

Symbiotische Kultivierungsmaßnahmen

Symposium zum nicht-chemischen
Pflanzenschutz im Gartenbau
28. und 29. Mai 2019, Berlin

Philipp Franken
Forschungsstelle für gartenbauliche Kulturpflanzen, Fachhochschule Erfurt
Friedrich-Schiller-Universität Jena

FH **FACHHOCHSCHULE**
ERFURT UNIVERSITY
OF APPLIED SCIENCES
Gartenbau



Forschungsstelle für gartenbauliche Kulturpflanzen

an der Fachhochschule Erfurt in Kooperation mit der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Projektförderung durch:



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

Freistaat
Thüringen 

Ministerium
für Wirtschaft, Wissenschaft
und Digitale Gesellschaft

4 Projekte:

Pflanzen-Mikroorganismen-Wechselwirkungen im nachhaltigen Anbau

Epigenetische Prozesse in der Pflanzenvermehrung

Molekulargenetische Grundlagen der Pflanzenzüchtung von gartenbaulichen Kulturen

Steuerung von Entwicklung und Wachstum in gartenbaulichen Kulturen

Symbiotische Kultivierungsmaßnahmen

Pflanzenschutz von gartenbaulichen Kulturpflanzen
unter Einsatz von mutualistischen Symbiosen
(Wurzel-besiedelnde pilzliche Endophyten)

Einleitung und Überblick

- Was können pilzliche Endophyten leisten?
- Wie können pilzliche Endophyten die Pflanze schützen?

Ergebnisse

- Antagonistische Aktivitäten von Dark Septate Endophytes

Neue Ansätze

- Stabilisierung der Mikrobiota
 - Bottom-up (erste Ergebnisse)
 - Top-down

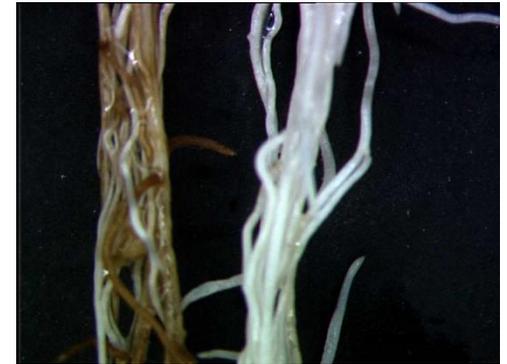
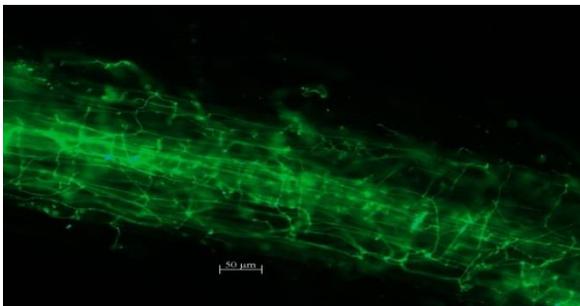
Wurzelbesiedelnde Pilze (Definitionen)



H. Baltruschat

Endophyten

- verursachen keine Krankheitssymptome
- zeigen keine bestimmten Strukturen
- Können die Leistung von Pflanzen positiv oder negativ beeinflussen
- Basidiomycota (**Sebacinales**)
 - *Serendipita indica*
- Ascomycota
 - **Dark Septate Endophytes**



Pathogene verursachen Symptome



Mykorrhizas sind durch die Ausbildung bestimmter Strukturen charakterisiert

Was können wurzelbesiedelnde Pilze leisten?

Bereitstellung von Nährstoffen, die der Pflanze nicht zur Verfügung stehen

Einflussnahme auf den Phytohormonhaushalt der Pflanze

Antagonistische Aktivitäten

Einflussnahme auf Resistenz und Toleranz der Pflanze

Positive Einwirkung auf physiko-chemische Eigenschaften des Bodens

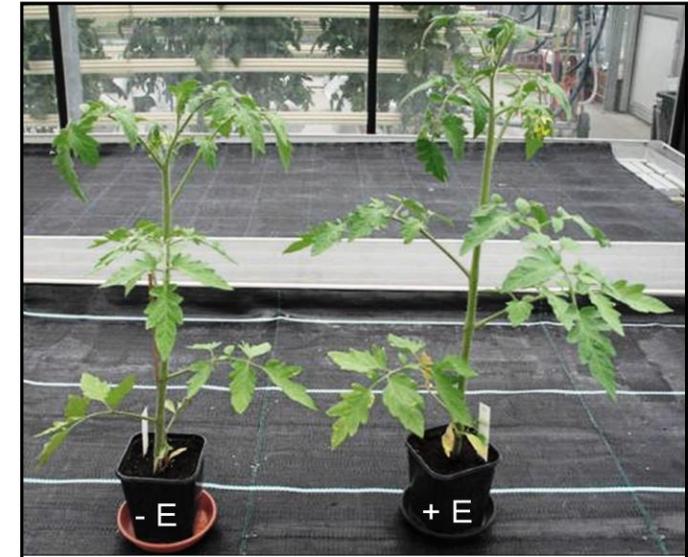


Arbuskuläre Mykorrhizapilze



Sebacinales
(Serendipita indica)

Pflanzenernährung
Pflanzengesundheit
Pflanzenentwicklung
Pflanzenqualität



Dark Septate Endophytes (DSEs)

Was können wurzelbesiedelnde Pilze leisten?

