

## Sektion 25 – Wirt-Parasit-Beziehungen I

25-1 - Kröner, A.<sup>1)</sup>; Hamelin, G.<sup>1)</sup>; Andrivon, D.<sup>2)</sup>; Val, F.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Agrocampus Ouest, Centre de Rennes, Frankreich; <sup>2)</sup> INRA, Frankreich

### **Bedeutung des Phenylpropanstoffwechsels für die partielle Resistenz von fünf Kartoffelsorten gegenüber *Pectobacterium atrosepticum* und *Phytophthora infestans***

Potential implication of phenylpropanoid pathway in quantitative resistance of five potato cultivars against *Pectobacterium atrosepticum* and *Phytophthora infestans*

Partial resistance of plants to pathogens is expressed in compatible interactions. In contrast to total resistance, it does not prevent infection but limits the development of symptoms. The mechanisms underlying partial resistance are not yet well understood, although this type of resistance is often assumed to be related to induced defence reactions of the plant when challenged by the pathogen. Some of these defence reactions are not pathogen-specific. If such "general" defence reactions are important for the resistance phenotype, they could be exploited in crop protection.

Our working hypothesis was that partial resistance is due to the activation of general defence reactions induced in the plant by pathogen derived elicitors. Our strategy was to look for a correlation between the expression of symptoms caused by pathogens and of defence reactions induced by elicitors. To this end, we used five potato cultivars ('Ackersegen', 'BF15', 'Bintje', 'Kerpondy', 'Saturna'), differing in partial resistance to two pathogens (*Phytophthora infestans* (Pi) and *Pectobacterium atrosepticum* (Pa)). These cultivars were then challenged with elicitors derived from these pathogens (bacterial lipopolysaccharides (LPS) of Pa or a concentrated culture filtrate (CCF) of Pi). Both pathogens are able to infect potato tubers, although they differ markedly in their infectious processes. We focused on the phenylpropanoid pathway, which has been shown to be involved in the defence of potato to both pathogens (Vayda et al. 1992, Yao et al. 1995). We measured the activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and the amount of total phenolic compounds in potato discs triggered by LPS of Pa and CCF of Pi. Experiments were carried out on two batches of tubers, harvested in 2008 and stored for 9 months or harvested in 2009 and stored for 3 months.

Artificial infections with Pa and Pi confirmed the differences in partial resistance between cultivars for both pathogens. PAL activity was transiently increased by CCF, but not modified by LPS, in relation to water controls. Phenolic compounds also accumulated to a greater extent in the presence of CCF than in the presence of LPS. PAL activity and partial resistance to Pa was generally higher in the younger tubers (harvest 2009), but partial resistance to Pi was generally higher in older tubers (harvest 2008).

Based on these results, the link between partial resistance of potato to Pi and Pa and the induction of enzymatic activity of PAL by pathogen derived elicitors will be discussed during the conference. Raising interesting questions about the co-evolutionary mechanisms involved in partial resistance, compared to those active in total resistance will also be discussed.

#### Literature

[1] Vayda, M. E., et al. (1992) American Potato Journal 69(4): 239-253.

[2] Yao, K., et al. (1995) Plant Cell 7(11): 1787-1799.

25-2 - Delventhal, R.<sup>1)</sup>; Zellerhoff, N.<sup>1)</sup>; Mogga, V.<sup>1)</sup>; Weidenbach, D.<sup>1)</sup>; Andresen, K.<sup>2)</sup>; Thines, E.<sup>2)</sup>; Schaffrath, U.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen; <sup>2)</sup> Institute of Biotechnology and Drug Research

### **Initiating TritNONHOST: Genomic and genetic analysis of host and nonhost interactions between barley and *Magnaporthe***

The fungus *Magnaporthe oryzae* is best known to cause 'rice blast', a devastating disease occurring in rice cultivation worldwide. Barley is an alternative host for *M. oryzae*, but is resistant to *Magnaporthe* species associated with the grass genera *Digitaria* or *Pennisetum*. The objective of our study is to identify and explore the genetic framework of this nonhost type of resistance, which might be useful for modern breeding programs. Our work is embedded in the ERA-PG network "TritNonhost", which includes integrative genomic and genetic analysis of nonhost resistance in wheat and barley to rust (*Puccinia* spp.), powdery mildew (*Blumeria* spp.) and blast (*Magnaporthe* spp.).

