

Témavezető: Fodor József Pályázat: OTKA K: 61594 Időszak: 2006.02-től 2011. 01-ig  
OTKA IN 76570 2008. 04-től 2011. 01-ig

## Zárójelentés

(2011)

### A kutatási téma

Két témakört ölel fel a pályázat. Az első „**A *Piriformospora indica* endofita gomba által indukált növényi rezisztencia mechanizmusa**” címet viseli (K 61594), a második egy ebbe beolvasztott nemzetközi együttműködési pályázat, melynek címe: „**Árpagyökerek összehasonlító biokémiai elemzése két, rendszertanilag rokon gomba: a patogén *Rhizoctonia solani* AG-8 és a szimbionta *Piriformospora indica* gomba fertőzése után**”, és az IN 76570 azonosítót viseli.

### Előzmények

A pályázat témavezetőjét 1993-ban pályakezdő kutatóként Király Zoltán akadémikus, az MTA Növényvédelmi Kutatóintézet akkori igazgatója azzal bízta meg, hogy az antioxidánsok és oxigén szabadgyökök szerepét vizsgálja a növények szisztémikus szerzett betegségellenállóságában. A jelenségről akkoriban annyi volt ismert, hogy kialakulása során a növényben megfigyelhető a szalicilsav szintjének emelkedése és az ún. patogenezissel kapcsolatos (PR) gének fokozott expressziója (Malamy et al. 1990, Ward et al. 1991). Az eredmények arra utaltak, hogy az antioxidáns rendszer több fontos tagja, pl. a szuperoxid-dizmutáz, a glutation, a glutation-reduktáz, a glutation S-transzferáz szalicilsavtól függő fokozott aktivitást mutat a rezisztencia indukcióját követően (Fodor et al. 1997, Király et al. 2002). Kisebb szünetekkel 1998-tól minden évben a témavezető a DAAD Német Kutatócsere Szolgálat támogatásával 1–2 hónapot töltött a németországi Giessenben Karl-Heinz Kogel professzornál a Justus Liebig Egyetem Növénykórtani és Alkalmazott Állattani Intézetében, hogy a szabadgyökök és a hidrogén-peroxid felhalmozódását, és a védekezéssel kapcsolatos gének kifejeződését tanulmányozza liztharmattal fertőzött árpában. Kiderült, hogy a szalicilsav koncentrációja a kétszikűekkel ellentétben nem emelkedik a fertőzött árpában, de a védekezéshez köthető PR gének indukciója megfigyelhető (Hückelhoven et al., 1999).

Időközben a Giesseni Intézetbe került Helmut Baltruschat, aki Fritz Schönbeck professzornak, a Hannoveri Leibniz Egyetem néhai igazgatójának volt a tanítványa, s mestere nyomdokait követve mikorrhiza gombákkal foglalkozott. Nagy arbuskuláris mikorrhiza gomba gyűjteménnyel rendelkezett, de volt a gombák közt egy kakukktójas, mely a mikorrhiza gombáktól eltérően nem volt obligát endoszimbionta, hanem a növény gyökerén belül (endofita,

biotróf) és a növénytől függetlenül (szaprotróf) is tudott élni, ezért bármilyen egyszerű mesterséges táptalajon jól tenyésztett. Ezt a gombát Indiában, a Thar sivatagban élő cserjék rhizoszférájából izolálták, s bár ivaros alakja nem ismert, morfológiai bélyegek alapján a bazídiumos gombák törzsébe sorolták, s körte alakú kitaró klamidospórái miatt a *Piriformospora indica* nevet adták neki. További vizsgálatok céljából Németországba vitték, ahol több, mikorrhiza gombákkal foglalkozó kutató is tanulmányozni kezdte (Verma et al., 1998). Kiderült róla, hogy serkenti a vele szimbiózisban élő növények növekedését, s a gazdanövények körében nem válogatós, bármilyen növényt képes volt kolonizálni, amin csak kipróbálták (Pham et al. 2004).

