

## FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

KURT MENDGEN, GERWIN KELLER, CHRISTA KUHN, Konstanz, und INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM, Göttingen:

Film C 1642

### Infektion und Wirtsreaktion beim Gerstenmehltau

Verfasser der Publikation: KURT MENDGEN

Mit 8 Abbildungen

#### *Inhalt des Films:*

**Infektion und Wirtsreaktion beim Gerstenmehltau.** Aus der Gerstenkoleoptile (*Hordeum vulgare*) läßt sich die innere Epidermis unter der Stereolupe herauspräparieren und, an den Enden von je einem Deckglas gehalten, auf einem Objektträger ausbreiten. Nach Bestäuben mit Mehltausporen (*Erysiphe graminis f. sp. hordei*) kann man den Infektionsverlauf des Erregers mikroskopisch gut verfolgen. Schon innerhalb einer Stunde entsteht der primäre Keimschlauch der Konidiospore. Darunter erkennt man das Cytoplasmaaggregat der Wirtszelle. Nach weiteren 4–6 Stunden entsteht der sekundäre Keimschlauch mit dem Appressorium. Vom Appressorium ausgehend dringt der Pilz in die Wirtszelle ein und differenziert dort ein Haustorium aus. Die Wirtszelle aggregiert Plasma an der Penetrationsstelle (Cytoplasmaaggregat) und lagert Wandmaterial (die sog. Papille) ab. Die Sekundärhyphen wachsen aus dem Appressorium heraus und es entsteht die Mehltaupustel. Schon nach wenigen Tagen schnürt dieses Myzel Sporen ab. Abwehrreaktionen der Wirtspflanze, wie die durch das ml-o Gen konditionierte, verstärkte Papillenreaktion, und die durch das Ml-a Gen konditionierte, hypersensitive Reaktion werden gezeigt.

#### *Summary of the Film:*

**Infection and Host Response in Powdery Mildew of Barley.** An epidermal strip of the barley coleoptile (*Hordeum vulgare*) was used to microscopically study infection and host responses following inoculation with powdery mildew (*Erysiphe graminis f. sp. hordei*). The conidiospores germinate during the first hour after inoculation and form a primary germ tube. A small cytoplasmic aggregate can be recognised at this time. It represents the earliest visible host response. The secondary, appressorial germ tube forms at 4–6 hours after inoculation and elongates to form an appressorium. From a lobe of this appressorium, host cell penetration is initiated. Host responses are a prominent cytoplasmic aggregate and wall appositions (papillae). After successful formation of the first haustorium in the host epidermal cell, secondary hyphae grow out of the appressorium and colonise the leaf surface. The development of a small pustule is demonstrated by time lapse photography over three days. Defense reactions of incompatible host-parasite combinations are also shown: A large papilla, conditioned by the ml-o gene (cultivar Helena) and the hypersensitive response, conditioned by the Ml-a gene (cultivar Carina).

*Résumé du Film:*

**Infection et réaction de l'hôte chez le mildiou de l'orge.** Sous loupe stéréoscopique l'épiderme intérieur est séparé du coléoptile de l'orge et il est étalé sur une lame, tenu à chaque extrémité par un couvre-objet. A la suite de l'inoculation avec des spores de mildiou (*Erysiphe graminis f. sp. hordei*) on peut suivre le déroulement de l'infection de l'agent au microscope. Déjà en une heure le tube germinatif primaire de la conidiospore se forme. En dessous on reconnaît l'agrégat cytoplasmique de la cellule hôte. Après 4 à 6 heures supplémentaires le tube germinatif secondaire et le disque adhésif se forment. En sortant du disque adhésif le champignon pénètre la cellule hôte et forme ainsi un haustorium. La cellule hôte agrège du plasma à l'endroit de pénétration et dépose de la matière sur la paroi (la dite papille). Les hyphes secondaires croissent de l'appressorium et il se forme la pustule du mildiou. Déjà après quelques jours ce mycélium ligature des spores. Les réactions de défense de la plante hôte ainsi que la réaction prononcée des papilles, conditionnée par le gène ml-o et la réaction hypersensitive, conditionnée par le gène MI-a sont montrées.

### Allgemeine Vorbemerkungen

Der Gerstenmehltau, *Erysiphe graminis DC.: f. sp. hordei* Em Marchal (= *Blumeria graminis* Golovin) gehört zu den Erysiphaceen oder echten Mehltaupilzen (BLUMER [3]; SPENCER [22]). Dies sind „obligat biotrophe“ Parasiten, die zur Zeit noch nicht auf toten Substraten kultiviert werden können. Die meisten Erysiphaceen leben ausschließlich extramatricial. Sie bilden auf der Oberfläche der Nährpflanzen einen lockeren, weißen Überzug aus Pilzmyzel mit Sporenträgern, so daß die Blätter wie mit Mehl bestäubt aussehen (daher der Name Mehltau). Zur Nahrungsaufnahme senden die Mehltaupilze Haustorien in die Epidermis.

### Der sexuelle Entwicklungsgang

Bei den Erysiphaceen gibt es eine ungeschlechtliche und eine geschlechtliche Fruktifikation. Letztere definiert sie als Ascomycet. Der sexuelle Entwicklungsgang der Erysiphaceen ist – im Gegensatz zum „einheitlichen“ äußeren Habitus der Familie – erstaunlich mannigfaltig und zuweilen auch schwankend (BJÖRLING [2]; BLUMER [3]; GÄUMANN [8]; GORDON [11]). Er wird beim Gerstenmehltau (Abb. 1) dadurch eingeleitet, daß sich undifferenzierte Seitenzweige von heterothallicischen, einkernigen Hyphen (HIURA [13]) erheben und umschlingen (BJÖRLING [2]; GORDON [11]). Sie wachsen nach einer Plasmogamie auf ihrer ganzen Länge zu teilweise mehrkernigen Hyphen aus, die sich zu einem dichten, homogenen Knäuel verflechten. Einige zweikernige Zellen degenerieren nun und lassen einen zentralen Hohlraum entstehen. Andere zweikernige Zellen an der Basis des Hohlraums differenzieren ascogene Hyphen aus. Der genaue Vorgang der Plasmogamie und der nachfolgenden Karyogamie ist noch unbekannt. Schließlich entsteht ein Hymenium von 10–20 Asci, die jeweils 8 Ascosporen enthalten. Der gesamte Fruchtkörper wird Cleistothecium genannt. In den Wintermonaten trocknet dieser Fruchtkörper mit den toten Pflanzenresten aus. Durch Wasseraufnahme quillt er im Frühjahr und platzt auf. Die Asci treten heraus und die Ascosporen werden etwa 2 cm weit herausgeschleudert und vom Wind fortgetragen.

