



Erhöhung der Krankheitsresistenz von Getreide

Interdisziplinäre Grundlagenforschung im Rahmen einer DFG-Forschergruppe

*Von Karl-Heinz Kogel,
Jagdish Kumar, Ralph Hückelhoven*

Die Förderung einer Forschergruppe an der Justus-Liebig-Universität zum Thema „Erhöhung des Krankheitsresistenzpotentials der Gerste“, an der fünf Institute aus dem neuen Fachbereich „Agrarwissenschaften, Ökotoxologie und Umweltmanagement“ sowie dem Fachbereich „Biologie, Chemie und Geowissenschaften“ beteiligt sind, wurde vom Senat der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) bereits im Januar 1999 bewilligt. Das Verbundprojekt ist als interdisziplinä-

närer Ansatz zur Erarbeitung zukunftsorientierter Prinzipien des Pflanzenschutzes konzipiert und wurde auf die hervorragenden Möglichkeiten für naturwissenschaftliches Arbeiten im Interdisziplinären Forschungszentrum für Umweltsicherung zugeschnitten. Deshalb war für die positive Einschätzung des Verbundprojektes durch die DFG der geplante Umzug der beteiligten Institute ins „IFZ für Umweltsicherung“ ein entscheidendes Kriterium. Neben dem Sonder-

forschungsbereich „Landnutzungs-konzepte für periphere Regionen“ bildet die Forschergruppe als „Resistenzschwerpunkt“ einen weiteren profilbildenden Forschungsansatz. Von seiten der beteiligten Wissenschaftler werden erhebliche synergetische Effekte durch die räumliche Nähe der von der DFG geförderten Großprojekte erwartet. Sprecher der Forschergruppe ist Prof. Dr. Karl-Heinz Kogel, Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie.



Karl-Heinz Kogel, Jahrgang 1956, studierte an der RWTH Aachen Biologie und Sozialwissenschaften. Nach dem Diplom in Biologie wurde er 1984 in Aachen mit einer Dissertation über Strategien der Erkennung zwischen Pflanze und ihren Krankheitserregern promoviert. Ein einjähriger Post Doc-Aufenthalt am Weizman Institute of Science in Rehovot, Israel, schloss sich an. Von 1984 bis 1988 war er wissenschaftlicher Angestellter am Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln-Vogelsang. Von 1988 bis 1990 war er als wissenschaftlicher Angestellter in einer Patentanwaltskanzlei tätig und dort verantwortlich für die Bearbeitung von Biotechnologie-Patenten. Von 1990 bis 1995 leitete er am Institut für Pflanzenphysiologie der RWTH Aachen eine Arbeitsgruppe, die sich mit der Charakterisierung der Funktion von Mehltau-Resistenzgenen in der Gerste beschäftigte. 1995 habilitierte er sich mit einer Arbeit über „Molekulare Erkennungssysteme in Getreidepflanzen“. Seit 1996 ist er Professor und Geschäftsführender Direktor des Instituts für Phytopathologie und Angewandte Zoologie an der Universität Gießen und seit 1999 Sprecher der DFG-Forschergemeinschaft „Resistenzaktivierung im Getreide“.

In dem Verbundprojekt wird der Sachverstand von Phytopathologen (AG Prof. Kogel), Pflanzenzüchtern (AG Prof. Friedt), Populationsbiologen (AG Prof. Köhler), Ernährungsphysiologen (AG Prof. Schubert) und Bodenökologen (AG Prof. Wolters) gebündelt und die Möglichkeit zur Verknüpfung von angewandter Agrarforschung mit biotechnologischer Grundlagenforschung ausgeschöpft. Ausgehend von der seit langem bekannten Tatsache, dass Pflanzen ein „natürliches“ Abwehrsystem besitzen, mit dem sie sich vor Krankheitserregern wie phytopathogenen Pilzen, Bakterien oder Viren schützen können, werden hier Verfahren entwickelt, welche dieses Abwehrsystem und damit die Krankheitsresistenz „stärken“. Der Schwerpunkt liegt auf der Untersuchung von Getreide (Abb. 1).

Durch die permanente weltweite Intensivierung der Landwirtschaft in den zurückliegenden Jahrzehnten, die u.a. auch mit einer Tendenz zur Monokultur einherging, sind Krankheitserreger so massiv gefördert worden, dass die natürlichen Abwehrsysteme der Kulturpflanzen zur Ertragssicherung nicht mehr ausreichen. Nach neueren Erkenntnissen kann die Pflanzengesundheit durch gezielte Maßnahmen des chemischen Pflanzenschutzes gefördert werden. Dieses als Resistenzaktivierung oder „systemisch aktivierte Resistenz“ (SAR) bezeichnete Phänomen bedeutet eine Abkehr von der direkten – auf dem Prinzip der Toxizität beruhenden – Bekämpfung von Krankheitserregern mit Pestiziden hin zu einem „intelligenten“ Pflanzenschutzmanagement, bei dem die Ausnutzung und Verstärkung der natürlichen Widerstandsfähigkeit von Pflanzen als zentraler Ansatzpunkt zu sehen ist (Görlach et al. 1996). Analog zu einer Schutzimpfung induziert ein Wirkstoff wie das Bion* von Novartis oder das Carpropamid* von Bayer dabei den natürlichen Prozess der SAR und baut so in der Pflanze einen Schutz gegenüber nachfolgenden Infektionen

durch Krankheitserreger auf.

