

Zusammenfassung

In meiner Doktorarbeit habe ich die natürliche Variation der Trichommusterbildung, der Schleimhülle des Samens, sowie der Proanthocyanidin Biosynthese untersucht. Diese drei Merkmale werden in drei unabhängigen Kapiteln beschrieben.

Um diese drei unterschiedlichen Merkmale präzise zu beschreiben habe ich neue Methoden optimiert und entwickelt. In Zusammenarbeit mit Henrik Failmetzger (AG Tresch) haben wir die Software TrichEratops entwickelt, welche die genaue Phänotypisierung der frühen Musterbildungsereignisse ermöglicht. Wir verwendeten bereits beschriebene Musterbildungsmutanten als Referenz in einem Kandidatengen-Ansatz um Ökotypen in unserer Zusammenstellung zu finden, die wahrscheinlich in diesem Prozess beeinträchtigt sind. Ich habe vier Parameter definiert die die unterschiedlichen Schritte beschreiben, welche zur Trichomdichte auf einen reifen Blatt führen.

Der erste Parameter ist die prozentuale Initiation während der juvenilen Phase, welche die frühe Bildung von Trichomen reflektiert. Interkalation repräsentiert die initiierten Trichome, die später während der Blattentwicklung auftreten. ARTIS, die Fläche per Trichom-Initiations-Stelle, wurde definiert, um die Beziehung zwischen der Zunahme der Trichomanzahl und dem Blattwachstum zu erfassen. Der vierte Parameter ist die Dichte der Trichome auf dem reifen Blatt. Die frühere Entdeckung, die zeigte, dass *Ler* eine *MYC1* Mutante ist, konnte weiter bestätigt werden und ich fand heraus, dass der Ökotyp ICE50 wahrscheinlich eine *ETC2* Mutante ist.

Ich habe eine neue Methode entwickelt, welche auf einer Rutheniumrot Färbung basiert und die innere und äußere Schleimhülle des Samens quantifizierbar macht. Um die Rolle dieser Schleimhülle zu verstehen, wurde ein Keimungsversuch durchgeführt, allerdings konnte keine Korrelation zwischen diesen beiden Prozessen festgestellt werden. Ich konnte mehrere neue Phänotypen beschreiben und eine Kartierung durch Sequenzierung wurde initiiert, um die Gene zu finden, die im Ökotypen betroffen sind.

Die Vorgehensweise der Proanthocyanidin- und Flavonoidextraktion aus *A. thaliana* Samen wurde optimiert. Wir verwendeten 13 externe und zwei interne Standards in HPLC-MS Analysen, um die verschiedenen Schritte der Flavonoidbiosynthese zu

untersuchen. Wir definierten drei Fraktionen um lösliche und unlösliche Proanthocyanidinkomplexe zu erfassen. Wir konnten zeigen, dass sogar die Verwendung von einem einzelnen Samen ausreichend war, um die Hauptflavonoide zu detektieren

Um neue Gene zu finden, die in der natürlichen Variation dieser verschiedenen Merkmale involviert sind, habe ich eine genomweite Assoziationsanalyse und andere Sequenzanalysen wie Kopplungsungleichgewicht verwendet. Ich konnte zeigen, dass durch die Verwendung von natürlicher Variation putative Protein-Protein Interaktionen gefunden werden können.

Abstract

In my PhD thesis I analyzed the natural variation of trichome patterning, seed coat mucilage and proanthocyanidin production. These three traits are linked to each other via their regulations by the TTG1 gene regulatory network. These three traits are presented as three independent chapters.

In order to precisely describe the three different traits, I optimized and developed new methods. In collaboration with Henrik Failmetzger (AG Tresch) we developed TrichEratops, a software that allows an accurate phenotyping of the early patterning events. We used the described patterning mutants as reference in a candidate gene approach to find accessions, within our set, likely to be affected in this process. I defined four parameters describing the different steps leading to the trichome density of mature leaf.

The first parameter is the percentage of initiation of the juvenile stage reflecting the early formation of trichomes. Intercalation represents the initiating trichomes appearing later in the leaf development. ARTIS, or area per trichome initiation site, has been defined to capture the relation between the increase of trichome number and the growth of the leaf. The fourth parameter is the density of trichomes of the mature leaf. The previous finding showing *Ler* as a *MYC1* mutant could be further confirmed and I found the accession ICE50 to be likely an *ETC2* mutant.

I developed a new method based on ruthenium red staining to quantify the inner and the outer mucilage. To access the role of mucilage, a germination assay has been performed, but no correlation could be found between those two processes. I could describe several new phenotypes and a mapping by sequencing approach has been initiated to find the genes affected in the accession.

The procedure of the extraction of proanthocyanidin and flavonoids from *A. thaliana* seeds has been optimized. Using HPLC-MS, we used 13 external and two internal standards to analyze the different steps of the flavonoid pathways. We defined three fractions to capture the different soluble and insoluble complex PAs. We could show that even using one single seed several of the core flavonoids can be detected.

To find new genes involved in the natural variation of these different traits, I used a genome wide association analysis and other sequences analyses like linkage disequilibrium. I could show that using the natural variation, putative protein-protein interactions can be found.