Zur Bedeutung der mikrobiellen Diversität für die Landwirtschaft

.....und darüber hinaus

Institut für Umweltbiotechnologie
Technische Universität Graz

TU Graz

Das Institut für Umweltbiotechnologie

Unser Institut

Institute of Environmental Biotechnology
Graz University of Technology

Leitung

Prof. Gabriele Berg

Stellv. Leitung: Henry Müller

Sekretariat: Monica Genser

Universität Assistent/in (mit DOC): Christina Müller, Tomislav Cernava

Senior Scientist: Christin Zachow

Technische Assistent/innen: Maria Schmuck, Monika Schneider-Trampitsch, Angelika Schaefer, Barbara Fetz

Universitäts-assistent/in: Birgit Wassermann, Julian Taffner

Post Doc: Alexander Mahnert, Daria Rybakova, Martina Köberl

PhD Student/in: Peter Kusstatscher, Eveline Adam, Manuela Rändler, Manuel Reisinger, Lisa Krug, Alessandro Bergna, Melanie Obermeier, Yeganeh Teimoori Boghsani, Pascal Mülner

Student/in: Michaela Eibler, Philipp Wagner, Katharina Markut, Andrea Friedrich, Stephanie Hollauf, Marika Haratani, Verena Kühmayer, Julia Pockrandt, Adrian Wolfgang, Franz Stocker, Katrin Ellmaier, Lisa-Maria Michelitsch, Daniel Ekhlas, Lisa Bindhofer, Olivia Laggner

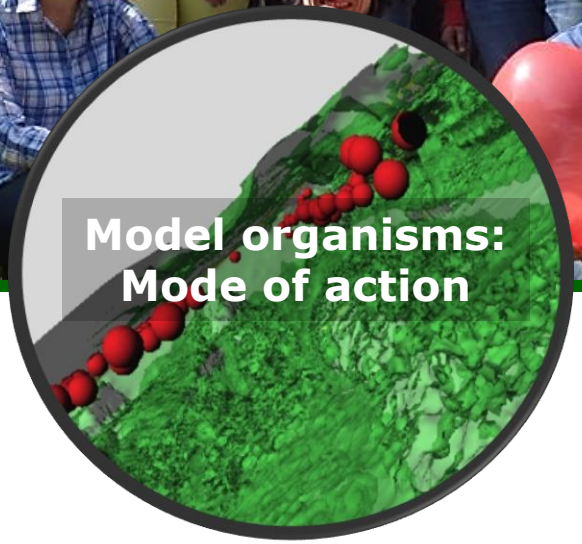
Projektmit-arbeiter: Sarajlic Dzenana, Maria Bernhart, Tobija Glawogger, Timothy Griffith Mark, Johanna Pscheider

Lehrling: Anna Heinzel, Isabella Wrolli

www.ubt.tugraz.at
Tel.: +43 316 873 8311
Email: monica.genser@tugraz.at

Institut für Umweltbiotechnologie
Petersgasse 12/1
8010 Graz

Unsere Forschung

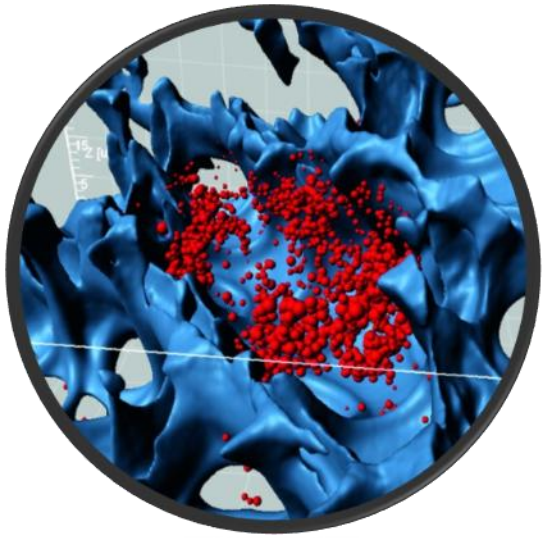


Publikationen: 317 **Zitationen: 15513** **h-index: 66**

Mission: Microbiome research and biocontrol

©Microbiome-based & Inspired by nature

Unsere Produkte



Salavida©

Peposan©

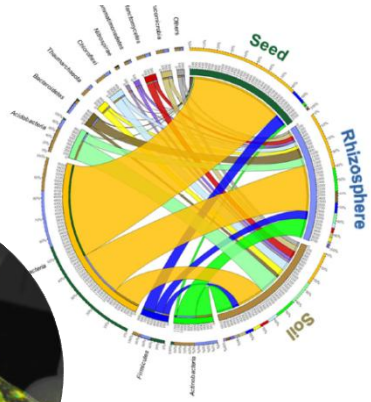
RhizoStar©

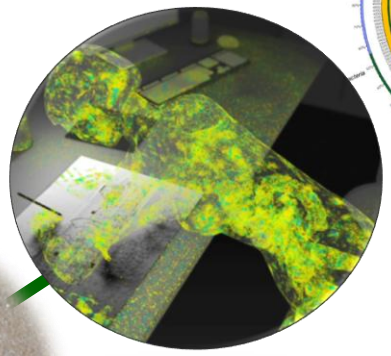
SPAs©

Unsere Forschungsprojekte

Forschungsprojekte (14) - Themen:

