

Genomics of *in vitro* dauer juvenile recovery of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* in monoxenic liquid culture with its symbiotic bacterium *Photorhabdus laumondii*

vorgelegt von

M.Sc. Zhen Wang

Der entomopathogene Nematode *Heterorhabditis bacteriophora* wird im Pflanzenschutz gegen Schadinsekten eingesetzt. Die Produkte enthalten sogenannte Dauerlarven (DL), ein drittes, langlebiges Juvenilstadium, das freilebend im Boden vorkommt und symbiotische Bakterien (*Photorhabdus* sp.) im Darm trägt. Die DL infizieren Insekten, verlassen das DL-Stadium und entwickeln sich zu reproduzierenden Hermaphroditen. Die Hämolymphe der Insekten enthält Signale, die die DL dazu veranlassen, sich weiterzuentwickeln, ein Entwicklungsvorgang, der analog zu dem Modellnematoden *Caenorhabditis elegans* als „recovery“ bezeichnet wird. Die kommerzielle Herstellung erfolgt in Flüssigkultur in Bioreaktoren bis zu 100 m³. Dazu werden die symbiotischen Bakterien der Nematoden (*Photorhabdus* sp.) für 24 Std. vorkultiviert und dann die DL inokuliert. Eine schnelle, synchronisierte und hohe DL „recovery“ entscheidet dabei über den Erfolg des Produktionsprozesses. In monoxenischer Flüssigkultur variiert die DL „recovery“ jedoch sehr stark. Ein hoher und homogener DL-Ertrag (> 200.000 DJ·mL⁻¹, weniger als 1 % andere Stadien), wird nur bei optimalem Verlauf der DL „recovery“ erzielt. Das Verständnis der „recovery“ ist daher entscheidend für eine Verbesserung des Massenproduktionsprozesses. Folgende Fragestellungen sollten geklärt werden: i) welche Rolle spielt die genetische Variabilität der Nematoden für die „recovery“, ii) wie stark vererbbar ist der „recovery“ Phänotyp, iii) bei der Interaktion zwischen Nematode und Bakterien, welcher Partner bestimmend ist für eine hohe „recovery“ und iv) können Genmodelle als Kandidaten zur Regulierung der „recovery“ postuliert werden. In Bezug auf die ersten beiden Fragen wurde ein Bioassay basierend auf *Photorhabdus*-Überstand entwickelt und der „recovery“ Phänotyp von mehreren *H. bacteriophora* Wildtypen und über 160 EMS-Mutantenlinien ermittelt. Anschließend wurden über 190 Nukleotidpolymorphismen (SNPs) in den Mutantenlinien genotypisiert, Assoziationsanalysen mit den Phänotypen durchgeführt und eine Auswahl von vier SNPs identifiziert, die mit dem DL „recovery“ Phänotyp stark assoziiert sind. Eine ausführliche geno- und phänotypische Charakterisierung von 14 *Photorhabdus*-Stämmen wurde durchgeführt und deren Einfluss auf die „recovery“ bestimmt. Es wurde festgestellt, dass die Bakterienvariabilität eine untergeordnete Rolle spielt, während die genetische Veranlagung des Nematoden ausschlaggebend bei der Regulierung der „recovery“ ist. Abschließend wurde eine genomweite RNA-seq-Analyse der frühen „recovery“ (0.5 – 6 h nach Inokulation) mit zwei kontrastierenden Phänotypen („recovery“ konstitutive Mutante M31 and „recovery“ defekte Mutante M88) durchgeführt. Die Expression von mehr als 14.000 Genmodellen wurde analysiert, und die Informationen wurden mit funktionalen Datenbanken (Gene Ontology) unter Berücksichtigung von Homologien mit dem Modellnematoden *C. elegans* verglichen. Neun Genmodelle als potenzielle Ziele für zukünftige Studien wurden postuliert.