

Molekulare Mykologie am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

REINHARD FISCHER, JÖRG KÄMPER, PETER NICK & NATALIA REQUENA

Kurzfassung

Am Karlsruher Institut für Technologie (KIT), das aus der Zusammenfügung der Universität Karlsruhe mit dem Helmholtz-geförderten Forschungszentrum 2008 entstanden ist, untersuchen vier Arbeitsgruppen ein breites Spektrum an pathogenen, symbiontischen und saproben Pilzen mit molekularbiologischen Methoden. Prof. REINHARD FISCHER und Mitarbeiter arbeiten an Wachstumsmechanismen und Lichtperzeption bei *Aspergillus (Emericella) nidulans* und Mechanismen der Mykotoxinproduktion bei *Alternaria alternata* als Beispiele saprober Schimmelpilze. Prof. JÖRG KÄMPER und Mitarbeiter bearbeiten den Pilz des Maisbeulenbrandes als Modell für phytopathologische Interaktionen. Prof. NATALIA REQUENA spezialisiert sich auf zelluläre Interaktionen zwischen arbuskulären Mykorrhiza-Pilzen und ihren Wirtspflanzen. Prof. PETER NICK versucht, den wertvollen Rebsorten Resistenzgene aus Wildarten einzubauen, um den benötigten Fungizideinsatz so stark wie möglich zu reduzieren.

Abstract

Molecular mycology at the Karlsruhe Institute of Technology (KIT)

At the Karlsruhe Institute of Technology (KIT) that has arisen from the combination of the Universität Karlsruhe and the Forschungszentrum supported by Helmholtz in 2008, four working groups are studying members of all groups of fungi, saprobes, symbionts and pathogens, at the molecular level. Prof. REINHARD FISCHER and coworkers work on growth mechanisms and light perception in *Aspergillus (Emericella) nidulans*, and mechanisms of mycotoxin production by *Alternaria alternata* as examples of saprobic molds. Prof. JÖRG KÄMPER and coworkers study *Ustilago maydis* as a model of phytopathogenic interactions. Prof. NATALIA REQUENA specializes on cellular interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and their host. Prof. PETER NICK attempts to insert resistance genes of wild grape species into valuable grape cultivars, in order to minimize the application of fungicides.

Autoren

Prof. Dr. REINHARD FISCHER, Prof. Dr. JÖRG KÄMPER, Karlsruhe Institute of Technology, Institute for Applied Biosciences, Dept. of Microbiology and Dept. of Genetics, Hertzstr. 16, 76187 Karlsruhe, Germany, E-Mail: reinhard.fischer@KIT.edu, joerg.kaemper@KIT.edu.

Prof. Dr. PETER NICK, Karlsruhe Institute of Technology, Botanical Institute, Dept. of Molecular Cell Biology, Kaiserstr. 2, 76128 Karlsruhe, Germany, E-Mail: peter.nick@KIT.edu

Prof. Dr. NATALIA REQUENA, Karlsruhe Institute of Technology, Botanical Institute, Dept. of Molecular Phytopathology, Hertzstr. 16, 76187 Karlsruhe, Germany, E-Mail: natalia.requena@KIT.edu

1 Geschichte der Mikrobiologie und Mykologie am KIT

Das Karlsruher Institut für Technologie (KIT) wurde offiziell im Jahre 2008 mit dem Zusammenschluss der Universität Karlsruhe und dem Helmholtz-geförderten Forschungszentrum Karlsruhe gegründet. Dieser Zusammenschluss war Teil eines Zukunftskonzeptes des Standortes Karlsruhe im Rahmen der von der Deutschen Forschungsgemeinschaft initiierten Exzellenzinitiative. Das KIT wurde als eine von zunächst drei Eliteuniversitäten in Deutschland ausgezeichnet.

Die Mikrobiologie und Mykologie hat eine lange Tradition an der Universität Karlsruhe, die 1825 zunächst als polytechnische Schule gegründet wurde und sich fortan stetig vergrößerte. Um die Jahrhundertwende gab es bereits eine Zoologie und eine Botanik. 1891 wurde LUDWIG KLEIN zum Professor für Botanik ernannt, der sich sehr für Großpilze interessierte und 1912 Mitgründer der Deutschen Gesellschaft für Pilzkunde war. Einer der Pioniere der Mykologie und Mikrobiologie in Karlsruhe war WALTER MIGULA, der sich 1890 in Botanik habilitierte und bis 1904 Professor war. Er beschrieb die wichtige Bakteriengattung *Pseudomonas*. Im Jahre 1956 wurde HANS KÜHLWEIN als Professor für Botanik berufen. Er arbeitete nicht nur mit Myxobakterien, sondern auch mit holzzerstörenden Pilzen, wie z.B. dem Hausschwamm. Im Jahre 1967 wurde die Universität neu strukturiert, Professor WALTER ZUMFT wurde 1982 als Mikrobiologe berufen und die Mikrobiologie 2004 durch Professor REINHARD FISCHER verstärkt. Während sich Herr ZUMFT mit Bakterien beschäftigte, die am Umsatz von Stickstoffverbindungen im Boden beteiligt sind, ist das Forschungsgebiet von Herrn FISCHER die molekulare Mykologie. Im Jahre 2005 kam die Abteilung Pflanzen-Mikroben-Interaktionen, zunächst als Heisenberggruppe, heute

als gleichwertige Abteilung Molekulare Phytopathologie, dazu. Das Team wurde durch die Abteilung Genetik, in der das Mais-Pathogen *Ustilago maydis* untersucht wird, im Jahre 2008 weiter verstärkt. Die botanische Abteilung Molekulare Zellbiologie beschäftigt sich in einigen Projekten ebenfalls mit phytopathogenen Pilzen. So hat sich aus einem Botanikprofessor, der sich vor mehr als 100 Jahren für Pilze interessierte, heute eine Forschungslandschaft mit mehr als 60 Mitarbeitern, bestehend aus mehreren Professuren, vielen Doktoranden und Masterstudenten entwickelt.

2 Saprobe Schimmelpilze – von der Grundlagenforschung zur Anwendung

(Leiter der Arbeitsgruppe:

Prof. Dr. REINHARD FISCHER, seit 2004 am KIT)

Ewiges Spitzenwachstum – die Wuchsform filamentöser Pilze

Eine faszinierende Eigenschaft filamentöser Pilze ist das fädige Wachstum. Die Pilzfäden können prinzipiell unendlich weit wachsen, so dass pilzliche Individuen viele km² einnehmen können und die größten Organismen der Erde darstellen. Das Wachstum ist auf die Spitze der Hyphen beschränkt und erfordert die kontinuierliche Fusion von sekretorischen Vesikeln mit der Membran. Dadurch werden Enzyme, die für die Zellwandbiosynthese benötigt werden, ausgeschieden. Außerdem wird durch die Fusion der Membranvesikel die Cytoplasmamembran ständig vergrößert. Durch den intrazellulären Druck wird die Hyphe schließlich vorne verlängert. Eine spannende Frage betrifft die Markierung der Hyphenspitze als Wachstumszone. Warum wächst eine Pilzzelle nur an der Spitze? Diesem Phänomen geht die Arbeitsgruppe von Professor FISCHER nach. Sie hat Proteine entdeckt, die an der wachsenden Hyphenspitze lokalisiert und für eine Ausrichtung des Aktincytoskeletts verantwortlich sind. Fehlt eine dieser Komponenten, wachsen die Pilzhypen nicht mehr gerade, sondern in Mäandern (Tafel 1, Abb.1).

Pilze „sehen“ rotes und blaues Licht

Betrachtet man die Fruchtkörper vieler Pilze in unseren Wäldern, ist gleich offensichtlich, dass es sich um *sessile* Lebewesen handelt, die sich nicht durch aktive Bewegung verbreiten können. Dennoch sind es gerade diese Fruchtkörper, die durch Bildung von Abermillionen mikroskopisch kleiner Sporen und mit Hilfe von Wind und Was-

ser die Verbreitung der Organismen gewährleisten. Da es sich um komplexe Strukturen handelt, erfordert die Bildung der Fruchtkörper und der Sporen eine regelrechte Umprogrammierung der Pilzzellen. Klar, dass der *Startschuss* zur Bildung der Fruchtkörper genauestens gesteuert werden muss. Jeder Pilzsammler weiß, dass viele Arten vor allem bei feuchtem Wetter zu finden sind. Ein weiterer wichtiger Parameter ist die Erkennung der Bodenoberfläche. Pilzhypen leben vor allem im Boden, im Verborgenen. Die Bildung der Fruchtkörper hat aber nur an der Bodenoberfläche einen Sinn. Eine Ausnahme bilden Trüffel, die ihre Fruchtkörper unterirdisch bilden und zu ihrer Verbreitung auf Tierfraß angewiesen sind. Licht zeigt dem Pilz, ob er im Boden oder auf der Oberfläche wächst. Deshalb ist es nicht verwunderlich, dass Pilze in der Evolution ein ausgeklügeltes Lichtwahrnehmungssystem entwickelt haben. Sie besitzen mehrere Photorezeptoren, die blaues, rotes oder grünes Licht wahrnehmen können.

Die Gruppe von Professor FISCHER untersucht die Lichtwahrnehmung im Modellorganismus *Aspergillus (Emericella) nidulans* und hat kürzlich Blaulicht- und Rotlichtrezeptoren entdeckt, die sogar miteinander interagieren. Der Rotlichtrezeptor ist Phytochrom, der zentrale Lichtregulator auch in Pflanzen. Die Entdeckung von Phytochrom in Pilzen eröffnet ganz neue Möglichkeiten, die Funktion des Rezeptors zu verstehen (Tafel 2, Abb. 2).