Die interdisziplinären Arbeiten müssen unter dem Gesichtspunkt betrachtet werden, dass eine Versorgung der Weltbevölkerung mit Nahrungsmitteln ohne die Entwicklung qualitativ neuer Methoden der Pflanzenproduktion in Zukunft nicht gewährleistet werden kann. Trotz großer Erfolge der Landwirtschaft in unserem Jahrhundert, wie beispielsweise der Verdoppelung der Weizenproduktion seit den sechziger Jahren, hungern heute – nach neueren Erhebungen der Welternährungsorganisation FAO – weltweit über 800 Millionen Menschen. Die Ernährungslage wird sich in Zukunft voraussichtlich nicht entschärfen, da die Bevölkerung bis zum Jahre 2050 von heute rund sechs Milliarden auf etwa zehn Milliarden Menschen anwachsen wird, während die verfügbare Anbaufläche bei etwa 1,4 Milliarden Hektar konstant bleiben, wenn nicht sogar etwa durch Bodenerosion abnehmen wird. Im Kontext dieser Zahlen muss zudem bedacht werden, dass trotz intensiver Pflanzenschutzmaßnahmen jährlich noch etwa 30 % der Welternte

durch Pflanzenkrankheiten verloren gehen. Deshalb kommt gerade der Resistenzforschung eine wesentliche Bedeutung zu, da die gezielte Nutzung natürlicher Krankheitsresistenzen wesentlich zu einer umweltschonenden Landwirtschaft beitragen kann und gleichzeitig Ertragspotentiale sichern hilft. Letzteres gilt gleichermaßen für extensive und intensive Landnutzungskonzepte.

Erste Erfolge der Resistenzforschung

Im ersten Jahr der gemeinsamen Arbeiten wurden zunächst die Kontakte zwischen den unterschiedlich arbeitenden Gruppen intensiviert. Dabei ging es zunächst darum, eine gemeinsame Sprache zu finden sowie Arbeits-hypothesen und Ziele zu formulieren.

Nachweis der Beteiligung Reaktiver Sauerstoffintermediate an der pflanzlichen Resistenzreaktion

Da die Arbeiten noch vor Fertigstellung des „IFZ für Umweltsicherung“ begonnen wurden, konnten bereits Erkenntnisse von grundlegender wissenschaftlicher Bedeu-

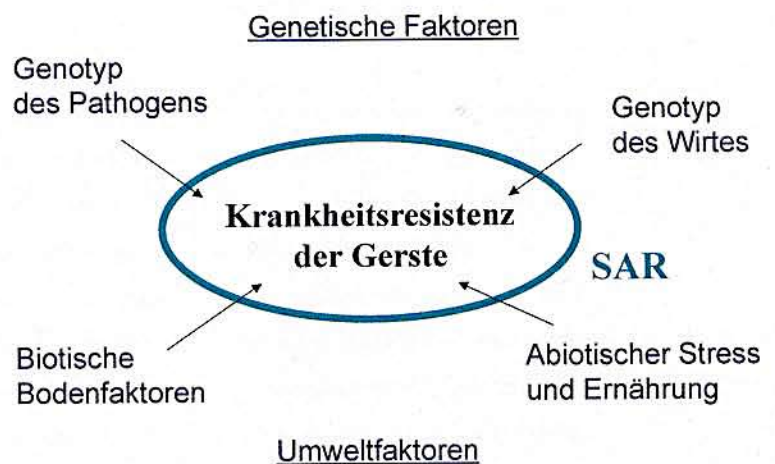


Abb. 1: Die Gesundheit von Kulturpflanzen ist bedroht durch eine Reihe biotischer (Krankheitserreger) und abiotischer (z.B. Hitze/Versalzung) Faktoren. Im Verlaufe der Evolution haben sich Abwehrmechanismen ausbilden können, die Pflanzen vor „Stress“ schützen. Die Abwehrmechanismen sind genetisch determiniert, zusätzlich aber auch beträchtlich durch Ernährung und Umwelt beeinflussbar. Die Gießener Forschergruppe versucht, die komplexen Zusammenhänge durch einen interdisziplinären Ansatz aufzuhellen.



Abb. 2: Mikroskopische Aufnahme einer Infektionsstelle auf einem Mehltaubefallenen Gerstenblatt. Durch den Angriff des Pilzes wird in den gefährdeten pflanzlichen Zellen Wasserstoffperoxid (H_2O_2) gebildet, welches an biochemischen Vernetzungsreaktionen beteiligt ist. Dies führt zu einer mechanischen Stabilisierung der Zellwand am Ort der Pilzattacke (Braunfärbung: Histochemische Reaktion von H_2O_2 mit Diaminobenzidin).

tion erzielt werden. So wurden die molekularen Abwehrreaktionen der Gerste gegenüber dem Echten Mehltaupilz weitgehend aufgeklärt. Hier spielen offenbar reaktive Sauerstoffintermediate wie Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Superoxidanion (O_2^-) eine wichtige Rolle: In Analogie zur Funktion im Abwehrmechanismus spezieller Zellen des menschlichen Immunsystems gegen eingedrungene Krankheitserreger haben diese reaktiven Sauerstoffmoleküle auch im Getreide eine entscheidende Bedeutung bei der Abwehr von pflanzenpathogenen Krankheitserregern. H_2O_2 z.B. verhindert sehr effektiv das Eindringen eines Schadpilzes in die Pflanze, indem es durch Beteiligung an biochemischen Vernetzungsreaktionen attackierte Pflanzenzellwände mechanisch verstärkt (Abb. 2, siehe auch „Spiegel der Forschung“ 2/1998, Hückelhoven et al. 1999). In diesem Zusammenhang konnten über die Analyse anfälliger Gerstenmutanten bereits Gene identifiziert werden, die an diesen Prozessen beteiligt sind. Es ist eine wesentliche Aufgabe der weiteren Arbeiten, die Funktion dieser Gene

zu charakterisieren, um so eine detaillierte Einsicht in die Mechanismen der Resistenz zu erhalten.

