

---

## Sektion 40

### Wirt-Parasit-Beziehungen

---

#### 40-1 - Der pflanzliche Immunrezeptor LORE – ein potentielles Werkzeug zur Erzeugung bakterienresistenter Kulturpflanzen?

Stefanie Ranf

Technische Universität München, TUM School of Life Sciences, Phytopathologie, ranf@wzw.tum.de

Angeborene Immunität, vermittelt durch die Erkennung sog. Mikroben-assoziiertes Molekülmuster durch spezifische Immunrezeptoren des Wirts, ist essentiell für die Gesundheit von Tieren und Pflanzen. Zellwandbestandteile wie Lipopolysaccharid (LPS), die Hauptkomponente Gram-negativer Bakterienzellwände, sind in direktem Kontakt mit potentiellen Wirten und prädestiniert als Molekülmuster. LPS, besonders der endotoxine Lipid A-Teil, ist einer der stärksten Immunstimulatoren in Säugetieren. LPS löst auch Abwehrreaktionen in Pflanzen aus, die pflanzlichen LPS-Immunrezeptoren konnten jedoch bisher nicht identifiziert werden.

Wir zeigen, dass LPS von verschiedenen *Pseudomonas*- und *Xanthomonas*-Spezies bereits in geringen Mengen typische Abwehrreaktionen in *Arabidopsis thaliana* auslösen. Um die pflanzlichen Mechanismen der LPS-Immunerkenntnis aufzuklären, haben wir in einem genetischen Screen LPS-insensitive Mutanten isoliert. Diese sog. *lore* (LipoOligosaccharide-specific Reduced Elicitation)-Mutanten zeigen keine Abwehrreaktionen nach LPS-Elizitierung und sind dementsprechend hypersuszeptibel gegenüber *Pseudomonas*-Infektionen. Mittels genetischer Kartierung konnte LORE den Lektin-Rezeptorkinasen zugeordnet werden. Transiente Expression von LORE in ansonsten LPS-insensitiven Tabakpflanzen führt dabei zu typischen LPS-induzierten Abwehrreaktionen und beweist die Funktion von LORE als LPS-Immunrezeptor. Ein Interspezies-Transfer von LORE in verwandte Kulturpflanzen wie Tomate und Kartoffel ist somit ein mögliches Werkzeug zur Herstellung bakterienresistenter Kulturpflanzen.

Literatur

Ranf, S., N. Gisch, M. Schäffer, T. Illig, L. Westphal, Y.A. Knirel, P.M. Sánchez-Carballo, U. Zähringer, R. Hückelhoven, J. Lee, and D. Scheel, 2015: A lectin S-domain receptor kinase mediates lipopolysaccharide sensing in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Immunology* 16 (4), 426-433.

#### 40-2 - Der RACB Signalweg in der Interaktion von Gerste und *Blumeria graminis*

*The RACB signaling pathway in the interaction of barley and Blumeria graminis*

Christopher McCollum, Mathias Nottensteiner, Björn Scheler, Carolin Höfle, Ralph Hückelhoven

Technische Universität München, Phytopathologie, mcollum@wzw.tum.de

Der echte Mehltau an Gerste wird durch den biotrophen Pilz *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* verursacht. Zu Beginn seines Lebenszyklus muss der Pilz eine spezielle Struktur zur Nährstoffversorgung, das sogenannte Haustorium, ausbilden. Dafür muss *B. graminis* die pflanzliche Abwehr umgehen und eine epidermale Wirtszelle penetrieren. RACB ist ein kleines monomeres G-Protein der ROP (Rho of Plants) Klasse in Gerste, welches als Anfälligkeitsfaktor in der Gerste-Mehltau-Interaktion wirkt. G-Proteine können zwischen einer aktiven GTP-gebundenen Form und einer inaktiven GDP-gebundenen Form wechseln.