Gift oder Medikament – Untersuchung des pilzlichen Sekundärmetabolismus

Pilze zeichnen sich durch einen äußerst mannigfaltigen Sekundärmetabolismus aus. Produkte dieses Sekundärmetabolismus umfassen sowohl für den Menschen nützliche Substanzen wie auch krebserregende oder lebensgefährliche Moleküle. Zu den nützlichen Substanzen zählen viele unserer Antibiotika oder andere Medikamente, während z.B. das Gift des Knollenblätterpilzes äußerst gefährlich ist und oft zu Todesfällen führt. Schimmelpilze bilden meist keine akut toxischen Verbindungen, sondern viele Stoffe mit karzinogenem oder teratogenem Potenzial. Dazu zählen Aflatoxin, Ochratoxin oder auch Alternariol. Deshalb werden unsere Lebensmittel hinsichtlich des Toxingehaltes kontrolliert, bevor sie zum Verzehr freigegeben werden. Während die Bildung, aber auch die toxikologische Wirkung von Aflatoxin recht gut untersucht ist, ist das Wissen über Alternariol noch sehr beschränkt. Alternariol

wird z.B. von der Sammelart *Alternaria alternata*, einem häufigen Schimmelpilz auf Lebensmitteln, gebildet (Tafel 3, Abb. 3).

Die Gruppe von Professor FISCHER untersucht die Genetik der Alternariolbildung, um den Biosyntheseweg sowie die Regulation der Expression der Gene zu verstehen. Die Untersuchungen könnten zu verbesserten Anweisungen zur Ernte und/oder Lagerung von Lebensmitteln beitragen, um die Alternariolbildung in Lebensmitteln zu minimieren. Daneben versucht die Gruppe, auch neue Sekundärmetabolite zu identifizieren und deren toxikologisches Potenzial sowie eine mögliche pharmakologische Wirkung zu prüfen.

Vom „Regenschirm“ der Pilze zur Beschichtung technischer Oberflächen

Vor nunmehr 20 Jahren wurde in einem an totem Holz wachsenden Pilz, *Schizophyllum commune*, ein kleines, wasserabweisendes und in herkömmlichen Lösemitteln unlösliches Protein, das als Hydrophobin bezeichnet wurde, entdeckt. Dieses Protein wurde danach in vielen Pilzen gefunden und es zeigte sich, dass eine ganze Reihe verwandter Proteine diese Funktion erfüllen. In *Aspergillus nidulans* gibt es insgesamt sechs Hydrophobine. Eines davon bildet eine filamentartige Struktur auf der Oberfläche der asexuellen Konidien. Viele dieser Filamente (sog. Rodlets) liegen dicht an dicht nebeneinander und führen zu einem strohballenartigen Aussehen der Oberfläche, wenn sie im Rasterelektronenmikroskop oder mit einem Rasterkraftmikroskop sichtbar wird. Das Protein macht die Sporenoberfläche hydrophob und widerstandsfähig. Vor kurzem ist es Kollegen der BASF SE gelungen, eines der *A. nidulans* Hydrophobine biotechnologisch herzustellen (www.hydrophobin.basf.com). Es wird unter dem Namen *H-Star Protein* vertrieben. Die Möglichkeit der großtechnischen Gewinnung eröffnet viele neue Wege der Anwendung dieses interessanten Proteins. Die Arbeitsgruppe von Professor FISCHER versucht, andere Proteine, Peptide oder funktionelle Gruppen mit Hydrophobin zu fusionieren, um Oberflächen zu funktionalisieren. Die Anwendungen reichen von der Beschichtung von Knochenimplantaten bis zur Nanotechnologie (Tafel 3, Abb. 4).

Ausgewählte Publikationen

FISCHER, R., ZEKERT, N. & TAKESHITA, N. (2008): Polarized growth in fungi – interplay between the

cytoskeleton, positional markers, and membrane domains. – *Mol. Microbiol.*, **68**(4): 813-826.

PURSCHWITZ, J., MÜLLER, S., KASTNER, C., SCHÖSER, M., HAAS, H., ESPESO, E. A., ATOUTI, A., CALVO, A. M. & FISCHER, R. (2008): Functional and physical interaction of blue and red-light sensors in *Aspergillus nidulans*. – *Curr. Biol.*, **18**: 255-259.

RODRIGUEZ-ROMERO, J., HEDTKE, M., KASTNER, C., MÜLLER, S. & FISCHER, R. (2010): Fungi, hidden in soil or up in the air – Light makes a difference. – *HERMANT Ann. Rev. Microbiol.*, **64**: 585-610.

TAKESHITA, N., HIGASHITSUJI, Y., KONZACK, S. & FISCHER, R. (2008): Apical sterol-rich membranes are essential for localizing cell end markers that determine growth directionality in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. – *Mol. Biol. Cell*, **19**(1): 339-351.

ZEKERT, N. & FISCHER, R. (2009): The *Aspergillus nidulans* kinesin-3 UncA motor moves vesicles along a subpopulation of microtubules. – *Mol. Biol. Cell*, **20**: 673-684.

3 Der phytopathogene Pilz *Ustilago maydis*

(Leiter der Arbeitsgruppe:

Prof. Dr. JÖRG KÄMPER, seit 2007 am KIT)

Ustilago maydis ist der Erreger der Beulenbrandkrankheit bei Mais. Der Pilz gehört zu einer großen Gruppe von Pflanzenschädlingen, den Brandpilzen.

Ustilago maydis hat sich in den letzten Jahrzehnten zu einem der führenden Modellsysteme für pflanzenpathogene Pilze entwickelt. Der Pilz ist hoch spezialisiert auf Mais. *U. maydis* durchläuft einen komplexen Lebenszyklus auf der Oberfläche und im Gewebe der Maispflanze. In der „saprotrophen Phase“ wächst der Maisbrand außerhalb der Pflanze; einzelne Zellen des Pilzes, Sporidien genannt, teilen sich durch Absprossen neuer Zellen, ähnlich wie die Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae*. Die Sporidien sind haploid, d.h. sie besitzen nur einen Satz ihrer Chromosomen. Die Sporidien sind nicht in der Lage, Maispflanzen zu infizieren. Wenn jedoch zwei unterschiedliche Sporidien miteinander verschmelzen, wird die typische fadenförmige Struktur filamentöser Pilze, die Hyphe, gebildet. Jede Zelle der Hyphe hat nun zwei Kerne, die den Kernen der fusionierten Sporidien entsprechen. Diese sogenannten dikaryotischen Hyphen

sind in der Lage, die Pflanze zu infizieren (Tafel 4, Abb. 5c) und sind für die weitere Entwicklung auf lebendes Pflanzengewebe angewiesen (biotrophe Phase). Die Pflanzeninfektion führt zur Bildung von Tumoren (Tafel 4, Abb. 5a), in denen sich der Pilz massenhaft vermehrt (Tafel 4, Abb. 5 s1, d2). Gegen Ende der Infektion sind diese Tumore mit Millionen dunkel gefärbter Brandsporen gefüllt; erst in den Sporen verschmelzen die beiden Kerne des Dikaryons; die Kerne haben nun einen doppelten Chromosomensatz (diploid). Unter geeigneten Bedingungen keimen die Brandsporen aus, es kommt zur Meiose und wieder zur Bildung haploider Sporidien.

***Ustilago maydis* als Modellsystem**

Im Gegensatz zu den meisten biotrophen Pilzparasiten, die außerhalb ihrer Wirtspflanzen nicht kultiviert werden können, können zumindest die Sporidien von *U. maydis* leicht auf künstlichen Nährböden vermehrt werden. Die Pilzzellen sind sehr gut zugänglich für genetische und molekularbiologische Untersuchungen. Es ist leicht möglich, gezielt bestimmte Gene zu zerstören, zu verändern oder unter definierten Bedingungen an- und abzuschalten. Zellbiologische Untersuchungen werden durch eine Vielzahl fluoreszierender Proteine (wie das Grün Fluoreszierende Protein, GFP) erleichtert, was die Untersuchung von Proteinen und Prozessen in der lebenden Zelle ermöglicht. Fluoreszierende Proteine erleichtern auch die Beobachtung des Pilzwachstums innerhalb der Pflanze, wodurch beispielsweise die Auswirkungen von bestimmten Genveränderungen auf die pathogene Entwicklung untersucht werden können (Tafel 4, Abb. 5c, d1, d2).

Genetische Kontrolle der Pathogenität

Eine bemerkenswerte Eigenschaft von *U. maydis*, aber auch aller anderen Brandpilze ist, dass der Pilz erst nach Verschmelzung zweier Sporidien pathogen wird. Dieser Prozess wird genetisch durch die beiden Kreuzungstyp-Loci kontrolliert; die Zellen fusionieren nur, wenn sie sowohl verschiedene Allele (Zustandsformen) des *a*- als auch des *b*-Kreuzungstyp-Locus besitzen. Jedes der mindestens 19 verschiedenen *b*-Allele kodiert für zwei verschiedene Transkriptionsfaktoren, *bE* und *bW* genannt, die als Schalter für Gene funktionieren. Während der *a*-Locus die Annäherung der Zellen und die Zellfusion steuert, hat der *b*-Kreuzungstyp-Locus die Rolle eines zentralen Schalters für die pathogene

Entwicklung. Tragen die Zellen beide verschiedenen Allele des *b*-Locus (z.B. *b1* und *b2*), wird das pathogene Programm angeschaltet; haben die Zellen die gleichen Allele (*b1* und *b1*), kann der Pilz die Pflanze nicht infizieren. Die Zellfusion kann im Labor auf aktivkohlehaltigen Festmedien erfolgen; die Bildung der Hyphen ist makroskopisch an der watteartigen Oberfläche der Kolonie erkennbar (Tafel 5, Abb. 5c).