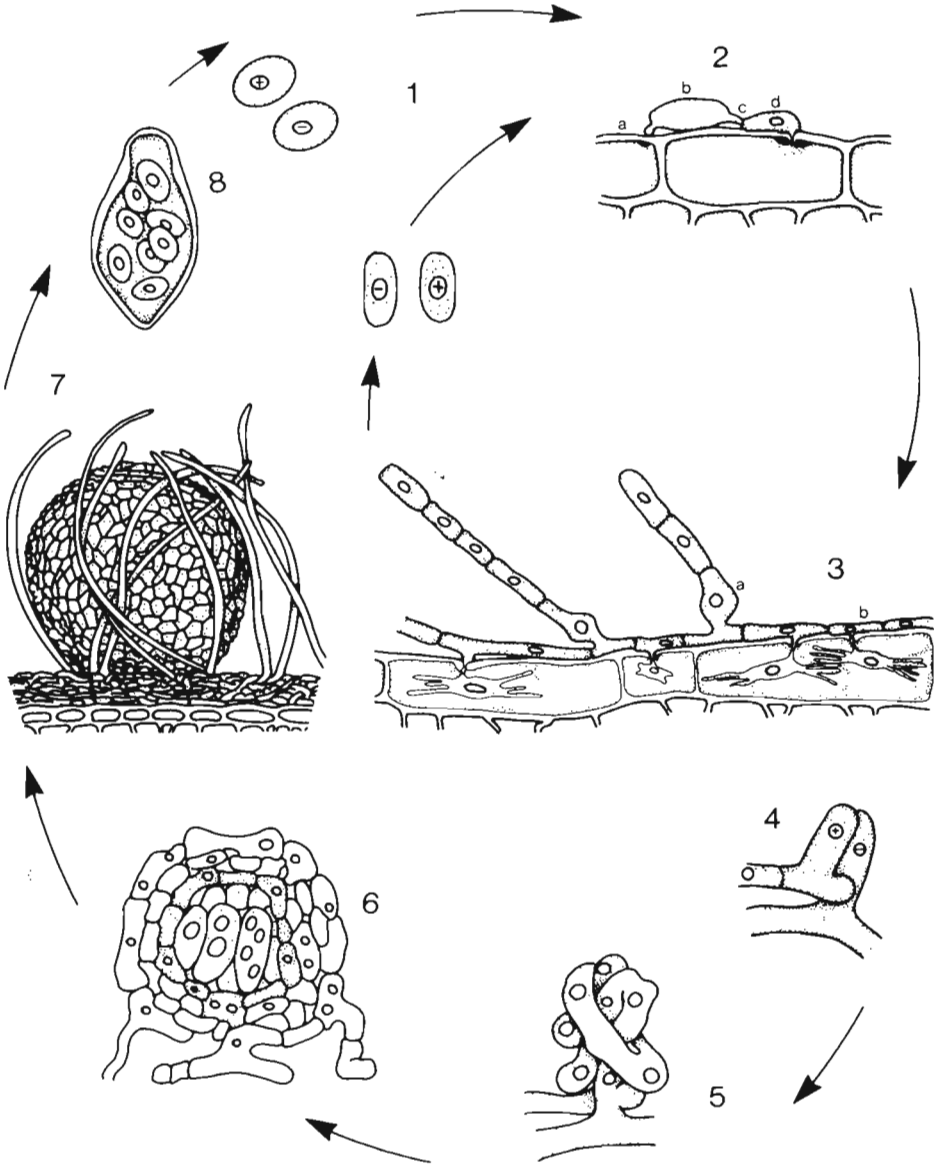


Abb. 1. Der Entwicklungsgang beim Gerstenmehltau. 1: Ascosporen (+ oder -) und Konidiosporen (aus + oder - Mycel); 2: Primärer Keimschlauch (a), Spore (b), sekundärer (appressorienbildender) Keimschlauch (c) und Appressorium (d) mit Penetrationskeil; 3: Zelle mit Sporenmutterzelle (a), Zelle mit Haustorium (b); 4: Hyphen aus (+) Mycel und aus (-) Mycel treten in Kontakt; 5: Die Fruchtkörperbildung beginnt. Es findet ein Kernübertritt statt; 6: Beginn der Ascusdifferenzierung. Die Karyogamie hat bereits stattgefunden. Der genaue Vorgang ist unbekannt; 7: Kleistothecium; 8: Ascus mit Ascosporen

Unter den Bedingungen in Mitteleuropa ist die Bedeutung der Asci gering. Man nimmt an, daß der Gerstenmehltau meist auf den im Winter überlebenden Blättern langsam weiterwächst. In Gegenden mit heißem Sommer, in denen die Wirtspflanzen nicht überleben, hat der geschlechtliche Zyklus eine größere Bedeutung.

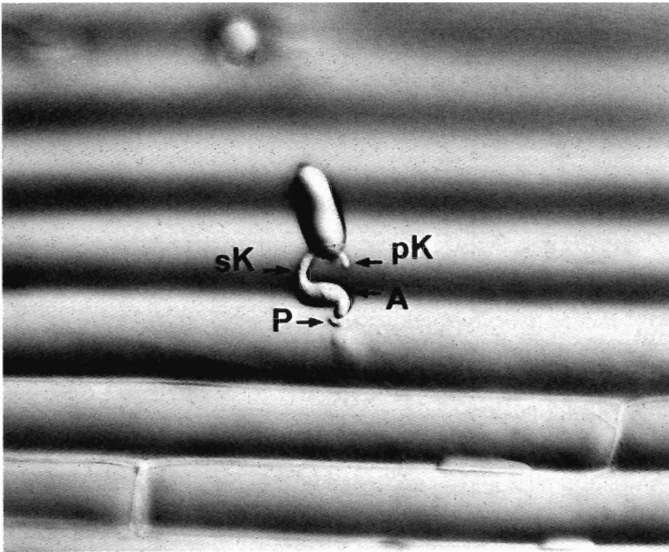


Abb. 2. Konidiospore mit primärem Keimschlauch (pK), sekundärem Keimschlauch (sK) und Appressorium (A). Der Pfeil (P) deutet auf die Papille in der Epidermiszelle des Wirts (x 200). (Anfällige Kombination: Gerstensorte Mari-S, Mehltaurasse C 17 Am)