Beurteilung von Resistenzen für ihre zukünftige Nutzung

Von grundlegender agronomischer Bedeutung mit erheblichem Einfluss auf Züchtungsstrategien zur Ausnutzung „dauerhafter Resistenzen“, also von Resistenzen, die von Krankheitserregern nur schwer gebrochen werden können, ist eine weitere Entdeckung der Forschergruppe: Ein spezielles Resistenzgen der Gerste, das sogenannte *mlo*-Gen, vermittelt einen hervorragenden Schutz gegen den Mehltaupilz, verursacht aber völlig unerwartet eine hohe Anfälligkeit gegenüber anderen Krankheitserregern (Jarosch et al. 1999). Dies ist ein wichtiger Hinweis darauf, dass auch genetische Faktoren, die zu erwünschten dauerhaften Resistenzen führen, durchaus unerwünschte Seiteneffekte verursachen können. Dieses Phänomen soll am Beispiel des *mlo*-Gens etwas detaillierter betrachtet werden:

Auf der Suche nach dauerhaften Krankheitsresistenzen stößt man sehr schnell auf die *mlo*-Resistenz der Gerste. Es ist schon lange bekannt, dass bestimmte Gerstenlinien, *mlo*-Gersten genannt, eine hohe Widerstandskraft gegen Mehltau als Folge der Wirkung dieser Resistenz aufweisen. Aufgrund der Funktion des *mlo*-Gens ist die Gerste in der Lage, den Infektionsversuch des Mehltaupilzes erfolgreich abzuwehren. Der pflanzliche Abwehrmechanismus hat sich als so erfolgreich erwiesen, dass die *mlo*-Resistenz in etwa 70% der heute in der Bundesrepublik angebaute Sommergersten eingekreuzt wurde. *mlo*-Gersten haben sich in den letzten Jahren im Feldanbau vor allem deshalb hervorragend bewährt, weil entgegen allen Erfahrungen kein „Resistenzbruch“ beobachtet wurde. D.h. es haben sich keine Mehltaurassen etablieren können, die unter Feldbedingungen die schützende Wirkung des *mlo*-Gens umgehen können. Von großer wissenschaftlicher, aber auch agronomischer Bedeutung war deshalb

die Frage, ob das *mlo*-Gen nicht nur gegenüber Mehltau, sondern auch gegenüber anderen Krankheitserregern Resistenz vermittelt.

Paradoxerweise zeigten Laborexperimente, dass das *mlo*-Gen nicht nur keinen hemmenden Einfluss auf die Entwicklung anderer Schaderreger hatte, sondern diese sogar massiv in Wachstum und Ausbreitung förderte, also auch unerwünschte Eigenschaften verleiht. Dies war zunächst sehr enttäuschend in Hinblick auf die biotechnologische Nutzung der *mlo*-Resistenz in anderen Kulturpflanzen. Um so interessanter war diese Erkenntnis allerdings für die Grundlagenforschung.

Ansätze zur Kontrolle nekrotropher Schadpilze

Zwei Schadpilze, der sogenannte Reibrennerpilz (*Magnaporthe grisea*, Abb. 3 A,B,C) und der Erreger einer Blattfleckenkrankheit (*Bipolaris sorokiniana*, Abb. 4) gehören weltweit zu den wichtigsten Krankheitserregern im Getreidebau. Beide Erreger werden auf *mlo*-Gerste stark gefördert. Interessanterweise weisen diese Erreger einige Gemeinsamkeiten auf: Beide verursachen in tropischen und subtropischen Regionen der Erde, insbesondere in Asien und Südamerika, erhebliche Ernteausfälle an Getreide (Weizen, Reis, Gerste), und beide werden durch verhältnismäßig hohe Temperaturen und hohe Luftfeuchtigkeit im Wachstum gefördert. Entscheidend für ihre hohe Virulenz ist aber eine weitere gemeinsame Eigenschaft: Im Gegensatz zum biotrophen Mehltaupilz, zeigen *M. grisea* und *B. sorokiniana* eine nekrotrophe Lebensweise, d.h. sie produzieren

JUSTUS-LIEBIG-
UNIVERSITÄT
GIESSEN



Prof. Dr. Karl-Heinz Kogel

Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie
FB Agrarwissenschaften und Umweltsicherung
Heinrich-Buff-Ring 26-32
35392 Gießen
Tel.: 0641/99-37490
Fax 0641/99-37499
e-mail: Karl-Heinz.Kogel@agr.uni-giessen.de



Abb. 3 A

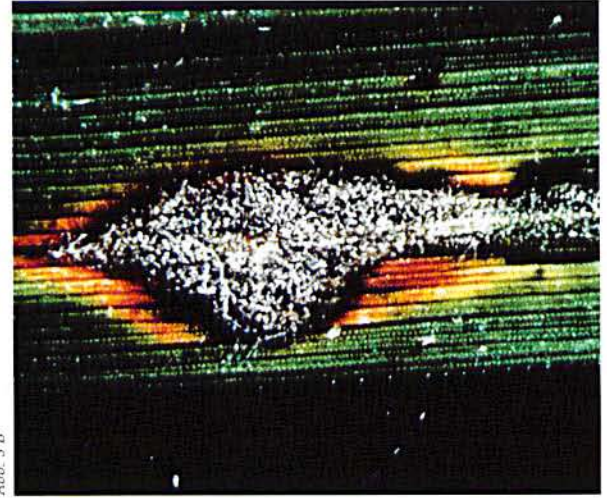


Abb. 3 B

Abb. 3 A/B/C: *Magnaporthe grisea* (Reisbrenner), ursprünglich ein Krankheitserreger im Reis (A, Rispenbefall; B, Blattbefall) befallt auch Gerste (C). Besonders aggressiv ist der Erreger in *mlo*-Gerste, welche ihrerseits hoch resistent (!) ge-

genüber dem Mehltaupilz ist. Deutlich zu sehen sind die breitflächigen Blattnekrosen (abgetötetes Gewebe), die durch die Wirkung des pilzlichen Toxins entstehen.

