

50-4 - Molecular quantification of the endophytic entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and impact of water stress on colonization success

*Molekulare Quantifizierung der endophytischen entomopathogenen Pilze (*Beauveria bassiana* und *Metarhizium anisopliae*) und die Wirkung von Trockenstress auf den Erfolg der Kolonisation*

Dalia Muftah Alkhatay, Petr Karlovsky, Stefan Vidal

Georg-August Universität, Fakultät für Agrarwissenschaft, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Fachgebiet für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Abteilung Agrarentomologie

Several strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* are reported to endophytically colonize different crop plants, including tomato. In this research we designed strain specific primers to quantify the colonization of the tomato plants by one strain of *Beauveria bassiana* and two strains of *Metarhizium anisopliae* to the level of femtograms with real-time PCR, and assessed the influence of water stress conditions on colonization rates of *Beauveria bassiana* EAb04/01-Tip. The experiment was conducted under greenhouse conditions with two plant's groups, control and root inoculated plants, where each group, consisting of forty plants, was divided into two sub-groups for different watering regimes. At flowering stage, roots and newly emerged leaves were sampled to compare the fungal colonization rate using real-time PCR.

Literatur

- LANDA, B. B., LOPEZ-DIAZ, C., JIMENEZ-FERNANDEZ, D., MONTES-BORREGO, M., MUNOZ-LEDESMA, F. J., ORTIZ-URQUIZA, A., QUESADA-MORAGA, E., 2013: In-plant detection and monitorization of endophytic colonization by a *Beauveria bassiana* strain using a new-developed nested and quantitative PCR-based assay and confocal laser scanning microscopy. *J. Invertebr. Pathol.* **114** (2), 128-138.
- OWNLEY, BONNIE H., GRIFFIN, MARY R., KLINGEMAN WILLIAM E., GEWINN, KEMBERLY D., MOULTON, J. KEVIN, PEREIRA, ROBERTO M., 2008: *Beauveria bassiana*: Endophytic colonization and plant disease control. *J. Invertebr. Pathol.* **98** (3), 267-270.
- QUESADA-MORAGA, E., LOPEZ-DIAZ, C., LANDA, B. B., 2014: The hidden habit of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: First demonstration of vertical plant transmission. *Journal.pone*. 0089278, open access, PLOS ONE.
- SASAN, RAMANPREET K., BIDOCHKA, MICHAEL J., 2012: The insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. *Am. J. Bot.* **99** (1), 101-107.

50-5 - Entwicklung einer neuartigen Sprühformulierung für endophytische entomopathogene Nutzpilze gegen Schadinsekten

Development of novel spray formulations for endophytic entomopathogenic fungi against insect pests

Desiree Jakobs-Schönwandt, Rieke Lohse, Peter Spieth, Annika Lemke, Anant Patel

Fachhochschule Bielefeld, Ingenieurwissenschaften und Mathematik, AG Fermentation und Formulierung von Zellen und Wirkstoffen

Eine innovative Möglichkeit Kulturpflanzen wie Tomate und Raps auf biologische Weise vor dem Befall von Schadinsekten zu schützen, besteht in der Nutzung von endophytischen entomopathogenen Pilzen wie *Beauveria bassiana* und *Metarhizium anisopliae*. Das Ziel unserer Forschung liegt in der Entwicklung geeigneter Sprühformulierungen, um die Pilze bei der Applikation zu schützen und um die Penetration und Kolonisierung der Pflanzen zu verbessern. Zur Entwicklung optimaler Sprühformulierungen wurden der Einfluss von Benetzungsmitteln, Nährstoffen, UV-Schutzmitteln und weiterer Adjuvantien auf die Reduktion der Oberflächenspannung sowie des Kontaktwinkels untersucht. Ebenso wurde die Steigerung der Keimfähigkeit der Sporen, die Verbesserung der Kolonisierung der Pflanzen und die Erhöhung der Wirksamkeit gegen verschiedene Schaderreger bei der Entwicklung berücksichtigt. Zum Nachweis der endophytischen Pilze in Pflanzengewebe wurden verschiedene sich ergänzende Methoden wie Mikroskopie, Resolierung, molekularbiologische Analysen und Mortalitätstests eingesetzt. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass durch die Wahl einer optimierten Sprühformulierung bestehend aus NIS3,

Melasse, Titandioxid und Sporen die Penetration der Rapsblätter verbessert werden kann (Abbildung. 1)

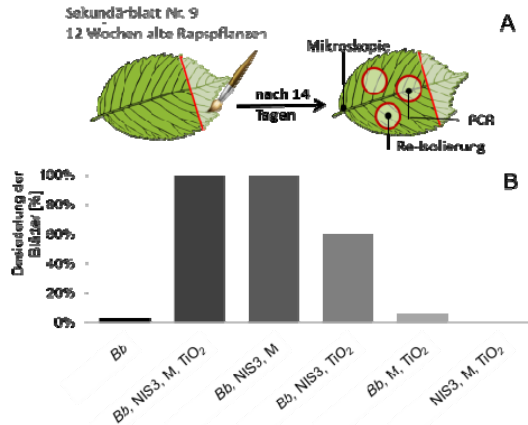


Abb. 1 A: Versuchsdurchführung; B: Einfluss der Formulierung auf die Penetration von Rapsblättern detektiert mittels Lichtmikroskopie.

NIS3 Benetzungsmittel, M Melasse, TiO₂ UV-Schutzmittel, Bb = 10 Sporen/ml

Darüber hinaus konnte auch die endophytische Kolonisierung der Pflanzen durch die Verwendung von Sprühformulierungen ermöglicht werden. So wuchs *B. bassiana* im Rahmen von Re-isolierungsexperimenten aus 16 % bzw. 24 % der neu gewachsenen Blätter aus. Dieses Ergebnis wurde durch die Verwendung von *B. bassiana* spezifischen PCR Primern verifiziert. Mittels Lichtmikroskopie konnten in 100 % aller behandelten Rapspflanzen Pilzhyphen nachgewiesen werden.

Verschiedene Ergebnisse zu Penetrationsmechanismus und Wirksamkeitstests an Tomate, Raps und Wein werden gezeigt.

50-6 - Defense responses in *Arabidopsis* against root-knot nematode, initiated by an endophytic *Fusarium oxysporum*

*Einfluss eines endophytischen *Fusarium oxysporum* auf die pflanzliche Abwehr von *Arabidopsis* gegen Wurzelgallennematoden*

Alexander Schouten, Catherine Bogner, Getaneh Zewdu, Matheus Kuska, Alfonso Martinuz, Florian Grundler

Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, INRES - Molekulare Phytomedizin

Endophytic *Fusarium oxysporum* isolates can systemically repress the infection of both sedentary and burrowing nematodes in various plant species. Genome array studies in tomato show that such endophytes can significantly modify the plant gene expression profile. This modification is more dramatic when compared to applying methyl jasmonate or salicylic acid, which are known for eliciting induced systemic resistance (ISR) or systemic acquired resistance (SAR), respectively. In *Arabidopsis* too, *F. oxysporum* endophytes can develop endophytically and systemically reduce infection by the sedentary root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Because of the extensive molecular knowledge and the availability of a significant number of well-characterized mutants,