### Der asexuelle Entwicklungsgang

Die Spore, die auch Konidie genannt wird, bildet schon kurz nach der Landung (etwa 30–60 Minuten) auf dem Blatt einen kurzen primären Keimschlauch (Abb. 2) aus. Dieser Keimschlauch stellt sein Wachstum nach Kontaktaufnahme mit der Wirtsoberfläche wieder ein (vgl. KUNOH [15]). Der Film zeigt, daß die Wirtszelle auf diesen Kontakt mit einer Ansammlung des Cytoplasmas reagiert. Es gibt jedoch keine Hinweise dafür, daß die Wirtswand durchbohrt wird. Trotzdem findet schon frühzeitig ein Signalaustausch zwischen Wirt und Parasit statt. Elegante Untersuchungen von CARVER und BUSHNELL ([6]) deuten darauf hin, daß der primäre Keimschlauch Wasser von der Wirtszelle aufnimmt. Dadurch unterstützt der Wirt die Wasserversorgung der Spore zu Beginn des Infektionsverlaufs unter trockenen Bedingungen. Hier ist anzumerken, daß der echte Mehltau, im Gegensatz zu anderen pflanzenparasitären Pilzen, zur Infektion keine wassergesättigte Luft benötigt. Er kann schon – wenn auch mit stark reduzierter Erfolgsquote – das Wirtsblatt bei weit unter 30% Luftfeuchte infizieren (GAY et al. [9]).

Etwa 4–6 Stunden nach Ausbildung des primären Keimschlauchs entsteht der sekundäre Keimschlauch der Konidie (Abb. 2). Er wächst zum Appressorium des Mehлтаupilzes aus. Ein Septum trennt den Keimschlauch vom Appressorium. Am Boden des Appressoriums entsteht der Penetrationskeil. Der Pilz dringt – wahrscheinlich wirken mechanische und enzymatische Prozesse bei der Penetration der Wirtszelle zusammen – durch Cuticula und Zellwand in die Wirtszelle ein. Unterhalb der Penetrationsstelle sammelt die Wirtszelle Cytoplasma an: es entsteht wiederum ein Cytoplasmaaggregat. Gleichzeitig entsteht ein leicht anfärbarer Hof („Halo“) um die Penetrationsstelle.



Abb. 3. Papillenbildung (P) bei einer unverträglichen Kombination mit dem ml-o Gen für Resistenz (Gerstensorte Helena 70-8 und Mehлтаurasse Ge-3) (x 1200)

Auf der Innenseite der Wirtszelle wird öfters papillenförmig Wandmaterial abgelagert, es entsteht die stark lichtbrechende Papille (AIST [1]). In der hier gezeigten verträglichen Kombination von Wirt und Parasit hat der Pilz die Wirtswand durchdrungen, anscheinend wenig behindert durch die kleine, kaum sichtbare Papille (Abb. 2). Bei unverträglicher Kombination kann diese Papille sehr viel größer sein (Abb. 3 und nächster Abschnitt). Während *E. graminis* das Wirtsplasmalemma einstülpt und so – vom Wirtsplasmalemma umgeben – in das Lumen der Zelle wächst, lagert die Wirtszelle weiter Material um den sich entwickelnden Hals des Haustoriums: Es entsteht öfters ein im Lichtmikroskop nicht sichtbarer Halskragen. Vielleicht ist dies eine Verlängerung der

Papille. Nach Ausbildung des Halses hören die Reaktionen der Wirtszelle meist auf. Das Cytoplasma verteilt sich wieder mehr gleichmäßig in der Wirtszelle, der Kern verläßt den während der Infektionszeit bevorzugten Standort um die Penetrationsstelle. Der Pilz wächst weiter und differenziert den Körper des Haustoriums mit den fingerförmigen Fortsätzen aus (Abb. 4).



Abb. 4. Hyphe, außerhalb der Wirtszelle auf der Epidermis, und fertig ausdifferenziertes Haustorium in der Epidermiszelle (x 800). (Anfällige Kombination: Gerstensorte Mari-S, Mehltaurasse C 17 Am)

Danach wachsen aus dem Appressorium weitere Hyphen, die ebenfalls Haustorien in den Wirtszellen ausbilden. Es entsteht innerhalb weniger Tage die „Mehltaupustel“. Einzelne Zellen der Hyphen besitzen Sporenmutterzellen. Sie schnüren Ketten von Konidien in basipetaler Reihenfolge ab (Abb. 5).

Experimente mit Isotopen ( $P^{32}$ ) haben gezeigt, daß *E. graminis* die Metabolite der Wirtszelle mit der Ausbildung des Haustoriums aufzunehmen beginnt. Die volle „Aufnahmeleistung“ der Haustorien wird jedoch erst mit der Ausdifferenzierung der fingerförmigen Haustorienfortsätze erreicht. Als Zucker wird hauptsächlich Glucose von den Haustorien aufgenommen (MENDGEN u. NASS [19]). Bei unverträglichen Kombinationen von Wirt und Parasit ist die Metabolitaufnahme durch die Haustorien reduziert (BUSHNELL u. GAY [5]; SLESINSKI u. ELLINGBOE [22]).

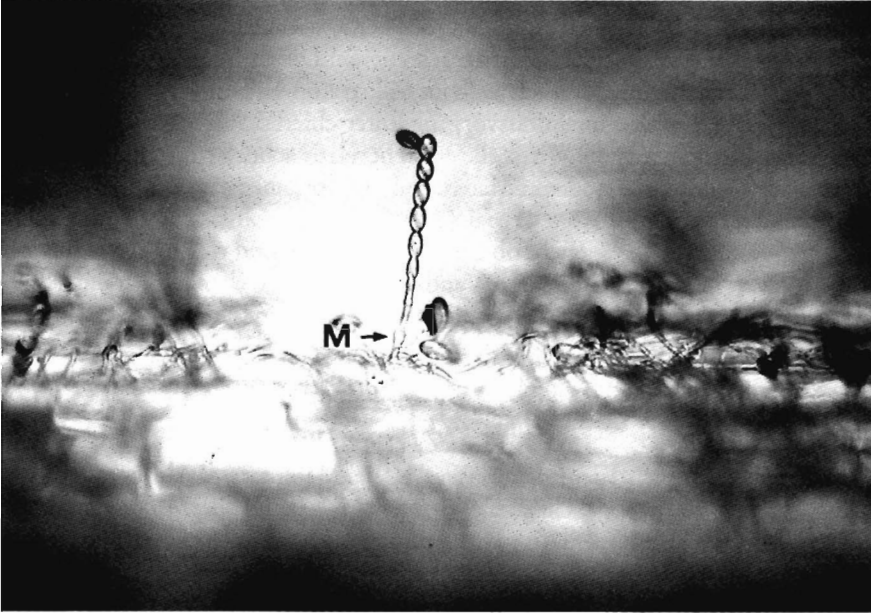


Abb. 5. Kondienträger auf der Blattoberfläche, M = Sporenmutterzelle (Lupenaufnahme, etwa 20 x)