To identify plant genes determining nonhost resistance we perform microarray analyses of inoculated barley epidermis. Candidate barley genes up-regulated in nonhost but not host interactions are currently under investigation using a virus-induced gene silencing approach with *Barley stripe mosaic virus* as a viral vector. Furthermore we addressed the question whether secreted fungal effector molecules are determining the success of *Magnaporthe* infections. We hypothesized that host isolates differs from nonhost isolates in such molecules which might suppress plant defence. In agreement with this theory a simultaneous inoculation of barley with an adapted and a non-adapted *Magnaporthe* isolate improved the ability of the ostensible nonhost isolate to develop invasive hyphae. To identify effector genes we started a comparative analysis of the transcriptomes of *Magnaporthe* host and nonhost isolates during their interaction with barley. Approximately 27 % of genes differentially expressed in host versus nonhost isolates encoded for putative secreted proteins. Further characterisation of these candidates is under investigation.

25-3 - Imani, J.; Li, L.; Kogel, K.-H.; Schäfer, P.  
Justus-Liebig-Universität Gießen

### **Ein Wurzeltransformationssystem für die genetische Analyse der Physiologie von Gerstenwurzeln und deren Stressverhalten**

Pflanzenentwicklung ist direkt assoziiert mit der Fähigkeit der Wurzel, Wasser und Nährstoffe aufzunehmen. Bedingt durch die pflanzliche Sessilität ist diese Fähigkeit insbesondere unter unvorteilhaften Umweltbedingungen von Bedeutung, unter welchen Wurzeln als Stressadaptoren fungieren und häufig die Pflanzengesundheit gewährleisten. In der landwirtschaftlichen Pflanzenproduktion führen ungünstige Umweltbedingungen, wie Wasser- oder Salzstress oder der Wurzelbefall durch Schaderreger, zu erheblichen Ertragsverlusten. Molekulare und biochemische Prozesse, die in Wurzeln zur Stressadaptation aktiviert werden, sind kaum bekannt. Dies beruht vor allem auf fehlenden, genetischen Modellsystemen, mit welchen Wurzelantworten und -verhalten untersucht werden könnten. Wir stellen hier ein Agrobakterium-vermitteltes Wurzeltransformationssystem vor, welches eine schnelle funktionelle Analyse von Genen bzw. Proteinen innerhalb von etwa acht Wochen erlaubt. Die vorgestellten Daten zeigen die Robustheit und Effizienz des Systems hinsichtlich der stabilen Überexpression oder Suppression von Genen und demonstrieren dessen Nutzen für das Studium von Pflanzenwurzeln-Mikroben Interaktionen.

25-4 - Hückelhoven, R.; Huesmann, C.; Preuss, J.; Eichmann, R.; Höfle, C.  
Technische Universität München

### **Effektor-vermittelte Anfälligkeit der Gerste gegen *Blumeria graminis* f. sp. *hordei***

Die Anfälligkeit gegen pathogene Mikroorganismen stellt in der Natur eine Ausnahme dar, die durch die Funktion von pathogenspezifischen Virulenzfaktoren erklärbar ist. Die molekularen Mechanismen der Anfälligkeit in Pflanzen gegen phytopathogene Pilze sind wenig verstanden. Wir haben in rückwärts-gerichteten genetischen Studien die Gersten GTPase RACB als Anfälligkeitsfaktor der Gerste identifiziert. Die transiente oder stabile Expression von aktiviertem RACB fördert die Anfälligkeit gegen *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (Bgh), während der knock down die Anfälligkeit limitiert. In Untersuchungen zum Mechanismus der RACB-abhängigen Prozesse zeigte sich eine Funktion der GTPase in der zellulärer Polarität und Genexpression. Protein-Protein-Interaktionsstudien zeigen eine Vernetzung von RACB mit dem Zytoskelett und mit Signalübertragungsproteinen. Darüber hinaus haben wir pilzliche Proteine identifiziert, die RACB binden und die Interaktion mit Bgh beeinflussen können. Die Funktion dieser Proteine als Virulenzfaktoren/Effektoren von Bgh in der Anfälligkeit von Gerste wird diskutiert.