Bereitstellung von Nährstoffen, die der Pflanze nicht zur Verfügung stehen

Einflussnahme auf den Phytohormonhaushalt der Pflanze

Antagonistische Aktivitäten

Einflussnahme auf Resistenz und Toleranz der Pflanze

Positive Einwirkung auf physiko-chemische Eigenschaften des Bodens

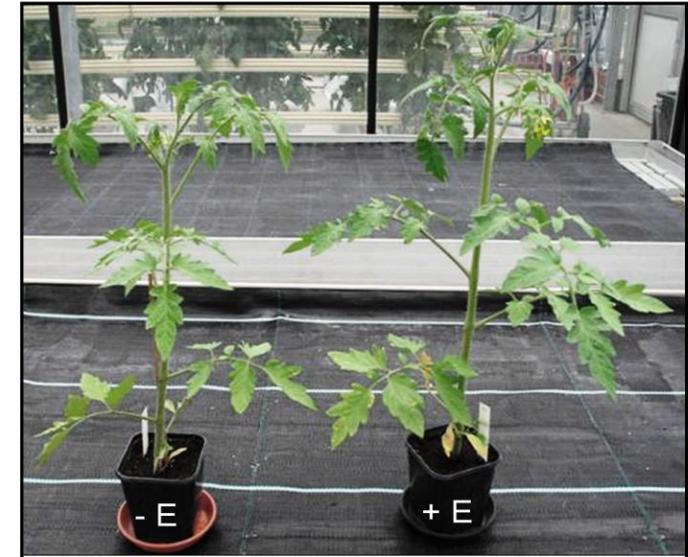


Arbuskuläre Mykorrhizapilze



Sebacinales
(*Serendipita indica*)

Pflanzenernährung
Pflanzengesundheit
Pflanzenentwicklung
Pflanzenqualität



Dark Septate Endophytes (DSEs)

Wie können wurzelbesiedelnde Pilze die Pflanzen vor biotischem Stress schützen?

Was wollen wir erreichen?

- Reduktion der Krankheitssymptome
- Verminderung der Ertragseinbußen
- Verminderung der Qualitätseinbußen

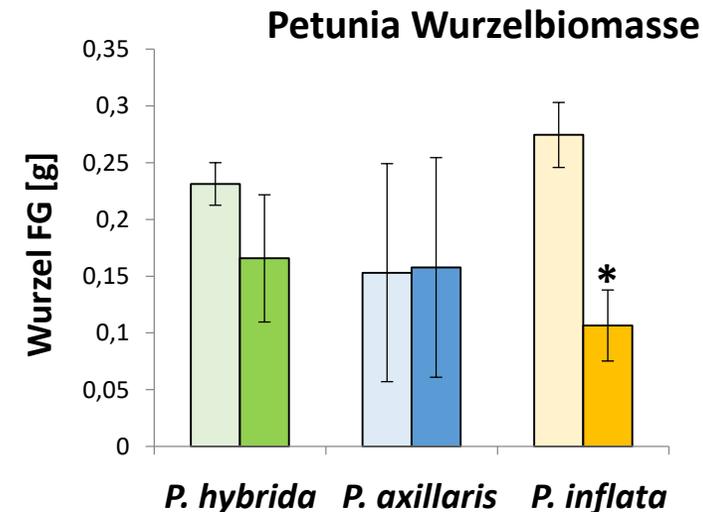
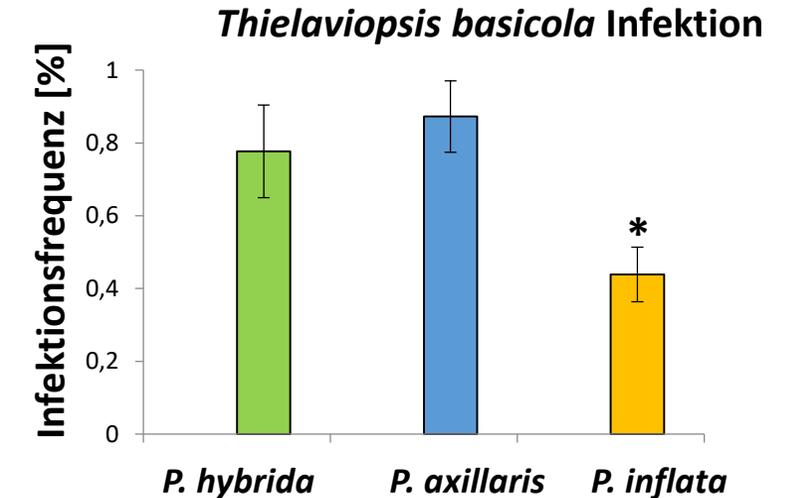


Wurzelfäule bei der Petunie

Wie können wir das erreichen?

