
Sektion 20

Wirt-Parasit-Interaktionen

20-1 - Interaktoren und Aktivitätsregulierung des Anfälligkeitsfaktors RACB während der Interaktion zwischen Gerste und dem Echten Gersten-Mehltaupilz *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*

Interaction partners and regulation of the susceptibility factor RACB in the interaction between barley and the barley powdery mildew fungus Blumeria graminis f.sp. hordei

Lukas Weiß¹, Julia Mergner², Bernhard Küster², Götz Hensel³, Jochen Kumlehn³, Tina Reiner¹, Attila Fehér⁴, Stefan Engelhardt¹, Ralph Hückelhoven¹

¹Technische Universität München, Lehrstuhl für Phytopathologie

²Technische Universität München, Lehrstuhl für Proteomik und Bioanalytik

³Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben

⁴Institute of Plant Biology, Szeged, Hungary

Pflanzliche Anfälligkeitsfaktoren stellen für Züchter eine mögliche Alternative zu Resistenzgenen bei der Herstellung pathogenresistenter Nutzpflanzen dar. Allerdings geht eine Anfälligkeitsfaktor-basierte Resistenz oft mit pleiotropen Effekten einher, die negative Einflüsse auf z. B. Pflanzenwachstum und Fruchtbarkeit haben können. Eine genaue Untersuchung der Funktionsweise des jeweiligen Anfälligkeitsfaktors kann ggf. helfen den Anfälligkeitsfaktor selbst oder seine physiologische Funktion gezielter für die Erstellung pathogenresistenter und ertragsstabiler Pflanzen einzusetzen (Hückelhoven et al., 2013). Das Gersten-G-Protein RACB ist eine wichtige Komponente der Anfälligkeit von Gerste gegenüber dem Echten Gersten-Mehltaupilz *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (Schultheiss et al., 2003). Allerdings kann man zum jetzigen Zeitpunkt den molekularen Mechanismus der RACB-Funktion als Anfälligkeitsfaktor nur unvollständig erklären und RACB-modifizierte Pflanzen zeigen Entwicklungsdefekte (Scheler et al., 2016). Daher versuchen wir mit Hilfe von stabil transgenen Gerstenpflanzen, die konstitutiv-aktiviertes RACB überexprimieren, Interaktionspartner pflanzlichen und pilzlichen Ursprungs zu finden, die in der Gerste-Mehltau-Interaktion eine Rolle spielen. Darüber hinaus untersuchen wir mit den transgenen Pflanzen auch den molekularen Hintergrund der Regulation von RACB über Proteinmodifikation. Die Daten schlagen vor, dass RACB nicht nur über Protein-Protein-Interaktionen in seiner Aktivität beeinflusst ist, sondern auch über Proteinphosphorylierung und proteasomalen Abbau (Huesmann et al., 2012; Reiner et al., 2016).

Literatur

HÜCKELHOVEN R., EICHMANN R., C. WEIS, C. HÖFLE, PRÖLS R. K., 2013: Genetic loss of susceptibility: a costly route to disease resistance? *Plant Pathol.* **62** (S1), 56-62.

HUESMANN C., REINER T., C. HÖFLE, J. PREUSS, JURCA M. E., DOMOKI M., A. FEHÉR, HÜCKELHOVEN R., 2012: Barley ROP binding kinase 1 is involved in microtubule organization and in basal penetration resistance to the barley powdery mildew fungus. *Plant Physiol.* **159** (1), 311-320.

REINER T., C. HÖFLE, HÜCKELHOVEN R., 2016: A barley SKP1-like protein controls abundance of the susceptibility factor RACB and influences the interaction of barley with the barley powdery mildew fungus. *Mol. Plant Pathol.* **17** (2), 184-195.

SCHELER B., SCHNEPF V., C. GALGENMÜLLER, RANF S., HÜCKELHOVEN R., 2016: Barley disease susceptibility factor RACB acts in epidermal cell polarity and positioning of the nucleus. *J. Exp. Bot.* **67** (11), 3263-3275.

