## Sektion 50 Resistenzzüchtung / Widerstandsfähigkeit gegen Schadorganismen II

# 50-1 - Kohlwildformen als Quelle neuer quantitativer Resistenzen gegen den Erreger *Sclerotinia sclerotiorum* im Raps

Jan Mankhaus¹, Thomas Bergmann¹, Ye Wanzhi¹, Steffen Rietz², Gunhild Leckband², Daguang Cai¹

<sup>1</sup>Christian-Albrechts-Universität Kiel <sup>2</sup>NPZ Innovation GmbH

Sclerotinia sclerotiorum, der Erreger der Weißstängeligkeit im Raps, ist weltweit eine der bedeutendsten Pflanzenkrankheit und erfordert häufige Fungizidapplikationen. Raps zeigt aufgrund seiner Entstehung durch eine seltene Artkreuzung zwischen den Brassicaceaen B. rapa (A-Genom) und B. oleracea (C-Genom) und der daraus resultierenden geringen genetischen Variabilität keine oder wenig Toleranz gegenüber S. sclerotiorum. Inzwischen haben wir mehrere Wildformen von B. oleracea (Wildkohl) identifiziert, die eine deutlich höhere Resistenz im Vergleich zu Rapskulturformen besitzen und folglich eine wichtige genetische Ressource für eine quantitative Resistenz von Raps gegen die Weißstängeligkeit darstellen. Um diese Resistenz zu identifizieren und zu nutzen, wurden Genomsequenzierungen und Transkriptionsanalysen anfälliger/resistenter Wildkohle mit einer QTL-Analyse einer spaltenden F2-Population des B. oleracea kombiniert, wodurch ein Major QTL mit 270 Kandidaten Genen auf Chromosom 8 des C-Genoms identifiziert werden konnte. Die Analyse der Sequenzen deutet auf einen komplexen Mechanismus der Reaktion gegen S. sclerotiorum hin. Dennoch ermöglichen die Ergebnisse erstmals der Pflanzenzüchtung neue leistungsfähige Rapssorten mit erhöhter Resistenz gegen S. sclerotiorum zu züchten und molekulare Marker zur Selektion resistenter Sorten zu entwickeln. Die Fortschritte des Projekts werden vorgestellt.

## 50-2 - Molecular evolution of pathogen defence in wild tomato species Remco Stam, Parvinderdeep Kahlon, Daniela Scheikl, Lisa Marie Keitel, Ralph Hückelhoven

Technische Universität München, Lehrstuhl für Phytopathologie

Understanding plant-microbe interactions is crucial for the development of resistant crops. To maintain immunity against pathogens, plant defence mechanisms are under constant pressure to evolve. The aim of the current project is to elucidate the molecular factors that are affected by this evolutionary interplay of plant and pathogen. In a naturally evolving pathosystem knowledge of such factors can give insights into the durability of resistance-associated traits.

We study adaptation within the wild tomato species Solanum chilense. Populations of the species show different levels of resistance against a range of pathogens and show signatures of molecular adaptation. Moreover, we are interested to understand differences in PAMP and effector triggered immune responses in different Solanum chilense populations.

First, we evaluated the reactive oxygen species (ROS) production, upon elicitation with different elicitors. Two geographical distinct populations showed different kinetics amongst and within the population. Additionally, we investigate the hypersensitive response (HR) upon infiltration with different avirulence factors in five populations. The results from this assay show possible geography-dependent patterns for the immunity.

Our findings indicate distinct evolutionary patterns on different molecular levels associated with pathogen defence responses. We are further evaluating these differences to shed more light on the mechanisms and the evolution behind it.