### Unverträgliche Interaktionen mit der Wirtspflanze

Der Gerstenmehltau ist durch Virulenzeigenschaften gegenüber den verschiedenen Gerstensorten charakterisiert (vgl. JØRGENSEN [14]; WOLFE [25]). Die verschiedenen Rassen des Gerstenmehltaus können nur bestimmte Gerstensorten infizieren (sind also in diesen Fällen virulent), andere Gerstensorten mit Resistenzgenen aber nicht (sind also avirulent). Man spricht von einer Gen-für-Gen-Interaktion zwischen Wirt und Parasit, weil die Verträglichkeit zwischen Wirt und Parasit durch mindestens ein Virulenzgen beim Pilz und ein Resistenzgen bei der Pflanze gesteuert wird. Der Film zeigt zunächst den Infektionsverlauf bei der Gerstensorte Mari-S, die anscheinend kein Resistenzgen hat. Dann bei der Gerstensorte Helena mit dem Resistenzgen ml-o und bei der Gerstensorte Carina mit den Resistenzgenen Ml-g und Ml-a6. Es wurden jeweils Mehltaurassen zur Infektion verwendet, die gegenüber diesen Resistenzgenen kein Virulenzgen besitzen. In diesem Falle reagieren also die beiden Gerstensorten Helena und Carina mit dem Gerstenmehltau unverträglich. Oberflächlich betrachtet werden solche Gerstensorten oft als resistent bezeichnet. Sie sind dies aber nur so lange bis keine neuen Mehltaurassen mit den entsprechenden Virulenzgenen als Folge des Selektionsdrucks auftreten.

Nach der verträglichen Kombination (Gerstensorte Mari-S, Mehltaurasse C 17 Am) sehen wir die Wirkung des ml-o Gens (Gerstensorte Helena 70-8; Mehltaurasse GE-3).

Es handelt sich hier um eine künstlich induzierte Mutation, die auf Chromosom 4 liegt. Das Resistenzgen ist homozygotisch, rezessiv und scheint sich nicht einfach in ein Gen-für-Gen-System einordnen zu lassen. Es wurde jedenfalls noch keine Virulenz gefunden, die dieses Gen überwunden hätte. So wurde über 37 asexuelle Generationen hin versucht, ein virulentes Gerstenmehltauisolat zu selektieren. Dieses Isolat hatte dann einen etwas höheren Infektionserfolg, der sich auch im Mikroskop statistisch auszählen ließ (MENDGEN [17]). Der einzelne Infektionsvorgang unterschied sich jedoch nicht: Während der Penetration des Pilzes in die Wirtszelle entsteht relativ schnell eine sehr große Wandablagerung aus Callose und anderen Materialien auf der Innenseite der Wirtswand, die die Infektion des Pilzes stoppt (SKOU et al. [21]). Dabei ist es offensichtlich ganz wichtig, wie schnell die Wirtspflanze reagiert, ob  $\text{Ca}^{++}$  vorhanden ist und welche Stoffe außer der Callose noch verwendet werden. Diese Wandablagerung wird ebenfalls Papille (Abb. 3, AIST [1]) genannt. Es ist jedoch ungeklärt, ob die vergrößerte Papille die alleinige Wirkung dieses Gens darstellt. So kann die ml-o Resistenz auch dann zum Mißerfolg der Penetration führen, wenn an der Penetrationsstelle keine Papille geformt wurde. Auch wird die in seltenen Fällen beobachtete Ausbildung zum vollwertigen Haustorium, noch beeinträchtigt (GOLD et al. [10]; KUNOH et al. [16]; ZEYEN u. BUSHNELL [26]).

Im zweiten Beispiel wird der Infektionsverlauf der Mehлтаurasse Al-1 bei der Gerstensorte Carina gezeigt, die die sog. „Goldfoil Resistenz, Ml-g“, und die „Ml-a-Resistenz“ enthält. Erstere liegt auf Chromosom 4 und Letztere auf dem langen Arm von Chromosom 5. Im Film sehen wir wohl hauptsächlich die Wirkung des ml-a Gens. Zu diesem Gen gibt es viele Allele (Ml-a Algerian, Ml-a 2 Black Russian, Ml-a 3 Ricardo, Ml-a 4 No. 22, Ml-a 5 Gopal, Ml-a 6 Franger, usw.). Diese Gene können zwar prinzipiell die Infektion an verschiedenen Stellen unterbrechen, bedingen aber hauptsächlich den sog. „hypersensitiven Zelltod“. Das heißt, daß die infizierte Zelle oder die Nachbarzelle wenige Stunden nach der Penetration innerhalb von Stunden oder sogar Minuten absterben und wohl dadurch dem Parasiten die Nahrungsgrundlage entziehen. Je nach Allel beginnt dieser hypersensitive Zelltod etwas früher oder etwas später im Verlauf der Infektion. Auch der Bereich der absterbenden, nekrotisierenden Zellen kann größer oder kleiner sein und dadurch mehr oder weniger deutlich mit dem bloßem Auge zu erkennen sein. In dem hier gezeigten Beispiel des Ml-a 6 Gens tritt der hypersensitive Zelltod etwa während der Ausdifferenzierung des Haustorienkörpers ein (vgl. BUSHNELL u. GAY [5]; HAZEN u. BUSHNELL [12]).