- **Next Generation Biologicals**
- **Microbiome Research (plants, algae, humans, indoor)**
- **Bioprospecting Metagenomes**
- **Formulation Technologies**





FWF

acib austrian centre of industrial biotechnology

AUSTRIAN DEVELOPMENT AGENCY

FFG

25 years biocontrol: Publication highlights

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Oct. 2001, p. 4742–4751 Vol. 67, No. 10
0099-2240/01/$04.00+0 DOI: 10.1128/AEM.67.10.4742–4751.2001
Copyright © 2001, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Bulk and Rhizosphere Soil Bacterial Communities Studied by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis: Plant-Dependent Enrichment and Seasonal Shifts Revealed

K. SMALLA,[1]* G. WIELAND,[1]† A. BUCHNER,[1] A. ZOCK,[1] J. PARZY,[1] S. KAISER,[1] N. ROSKOT,[2] H. HEUER,[1]‡ AND G. BERG[2]

Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, D-38104 Braunschweig,[1] and Department of Biological Sciences, Microbiology, University of Rostock, D-18051 Rostock,[2] Germany

Received 20 April 2001/Accepted 6 August 2001

MINIREVIEW

Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere

Gabriele Berg[1] & Kornelia Smalla[2]

[1]Graz University of Technology, Environmental Biotechnology, Graz, Austria; and [2]Julius Kühn-Institut – Federal Research Centre for Cultivated Plants (JKI), Braunschweig, Germany

OXFORD FEMS JOURNALS investing in science

FEMS Microbiology Ecology, 93, 2017, fix050
doi: 10.1093/femsec/fix050
Advance Access Publication Date: 19 April 2017
Minireview

Appl Microbiol Biotechnol
DOI 10.1007/s00253-009-2092-7

MINI-REVIEW

Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture

Gabriele Berg

MINIREVIEW

Plant microbial diversity is suggested as the key to future biocontrol and health trends

microbial biotechnology Open Access

Beyond borders: investigating microbiome interactivity and diversity for advanced biocontrol technologies

Gabriele Berg, Institute of Environmental Biotechnology, Austrian Centre ria.

doi:10.1111/j.1462-2920.2005.00891.x

connection), the gut microbiome (food–human connection) and the indoor microbiome (plant–inhabitant connection). First, the rhizosphere is one well-investigated example; the root–soil interface is influenced by the plant metabolism via root exudates (Philippot *et al.*, 2013). After assessing many experimental data and a lengthy discus-

Environmental Microbiology (2005) 7(11), 1673–1685

Minireview

The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria

frontiers in Microbiology published: 25 N doi: 10.3389/fmi

Cross-Kingdom Similarities in Microbiome Ecology and Biocontrol of Pathogens

Gabriele Berg[1], Robert Krause[2] and Rodrigo Mendes[3]*

[1] Institute of Environmental Biotechnology, Graz University of Technology and ACIB Austrian Centre of Industrial Biotechnology, Graz, Austria, [2] Department of Internal Medicine, Medical University of Graz, Graz, Austria, [3] Laboratory of Environmental Microbiology, Embrapa Environment, Jaguariuna, Brazil

Keywords: microbiome, biocontrol agent, rhizosphere, pathogens, ecological theories

"Imagination is more important than knowledge."
-Albert Einstein

The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*

NATURE REVIEWS | MICROBIOLOGY

Robert P. Ryan, Sebastien Monchy‡, Massimiliano Cardinale§, Safiyh Taghavi‡, Lisa Crossman||, Matthew B. Avison¶, Gabriele Berg§, Daniel van der Lelie‡ and J. Maxwell Dow**

25 years biocontrol: Dissemination

Ein Team auf den Spuren von bio technologischen Innovationen

Christin Zachow (32), Senior Scientist

Tomislav Cernava (28), Doktorand

STEIERMARK | 17

Krankenhaus braucht gute Bakterien

Grazer Forschung könnte Hygiene auf Intensivstationen revolutionieren.

GRAZ. Unter dem Reizwort „Superkeime" verbreiten sie Angst:

Milliarden von **BAKTERIEN** auf jeder Pflanze

Pflanzenassoziierte Mikroorganismen gelten inzwischen als starke Alternative zu genmanipulierten Pflanzen. Die RICHTIGE BALANCE **an Bakterien schützt Pflanzen gegen Stress.** TEXT: VERONIKA SCHMIDT

Dienstag, 25. Juni 2013 — GRAZ EXTRA — Seite 17

Grazer Forscher mit weltweit einzigartiger Studie in einer sterilen Intensivstation

Kampf der Bakterien in Spitälern

Wesentlich mehr Bakterien als erwartet fanden Grazer Forscher in einer weltweit einmaligen Studie in einer Intensivstation – darunter sind viele „gute". Dieser Befund lässt sich auch auf andere Krankenhausbereiche umlegen.