LITERATUR

- Görlach J, Volrath S, Knauf-Beiter G, Hengy G, Beckhove U, Kogel KH, Oostendorp M, Staub T, Ward E, Kessmann H, Ryals J (1996) Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell* 8, 629-643
- Hüchelhoven R, Fodor J, Preis C, Kogel K-H (1999) Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with H₂O₂ but not with salicylic acid accumulation. *Plant Physiol* 119: 1251-1260
- Jarosch B, Kogel K-H, Schaffrath U (1999) The ambivalence of the barley *Mlo*-Locus: Mutations conferring resistance against powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei*) enhance susceptibility to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Mol Plant Microbe Inter* 12: 508-514
- Medzhitov R, Janeway CA Jr (1998) An ancient system of host defense. *Curr Opin Immunol* 10:12-5

nach Befall der Getreidepflanze „Toxine“, die das pflanzliche Gewebe zerstören. Die Zerstörung des Gewebes ist Voraussetzung für eine erfolgreiche Infektion, denn die Erreger ernähren sich von dem organischen Material des abgestorbenen Blattgewebes. Offensichtlich reagieren die *mlo*-Pflanzen erheblich empfindlicher auf die pilzlichen Toxine, was zur Konsequenz hat, dass Blätter stärker geschädigt werden und letztlich weniger grüne Blattfläche für die Ertragsbildung zur Verfügung steht.

Erstaunlicherweise spielen auch bei diesem Phänomen Sauerstoffradikale eine Rolle. *mlo*-Pflanzen reagieren auf die Toxine mit einer massiven Produktion von H₂O₂ (Abb. 5). Da dieses Molekül in hohen Konzentrationen zelltoxisch ist, führt dies zum Absterben ganzer Zellverbände. Die antioxidativ wirksame Ascorbinsäure (Vitamin C) hemmt die H₂O₂-Akkumulation, das Absterben der Zellen und damit auch die Ausbreitung des Pilzes.

Reaktive Sauerstoffintermediate haben also eine ambivalente Bedeutung in der Resistenz von Getreide gegenüber mikrobiellen Krankheitserregern. Zum Einen sind sie an der pflanzlichen Abwehr beteiligt und verhindern eine Infektion mit dem biotrophen Mehltaupilz. Zum Anderen sind

sie in höheren Konzentrationen auch Auslöser für einen unkontrollierten Zelltod im Wirtspflanzengewebe, der nekrotrophe Pathogene fördert. Eine Nutzung des probzw. antioxidativen Potentials von Getreide zur Förderung von Resistenz, die gleichermaßen effektiv gegenüber biotrophen und nekrotrophen Parasiten ist, stellt sich

demnach als schwierig dar. Auf diesem Gebiet besteht noch erheblicher Forschungsbedarf.

Aspirin, Salicylsäure und Vitamin C – Entzündungs- und Krankheitskontrolle in Tier und Pflanze

Salicylsäure fördert die Resistenz von Pflanzen gegenüber zahlreichen Krankheitserregern („Spiegel

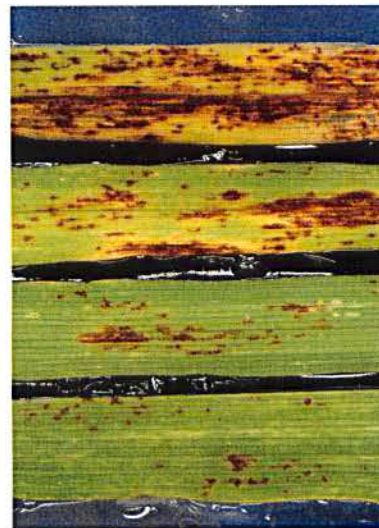


Abb. 4: *Bipolaris sorokiniana*, ein Blattfleckererregers auf Gerste und Weizen mit erheblichen Schadwirkungen in Asien und Amerika, wird ebenfalls auf der *mlo*-Gerste massiv gefördert. Die Abbildung zeigt die Symptomausprägung der Krankheit auf unterschiedlich resistenten Gerstenblättern.

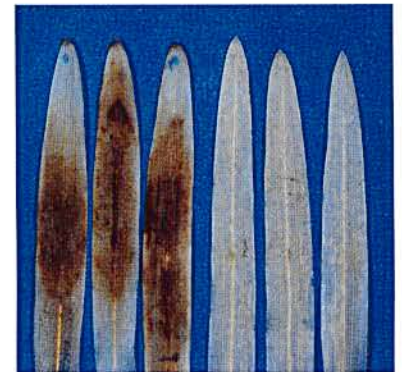


Abb. 5: *mlo*-Gersten sind sehr empfindlich gegenüber dem vom Schadpilz *Bipolaris sorokiniana* produzierten Toxin. Für diesen Versuch wurden Blätter von *mlo*-Gerste jeweils mit dem Toxin des Pilzes behandelt. Deutlich zu sehen ist die braune Verfärbung der *mlo*-Gerstenblätter, die auf eine starke H₂O₂-Bildung hindeutet (rechts). Die Blätter auf der linken Bildseite wurden zusätzlich mit Vitamin C, das die H₂O₂-Bildung durch das Toxin neutralisiert, behandelt.

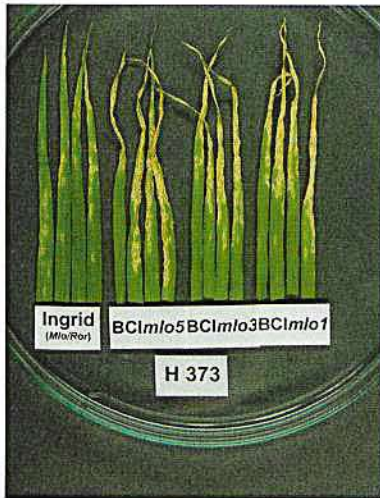


Abb. 3 C

der Forschung“, 2/1998). Aspirin (Acetylsalicylsäure) wirkt entzündungshemmend und lindert Schmerzen bei Säugetieren. Solche Analogien werden immer häufiger entdeckt. In den letzten Jahren sind vermehrt Gemeinsamkeiten von pflanzlichen Resistenzgenpro-

dukten und Komponenten der tierischen Immunabwehr beschrieben worden (Medzhitov und Jane-way 1998). Vitamin C (Ascorbinsäure) könnte sich ebenfalls übergreifend bei Tier und Pflanze als nützlich für die Krankheitskontrolle erweisen. Ascorbinsäure stärkt unsere Immunabwehr und fördert die Aktivität von Lymphocyten. In Pflanzen ist die Substanz an der Eingrenzung von Zelltodreaktionen nach Erregerbefall beteiligt.