- Direkte Effekte (antagonistische Aktivitäten)
- Indirekte Effekte
 - Erhöhung der Resistenz
 - Erhöhung der Toleranz

***Petunia inflata* ist resistenter, aber *Petunia hybrida* und *Petunia axillaris* sind toleranter gegen/für das Pathogen.**



Wie schützen wurzelbesiedelnde Pilze die Pflanzen gegen Pathogene?

	AM Pilze
Antagonismus	Nein
Resistenz in Wurzeln	Ja
Toleranz in Wurzeln	Nicht überprüfbar
Resistenz gegenüber Biotrophe im Spross	Nein
Toleranz gegenüber Biotrophe im Spross	Ja
Resistenz gegenüber Nekrotrophe im Spross	Ja
Toleranz gegenüber Nekrotrophe im Spross	Nicht überprüfbar

Wie schützen wurzelbesiedelnde Pilze die Pflanzen gegen Pathogene?

	AM Pilze	<i>S. indica</i>
Antagonismus	Nein	Nein
Resistenz in Wurzeln	Ja	Nein
Toleranz in Wurzeln	Nicht überprüfbar	Ja
Resistenz gegenüber Biotrophe im Spross	Nein	Ja
Toleranz gegenüber Biotrophe im Spross	Ja	Nicht überprüfbar
Resistenz gegenüber Nekrotrophe im Spross	Ja	Ja
Toleranz gegenüber Nekrotrophe im Spross	Nicht überprüfbar	Nicht überprüfbar

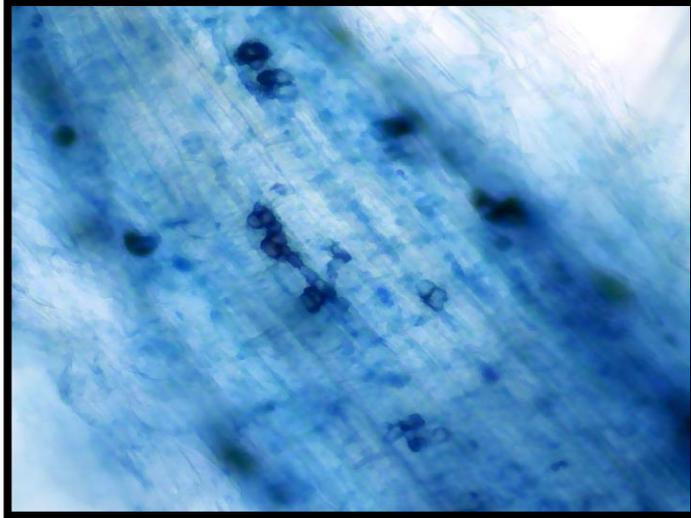
Wie schützen wurzelbesiedelnde Pilze die Pflanzen gegen Pathogene?

	AM Pilze	<i>S. indica</i>	DSEs
Antagonismus	Nein	Nein	Ja*
Resistenz in Wurzeln	Ja	Nein	Ja
Toleranz in Wurzeln	Nicht überprüfbar	Ja	Nicht überprüfbar
Resistenz gegenüber Biotrophe im Spross	Nein	Ja	Ja
Toleranz gegenüber Biotrophe im Spross	Ja	Nicht überprüfbar	Nicht überprüfbar
Resistenz gegenüber Nekrotrophe im Spross	Ja	Ja	?
Toleranz gegenüber Nekrotrophe im Spross	Nicht überprüfbar	Nicht überprüfbar	?

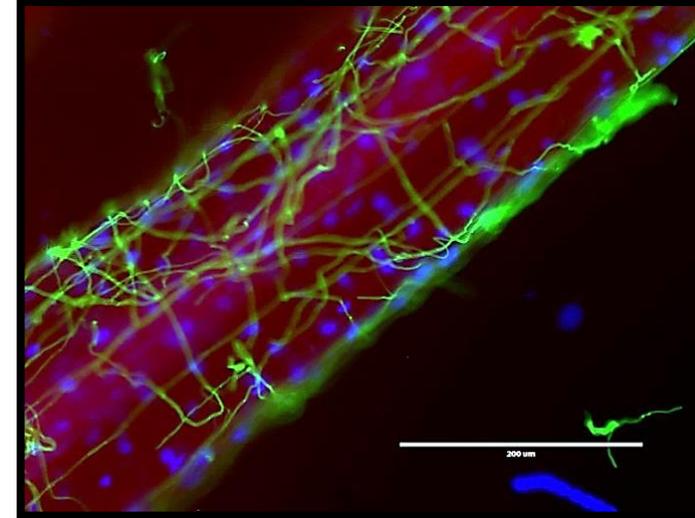
* Nur eine Studie

Dark Septate Endophytes in Tomato

Periconia macrospinososa



Cadophora sp.



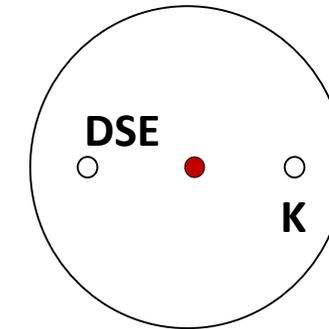
- isoliert aus der Rhizosphäre von Gräsern in der Großen Ungarischen Tiefebene
- Genome und Transkriptome stehen zur Verfügung (Knapp et al. 2018)

Zeigen die DSEs *in vitro* antagonistische Aktivitäten?