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

20-2 - Untersuchungen von Gen- und Enzymaktivitäten und deren Einfluss auf die spektrale Reflexion während unterschiedlicher Gerste-*Blumeria graminis* f. sp. *hordei* Interaktionen

Investigation of gene and enzyme activity and their influence on spectral reflectance during different barley-Blumeria graminis f.sp. hordei interactions

Matheus Thomas Kuska¹, Jan Behmann¹, Mahsa Namini¹, Dominik Großkinsky², Thomas Roitsch², Ulrike Steiner¹, Erich-Christian Oerke¹, Anne-Katrin Mahlein³

¹Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

²University of Copenhagen

³Institut für Zuckerrübenforschung, Göttingen

Hyperspektrale Sensorverfahren haben sich als vielversprechende Methode zur nicht-invasiven Erfassung von Pflanzenkrankheiten und zur Bewertung von Resistenzen erwiesen. Zelluläre Veränderungen einer Abwehrreaktion können durch ein hochauflösendes hyperspektrales Messverfahren sehr sensitiv und multi-temporal erfasst werden. Aus der spektralen Reflexion der Pflanzen können neben strukturellen Entwicklungen auch Änderungen in der Pigmentzusammensetzung und dem Wassergehalt abgeleitet werden. Ein direkter Zusammenhang des Reflexionsspektrums mit Gen- und Enzymaktivitäten während Pflanzen-Pathogen Interaktionen ist noch weitestgehend unbekannt und unerforscht. Eine solche Verknüpfung von optischen Sensordaten mit Genexpressionsprofilen und Enzymaktivitäten könnte die Züchtungspraxis effizienter gestalten.

Um diesen Zusammenhang zu untersuchen, wurden anfällige und mlo (Papillenbildung)- und Mla (hypersensitive Reaktion)-resistente nahe-isogene Linien der Gerste nach der Inokulation mit *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* 0 bis 8 Tage spektral gemessen. Parallel durchgeführte Analysen der Expression von zellregulierenden, Pathogenese- wie Resistenz-korrelierter Gene zeigten für mlo- und Mla-resistente Linien der Sorten 'Ingrid' und 'Pallas' unterschiedliche Signalantworten auf die Pathogenese. Der Relief-Algorithmus wurde genutzt, um eine funktionale Verbindung zwischen den hyperspektralen Reflexionssignaturen und den beobachteten Genexpressionen während der frühen Gerste-Bgh Interaktionen zu analysieren.

20-3 - Funktionelle Charakterisierung der Galactosestoffwechsel-Gene UGE1 und UGM1 im Maispathogen *Colletotrichum graminicola*

Functional characterisation of the galactose metabolism genes UGE1 and UGM1 in the maize pathogen Colletotrichum graminicola

Maximilian Groß, Iris Gase, Beate Dika, Elisabeth Loos, Yong-Chull Jeun, Jorrit-Jan Krijger, Holger B. Deising

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften

In der Zellwand filamentöser Ascomyceten finden sich galactosehaltige Polysaccharide, wie Galactomannan und Galactosaminogalactan. Die Bereitstellung von Galactose scheint in filamentösen Pilzen ausschließlich durch den hochkonservierten Leloir-Stoffwechselweg zu erfolgen. Schlüsselrollen spielen dabei die Enzyme UDP-Glucose-4-Epimerase, welche die Interkonversion zwischen UDP-Glucose und UDP-Galactose katalysiert, und UDP-Galactopyranose-Mutase, welche die für Galactomannan benötigte UDP-Galactofuranose aus UDP-Galactopyranose bereitstellt. Während Funktionen galactosehaltiger Zellwandpolysaccharide, ihre Zusammensetzung und Synthese in *Aspergillus*-Spezies gut

dokumentiert ist, fehlen entsprechende Studien zu pflanzenpathogenen Pilzen wie *Colletotrichum graminicola*. Die pilzliche Zellwand spielt jedoch eine wichtige Rolle bei der Etablierung kompatibler Interaktionen mit Wirtspflanzen. Das Genom von *Colletotrichum graminicola* enthält je ein single-copy-Gen, nämlich UGE1 und UGM1, für die Enzyme UDP-Glucose-4-Epimerase und UDP-Galactopyranose-Mutase. Wir unternahmen Studien zur funktionellen Charakterisierung und zeitlichen Expression dieser Gene durch gezielte Deletionen mittels homologer Rekombination bzw. Promotor-eGFP-Fusionen. Wir berichten über die funktionelle Charakterisierung dieser Gene hinsichtlich vegetativer und pathogener Entwicklung von *Colletotrichum graminicola*.