Helmut Baltruschat révén jutott el tehát a *P. indica* a Giesseni Növénykórtani Intézetbe, mely akkor az árpalisztharmat-kutatások egyik fellegvára volt. Ki is próbálták rögtön, hogyan hat a lisztharmatfertőzésre, ha előtte az árpát kolonizálja a *P. indica*, s kiderült, hogy ha nem is jelentősen, de statisztikailag szignifikánsan visszaszorította a lisztharmat telepek számát. Ez valódi szenzáció volt, mert mikorrhiza gombákkal kapcsolatban ilyen eredmény nem volt ismert. Mivel a hatás szisztemikus volt, ez egyfajta szisztemikus indukált rezisztenciának volt tekinthető, ezért megkeresték a jelen pályázat témavezetőjét, hogy vegyen részt a működésének a vizsgálatában. Tekintettel arra, hogy a szalicilsav, a szabadgyökök és az antioxidánsok szerepe korábban más jellegű szisztemikus szerzett betegségellenállóság kapcsán már igazolódott, ezek vizsgálatához fogtak elsőként. Kiderült, hogy a *P. indicával* kolonizált gyökerekben nem emelkedik a szalicilsavhoz köthető gének átíródása. Ellenben az antioxidánsok indukciója egyértelmű volt. Nőtt az aszkorbinsav koncentrációja, nőtt a redukált aszkorbát aránya az oxidált formához képest, és fokozódott az aszkorbát redukált, aktív formájának fenntartásában részt vevő dehidroaszkorbát-reduktáz enzim aktivitása a gyökerekben. A levelekben a redukált glutation mennyisége és a glutation-reduktáz indukálódott a *P. indica* fertőzés hatására. Ezeket az eredményeket a jelen pályázatban részt vevő kutatók közül ketten érték el 2003-2004 folyamán, de az erről szóló cikkben sajnos a fiatalabb magyar résztvevő neve nem kapott helyet társszerzőként (Waller et al. 2005). Ebben a cikkben két fontos jelenségre is felhívták a figyelmet: a *P. indica* kolonizáció hatására fokozódott az árpa sőtűrése és a *Fusarium culmorum* gyökérkorhadást okozó kórokozóval szembeni ellenállósága. A *P. indica* a növényen keresztül fejtette ki a fuzáriummal szembeni hatását, mert *in vitro* tenyészetekben antibiotikus hatás nem lépett fel.

### **Hipotézis:**

Feltételezték, hogy a *P. indica* gombával kezelt árpa nagyobb antioxidáns kapacitása úgy járul hozzá a fokozott rezisztenciához, hogy erősíti a gazdanövény védelmét a biotikus vagy abiotikus stressz során termelődő káros szabadgyökök ellen, melyek károsíthatják növényt, ha nagy mennyiségben vannak jelen.

### **Megvalósítandó célok:**

Tulajdonképpen a 2005-ös PNAS cikk képezte az alapját a jelen pályázatnak, mert rávilágított a sőtűrésre, a fuzárium és lisztharmat ellen megnyilvánuló indukált rezisztenciára, de nem adott magyarázatot ezekre a jelenségekre. Tehát a jelen pályázat keretében a következő célokat tűzték maguk elé, éves bontásban:

- 1) A szalicilsav szerepének tisztázása végett a szalicilsav hiányos transzgenikus NahG dohányokban (a szalicilsavat lebontó szalicilsav-hidroxiláz génjét ültették bele *Pseudomonas putida* baktériumból) ellenőrizni a *P. indica* növekedésserkentő hatását. A szalicilsavat és más növényi növekedésszabályozó anyagokat mérni a kolonizált növényekben. A dohányon és árpán kívül más növényeken is kipróbálni a szimbiózis hatását.
- 2) Folytatni a hormonok és másodlagos jelátvivők (pl. szalicilsav, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) szerepének vizsgálatát a szisztémikus szerzett rezisztenciával rendelkező növényekben és a *P. indica* gombával szimbiózisban élő növényekben. Vizsgálni az antioxidánsok fokozott aktivitásának, a lipidek összetételében bekövetkező változásoknak szerepét a *P. indica* vonatkozásában, miután a kolonizált növényeket lisztharmat vagy fuzárium fertőzésnek teszik ki. Az előző évi eredményektől függ, hogy más növényeken is vizsgálják-e a lisztharmat elleni indukált rezisztenciát. Megnézni, hogy milyen mechanizmus szerint történik a lisztharmat elleni rezisztencia fokozódása a *P. indica* által kolonizált növényekben.
- 3) Folytatni az etilén és citokinin kimutatását *P. indica* által kolonizált növényekben patogén-stressz hatására. Vizsgálni továbbá az oxigén szabadgyökök képződéséért potenciálisan felelős enzimeket, mint pl. a NADPH-oxidázt. Antioxidánsok meghatározása a *P. indica* gombával kolonizált növényeknek a stresszre adott válasza során. (Ez utóbbi azért volt fontos, mert a 2005-ös PNAS cikkben csak stresszmentes körülmények között tartott növényekben mértek antioxidánsokat. A biotikus ill. abiotikus stressznek kitett növények esetében csak a fokozott rezisztencia

tényét illusztráltuk a *P. indica* gombával kolonizált növények nagyobb biomasszáján keresztül)

4) A perspektivikusnak tűnő kutatási irányok továbbvitele

#### **Eredmények:**

Összevetették a *P. indica* gombával szimbiózisban élő és a *P. indicával* nem oltott árpanövényekben a szalicilsav és hidrogén-peroxid szintjét. Nem találtak szignifikáns változást a gombaoltást követően a gyökér szalicilsav-koncentrációjában. A vad típusú és szalicilsavat nem tartalmazó transzgenikus NahG dohányokra *P. indica* hasonló hatást gyakorolt, ami szintén azt sugallta, hogy nem függ a szalicilsavtól a *P. indica* által kiváltott növényi válasz. A kórfolyamattal kapcsolatos (PR) fehérjék génjeinek fokozott átíródását és a hidrogén-peroxid felhalmozódást kizárólag a gombaoltás után 3-5 nappal lehetett kimutatni a gomba behatolási helyén, de később, a szimbiózis kialakulását követően a gomba növekedési szakaszában már nem. Ez arra engedett következtetni, hogy a *P. indica* megtelepedése és növekedése a gyökéren csak egy korai, átmeneti stresszt vált ki a növényben, később már nem látható stresszre utaló jel.

Elvégezték a dohányon a dohánymozaik vírussal indukált szalicilsavtól függő „klasszikus” szisztémikus szerzett rezisztencia és a *P. indica* kolonizáció hatására indukálódó, lisztharmat ellen megmutatkozó szisztémikus rezisztencia összehasonlító vizsgálatát a membránlipidek összetétele, a lipid peroxidáció, valamint az etilén termelés gázkromatográfiás, és a növény anyagcsere aktivitásának kalorimetria meghatározása révén. A szalicilsavtól függő betegségellenállóság vonatkozásában nagyon érdekes összefüggések derültek ki, de a *P. indica* sem árpában, sem dohányban, sem paradicsomban nem váltott ki értékelhető eltérést a lisztharmatos tünetekben. Mivel a Giesseni Intézet munkatársai a lisztharmat elleni rezisztencia hatásosságát újabb kísérletekkel erősítették meg, és további részleteket tártak fel a mechanizmusát illetően (Stein et al 2008), a magyarok lisztharmattal kapott negatív eredményei nem kerültek közlésre, csak a kísérlet pozitív kontrolljának szánt klasszikus rész (Fodor et al. 2007). Azonban a hallei Martin Luther Egyetem kutatói még abban az évben olyan kísérletekről számoltak be, mely feltárta az ellentmondó eredmények okát. Kiderült, hogy az árpának csak az két első levelében mutatható ki a *P. indica* hatására lisztharmattal szemben megnyilvánuló rezisztencia, de az is csak akkor, ha ellenőrzött környezeti feltételek közt nevelik a növényeket (Serfling et al. 2007). Míg a giesseni kutatók mindössze 7-10 napos, 1-2 leveles árpával dolgoztak, a magyar csoport a növényeket 3-4 leveles korig nevelte, mert a különböző jellegű vizsgálatokhoz több levélre volt szüksége.