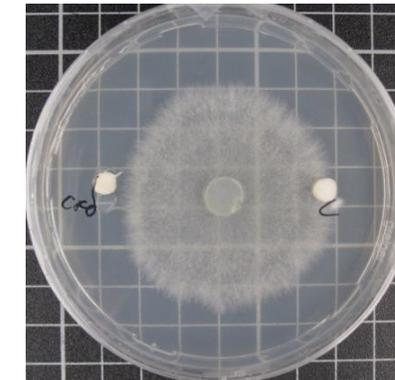
Antagonistische Aktivitäten gegen *Rhizoctonia solani*,
Pythium aphanidermatum und *Verticillium dahliae*



(Ähnliche Ergebnisse mit den beiden anderen Pathogenen)

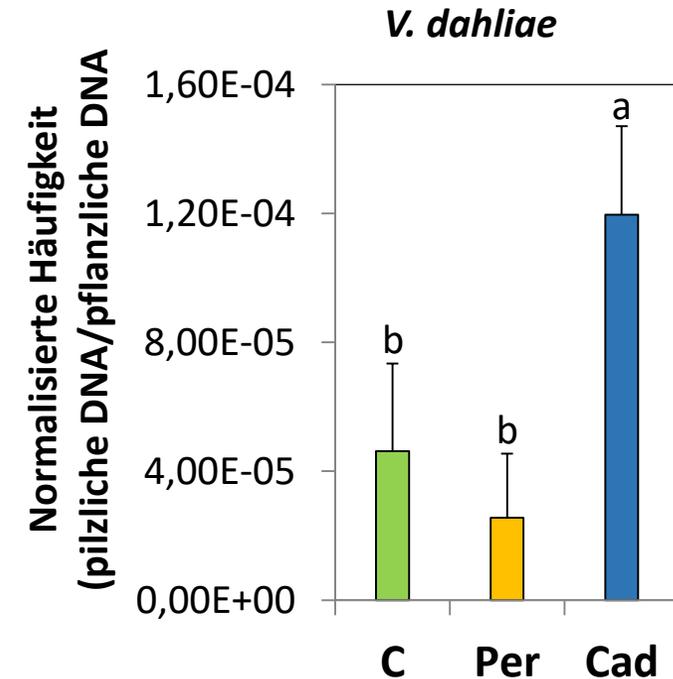
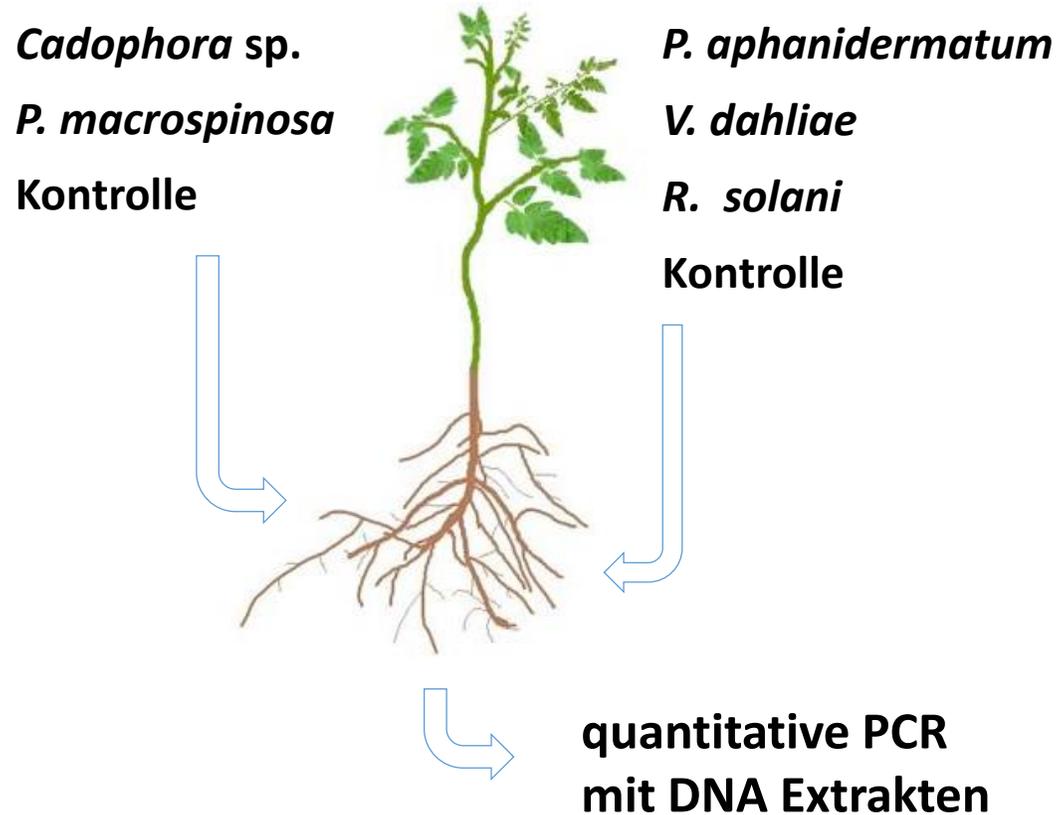


- Pathogen
- Filterpapier mit Exsudat der DSEs bzw. Kontrolle



Beide DSEs zeigen *in vitro* einen Antagonismus gegenüber den Pathogenen wahrscheinlich auf extrazelluläre Aktivitäten basierend.