20-5 - Differenzierung der Interaktion von *Verticillium longisporum* Lineage A1/D1 (aggressiv) und Lineage A1/D2 (apathogen) an Wurzeln und im Gefäßsystem von *B. napus*

Differentiation of the interaction of the Verticillium longisporum Lineage A1/D1 (aggressive) and Lineage A1/D2 (apathogenic) at the root and vascular system of B. napus

Marta Vega Marín, Leonard Sundermann, Andreas von Tiedemann

Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Grisebachstr. 6, 37077 Göttingen

Verticillium longisporum ist ein amphidiploider pilzlicher Schaderreger an Raps (*Brassica napus* L.), der sich aus drei genetisch verschiedenen Lineages zusammensetzt. Die Lineages entstanden vermutlich durch drei voneinander unabhängigen Hybridisierungsereignissen, an denen mindestens zwei unterschiedliche Lineages von *V. dahliae* (D2 und D3) und zwei weitere, bisher unbekannte Spezies (A1 und D1) beteiligt waren. Die daraus hervorgegangenen Lineages von *V. longisporum* werden als A1/D1, A1/D2 und A1/D3 bezeichnet. Sie verfügen über unterschiedliche geographische Verteilungsmuster und Wirtspflanzenpräferenzen (Inderbitzin et al. 2011). Lineage A1/D2 wurde ausschließlich aus Meerrettich in den USA isoliert und ist apathogen an den meisten Nutzpflanzen aus der Familie der Brassicaceen (Novakazi et al. 2015). Lineage A1/D1 ist hingegen die dominante und auch aggressivste Lineage an *B. napus*. Um zu verstehen, ob sich die unterschiedliche Pathogenität durch abweichende Interaktionen beim Beginn einer Infektion an *B. napus* begründen lässt, wurde die Besiedlung der Wurzeloberfläche durch diese beiden Lineages mittels konfokaler Mikroskopie untersucht. Beide Lineages können die Wurzeloberfläche besiedeln, bei Lineage A1/D2 kann jedoch außerdem eine stärkere Sporulation beobachtet werden, ein Hinweis darauf, dass A1/D2 die Rhizosphäre als Lebensraum bevorzugen könnte. Da die Lineage A1/D2 zu keinen Krankheitssymptomen an *B. napus* führt, kann vermutet werden, dass die Ausbreitung des Pilzes auf den peripheren Wurzelbereich beschränkt ist. Diese Vermutung wird durch qPCR Analysen an Proben von oberirdischen Teilen der Pflanze bestätigt. Im weiteren Verlauf des Projektes werden zusätzliche mikroskopische und biochemische Analyseverfahren angewendet, um zu untersuchen, ob die Lineage A1/D2 über die Wurzeloberfläche in die Pflanze eindringt und welche Reaktionen dadurch in der Pflanze ausgelöst werden.

Literatur

INDERBITZIN, P.; BOSTOCK, R. M.; DAVIS, R. M.; USAMI, T.; PLATT, H. W.; SUBBARAO, K. V. (2011): Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS One*. 6 (12), e28341.

NOVAKAZI, F.; Inderbitzin, P.; Sandoya, G.; Hayes, R. J.; Tiedemann, A. von; Subbarao, K. V. (2015): The three lineages of the diploid hybrid *Verticillium longisporum* differ in virulence and pathogenicity. *Phytopathology*. 105 (5), 662–673.

20-6 - Differenzielle Rolle der Salicylsäure bei der basalen und kultivarspezifischen Resistenz von Raps (*Brassica napus* L.) gegen *Verticillium longisporum*

*Differential role of salicylic acid in basal and cultivar-related resistance of oilseed rape (*Brassica napus* L.) to *Verticillium longisporum**

Xiaorong Zheng, Birger Koopmann, Andreas von Tiedemann

Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung von Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, , Grisebachstr. 6, 37077 Göttingen