#### Technik der Mehлтаukultur unter dem Mikroskop

Die Methode der Mehлтаukultur auf der Koleoptilenepidermis wurde zuerst von BUSHNELL et al. ([4]) erfunden. Diese Methode erlaubt es, das Wachstum des echten Mehltaus unter dem Mikroskop zu beobachten und gleichzeitig die Anforderungen der Mikroskopoptik nach einer bestimmten Düntheit des Präparats zu erfüllen. Die dabei nötige spezielle Halterung wurde von MENDGEN und DRESSLER ([18]) durch Objektträger und Deckgläser ersetzt:

1. Gerstensamen wird ausgesät und nach 10 Tagen werden die Koleoptilen kurz über dem Saatkorn abgeschnitten.
2. Zwei Längsschnitte werden so durch die Koleoptile gelegt, daß nur die äußere Zellschicht durchschnitten wird. Die innere Zellschicht, sie besteht zu diesem Zeitpunkt der



Koleoptilenentwicklung nur noch aus der inneren Epidermis der Koleoptile, sollte nicht beschädigt werden (Abb. 6).

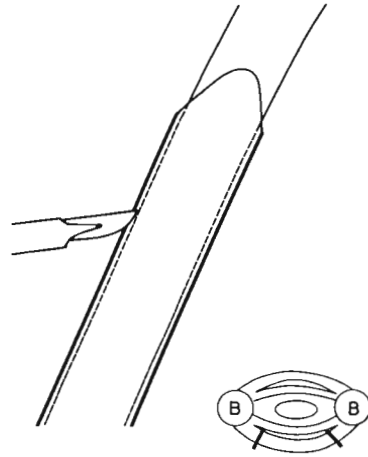


Abb. 6. Herstellung einer Koleoptilenepidermis zur Mehltaukultur unter dem Mikroskop: Zunächst wird die äußere Zellschicht angeschnitten. Dabei darf die darunter liegende innere Epidermis nicht beschädigt werden (B = Leitbündel)

3. Jetzt wird die Koleoptile vorsichtig gedreht, und die Rückseite wird durch zwei Längsschnitte, die jetzt etwas tiefer gehen sollten, von der Koleoptile getrennt. Die Schnittführung wird erleichtert, wenn man die Hand ruhig auflegt und die Klinge, bei Beobachtung unter dem Binokular, gleichmäßig durch die Koleoptile zieht (Abb. 7).

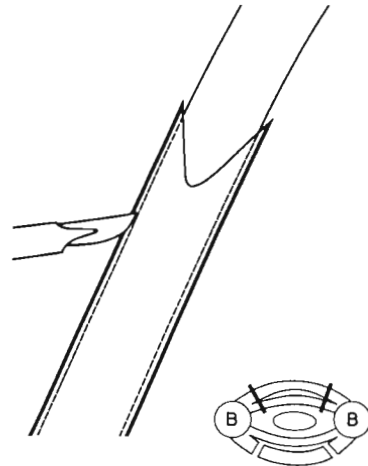


Abb. 7. Schnittführung zur Herstellung der Koleoptilenepidermis, Blick auf die Unterseite. Diesmal wird das gesamte Blatt durchgeschnitten

4. Mit einer feinen Pinzette (Uhrmacherpinzette) entfernt man jetzt die beiden äußeren Schichten der Koleoptile und auch den zentralen Teil. Übrig bleibt die zugegebenermaßen fragile innere Epidermis der einen Koleoptilenseite. Die Leitbündel (B) bleiben hängen und versorgen die Zellen in den folgenden Tagen der Beobachtung mit Nährstoffen. Die Epidermis wird auf einem Objektträger ausgebreitet und mit zwei Deckgläsern fixiert. Die Deckgläser werden mit Wasser unterfüllt (Abb. 8).

Jetzt werden die Mehlausporen aufgestäubt. Die Beobachtung der Infektion kann beginnen. Bei der Anordnung können Objektive bis max. 25facher Eigenvergrößerung verwendet werden. Optimal ist Interferenzkontrast (DIC). Wenn man stärkere Objektive verwenden will, sollte man ein Deckglas mit „Brillen-Anti-Beschlagmitteln“ einreiben und es erst dann auf die Koleoptile legen. Eine Ölimmersion kann nur verwendet werden, wenn man die Koleoptile mit Wasser bedeckt, ein Deckglas auflegt und das Objektiv immergiert. Nach dieser „Tortur“ stirbt das System jedoch innerhalb weniger Stunden.

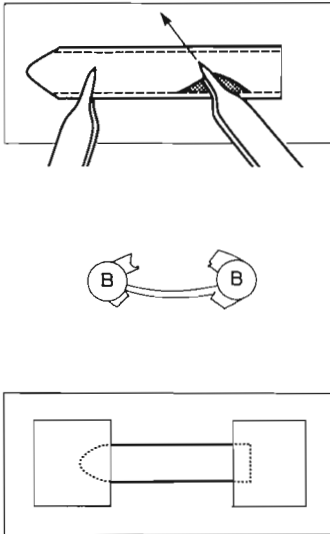


Abb. 8. Die abgeschnittenen Teile werden mit einer feinen Pinzette entfernt und es bleibt nur die eine, innere Epidermis mit den anhängenden Leitbündeln übrig. Diese wird auf einem Objektträger gespreitet und infiziert

### Danksagung

Den Mitarbeitern des IWF, Frau Dr. T. HARD, Herrn Kameramann H. KAEDING und Frau B. MILTHALER danken wir für den unermüdlichen Einsatz, Frau E. DRESSLER für die technischen Vorbereitungen unserer Proben und die zahlreichen Vorversuche. Prof. Dr. Wm. R. BUSHNELL gab wertvolle Hinweise für die Darstellung der hypersensitiven Reaktion und Dr. R. E. GOLD half bei der Korrektur des Textes.

### Erläuterungen zum Film

#### Wortlaut des gesprochenen Kommentars<sup>1</sup>

Gerste ist ein wichtiges Getreide in Europa. Sie dient als Tierfutter und wird von alters her zum Brotbacken und zum Bierbrauen verwendet.

Dies ist Braugerste, eine zweizeilige Gerste.

Gerste ist häufig von *Erysiphe graminis forma specialis hordei* befallen, einem Mehlaupilz. Der Befall äußert sich schon im Frühjahr an den untersten Blättern, in der Nähe der Halmbasis.

<sup>1</sup> Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film. – Die eingerückten Zeilen in Kleindruck geben zusätzliche Informationen.

Ein hellgrauer pelziger Belag bedeckt tupfenweise die Blattoberfläche.  
Der Belag besteht aus Hyphen und Konidien, dem Mycel des Pilzes.