Zeigen die DSEs *in planta* antagonistische Aktivitäten?

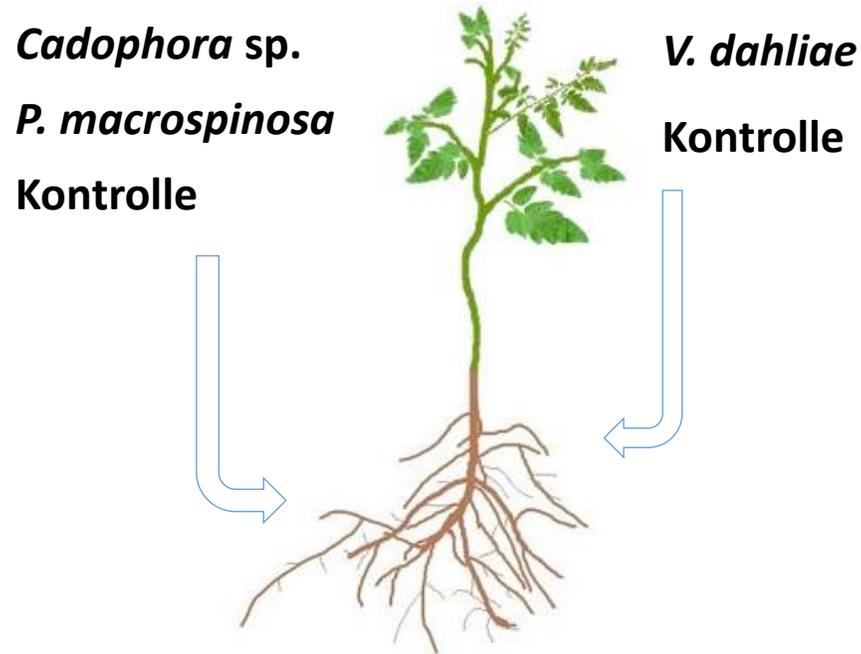


Ähnliche Ergebnisse mit den beiden anderen Pathogenen

**DSEs zeigen *in planta* keine antagonistischen Aktivitäten.
Cadophora sp. fördert sogar die Entwicklung der Pathogene.**

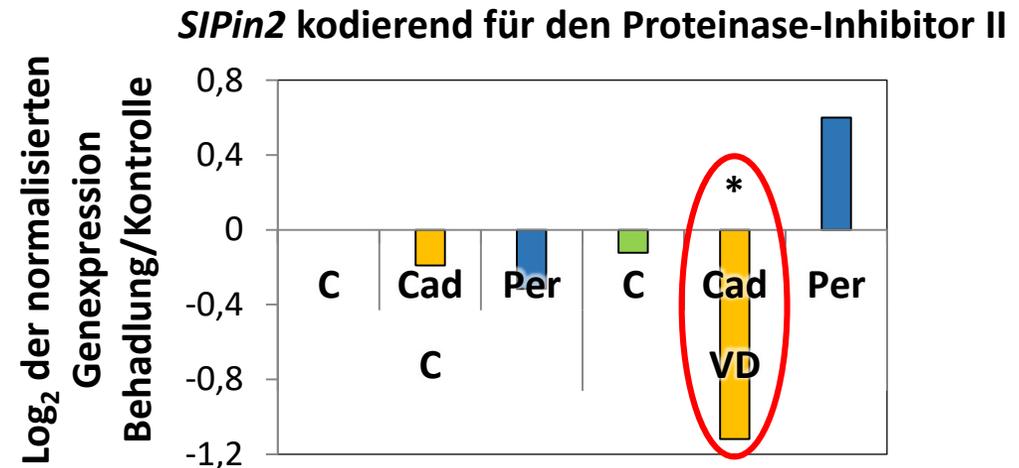
Warum sind die Wechselwirkungen zwischen DSEs in Pathogenen *in vitro* und *in planta* unterschiedlich?

Hypothese 1: DSEs unterdrücken die Verteidigungsreaktion der Pflanze.



