2811NA033

BÖLN

Bundesprogramm Ökologischer Landbau
und andere Formen nachhaltiger
Landwirtschaft

Charakterisierung und Nutzung von bakteriellen *Quorum Sensing* Molekülen für die Weiterentwicklung eines umweltgerechten Pflanzenbaus

Probleme, Ursachen und Empfehlungen für Praktiker

STECKBRIEF

Die Stärkung des pflanzlichen Immunsystems ist eine vielversprechende Alternative im Pflanzenschutz. Das Konzept umfasst eine Sensibilisierung der Pflanzen gegenüber Pathogenen, die einen hohen Ernteertrag auch unter Pathogendruck gewährleistet. Bakterielle *quorum sensing* (QS) Moleküle haben die Eigenschaft, Pflanzen zu sensibilisieren (priming) und stellen deshalb eine Ergänzung der Palette von verfügbaren Maßnahmen im integrierten Pflanzenschutz dar. Das Ziel des Vorhabens war es, Immunantwort und physiologische Veränderungen in wichtigen Kulturpflanzen, wie Gerste, Weizen, Tomaten und Luzerne nach einer Sensibilisierung mit QS Molekülen zu analysieren. Überraschenderweise wurde gefunden, dass QS Moleküle auch die Vermehrung des humanpathogenen Erregers *Salmonella enterica* auf diesen Pflanzen verhindert.

HINTERGRUND

Das Vorhaben hatte das Ziel, umweltgerechte Pflanzenschutzmaßnahmen zu erforschen und weiterzuentwickeln. Neueste Forschungsergebnisse zeigen, dass von Bakterien gebildete *quorum sensing* (QS) Moleküle eine positive Wirkung auf den Gesundheitsstatus von Kulturpflanzen haben. Ziel war es, die durch QS Moleküle ausgelösten Reaktionen in Pflanzen näher zu analysieren und auf ihr Anwendungspotential in der landwirtschaftlichen Praxis zu überprüfen. Ausgehend von ersten Ergebnissen zur Aktivität einzelner N-Acyl-Homoserinlaktone (AHLs) wurde eine systematische Überprüfung von Molekülaktivitäten der gesamten AHL Familie (C4- bis C14-AHLs) bezüglich ihrer krankheitsreduzierenden Wirkung und der Biomasseproduktion an wichtigen Kulturpflanzen durchgeführt. Eine breit angelegte Analyse des Struktur-Funktion-Zusammenhangs der AHLs sollte Klarheit darüber schaffen, welche Strukturmerkmale von AHLs die unterschiedlichen biologischen Wirkungen, wie Resistenzinduktion und Wachstumseffekte, auslösen. Dazu wurden, zunächst an Gerste, AHLs unterschiedlicher Kettenlänge und unterschiedlicher chemischer Modifikation in einem hydroponischen System mit folgender Fragestellung getestet: Welche Wirkung haben AHLs auf (i) Mehltauentwicklung, (ii) Biomasseproduktion und (iii) Wurzelmorphologie. Mit den effektivsten AHLs wurden Untersuchungen zur AHL-Wirkung in weiteren Pathosystemen teilw. in Mitscherlich Gefäßen (Gerste, Weizen, Tomaten) durchgeführt. In diesem Zusammenhang wurden auch verschiedene Bakterien auf die Produktion von AHLs getestet, um diese dann in die Versuchsplanung zu integrieren.