Wir lernen etwas Grundsätzliches aus diesen Beobachtungen: Pflanzen wehren sich aktiv gegen mikrobielle Krankheitserreger. Ein erster Kontakt mit dem Krankheitserreger aktiviert gezielt biochemische Prozesse, die dafür sorgen, dass eine einmal aktivierte

Pflanze schneller und damit effektiver gegenüber Sekundärinfektionen reagiert. Dieser Prozess ist in vielen Teilen mit der natürlichen und adaptiven Immunität der Säugetiere vergleichbar. Erstaunlicherweise produzieren Pflanzen selber sowohl Salicylsäure als auch Enzyme des Ascorbinsäurestoffwechsels am Ort des Erregerangriffs. Es stellt sich also die Frage, ob nicht noch andere Mechanismen der Immunabwehr in Pflanzen und Tieren konserviert sind und auf grundsätzliche Erkennungs- und Entwicklungsprozesse in ursprünglichen, mehrzelligen Organismen zurückgehen. Auch das ist eine Fragestellung, die in Zukunft über interdisziplinäre Ansätze zu bearbeiten ist. •

Identifizierung neuer Gerstengene mit breiter Wirkung auf Krankheitsresistenzen

Gregor Langen, Katrin Beßer, Birgit Jarosch, Martina Düringer, Elke Stein und Karl-Heinz Kögel

Arbeitsgruppe 1
Institut für Phytopathologie und
Angewandte Zoologie (IPAZ)

In unseren Breiten gehört der Echte Mehltau (*Blumeria graminis*) zu den wichtigsten Krankheiten im Getreide. Am Institut erforschen wir den Verlauf der Mehltauenerkrankung an Gerste mit dem Ziel, alternative Bekämpfungsstrategien zum Fungizid-Einsatz zu entwickeln.

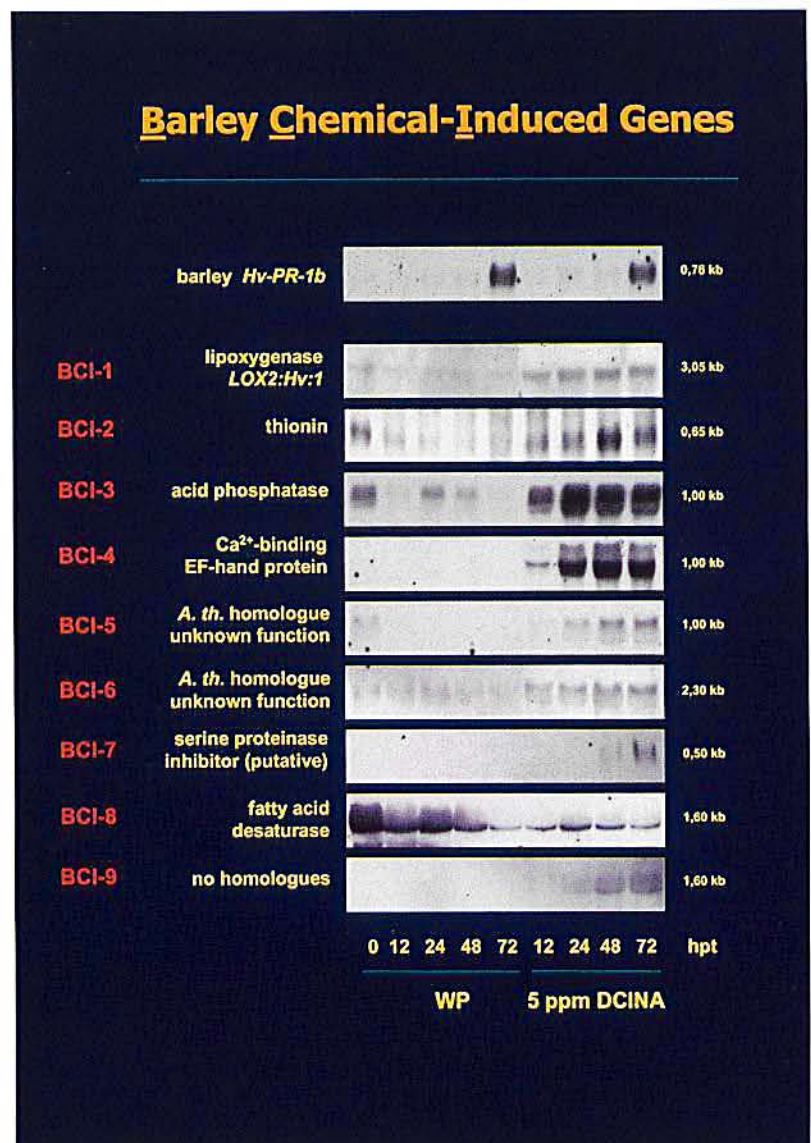
Es ist seit langem bekannt, dass die in Pflanzen häufig in großen Mengen vorkommende Salicylsäure eine entscheidende Rolle bei der biologischen Aktivierung von Krankheitsresistenzen gegenüber unterschiedlichen Schaderregern spielt. Dieses natürliche Phänomen wird als „Systemisch Aktivierte Resistenz“ (SAR) bezeichnet und kann heute ausgenutzt werden, um in Pflanzen gezielt Resistenzen aufzubauen. Es stehen Chemikalien wie die Dichlorisonicotinsäure (DCINA) oder Benzothiadiazole (Bion®) zur Verfügung, welche die Rolle von Salicylsäure übernehmen können: Wenn man z.B. Bion®, das eine hohe Umweltverträglichkeit aufweist, im Feld ausbringt, kann man deutlich verminderten Befall mit Viren, Bakterien und Pilzen beobachten: Die pflanzeigenen Abwehrmechanismen werden verstärkt.