25-5 - Pröls, R.<sup>1)</sup>; Pathuri, I.P.<sup>1)</sup>; Oberhollenzer, K.<sup>1)</sup>; Hensel, G.<sup>2)</sup>; Kumlehn, J.<sup>2)</sup>; Hückelhoven, R.<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> Technische Universität München; <sup>2)</sup> Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben

### **Stabil transgene HvrBOHF2 Knock-down Gerstenpflanzen zeigen erhöhte Suszeptibilität gegenüber dem Echten Mehltaupilz *Blumeria graminis* f. sp. *hordei***

Knock-down of HvrBOHF2 in transgenic barley results in enhanced susceptibility to fungal penetration

Reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) kommt eine entscheidende Funktion in der Interaktion von Pflanzen mit mikrobiellen Pathogenen zu. Membranständige NADPH-Oxidasen (Respiratory burst oxidase homologues, RBOHs) sind an der Bildung von ROS im Verlauf von Pflanze-Pathogen Interaktionen beteiligt. Darüber hinaus

kommt den NADPH-Oxidasen eine Funktion in der Pflanzenentwicklung, der Wundantwort und bei der Anpassung an abiotische Stressfaktoren zu.

Um die Funktion von HvRBOHF2 besser zu verstehen, haben wir stabil transgene Gerstenpflanzen generiert, die einen dsRNS-vermittelten Knock-down von HvRBOHF2 aufweisen. Wir haben drei dieser Knock-down Linien auf basale Resistenz gegenüber *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (Bgh) getestet und sehen eine erhöhte Anfälligkeit. Die H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Produktion nach Pathogenbefall sowie der flg22-induzierte oxidative burst waren nicht signifikant verändert, wie mit 3,3-diaminobenzidine (DAB) bzw. einem Luminol basierten Assay nachgewiesen werden konnte. Die Lokalisation der DAB Färbung war jedoch verändert, so dass wir mehr DAB Färbung an antiklinalen Zellwänden und weniger an Papillen in den HvRBOHF2 Knock-down Linien vorfinden. Eine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Produktion an antiklinalen Zellwänden weist auf erfolgreiche Penetration des Pilzes hin, wohingegen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Produktion an Zellwandverdickungen mit erfolgreicher Abwehr der Penetration in Verbindung steht. Die Knock-down Linien sind zudem durch einen verwundungsinduzierten Zelltod-Phänotyp gekennzeichnet. Normalerweise beobachtet man in Pflanzen Nekrosen nur in den unmittelbar benachbarten Bereichen zu der Verwundungsstelle. In den Knock-down Linien breiteten sich jedoch die nekrotischen Bereiche von der Verwundungsstelle aus und setzten sich im Verlauf mehrerer Tage bis an die Blattbasis fort. HvRBOHF2 könnte somit eine weitere Funktion in der Regulierung des verwundungsinduzierten Zelltods zukommen. Eine mögliche Funktion von HvRBOHF2 in der Zelltodregulation wird durch die Beobachtung untermauert, dass voll entwickelte, etwa drei Wochen alte Blätter Stellen von spontanem Zelltod im Mesophyllgewebe zeigen. Zudem weisen die HvRBOHF2 Knock-down Linien veränderte Enzymaktivitäten von Schlüsselenzymen des Zuckerstoffwechsels auf. Die Daten zeigen einen wichtigen Beitrag von Gersten RBOHF2 bei der Entwicklung von nicht-spezifischer Resistenz gegen Echten Mehltau und bei der Kontrolle von Programmierem Zelltod im Blatt.

25-6 - Eichmann, R.; Ostertag, M.; Weis, C.; Hückelhoven, R.  
Technische Universität München

### **BAX INHIBITOR-1 – ähnliche Proteine als Regulatoren der Interaktionen von Pflanzen mit Echten Mehltaupilzen**

Insbesondere biotroph lebende Pflanzenpathogene sind vermutlich in der Lage, basale Abwehrreaktionen der Pflanze zu unterdrücken und den Wirtsorganismus zu ihren Gunsten zu regulieren. Dies geschieht möglicherweise durch die Ansteuerung von Wirtsspezifischen Anfälligkeitsfaktoren durch pathogenspezifische Effektoren. Das BAX INHIBITOR-1 Protein der Gerste ist ein Zelltodregulatorprotein und ein Anfälligkeitsfaktor in der Interaktion mit dem Echten Gerstenmehltaupilz (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*, Bgh). Die transiente und stabile Herauf- bzw. Herunterregulierung der BI-1 Expression fördern bzw. verringern die Besiedlungserfolg des Pilzes (Hückelhoven et al. 2003; Eichmann et al. 2004; Babaeizad et al. 2009). Wir haben in Gerste und der dikotylen Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* BI-1 homologe sowie strukturverwandte BI-1-ähnliche Proteine identifiziert und deren Funktion in der Interaktion mit virulenten Echten Mehltaupilzen untersucht. Die Ergebnisse deuten eine konservierte Funktion dieser Proteine sowohl in der Anfälligkeit gegenüber Mehltau als auch in der Regulation von (pathogenabhängigen) Zelltodreaktionen an.

Literatur

[1] Hückelhoven et al. 2003 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100: 5555-5560.

[2] Eichmann et al. 2004 Mol. Plant-Microbe Interact. 17: 484-490.

[3] Babaeizad et al. 2009 Theor. Appl. Genet. 118: 455-463.

25-7 - Wensing, A.<sup>1)</sup>; Al-Karablieh, N.<sup>1)</sup>; Ullrich, M. S.<sup>1)</sup>; Geider, K.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Jacobs University Bremen; <sup>2)</sup> Julius Kühn-Institut

### **Rolle des Autoinduktors 2 in der Virulenz von *Erwinia amylovora***

Die Signalwirkung von Autoinduktoren wurde durch Überexpression und Mutagenese der beteiligten Gene untersucht. AI-2 beeinflusst die EPS-Synthese, aber nicht die Virulenz des Feuerbranderreger.

25-8 - Kössler, P.<sup>1)</sup>; Surup, F.<sup>2)</sup>; Grond, S.<sup>3)</sup>; Karlovsky, P.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Georg-August-Universität Göttingen; <sup>2)</sup> Harvard University, USA; <sup>3)</sup> Eberhard-Karls-Universität Tübingen

## **Einfluss von Sekundärmetaboliten auf die Thaxtomin A Biosynthese**

Influence of secondary metabolites on Thaxtomin A biosynthesis

Bakterielle sowie pflanzliche Sekundärmetaboliten sind ein außerordentlich großes Reservoir an Stoffen, welche gegen Erkrankungen bei Säugetieren aber auch zum Schutz von Pflanzen gegenüber Phytopathogenen genutzt werden können. Während die Suche nach praktisch nutzbaren Naturstoffen seit Jahrzehnten intensiv betrieben wird, ist die biologische Funktion bei der Mehrheit dieser Stoffe völlig unbekannt. In der Phytopathologie verbinden sich die beiden Forschungsrichtungen, da Sekundärmetaboliten zum einen als Virulenz- bzw. Pathogenitätsfaktoren von Krankheitserregern wirken und Naturstoffe zum anderen als Leitsubstanzen für die Entwicklung von Pflanzenschutzmitteln dienen.