Der Kampf Gut gegen Böse ist so alt wie die Menschheit – und spiegelt sich auch in der Miniaturwelt der Mikroorganismen wider, wie eine aktuelle Studie (TU-Graz in Kooperation mit Med-Uni-Graz) belegt. Studienleiterin Gabriele Berg (TU): „Wir haben die Mikroorganismen einer Intensivstation untersucht und sind auf eine unerwartet große Vielfalt mikrobieller ‚Mitbewohner' gestoßen."

Falsche Sterilität

Berg beruhigt: „Wer sofort an gefährliche Krankheitserreger denkt, irrt. Es gibt eine hohe Anzahl von Nützlingen." Die nehmen den Schädlingen Platz und Nahrung und halten sie so in Schach. Deshalb fordert Berg ein Umdenken bei den Hygienestandards in Spitälern. Das Forschungsergebnis lässt sich zwar nicht 1:1, aber tendenziell auch auf andere Spitalsbereiche umlegen. Berg: „Wir müssen die Nützlinge fördern, brauchen ein neues Verständnis von Sterilität!" Gerald Richter

Foto: Christof Eisenhuber

Eine brandneue Studie belegt: In hoch steriler Krankenhausumgebung gibt es viel mehr Bakterien als angenommen.

„Es gibt selbst in sterilster Umgebung Bakterien. Die sind aber nicht automatisch gefährlich.

Gabriele Berg, Forscherin an der Technik-Uni in Graz

Foto: Steirischer Fotografie

kein Gift im Essen mehr

TOP. Grazer Forscher arbeiten an einer Revolution in der Landwirtschaft, durch die die Folgen des Klimawandels weltweit gebremst werden können.

Von Daniel Windisch
daniel.windisch@grazer.at

Biotechnology (acib) in Graz, ist es tatsächlich so. Die Devise: Pflanzenschutz komplett ohne Chemie! Seit 2011 arbeitet sie gemeinsam mit **Gabriele Berg** vom Institut für Umweltbiotechnologie der TU Graz an dieser revolutionären Entwicklung für den Agrarsektor.

Erfolgreicher Einsatz

Die Methode der Grazer Forscher, die mit Unternehmen aus Österreich, Deutschland und Russland von Bakterien geforscht: „In den meisten Ländern gibt es große Forschungsanstrengungen. Das Potenzial wird weltweit gesehen."

Gesunde Samen

Und so funktioniert's im Detail: Als „biologische Bodyguards" für Nutzpflanzen wie Mais, Raps, Tomate, Hirse oder Zuckerrübe kommen Bakterien zum Einsatz, die zusammen mit der Pflanzensaat am Acker ausgebracht wer-

Kurz gefragt ...