Verticillium longisporum is a soil-borne vascular pathogen causing 'Verticillium stem striping' in oilseed rape. This disease is estimated to induce significant yield losses in oilseed rape (*Brassica napus*) ranging from 10-50 % (Dunker et al. 2008). Due to the lack of effective fungicides, breeding for resistant cultivars is an essential strategy to manage this disease. The level of salicylic acid (SA), a signaling component in plant defense to pathogens, was strongly modulated in hypocotyl and stem tissues of oilseed rape by infection with *V. longisporum* (Kamble et al. 2013). Responses to *V. longisporum* infection of *NahG* transformed oilseed rape ('Drakkar'), as well as a susceptible ('Falcon') and resistant ('SEM') *B. napus* cultivar were conducted to obtain an insight into the role of SA in the *B. napus*-*V. longisporum* pathosystem. A remarkably increased susceptibility was observed on SA-deficient transgenic *NahG* oilseed rape plants to *V. longisporum*, which indicated that SA plays a role in basal resistance in *B. napus* against *V. longisporum*. Regarding the cultivar-related resistance, a faster increase of SA was observed in the resistant cultivar, leading to less growth of *V. longisporum* in hypocotyls and indicating that elevated SA is crucial for disease defense in the early infection phase. However, the increase of SA in later stages of infection may be at the expense of accumulation of precursors of lignin, e.g. *p*-coumaric acid, ferulic acid and sinapic acid, which are considered to play a crucial role in resistance against *V. longisporum* in the later infection phase. *PR1* and *PR2* genes, SA-dependent plant resistance marker genes, were up-regulated in both resistant and susceptible cultivars after fungal infection, however, they do not have quantitative relation to resistance.

Literature

DUNKER, S., H. KEUNECKE, P. STEINBACH, A. VON TIEDEMANN, 2008: Impact of *Verticillium longisporum* on yield and morphology of winter oilseed rape (*Brassica napus*) in relation to systemic spread in the plant. *Journal of Phytopathology*. **156**(11-12):698-707.

KAMBLE, A., B. KOOPMANN, A. VON TIEDEMANN, 2013: Induced resistance to *Verticillium longisporum* in *Brassica napus* by β -aminobutyric acid. *Plant Pathology*. **62**(3):552-561.

20-8 - Morphologische und molekulare Charakterisierung europäischer Arten des *Diaporthe/Phomopsis* Komplexes, die mit Soybean Seed Decay assoziiert sind

*Morphological and molecular characterization of European species of the *Diaporthe/Phomopsis* complex associated with Soybean Seed Decay*

Behnoush Hosseini, Abbas El-Hasan, Ralf T. Vögele

Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin

The genus *Phomopsis* (teleomorph *Diaporthe*) comprises phytopathologically relevant fungi which cause diseases on a wide range of economically important crops including soybean. This group of pathogens has been reported to be involved in several soybean diseases, including *Phomopsis* Seed Decay (PSD) (*Phomopsis longicolla*), Stem Blight (*D.*

phaseolorum var. *sojae*) and Stem Canker (*D. phaseolorum* var. *caulivora* and *D. phaseolorum* var. *meridionalis*), resulting in significant yield and quality losses. Accurate species identification of DPC is critical in understanding disease epidemiology and for developing effective control measures. Also, it has been documented that MAT primers are useful in mating-type diagnosis in a wide range of *Diaporthe* and *Phomopsis* species. In this study, we focused on morphological (color and shape of colonies, existence of alpha, or beta conidia, or both, and their characteristics, production of perithecia, and size of conidia) and molecular analyses of species from DPC-damaged European soybean seeds obtained from several locations throughout Austria, France, and Germany. In addition, the European DPC isolates were classified according to their mating-type loci using Primers MAT1-1-1FW/RV and MAT1-2-1FW/RV. Surface sterilized soybean seeds were placed on APDA and incubated for 30 d at 24°C. Putative isolates of the DPC were purified using the single spore method. Genomic DNA was extracted from mycelium of each single-spore isolate. Thirty-two strains of *Diaporthe* and *Phomopsis* were isolated and phylogenetic relationships were determined using the translation elongation factor 1-alpha (TEF1) and nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS) sequences. By combining morphological and molecular data, four species including *Phomopsis longicolla*, *Phomopsis* sp., *Diaporthe caulivora* and *Diaporthe eres* could be distinguished on soybean seeds. Also, results from mating-type experiments revealed that MAT primers used in this study allowed mating-type diagnosis of the 28 isolates. Further studies for controlling these pathogens using biological control agents are currently in progress.