## 50-3 - Erzeugung resistenter Kulturpflanzen durch gezielte Modifikation des Genoms

Creating resistant crops via targeted genome modification

### Dirk Schenke, Michael Pröbsting, Maximilian Teutsch, Daguang Cai

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institut für Phytopathologie, Abteilung Molekulare Phytopathologie und Biotechnologie

Vor dem Hintergrund der drastischen Zunahme der Weltbevölkerung, dem verstärkten Auftreten von Schaderregern in Monokulturen und im Zuge des Klimawandels, ist es dringend notwendig, neue und innovative Resistenzen gegen abjotischen und biotischen Stress zu entwickeln. Widerstandfähige Sorten mindern krankheitsbedingte Ertrags- und Lagerverluste für den Landwirt und benötigen einen geringeren chemischen Pflanzenschutz. Bodenbürtige Erreger wie der Erreger der Kraut- und Knollenfäule, Phytophthora infestans, stellen ein stetes Problem im Kartoffelanbau weltweit dar. Ebenfalls zählt Verticillium longisporum zu den bodenbürtigen Pathogenen und ist in den letzten Jahren verstärkt im Rapsanbau aufgetreten. Da insbesondere gegen Verticillium longisporum keine resistenten Sorten zur Verfügung stehen, stellt die Mutagenese zur künstlichen Erzeugung neuer genetischer Variationen in der Resistenzzüchtung einen wichtigen Ansatzpunkt dar. Es wurde bereits gezeigt, dass Mutationen von denjenigen Wirtsgenen, welche dem Pathogen beim erfolgreichen Befall ihrer Wirtspflanze nützlich sind (sogenannte Anfälligkeits-, bzw. Suszeptibilitätsgene), eine verbesserte Resistenz gegenüber diesem bewirken können. Solche interessanten Mutationen in der Natur oder einer künstlich mutagenisierten Population zu finden erwies sich in der Vergangenheit iedoch oft als die sprichwörtliche Suche nach der Nadel im Heuhaufen - zumal viele Kulturpflanzen sehr komplexe Genome mit mehreren Gen-Kopien besitzen. Damit man aber einen Verlust der Genfunktion nachweisen kann, müssen meist alle Kopien mutiert werden und das ist nun durch die Nutzbarmachung des bakteriellen CRISPR-Cas Systems möglich. Mit dieser leicht zu programmierenden "Genschere" können nun alle Kopien eines Zielgens auf einmal geschnitten werden und bei der fehlerhaften Reparatur entstehen dann ganz gezielt Mutationen an genau definierter Stelle. Im Rahmen eines BMBF-geförderten Verbundforschungsprojekts haben wir CRISPR/Cas9 zur Inaktivierung solch potentieller Anfälligkeitsfaktoren in den Genomen von Kartoffel, Raps und Zuckerrübe angewendet. Das Projekt hat zum Ziel, die Resistenz gegenüber den Pathogenen Phytophthora infestans in der Kartoffel (zusammen mit der Solana Research GmbH), Verticillium longisporum im Raps (zusammen mit der NPZ Innovation GmbH) und den Nematoden Heterodera schachtii in der Zuckerrübe zu steigern. Dazu haben wir zuerst durch Funktionale Genomik Kandidaten-Gene identifiziert, die als "Anfälligkeitsfaktoren" am Infektionsprozess des Pathogens beteiligt sein könnten. Ein Genom-optimiertes und flexibles Vektorsystem wurde so konstruiert, dass es eine effiziente und akkurate Mutagenese der Zielgene ermöglicht. Darüber hinaus haben wir mit "hairy roots" ein Testsystem entwickelt, das eine schnelle Überprüfung der Funktionalität unserer Konstrukte und damit deren Optimierung erlaubt. Unsere Ergebnisse zeigen, dass durch unsere Genscheren aktiv in Kartoffel, Raps und auch Zuckerrübe eine Reihe von unterschiedlichen Mutationen in den Zielgenen erzeugt werden konnten, sodass wir nun diese Pflanzen in Biotests auf erhöhte Resistenz testen können.