Zum Verständnis der SAR und deren Optimierung für eine breite Anwendung ist es notwendig, die molekularen Ursachen des Phänomens aufzuklären. Zur Identifizierung von Genen, die an dieser Resistenz beteiligt sind, wurde die Methode der „Suppressiven Subtraktions-Hybridisierung“ angewendet, mit deren Hilfe wir bisher neun Gene aus der Gerste isolieren konnten. Deren Expressionsprofil

wurde zwölf bis 72 Stunden nach Behandlung mit Bion® untersucht (Bild). Die Sequenzanalyse dieser neuen Gene („BCI“ von Barley Chemically Induced) gab bereits Hinweise auf die Funktion beim Aufbau der Krankheitsresistenz. So konnte zum Beispiel ein Gen identifiziert werden, dass die Information für das Protein „Thionin“ trägt. Es ist bekannt, dass Thionine eine sehr starke toxische (antifungale) Wirkung auf Pilze ausüben. Die jetzt identifizierten Gene können unter anderem auch biotechnologisch genutzt werden, um – in sogenannten „High Throughput Screenings“ – neue

hochwirksame Chemikalien mit resistenzinduzierender Wirkung zu identifizieren.

Im Rahmen der Forschergruppe wird die Fragestellung im Vordergrund stehen, inwieweit die Aktivierung dieser neuen Gene von Umweltfaktoren und biotischen Faktoren, also anderen Organismen, insbesondere denjenigen, die die Pflanzengesundheit fördern, beeinflussbar ist. Dies kann zur Lösung der zentralen Frage beitragen, wie durch phytomedizinische und pflanzenbauliche Maßnahmen Pflanzengesundheit in Zukunft noch gezielter verbessert werden kann. •



Identifizierung neuer, chemisch induzierbarer Gene der Gerste (BCI: Barley Chemically Induced). Diese Gene könnten einen positiven Einfluss auf die Widerstandsfähigkeit der Gerste gegenüber Krankheitserregern und ungünstigen Umweltbedingungen haben. WP = Kontrolle; DCINA = Resistenzinduktor.

Molekulare Aufklärung eines Resistenzmechanismus in Gerste

Michael Korell, Christina Eckey, Carin Jansen, Dagmar Biedenkopf, Ute Micknass, Dieter Bork, Christl Nickel-Demuth, Volker Weisel und Karl-Heinz Kogel

Arbeitsgruppe 2
Institut für Phytopathologie und
Angewandte Zoologie (IPAZ)

Gerste weist eine Vielzahl von Resistenzgenen auf, die jeweils einen guten Schutz gegenüber einem, aber nicht allen Schaderregern vermitteln können. Einige Abwehrmechanismen dieser Resistenzen, wie der von uns untersuchte Mlg-Weg, gleichen denen, die nach chemischer Resistenzin-

duktion durch Pflanzenaktivatoren (z.B. Bion[®]) zu beobachten sind. Chemische Pflanzenaktivatoren besitzen allerdings den Vorteil, dass sie eine effektive Resistenz gegen ein breites Spektrum sehr unterschiedlicher Schaderreger induzieren können. Gegenüber klassischen Pflanzenschutzmitteln haben die Pflanzenaktivatoren den Vorteil einer hohen Umweltverträglichkeit. Da allerdings die Wirksamkeit dieses nachhaltigen Pflanzenschutzprinzips für eine kommerzielle Nutzung zur Zeit noch unbefriedigend ist, sollen Gene identifiziert werden, die an dem Anschalten dieser breit-wirksamen Resistenz beteiligt sind. Um die Funktion dieser Gene und ihre Auswirkung auf die Resistenzaktivierung überprüfen zu können, werden Mutationslinien von resistenten Gersten erzeugt, die eine Defektmutation für den untersuchten Resistenzweg aufweisen (Abbildung). Sind diese Gene bekannt, lassen sich neue effektivere Pflanzenaktivatoren entwickeln, die gezielter die pflanzeigenen

Abwehrprozesse anschalten können. Langfristig soll dann durch Kombination (Pyramidisierung) von Resistenzgenen, die seit langem von Züchtern zum Aufbau von Gerstensorten ausgenutzt werden, mit diesen SAR-Aktivierungsgenen ein umfassender Schutz gegenüber Schaderregern in Gerste erzielt werden. Eine Pyramidisierung von verschiedenen Resistenzformen ist angebracht, um die Wirksamkeit der SAR sowie die Dauerhaftigkeit der klassischen Resistenzen in Gerste für eine kommerzielle Nutzung weiter zu optimieren. •



Abbildung: Anfällige Mutationslinien (Mitte) selektiert aus der spaltenden Generation nach erfolgter Mutagenese (M2) im Vergleich zum Wildtyp (IWe, rechts) und einer resistenten Kontrolle (PDe, links). Die Vererbung für die Defektmutation folgt den Mendelchen Regeln für einen dominant-monogenen Erbgang im Verhältnis 3:1.