ERGEBNISSE

Um die Effekte der bakteriellen AHLs auf die Resistenz von Getreide und Arabidopsis zu untersuchen, wurden Pflanzenwurzeln mit den entsprechenden AHLs unterschiedlicher C-Kettenlänge (von C6-HSL bis oxo-C14-HSL) vorbehandelt und nachfolgend mit *Blumeria graminis f.sp. hordei* (Gerstenmehltaupilz) oder mit *Xanthomonas translucens*, dem Verursacher von Schwarzspelzigkeit (bakterielle Streifenkrankheit) im Weizen inokuliert. Nach Vorbehandlung mit dem langkettigen oxo-C14-HSL zeigte sich in beiden Fällen eine erhöhte Resistenz der Kulturpflanzen gegenüber den o.g. Pathogenen.

oxo-C14-HSL wird auch von nützlichen Rhizobakterien gebildet. Wir haben deshalb geprüft, ob die von dem Bodenbakterium *Sinorhizobium meliloti* produzierten AHLs einen Einfluss auf die Resistenz von Gerste und Tomaten haben. In Erde gewachsene Pflanzen wurden 3 Wochen lang *mit S. meliloti expR+* (wildtyp Stamm), *S. meliloti attM* (ein AHL-negativer Stamm) oder $MgCl_2$ als Kontrolle behandelt und anschließend mit Pathogenen inokuliert. Gerstenpflanzen wurden mit *Blumeria graminis f.sp. hordei* (Echter Mehltau) und Tomaten mit *Phytophthora infestans* (Abb. 1) infiziert. Das Wachstum der Pathogene und die verursachten Symptome wurden in den Tagen nach der Inokulation ermittelt. Es zeigte sich der erwünschte hohe Resistenzeffekt.

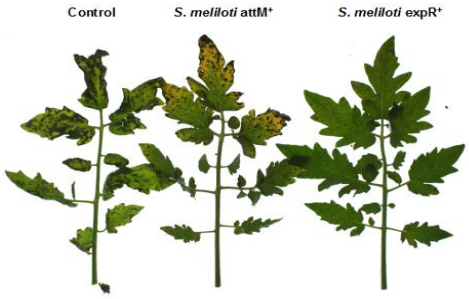
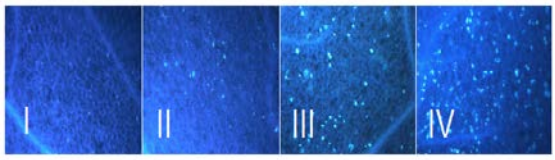


Abbildung 1: Resistenzinduktion durch AHL-produzierende nützliche Bakterien in Tomaten. Nur *S. meliloti* expR⁺ produziert wirksame AHLs.

Der positive Effekt von symbiontischen Bakterien auf Pflanzen basiert zumindest teilweise auf den AHL-Molekülen. Darüber hinaus können kommerziell-produzierte AHLs die Wirtspflanzen sensibilisieren, sodass eine effiziente Abwehrreaktion gegenüber einem breiten Spektrum von Krankheitserregern ermöglicht und das Pflanzenwachstum gefördert wird. Interessanterweise können Pflanzen zwischen verschiedenen Formen von AHL unterscheiden und damit andere Arten von phänotypischen Reaktionen zeigen. Die AHL-induzierte Resistenz (AIR) ist ein Phänomen, welches in den letzten zwei Jahrzehnten von mehreren unabhängigen Laboratorien beobachtet wurde. In AHL-behandelten Pflanzen kommt es zu einer Aktivierung von Mitogen-aktivierten Protein-Kinasen (MAPKs) und abwehrrelevanten Transkriptionsfaktoren sowie zu einer verstärkten Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies, phenolischen Verbindungen und Zellwandauflagerungen. Darüber hinaus basiert das AIR Phänomen auf einer systemischen Reaktion, die von einem Oxylipin- und Salicylsäure (SA)-abhängigen Signalweg reguliert wird. Anders als die antagonistische Wirkung der Pflanzenhormone Salicylsäure und Jasmonsäure in Pflanzen-Mikroben-Interaktionen ist der neu beschriebene Signalweg durch eine synergistische Wirkung von Oxylipinen und Salicylsäure reguliert. Die Wirkung des AHL-induzierten Signalwegs entfaltet sich insbesondere in der Induktion einer Stomata-Abwehrreaktion und der Verstärkung der Zellwände (Abb. 2)