A magyar kutatócsoport a projekt során mindvégig szoros együttműködésben dolgozott a giesseni Növénykórtani Intézettel. Mivel a német partner a *P. indica* által kiváltott növényi hormonális változásokkal kezdett behatóan foglalkozni (Schäfer et al. 2009a,b), ezért a magyar csoport munkája más irányba terelődött. Világosan mutatták az eredmények, hogy az oxigén szabadgyökök felhalmozódása biotikus és abiotikus stressz alatt is gátlás alatt áll a *P. indicával* oltott gyökerekben. Megvizsgálták tehát az antioxidánsok aktivitását a sóstressz hatása alatt álló árpában, a *Fusarium culmorummal* fertőzött árpában, valamint *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersicivel* fertőzött paradicsomban. A sókezelés gátolta az árpalevelek anyagcseréjét és fokozta a lipid peroxidációt (Baltruschat et al. 2008). Ellenben a *P. indica* gombával kolonizált árpák a sózás hatására magasabb anyagcsere aktivitással és csak nem szignifikáns mértékű lipid peroxidáció növekedéssel voltak jellemezhetőek. A *P. indica* hatására a sejtek membránösszetétele megváltozott, nőtt a telítetlen zsírsavak aránya, ami növelte a membránok folyékonyságát. Kiderült, hogy a sóstressz alatt is magasabb antioxidáns enzim aktivitás, magasabb aszkorbát tartalom és az aszkorbát, valamint a glutation redukált formájának nagyobb arányú jelenléte jellemzi a *P. indica* gombával kolonizált növényeket. Hasonló eredmények születtek a fuzáriummal fertőzött árpa és paradicsom esetében is. A fuzáriumos cikk még nem jelent meg, de már csaknem kész van, rövidesen benyújtásra kerül. Tudni kell, hogy a fuzáriumos méréseket a pályázat egyik résztvevője teljesen önállóan, egyedül végezte. A bevezetőben említett okból kifolyólag ragaszkodott hozzá, hogy ő maga írjon cikket belőle, amit a témavezető megértéssel fogadott. A doktori értekezésének elkészítése, a védés, majd azt követően gyermekének megszületése miatt haladt lassan a cikkírás.

Beszámoló az „**Árpagyökerek összehasonlító biokémiai elemzése két, rendszertanilag rokon gomba: a patogén *Rhizoctonia solani* AG-8 és a szimbióta *Piriformospora indica* gomba fertőzése után**” címet viselő, beolvasztott, nemzetközi kiegészítő pályázatról

### **Előzmények, hipotézis:**

Annak érdekében, hogy lehetőségük legyen a pályázat magyar résztvevőinek vendégkutatóként többet dolgozni a németországi partnerintézetben, egy nemzetközi kiegészítő OTKA pályázatot nyújtottak be. A munkaterv előzménye az volt, hogy a giesseni csoport DNS chip eljárás segítségével megvizsgálta az árpa génjeinek *P. indica* kolonizáció hatására jelentkező expressziós változásait (Schäfer et al. 2009a). A továbblépés lehetőségét keresve az az ötlet merült fel, hogy egy hasonló vizsgálatot végezzenek el *Rhizoctonia solani* gombával fertőzött árpa gyökereken, mely lehetőség teremt a *P. indica* és egy kórokozó hatásának összehasonlítására. Azért esett a választásuk a *R. solanira*, mert az is bazídiumos gomba. A giesseni csoport a vizsgálathoz egy árpáról izolált, a 8-as anasztomózis csoportba (AG-8) tartozó *R. solanit* választott.

