2.2* Promoter konnte gezeigt werden, dass dieses Gen 6 Tage nach Infektion (dpi) in *Arabidopsis* Wurzeln unterdrückt wurde und später auch in Blättern (9 dpi). Diese wurde durch eine Transkript-Analyse bestätigt, welche eine starke Unterdrückung der *AtPDF2.2* Expression und zweier weiterer *Arabidopsis*-Gene der PDF Klasse II zeigte. Transgene Linien zur *AtPDF2.2* Überexpression (*OE-PDF2.2*) und zum Knock-Down (*KD-pdf2.2*) zeigten auch eine erhöhte Expression von AtPDF2.3 und AtPDF2.5 in der Überexpressionslinie, während eine entsprechende Unterdrückung in der Knock-Down Linie zu verzeichnen war. Eine weitere wichtige Beobachtung in der *KD-pdf2.2* Linie war eine verstärkte Jasmonsäure (JA) Antwort, begleitet von einer Hochregulation Ethylen (ET) und Salizylsäure (SA)-abhängiger Gene, ein Effekt der auch in anderen Infektionen mit hemi-biotrophen Pathogenen beobachtet wurde. Daher kann auf Basis der verfügbaren Daten angenommen werden, dass *V. longisporum* während der frühen Phase der Infektion Kompatibilitätsfaktoren des Wirts nutzt, um *AtPDF2.2* zu unterdrücken, um die pflanzliche Abwehr zu umgehen. Damit wird auch die Expression der nahe verwandten Gene AtPDF2.3 und 2.5 unterdrückt, was es dem Pilz ermöglicht einen erfolgreichen Infektionsprozess zu etablieren. Allerdings geht die Unterdrückung dieser drei PDFs mit einer aktivierten JA-Antwort einher und im Nachhinein auch der ET und SA Signalwege um die Abwehrreaktion herbeizuführen. Um die antifungale Wirkung von *AtPDF2.2* zu untersuchen wurde die *OE-PDF2.2* Linie analysiert, welche eine erhöhte Resistenz gegenüber zwei pilzlichen (*V. longisporum* und *Sclerotinia sclerotiorum*) und einem bakteriellen Pathogen (*Pseudomonas syringae*) zeigte. Im Gegensatz dazu zeigte die *KD-pdf2.2* Linie eine höhere Anfälligkeit gegenüber diesen pilzlichen und bakteriellen Pathogenen.

**Kapitel II:** *Verticillium longisporum* induziert im *Arabidopsis* Wildtyp Col-0 die Expression von *AtPDF1.2a* zum Zeitpunkt 6 dpi. Transkript-Studien mit *AtPDF1.2a* Überexpressions (*OE-PDF1.2a*) und Knock-Out (*KO-pdf1.2a*) Linien zeigten, dass *AtPDF1.2a* expression positiv mit anderen PDFs der Klasse I und III korreliert, aber negativ mit AtPDF2.2, 2.3 und 2.5. Die Überexpression von *AtPDF1.2a* hatte keinen Einfluss auf die Expression von JA, ET und SA Marker-Genen, während in *KO-pdf1.2a* Pflanzen eine erhöhte Expression solcher Gene verzeichnet wurde. Möglicherweise fungiert eine schwache Expression von *AtPDF1a* in *KO-pdf1.2a* Pflanzen während der Infektion als konzentrations-spezifisches Signal. Weil aber in *OE-PDF1.2a* Pflanzen keine signifikante Änderung der Expression von JA, ET und SA regulierten Genen verzeichnet werden konnte, ist es wahrscheinlicher, dass unter *V. longisporum* Befall *AtPDF1.2a* mehrere *AtPDF* Gene der Klasse I und III positiv koreguliert, während es die Expression von AtPDF2.2, 2.3 und 2.5 unterdrückt, um so die pflanzliche Abwehrreaktion zu vermitteln. Für *AtPDF1.2a* wurde bereits antifungale Aktivität nachgewiesen, aber seine genaue Rolle in der pflanzlichen Abwehr ist noch ungeklärt. Daher wurden *OE-PDF1.2a* Linien genutzt, welche eine erhöhte Resistenz gegenüber beiden pilzlichen, nicht aber dem biotrophen bakteriellen Pathogen zeigten. *AtPDF1.2a* Expression scheint also nur eine antifungale Wirkung auf *V. longisporum* und *Sclerotinia sclerotiorum* zu haben. Durch eine genauere Charakterisierung der biologischen Funktion der PDFs werden wir ein tieferes Verständnis ihrer Wirkweise erlangen. Dies wird helfen die Pflanze-Pathogen Interaktion besser zu verstehen und dieses Wissen in für neuartige Zuchtansätze zu nutzen.

Zusammenfassend zeigt diese Arbeit wie wichtig pflanzliche PDFs in der *Arabidopsis*-*Verticillium* Interaktion sind.