quantitative RT-PCR
mit RNA Extrakten

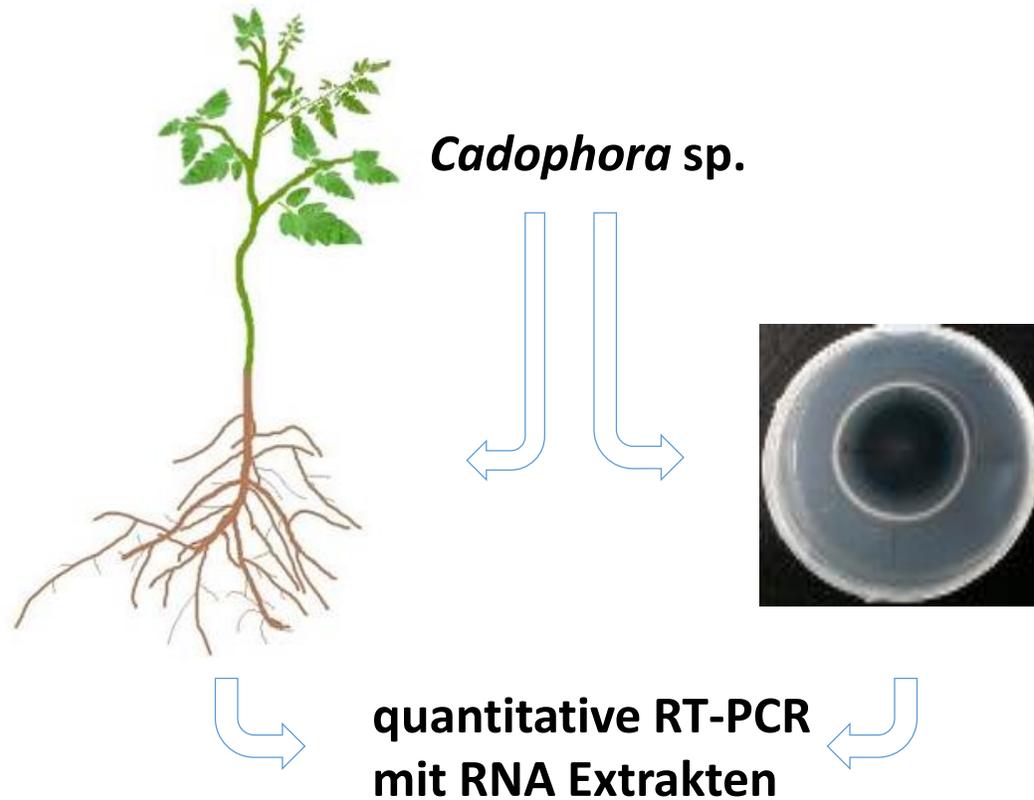
6 Gene aus Tomate, die in der Verteidigung gegen *V. dahliae* involviert sind



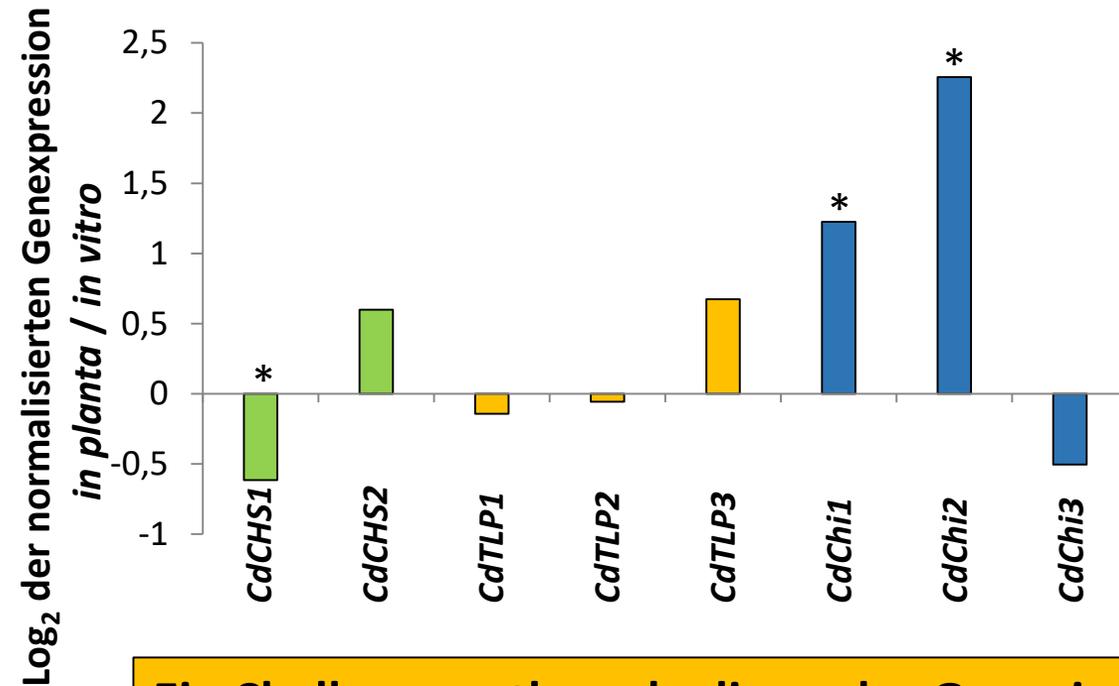
SIPin2 wird in pathogen-infizierten Pflanzen inhibiert, aber nur durch *Cadophora sp.*

Warum sind die Wechselwirkungen zwischen DSEs in Pathogenen *in vitro* und *in planta* unterschiedlich?

Hypothese 2: DSE antagonistische Aktivitäten werden *in planta* herunterreguliert.



Gene, die für Chalkonsynthasen, für Thaumatin-ähnliche Proteine und für Chitinasen kodieren



Ein Chalkonesynthase-kodierendes Gen wird *in planta* schwächer exprimiert als *in vitro*.

Strategien für biologischen Pflanzenschutz

Was können wir aus der Medizin lernen?