Was versteckt sich nun hinter diesen verschiedenen Allelen? Wenn die *bE* und *bW* Proteine von verschiedenen Allelen abstammen, lagern sich die Proteine aneinander und bilden ein Heterodimer, das DNA bindet und eine Vielzahl von Genen an- oder abschaltet; *bE*- und *bW*-Proteine des gleichen Allels können dies nicht.

Unser Hauptinteresse liegt in der Aufklärung der Mechanismen, die bei *U. maydis* zur Etablierung der pathogenen Phase führen. Um den Eintritt in die pathogene Phase gezielt untersuchen zu können, haben wir die Pilzzellen genetisch so manipuliert, dass das aktive *bE1/bW2* Heterodimer kontrolliert gebildet wird, wodurch die pathogene Entwicklung beginnt. Die Verfügbarkeit solcher Stämme hat erstmals einen breit angelegten genetischen Zugang zur Identifizierung von Prozessen, die die pathogene Entwicklung steuern, ermöglicht. So wissen wir genau, welche Gene direkt durch *bE1/bW2* reguliert werden. Unter diesen sogenannten Klasse-1-Genen befinden sich wiederum Regulatoren, die weitere Gene (Klasse-2-Gene) regulieren, die erneut Regulatoren regulieren; wir haben also ein sehr komplexes Netzwerk unterhalb des zentralen Pathogenitätsschalters *bE1/bW2* (Tafel 5, Abb. 6). Über dieses Netzwerk findet eine Signalintegration statt, über welche die Zellteilung (Entwicklung) und die Adaptation der Hyphne in der Pflanze koordiniert wird. Verschiedene der von uns identifizierten Regulatoren sind für die pathogene Entwicklung absolut notwendig. Neben dem *bE/bW* Heterodimer ist *Rbf1* der zentrale Transkriptionsfaktor, der für die Regulation der meisten *bE/bW* regulierten Gene notwendig ist. Einer der *Rbf1*-abhängigen Transkriptionsfaktoren ist *Biz1*; *Biz1* wiederum koordiniert die Expression während der frühen Infektionsphase auf der Pflanzenoberfläche. Interessanterweise haben alle diese Regulatoren auch Einfluss auf die Zellteilung. Das aktive *bE/bW* Heterodimer verhindert nach der Zellfusion der Sporidien eine weitere Teilung der Zellkerne. Dieser Zellzyklus-Arrest wird erst aufgehoben, wenn die Zellen eine Pflanze infizieren. Aber wie kommt

es zu diesem koordinierten Start der Zellteilung? Wir konnten zeigen, dass dafür das *clp1*- Gen notwendig ist, eines der wenigen direkt vom *b*-Kreuzungs-Locus regulierten Klasse-1-Gene. Das Clp1 Protein wird genau zum Zeitpunkt der Pflanzenpenetration gebildet und lagert sich dann an das bW und das Rbf1 Protein an, wodurch deren Funktion verändert und der Zellzyklus-Block aufgehoben wird.

Sezernierte Proteine und Pflanzenabwehr

Verschiedene der von uns identifizierten regulatorischen Proteine koordinieren die Bildung von Proteinen, die für die Infektion der Pflanze absolut notwendig sind. Diese sogenannten Effektoren werden von den Pilzzellen sezerniert und unterdrücken zum Beispiel Abwehrreaktionen der Pflanzenzellen, die zum Abtöten der Pilzzellen führen würden. Wir denken aber auch, dass *U. maydis* Effektoren verwendet, um den Metabolismus seiner Wirtspflanze so umzuprogrammieren, dass sie ihn mit Zuckern und Stickstoffquellen versorgt. Unsere Ergebnisse haben bereits gezeigt, dass das von *U. maydis* infizierte Blattgewebe kaum photosynthetisch aktiv ist. Stattdessen werden Zucker aus anderen Geweben zur Infektionsstelle transportiert. Es zeichnet sich generell ab, dass sich *U. maydis* während der Pathogenese spezifisch an verschiedene Zelltypen bzw. Gewebe adaptieren muss, was eine zeitliche und gewebespezifische Expression von bestimmten Effektoren voraussetzt.

Wir haben insgesamt vier Effektoren identifiziert, die für die Proliferation des Pilzes in der Pflanze essentiell sind. Infektion mit den entsprechenden Mutanten-Stämmen führt zu verschiedenen Abwehrreaktionen (Produktion von reaktiven Sauerstoffmolekülen, Zellulosebarrieren) und Stresssymptomen der Pflanze, die in Wildtyp-Infektionen mit *U. maydis* nicht beobachtet werden. Für zwei der Effektoren konnten wir den Transfer aus der Pilzhyphe in den Zellkern der Wirtspflanze nachweisen. Wir gehen davon aus, dass *U. maydis* mit diesen Effektoren direkt in die Genregulation der Pflanze eingreift und so die Abwehrreaktionen gezielt unterdrückt.

Stofftransport während der pathogenen Entwicklung

Ein weiterer Schwerpunkt unserer Forschung ist die Stoffaufnahme während der biotrophen Wachstumsphase. Wir haben zwei Zucker-Transporter identifiziert, deren Ausschalten zu einer drastischen Reduktion der Pflanzeninfek-

tion führt. Der Haupttransportucker in Pflanzen ist das Disaccharid Saccharose (Rohrzucker). Bislang ist man davon ausgegangen, dass Pilze die Saccharose mit dem Enzym Invertase in die Monosaccharide Glucose (Traubenzucker) und Fructose (Fruchtzucker) spalten und dann diese Monosaccharide mit Hexosetransportern aufnehmen. Wir konnten nun zeigen, dass einer der von uns identifizierten Transporter, Srt1, die Saccharose ohne diesen Umweg direkt in die Pilzzellen transportiert. Freie Glucose ist nämlich für die Pflanze ein Signal, dass ein Eindringling ihre Saccharose abbaut, was zum Anschalten der Pflanzenabwehr führt. Und genau das scheint *U. maydis* durch die direkte Aufnahme zu umgehen.

Ausgewählte Publikationen

- HEIMEL, K., SCHERER, M., SCHULER, D. & KÄMPER J. (2010): The *Ustilago maydis* Clp1 protein orchestrates pheromone and b-dependent signaling pathways to coordinate the cell cycle and pathogenic development. – *Plant Cell*, **22**(8): 2908-2922.
- HEIMEL, K., SCHERER, M., VRANES, M., WAHL, R., POTHIRATANA, C., SCHULER, D., VINCON, V., FINKERNAGEL, F., FLOR-PARRA, I. & KÄMPER, J. (2010): The transcription factor Rbf1 is the master regulator for b-mating type controlled pathogenic development in *Ustilago maydis*. – *PLoS Pathog.*, **6**(8) pii: e1001035.
- SPANU, P. & KÄMPER, J. (2010) Genomics of biotrophy in fungi and oomycetes-emerging patterns. – *Curr. Opin. Plant Biol.*, **13**(4): 409-414.
- WAHL, R., WIPPEL, K., GOOS, S., KÄMPER J. & SAUER, N. (2010) A novel high-affinity sucrose transporter is required for virulence of the plant pathogen *Ustilago maydis*. – *PLoS Biol.*, **8**(2):e1000303.
- ZAHIRI, A., HEIMEL, K., WAHL, R., RATH, M. & KÄMPER, J. (2010): The *Ustilago maydis* Forkhead transcription factor Fox1 is involved in the regulation of genes required for the attenuation of plant defenses during pathogenic development. – *Mol. Plant Microbe Interact.*, **23**(9): 1118-1129.

4 Unterirdische Symbionten – die arbuskuläre Mycorrhiza

(Leiterin: Prof. Dr. NATALIA REQUENA,
seit 2005 am KIT)

Die arbuskuläre Mycorrhiza (AM) – ein biologischer Dünger

Die in der Natur allgegenwärtige arbuskuläre Mycorrhiza-Symbiose (von altgriechisch *mýkēs* - Pilz sowie *rhiza* - Wurzel) ist eine Gemeinschaft von Pflanzen und Pilzen zu beiderseitigem Nutzen. Hierbei dringt der Pilz in die Wurzel ein und vergrößert durch sein ausgedehntes Hyphenetzwerk den der Wurzel zugänglichen Bereich im Boden um ein Vielfaches. Somit versorgen die Mycorrhiza-Pilze ihren Pflanzenwirt mit essentiellen mineralischen Nährstoffen wie beispielsweise Phosphat oder Stickstoff, die sie aus der Erde aufnehmen. Die Pflanze gewinnt dadurch an Vitalität, was sich in einem verbesserten Wachstum äußert. Zusätzlich sind kolonisierte Pflanzen resistenter gegenüber schädlichen Pilzen und Bakterien sowie ungünstigen Bedingungen wie Trockenheit, Salz- oder Schwermetallbelastung der Böden. Im Gegenzug erhält der Pilz von der Pflanze Kohlenhydrate aus deren Photosynthese und kann somit wachsen und sich fortpflanzen. Tatsächlich werden bis zu 20 % des durch Photosynthese erzeugten Zuckers von der Pflanze an den pilzlichen Partner abgegeben (Tafel 6, Abb. 7).

Wie Pflanzen und AM-Pilze „Handel“ betreiben

Eine Besonderheit der AM-Symbiose ist der gegenseitige Nährstoffaustausch. Die vom Pilzpartner aufgenommenen mineralischen Nährstoffe teilt er mit der Pflanze und unterstützt dadurch das Pflanzenwachstum. Als Gegenleistung erhält der Pilz von der Pflanze Kohlenhydrate für sein eigenes Wachstum. Beide profitieren somit von ihrer Lebensgemeinschaft. Dreh- und Angelpunkt des Nährstoffaustauschs sind die Arbuskeln. Hier findet auf zellulärer Ebene der Nährstoffhandel statt.