MEDIENDIENST.COM

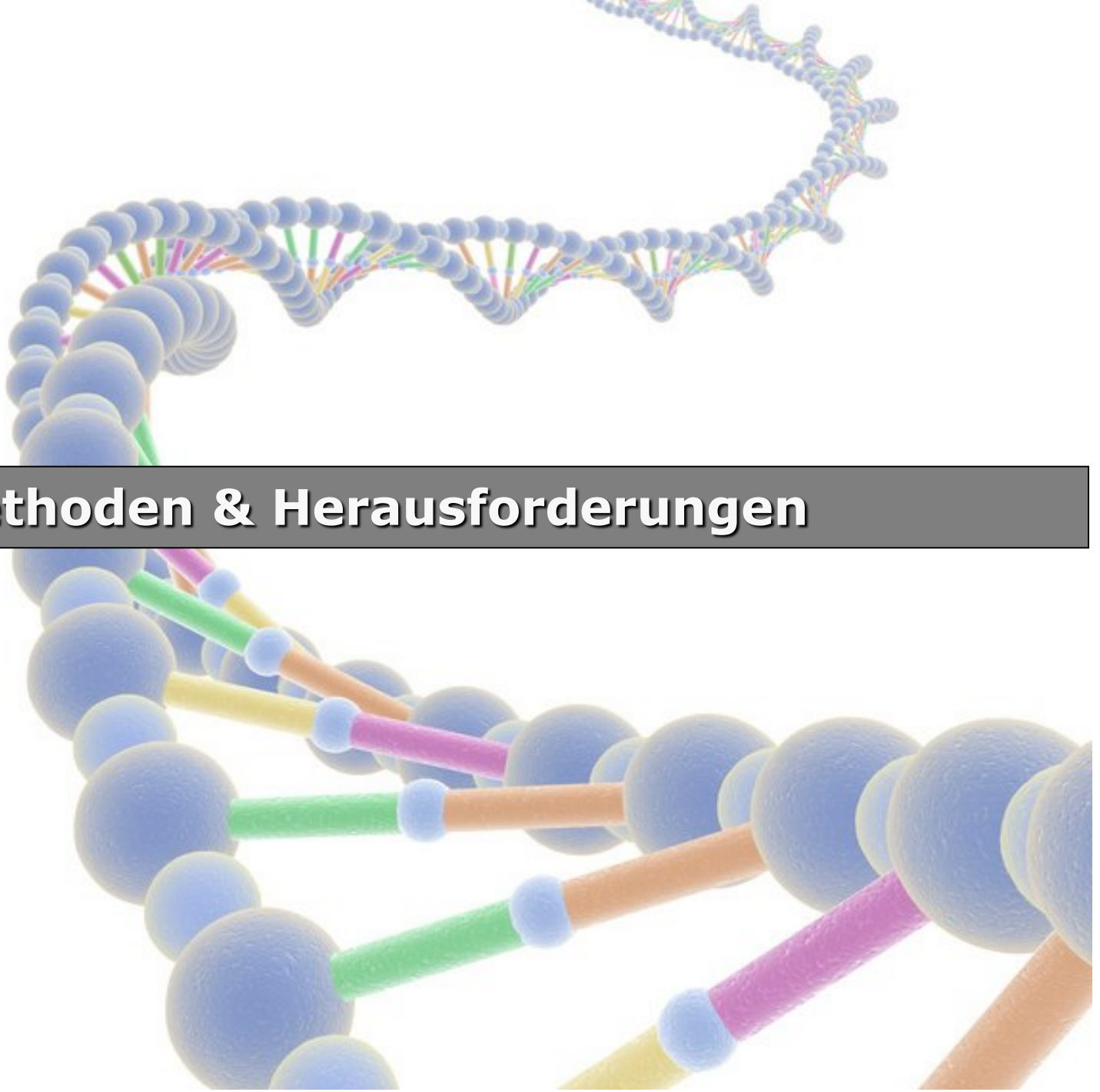
... Gabriele Berg

1 Was ist das Ziel Ihres Forschungsprojekts?

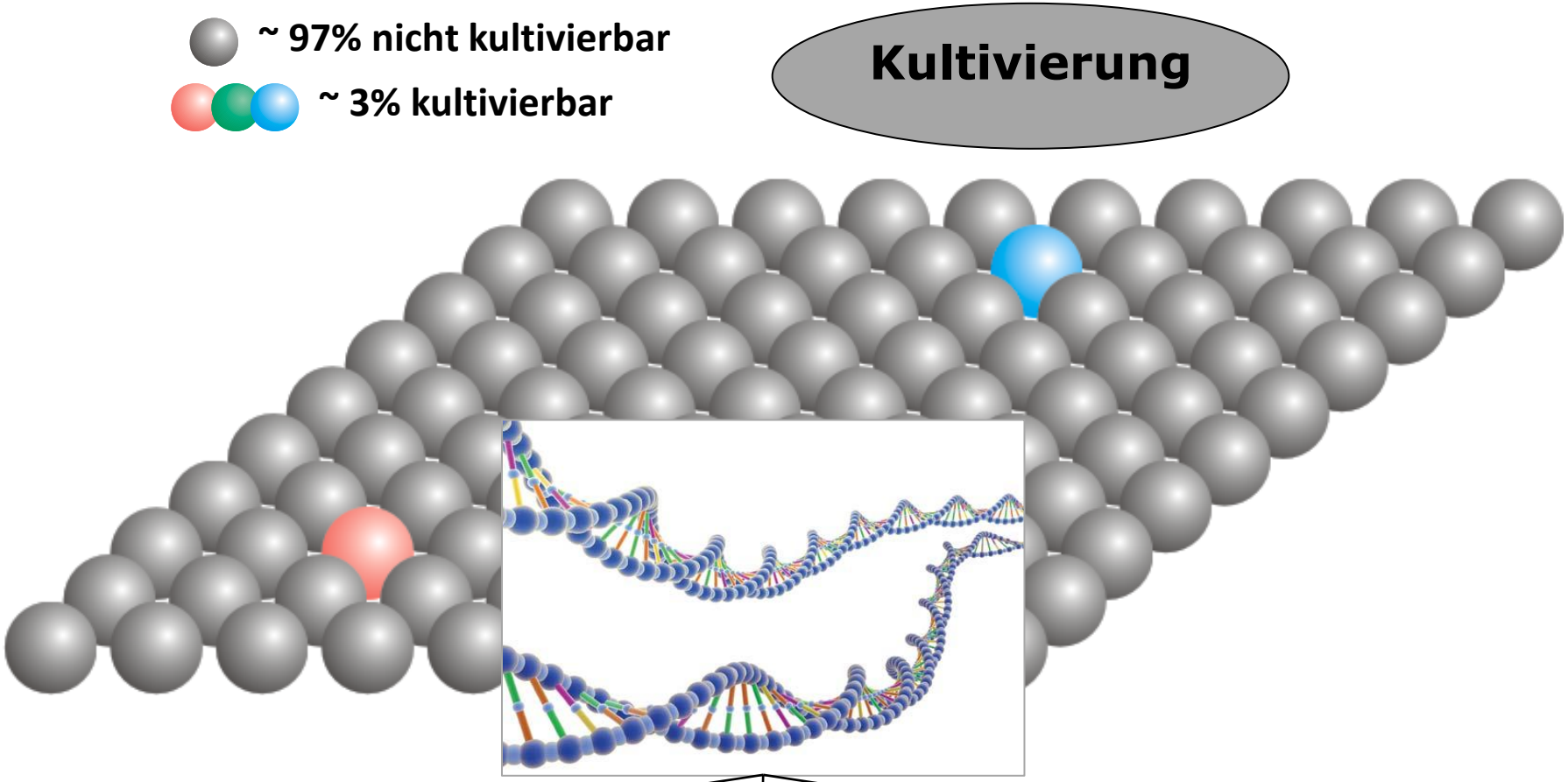
Berg: Das Ziel ist eine umweltfreundliche und nachhaltige Landwirtschaft. Wir wollen den Einsatz von Pestiziden reduzieren.