Was wollen wir erreichen?

- Reduktion der Krankheitssymptome
- Verminderung der Ertragseinbußen
- Verminderung der Qualitätseinbußen

Wie können wir das erreichen?

- Direkte Effekte (antagonistische Aktivitäten)
- Indirekte Effekte
 - Erhöhung der Resistenz
 - Erhöhung der Toleranz

Stabile Darmflora



- Aufnahme von Nährstoffen und Wasser aus der Nahrung
- **Stärkung des Immunsystems**



Ein gesunder Mensch
lebt von vielfältiger
Nahrung und ohne
Antibiotika.

der-gesunde-Darm.de

Strategien für biologischen Pflanzenschutz

Was können wir aus der Medizin lernen?

Was wollen wir erreichen?

- Reduktion der Krankheitssymptome
- Verminderung der Ertragseinbußen
- Verminderung der Qualitätseinbußen

Wie können wir das erreichen?

- Direkte Effekte (antagonistische Aktivitäten)
- Indirekte Effekte
 - Erhöhung der Resistenz
 - Erhöhung der Toleranz
- **Stabilisierung der Mikrobiota**

Stabile Mikrobiota



- Aufnahme von Nährstoffen und Wasser aus dem Boden
- **Stärkung des Immunsystems**



Ein gesunde Pflanze lebt von vielfältigen Nährstoffen und ohne Pestizide.

Wie stabilisieren wir die Mikrobiota der Pflanze?

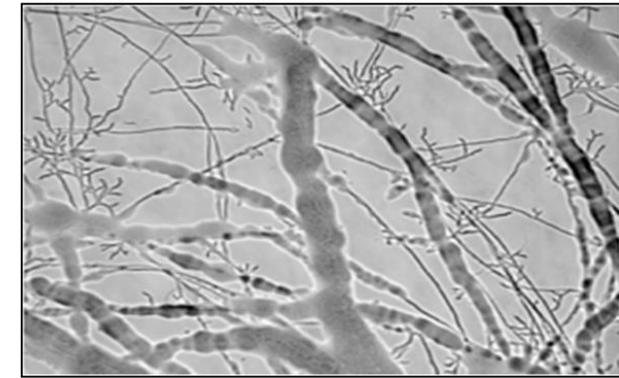
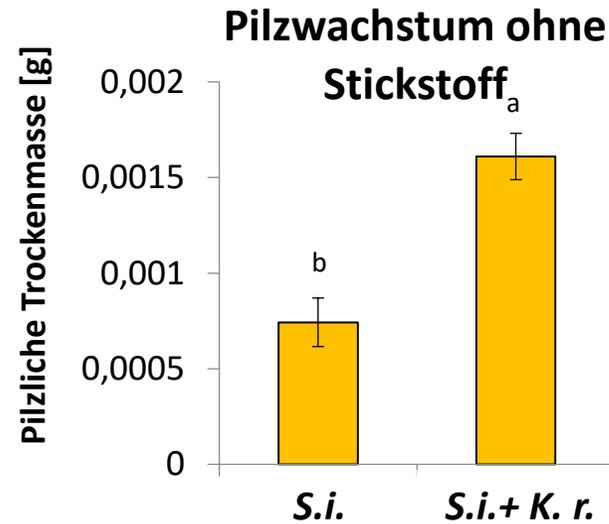
Bottom-up Ansatz

- zielgerichtet
- Hypothesen-getrieben

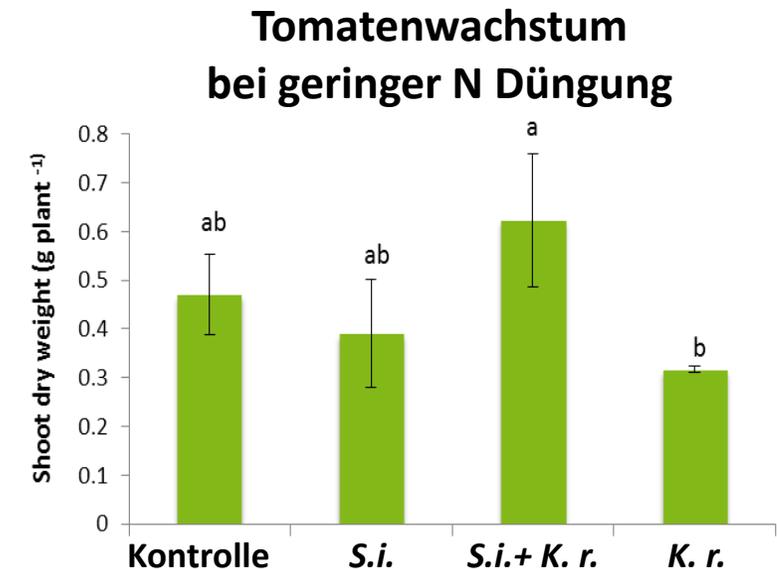
Serendipita indica kann kein Nitrat aufnehmen, sondern erhält Stickstoff von der Pflanze.



Die Kombination von *S. indica* mit einem N₂-fixierendem Bakterium verbessert die Leistung des Pilzes.