Untersuchung zur Anpassungsfähigkeit von Mehltaupopulationen an veränderte Umweltbedingungen und Pflanzenschutzmaßnahmen

Jörn Pons, Claudia Knecht, Jutta Ahlemeyer und Wolfgang Köhler

Arbeitsgruppe 3
Institut für Pflanzenbau II,
Biometrie und Populationsgenetik

Die Bestimmung der genetischen Variabilität von Erregerpopulationen von Pflanzenkrankheiten gibt Hinweise auf deren Anpassungsfähigkeit bezüglich veränderter Umweltbedingungen, die z.B. beim Einsatz von Pflanzenschutzmaßnahmen eintreten. Zu den wirksamsten Pflanzenschutzmaßnahmen gehören der Einsatz von resistenten Kultursorten und der chemische Pflanzenschutz. Pflanzenzüchter waren und sind stets bemüht, dem Landwirt Kultursorten verfügbar zu machen, die wirksame Resistenzgene

gegen einen oder mehrere Schaderreger enthalten. Jedoch waren und sind diese Resistenzgene oft nicht dauerhaft wirksam, weil aufgrund der enormen Variabilität der Krankheitserreger in kurzer Zeit virulente Rassen selektiert werden. Das gleiche gilt für chemische Pflanzenschutzmittel, deren Anwendung in vielen Fällen einen so starken Selektionsdruck auf die Erregerpopulationen ausübt, dass nur gegen die entsprechenden Mittel resistente Individuen überleben können. In einigen Fällen vermehrten sich diese „Resistenten“ in der Population so stark, dass einige Pflanzenschutzmittel schließlich für die gesamte Erregerpopulation nahezu unwirksam blieben. In beiden Fällen ist die hohe genetische Variabilität von Erregerpopulationen für deren enorme Anpassungsleistung verantwortlich.

Werden nun neue Pflanzenschutzprinzipien entdeckt, ist die genetische Variabilität und damit die Anpassungsfähigkeit von Erre-

gerpopulation zunächst unbekannt. Am Beispiel des Gerstenmehltaus soll das Selektionspotential und damit das langfristige Risiko des Einsatzes der chemischen Resistenzinduktion abgeschätzt werden.

Eine weitere Aufgabe unserer AG ist die Analyse der genetischen Variabilität von Wildgersten. Bei diesen Arbeiten soll der Hypothese nachgegangen werden, dass Wildgerste phylogenetisch ursprüngliche SAR-Faktoren besitzt, die in unseren Sorten aufgrund der züchterischen Bearbeitung nicht mehr (vollständig) funktional sind. Erfahrungsgemäß besitzen Wildgersten eine erhebliche genetische Variabilität, was die Wahrscheinlichkeit SAR Faktoren zu finden, die möglicherweise in Kulturgerste nicht (mehr) vorhanden sind, erhöht. Diese Faktoren könnten in Kultursorten inkorporiert werden, die sich dann besonders zur Kombination mit der SAR eignen würden. •



Abbildung: Vermehrung von Wildgersten aus der Westtürkei.

Untersuchungen zur Wirkung der SAR in Kombination mit konstitutiven Resistenzgenen bei bedeutenden Pathogenen der Gerste

Claudia Weiskorn, Marco Krämer, Frank Ordon und Wolfgang Friedl

Arbeitsgruppe 4
Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I

Das Pilzpathogen *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J.J. Davis und das durch Blattläuse übertragene Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV) zählen in den gemäßigten Breiten zu den bedeutendsten Schaderregern der Gerste (*Hordeum vulgare* L.) und verursachen erhebliche Ertragsverluste (Abb. 1). Ziel der Arbeiten ist es daher, für diese Pathosysteme grundlegende Erkenntnisse zur Genetik der SAR-Wirkung zu gewinnen, welche eine züchterische Optimierung der SAR gegenüber diesen Erregern – gegebenenfalls in Kombination mit konstitutiven Resistenzgenen – erlauben.

Um diese Ziele zu erreichen wird – nach künstlicher Infektion mit den entsprechenden Pathogenen – die Wirkung SAR-induzierender Substanzen auf *Rhynchosporium secalis* sowie BYDV an ho-



Abb. 1. Stark mit *Rhynchosporium secalis* befallene Gerste (links) sowie Einfluß einer BYDV-Infektion auf Gerste (rechts)

mozygoten doppelhaploiden Linien (DH-Linien) durch Bestimmung des Pathogengehaltes mittels ELISA sowie in Gefäßversuchen anhand der Veränderungen des Korn-ertrages und der Ertragsstrukturkomponenten relativ zu einer un-

behandelten, aber infizierten Variante ermittelt. Darüber hinaus werden zur Erfassung etwaiger Wechselwirkungen zwischen konstitutiven Resistenzgenen (*Rh*, *Yd2*), die jedoch gegen verschiedene Rassen bzw. Isolate der Erreger nicht mehr wirksam sind, und der Ausprägung der SAR, sämtliche DH-Linien mit Hilfe eng gekoppelter molekularer Marker im Hinblick auf diese Gene analysiert. Parallel zu diesen Arbeiten werden mittels molekularer Techniken (AFLPs, RAPDs, SSRs) dichte genetische Karten für die DH-Populationen erstellt (Abb. 2), um im Rahmen einer QTL-Analyse Chromosomenabschnitte zu identifizieren, die an der Ausprägung der SAR beteiligt sind und deren Zusammenführung mittels molekularer Marker letztendlich eine züchterische Optimierung der SAR ermöglicht. •

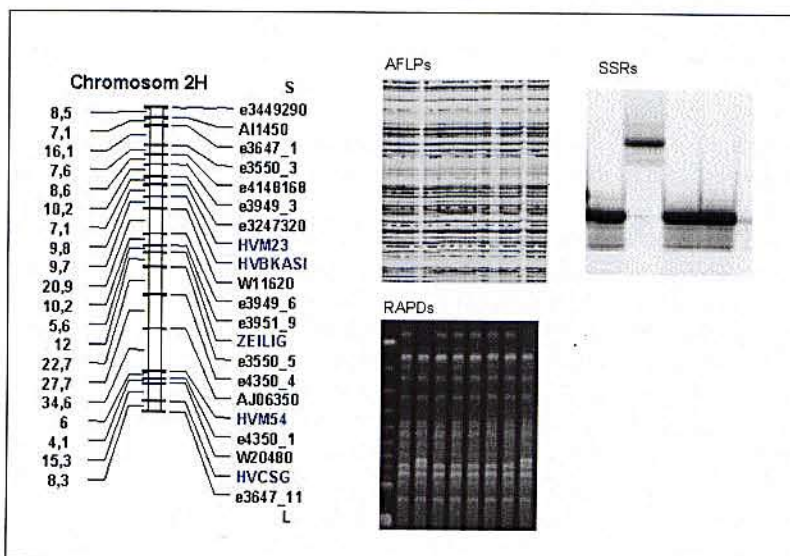


Abb. 2. Genetische Karte des Chromosoms 2 der Gerste basierend auf AFLPs, SSRs und RAPDs

