

### 3) Isolation und Charakterisierung von Mykorrhiza-Pilzen terrestrischer Orchideen

Anne-Mareen EISOLD, Christina LANGE, Simone BRENDL, Kurt ZOGLAUER  
AG Botanik & Arboretum, Institut für Biologie, Humboldt-Universität  
zu Berlin, Invalidenstraße 42, 10115 Berlin  
E-Mail: anne-mareen.eisold@hu-berlin.de

Die Familie der Orchidaceae ist mit ca. 30 000 Arten von der tropischen bis zur boreal arktischen Klimazone beheimatet. Für die Keimung sind die endospermfreien Samen auf die Infektion mit Mykorrhizapilzen angewiesen. Die nach der Keimung entstehenden Protokormen sind obligat mykoheterotroph und weisen typischerweise eine enge Spezifität zu den Mykorrhizapartnern auf (McKENNDRICK et al., 2000). Für die Propagation sowohl epiphytischer als auch terrestrischer Orchideenarten ist die Kultivierung und Vermehrung *in vitro* in der gärtnerischen Praxis bereits fest etabliert. Die Verwendung spezieller kohlehydratreicher Basismedien ermöglicht die asymbiotische Keimung der Samen (z.B. VAN WAES und DEBERGH, 1986; LORENZEN, 1993). Da diese Methode nicht für jede gärtnerisch interessante Art gleichermaßen erfolgreich ist, steht die symbiotische Keimung von Orchideen weiterhin im Fokus des gartenbaulichen Interesses. Voraussetzung dafür ist der Einsatz der für die jeweilige Orchideenart spezifischen Mykorrhizapartner. Um die symbiotische Keimung für *Cypripedium calceolus*, *C. reginae*, *Dactylorhiza maculata*, *D. ochroleuca*, *D. incarnata* ssp. *pulchella* und *Gymnadenia conopsea* zu etablieren, wurden aus Wurzeln von Orchideen der Gattung *Dactylorhiza* von natürlichen sowie Gartenstandorten 26 potentielle Mykorrhizapilze isoliert. Nach makroskopischer und mikroskopischer Bonitur wurden die Isolate in Keimungs- und Inokulationsversuchen auf ihr tatsächliches Mykorrhizierungsvermögen untersucht. Die Samen von *Dactylorhiza maculata* keimten mit zehn Isolaten als Mykorrhizapartner, während die anderen Kombinationen von Orchideensamen und potentiellen Mykorrhizapilzen keine Keimungserfolge zeigten. Die Quantität der gekeimten Samen von *D. maculata* variierte in Abhängigkeit der eingesetzten Pilzisolaten, wobei mit sieben Isolaten gute bis sehr gute Keimungsergebnisse erzielt wurden, das heißt der Keimungsprozentsatz war vergleichbar mit der jeweiligen asymbiotisch gekeimten Kontrollgruppe. Im Vergleich zur asymbiotischen Keimung konnte die Entwicklungsdauer bis zum Erreichen des Protokormstadiums von zwölf auf vier Wochen deutlich reduziert werden. Asymbiotisch gekeimte Protokormen von *D. maculata*, welche mit den Pilzisolaten inokuliert und weiter kultiviert wurden, zeigten ebenfalls eine isolatspezifische Entwicklung. Während besonders das Isolat Nr. 13 Wachstum und Differenzierung der juvenilen *D. maculata* förderte, bewirkten andere Isolate ein vorzeitiges Absterben der Protokormen.

Die Sequenzanalyse auf der Grundlage der ITS-PCR und der anschließende Abgleich mit in der NCBI-Datenbank hinterlegten pilzlichen Sequenzen ergab für drei Isolate (Nr. 13, 22, 26) sehr hohe Übereinstimmungen mit den als Orchideen-Mykorrhiza bekannten Pilzgattungen *Ceratobasidium*, *Tulasnella*, *Thanatephorus* und *Rhizoctonia*. Neben dem experimentellen Nachweis bestätigten auch die molekularbiologischen Daten die Eignung dieser Isolate als Mykorrhizapartner für *D. maculata*.

#### Literatur

- LORENZEN, W., 1993: Nährmedium für *Cypripedium*. (S. 30) in KOHLS, G., U. KÄHLER: Orchideen im Garten. Berlin und Hamburg, Verlag Paul Parey.  
McKENNDRICK, S.L., J.R. LEAKE, D.L. TAYLOR, D.J. READ, 2000: Symbiotic germination and development of myco-hetero-

trophic plants in nature: ontogeny of *Corallorhiza trifida* and characterization of its mycorrhizal fungi. *New Phytologist* **145**, 523-537.

VAN WAES, J., P.C. DEBERGH, 1986: *In vitro* germination of some Western European orchids. *Physiologia Plantarum* **67**, 253-261.

### 4) Frühe transkriptionelle Veränderungen in *Medicago truncatula*-Wurzeln als Reaktion auf diffusiblen Glomus Faktoren

Natalija HOHNJEČ<sup>1</sup>, Frauke LENZ<sup>1</sup>, Jörg D. BECKER<sup>2</sup>, Helge KÜSTER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute for Plant Genetics, Unit IV-Plant Genomics, Leibniz Universität Hannover, Germany

<sup>2</sup> Affymetrix Core Facility, Instituto Gulbenkian de Ciência, Lisbon, Portugal

E-Mail: natalija@genetik.uni-hannover.de

The arbuscular mycorrhiza (AM) symbiosis between higher plants and *Glomeromycota* fungi is one of the most widely studied beneficial plant-microbe interactions. Since marker genes identified so far are connected to later stages of the symbiosis, e.g. arbuscule formation, access to more components of early AM signaling would strengthen our understanding how both partners initiate contact and which genes are important regulators of this process. We thus profiled the transcriptional changes of roots responding to fungal exudates (Myc-signals) and fungal spores in A17 and DMI3 plants 6 h and 24 h post application. Based on the responses, we identified genes possibly related to early symbiotic signaling, acting either upstream or downstream of DMI3. Genes that were found to be induced in both lines might be related to very early AM signaling, but could also reflect general differences in root development. By contrast, genes induced in A17 roots but not in the DMI3 mutant can be regarded as DMI3-dependent candidates, being likely associated with symbiotic signaling. A substantial fraction of these genes are important for membrane transport, cell wall biosynthesis, and plant defence. Apart from this, we found an activation of genes involved in hormone and calcium signaling, signal transduction, as well as genes encoding transcription factors (TF), including two GRAS and several AP2/ERF TFs. Three co-induced and eight DMI3-dependent genes were selected for the construction of reporter gene fusions to develop histological markers suitable for testing the Myc-signal activity of fungal exudates.

### 5) Transcriptional control of cellular reprogramming during the symbiotic interaction of *Medicago truncatula* with arbuscular mycorrhizal fungi

Claudia HOGEKAMP<sup>1</sup>, Natalija HOHNJEČ<sup>1</sup>, Jörg D. BECKER<sup>2</sup>, Helge KÜSTER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute for Plant Genetics, Unit IV-Plant Genomics, Leibniz Universität Hannover, Germany

<sup>2</sup> Affymetrix Core Facility, Instituto Gulbenkian de Ciência, Lisbon, Portugal

E-Mail: claudia.hogekamp@genetik.uni-hannover.de

*Medicago truncatula* is one of the most important model-plants for the investigation of root endosymbioses with soil microbes. One of these symbioses is the arbuscular mycorrhiza (AM) with beneficial fungi, enhancing the phosphate supply of the plant.

To establish a functional symbiosis, comprehensive changes in the transcriptional program of the root cells hosting fungal