In der Arbeitsgruppe von Professor REQUENA werden zwei Aspekte dieses Nährstoffaustauschs genauer untersucht: Zum einen der Transport von Stickstoff über den AM-Pilz zur Pflanze, zum anderen der Transport von Kohlenhydraten der Pflanze zum Pilz. Die Forscher konzentrieren sich dabei auf die Charakterisierung von pflanzlichen und pilzlichen Proteinen, über die

die Nährstoffaufnahme erfolgt. So konnten sie vor kurzem ein Protein des Pilzes identifizieren, den Monosaccharidtransporter 2 (MST2), über das der Pilz Zucker von der Pflanze aufnimmt. Ein weiteres Transportprotein, welches derzeit detailliert untersucht wird, ist ein pflanzlicher Ammoniumtransporter (AMT2.2). Dieser wird in der Symbiose aktiviert und dient der Aufnahme der vom Pilz gelieferten Stickstoffverbindungen (Tafel 6, Abb. 8).

Anklopfen oder Tür eintreten? Arbuskuläre Mycorrhiza-Pilze beherrschen beides

Da Mycorrhiza-Pilze Gemeinsamkeiten mit schädlichen Pilzen teilen, ist es für die Pflanze essentiell, zwischen Freund und Feind unterscheiden zu können. Diese Erkennung erfolgt durch eine Art Riechen, die Kommunikation durch organische Moleküle. Neben der Identifizierung pilzlicher Signalstoffe beschäftigt sich Prof. REQUENA auch mit den molekularen Mechanismen, die das Wachstum des Pilzes innerhalb der Wurzel ermöglichen.

Sprich, Freund, und tritt ein

In Folge der Perzeption pilzlicher Signalstoffe produziert die Pflanze bestimmte Proteine als Folge einer erhöhten Aktivität der entsprechenden Gene. Solche Gene werden in der Arbeitsgruppe von Prof. REQUENA identifiziert und in ihrer Funktion beschrieben. So konnte sie nachweisen, dass ein steroid-bindendes Protein (MSBP1, membrangebundenes steroid-bindendes Protein) nach der Erkennung des Pilzes aktiviert wird und die Aufnahme des Pilzes in die Pflanzenzelle fördert. Die Forscher vermuten, dass dies mit einer regulatorischen Rolle des Proteins auf den Sterolmetabolismus im Zusammenhang steht. Sterole sind wichtige Komponenten der zellulären Membranen. Da der Pilz beim Wachstum innerhalb der Wurzelzelle von Membranen der Pflanzenzelle umgeben ist, ist eine erhöhte Membransynthese in diesem Stadium unabdingbar. Das identifizierte Protein könnte somit der Schlüssel zu einer gesteigerten Sterolsynthese und somit auch zu einer vermehrten Produktion der notwendigen Membranen sein (Tafel 7, Abb. 9).

Und bist du nicht willig, so brauch' ich Gewalt

Doch der friedliche Schein trügt. Während die Pflanze ihrerseits die Aufnahme des Pilzes fördert, besitzt sie doch ein Immunsystem, das das Chitin in der Zellwand des Eindringlings erkennt.

Zu ihrer Verteidigung antworten Pflanzen nun normalerweise mit verschiedenen, für die Pilze tödlichen Reaktionen. Die Forscher um NATALIA REQUENA konnten jedoch zeigen, dass sich arbuskuläre Mykorrhiza-Pilze ähnlicher Tricks wie pathogene Organismen bedienen, um das Immunsystem der Pflanze zu umgehen. Tatsächlich sezernieren die Pilze Proteine, sogenannte Effektoren, die in die Pflanzenzelle eindringen und dort die Induktion einer Verteidigungsantwort unterwandern. Im Zellkern der Pflanze bindet ein solcher von der Gruppe identifizierter Effektor, SP7 (sezerniertes Protein 7), einen Transkriptions-Faktor (ERF19), der die Aktivität von Abwehr-Genen beeinflusst. Durch die Interaktion wird die Transkription der Verteidigungs-Gene verhindert und der Pilz kann ungehindert innerhalb der Wurzel wachsen (Tafel 7, Abb. 10).

Ausgewählte Publikationen

- BONFANTE, P. & REQUENA, N. (2011): Dating in the dark: how roots respond to fungal signals to establish arbuscular mycorrhizal symbiosis. – *Curr. Opin. Plant Biol.* (doi:10.1016/j.pbi.2011.03.014).
- GUETHER, M., VOLPE, V., BALLESTRINI, R., REQUENA, N., WIPF, D. & BONFANTE, P. (2011): LjLHT1.2 – a mycorrhiza-inducibile plant amino acid transporter from *Lotus japonicus*. – *Biol. Fertil. Soils*, **47**: 925-936.
- HELBER, N. & REQUENA, N. (2008): Expression of the fluorescence markers DsRed and GFP fused to a nuclear localization signal in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. – *New Phytologist*, **177**: 537-548.
- HELBER, N., WIPPEL, K., SAUER, N., SCHAARSCHMIDT, S., HAUSE, B. & REQUENA, N. (2011): A versatile monosaccharide transporter that operates in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus* sp. is crucial for the symbiotic relationship with plants. – *Plant Cell*, **23**: 3812-3823.
- KLOPPHOLZ, S., KUHN, H. & REQUENA, N. (2011): A secreted fungal effector of *Glomus intraradices* promotes symbiotic biotroph. – *Curr. Biol.* (doi: 10.1016/j.cub.2011.06.044).
- TISSERANT, E. & forty additional authors (2011): The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont. – *New Phytol.*, **193**(3): 1711-1720.

5 Reinen Wein einschenken trotz Pilzattacke – geht das?

(Leiter: Prof. Dr. PETER NICK, seit 2003 am KIT)

Worum geht es bei unserer Forschung?

Etwa 70 % der in Europa notwendigen Kosten für Fungizide gehen auf das Konto des Weinbaus. Die Weinrebe ist sehr anfällig gegen viele Krankheitserreger wie zum Beispiel den Falschen Mehltau (*Plasmopara viticola*), den Echten Mehltau (*Erysiphe necator*) und, seit einigen Jahren zunehmend problematisch, die Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*). Der Aufwand für chemischen Pflanzenschutz ist daher erheblich. Gibt es keine Alternativen? In Nordamerika hat sich der Falsche Mehltau gemeinsam mit wilden Weinarten entwickelt, die offenbar gut mit diesem Erreger „zurechtkommen“. Die Evolution hat dieses Problem also schon gelöst – könnte man nicht die natürliche Artenvielfalt wilder Weinarten nutzen, um neue Strategien zum Schutz unserer anfälligen Rebsorten zu entwickeln? Genau dies wird in der Arbeitsgruppe von Professor NICK in einer langjährigen Kooperation mit dem Staatlichen Weinbauinstitut in Freiburg ausgelotet.

Zurück zu den Wurzeln – Wein, Wissenschaft und Revolution...

Offen gestanden ist der Ansatz der Forschergruppe gar nicht so neu, sondern knüpft an einer spannenden Geschichte an, die in Karlsruhe begonnen hat: FRIEDRICH HECKER, der badische Revolutionär von 1848, emigrierte nach dem Scheitern seiner politischen Visionen über die Schweiz in die USA. Dort wandte er sich dem wissenschaftlichen Weinbau zu. Vor allem die Reblaus, die den Weinbau hierzulande komplett verwüstete, beschäftigte ihn. In einem langjährigen Briefwechsel überzeugte er ADOLPH BLANKENHORN, der in Karlsruhe 1868 mit eigenen Mitteln ein „Oenologisches Institut“ gegründet hatte, „Amerikanerleben“ einzusetzen, um den Weinbau vor der Reblaus und den neu eingeschleppten Pilzkrankheiten zu schützen. Aus dieser Idee entstand nicht nur das erste Staatliche Weinbauinstitut in Freiburg, sondern eine lange Tradition, in der man mit züchterischen Mitteln sogenannte pilzresistente Reben (PiWis) erzeugte, die auch ohne Fungizideinsatz dem Pilzbefall zu trotzen vermögen. Gerade wurden wieder sechs PiWi-Sorten im Beisein von Landwirtschaftsminister BONDE zugelassen – PiWi-Sorten sind das Kernelement des immer populärer werdenden ökologischen Weinbaus. Anmerkung am Rande: Ein Ableger der vor wenigen Jahren in einem überwu-

cherten Pavillon in Blankenhorns Weingut im Kaiserstuhl wieder entdeckten Heckerrebe ist inzwischen im Botanischen Garten des KIT zu sehen.

Wie gehen wir vor?

Grundlage der Untersuchungen ist eine umfangreiche Sammlung von Wildreben aus aller Welt, die im Botanischen Garten aufgebaut wurde und die inzwischen fast alle Arten der Gattung *Vitis* (Weinreben) umfasst. Zunächst einmal soll verstanden werden, wie sich Wildreben gegen diese Pilzkrankheiten zur Wehr setzen. Dabei wurde festgestellt, dass unsere anfällige Kulturrebe durchaus ähnliche Abwehrreaktionen zeigt wie resistente Wildarten aus Nordamerika und Asien. Sie reagiert jedoch zu spät, so dass der Erreger schon nicht mehr zu besiegen ist. Die resistenten Wildarten sind also offenbar schneller alarmiert und können ihre Abwehr schneller mobilisieren. Wenn wir wüssten, wie sie den Erreger wahrnehmen, könnten wir daraus eine Art „Impfung“ entwickeln, um auch bei unserer Kulturrebe die Abwehrreaktionen zu beschleunigen.