Umweltbiotechnologie.

Methoden & Herausforderungen



Methodischer Fortschritt: Mikrobiomforschung



Molekulare Fingerprints

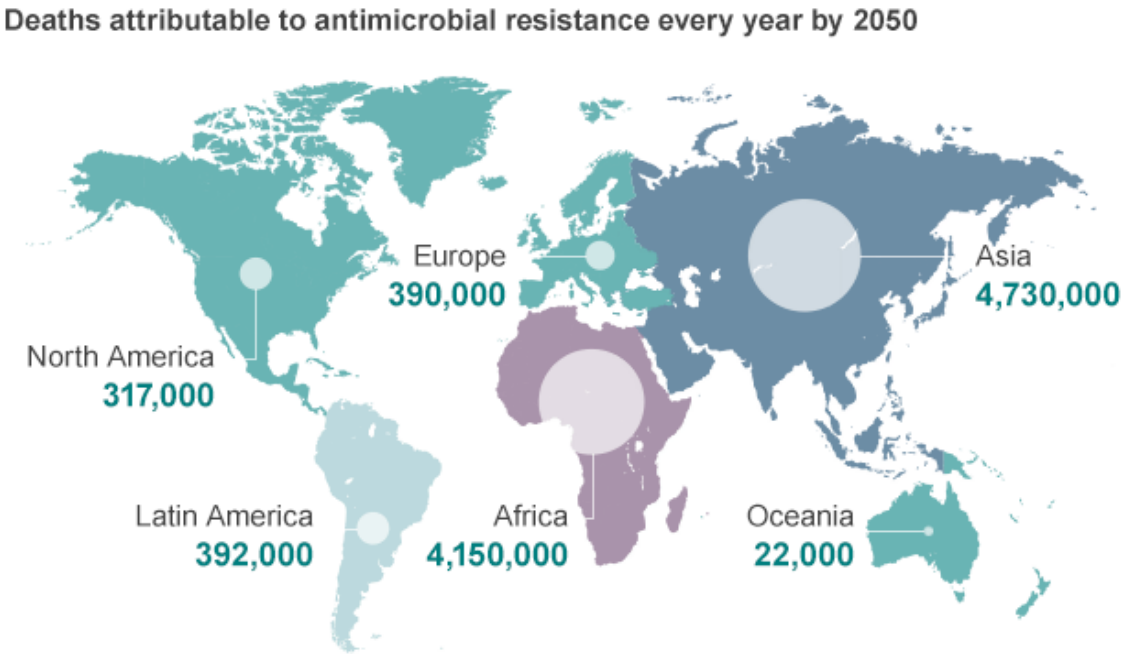
Amplikon-analyse

Metagenom-analyse

Zunahme nicht-kontrollierbarer Krankheiten

- ✓ **Neue Erreger**
- ✓ **Zunehmende Resistenzen gegen Pestizide**
- ✓ **Pestizigrückstände**
- ✓ **Nicht-Zielorganismen Effekte**

Zunahme nicht-kontrollierbarer Krankheiten



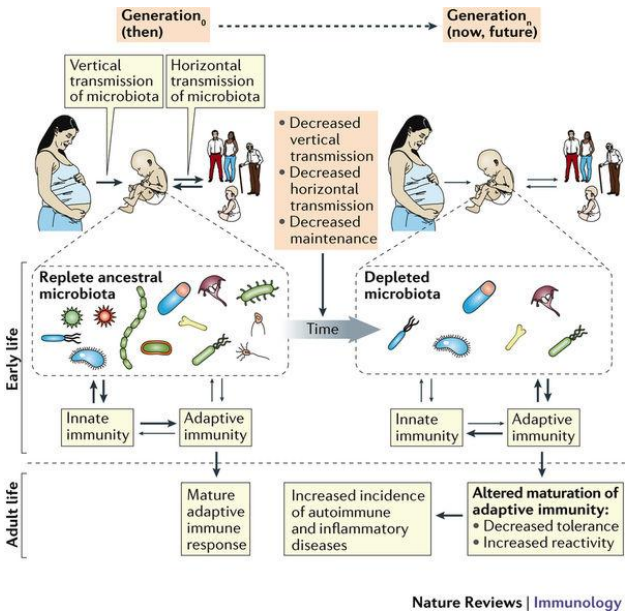
Source: Review on Antimicrobial Resistance 2014

