

introducing any unwanted changes in the genome. By using an optimized protocol which allows the introduction of two marker-free gene deletions in one round of transformation, we have started to eliminate all known phytotoxic compounds (toxins, oxalic acid, necrosis and hypersensitive response inducing proteins, polygalacturonases) in a single strain. Phenotypic characterizations of 6x and 8x mutants revealed relatively weak reductions in their virulence, which indicates a limited role of many phytotoxic compounds, and the existence of as yet unknown factors that are important for the ability of *Botrytis* to efficiently kill the host cells during invasion.

#### Literatur

Leisen, T. et al., 2020: CRISPR/Cas with ribonucleoprotein complexes and transiently selected telomere vectors allows highly efficient marker-free and multiple genome editing in *Botrytis cinerea*. PLOS Pathogens 16(8): e1008326.

Hahn, M., G. Scalliet G, 2021: One cut to change them all: CRISPR/Cas, a groundbreaking tool for genome editing in *B.cinerea* and other fungal plant pathogens. Phytopathology (<https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-20-0379-PER>)

### **30-3 - Charakterisierung der Mannosyltransferase Gene *CMS1* und *CMS2* des Maispathogens *Colletotrichum graminicola***

*Characterization of the core mannosyl transferase genes CMS1 and CMS2 of the maize pathogen Colletotrichum graminicola*

**Angie Buchold, Alan De Oliveira Silva, Holger B. Deising**

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftliche Fakultät III, Institut für Agrar-und Ernährungswissenschaften, Lehrstuhl für Phytopathologie und Pflanzenschutz, Betty-Heimann-Str. 3, 06120 Halle (Saale). E-Mail: holger.deising@landw.uni-halle.de

Der Erreger der Mais Anthraknose und Stängelfäule, hervorgerufen durch den zu den Pezizomycotina zählenden Pilz *Colletotrichum graminicola*, verursacht weltweit enorme Ernteausfälle. Während die Bedeutung von Chitin und  $\beta$ -Glukanen für die Zellwandstabilität verschiedener phytopathogener Pilzen gezeigt wurde, ist die Rolle polymerer pilzlicher Galaktomannane (*fungus-type galactomannans*, FTGM) in diesen Pathogenen unklar. FTGBs bestehen aus  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-/ $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Mannosyl-Einheiten, die  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 5)-/ $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Galactofuranosyl-Seitenketten tragen. Da FTGMs in der Zellwand kovalent mit  $\beta$ -Glukanen und indirekt mit Chitin verbunden sind, kann man annehmen, dass diese Polymere strukturell relevant und damit erforderlich für die Zellwandfunktion in vegetativen und pathogenen Hyphen sind.

Die Enzyme Cms1 und Cms2 (*core-mannan synthases* 1 and 2) synthetisieren im Golgi-Apparat  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-/ $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6)-Mannosyl-Polymere. Um die Bedeutung von Cms1 und Cms2 für die Zellwandstabilität in vegetativen Hyphen sowie in auf und in den Wirtszellen differenzierten Infektionsstrukturen von *C. graminicola* zu untersuchen, wurden die Deletionsmutanten  $\Delta$ *cms1* und  $\Delta$ *cms2* erzeugt. Während vegetative Hyphen der  $\Delta$ *cms1* Mutanten Zellwanddefekte zeigten, aber ohne osmotische Stabilisierung wachsen konnten, waren  $\Delta$ *cms2* Mutanten nicht in der Lage ohne osmotische Stabilisierung zu wachsen. Osmotisch stabilisierte Hyphen zeigten massive Defekte, dramatisch reduzierte Wachstumsraten und fehlende Sporulation. Erste Infektionsanalysen zeigten die reduzierte Virulenz der  $\Delta$ *cms1* Mutanten.

Finanzierung: ESF