Wenn man etwas bekämpfen will, dann muss man es erst einmal sehr gut kennen lernen. Daher wird der Lebenslauf des Falschen Mehltaus sehr genau untersucht. Dies ist nicht ganz einfach, da sich das meiste im Innern des Blattes abspielt, so dass modernste mikroskopische Verfahren eingesetzt werden müssen, um den Pilz sichtbar zu machen. Bei diesen Untersuchungen wurde eine Art „chemischer Dialog“ entdeckt, mit dem der Erreger die Weinpflanze überlistet und in die Blätter eindringt. Wenn es gelänge, die „Worte“ dieses „Dialogs“ zu verstehen, könnte der „chemische Dialog“ so beeinflusst werden, dass es zu „Missverständnissen“ kommt und der Falsche Mehltau so lange behindert wird, bis die Kulturrebe ihre Abwehr mobilisiert hat.

Was ist dabei herausgekommen?

Vor allem für den Falschen Mehltau wurden inzwischen sehr genaue Einblicke in die einzelnen Schritte des Befalls gewonnen. Die Daten wurden in ein Vorhersageprogramm des Weinbauinstituts Freiburg eingegeben und helfen nun den Winzern dabei, den besten Zeitpunkt für die Spritzung zu bestimmen und so die Menge an Fungiziden zu vermindern – es dauert nämlich nur knappe 15 Minuten, bis die geschlüpften Sporen die Spaltöffnungen der Pflanze gefunden haben und dann im Innern des Blattes verschwinden, wo ihnen Fungizide recht wenig anhaben können.

In evolutionsbiologischen Untersuchungen kam es zu einer Überraschung: Auf chinesischen

Wildreben finden die Sporen die Spaltöffnungen nicht mehr und können nicht in das Blatt eindringen. Sie versuchen dann, auf der Oberfläche zu wachsen, gehen aber nach wenigen Tagen ein. Offenbar werden sie durch den „Mundgeruch der Pflanze“ zu den Spaltöffnungen gelenkt. In Zusammenarbeit mit Prof. BOLAND vom Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie in Jena konnte mithilfe hochempfindlicher „chemischer Nasen“ (Gaschromatographie in Verbindung mit zweidimensionaler Massenspektrometrie) der „Mundgeruch“ identifiziert werden – ein kleiner Aldehyd namens Nonanal. Dieser entsteht bei der Bildung von Spaltöffnungen, weil an dieser Stelle die Cuticula, eine luftdichte Schicht auf der Blattoberfläche, abgebaut wird, um den Gasaustausch für die Photosynthese möglich zu machen. Bei den chinesischen Wildreben scheint Nonanal auch noch an anderen Stellen zu entstehen, was die Sporen „verwirrt“. Als Probe aufs Exempel wurden die hochanfälligen Blätter des ‚Müller-Thurgau‘ mit Nonanal parfümiert und siehe da – die Blätter waren nun auf einmal gegen den Falschen Mehltau gefeit (Tafel 8, Abb. 11).

Mehr oder weniger zufällig entdeckten wir im Rahmen eines Erhaltungsprojekts des Botanischen Gartens, dass einige Sippen der fast ausgestorbenen Europäischen Wildrebe (*Vitis vinifera silvestris*), der Stamm-Mutter unserer Weinrebe, ebenfalls über diesen „Trick“ verfügen. Gemeinsam mit dem Julius-Kühn-Institut in Siebeldingen wird nun versucht, diesen „Trick“ über Kreuzung in den ‚Weißburgunder‘ einzubringen. Da das Erbgut der Weinrebe inzwischen vollständig sequenziert ist, gibt es zahllose Marker, mit denen man schon in den Sämlingen dieser Kreuzung vorhersagen kann, welche Eigenschaften sie als ausgewachsene Pflanzen haben werden (die Technik ist dieselbe, wie man sie beispielsweise beim Vaterschaftstest einsetzt). Durch solche molekularbiologischen „Vaterschaftstests“ muss man nicht mehr viele Jahre warten, bis die Reben ausgewachsen sind, sondern kann viel Zeit einsparen. Das ist auch notwendig – die Natur schläft nämlich nicht. Schon gibt es die ersten Stämme des Falschen Mehltaus, die auf PiWis wachsen können.

Ausgewählte Publikationen

CHANG, X., HEENE, EL, QIAO, F. & NICK, P. (2011): The phytoalexin resveratrol regulates the initiation of hypersensitive cell death in *Vitis*. – *PLoS One*, **6**: e26405.

- JÜRGES, G., KASSEMAYER, H. H., DÜRRENBARGER, M., DÜGGELIN, M. & NICK, P. (2009): The mode of interaction between *Vitis* and *Plasmopara viticola* BERK. & CURT. ex DE BARY depends on the host species. – *Plant. Biol.*, **11**: 886-898.
- NICK, P. (2010): *Ex-situ* Erhaltungskulturen im Botanischen Garten des Karlsruhe Institute of Technology (KIT). – *Ber. Ges. Pflanzenbauwiss.*, **5**: 136-139.
- QIAO, F., CHANG, X. & NICK, P. (2010): The cytoskeleton enhances gene expression in the response to the Harpin elicitor in grapevine. – *J. Exp. Bot.*, **61**: 4021-4031.
- SCHRÖDER, S., TELLE, S., NICK, P. & THINES, M. (2011): Cryptic diversity of *Plasmopara viticola* (Oomycota, Peronosporaceae) in North America. – *Organisms, Diversity and Evolution*, **11**: 3-7.

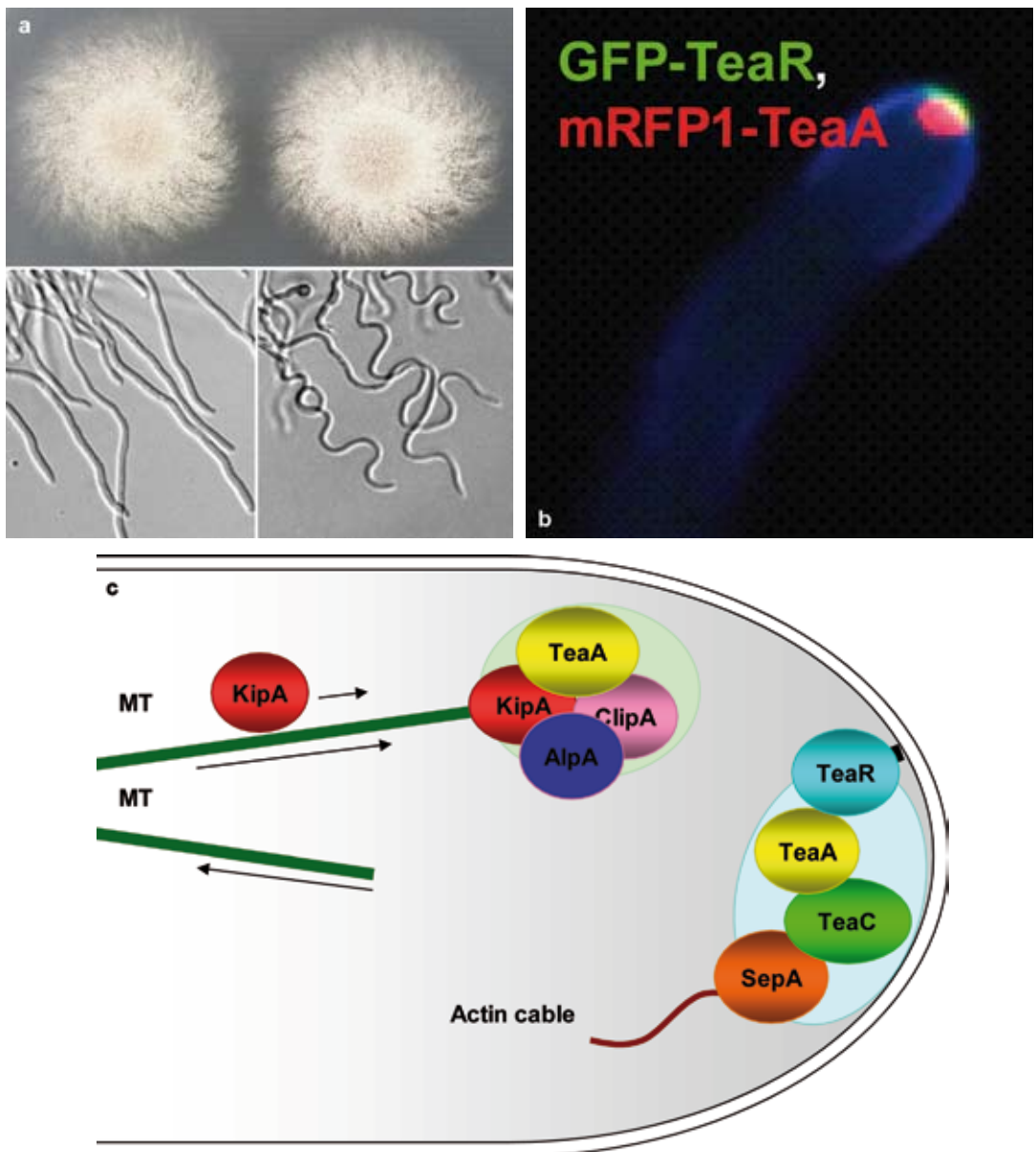


Abbildung 1. So genannte Zellendmarkerproteine bestimmen die Wachstumsrichtung von Schimmelpilzen. a) Kolonie von *Aspergillus (Emericella) nidulans* und einer Mutante, in der ein Zellendmarker fehlt (rechte Kolonie). Obwohl das Wachstum der Kolonie nicht beeinträchtigt ist (Durchmesser ca. 1 cm nach zwei Tagen), wachsen die Hyphen der Mutante (unten rechts) in Kurven. Die Hyphen haben in beiden Fällen einen Durchmesser von ca. 3 μm . b) Lebende *A. nidulans*-Hyphenspitze im Fluoreszenzmikroskop. TeaR und TeaA wurden mit fluoreszierenden Proteinen markiert, so dass man sie in der lebenden Zelle beobachten kann. c) Schema einer Hyphenspitze und der Anordnung der Zellendmarkerproteine, die als farbige Kugeln dargestellt sind. Mikrotubuli (MT) transportieren die Proteine wie z.B. TeaA zur Spitze, wo sie in der Membran verankert werden und die Bildung des Aktinzytoskeletts ermöglichen. Die Aktinkabel dienen dem Transport der sekretorischen Vesikel. Bilder aus KONZACK et al. (2005), FISCHER et al. (2008) und TAKESHITA et al. (2008).

