
Wirt-Parasit-Interaktionen

116 - Hyperspektral-Mikroskopie zur Charakterisierung von Infektionsstrukturen von Phytopathogenen

Non-invasive characterization of spectral dynamics of fungal diseases in wheat: preparation of a spectral library

David Bohnenkamp, Ulrike Steiner, Erich-Christian Oerke

Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz

Hyperspektral-Mikroskopie ist ein neuartiges Verfahren zur Untersuchung von Infektionsstrukturen von phytopathogenen Organismen auf und im Wirtspflanzengewebe. Bei bis zu 1000-facher Vergrößerung konnten zelluläre Bestandteile anhand ihrer Reflexionseigenschaften im Bereich 400 bis 1000 nm in vivo morphologisch analysiert und biochemisch charakterisiert werden. Die hohe räumliche Auflösung ermöglichte z. B. die Differenzierung der Zellwandzusammensetzung von Konidie, Keimschlauch und Appressorium. Das Verfahren eröffnet neben der Analyse von Wirt-Pathogen-Interaktionen auch Möglichkeiten zur Wirkung von Pflanzenschutzmitteln auf Infektionsstrukturen.

117 - Regulierung von Gersten RAC/ROPs durch Guaninnukleotid-Austauschfaktoren in der Interaktion zwischen Gerste und dem Echten Gersten-Mehltaupilz *Blumeria graminis f.sp. hordei*

*Regulation of barley RAC/ROPs by guanine nucleotide exchange factors in the interaction of barley with the powdery mildew fungus *Blumeria graminis f.sp. hordei**

Adriana Trutzenberg, Stefan Engelhardt, Ralph Hückelhoven

Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Lehrstuhl für Phytopathologie

Erfolgreiche Strategien für den genetischen Pflanzenschutz greifen oft in Signalwege von Pflanzenzelloberfläche zur Transkriptionsmaschinerie ein. In der Interaktion zwischen Gerste und dem Echten Gersten-Mehltaupilz *Blumeria graminis f.sp. hordei* (*Bgh*) spielen pflanzliche RAC/ROP GTPasen eine zentrale Rolle als molekulare Schalter. Eine Pilzinfektion wird zum Beispiel von der kleinen RAC/ROP GTPase HvRACB begünstigt, da gezeigt wurde, dass eine Gen-Stillegung zu stärkerer Resistenz führt und Überexpression eine erhöhte Anfälligkeit der Gerste gegenüber *Bgh* zur Folge hat [1, 2]. Guaninnukleotid-Austauschfaktoren (GEFs) regulieren die Aktivität von RAC/ROPs, indem sie eine Dissoziation des an der GTPase gebundene GDPs hervorrufen [3]. Dadurch können RAC/ROPs GTP binden und eine Signalkette starten. Die aktivierende Funktion der GEFs macht sie zum einen zu möglichen Regulatoren des Interaktionsausgangs, zum anderen stellen sie eine mögliche Verbindung zum extrazellulären Perzeptionsmechanismus des Pathogens her [4]. Die vorgestellte Arbeit untersucht die Funktion von epidermal exprimierten GEFs in Gerste und deren Rolle in dem von RACB-abhängigen Anfälligkeitsmechanismus. Da die Ausschaltung des Anfälligkeitsfaktors RACB pleiotrope Effekte hervorruft, kann der Eingriff in den Signalweg auf GEF-Ebene einen alternativen Ansatzpunkt für den genetischen Pflanzenschutz darstellen.

Literatur

SCHULTHEISS, H.; DECHERT, C.; KOGEL, K.-H.; HÜCKELHOVEN, R., 2003: Functional analysis of barley RAC/ROP G-protein family members in susceptibility to the powdery mildew fungus. *Plant J.* **36** (5), pp. 589–601.

- KAWANO, Y.; KANEKO-KAWANO, T.; SHIMAMOTO, K., 2014: Rho family GTPase-dependent immunity in plants and animals. *Front. Plant Sci.* **5**, p. 522.
- SCHMIDT, A.; HALL, A., 2002: Guanine nucleotide exchange factors for Rho GTPases: turning on the switch. *Genes Dev.* **16**, 1587-1609.
- AKAMATSU, A.; WONG, H. L.; FUJIWARA, M.; OKUDA, J.; NISHIDE, K.; UNO, K. et al., 2013: An OsCEBiP/OsCERK1-OsRacGEF1-OsRac1 module is an essential early component of chitin-induced rice immunity. *Cell Host Microbe.* **13** (4), pp. 465–476.