Beeinflussung der Resistenzinduktion durch abiotische Umweltfaktoren

Joachim Wiese, Feng Yan und Sven Schubert

Arbeitsgruppe 5
Institut für Pflanzenernährung

Neben den eigentlichen Krankheitserregern haben abiotische Umweltfaktoren wie Klima (Temperatur, Feuchtigkeit, Sonneneinstrahlung) und Bodenfaktoren (wie Salz- und Säuregehalt) einen erheblichen Einfluss auf die Pflanzengesundheit. Die AG Schubert untersucht den Zusammenhang zwischen Umweltstress und Resistenzinduktion am Beispiel der Säuretoleranz der Gerste.

Pflanzen scheiden unter bestimmten Voraussetzungen über

eine H^+ -ATPase Protonen in die Rhizosphäre (wurzelnaher Raum) ab. Diese Ansäuerung lässt sich mit pH-Indikatoren sichtbar machen (Abbildung). Der Indikator Bromkresolpurpur nimmt im neutralen pH-Bereich eine rot-braune Farbe an und wechselt bei Ansäuerung zu gelb. Die Ansäuerung ermöglicht das Streckungswachstum pflanzlicher Zellen, verbessert die Verfügbarkeit von Nährstoffen im Boden und spielt bei der Nährstoffaufnahme eine Rolle. Eine besondere Bedeutung kommt der Protonenabscheidung für die pH-Regulation in pflanzlichen Zellen zu. Ist diese Protonenabscheidung durch Umweltstress gestört, so ist das Pflanzenwachstum beeinträchtigt. In letzter Zeit konnte gezeigt werden, dass die Förderung der Protonenabgabe zur Erhöhung der Resistenz gegenüber Umweltstress beitragen kann. Interessanterweise lässt sich die Protonenabgabe



Abbildung: Nachweis der Ansäuerung durch Wurzelexudate im wurzelnahen Raum mit Hilfe des pH-Indikators Bromkresolpurpur.

auch durch den Resistenzinduktor DCINA (Dichlorisonikotinsäure) stimulieren, der die natürliche Resistenz von Pflanzen gegenüber Krankheiten erhöht. Ziel des Forschungsprojektes ist es daher zu überprüfen, ob die Verbesserung der Resistenz gegenüber abiotischem Stress auch zu einer verbesserten Resistenz gegenüber Krankheitserregern führt. •

Bodenorganismen und Resistenzinduktion bei Gerste

Ilja Sonnemann, Kerstin Finkhäuser und Volkmar Wolters

Arbeitsgruppe 6
Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie

Die Mikroorganismen und Tiere des Bodens haben einen enormen Einfluss auf das Wachstum und die Widerstandskraft von Pflanzen. Es lassen sich zwei Grundtypen von Effekten unterscheiden:

- schädigende Wirkungen (z.B.

Belastungen durch parasitische Nematoden oder Konkurrenz um Nährstoffe);

- fördernde Wirkungen (z.B. Symbiose mit Mykorrhizapilzen oder eine allgemeine Verbesserung der Bodengesundheit).

Vor diesem Hintergrund testet die AG Tierökologie am Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie die Hypothese, dass die zur Zeit noch recht unbefriedigende Wirkunsicherheit chemischer Induktoren für Systemisch Aktivierte Resistenz (SAR) zum Teil durch die unterschiedlichen Effekte der Bodenlebewelt auf Pflanzen erklärt werden kann.

In einer Vielzahl von Labor- und Freilanduntersuchungen wird der Zusammenhang zwischen Resistenzpotential von Gerste und bodenbiologischen Systemkomponenten (Mikroflora, Mikro- und Mesofauna) analysiert. Dabei soll auch geklärt werden, ob eine mögliche Resistenzaktivierung durch Bodenorganismen auf SAR beruht oder ob ein zusätzlicher Weg zur Veränderung des Resistenzpotentials existiert. Ein besonderer Schwerpunkt liegt auf Untersu-

chungen im Wurzelraum. In der Anfangsphase des Projekts wird die SAR-Ausprägung gegenüber dem biotrophen Erreger *Blumeria graminis* in Labor- und Freiland-systemen untersucht.

In einem Freilandexperiment konnte gezeigt werden, dass eine Resistenzinduktion durch das Mittel Bion® zu einer Erhöhung der Wurzelinfektion mit endoparasitischen Nematoden und mit vesikulär-arbuskulärer Mykorrhiza führt. Die Resistenzinduktion scheint die Gerstenwurzeln also sowohl für pflanzenschädigende als auch für fördernde Bodenorganismen attraktiver zu machen. In einem Laborexperiment, in dem die Zusammensetzung der Bodenlebewelt gezielt manipuliert wurde, ergaben sich Hinweise darauf, dass der Effekt der Bion®-Behandlung durch die Abundanz der Nematoden und der Mykorrhiza im Boden in unterschiedlicher Weise modifiziert wird. Diese Ergebnisse sind ermutigend, da sie die Hypothese von einer Wechselwirkung zwischen Resistenz-induzierenden Substanzen und der Aktivität von Bodenorganismen bestätigen. •



Mykorrhizierete Gerstenwurzel (Säurefuchsin-Färbung, 14x vergrößert)