# 50-4 - QTL für Mikrobiom-vermittelte Zwergrost Resistenz in Gerste Gwendolon Wehner<sup>1</sup>, Karolin Pohl<sup>2</sup>, Adam Schikora<sup>2</sup>, Frank Ordon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz <sup>2</sup>Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

Mit Ertragseinbußen von bis zu 60 % und einer Beeinträchtigung der Malzqualität ist Zwergrost (Puccinia hordei) eines der bedeutendsten Pathogene in Gerste (Hordeum vulgare L.). Von den im primären Genpool der Gerste bekannten Resistenzgenen (Rph1-Rph25) sind nur noch wenige gegenüber allen bekannten Erregerassen wirksam, so dass ein hoher Bedarf an alternativen Resistenzkonzepten besteht. Eine Möglichkeit besteht darin, genetische Unterschiede der Gerste hinsichtlich pflanzenassoziierter Boden-Mikroorganismen zu untersuchen und die Auswirkung auf die Resistenz gegenüber Zwergrost zu erfassen (Priming). Speziell durch Quorum Sensing von Bakterien wird N-Acyl Homoserin-Lacton (AHL) produziert, welches in der Pflanze zu systemischer Resistenz führen kann. Somit ist es Ziel dieses Projektes, Gerstenlinien zu identifizieren, die verstärkt auf Priming-Induktoren reagieren, sowie mit der Primingfähigkeit assoziierte molekulare Marker zu entwickeln. Dafür wird ein weltweites Set an 200 Gersten-Akzessionen auf Priming-Kapazität bezüglich Zwergrost Resistenz in Gewächshausversuchen phänotypisiert und in genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) analysiert, um mit Priming gekoppelte Genomregionen (QTL) zu lokalisieren.

Als Priming induzierende Bakterien werden *Ensifer meliloti* Stämme genutzt: einerseits die natürliche Mutante expR+ch, welche AHL überexprimiert und andererseits ein transformierter *E. meliloti* Stamm, der das AHL hemmende Lactonase-Gen attM aus *Agrobacterium tumefaciens* trägt und somit als Kontrolle dient.

# 50-5 - Untersuchungen zur Wirtspflanzenresistenz von vegetativen und blühenden Chrysanthemen gegenüber dem Kalifornischen Blütenthrips (Frankliniella occidentalis)

Investigations on host plant resistance of vegetative and flowering Chrysanthemum to the Western flower thrips (Frankliniella occidentalis)

#### Sina A. Rogge, Rainer Meyhöfer

Leibniz Universität Hannover, Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme, Abteilung Phytomedizin

Frankliniella occidentalis ist einer der bedeutendsten Schädlinge in der Chrysanthemenproduktion. Durch sein kryptisches Verhalten und den intensiven Einsatz von Pflanzenschutzmittel ist die gezielte Bekämpfung schwierig. Eine alternative Bekämpfungsstrategie könnte die Wirtspflanzenresistenz darstellen. Insbesondere Sekundärmetabolite der Chrysantheme gehören zu den bedeutenden Resistenzfaktoren und sollten als Resistenzmerkmal bei Neuzüchtungen eine stärkere Beachtung finden.

Im Rahmen eines BMEL geförderten Verbundprojekt wurde ein Screening mit 77 Sorten durchgeführt, bei dem das Resistenzpotential von vegetativen und generativen Pflanzen gegenüber *F. occidentalis* an 2 Standorten zu 2 Jahreszeiten erfasst wurde. Dabei wurde auf

Silberschaden bonitiert, abschließend die Anzahl an Thripsen in Blüten gezählt und des Weiteren Phenole und ihre Gehalte in Chrysanthemenblättern bestimmt.

Erste Auswertungen zeigen, dass einige Sorten wesentlich anfälliger, manche aber auch eine hohe Resistenz gegenüber *F. occidentalis* aufweisen. Der Befall schwankte zwischen - 100 % (resistent) bis hin zu 600 % Abweichung vom Mittelwert (anfällig), wobei sich Unterschiede in Ort und Jahreszeit zeigten. In weiteren Analysen sollen der Zusammenhang zwischen Silberschaden, Anzahl an Tieren in der Blüte und der Phenolgehalt in der Pflanze überprüft werden. In Zusammenarbeit mit einem Züchter werden auf Basis der Ergebnisse gezielte Sortenkreuzungen durchgeführt, um das Potenzial einer gezielten Resistenzzüchtung zu charakterisieren. Die detaillierte Auswertung wird im Rahmen der Tagung präsentiert.