118 - Is the regulation of iron homeostasis related to lifestyle transition in the maize pathogenic fungus *Colletotrichum graminicola*?

*Regulation der Eisenhomöostase im hemibiotrophen Maispathogen *Colletotrichum graminicola**

Jessica Heilmann, Holger B. Deising, Anja Raschke

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

In all kingdoms of life iron is an essential microelement. Due to poor solubility of iron in the aerobic biogeosphere and its property to mediate the production of highly damaging reactive oxygen species, a tight regulation of iron homeostasis is essential. Pathogenic fungi employ different strategies for high-affinity iron uptake from the host tissue, e.g. (I) reductive iron assimilation (RIA) and (II) siderophore-mediated Fe³⁺ acquisition (SIA). In saprophytic hyphae of the hemibiotrophic maize pathogen *Colletotrichum graminicola* growth under iron starvation leads to an up-regulation of both pathways, RIA and SIA. However, during the biotrophic stage of the infection RIA is highly active, while SIA is specifically suppressed. At the subsequent necrotrophic stage it is vice versa. In other fungal species (e.g. *Aspergillus* spp.) the tight regulation of the SIA und RIA pathways occurs on the transcriptional level mediated via the two contradictive and iron dependent transcription factors SreA and HapX, respectively. Homologues of these genes were identified in *C. graminicola* as CgSRE1 and CgHAP10. Mutant analyses revealed that these putative transcription factors are required for vegetative growth under conditions of iron limitation and high excess as well as for ROS tolerance. In detail functional characterization during biotrophic and necrotrophic stages will allow understanding iron acquisition and regulation of iron homeostasis during fungal plant infection.

119 - Histologische Untersuchungen zur Pathogenese von *Setosphaeria turcica* in Mais

*Histological studies on the pathogenesis of *Setosphaeria turcica* in Maize*

Barbara Ludwig Navarro¹, Hendrik Hanekamp², Andreas von Tiedemann¹

¹Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz

²Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Bezirkstelle Emsland

Tuicum-Blattdürre, ausgelöst durch das pilzliche Pathogen *Setosphaeria turcica*, verursacht an Mais nekrotische Blattläsionen und hat sich mit der Zunahme der Anbaufläche für Mais in Deutschland ausgebreitet. Möglichkeiten zur Kontrolle der Krankheit bestehen im Einsatz von Fungiziden oder der Nutzung von Resistenz. Die derzeit in Sorten verfügbare Resistenz basiert auf qualitativer Resistenz. Bekannte in Züchtungsprogrammen verwendete Majorgene sind *Ht1*, *Ht2*, *Ht3* und *Htn1*, für die isogene Linien existieren (Welz und Geiger 2000, Galiano und Miedaner 2017). Das Ziel dieser Arbeit ist die vergleichende histologische Untersuchung kompatibler und inkompatibler Interaktionen zwischen