### **Megvalósítandó célok:**

A pályázat keretében a következő célokat tűzték maguk elé:

- 1) A Giesseni Egyetem kutatói transzkripciós profilt készítenek a *R. solani* fertőzésre indukálódó/represszálódó gének azonosítása céljából. A kapott génexpressziós adatok ellenőrzése, ill. egyes kiválasztott gének átíródásának vizsgálata kvantitatív polimeráz láncreakcióval (qPCR). Ezekhez a vizsgálatokhoz a kétféle gombával fertőzött árpagyökerekből a fertőzést követő különböző időpontokban izolált teljes RNS-t használják. A mintavételi időpontok a gombáknak a gazdasejtbe történő behatolásától a gyökérben való növekedés előrehaladott fázisáig terjedő időintervallumot fedik le.
- 2) Megrendelik az aszkorbát redukált állapotban tartásában fontos antioxidáns enzimeket kódoló génekben mutáns TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) árpákat (SCRI, Dundee, UK) további vizsgálat céljából, hogy egyértelműen el lehessen dönteni az antioxidánsok mekkora szerepet játszanak a *P. indica* által a gazdanövénynek nyújtott előnyös kapcsolatban.
- 3) Az aszkorbát–glutation ciklus működésének vizsgálata *R. solanival* fertőzött árpagyökereken, a kapott adatok összehasonlítása a *P. indica* oltás után kapott

korábbi eredményekkel. Hidrogen-peroxid és oxigén szabadgyökök funkciójának összehasonlító vizsgálata *R. solanival* és *P. indicával* fertőzött árpákban.

- 4) Vírus-idukált géncsendesítés a szalicilsav szerepének tisztázása végett a *R. solani* fertőzés során.

### **Eredmények:**

A részletes génextpressziós vizsgálat előtt a német partner kérte a magyar csoportot, hogy találjon egy használható módszert az *R. solani* fertőzésre, határozza meg a *R. solani* kolonizáció szakaszait, különös tekintettel a gyökérsejtekbe történő behatolás idejére, valamint vizsgálja meg néhány marker gén expresszióját, melyek a *P. indica* kolonizáció után a korábbi vizsgálatok szerint jellegzetes választ adtak. A *P. indicával* oltott gyökerekből ugyanis három időpontban, egy korai, egy késői kolonizáció, s a kettő közt levő behatolás időpontjában vettek mintát a DNS chip vizsgálathoz (1, 3 és 7 nap). Mivel a *R. solani* nem képez spórákat a tenyészetben, ezért a fertőzést más módon kellett megvalósítani. A *R. solanival* benőtt vizes agarra helyezett árpák váltak be erre a célra. Részletes mikroszkópos vizsgálatok alapján megállapították, hogy a *R. solani* mikor hatol be a gyökérbe, s a fertőzés *P. indicával* analóg szakaszai hogyan alakulnak. A *R. solani* behatolását a gyökérbe nem kísérte sem hidrogén peroxid, sem oxigén szabadgyökök felhalmozódása, tehát stressz jelét nem észlelték. Ezzel összhangban a fertőzött gyökerekben sejtthálál csak elvétve jelentkezett, még 1 héttel a fertőzés után is teljesen egészségesnek látszott a gyökér. A *P. indica* vizsgálatok alapján három marker gént jelöltek ki qPCR vizsgálatra melyek a szalicilsav, az etilén és a jázmonsav jelátviteli útvonalak aktiválódását voltak hivatva jellemezni. A vizsgálatokat az előre meghatározott három időpontban végezték el. A vizsgálatok eredménye nem győzte meg a német partnert arról, hogy érdemes belevágni a drága DNS chip vizsgálatba, mivel sem citológiai, sem génextpressziós szinten nem mutatkozott jelentős különbség a *P. indica* és a *R. solani* kolonizáció hatása között.

