

Zusammenfassung

WRKY Proteine gehoeren zu einer groeßen Familie pflanzenspezifischer Transkriptionsfaktoren. Sie alle besitzen eine Peptidsequenz, die WRKY-Domaene genannt wird. Diese bindet spezifisch an DNA-Sequenzen mit dem zentralen Motiv TTGAC. Einige der WRKY-Proteine sind an Entwicklungsprozessen beteiligt, aber ihre Hauptaufgabe liegt in der Regulation von Reaktionen der Pflanze auf biotische und abiotische Reize.

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass *Arabidopsis* Pflanzen, die kein funktionierendes *AtWRKY53*-Gen besitzen, das fuer einen WRKY-Transkriptionsfaktor kodiert, unter natuerlichen Bedingungen eine verzoegerte Blattalterung besitzen. Nach Aufenthalt im Dunkeln zeigen sie allerdings eine fruehe Blattalterung. Die erhaltenen Daten lassen eine Beteiligung der Salicylsaeure(SA)-Signalkette in diesem Prozess vermuten. So konnte unter Verwendung einer GUS-Reporter Pflanzenlinie beobachtet werden, daeß waehrend der Blattalterung und nach Behandlung der Pflanzen mit SA die Transkription von *AtWRKY53* aktiviert wurde. Auueßerdem wurde gezeigt, daeß *AtWRKY53*-defiziente Pflanzen eine leichte Beeintraechtigung bei der Schaedlingsabwehr aufweisen, was darauf hinweist, daeß das Gen auch bei der basalen Abwehr eine Rolle spielt. Im Besonderen zeigten die *AtWRKY53*-defizienten Pflanzen eine leicht erhoehrte Empfaenglichkeit gegenueber dem virulenten Bakterien-Pathogen *Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000. Ein aehnliches Verhalten war auch gegenueber dem nekrotrophen Pilz *Botrytis cinerea* zu beobachten. Auueßerdem wurden auf dem *AtWRKY53*-Mutanten die Entwicklung von Nekrosen beobachtet, nachdem sie mit dem Oomyceten *Hyaloperonospora parasitica* Noco2 infiziert worden waren.

Um *in vivo* Zielgene von *AtWRKY53* zu identifizieren, wurde eine sogenannte ChIP-Chip Strategie verwendet. DNA-Proteinkomplexe, die in der lebenden Pflanze durch "Crosslinking" mit Formaldehyd erzeugt wurden, wurden mittels eines Antikoerpers, der gegen die konservierte WRKY-Domaene gerichtet war, immuno-praezipitiert (ChIP; durchgefuehrt in Zusammenarbeit mit V. Colot, URGV, Genopole, Evry). Die angereicherte genomische DNA wurde anschlieeßend gereinigt und fuer eine Hybridisation gegen einen DNA-Chip, der das Chromosom 4 von *Arabidopsis* abdeckte, eingesetzt. Diese Vorgehensweise erlaubte die Identifikation von potentiellen Zielgenen von WRKY-Proteinen, von denen manche durch die Verwendung eines *AtWRKY53*-spezifischen Antikoerpers mittels ChIP gekoppelt mit quantitativer PCR bestaetigt wurden.

Summary

WRKY proteins belong to a major family of Zn finger-type plant transcription factors. They share a peptide region called the WRKY domain, which specially binds to DNA elements with a TTGAC core motif. On the one hand they are involved in developmental processes but their major functions appear to be associated with regulating plants responses towards abiotic and biotic stresses.

In this work, it was shown that *Arabidopsis* plants lacking a functional *AtWRKY53* gene, coding for a WRKY-type transcription factor, displayed a delayed leaf senescence phenotype under natural condition, but an early leaf senescence phenotype under dark-induced conditions. The data suggest a role of the salicylic acid (SA) signalling pathway in this process. Activation of *AtWRKY53* transcription was observed during senescence and upon SA treatment of plants using a GUS reporter line. In parallel, it was also demonstrated that *Arabidopsis* plants lacking a functional *AtWRKY53* gene were also weakly impaired with respect defense responses, indicating a role in basal defense. Specifically, *AtWRKY53-KO* mutant plants showed a weak enhanced disease susceptibility towards the virulent bacterial pathogen *Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000. Such a phenotype was also observed with the necrotroph *Botrytis cinerea*. In addition, the development of necrotic spots was seen on these mutant plants challenged with the oomycete *Hyaloperonospora parasitica* Noco2.

In order to define *in vivo* target genes of *AtWRKY53* a ChIP-chip strategy was used. *In vivo* crosslinked DNA–protein complexes were immunoprecipitated using an antibody raised against part of the conserved WRKY domain of the family (ChIP; performed in collaboration with V. Colot, URGV, Genopole, Evry). The enriched genomic DNA subsequently purified and then used for hybridization to a Chromosome 4 genomic array. This procedure allowed the identification of potential targets, some of which could be verified using an anti-*AtWRKY53* specific antibody for ChIP-qPCR.