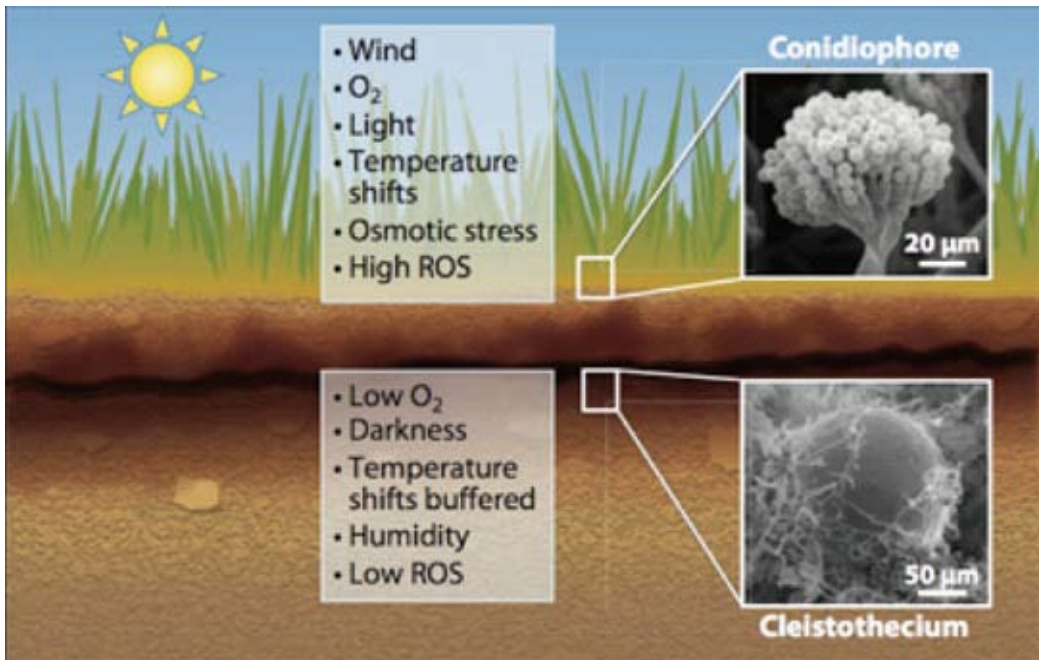
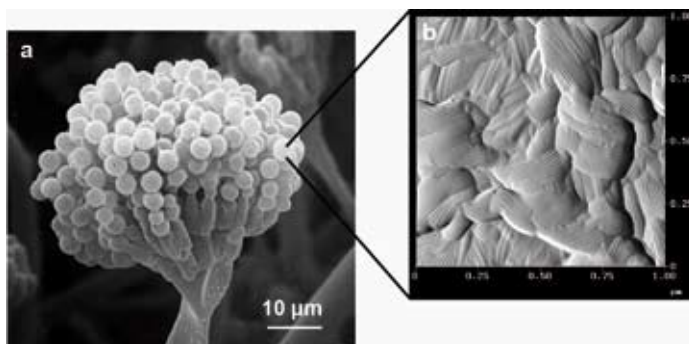


Abbildung 2. Lichtwahrnehmung bei *Aspergillus nidulans*. *A. nidulans* passt sich nicht nur physiologisch an die unterschiedlichen Bedingungen an, sondern auch morphologisch. Im Dunkeln bilden Fruchtkörper (Cleistothecien) sexuelle Sporen, die sogenannten Ascosporen. Im Licht wird ein anderes Entwicklungsprogramm initiiert, die asexuelle Sporenbildung. Die Sporenträger (Konidiophoren) bilden tausende von vegetativen Sporen (Konidien), die der schnellen Verbreitung dienen. Die Ascosporen hingegen sind Dauerformen, mit denen *A. nidulans* jahrzehntelang überdauern kann, bevor die Sporen unter günstigen Bedingungen wieder auskeimen. Das Bild wurde entnommen aus RODRIGUEZ-ROMERO et al. (2010).

Abbildung 4. Hydrophobine sind den Konidien von *Aspergillus nidulans* aufgelagert. a) Rasterelektronenmikroskopisches Bild eines Sporenträgers. b) Vergrößerte rasterkraftmikroskopische Aufnahme der Konidienoberfläche. Die strohballartige Anordnung der wenige Nanometer dicken Hydrophobinfilamente ist erkennbar.



Abbildung 3. *Alternaria alternata* und die Bildung von Alternariol. a) Zwei Beispiele von befallenen Lebensmitteln. b) *A. alternata* bildet eine Vielzahl von Toxinen und anderen Sekundärmetaboliten. Beispiele sind Alternariol, Alternariol-Methylether (engl. alternariol-methyl ether) und Altertoxin I. Die Formeln sind in Teil b dargestellt. Die Toxine können extrahiert und in Dünnschichtchromatographie aufgetrennt werden. Viele Verbindungen fluoreszieren und können leicht in UV-Licht visualisiert werden. *A. alternata* wurde im Dunkeln unter Weiß-, Blau- und Rotlichtbedingungen kultiviert, bevor die Toxine extrahiert wurden. Je drei Kulturen wurden untersucht. Unter Blau- und Weißlichtbedingungen kommt es zu einer Steigerung der Alternariolbildung. Die Bilder von Tomate (MICHELLE GRABOWSKY, University of Minnesota) und Möhren wurden hier entnommen: <http://www.extension.umn.edu/gardeninfo/diagnostics/vegetable/tomato/fruit-spots.html>; <http://ogb.lk-tirol.at/index.php?id=280&topId=105>.



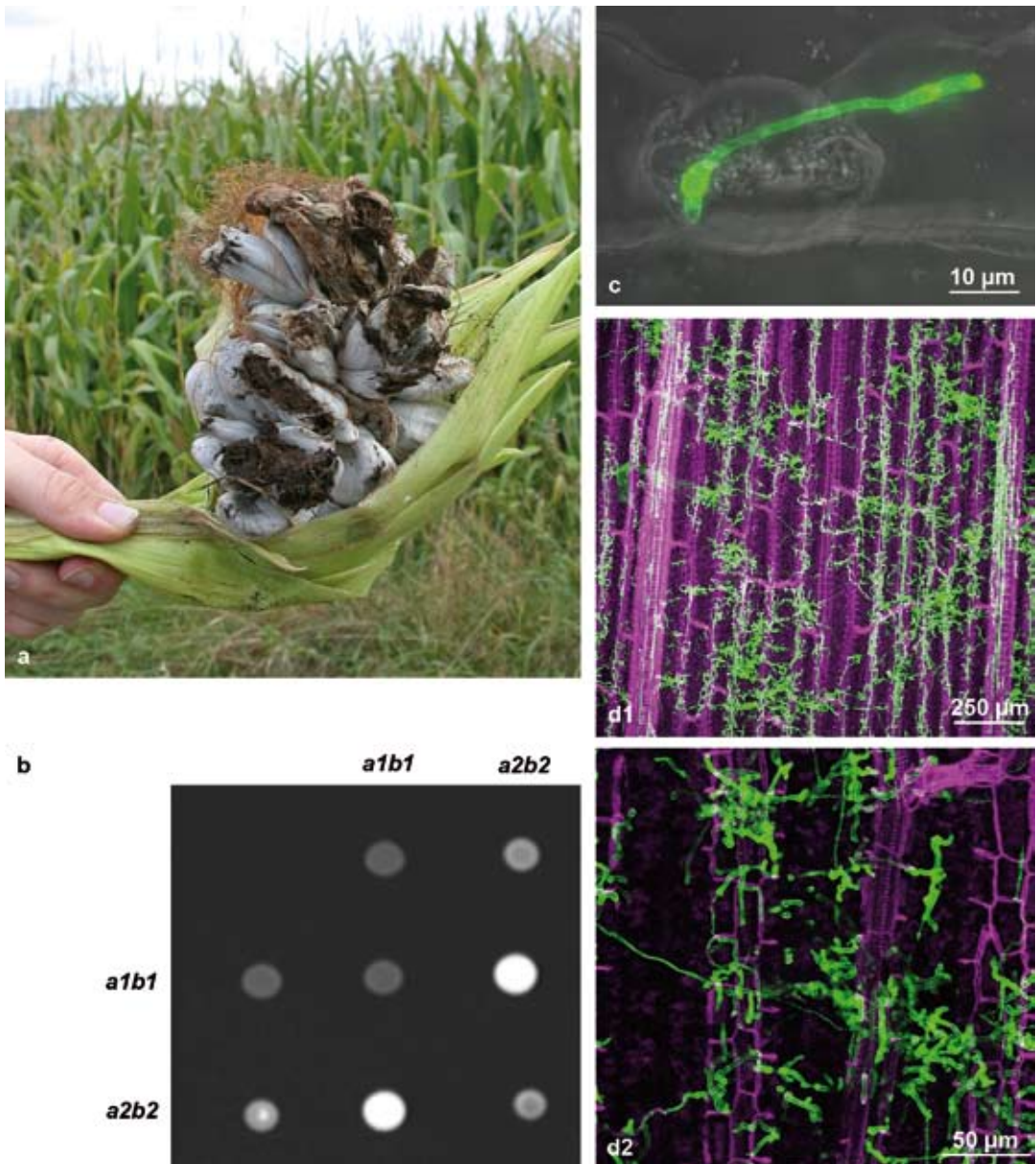


Abbildung 5. *Ustilago maydis*. a) Mit *U. maydis* infizierter Maiskolben. Einzelne Maiskörner sind stark vergrößert und mit schwarzen Sporen gefüllt. b) Fusion von *U. maydis*-Sporidien auf Aktivkohle-haltigen Agar-Platten. Die beiden *U. maydis*-Stämme FB1 (*a1b1*) und FB2 (*a2b2*) wurden entweder alleine oder in Kombination auf die Medienplatten getropft. Nur wenn sich die beiden Kreuzungstyp-Loci unterscheiden, kommt es zu Zellfusion und Bildung des Filaments, was an der weiß erscheinenden Koloniefarbe ersichtlich ist. c) Infektionsstruktur von *U. maydis*. Eine markierte Hyphe, die das „Grün Fluoreszierende Protein“ (GFP) exprimiert, bildet auf der Pflanzenoberfläche eine Verdickung (Appressorium) und penetriert die Kutikula der Pflanzenzelle (Pfeil). d1), d2) Wachstum von *U. maydis*-Hyphen im Pflanzengewebe. Hyphen sind durch Expression von GFP sichtbar gemacht. Die Pflanzenzellen erscheinen lila.