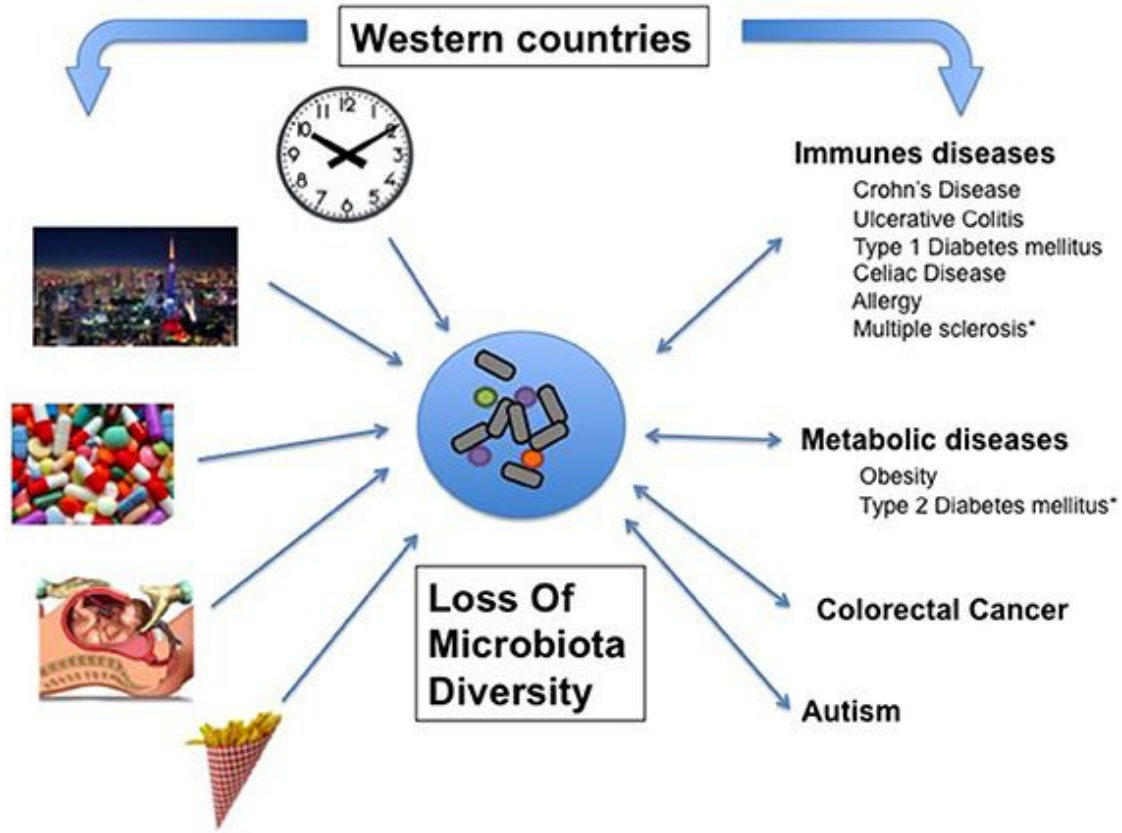
World Health Organization

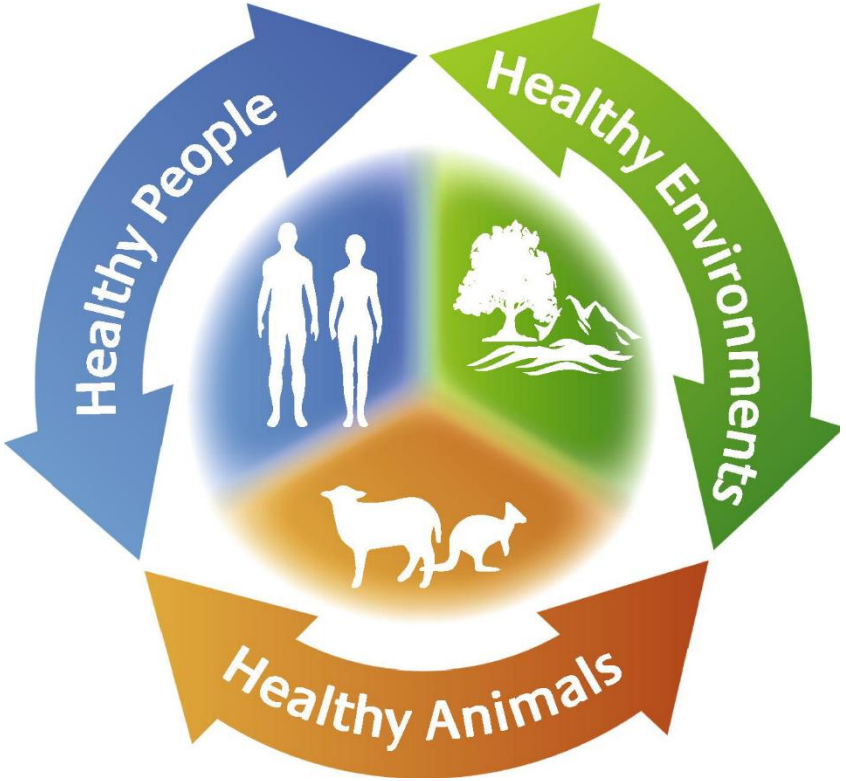
- ✓ **Zunehmende Resistenzen gegen Antibiotika**
- ✓ **Zunehmende Zahl chronischer Krankeiten**