*Gerstensorte Mari S (–); Mehltawasse C 17 AM*

Die einzelnen Hyphen des Mycels wachsen auf der Epidermis und schnüren, ausgehend von einer Mutterzelle, Sporen ab.

Etwa alle 2 Stunden bildet sich eine Spore. Es entstehen Sporenketten.

Durch Wind werden einzelne Sporen oder Ketten abgebrochen und auf andere Pflanzen übertragen.

2 470 µm; Hellfeld; 30 B/h

Hier liegt eine Spore auf der Epidermis der anfälligen Gerstensorte Mari-S.

Etwa 6 Stunden später entsteht der sekundäre Keimschlauch, der sich an der Spitze zum Appressorium, der Haftscheibe des Pilzes verdickt.

Von dort dringt der Pilz jetzt in die Epidermiszelle ein. Darauf reagiert diese mit der Ansammlung von Zellorganellen an der Eindringstelle.

Der Vorgang ist stark zeitgerafft dargestellt.

282 µm; DIC; 1 B/min

Vor der Bildung eines sekundären Keimschlauches heftet sich die Spore mit einem winzigen primären Keimschlauch an der Epidermiszelle des Wirtes an, und zwar schon eine halbe bis eine Stunde nach dem Auftreffen der Spore.

An der Kontaktstelle bildet die Epidermiszelle ein Cytoplasmaaggregat.

158 µm; DIC; 24 B/s

Eine Konidie mit primärem Keimschlauch.

Die Protoplasmaströmung in der Epidermiszelle ist zeitgerafft dargestellt.

302 µm; DIC; 2 B/s

Hier im Dunkelfeld Bildung des primären Keimschlauches, des sekundären Keimschlauches und des Appressoriums; dann Eindringen des Pilzes und Bildung des Cytoplasmaaggregats in der Epidermiszelle. Der Zellkern hält sich nahe der Eindringstelle auf. Ein Haustorium bildet der Pilz 15 Stunden nach erfolgreicher Penetration.

307 µm; Dunkelfeld; 1 B/min

Die Konidien von *Erysiphe graminis* keimen schon bei geringer Luftfeuchte.

Das Appressorium ist fest mit der lebenden Blattoberfläche verbunden und löst die Wachse der Cuticula an.

Der Pilz dringt nun in die Wirtszelle ein.

Sie reagiert mit dem Cytoplasmaaggregat.

Danach entwickelt sich ein Haustorium. Es ist bei dieser geringen Vergrößerung nur schwach zu sehen.

Die Haustorien entnehmen den Wirtszellen Metabolite.

Sie sind die einzigen Organe des Pilzes in der Pflanze.

Nach der Ausbildung des ersten Haustoriums zweigen vom sekundären Keimschlauch und vom Appressorium Hyphen ab und kolonisieren die Blattepidermis in alle Richtungen.

Der Pilz benötigt zum Wachsen Luftfeuchtigkeit, stirbt aber in Flüssigkeit ab. Deshalb entwickelt er sich nur im offenen Präparat. Er wächst auf der abgezogenen Epidermis einer Gerstenkoleoptile und ist von feuchter Luft umgeben.

Die Hyphen verzweigen sich mehrfach und folgen häufig den Längswänden der Epidermiszellen.

Der Pilz dringt jetzt auch in andere Wirtszellen ein (Pfeil). Es entsteht eine Ausbuchtung an einer Laufhyphne, die Wirtszelle wird infiziert; ihr Plasma aggregiert an der Eindringstelle.

Der Parasit differenziert ein weiteres Haustorium, zu erkennen an der Ausbuchtung der Laufhyphne im Bild unten. Nach dem gleichen Muster laufen alle weiteren Penetrationsvorgänge ab.

Drei Tage später bedecken die Hyphen einen kleinen Teil des Blattes und beginnen wieder mit der Bildung neuer Konidien.

Damit ist der ungeschlechtliche Entwicklungszyklus beendet.

400  $\mu\text{m}$ ; Dunkelfeld; 1 B/min

Die Abwehrreaktion des Wirtes geschieht durch Aggregatbildung und Heranführen des Kerns sowohl in der infizierten als auch in der benachbarten Zelle.

Zu diesem Zeitpunkt hat die Zelle ihren Stoffwechsel voll auf die Infektion eingestellt.

307  $\mu\text{m}$ ; DIC; 2 B/min

In der nichtinfizierten Epidermiszelle wandern die Organellen des Protoplasmas in dünnen Strängen entlang der Zellwand oder zum Zellkern. Die Protoplasmaströmung ist 12fach zeitgerafft wiedergegeben.

158  $\mu\text{m}$ ; DIC; 2 B/s

In der infizierten Zelle sammelt sich Protoplasma an der Eindringstelle des Pilzes an. Die Bewegung der Organellen ist zeitgleich dargestellt.

193  $\mu\text{m}$ ; DIC; 24 B/s

Am Rand des Aggregats entstehen sehr große Vakuolen. Grobgranuläre Plasmaklumpen werden herangeführt und verweilen am Aggregat.

193  $\mu\text{m}$ ; DIC; 4 B/s

Wenn nach erfolgter Wirtsreaktion sich dennoch ein Haustorium differenziert, löst sich das Cytoplasmaaggregat auf und der Kern verläßt die Penetrationsstelle.

121  $\mu\text{m}$ ; DIC; 2 B/min

Das junge Haustorium ragt in die Zelle hinein.

Es hat das Plasmalemma der Wirtszelle aber nicht durchbrochen, sondern wird von ihm umgeben.

121  $\mu\text{m}$ ; DIC; 8 B/s

An den Enden des Haustoriums differenzieren fingerförmige Fortsätze.

Das Haustorium dreht sich dabei in die Längsachse der Wirtszelle.

121  $\mu\text{m}$ ; DIC; 8 B/s

Das differenzierte Haustorium liegt in der Längsachse der Wirtszelle und besitzt lange Fortsätze.

177 µm; DIC; 8 B/s

*Gerstensorte Helena (Resistenzgen: ml-o); Mehltaurasse GE-3*

*Gerstensorte Carina (Resistenzgen: Ml-g, Ml-a6); Mehltaurasse Al-1*

Die Spore keimt auf der Gerstensorte Helena aus, die das ml-o-Gen für die Resistenz gegen viele Mehltaurassen enthält.

Die Vorgänge bis zur Appressorienbildung entsprechen denen auf anfälligen Sorten.