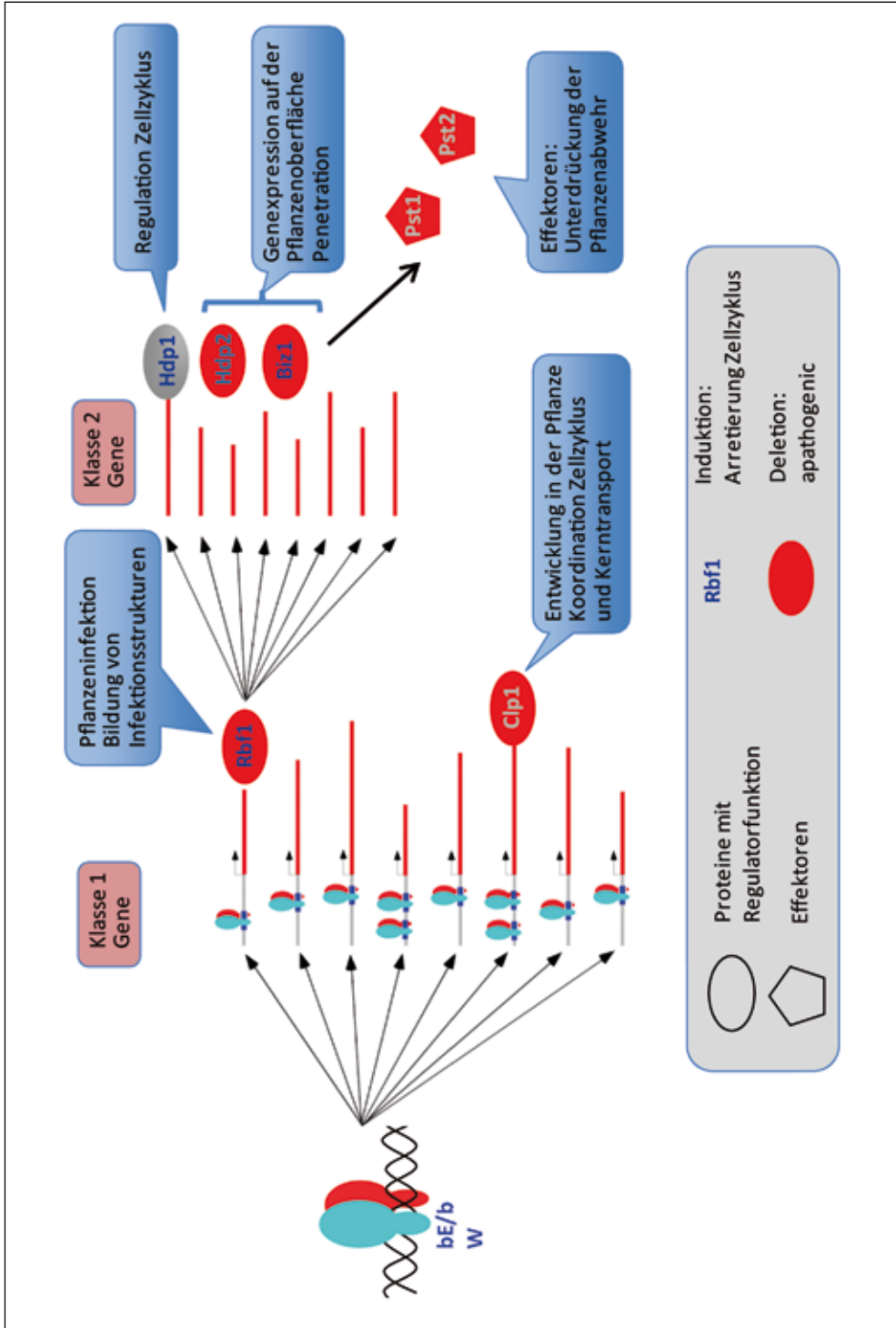


Abbildung 6. Regulationskaskaden bei *Ustilago maydis*. Regulationskaskaden während der pathogenen Entwicklung. Dargestellt sind die hierarchischen Funktionszusammenhänge einiger der Regulatoren und Effektoren, die experimentell identifiziert wurden. Die Funktion der Proteine ist angegeben.

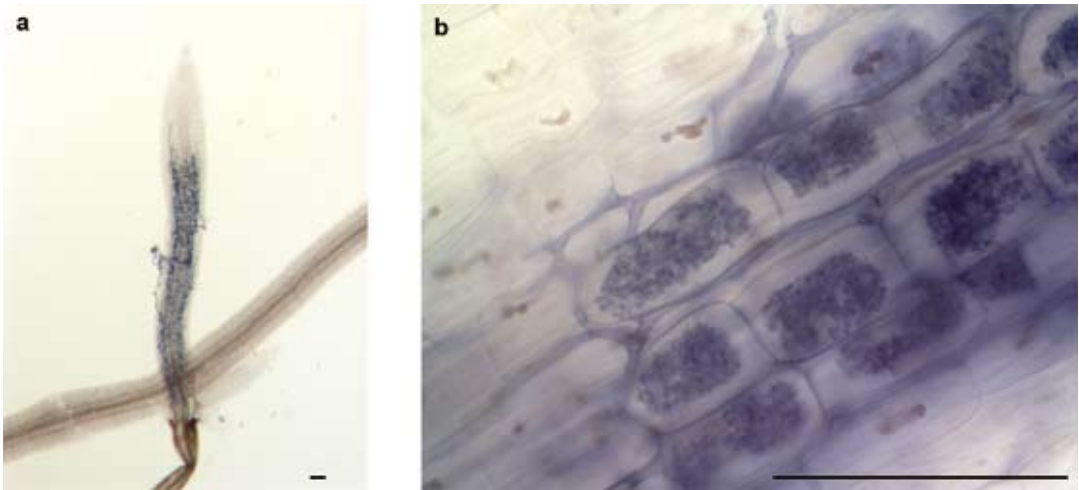


Abbildung 7. Pilzhyphen innerhalb der Wurzel. a) Der Pilz dringt in die Wurzel ein und wächst dort zunächst zwischen den Zellen. Die Übersichtsaufnahme einer Wurzelspitze zeigt die massive und intensive Interaktion der Wurzel mit dem Pilz. b) Ausschnitt vom Wurzelkortex. In den Zellen bildet der Pilz durch vielfache Verzweigung die bäumchenartigen Arbuskeln. Hier werden die Nährstoffe in der Symbiose ausgetauscht. Die Pilzhyphen sind mit Tinte angefärbt. Messbalken 100 μm .

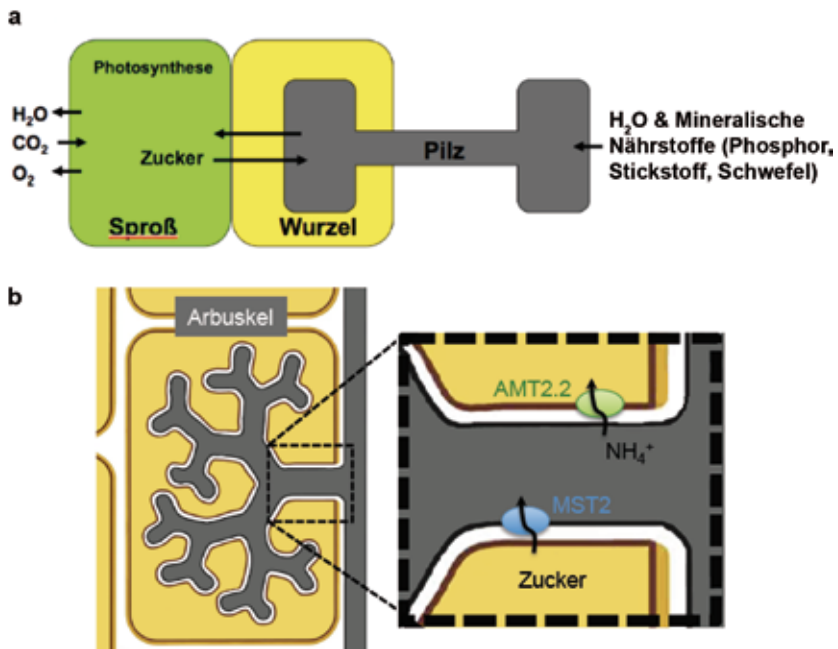


Abbildung 8. Austausch von Nährstoffen in der AM-Symbiose. a) Der Pilz nimmt mineralische Nährstoffe im Boden auf und transportiert sie zur Pflanze. Dafür erhält der Pilz Zucker aus der Photosynthese der Pflanze. b) Schema der Lokalisation des pflanzlichen Ammoniumtransporters AMT2.2 und des pilzlichen Zuckertransporters MST2 in einer arbuskelhaltigen Pflanzenzelle. Verändert nach HELBER et al. (2011).