Kosakonia radicincitans Biofilmbildung auf *S. indica* Hyphen



Der Stickstoff-Fixierer ermöglicht pilzliches Wachstum ohne Stickstoff, die Kombination fördert am ehesten die Biomassebildung der Pflanze.

Wie stabilisieren wir die Mikrobiota der Pflanze?

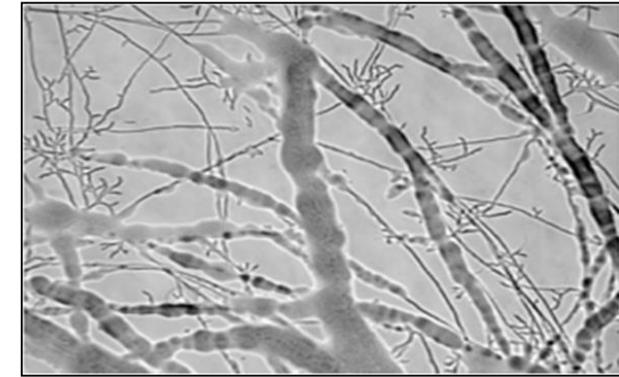
Bottom-up Ansatz

- zielgerichtet
- Hypothesen-getrieben

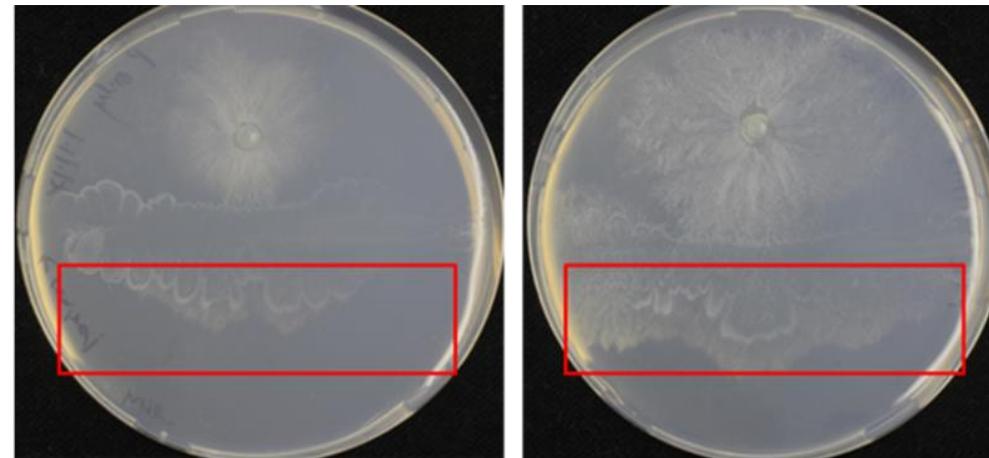
Die Leistung von pilzlichen Inokula wird durch mykophage Bakterien geschwächt.



Biofilme auf Hyphen schützen gegen Mykophagie.



Kosakonia radicincitans Biofilmbildung auf *S. indica* Hyphen



S. indica

S. Indica + K. radicincitans

Barriere mit *Collimonas fungivorans*

Bedeckt mit einem Biofilm wächst *S. indica* über eine Zone von mykophagen Bakterien hinaus.

Wie stabilisieren wir die Mikrobiota der Pflanze?

Top-down Ansatz

- nicht-zielgerichtet
- Hypothesen-generierend

**Kultivierungsunabhängig:
Netzwerkanalysen der Mikrobiome**

**Hypothesen zu Wechselwirkungen
zwischen Mikroorganismen**

**Auswahl stabilisierender Mikroorganismen
für die Formulierung neuartiger Inokula**

**Änderungen in der Mikrobiota-
Populationsstrukturen während der Einführung
ökologischer Verfahren im Gartenbau**

**Vergleich der Mikrobiota-Populationsstrukturen
von Ökotypen an natürlichen Standorten und
Kultursorten im Anbau**

**Kultivierungsabhängig:
Sammlung von Mikroorganismen**

Überprüfung der Hypothesen

Zusammenfassung

Welche Eigenschaften sollen Mikroorganismen für den biologischen Pflanzenschutz aufweisen?

- **Antagonistische Aktivitäten**
viele erfolgreiche Beispiele; Registrierung?
- **Erhöhung der Resistenz**
Eindämmung von Pathogenen; Spezifität?
- **Erhöhung der Toleranz**
keine Eindämmung von Pathogenen; positive Seiteneffekte
- **Stabilisierung der Mikrobiota**
muss sich noch beweisen

Danksagung



**Wael
Yakti**

Dark Septate Endophytes



**Soukayna
Hayek**

**Mykorrhiza-induzierte
Resistenz**



**Shubhangi
Sharma**

**Bakterien-Pilz
Interaktionen**



**Katharina
Kallus**

Resistenz/Toleranz



Erasmus+



*This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the **Marie Skłodowska-Curie grant** agreement No. 676480.*



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

Freistaat
Thüringen



Ministerium
für Infrastruktur
und Landwirtschaft

gefördert durch
Leibniz
Leibniz-
Wettbewerb


**LAND
BRANDENBURG**
Ministerium für Wissenschaft,
Forschung und Kultur

DFG Deutsche
Forschungsgemeinschaft