## 50-6 - Nicht zielgerichtetes Metabolom-Profiling von grünen Blütenknospen bei Raps: Screening auf Resistenz gegen den Rapsglanzkäfer

Non-targeted metabolome profiling of green flower buds in oilseed rape: screening for resistance against the pollen beetle

### Nadine Austel<sup>1</sup>, Christoph Böttcher<sup>2</sup>, Torsten Meiners<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Freie Universität Berlin; Institut für Biologie, Angewandte Zoologie und Ökologie <sup>2</sup>Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz

Der Rapsglanzkäfer (Brassicogethes aeneus) ist einer der wichtigsten Insektenschädlinge im Raps und kann zu erheblichen Ertragseinbußen führen. Da Rapsglanzkäfer zunehmend resistent gegen Pyrethroide werden und Neonicotinoide für Beizung und Bodenapplikation weitestgehend ausfallen, sind alternative Bekämpfungsstrategien im Rahmen des integrierten Pflanzenschutzes erforderlich, um den Einsatz von Insektiziden und die unerwünschte Selektion von Käfern auf Insektizidresistenz zu reduzieren. Eine Strategie besteht darin, die natürliche Variation der Brassiceen-Arten zu nutzen, um potenzielle chemische Resistenzparameter zu identifizieren, die es Pflanzenzüchtern ermöglichen, die Resistenz von Raps gegen ausgewachsene Käfer zu erhöhen. In diesem Projekt haben wir i) Brassica napus Sorten und verwandte Brassiceen-Arten auf ihre Wirkung auf das Frassverhalten des erwachsenen B. aeneus hin untersucht und ii) die Metabolomprofile grüner Blütenknospen mittels Flüssigchromatographie Massenspektrometrie-Kopplung analysiert. Um Kandidatenverbindungen als potenzielle Resistenzparameter zu identifizieren, korrelierten wir Metabolomprofile Käferfrassverhalten. Das nicht zielgerichtete Metabolom-Profiling kann ein erster Schritt sein, um Pflanzenresistenz-Merkmale mit Hilfe eines chemisch-ökologischen Ansatzes zu entschlüsseln.

# 50-7 - Verbesserung der Widerstandfähigkeit künftiger Weinreben gegen Kirschessigfliegenbefall (*Drosophila suzukii*)

Improving resistance against Spottetd Wing Drosophila (Drosophila suzukii) infestation in future vines

### Andrea Hecht, Katja Herzog, Reinhard Töpfer

Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Rebenzüchtung, Geilweilerhof, 76833 Siebeldingen

Die Kirschessigfliege (*Drosophila suzukii*) gewinnt zunehmend an Bedeutung im mitteleuropäischen Obst- und Weinbau. Die weiblichen Individuen sind, im Gegensatz zu *Drosophila melanogaster*, mit einem Eiablageapparat (Ovipositor) ausgestattet, mit dem sie

auch eine gesunde Fruchthaut penetrieren kann. Das Tier kann das Ei somit direkt ins Fruchtfleisch ablegen. Es befällt dabei vor allem die reifen Früchte, also dann, wenn ein Pflanzenschutzmitteleinsatz nicht mehr zulässig ist. Eine Bekämpfung des Schädlings ist zu diesem Zeitpunkt also unmöglich. Nicht nur die sich vom Fruchtfleisch ernährenden Larven, sondern auch die Verletzung der Beerenhaut bildet den Schaden im Wein. Denn durch diese können essigfäuleverursachende Mikroorganismen eindringen und das Lesegut zerstören. Die Zielstellung der Rebenzüchtung ist daher eine Rebsorte zu züchten, die Widerstandfähig gegen den Kirschessigfliegenbefall ist. Eine präformierte Befallsbarriere bietet den besten Schutz. Wünschenswert ist eine dicke und feste Beerenhaut mit hohem Penetrationswiderstand. In diesem Projekt werden Methoden zur Erfassung dieser Parameter etabliert, vorhandenes züchterisches Material gescreent und genetische Marker gesucht, um die zukünftige Selektion und somit die Arbeit des Züchters zu erleichtern. Bisher liegen je nach Merkmal ein- bis zweijährige Daten vor, die vielversprechende Ergebnisse lieferten.