bestimmten Pathogenrassen und isogenen Maislinien. Das Differentialsortiment besteht aus isogenen Maislinien basierend auf der Referenzlinie B37 mit und ohne den Resistenz-Genen *Ht1*, *Ht2*, *Ht3* und *Htn1* und wurde mit jeweils einem inkompatiblen und einem kompatiblen Isolat inokuliert. Die Rassenbestimmungen der Isolate erfolgte in einem vorherigen Screen mit dem gesamten Differentialsortiment. Gesunde und inokulierte Blattsegmente wurden zu fünf verschiedenen Zeitpunkten (1, 3, 6, 12 und 18 dpi) nach der Inokulation geerntet, direkt in AFE fixiert und in 2M Kaliumhydroxid (KOH) entfärbt. Danach erfolgte eine Färbung mit Chlorazol Black E (CBE). Es wurden 40 Penetrationsstellen bonitiert (Hanekamp 2016). *Setosphaeria turcica* bildet Apressorien und kann direkt in das Blatt penetrieren (Knox-Davies 1974). Sowohl in der kompatiblen wie der inkompatiblen Interaktion besiedelt der Pilz das Mesophyll unter der Penetrationsstelle bis zum Xylem. Nach 6 dpi dringen in der kompatiblen Interaktion die Hyphen ins Xylem ein und beginnen dieses systemisch zu durchwachsen. Zu 12 dpi haben die Hyphen vom Xylem aus weitere Bereiche des Mesophylls besiedelt. In der inkompatiblen Interaktion bleibt die Besiedlung des Xylems aus. Offensichtlich kann der Erreger weder in das Xylem eindringen, noch es durchwachsen. In mit Chlorazol Black E gefärbten Proben ist ein dunkler Ring um die Penetrationsstelle zu sehen. Die hier zu vermutende Verdickung der Zellwand und eine Verstopfung des Xylems sind mögliche Resistenzmechanismen der Pflanze bei inkompatibler Interaktion. Für das bessere Verständnis der inkompatiblen Interaktion als Grundlage der qualitativen Resistenz sind noch eingehendere Untersuchungen notwendig.

Literatur

- GALIANO-CARNEIRO, A., MIEDANER, T., 2017: Genetics of resistance and pathogenicity in the Maize/*Setosphaeria turcica* pathosystem and implications for breeding. *Frontiers in Plant Science* 8 (1490), 1-10.
- HANEKAMP H. 2016: Europäisches Rassen-Monitoring und Pathogenesestudien zur Turcicum-Blattdürre (*Exserohilum turcicum*) an Mais (*Zea mays* L.). Dissertation, Georg-August-University Göttingen, Göttingen, Deutschland.
- Knox-davies, P., 1974: Penetration of maize leaves by *Helminthosporium turcicum*. *Phytopathology* 64, 1468–1469.
- WELZ, H.G., GEIGER, H.H., 2000: Genes for resistance to northern corn leaf blight in diverse maize populations. *Plant Breeding* 119, 1-14.

119a - Systematic investigation of the interaction of (novel) *Colletotrichum spec.* from soybean and lupin reveal a differentiated spectrum of susceptibility and resistance, as well as plant growth-promoting effects

Louisa Wirtz¹, Nelson Sidnei Massola Júnior², Renata Rebellato Linhares², Brigitte Ruge-Wehling³, Ulrich Schaffrath¹, Marco Loehrer¹

¹ RWTH Aachen University, Department of Plant Physiology, Germany

²University of São Paulo, ESALQ, Department of Plant Pathology and Nematology, Piracicaba/SP, Brazil

³Julius Kühn-Institut, Institute for Breeding Research on Agricultural Crops, Germany

The protein crop plants soybean and lupine, both belonging to the family of Fabaceae, attract increasing attention because of their use as fodder or green manure and for production of oil and protein for human consumption. While lupine production is already well established in Germany, soybean production is only recently gaining importance in Germany and within the whole EU in frame of national protein strategies and the European greening initiative. The cultivation of lupins is impeded by the hemibiotrophic ascomycete *Colletotrichum lupini*, causing the recent outbreak of anthracnose disease (Talhinhas et al., 2016). Since the known sources of resistance against *C. lupini* in lupine are limited, research must be intensified to provide new breeding material (Fischer et al., 2015). It is well known that soybean is a host for a variety of *Colletotrichum* species which are reported to have a broad host-range and cross-virulence of these pathogens on lupine might cause severe problems in the future. To address this question, we systematically investigated the

interaction of (novel) *Colletotrichum* species isolated from soybean in Brazil (Barbieri et al., 2017) on actual German soybean and lupine plant material and compared this to their interaction with a German field isolate of *C. lupini*. Interestingly, we observed distinct plant growth-promoting effects for some host-pathogen combinations which might open the route to novel approaches in lupine and soybean production.