„Missing microbes“ und unsere Gesundheit

The theory of disappearing microbiota and the epidemics of chronic diseases by Martin Blaser (2017)



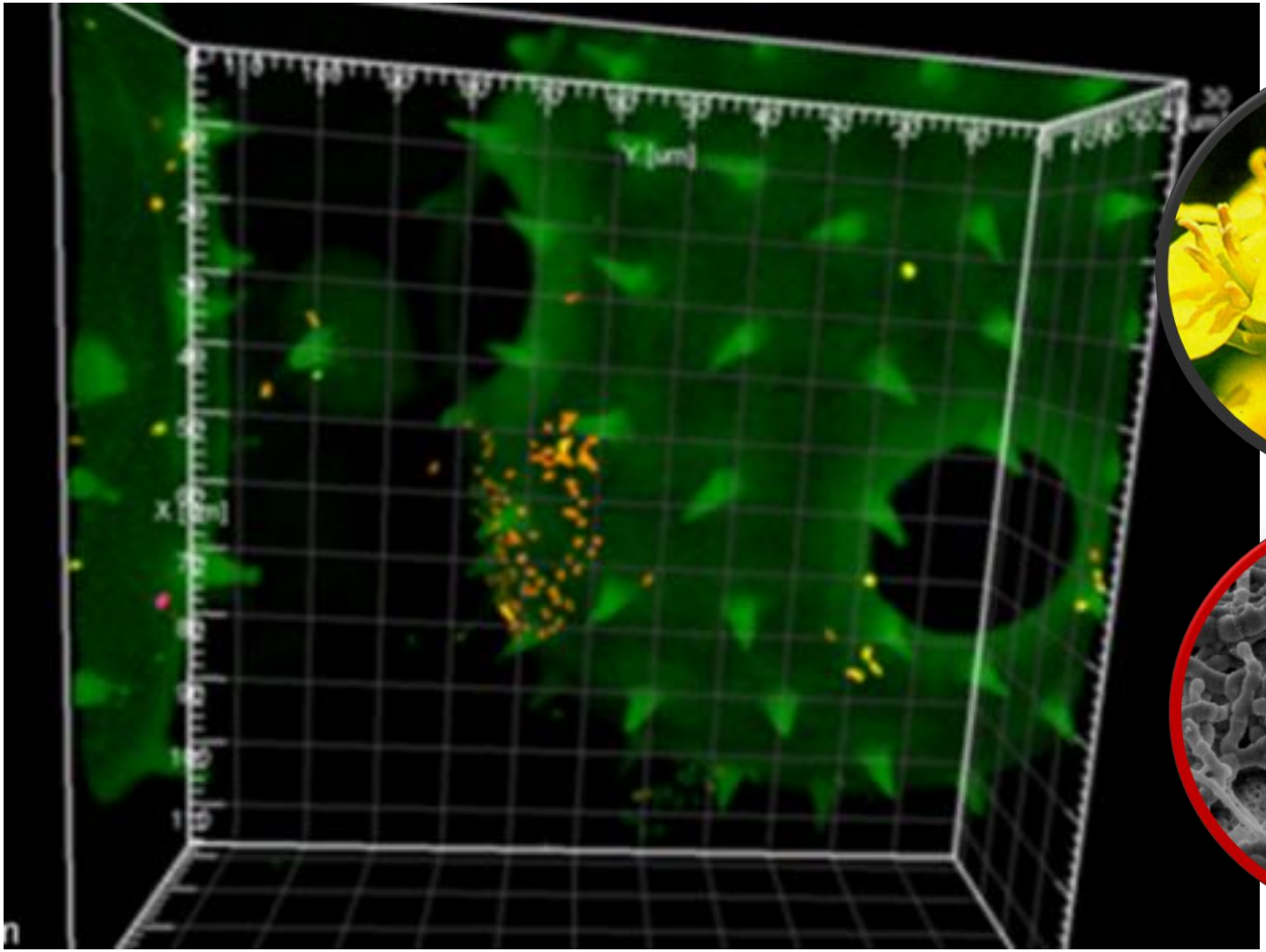


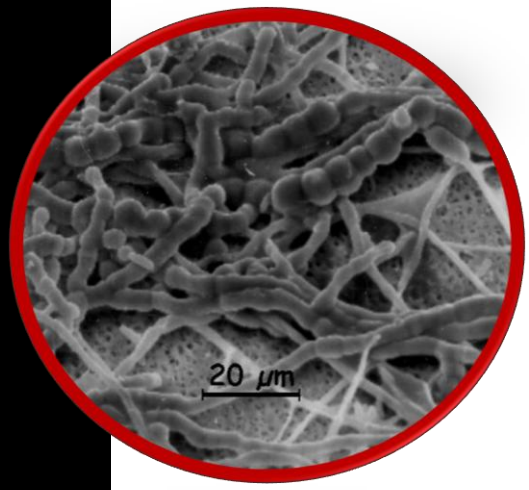


Welche Rolle spielt die mikrobielle Diversität?