Időközben a *P. indica* gombával súlyos bonyodalmak támadtak, melyek először lelassították, majd lehetetlenné tették a vele való munkát. A *P. indica* pótlására nem volt lehetőség, mert a vele foglalkozó vetélytársak nem segítettek. A szimbiózisnak a növényre gyakorolt kedvező hatása megbízhatatlanná vált. Hiába volt a gomba időről időre visszaizolálva azokról a növényekről, melyek a szimbiózis pozitív hatását mutatták, a tenyészet az évek során megváltozott. A kolonizáció képe is más lett, a gyökér kis részeire lokalizálódott, ahol óriási tömegben képződtek a kitartó spórák. A téma jeles amerikai szakértői szerint a *P. indicához* hasonló endofita gombák és gazdanövényeik közti szimbiózis az evolúció során egy-egy adott

élőhelyhez adaptálódott, abból kiszakítva nem működik, sőt az sem kizárt, hogy idővel az endofita gomba kórokozóvá alakul (Rodriguez et al. 2008).

Egy év hosszabbítást kért a pályázat témavezetője, hogy hátha meg tudják oldani a problémát, és tovább tudnak dolgozni a *P. indicával*. Ez a remény nem teljesült, ezért nem tudták elvégezni azokat a vizsgálatokat, melyek az aszkorbinsav redukált állapotban tartásáért felelős antioxidáns enzimekben mutáns növényeken ellenőrizte volna, hogy valóban függ-e az antioxidánsoktól a növénynek előnyöket nyújtó szimbiotikus kapcsolat. Ezt a munkát egy konkurrens csoport végezte el és azt mutatták ki, hogy az *Arabidopsis thalianában* két enzim, a monodehidroaszkorbát-reduktáz kettes (At3g09940) és a dehidroaszkorbát reduktáz ötös (At1g19570) izoenzimét kódoló gének fokozott átíródása feltétlenül szükséges a növény számára előny jelentő szimbiózis létrejöttéhez (Vadassery et al. 2008).

Eközben a *R. solanival* kapcsolatos vizsgálatokra koncentráltak. Szerencsére az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetében nagy *R. solani* törzsgyűjteményt alakított ki Vajna László és Oros Gyula, s az ő önzetlen és nagylelkű támogatásukkal sikerült további eredményeket elérni. Felhívták a figyelmet arra, hogy a *R. solani* fertőzés a növényben lehet kedvező, közömbös és kedvezőtlen hatású is, s mindez függ a növényfajtól (sőt fajtától) és a gombatörzstől egyaránt. A *R. solani* latensen, biotróf módon jelen tud lenni a növényben, és a körülmények bizonyos megváltozása során vált át parazita életmódra, amikor gyökér- és szártőbetegséget okozhat. A szakértők javaslatára az *in vitro* tesztek helyett *R. solanival* fertőzött talajba vetették az árpákat, s más törzseket is bevontak a kísérletekbe. Több fontos dolog derült ki. A különböző rizoktónia törzsek eltérő tüneteket okoztak az árpán. Volt olyan, mely elpusztította az árpa csíranövényeket, de ugyanakkor a német kutatócsoport által adott és addig használt *R. solani* AG-8 törzs nem károsította az árpát. Kissé gátolta a hajtás növekedését, de a hatás csak átmeneti volt.

Ettől kezdve mindig több rizoktónia törzssel fertőztek párhuzamosan, s mindegyikkel külön végezték el a vizsgálatokat. Mérték az antioxidánsok aktivitását, s érdekes eredményeket kaptak, melyeket az eredmények közzlése előtt nem kívánnak részletezni. Mutánsokat és több transzgenikus árpát is bevontak a fertőzéses tesztekbe, pl. NPR1 géncsendesített (a szalicilsav jelátviteli útvonal állt gátlás alatt) árpával dolgoztak, melyet a giesseni kutatók állítottak elő. Az eredmények arra utalnak, hogy a sejthalál és a szalicilsav által indukált folyamatok is fontos szerepet játszanak a rizoktóniás szártőkorhadás folyamán.



### **A kutatási téma további lehetséges irányai, a kutatási eredmények hasznosításának lehetőségei:**

A rizikotóna kutatás a kezdeti nehézségek leküzdése után ígéretes eredményeket hozott, de még kell dolgozni rajta, mielőtt közlésre kész anyag áll össze belőle. A *P. indicával* kapcsolatban egyelőre nem látszik reális esély a folytatásra. A *P. indica* gyakorlati alkalmazása a növényre gyakorolt kedvező hatásának megbízhatatlansága miatt nem javasolható.