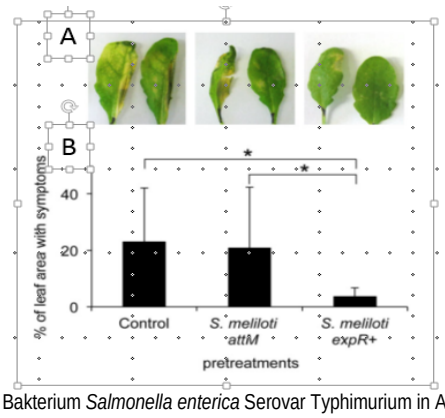
Abbildung 2: Zellwandverstärkungen nach Behandlung mit oxo-C14-



HSL. Auflagerungen von Callose (weiß) wurden 24 h nach der Inokulation mit dem pathogenen Bakterium *Pseudomonas syringae* mit Hilfe der Anilin Blue Färbung visualisiert und quantifiziert. Kategorien der *Zellwandverstärkung von schwach (I) bis sehr stark (IV).*

Lebensmittelvergiftungen, die in Zusammenhang mit dem Verzehr von mit *Salmonella* kontaminiertem frischem Obst oder Gemüse gebracht werden, deuten darauf hin, dass *Salmonellen* Tiere, aber auch Pflanzen befallen können. Eine Mehrheit früherer Berichte suggerierte eine extrazelluläre Lebensweise von Salmonellen auf Pflanzen. Neuere Ergebnisse zeigen, dass die Aktivierung des pflanzlichen Immunsystems eine positive Auswirkung auf die Resistenz gegenüber dem Humanpathogen *Salmonella enterica* serovar Thyphimurium hat. An Hand von Experimenten mit Arabidopsis Pflanzen konnten wir nun nachweisen, dass auch AIR gegenüber Humanpathogenen wirksam ist (Abb. 3).

Abbildung 3: Wirkung von oxo-C14-HSL auf pflanzenbefallende humanpathogene Salmonellen: Die Behandlung mit oxo-C14-HSL-produzierendem *S. meliloti* Stamm expR+ verbessert die Resistenz gegenüber dem humanpa-



thogenen Bakterium *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium in Arabidopsis. A Makroskopische Symptome verursacht durch *Salmonella* auf Blättern von Arabidopsis. B. Quantifizierung der Symptome von Salmonella auf Blättern von Arabidopsis mithilfe von Algorithmen beschrieben in Schikora et al., (2012). * p≤0,05 im *t*-Test.

FAZIT

Quorum sensing Substanzen zeigen eine ausgeprägte Wirkung gegenüber mikrobiellen Pathogenen. Im Pflanzenschutz ist dieses Potenzial noch nicht ausgeschöpft. Weitere Forschung ist notwendig, um die Wirkung der neuen Moleküle unter Praxisbedingungen zu testen.

Empfehlungen für die Praxis

Empfehlungen für die Praxis können sich noch nicht auf den Einsatz von *quorum sensing* Molekülen beziehen, weil diese für den Einsatz im Pflanzenschutz nicht zugelassen sind. Die Ergebnisse des Projektes weisen aber auch auf die Potenziale von *Biologicals* im Pflanzenschutz hin. Gerade nützliche Bakterien scheinen ein hohes noch nicht ausgeschöpftes Potential zu besitzen.

Projektbeteiligte

Projektleitung: Prof. Dr. Karl-Heinz Kogel, Institut für Phytopathologie, Justus-Liebig-Universität Gießen

Kontakt

Karl-Heinz Kogel, +49 641 9937490, karl-heinz.kogel@agrar.uni-giessen.de

Eine ausführliche Darstellung der Projektergebnisse finden Sie unter www.böln.de/forschungsmanagement/projektliste und www.orgprints.org, Projektnummer 2811NA033.

Impressum

Justus-Liebig-Universität Gießen
Karl-Heinz Kogel
Heinrich-Buff-Ring 26-32
35392 Gießen

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestags im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft