

---

## Sektion 24 - Wirt-Parasit-Beziehungen

---

### 24-1 - Conrath, U.

Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen

#### Molekulare Aspekte des Abwehrprimings in Pflanzen

*Molecular aspects of defense priming in plants*

Pflanzen können nach einem Befall von Krankheitserregern oder nach einer Behandlung mit bestimmten Pflanzenschutzmitteln für verstärkte Abwehrreaktionen vorbereitet ("geprimt") werden. Damit ist eine erhöhte Krankheitsresistenz und eine verbesserte Stresstoleranz verbunden. Die molekularen Mechanismen, die dem "Priming" zugrunde liegen, waren bis vor wenigen Jahren vollkommen unbekannt.

Ich werde zeigen, dass es beim "Priming" in der Modellpflanze *Arabidopsis* zur erhöhten Akkumulation von bestimmten MAP-Kinasen kommt, die erst bei einer Folgeinfektion oder bei einem nachfolgenden Stressereignis aktiviert werden. Weil in "geprimten" Pflanzen nach der Folgeattacke mehr MAP-Kinasen aktiviert werden, kommt es in Folge zur verstärkten Aktivierung von Abwehrreaktionen, zu Krankheitsresistenz und Stresstoleranz.

Ich werde auch zeigen, dass es beim "Priming" von Abwehrgenen zu spezifischen Chromatinmodifikationen kommt, die eine verbesserte Genaktivierung nach einer Folgeattacke oder einem nachfolgenden Stressereignis ermöglichen. Diese Chromatinmodifikationen scheinen als molekulares Gedächtnis beim "Priming" zu wirken.

### 24-2 - Hückelhoven, R.; Eichmann, R.; Huesmann, C.; Reiner, T.; Hoefle, C.

Technische Universität München

#### Molekulare Mechanismen der Anfälligkeit von Gerste und Ackerschmalwand gegen Echte Mehltaupilze

*Molecular mechanisms of susceptibility of barley and Arabidopsis thaliana to powdery mildew*

Die Anfälligkeit von Pflanzen gegen Krankheiten stellt in der Natur eine Ausnahme dar. Das Verständnis von molekularen Mechanismen der Anfälligkeit wird zunehmend als Grundlage zur züchterischen Etablierung von dauerhafter Resistenz wahrgenommen. Wir haben in der Vergangenheit kleine RHO-ähnliche GTPasen und Zell-todregulatoren als Anfälligkeitsfaktoren der Gerste gegen den biotrophen Echten Mehltau *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (Bgh) beschrieben (1). Über biochemische Methoden haben wir Protein-Interaktionspartner dieser Anfälligkeitsfaktoren identifiziert und in genetischen Experimenten ihre Funktion in der Interaktion von Gerste mit Bgh und von *Arabidopsis* mit *Erysiphe cruciferarum* untersucht. Überraschenderweise zeigte sich, dass unterschiedliche Interaktionspartner in der Anfälligkeit aber auch in der Resistenz gegen Mehltaupilze fungieren. Für einige der antagonistischen Interaktionspartner konnten in Detailanalysen bereits Hinweise auf die molekulare Funktionsweise erarbeitet werden.

Die Ergebnisse werden in Bezug auf ihre physiologische Bedeutung und in Bezug auf neue Möglichkeiten des genetischen Pflanzenschutzes diskutiert (2).

Literatur

- (1) HÜCKELHOVEN, R., PANSTRUGA, R. 2011: Cell biology of the plant-powdery mildew interaction. *Current Opinion in Plant Biology* 14: 738-746.
- (2) EICHMANN, R., HÜCKELHOVEN, R., 2011: Pflanzliche Immunität und ihre Anwendung im Pflanzenschutz. *Gesunde Pflanzen* 63: 1-9

### 24-3 - Delventhal, R.; Schaffrath, U.

Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen

#### Investigating the genetic framework of barley's nonhost resistance against the "rice blast" fungus *Magnaporthe*

Species of the fungal genus *Magnaporthe* cause blast disease on economically important cereals like rice, wheat, barley and millet. Blast destroys harvests at an estimated cost of \$ 66 billion each year, which could feed 60 mil-

lion people [1]. While barley is susceptible to *M. oryzae*, it is fully resistant to non-adapted but closely related *Magnaporthe* species isolated from the grass genera *Digitaria* or *Pennisetum* [2]. Although histological investigations revealed similarities in the infection process of the adapted and non-adapted pathogen during the first 48 hours, quantitative and temporal differences regarding papilla formation and hypersensitive response could be observed. Genes and pathways possibly involved in these differences were analysed by time-course transcriptome studies of inoculated barley epidermis. Experiments with *Magnaporthe* mutants suggest that transcriptional up-regulation of some genes already takes place before attempted penetration. In a comprehensive approach (ERA-PG project TritNonhost) these data were integrated into a broad transcriptome study of barley and wheat in interactions with different major leaf pathogens.

Our objective is to trace back the genetic framework of nonhost resistance in Triticeae and provide data for knowledge-based breeding for sustainable pathogen resistance.

#### Literature

[1] PENNISI, E., 2010: Science 327: 804-805.

[2] ZELLERHOFF, N., JAROSCH, B., GROENEWALD, J.Z., CROUS, P.W., SCHAFFRATH, U., 2006: MPMI 19: 1014-1022.

### **24-4 - Löschner, E.; Hempel, M.; Kruse, K.; Horbach, R.**

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

#### **Synthese und Transport von Monorden in *Colletotrichum graminicola***

*Synthesis and transport of monorden in Colletotrichum graminicola*

Pilzliche Sekundärmetabolite, z. B. Polyketide (PK) oder nichtribosomale Peptide (NRP), wirken in zahlreichen Wirt-Parasit-Interaktionen als Virulenz- bzw. Pathogenitätsfaktoren. Obwohl vielen dieser Substanzen eine entscheidende Bedeutung für den Infektionserfolg zukommt, gibt es bisher nur in wenigen Fällen genaue Daten zu Wirkmechanismen, Synthesewegen und -zeitpunkten, was z. T. auf die schwierige Detektion *in planta* zurückzuführen ist.

Im Genom des hemibiotrophen Ascomyceten *Colletotrichum graminicola*, dem Verursacher der Anthraknose-Blattflecken und -Stängelfäule an *Zea mays*, wurden 36 Gene, die für Polyketidsynthasen (PKS) bzw. hybride PK-NRP-Synthasen codieren, identifiziert. Durch Gendelektionen und anschließende HPLC- und MS-Analysen von Flüssigkulturextrakten sollen in einem ersten Schritt zunächst synthetisch relevante PKS-Gene und die korrespondierenden Metabolite einander zugeordnet und deren mögliche Wirkung als Virulenzfaktor untersucht werden.

Zwei der deletierten PKS-Gene, sind Teil eines Clusters, dessen Genprodukte an der Synthese von Monorden beteiligt sind. Neben den PKS handelt es sich dabei um eine Halogenase und ein Cytochrom P450. Zusätzlich befindet sich ein MFS-Transporter im Cluster, der vermutlich für den Transport von Monorden durch die pilzliche Zellmembran verantwortlich ist. Monorden inhibiert das pflanzliche Hitzeschockprotein 90 (Hsp90), das einerseits für die korrekte Faltung von Proteinen verantwortlich ist, andererseits aber auch R-Proteine stabilisiert und dadurch die Erkennung pilzlicher avr-Proteine ermöglicht.

Ziel unserer Untersuchungen ist die funktionelle Charakterisierung der Gene im Monorden-Cluster, der stadienspezifische Nachweis der Monordensynthese *in planta* sowie die Analyse der inhibitorischen Wirkung von Monorden gegenüber Hsp90 von Mais bzw. *C. graminicola*.

Die Identifizierung von Pilzmetaboliten in infiziertem pflanzlichem Gewebe stellt eine Herausforderung dar. Bei der Aufarbeitung ganzer Blätter/Pflanzen dominieren pflanzliche Stoffe, welche die Detektion und Zuordnung der oft nur in vergleichsweise geringen Mengen vorkommenden pilzlichen Metabolite in nachfolgenden Messungen erheblich erschweren. Hinzu kommt, dass das Sekundärmetabolitspektrum des Pilzes nicht stadienspezifisch (z. B. biotrophe vs. nekrotrophe Phase) untersucht werden kann, da die Differenzierung von Infektionsstrukturen nicht synchron erfolgt.

Die von uns angewandte Methode der LAESI-MS (Laser Ablation Elektrospray-Ionisation Massenspektrometrie) ermöglicht es, bei Atmosphärendruck einzelne Zellen mit Hilfe eines Lasers zu verdampfen und die freigesetzten Substanzen per ESI-MS zu ionisieren und zu analysieren. Dadurch wird es möglich, gezielt infizierte pflanzliche Zellen zu untersuchen, die sich in einer bestimmten Phase der Infektion (z. B. biotrophe Phase) befinden. Die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse geben Aufschluss über die stadienspezifische Synthese von pilzlichen und pflanzlichen Metaboliten während der Pathogenese.

**24-5 - Oliveira-Garcia, E.; Deising, H. B.**

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**The Beta-1,3-Glucan-synthase is essential for the pathogenic development of maize pathogen *Colletotrichum graminicola***

Beta-1,3-Glucan is an essential structural cell wall component of all fungi and oomycetes, and pharmacological studies with fungi infecting humans suggest that Beta-1,3-glucan synthase is required for pathogenicity. However, functional analyses of the role of the Beta-1,3-glucan synthase gene, encoding the catalytic subunit of the Beta-1,3-glucan synthase complex, in pathogenesis is lacking.

