

088 - Infection structures on the leaves of Satsuma mandarin pre-treated with some effective rhizobacteria after inoculation with *Diaporthe citri*

Yun Jung Ko, Yong Chull Jeun

Jeju National University, South Korea

Citrus melanose caused by *Diaporthe citri* is one of the main diseases which instigate the use of chemical pesticides in cultivating Satsuma mandarin in Jeju. As an alternative strategy, biological control using microorganism has been sustained since last decade. In this study, the possibility of disease control using rhizobacteria against citrus melanose was investigated. Over 100 rhizobacteria were isolated from the rhizosphere of annual plants in Halla Mountain. Some of them such as THJ609-3, MRL 408-3 and TRH423-3 showed suppression of disease severity in the leaves of Satsuma mandarin after inoculation with the melanose pathogen not only in the green house test but also in the field test. The microscopical observation using a fluorescence microscope showed that number of conidia was decreased on the leaves of Satsuma mandarin pre-treated with rhizobacteria. Furthermore, scanning electron microscopical observations revealed some hyphae of melanose pathogen were attached by the rhizobacteria on the leaves of Satsuma mandarin indicating direct antagonistic effect of the rhizobacteria to the melanose pathogen. Based on these results it is suggested that the rhizobacteria may be useful as biological agents to protect citrus melanose on Satsuma mandarin.

091 - Impact of *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces* sp. and their secondary metabolites on suppressing *Fusarium graminearum*

Auswirkungen von Trichoderma harzianum, Paecilomyces sp. und deren Sekundärmetabolite auf die Unterdrückung von Fusarium graminearum

Abbas El-Hasan, Tobias Krahl, Frank Walker, Jochen Schöne, Ralf Vögele

Institute for Phytomedicine (360a), University of Hohenheim, 70599 Stuttgart, Germany

Fusarium graminearum (teleo. *Gibberella zeae*) is the causal agent of several destructive cereal crops diseases worldwide. In the absence of high levels of resistance to *F. graminearum* within commercial wheat cultivars, and due to the downsides of chemical fungicides application, development of an alternative strategy to maintain populations of the pathogen at low levels is by application of biocontrol agents (BCAs). In the present study we have evaluated the potential of two isolates of *Trichoderma harzianum* (T23 and T16), an isolate of *Paecilomyces* sp. and their secondary metabolites in suppressing *F. graminearum* *in vitro*. The results obtained from dual culture and volatile metabolites assays showed that in the presence of either *T. harzianum* or *Paecilomyces* sp, mycelial growth of *F. graminearum* was considerably inhibited. Microscopic examination has also demonstrated that the BCAs were capable to parasitize fusarial mycelia.

Following the bioautographic investigations using culture filtrates of *T. harzianum* and *Paecilomyces* sp. isolates revealed that several antifungal secondary metabolites had been excreted. The active metabolites were isolated, fractionated and purified by TLC and preparative-HPLC. Two previously identified active metabolites, namely 6-pentyl- α -pyrone (6PAP) and viridiofungin A (VFA), from extracts of isolate T23, two metabolites (F116 and F416) from extracts of isolate T16 and one metabolite (FP2) from extract of *Paecilomyces* sp. exhibited pronounced fungitoxic activity in bioautography and disk diffusion assays against *Cladosporium* sp. and *F. graminearum*, respectively.

When the metabolites were amended in PDB containing conidia suspension of *F. graminearum*, conidia germination and elongation of germ tubes were substantially retarded. In the presence of 200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ of 6PAP or PF2 germination of conidia was completely diminished. Similar doses of the

remaining metabolites significantly differentiated in relation to the percentages of germinated conidia and elongation of germ tubes.

On the other hand, all metabolites tested by the given concentration markedly restrained perithecial development by *Gibberella zeae* on carrot agar. Comparing to the control treatments, around 80% inhibition of perithecial formation has been achieved by either 6PAP or PF3, respectively.