Überexpression von konstitutiv aktiviertem RACB erhöht die Anfälligkeit von Gerste gegenüber *B. graminis*, wohingegen eine posttranskriptionelle Stilllegung von RACB die Anfälligkeit verringert. In unserer Arbeit untersuchen wir sowohl die physiologische Funktion von RACB, als auch den Mechanismus, durch den RACB die erfolgreiche Etablierung des pilzlichen Haustoriums begünstigt. Es ist uns gelungen einen Virulenzeffektor von *B. graminis* zu isolieren, durch den der Pilz direkten Einfluss auf den RACB-Signalweg nehmen kann und das Wirtszytoskelett destabilisiert. Wir konnten außerdem drei RIP- (ROP- interactive partner) Proteine identifizieren, von denen vermutet wird, dass sie RACB-nachgeschaltet im Signalweg wirken und so das Zytoskelettmuster regulieren. Alle drei RIPs der Gerste (RIPa, RIPb, RIPc) interagieren mit aktivem, nicht aber mit inaktivem RACB. Fluoreszenzmarkierte RIPs zeigen außerdem ein individuelles und RACB-modifiziertes Lokalisierungsmuster in epidermalen Gerstenzellen.

### **40-3 - Degradom-Sequenzierung gestützte Identifizierung und Charakterisierung von microRNA-Target-Interaktionen und ihre Rolle in der Wechselwirkung zwischen Pflanze und Pathogen**

**Falk Behrens, Samarah Rizvi, Jan Menkhaus, Daguang Ci**

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institut für Phytopathologie, Abteilung für Molekulare Phytopathologie, f.behrens@phytomed.uni-kiel.de

Der bodenbürtige Pilz *Verticillium longisporum* ist eine Tracheomykose, welche Brassicaceen wie Raps (*Brassica napus*) befällt. Das Pathosystem Raps-*Verticillium* wird in unserem Labor als ein Modellsystem zur Untersuchung molekularer Mechanismen der Pflanzen-Pathogen Interaktion intensiv genutzt. Durch die Sequenzierung von small RNAs konnte bereits gezeigt werden, dass eine umfangreiche Reprogrammierung der microRNA (miRNA) Expression in Pflanzen durch die Pilzinfektion induziert wird. Hierbei waren sowohl konservierte, wie auch neue miRNAs betroffen. Um die Targets dieser miRNAs zu identifizieren und die Konsequenzen der geänderten miRNA Expression hinsichtlich der Pflanzen-Pathogen Interaktion zu analysieren, wurden mittels NGS-Sequenzierung Degradomdatensätze von *V. longisporum* infizierten und nicht-infizierten Rapswurzeln erstellt und vergleichend analysiert. Hierdurch konnten zum einen bereits beschriebene miRNA-Target Interaktionen bestätigt und zum anderen neue, z. T. rapspezifische Interaktionen aufgedeckt werden. Insbesondere konnte festgestellt werden, dass eine Vielzahl von NBS-LRR-Resistenzgenen sowie viele für Abwehrmechanismen und Entwicklungsprozesse relevante Gene betroffen sind. Diese Ergebnisse unterstreichen die maßgebliche Beeinflussung pflanzlicher Abwehrmechanismen durch die posttranskriptionelle Genregulation während der Pilzinfektion. Desweiteren konnten mögliche Schlüsselfaktoren für eine kompatible Raps-*Verticillium* Interaktion identifiziert werden.

### **40-4 - News from the Asian Soybean Rust!**

**Ralf Vögele**

Universität Hohenheim, ralf.voegel@uni-hohenheim.de

Rust fungi are among the most severe and successful plant pathogens worldwide. They are biotrophic fungi, which means, they need a living host plant to complete their life cycle. Therefore, they do not kill their host but suppress defense responses, among them the

hypersensitive response (HR), a plant specific form of programmed cell death. They also need to influence the host to provide nutrients for their own benefit.