Literature

- Barbieri MCG, Ciampi-Guillardi M, Moraes SRG, Bonaldo SM, Rogério F, Linhares RR, Massola NS (2017) First Report of *Colletotrichum cliviae* Causing Anthracnose on Soybean in Brazil. *Plant Dis* 101: 1677–1677.
- Fischer K, Dieterich R, Nelson MN, Kamphuis LG, Singh KB, Rotter B, Krezdorn N, Winter P, Wehling P, Ruge-Wehling B (2015) Characterization and mapping of LanrBo: a locus conferring anthracnose resistance in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Theor Appl Genet*. doi: 10.1007/s00122-015-2572-3.
- Talhinhas P, Baroncelli R, Le Floch G (2016) Anthracnose of lupins caused by *Colletotrichum lupini*: A recent disease and a successful worldwide pathogen. *J Plant Pathol* 98: 5–14.

120 - Interaction of roots with resting spores of *Plasmodiophora brassicae*

Interaktion von Wurzeln mit Dauersporen von Plasmodiophora brassicae

Yao Wang¹, Birger Koopmann¹, Petr Karlovsky², Andreas von Tiedemann¹

¹Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz

²Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung für Molekulare Phytopathologie und Mykotoxinforschung

Clubroot, caused by the obligate fungal parasite *Plasmodiophora brassicae* Woronin is one of the most devastating soil-borne diseases of cruciferous crops throughout the world. The major symptom is formation of single or multiple root galls that take a fusiform or irregular shape. Such disease symptoms may lead to a significant drop in yield of cruciferous crops such as oilseed rape and may restrict the cultivation of cruciferous plants in some areas. Spore dormancy and the need for external stimulants form essential factors in the initial relationship between *P. brassicae* and its host. Root exudates of several host and non-host plants can stimulate resting spore germination in laboratory experiments (Rashid et al., 2013). A hydrophobic root exudates trapping system was established in sand culture for continuous trapping of exudates from undisturbed living roots. The system provided sterile growth conditions for the experimental plants in order to exclude any modulations of root exudates by microbes. Hoagland's solution was continuously circulated through the root system and a XAD8 resin column, followed by a XAD4 resin column. Extracellular hydrophobic metabolites were selectively adsorbed by the resin, while inorganic nutrients were recycled to sustain plant growth. Metabolite profiling by HPLC-MS was conducted with root exudates of the host plant oilseed rape and the non-host plants tomato and ryegrass. The effects of root exudates on the germination of resting spores were tested in bioassays. The objective of this study is to identify signaling compounds that trigger dormancy breakage and germination of *P. brassicae* resting spores in the soil in order to develop novel approaches for the integrated sustainable control of this notorious pathogen.

Literature

- RASHID, A., AHMED, H. U., XIAO, Q., HWANG, S. F., STRELKOV, S. E., 2013: Effects of root exudates and pH on *Plasmodiophora brassicae* resting spore germination and infection of canola (*Brassica napus* L.) root hairs. *Crop Protection*. 48(0), 16-23.

121 - *Serendipita indica*, ein Wurzelendophyt als potentieller Antagonist gegen pflanzenparasitäre Nematoden

Serendipita indica, a root endophyte as potential antagonist against plant-parasitic nematodes

Michael Opitz, Siegrid Steinkellner, Krzysztof Wieczorek

Universität für Bodenkultur Wien, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Pflanzenschutz

Der Wurzelendophyt *Serendipita indica* ist ein pilzlicher Vertreter aus der Gruppe der Serendipitaceae. Während dieser Interaktion profitiert die Wirtspflanze von einem erhöhten Wachstum als auch Biomasseproduktion (Peskan-Berghöfer et al., 2004). Es kann angenommen werden, dass ähnlich wie bei arbuskulären Mykorrhiza-Pilzen, *S. indica* als Gegenleistung mit Kohlenhydraten in Form von Einfachzuckern versorgt wird (Schüssler et al., 2006). Um diese Hypothese zu testen, wurde die Genexpression von mehreren Saccharose-Synthase Genen (*AtSUS*) als auch Invertase Genen (*AtINV*) bestimmt. Das erhaltene Genexpressionsprofil stützt die Hypothese, dass *S. indica* bestimmte *AtSUS* und *AtINV* Gene von *A. thaliana* zugunsten einer besseren Kohlenhydratversorgung reguliert. Untersuchungen zu pflanzenwachstumsfördernden Eigenschaften ergaben, dass *AtSUS* und *AtINV* Gene eine durchaus wichtige Rolle in der erfolgreichen Interaktion zwischen Wirt und Wurzelendophyt übernehmen. Im Gegenzug dazu bevorzugten pflanzenparasitäre Nematoden wie *Heterodera schachtii* Kohlenhydrate in Form von Mehrfachzuckern (Cabello et al., 2014). Daher wurden Untersuchungen bezüglich der Wirtsfindung von *H. schachtii* durchgeführt, welche keine Unterschiede zwischen *AtSUS* sowie *AtINV* Mehrfachmutanten mit dem Wildtyp zeigten. Die erhaltenen Ergebnisse könnten eine wichtige Grundlage für die Entwicklung neuer notwendiger Strategien zur Bekämpfung pflanzenparasitärer Nematoden sein, in denen *S. indica* als biologischer Antagonist gegen diese häufig auftretenden Wurzelparasiten Verwendung findet.