282 µm; DIC; 1 B/min

Als Resistenzreaktion hat diese Wirtszelle eine sehr große Papille gebildet. Der Pilz ist offenbar nicht in der Lage, das von der Wirtszelle abgelagerte Wandmaterial zu durchwachsen.

111 µm; DIC; 8 B/s

Hier hat sich der Pilz ungestört bis zur Haustorienbildung entwickelt.

Dann stirbt die Wirtszelle ab. Diese Reaktion kennzeichnet die Gerstensorte Carina mit dem Ml-a-Gen für Resistenz und wird als hypersensitiver Zelltod bezeichnet.

345 µm; DIC; 2 B/min

Außer der befallenen Zelle reagieren auch die Nachbarzellen hypersensitiv. Mit dem Tod der Wirtszellen ist dem Pilz die Nahrungsgrundlage entzogen und somit die Infektion an dieser Stelle gestoppt.

691 µm; DIC; 30 B/h

Mit dem bloßen Auge ist die hypersensitive Reaktion vieler Zellen als eine kleine dunkle nekrotische Zone zu erkennen.

Das Wirtsblatt ist zwar durch viele Nekrosen geschädigt, kann aber weiter photosynthetisch aktiv bleiben.

Gerstensorten, die Resistenzgene enthalten, sind ein wichtiger Bestandteil des integrierten Pflanzenschutzes.

Sie tragen dazu bei, daß weniger chemische Mittel eingesetzt werden.

### English Version of the Spoken Commentary<sup>1</sup>

Infection and Host Response in Powdery Mildew of Barley

Barley is an important cereal crop in Europe. It is used either as stock feed or for baking and beer brewing.

This is two-rowed malting barley.

Barley is frequently attacked by the powdery mildew fungus known as *Erysiphe graminis* forma specialis *hordei*.

The infestation first becomes apparent in spring at the base of the lowermost leaves.

The fungus has a powdery appearance on infected plants.

The powdery coating consists of hyphae and conidia, the mycelium of the fungus.

*Gerstensorte Mari S ( - ); Mehltaurasse C 17 AM*

(Barley variety Mari S ( - ); Powdery mildew race C 17 AM)

<sup>1</sup> The headlines in *italics* correspond with the subtitles in the film.

The hyphae of the mycelium grow on the epidermis and the conidiospores develop from a flask-shaped mother cell.

One spore is produced roughly every two hours. Thus, chains of spores form. Through the action of the wind single spores or chains of spores are broken off and spread to other plants.

Here a spore is lying on the epidermis of the susceptible cultivar Mari S. After about six hours the secondary germ tube is formed. At its tip, it enlarges to form the appressorium. From here the fungus penetrates the epidermal wall. The host cell, in turn, reacts by producing a cytoplasmic aggregate at the site of penetration.

The process is shown in considerable time lapse.

Before the formation of its secondary germ tube the spore contacts the host epidermis by means of a minute primary germ tube. This may already occur half an hour to an hour after the spore has landed on the leaf. Here too, a small cytoplasmic aggregate is produced.

A conidium with its primary germ tube. The protoplasmic streaming in the epidermal cell is shown speeded up.

In dark field illumination you can observe the formation of the primary germ tube, the secondary germ tube and the appressorium; followed by fungal penetration and the aggregation of cytoplasm in the epidermal cell. The cell nucleus is located close to the penetration site.

The fungus differentiates a haustorium about 15 hours after successful penetration.

The conidia of *Erysiphe graminis* germinate even at low humidity.

The appressorium is firmly attached to the living leaf surface and dissolves the cuticular wax coating.

The fungus now infects the host cell. This reacts by producing the cytoplasmic aggregate. Following this, a haustorium develops. At this low magnification it is not very conspicuous.

The haustoria take up the metabolites from the host cell. They are the only organs of the parasite within the plant.

After formation of the first haustorium hyphae branch off the secondary germ tube and the appressorium to colonize the host epidermis in all directions.

The fungus develops at low air humidity and dies if immersed in water. That is why it only develops in an open preparation. Here, it is growing on the epidermis stripped from a barley coleoptile and is surrounded by air of about 70% humidity.

The hyphae branch repeatedly and frequently follow the longitudinal walls of the epidermal cells.

The fungus now begins to penetrate other host cells. (Pfeil) A lobe develops and from there, the host cell is infected. Its cytoplasm accumulates at the site of penetration.

The parasite differentiates another haustorium recognizable from the lobe of a hypha running to the bottom right. Again during penetration, a cytoplasmic aggregate is visible.

All further penetrations occur in the same mode.

After three days, the hyphae are covering a small area of the leaf and starting to produce new conidia.

This concludes asexual development.

The host cell reacts with the formation of the cytoplasmic aggregate and the relocation of the neighbouring cell. By now the host cell has adapted its metabolism to the infection process.

In the epidermal cells – this cell is not infected – the protoplasmic organelles migrate in thin strands along the cell wall or towards the nucleus. The protoplasmic streaming is shown up by a factor of twelve.

In the infected cell, the cytoplasmic aggregate (here shown in real time) consists of mitochondria, polyribosomes and rough endoplasmic reticulum.

Also, coarse granular material is carried to the aggregation. Golgi bodies and the numerous vesicles may be associated with the papillar material.

After some time, the cytoplasmic aggregate disappears and the fungus begins with the differentiation of a haustorium in the host cell. The nucleus leaves the penetration site.

The young haustorium projects into the cell.

It has not ruptured the plasmalemma of the host cell but is surrounded by a modified invagination of this.

At the end of the haustorium finger-like lobes differentiate. During its development, the haustorium grows into the longitudinal axis of the host cell.

The fully developed haustorium has long finger-like projections and contains a single nucleus, and a number of unidentified vesicles.

*Gerstensorte Helena (Resistenzgen: ml-o); Mehltaurasse GE-3*

*Gerstensorte Carina (Resistenzgene: Ml-g, Ml-a6); Mehltaurasse Al-1*

(Barley variety Helena (resistance gene: ml-o); Powdery mildew race GE-3

Barley variety Carina (resistance genes: Ml-g, Ml-a6); Powdery mildew race Al-1)

Here, the spore is germinating on the barley variety Helena with the ml-o gene for resistance. This gene is effective against many races of mildew.

The infection process follows the normal pattern up to appressorium formation.

As a defence reaction, a very large papilla is formed. The fungus appears unable to penetrate the cell wall material deposited by the host cell.