Fluorescence intensities measured in infection structures of *Colletotrichum graminicola* harboring a GLS1:eGFP replacement construct and after staining with fluorochrome-conjugated aniline blue suggest that Beta-1,3-glucan synthesis occurs predominantly in conidia, appressoria and necrotrophic hyphae. As targeted deletion of the single-copy Beta-1,3-glucan synthase gene GLS1 failed, we established and used RNA interference (RNAi) to generate transformants gradually differing in GLS1 transcript abundance. RNAi strains showed reduced rates of vegetative growth, abnormal conidiation and pigmentation and exhibited severe hyphal cell wall defects. Furthermore, GLS1 is essential for infection-related morphogenesis ex- and in-planta. Appressoria of RNAi strains had reduced turgor pressure and elastic cell walls showing inefficient melanin incorporation. Appressoria were unable to adhere and penetrate intact maize leaves but formed biotrophic primary hyphae on the cuticle. In wounded leaves, pathogenic development of RNAi strains was retarded and necrotrophic secondary hyphae were severely distorted. Expression in RNAi strains of eGFP under the control of biotrophy- and necrotrophy-specific promoters suggests that Beta-1,3-glucan synthesis is not essential in biotrophic, but indispensable in necrotrophic hyphae.

**24-6 - Wöhner, T.<sup>1)</sup>; Vogt, I.<sup>1)</sup>; Richter, K.<sup>1)</sup>; Wensing, A.<sup>1)</sup>; Geider, K.<sup>1)</sup>; Sundin, G.-W.<sup>2)</sup>; Savory, E.-A.<sup>2)</sup>; Day, B.<sup>2)</sup>; Hanke, V.<sup>1)</sup>; Gessler, C.<sup>3)</sup>; Brogini, G.<sup>3)</sup>; Fahrenttrapp, J.<sup>3)</sup>; Peil, A.<sup>1)</sup>; Flachowsky, H.<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup> Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

<sup>2)</sup> Michigan State University, U.S.A.

<sup>3)</sup> ETH Zürich, Schweiz

**Nachweis für die Existenz unterschiedlicher Wirt-Pathogen-Interaktionen zwischen dem Wildapfel *Malus × robusta 5* und dem Erreger des Feuerbrandes (*Erwinia amylovora*) mittels QTL-Kartierung**

Feuerbrand zählt zu den gefährlichsten Pflanzenkrankheiten im Kernobstanbau weltweit. Die Krankheit wird verursacht durch das Bakterium *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow. Eine effektive Bekämpfung des Feuerbrandes ist zurzeit nur mit streptomycinhaltigen Pflanzenschutzmitteln möglich. Deren Anwendung ist in Deutschland jedoch nur in Ausnahmefällen möglich. Ein Ausweg aus dieser Situation wird unter anderem auch im Anbau resistenter Sorten gesehen. Viele der im Anbau erfolgreichen Apfelsorten sind jedoch anfällig gegenüber Feuerbrand. Aus diesem Grund stellt die Züchtung feuerbrandresistenter Apfelsorten eines der Hauptziele in vielen Züchtungsprogrammen in der Welt dar. Resistenzen sind hauptsächlich bei Apfelwildarten beschrieben. Diese dienen somit als wichtige genetische Ressource für die Resistenzzüchtung.

Bei einer ersten QTL-Kartierung in der Kreuzungspopulation 'Idared' × *Malus × robusta 5* (Mr5) mit dem *Erwinia amylovora* Erregerstamm Ea222 konnte ein QTL auf Chromosom 3 in Mr5 detektiert werden. Das führt zu der Annahme, dass die Resistenz gegen Feuerbrand in Mr5 von einem einzelnen Gen determiniert wird. Auch nach Inokulation mit dem Wildtypstamm Ea1189 konnte der QTL auf Chromosom 3 nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu brach der QTL in Mr5 nach der Inokulation mit der *avrRpt2* Deletionsmutante pZYRKD3-1 des Stammes Ea1189 zusammen. Die durchschnittliche Länge der Triebnekrose aller Nachkommen betrug 77 % und 40 % für die beiden Stämme pZYRKD3-1 und Ea1189. Die Ergebnisse deuten auf eine Gen-für-Gen Beziehung zwischen einem Resistenzgen des Wirtes und dem bakteriellen Effektorgen *avrRpt2* von *E. amylovora* hin.

Bei der Evaluierung der Apfelwildartenhybride *Malus × robusta 5* sowie weiterer resistenter und anfälliger Apfelnentypen mit unterschiedlichen *Erwinia*-Stämmen konnten neben der Deletionsmutante zwei weitere Stämme gefunden werden, welche die Resistenz von Mr5 brechen. Die Stämme Ea 110 und Ea 3050 verursachten eine durchschnittliche Triebnekrose von 28 % und 30 %. Die durchschnittliche Triebnekrose betrug bei den anfälligen Apfelsorten zwischen 40 und 87 %. Die resistenten Apfelwildarten *Malus fusca*, *Malus floribunda* und *Malus baccata* zeigten keine Symptome gegenüber allen getesteten Stämmen des Erregers. Diese Ergebnisse weisen auf unterschiedliche Resistenzmechanismen in der Wirt-Pathogen-Beziehung *Malus – E. amylovora* hin.