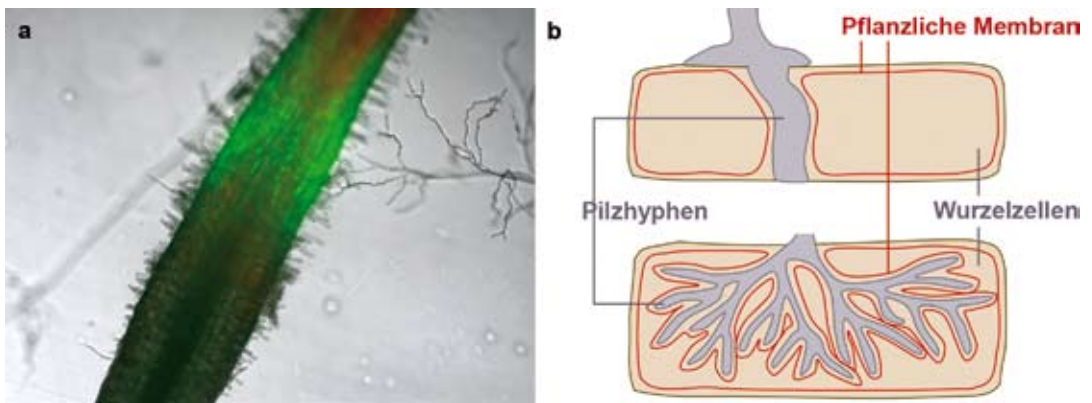


Abbildung 9. Die Aktivierung des Gens MSBP1 fördert das intrazelluläre Wachstum des Pilzes. a) Das Gen MSBP1 wird nach Perzeption pilzlicher Signale aktiviert. Die Genaktivität ist mit Hilfe des „Grün Fluoreszierenden Proteins“ (GFP) nachweisbar. b) Intrazelluläre Strukturen des Pilzes sind von pflanzlichen Membranen umgeben. MSBP1 fördert die Bildung von Sterolen, die für die Synthese der Membranen benötigt werden. Die Wurzel ist ca. 1 mm im Durchmesser. Verändert nach KUHN et al. (2010).

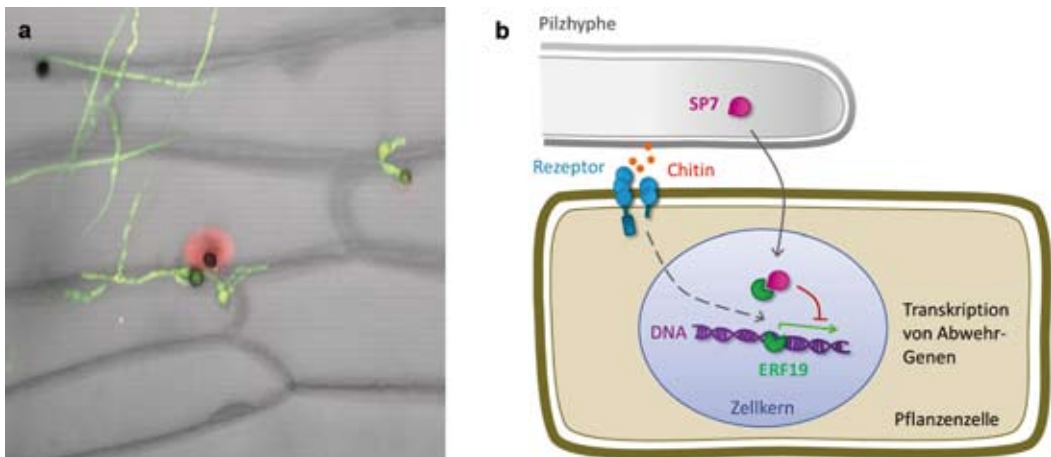


Abbildung 10. Das Effektor-Protein SP7 manipuliert das Immunsystem der Pflanze. a) Mikroskopisches Bild einer Wurzel, die mit *Magnaporthe grisea* (durch GFP-Expression grün visualisiert) infiziert ist. Dieser Pilz wurde gentechnisch so verändert, dass er das Mykorrhizaprotein SP7 produziert. Das rot-markierte Protein-SP7 wird vom Pilz sezerniert und dringt in die Pflanzelle ein. Dort ist es im Zellkern lokalisiert. b) Modell der SP7 Funktion. Das Chitin der pilzlichen Zellwand wird von Rezeptoren der Pflanzelle erkannt und führt zur Aktivierung von Abwehr-Genen durch den Transkriptionsfaktor ERF19. Der Effektor SP7 wird vom Pilz sezerniert und dringt in den Zellkern der Pflanze ein. Dort interagiert er mit ERF19 und unterdrückt die Aktivierung einer Immunantwort der Pflanze. Abbildung verändert nach KLOPPHOLZ et al. (2011).

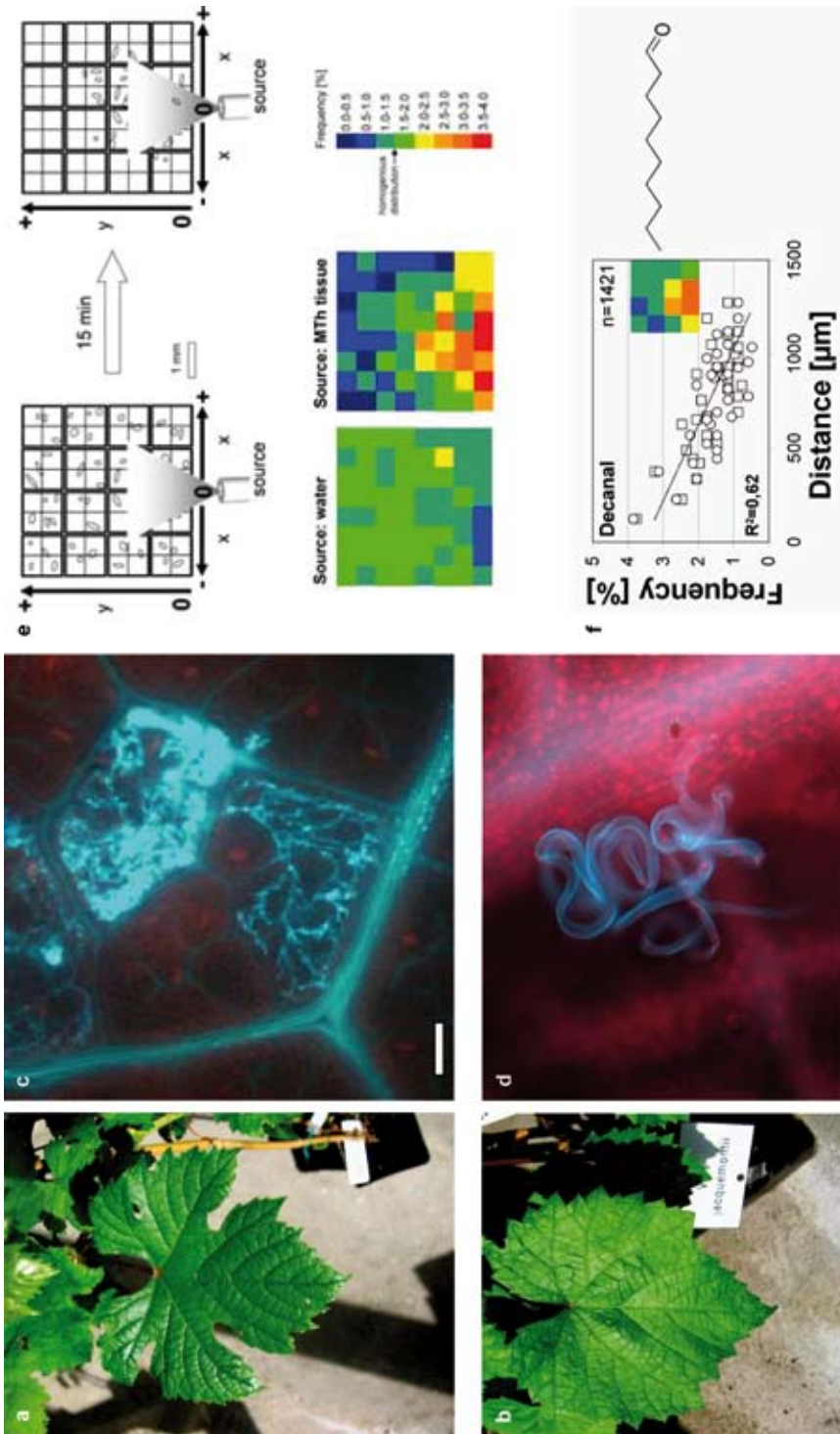


Abbildung 11. Die Spaltöffnung der Weinrebe ist die Eindringpforte für den Falschen Mehltau der Weinrebe (*Plasmopara viticola*). Blätter der Kultursorte ‚Müller-Thurgau‘ (a) werden in kurzer Zeit komplett besiedelt (b). Bei asiatischen Wildreben wie der pakistanischen Wildrebe *Vitis jaquemontii* (c) können die Sporen die Spaltöffnungen nicht finden und biden auf der Blattoberfläche ein Kummermycel (d). Mit Hilfe eines sogenannten Chemotaxisstests (e) konnten flüchtige Aldehyde wie Nonanal und Decanal (f) als Signal identifiziert werden.