

Differentiation of infection structures of the powdery mildew fungus *Uncinula necator* and adhesion to the host cuticle

J. RUMBOLZ¹, H.-H. KASSEMEYER¹, V. STEINMETZ¹, H.B. DEISING², K. MENGEN³, D. MYTHYS⁴, S. WIRTZ⁴ AND R. GUGGENHEIM⁴

Canadian Journal of Botany **78**: 409-421 (2000)

Abstract: Development and adhesion of infection structures of the grapevine powdery mildew fungus, *Uncinula necator* (Schw.) Burr., were investigated during the early stages of leaf colonization. Light microscopy showed that primary appressoria occurred 3,5 h post inoculation (p.i.) and that hyphae on the leaf surface, indicative of successful host colonization, appeared 14 h p.i. Low temperature scanning electron microscopy (LTSEM) revealed deposits extracellular material at the contact zone of the fungal structures and plant cuticle, suggesting firm attachment of the pathogen. To investigate whether or not esterase or cutinase activity is involved in establishing the fungus on the host cuticle, histochemical assays and inhibitor studies were performed. Results indicated that esterase activity was associated with conidia and infection structures. A single fungal extracellular protein was identified as a cutinase by its ability to hydrolyze ³H-cutin. Probing Southern blots of genomic DNA of *U. necator*, *Magnaporthe grisea* and *Fusarium solani* f.sp. *pisi* with the cutinase gene of *Fusarium solani* f.sp. *pisi* suggested that the cutinase gene of *U. necator* shares only limited sequence similarities with the cutinase gene of the other fungi investigated. Adhesion assays showed that the presence of esterase-cutinase inhibitors on the cuticle did not significantly affect adhesion. The role of the enzyme in fungal adhesion is discussed.

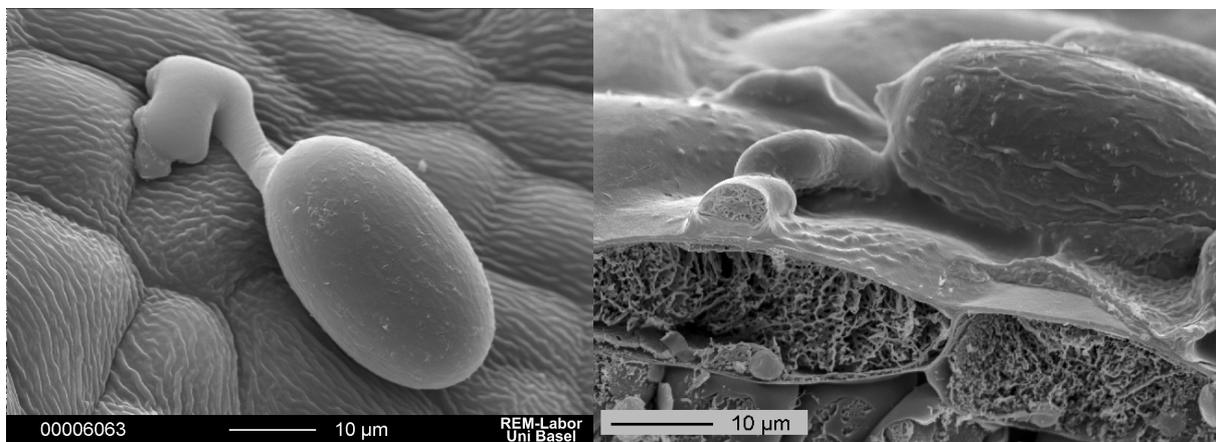


Fig. 1: LTSEM micrograph of germinated conidium with primary appressorium on the leaf cuticle of *Vitis vinifera*

Fig.2: LTSEM micrograph of freeze-fractured leaf disk of *Vitis vinifera* with conidium and germ tube - appressorium are firmly adhered to the surface of an epidermal cell

Request for reprints should be sent at the following address:

Dr. Joachim Rumbolz, University of California, Dept. Of Plant Pathology, One Shields Ave. Davis, CA 95616 U.S.A. fax: +1 530 752 5674 e-mail jrumbolz@ucdavis.edu

Zusammenfassung: Die Entwicklung und Anheftung der Infektionsstrukturen des Echten Mehltaus der Weinrebe, *Uncinula necator* (Schw.) Burr., wurde während der frühen Stadien der Besiedelung des Blattes untersucht. Lichtmikroskopische Untersuchungen zeigten, dass 3,5 h nach Inokulation (p.i.) das primäre Apressorium auftrat. 14 h p.i. konnten Hyphen, als Zeichen einer erfolgreichen Besiedelung des Wirts, auf der Blattoberfläche beobachtet werden. Mit der Tieftemperatur Rasterelektronenmikroskopie konnten Anlagerungen einer extrazellulären Matrix an der Kontaktzone zwischen pilzlichen Strukturen und der pflanzlichen Cuticula. Dies deutet auf eine feste Anheftung des Pathogens auf der Wirtsoberfläche hin. Es wurde untersucht, ob und in welchem Umfang Esterase- bzw. Cutinase-Aktivität für die Etablierung des Pilzes auf der Wirtsoberfläche verantwortlich sind. Hierzu wurden histochemische Untersuchungen und Inhibitor-Studien durchgeführt. Die Ergebnisse deuten daraufhin, dass die Konidien und Infektionsstrukturen mit einer Esterase-Aktivität verbunden sind. Ein extracelluläres Protein des Pilzes besaß die Fähigkeit, ³H-Cutin zu hydrolysieren. Mit genomischer DNA von *U. necator*, *Magnaporthe grisea* und *Fusarium solani* f.sp. *pisi* wurden Southern-blot-Analysen mit Sonden des Cutinase-Gens von *Fusarium solani* f.sp. *pisi* durchgeführt. Die Analysen ergaben, dass die Sequenz des Cutinase-Gens von *U. necator* nur begrenzte Ähnlichkeit mit dem Cutinase-Gen anderer Pilze aufweist. Adhäsions-Tests zeigten, dass Cutinase-Inhibitoren auf der Oberfläche der Cuticula die Adhäsion des Pathogens nicht signifikant beeinflussen. Die Rolle von Enzymen bei der Anheftung des Pilzes wird diskutiert.

Sonderdrucke können angefordert werden bei:

Dr. Joachim Rumbolz, University of California, Dept. Of Plant Pathology, One Shields Ave. Davis, CA 95616 U.S.A. fax: +1 530 752 5674 e-mail jrumbolz@ucdavis.edu

oder

Dr. H.-H. Kassemeyer, Staatliches Weinbauinstitut, Abteilung Biologie, Merzhauser Straße 119, D-79100 Freiburg im Breisgau, Fax: +49 (0)761 40165 70, e-mail Hanns-Heinz.Kassemeyer@wbi.bwl.de