### **A költségtervtől történt jelentősebb eltérések:**

Beruházást nem terveztek előre, de egy centrifuga meghibásodás miatt kénytelenek voltak vásárolni egy plate rotort a PCR lemezek lepörgetésére.

### **Köszönetnyilvánítás**

A pályázatban részt vevő munkatársak köszönetüket fejezik ki az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok támogatásáért.

### **Idézett irodalom**

- Fodor, J., Gullner, G., Ádám, A. L., Barna, B., Kömives, T., Király, Z. 1997. Local and systemic responses of antioxidants to tobacco mosaic virus infection and to salicylic acid in tobacco: role in systemic acquired resistance. *Plant Physiol.* 114, 1443–1451.
- Hückelhoven, 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 hydrogen peroxide but not with salicylic acid accumulation. *Plant Physiol.* 119, 1251–1260.
- Király, Z., Barna, B., Kecskés, A., Fodor, J. 2002. Down-regulation of antioxidative capacity in a transgenic tobacco which fails to develop acquired resistance to necrotization caused by TMV. *Free Rad. Res.* 36, 981–991.
- Malamy, J., Carr, J. P., Klessig, D. F., Raskin, I. 1990. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science* 250, 1002–1004.
- Pham, G.H., Singh, A., Malla, R., Kumari, M., Prasad, R., Sachdev, M., Rexer, K.H., Kost, G., Luis, P., Kaldorf, M., Buscot, F., Herrmann, S., Peskan, T., Oelmüller, R., Saxena, A.K.,

- Declerck, S., Mittag, M., Stabentheiner, E., Hehl, S., Varma, A. 2004. Interaction of *Piriformospora indica* with diverse microorganisms and plants. In Varma, A. & Abbot, L. & Werner, D. & Hampp, R. (eds.), *Plant Surface Microbiology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 237–264.
- Rodriguez, R.J., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., Kim, Y., Redman, R. S. 2008. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *The ISME Journal* 2, 404–416.
- Schäfer, P., Pfiffi, S., Voll, L. M., Zajic, D., Chandler, P. M., Waller, F., Scholz, U., Pons-Kühnemann, J., Sonnewald, S., Sonnewald, U., Kogel, K.-H. 2009a. Manipulation of plant innate immunity and gibberellin as factor of compatibility in the mutualistic association of barley roots with *Piriformospora indica*. *Plant J.* 59, 461–474.
- Schäfer, P., Pfiffi, S., Voll, L. M., Zajic, D., Chandler, P. M., Waller, F., Scholz, U., Pons-Kühnemann, J., Sonnewald, S., Sonnewald, U., Kogel, K.-H. 2009b. Phytohormones in plant root–*Piriformospora indica* mutualism. *Plant Signal Behav.* 4, 669–671.
- Stein, E., Molitor, A., Kogel, K.-H., Waller, F. 2008. Systemic resistance in *Arabidopsis* conferred by the mycorrhizal fungus *Piriformospora indica* requires jasmonic acid signaling and the cytoplasmic function of NPR1. *Plant Cell Physiol.* 49, 1747–1751.
- Vadassery, J., Tripathi, S., Prasad, R., Varma, A., Oelmüller, R. 2009. Monodehydroascorbate reductase 2 and dehydroascorbate reductase 5 are crucial for a mutualistic interaction between *Piriformospora indica* and *Arabidopsis*. *J. Plant Physiol.* 166, 1263–1274.
- Verma, S., Varma, A., Rexer, K.-H., Hassel, A., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Buetehorn, B., Franken, P. 1998. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia* 90, 896–903.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hückelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D., Franken, P., Kogel, K.-H. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 13386–13391.
- Ward, E. R., Uknes, S. J., Williams, S. C., Dincher, S. S., Wiederhold, D. L., Alexander, D. C., Ahl-Goy, P., Métraux, J.-P., Ryals, J. A. 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell* 3, 1085–1094.