Neben direkten Wirkungen von Sekundärmetaboliten auf pflanzliche Schaderreger spielen viele bioaktive Stoffe auch bei der Regulation komplexer Sachverhalte eine wichtige Rolle.

Ziel der hier präsentierten Untersuchungen war es, den Einfluss des aus *Streptomyces bottropensis* Dra 17 isolierten bioaktiven Stoffes Iromycin A bei der Penetration von Kartoffeln näher zu untersuchen. Die Fähigkeit von Streptomyceten Wirtspflanzen befallen zu können, korreliert hierbei direkt mit den Produktionsvermögen des Phytotoxins Thaxtomin A. Bei der Biosynthese von Thaxtomin A wird Stickstoffmonoxid (NO) durch eine Stickstoffmonoxid-synthase (NOS) auf die Aminosäure Tryptophan übertragen und bewirkt eine direkte Nitrierung. Da Iromycine als bekannte NO Synthaseinhibitoren fungieren, wurde zunächst anhand von Fütterungsexperimenten der Einfluss von Iromycin A auf die Thaxtomin A Produktion überprüft. Bei HPLC-DAD sowie HPLC-MS Auswertungen ergab sich eine dosisabhängige Verringerung der Thaxtomin A Produktion von etwa 40 % bei *Streptomyces bottropensis*. Weitere Untersuchungen an *Streptomyces scabies* ergaben weitaus stärkere inhibitorische Effekte. Dadurch konnte erstmals nachgewiesen werden, dass Iromycin A an *Streptomyces bottropensis* Dra 17 einen regulativen Charakter bezüglich der Produktion des Phytotoxins Thaxtomin A aufweist.

Bei Fütterungsexperimenten mit dem Disaccharid Cellobiose sollte überprüft werden, ob neben den literaturbekannten Effekten auf die Thaxtomin A Produktion auch ein Einfluss auf die Iromycin Bildung festzustellen ist. Analog zu Loria et al. (1994) konnte auch bei *Streptomyces bottropensis* ein starker Anstieg von Thaxtomin A nach Cellobiose-Fütterung detektiert werden und der induzierende Effekt von Cellobiose auf die Produktion des Phytotoxins Thaxtomin A bestätigt werden. Ferner konnte auch eine verstärkte Produktion der Iromycine A und B in hierzu optimierten Flüssigkulturen nachgewiesen werden. Die gewonnenen Erkenntnisse geben einen weiteren Anhaltspunkt dafür, dass die Regulation der Biosynthesen von Thaxtomin A und Iromycin A streng miteinander korrelieren.

Hierauf aufbauend wurden im Weiteren Untersuchungen zur Produktionsdynamik von Iromycinen und Thaxtomin *in planta* sowie der Einfluss der Einzelmetaboliten auf das pflanzliche Wachstum geprüft. Analog zu den Fütterungsexperimenten wurde neben der Detektion der Sekundärmetaboliten mittels HPLC-DAD und HPLC-MS auch die bakterielle Biomasse mittels quantitativer Real-Time PCR ermittelt.

## **Sektion 26 – Rechtliche Rahmenbedingungen II**

26-1 - Zornbach, W.

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz

### **EU-Pflanzenschutz-Rahmenrichtlinie – Die nationale Umsetzung als Chance für die Zukunft des Pflanzenschutzes in Deutschland**

EU-Pesticide Framework Directive – The national implementation as opportunity for the future of plant protection in Germany

Die Richtlinie 2009/128/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 21. Oktober 2009 über einen Aktionsrahmen der Gemeinschaft für die nachhaltige Verwendung von Pestiziden (Pflanzenschutz-Rahmenrichtlinie) ist in ihren wesentlichen Teilen bis zum 26. November 2011 in nationales Recht umzusetzen. Der "Nationale Aktionsplan zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln" wird ein Jahr später bei der Europäischen Kommission vorzulegen sein. Ab dem 1. Januar 2014 werden sich alle Anwender von