Haustoria are specialized structures that are formed by obligate biotrophs like the rust and the powdery mildew fungi and by downy mildews. They have been implicated in nutrient uptake early on, hence the name haustorium (haurire lat. to drink). Work on mRNA prepared from isolated haustoria made it possible to identify genes that are induced in haustoria. The first ones to be studied were genes involved in nutrient uptake and sugar and energy metabolism. This enabled us to obtain molecular proof that rust haustoria are indeed involved in nutrient uptake and have additional functions in energy metabolism and in modifying nutrients for further use by the fungus - making haustoria the power plants or refineries of rust fungi.

Transcriptome sequencing on *Uromyces appendiculatus* and *Phakopsora pachyrhizi* led to the identification of more families of haustorially secreted proteins. These families are specific either to rust fungi or to pathogens and also show patterns that make them good candidate effectors. These candidate effectors are now being investigated for interaction partners, phenotypes and localization. A yeast two hybrid system was set up to screen for interaction partners. This will be corroborated by biochemical *in vitro* methods. To screen for phenotypes we are using HIGS or VIGS and work on establishing an efficient stable transformation system for rust fungi.

#### **40-5 - Die Histonmethyltransferase SUV4-20 koordiniert Virulenz im Maispathogen *Colletotrichum graminicola***

*The histone methyltransferase SUV4-20 is essential for the virulence of the maize pathogen Colletotrichum graminicola*

**Iris Gase, Alexander Mickel, Wiebke Kummer, Anja Raschke, Andreas Fischer, Gunter Reuter, Holger B. Deising**

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Phytopathologie und Pflanzenschutz, iris.gase@landw.uni-halle.de

*Colletotrichum graminicola*, der Erreger der Anthraknose Blattfleckenkrankheit und Stängelfäule an *Zea mays* differenziert ein melanisiertes Appressorium aus, um in die Wirtszelle einzudringen. Nach der Penetration der Epidermiszelle bildet der hemibiotrophe Pilz biotrophe Hyphen, aus denen anschließend hoch destruktive nekrotrophe Hyphen auswachsen. Die Regulation der Differenzierung von Infektionsstrukturen ist wenig verstanden. In dieser Studie untersuchen wir den Einfluss der Histon H<sub>4</sub>K<sub>20</sub> Methyltransferase SUV4-20 auf das vegetative Wachstum und die Pathogenese von *C. graminicola*. Neben der Deletionsmutante  $\Delta$ suv4-20 wurden auch RNAi-Stämme mit einer reduzierten SUV4-20 Transkriptabundanz generiert, um einen gene dose Effekt zu sehen. In Blattsegmentassays konnte gezeigt werden, dass die Deletion von SUV4-20 die Virulenz reduziert. In Wachstumsassays zeigte  $\Delta$ suv4-20 eine Empfindlichkeit gegenüber Calcofluor, was auf eine epigenetische Regulation der Zellwandsynthese durch SUV4-20 hinweisen könnte. Bei Wachstumsversuchen auf Kartoffeldextroseagar zeigten die Kolonien von  $\Delta$ suv4-20 nach sechs Tagen eine rote Färbung. Dies könnte ein Indiz für einen veränderten sekundären Metabolismus sein. Mit Antikörpern gegen H<sub>4</sub>K<sub>20</sub>me<sub>1</sub> und H<sub>4</sub>K<sub>20</sub>me<sub>3</sub> wurden immunozytologische Färbungen durchgeführt. Die Deletion von SUV4-20 resultierte in einem Verlust der H<sub>4</sub>K<sub>20</sub>me<sub>1</sub> und H<sub>4</sub>K<sub>20</sub>me<sub>3</sub>. Zur Bestätigung dieser Ergebnisse sollen Western Blot Analysen durchgeführt werden.