Literatur

- CABELLO, S., LORENZ, C., CRESPO, S., CABRERA, J., LUDWIG, R., ESCOBAR, C., HOFMANN, J., 2014: Altered sucrose synthase and invertase expression affects the local and systemic sugar metabolism of nematode-infected *Arabidopsis thaliana* plants. *J Exp Bot.* 65 (1), 201-12.
- PESKAN-BERGHÖFER, T., SHAHOLLARI, B., GIONG, P. H., HEHL, S., MARKERT, C., BLANKE, V., KOST, G., VARMA, A., OELMÜLLER, R., 2004: Association of *Piriformospora indica* with *Arabidopsis thaliana* roots represents a novel system to study beneficial plant-microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmic reticulum and at the plasma membran. *Physiol Plant.* 122 (4), 465-477.
- SCHÜSSLER, A., MARTIN, H., COHEN, D., FITZ, M., WIPF, D., 2006: Characterization of a carbohydrate transporter from symbiotic glomeromycotan fungi. *Nature* 444 (7121), 933-6.

122 - Do apple flower traits change in response to infection with apple proliferation phytoplasma?

Der Einfluss von Candidatus Phytoplasma mali auf die Blütenmerkmale von Apfelbäumen

Doris Maurer^{1,2}, Jürgen Gross², Andreas Jürgens¹, Mascha Bischoff^{1,2}

¹Technische Universität Darmstadt, Plant Chemical Ecology, Department of Biology

²Julius Kühn-Institut, Institute for Plant Protection in Fruit Crops and Viticulture

One of the most severe economic threats to European fruit farming is apple proliferation, a disease caused by the pathogen *Candidatus Phytoplasma mali*. Phytoplasmas are obligate bacterial parasites that colonise the phloem of their host plant. They are transmitted by phloem-feeding insects, mainly by leafhoppers, planthoppers and psyllids. Fruit crop failure and the spectrum of pathological effects of phytoplasma infection on vegetative

traits and fruit development of apple (*Malus domestica*) are well-documented. Symptoms include witches' broom, enlarged stipules and undersized fruits. However, it is unknown whether apple proliferation also influences floral traits.

The flowers of apple trees are self-incompatible, i.e. pollen has to be transferred between flowers of different trees. Thus, apple pollination and successful fruit set depend on pollinating insects. However, pollinators require visual and olfactory cues to locate flowers, thus changes in apple floral traits in response to a phytoplasma infection could influence pollinator behaviour and pollination success.

In this study, we compared a number of different floral traits between infected and healthy apple trees. We collected data from naturally infected apple trees in the field and from potted plants infected via grafting with avirulent (1/93) and virulent (12/93 and 3/6) phytoplasma strains. For the nectar analysis, we included the two model systems *Catharantus roseus* and *Nicotiana tabaccum* infected with 1/93 and 12/93 strains for comparison. Our initial results indicate that the flowering pattern and the flowers of infected apple trees change in response to the presence of *Candidatus* Phytoplasma mali. Moreover, phytoplasma presence in the nectar of some infected plants was confirmed via PCR, hinting at pathogen transit from the phloem through the nectary. Our observations suggest that pollinators may be able to discriminate between flowers of infected and healthy plants, which in turn could influence pollination and fruit set. Follow-up experiments will explore the pollinator behaviour in response to phytoplasma-induced changes in floral phenotype both in the flight cage and in the field.