Moreover, after treatments with either 6PAP or PF3, ascospores discharge from mature perithecia was entirely suppressed. The other metabolites, however, significantly differed in relation to the number of ascospores released. Similarly, ascospores germination completely inhibited by similar doses of 6PAP or PF2. The other tested metabolites appeared to be either moderate (F116 and VFA) or slight (F416) inhibitors for ascospores germination.

The obtained results confirmed that *T. harzianum* and *Pacilomyces* sp. isolates meet several criteria essential for effective biocontrol agents. Such metabolically diverse microorganisms might contribute in controlling *F. graminearum*. This conclusion, however lead us to extend our current research on the plant-pathogen level to improve the reliability of the biocontrol.

092 - Untersuchungen zum antagonistischen Potential verschiedener Ascomyceten gegenüber pilzlichen Pflanzenkrankheitserregern

Studies on the antagonistic potential of different ascomycetes against fungal plant pathogens

Eckhard Koch, Andreas Horn, Lena Goltermann, Hiacynta Jelen

Julius Kühn-Institut, Institut für Biologischen Pflanzenschutz

Im Beitrag werden *in vitro* Untersuchungen mit den Ascomyceten *Melanospora zamiae* und *Persiciospora moreau* (Ordnung Melanosporales) sowie einem Isolat von *Chaetomium globosum* (Ordnung Sordariales) vorgestellt.

M. zamiae und *P. moreau* treten assoziiert mit **Fusarium**-Arten auf und werden gemeinsam mit diesen aus befallenen Pflanzen isoliert. Beide Arten lassen sich auf nährstoffreichen Agarmedien kultivieren und bilden Perithezien. Auf nährstoffarmen Medien, wie SNA, wachsen die Pilze in Reinkultur nur sehr langsam und die Perithezienbildung unterbleibt. Werden sie dagegen auf SNA gemeinsam mit Fusarien kultiviert, wachsen sie deutlich schneller und sind auch zur Perithezienbildung befähigt. Bei *M. zamiae* wurde dies bei gemeinsamer Kultivierung mit verschiedenen Isolaten von *F. solani* beobachtet, im Falle von *P. moreau* bei Kultivierung mit *F. oxysporum* und *F. proliferatum*. *In vitro* bilden *M. zamiae* und *P. moreau* klammerartige Strukturen in Kontakt mit den Hyphen ihrer "Wirte", die aber dadurch anscheinend kaum geschädigt werden. Auf Kulturfiltrate von *M. zamiae* enthaltenden Nährmedien war das Wachstum von darauf hin untersuchten Fusarien und anderen phytopathogenen Pilzen nicht gehemmt.

Dagegen ist von verschiedenen Arten der Gattung *Chaetomium* bekannt, dass sie Metaboliten mit fungiziden bzw. bakteriziden Eigenschaften bilden. In eigenen Versuchen war das Wachstum von *Phytophthora infestans*, *Alternaria brassicicola*, *Fusarium culmorum* und insbesondere *Drechslera* sp. auf Medien, die Kulturfiltrate von *C. globosum* enthielten, im Vergleich zu normalen Medien reduziert. Nach Anzucht von Gerste in Topfsubstrat mit Zusatz (3%) von *C. globosum*-Inokulum und Ernte im 2-Blattstadium konnte aus der Mehrzahl der Pflanzen nach Auslegen auf Nähragar *C. globosum* aus Wurzeln, Bestockungsknoten und ersten Blättern isoliert werden.

Aufbauend auf den bisher gewonnenen Ergebnissen sind weitere Versuche zum antagonistischen Potential der genannten Ascomyceten geplant. Im Falle von *M. zamiae* und *P. moreau* zeichnet sich eine hohe Spezifität ab, und es ist zu prüfen, ob die *in vitro* beobachteten Interaktionen auch *ad planta* wirksam sind und den Befall mit Fusarien wirklich beeinträchtigen. In der Literatur liegen nur wenige Arbeiten dazu vor. Für zukünftige Untersuchungen mit *C. globosum* sind einerseits die