

102 - Biologischer Pflanzenschutz im Rapsanbau: Ein Versuch, den entomopathogenen Pilz *Beauveria bassiana* als Endophyt in Rapspflanzen zu etablieren

Biological control in oilseed rape: An attempt to establish the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana as an endophyte in oilseed rape plants

Cornelia Ullrich, Saoussene Talbi, Andreas Leclerque², Frank Rabenstein³, Helga Radke, Regina G. Kleespies*

* corresponding/presenting author

Julius Kühn-Institut, Institut für Biologischen Pflanzenschutz

²Hochschule Geisenheim, Zentrum für Analytische Chemie und Mikrobiologie

Institut für Mikrobiologie und Biochemie, Von-Lade-Straße 1, 65366 Geisenheim, Deutschland

³Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik

Mit der rasanten Ausweitung des Anbaus von Raps (*Brassica napus* L.) nehmen auch die Populationen der Schaderreger von Raps zu, im besonderen Rapsglanzkäfer und Rapsstängelbohrer. Das Ziel unserer Untersuchungen war daher, im Rahmen des Biologischen Pflanzenschutzes, den entomopathogenen Pilz *Beauveria bassiana* Naturalis ATCC74040 als Endophyt systemisch in Rapspflanzen zu etablieren. *B. bassiana*-Blastosporen (10 Sp/ml) aus Czapek-Flüssigmedium wurden in Rapsblätter infiltriert. Die Pflanzen wurden bei 80% RH und 20°C unter Langtagbedingungen gehalten. Zwischen 3 Tagen und 4 Wochen wurden Blattproben entnommen und qualitativ fluoreszenzmikroskopisch entweder mit Blankophor oder spezifisch mit polyklonalem Primärantikörper gegen die *B. bassiana*-Gesamtproteinfraktion untersucht (sowohl mit Rohserum als auch gereinigter IgG-Fraktion). Für den spezifischen PCR-Nachweis des verwendeten *B. bassiana*-Stammes wurden diagnostische Primer entworfen und verwendet, die an eine charakteristische Teilsequenz eines selbstpleissenden Gruppe I-Introns des 28S rRNA-kodierenden Gens von *B. bassiana* ATCC74040 binden („gli-Diagnose“). Während die Pilzbesiedlung der Epidermis ausgesprochen kräftig und persistent war, konnten nur vereinzelt Hyphen in Interzellularen des Blattes mikroskopisch nachgewiesen werden. Mittels PCR konnte *B. bassiana* Naturalis in Rapsgewebeproben erfolgreich nachgewiesen werden; ein eindeutiger molekularbiologischer Nachweis systemischen Wachstums innerhalb von Blättern steht noch aus. Mögliche pflanzliche Abwehrmechanismen werden diskutiert.

103 - Die Wirkung von endophytischen entomopathogenen Pilzen auf Phytohormone

The effect of endophytic entomopathogenic fungi on phytohormones

Dalia Muftah Alkhatay, Katharina Döll, Petr Karlovsky, Stefan Vidal

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

In previous surveys we proved that successful colonization of an endophytic strain of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* contributes to a higher dry weight of the inoculated plants. We therefore assessed the amount of several phytohormones (ABA, SA, GA1, GA34, GA3, GA4, IAA, JA, SAG) aimed at understanding differences in the growth of control and inoculated tomato and cotton plants. The experiments were carried out under greenhouse conditions and each experiment consisted of three groups: control plants, seed coated plants with *Metarhizium anisopliae* 150 and seed coated plants with *Metarhizium anisopliae* 153. Samples of newly emerged leaves were then collected at 17.107 BBCH and 15 BBCH for tomato and cotton respectively and processed for a phytohormonal scan using LC-MS. The results demonstrated that tomato and

cotton plants react differently to their colonization with *Metarhizium anisopliae* by up-/down-regulating mainly SA, JA, ABA and IAA, these differences were also detected when comparing the different treatments of each experiment.

Literatur

- GRACIA, J. E., POSADAS, J., PETRICARI, A., LECUONA, R. E., 2011: *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin promotes growth and has endophytic activity in tomato plants. *Advances in Biological Research* **5** (1), 22-27.
- VEGA, FERNANDO E., 2008: Insect pathology and fungal endophytes. *J. Invertebr. Pathol.* **98** (3), 277-279.
- ZIMMERMANN, G., 2006: The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pest. Manag. Sci.* **37** (4), 375-379.

104 - The role of stress-induced signaling proteins in endophyte induced defense responses against root-knot nematodes

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

Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz, Abteilung Molekulare Phytomedizin, Karlrobert-Kreiten-Str. 13, 53115 Bonn, Deutschland

Endophytic fungi can stimulate defense responses in plants, thus making them more resistant towards specific pathogens, like nematodes. Although the exact molecular and biochemical mechanisms underlying this phenomenon is not clear, the use of split root experiments indicate that particular systemically induced defense responses are triggered. The endophytic *Fusarium oxysporum* isolate Fo162 causes a reduction in infection of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in various plant species, including *Arabidopsis thaliana*. Because of this and the extensive molecular knowledge on Arabidopsis together with the availability of a significant number of well-characterized mutants, the role of particular defense signaling pathways in the induction of defense responses triggered by the endophyte can be studied in more detail. We therefore tested the Arabidopsis *oxi1*- and various *mpk*-mutants, which lack or over-express proteins that play a role at various levels in transferring the signal in the stress-induced defense pathway. All tested mutants were still capable of restricting *M. incognita* infection to the same level as the wild type when inoculated with Fo162, thus showing that these signaling proteins are not relevant for inducing nematode defense responses, either because other redundant signaling proteins can compensate for the lack or the particular signaling pathway is irrelevant.

References

- Martinuz, A., G. Zewdu, N. Ludwig, F. Grundler, R. A. Sikora, A. Schouten, 2014: The application of *Arabidopsis thaliana* in studying tripartite interactions among plants, beneficial fungal endophytes and biotrophic plant-parasitic nematodes. *Planta*, submitted.
- Sikora, R. A., K. Schäfer, A. A. Dababat, 2007: Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant-parasitic nematodes. *Australas. Plant Pathol.* **36**, 124-134.
- Taj, G., P. Agarwal, M. Grant, A. Kumar, 2010: MAPK machinery in plants: Recognition and response to different stresses through multiple signal transduction pathways. *Plant Signaling & Behavior*. **5** (11), 1370-1378.