In the cultivar Carina, the infection proceeds up to the differentiation of haustorium.

Then the host cell dies off. This reaction is characteristic for the cultivar Carina with the Ml-a gene for resistance.

The term hypersensitive reaction is used for this rapid cell necrosis in incompatible host-parasite systems.

The hypersensitive response is not confined to the infected cell but affects also the neighbouring cells.

The death of the host cell deprives the fungus of its food source and the infection is stopped at this site.

With the naked eye you can recognize the hypersensitive reaction of numerous cells as small, dark necrotic zones.

The host leaf may be damaged by a large number of necrotic zones but it is still able to photosynthesize actively.

Varieties of barley containing resistance genes are an important factor towards integrated plant protection. They contribute to a reduction in the use of chemical pesticides.

## Literatur

- [ 1 ] AIST, J. R.: Papillae and related wound plugs of plant cells. *Annu. Rev. Phytopathol.* **14** (1976), 145–163.
- [ 2 ] BJÖRLING, K.: Observations on the development of *Erysiphe graminis* D. C.. *Förk. Fysiogr. Sallsk Lund.* **16** (1946), 187–203.
- [ 3 ] BLUMER, S.: *Echte Mehltäupilze (Erysiphaceae)*. Fischer Verlag, Jena (1967).
- [ 4 ] BUSHNELL, W. R., J. DUECK, and J. B. ROWELL: Living haustoria and hyphae of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* with intact and partially dissected host cells of *Hordeum vulgare*. *Can. J. Bot.* **45** (1967), 1719–1732.
- [ 5 ] BUSHNELL, W. R., and J. GAY: Accumulation of solutes in relation to the structure and function of haustoria in powdery mildews. In: D. M. SPENCER, Ed.: *The powdery mildews*, pp. 183–235 (1978), Academic Press, London.
- [ 6 ] CARVER, T. L. C., and W. R. BUSHNELL: The probable role of primary germ tubes in water uptake before infection by *Erysiphe graminis*. *Physiol. Plant Pathol.* **23** (1983), 229–240.
- [ 7 ] ESSER, K.: *Kryptogamen, Praktikum und Lehrbuch*, 2. Aufl., Berlin 1985.
- [ 8 ] GÄUMANN, E.: *Die Pilze, Grundzüge ihrer Entwicklungsgeschichte und Morphologie*. 2. Aufl., Basel 1964.
- [ 9 ] GAY, J. L., M. MARTIN, and E. BALL: The impermeability of powdery mildew conidia and their germination in arid environments. *Plant Pathology* **34** (1985), 353–362.
- [10] GOLD, R. E., J. R. AIST, B. E. HAZEN, M. C. STOLZENBURG, M. R. MARSHALL, and H. W. ISRAEL: Effects of calcium nitrate and chlortetracycline on papilla formation, ml-o resistance and susceptibility of barley to powdery mildew. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **29** (1986), 115–129.
- [11] GORDON, C. A.: A reinterpretation of the ontogeny of the ascocarp of species of the *Erysiphaceae*. *Amer. J. Bot.* **53** (1966), 652–662.
- [12] HAZEN, B. E., and W. R. BUSHNELL: Inhibition of the hypersensitive reaction in barley to powdery mildew by heat shock and cytochalasin B. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **23** (1983), 421–438.
- [13] HIURA, U.: Genetic basis of formaespecialis in *Erysiphe graminis* DC. In: SPENCER, D. M. (Ed.): *The powdery mildews*, pp. 101–127, Academic Press, London 1978.
- [14] JØRGENSEN, J. H.: Genetics of *Erysiphe graminis*. In: *Advances in Plant Pathology*, Vol. 6, Academic Press, in the press.
- [15] KUNOH, H.: Early stages of infection process of *Erysiphe graminis* on barley and wheat. In: J. P. BLAKEMAN (Ed.): *Microbial Ecology of the Phylloplane*, pp. 85–101, Academic Press, London 1981.
- [16] KUNOH, H., J. R. AIST, and H. W. ISRAEL: Element composition of barley coleoptile papillae in relation to their ability to prevent penetration by *Erysiphe graminis*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **29** (1986), 69–78.
- [17] MENDGEN, K.: Wirtsfindung, Wirtserkennung biotropher Pilze und Abwehrreaktionen der Wirtspflanze. *Mitt. Biol. Bundesanstalt f. Land- und Forstwirtschaft, Berlin Dahlem* **223** (1984), 6–16.
- [18] MENDGEN, K., and E. DRESSLER: Culturing *Puccinia coronata* on a cell monolayer of the *Avena sativa* coleoptile. *Phytopath. Z.* **108** (1983), 226–234.
- [19] MENDGEN, K., and P. NASS: The activity of powdery – mildew haustoria after feeding the



host cells with different sugars, as measured with a potentiometric cyanine dye. *Planta*, in press (1988).

- [20] MÜLLER, E, und W. LOEFFLER: *Mykologie*, 4. Aufl., Stuttgart 1982.
- [21] SKOU, J. P., J. H. JØRGENSEN, and K. LILHOLT: Comparative studies on callose formation in powdery mildew compatible and incompatible barley. *Phytopath. Z.* **109** (1984), 147–168.
- [22] SLESINSKI, R. S., and A. H. ELLINGBOE: Transfer of  $^{35}\text{S}$  from wheat to the powdery mildew fungus with compatible and incompatible parasite-host genotypes. *Can. J. Bot.* **49** (1971), 303–310.
- [23] SPENCER, D. M.: *The powdery mildews*. Academic Press, London 1978.
- [24] WEBSTER, J.: *Introduction to fungi*. Cambridge University Press Cambridge 1977.
- [25] WOLFE, M. S.: The genetics of barley mildew. *Rev. Pl. Path.* **51** (1972), 507–522.
- [26] ZEYEN, R. J., and W. R. BUSHNELL: Papilla response of barley epidermal cells caused by *Erysiphe graminis*: rate and method of deposition determined by microcinematography and transmission electron microscopy. *Can. J. Bot.* **57** (1979), 898–913.

### Abbildungsnachweis

Abb. 1: Gezeichnet nach Ergebnissen von MENDGEN und KELLER (unveröffentlicht) und Vorlagen aus BLUMER [3]; ESSER [7]; GÄUMANN [8]; MÜLLER und LOEFFLER [20]; WEBSTER [24]; Abb. 2–8: K. MENDGEN, G. KELLER, Chr. KUHN.