

Mutations in *FT*-, *TFL1*-, and *FRI* paralogs of rapeseed (*Brassica napus* L.) and their effect on flowering time and heterosis

MSc Yuan Guo 1.

Berichterstatter: Prof. Dr. C. Jung

Der Übergang von der vegetativen zur reproduktiven Entwicklung ist ein wichtiger Entwicklungsschritt im Lebenszyklus einer Blütenpflanze. Die Blüteninduktion ist ein komplexer biologischer Vorgang, der durch mehrere Blühgene gesteuert wird, die auf Umweltreize und endogene Signale reagieren. *Arabidopsis thaliana* ist ein ausgezeichnetes Modellsystem für die Pflanzenfamilie der Brassicaceae. Diese Studie befasst sich mit drei wesentlichen Blühregulatoren aus Raps (*Brassica napus*), einer allopolyploiden Art, die durch natürliche Hybridisierung aus *B. rapa* und *B. oleracea* entstanden ist.

Das Ziel dieser Studie war die Identifizierung und Charakterisierung von *B. napus* Orthologen der *A. thaliana* Blühzeitgene *FT*, *TFL1* und *FRI*. Zuerst durchsuchte ich die NCBI und Brassica Datenbanken, um Paraloge von *FT*, *TFL1* und *FRI* in Raps zu identifizieren. Dann entwarf ich paralog-spezifische Primer für die Suche nach Mutationen in drei Genen (*BnC6FTa/b*, *BnTFL1-2*, *BnaA.FRI.a*) unter Verwendung einer TILLING Mutantenpopulation aus der europäischen Winterrapssorte Express 617. Insgesamt wurden 117 Mutanten identifiziert. Vier *non-sense* und zwanzig *missense* Mutantenlinien (M₃) wurden näher charakterisiert. Homozygote M₃ Linien wurden durch Selbstung von M₂ Pflanzen erzeugt. Sie wurden im Gewächshaus angezogen und sowohl der Blühzeitpunkt als auch Ertragskomponenten analysiert.

BnFT-Paraloge trugen unterschiedlich zur Regulation des Blühzeitpunkts bei. Trotz der Redundanz von Mutationen in einem einzigen Gen führten sowohl *non-sense* als auch *missense* Mutationen im Gen *BnC6FTb* zu einer deutlichen Verzögerung der Blüte, während alle fünf *BnC6FTa* Mutantenlinien zur gleichen Zeit wie die nicht mutierten Eltern blühten. Mutationen innerhalb des *BnTFL1-2*-Paralogs hatten keine großen Auswirkungen auf den Blühzeitpunkt, jedoch auf die Ertragskomponenten. F₁-Hybriden zwischen *BnTFL1-2* Mutanten und nicht mutierten Eltern wiesen eine erhöhte Samenzahl pro Schote und pro Pflanze auf, was darauf hindeutet, dass heterozygote Mutationen in einem *TFL1*-Paralog eine Auswirkung auf die Heterosis in Raps haben könnten. Mutationen innerhalb des *BnaA.FRI.a*-Paralogs zeigten zusätzlich zur Regulation des Blühzeitpunkts pleiotrope Effekte.

Darüber hinaus wurde die Genexpression der mutierten Allele und ihrer nachgeschalteten Gene analysiert. Zu meiner Überraschung hatten eine *splice site* Mutation von *BnC6FTb* und sogar eine *missense* Mutation von *BnaA.FRI.a* einen Einfluss auf die Transkriptionsaktivitäten der zwei nachgeschalteten Blühregulatoren *BnSOC1* und *BnAPI* trotz des Vorhandenseins mehrerer Paraloge. Des Weiteren wurde die Expression von drei *BnFLC* Paralogen durch eine *missense* Mutation in einem einzigen *BnFRI* Paralog verändert. Dies zeigt, dass vielfältige Wechselwirkungen zwischen *BnFRI* und *BnFLC* Paralogen in einer allopolyploiden Art bestehen.

Diese Studie entschlüsselte die Funktion verschiedener *FT*-, *TFL1*- und *FRI*-Paraloge in *B. napus*. Sie lieferte Pflanzenmaterial mit neuen mutierten Allelen, das eine wertvolle Ressource darstellen kann, um die genetische Basis der Rapszüchtung zu erweitern. Darüber hinaus verweist sie auf eine mögliche Rolle von *BnTFL1* Mutationen bei der Heterosis.

Summary

The transition from vegetative to reproductive development is a key developmental step in the life cycle of a flowering plant. Floral transition is a complex biological process, which is controlled by multiple flowering genes that respond to environmental cues and endogenous signals. *Arabidopsis thaliana* is an excellent model system for the Brassicaceae plant family. This study deals with three major flowering time regulators from oilseed rape (*Brassica napus*), an allopolyploid species which originated from natural hybridization between *B. rapa* and *B. oleracea*.

The aim of this study was to identify and characterize *B. napus* orthologs of the *A. thaliana* flowering time genes *FT*, *TFL1* and *FRI*. First, I searched the NCBI and Brassica databases to identify paralogs of *FT*, *TFL1* and *FRI* in rapeseed. Then, I designed paralog specific primers to search for mutations in three genes (*BnC6FTa/b*, *BnTFL1-2*, *BnaA.FRI.a*) using a TILLING mutant population of the European winter type oilseed rape Express 617. Altogether, 117 mutants were identified. Four non-sense and twenty missense mutant lines (M₃) were further characterized. Homozygous M₃ lines were produced by selfing M₂ plants. They were grown in the greenhouse and their flowering time as well as yield components were analysed.

BnFT paralogs contributed differently to flowering time regulation. Despite the redundancy of mutations in a single gene, either nonsense or missense mutations in the *BnC6FTb* gene resulted in a marked flowering delay, whereas all five *BnC6FTa* mutant lines started flowering as the non-mutated parent. Mutations within the *BnTFL1-2* paralog had no large effects on flowering time but on yield components. F₁ hybrids between *BnTFL1-2* mutants and non-mutated parents had increased seed numbers per pod and total seeds per plant suggesting that heterozygous mutations in a *TFL1* paralog may impact heterosis in rapeseed. Mutations within the *BnaA.FRI.a* paralog showed pleiotropic effects beyond the regulation of flowering time.

Moreover, the expression of the mutant alleles and their downstream genes were analysed. To my surprise, a splice site mutation of *BnC6FTb*, and even a missense mutation of *BnaA.FRI.a* had an effect on the transcriptional activities of two downstream flowering time regulators, *BnSOC1* and *BnAPI* despite the presence of multiple paralogs. Moreover, the expression of three *BnFLC* paralogs was altered due to a missense mutation in a single *BnFRI* paralog. This demonstrates multiple interactions between *BnFRI* and *BnFLC* paralogs in an allopolyploid species.

This study unraveled the function of different *FT*, *TFL1* and *FRI* paralogs in *B. napus*. It provides plant material with new mutant alleles that may constitute a valuable resource to broaden the genetic basis of rapeseed breeding. Furthermore, it indicates a possible role of *BnTFL1* mutations in heterosis.