#### **40-6 - Funktionelle Charakterisierung des UDP-Glucose-4-Epimerase-Gens UGE1 in dem phytopathogenen Pilz *Colletotrichum graminicola***

*Functional characterisation of the UDP-glucose 4-epimerase gene UGE1 in the plant pathogenic fungus Colletotrichum graminicola*

**Maximilian Groß<sup>1</sup>, Iris Gase<sup>1</sup>, Yong-Chull Jeun<sup>2</sup>, Jorrit-Jan Krijger<sup>1</sup>, Holger B. Deising<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Phytopathologie und Pflanzenschutz, maximilian.gross@landw.uni-halle.de

<sup>2</sup>Jeju National University, South Korea

In der Zellwand filamentöser Ascomyceten existieren zwei galactosehaltige Polysaccharide, Galactomannan und Galactosaminogalactan, die wichtige Funktionen haben. Während mehrere Stoffwechselwege des Galactose-Katabolismus in filamentösen Pilzen beschrieben sind, erfolgt die Synthese von Galactose wohl ausschließlich über den in den meisten Lebewesen konservierten Leloir-Stoffwechselweg. Eine Schlüsselrolle spielt dabei das Enzym UDP-Glucose-4-Epimerase, welches die Interkonversion zwischen UDP-Glucose und UDP-Galactose katalysiert. Während Funktionen galactosehaltiger Zellwandpolysaccharide, ihre Zusammensetzung und Synthese in *Aspergillus* spp. gut dokumentiert sind, gibt es keine entsprechenden Studien in phytopathogenen Pilzen wie *Colletotrichum graminicola*. Die pilzliche Zellwand und ihre Komponenten spielen jedoch eine wichtige Rolle bei der Etablierung kompatibler Interaktionen mit der Pflanze. Das Genom von *C. graminicola* enthält ein Gen, das für eine UDP-Glucose-4-Epimerase codiert, nämlich UGE1. Wir unternahmen Studien zur funktionellen Charakterisierung dieses Gens durch gezielte Deletion. Wir berichten über die funktionelle Charakterisierung dieses Gens hinsichtlich vegetativer und pathogener Entwicklung von *C. graminicola*.

#### **40-7 - Regulation der Eisenaufnahme und des -stoffwechsels während der hemibiotrophen Lebensweise von *Colletotrichum graminicola***

*Regulation of iron uptake and homeostasis during the hemibiotrophic lifestyle of Colletotrichum graminicola*

**Anja Raschke, Mario Lange, Emad Albarouki, Holger B. Deising**

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Phytopathologie und Pflanzenschutz, o6120 Halle, anja.raschke@landw.uni-halle.de

Für alle Lebewesen ist Eisen ein essentielles Mikronährelement. Allerdings handelt es sich bei Eisen auch um ein Redoxelement, welches durch die Bildung von Hydroxylradikalen zellschädigend wirken kann. Daher muss die Eisenhomöostase strikt innerhalb der Zelle reguliert werden. Pathogene Pilze haben zwei sehr hochaffine Strategien zur Eisenaufnahme aus den Wirten entwickelt: Die (i) reduktive Eisenassimilation (RIA) und die (ii) siderophor-vermittelte Fe<sup>3+</sup>-Aufnahme (SIA). Während der hemibiotrophen Lebensweise des Maisanthraknoseerregers *Colletotrichum graminicola* werden beide Aufnahmestrategien angewendet, allerdings zu unterschiedlichen Lebensphasen. So wird RIA während der biotrophen Infektionsphase zur Eisenaufnahme verwendet, wohingegen SIA spezifisch supprimiert wird. Während der späteren, nekrotrophen Phase, wird SIA genutzt. Bei den Siderophoren handelt es sich um kleine sekundäre Metabolite, welche zusammen mit Fe<sup>3+</sup>-Komplexe ausbilden, die dann in die Pilzzelle aufgenommen werden können. Es ist bekannt, dass Siderophore einerseits als Virulenzfaktoren, andererseits als *priming agencies* fungieren können. Daher muss die Eisenaufnahme mittels SIA während der biotrophen Phase strikt reguliert werden. Homologe der zwei Transkriptionsfaktoren SreA und HapX aus *Aspergillus*

spp. wurden im Maispathogen *C. graminicola* als *CgSRE1* und *CgHAPX* identifiziert. Die funktionelle Charakterisierung dieser Transkriptionsfaktoren während der biotrophen und nekrotrophen Phase soll zu einem besseren Verständnis der Funktion der Eisenakquirierung während der pilzlichen Infektion führen.