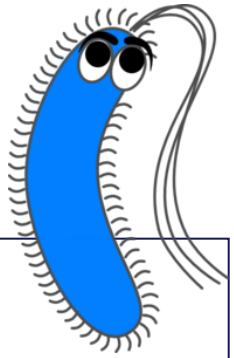
I. Welche Bedeutung hat Diversität für die Pflanzengesundheit?
II. Beeinflusst die Züchtung die mikrobielle Diversität?
III. Welche Rolle spielt die Form der Bewirtschaftung?
IV. Wie ist der Einfluss auf die Gesundheit allgemein?
V. Wie ist die Diversität in den Böden der Steiermark?

I. Welche Bedeutung hat Diversität für die Pflanzengesundheit?





Bekämpfung Bodenbürtiger Pathogene



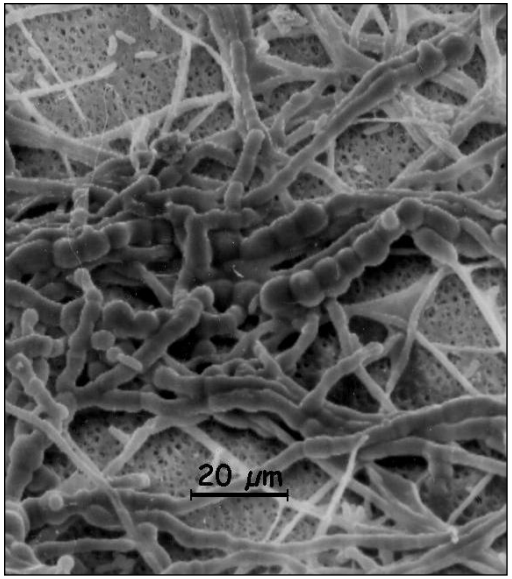
<u>Das Verticillium-Projekt (EU)</u>

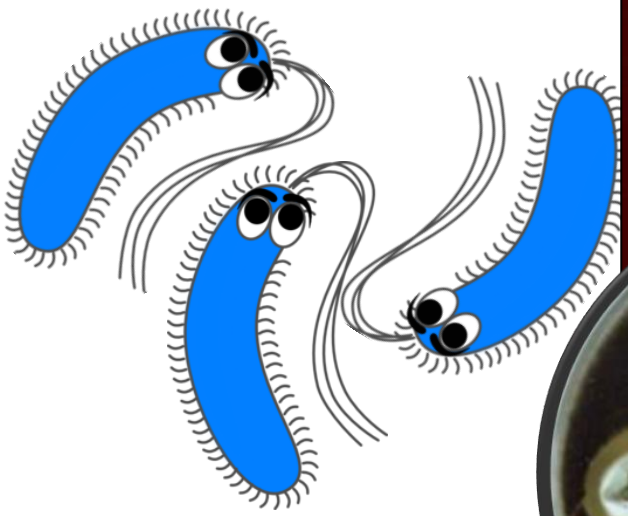
Daria Rybakova, Maria Schmuck

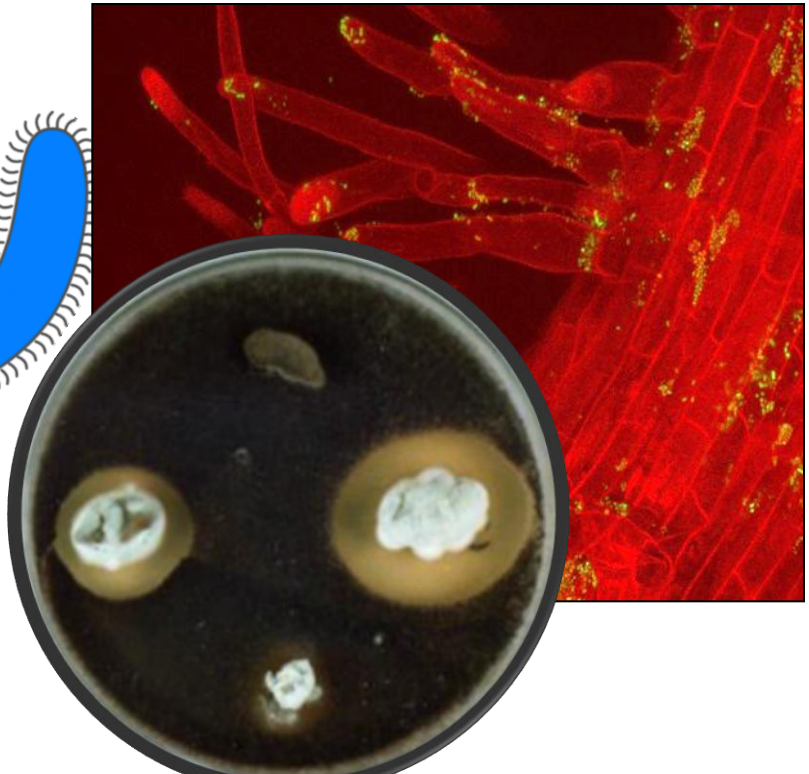
E-nema GmbH

Das EU Konsortium BIOCOMES

Verticillium-Welke – die Krankheit







➢ **Biologische Lösungen?**

Verticillium-Welke – Antagonisten

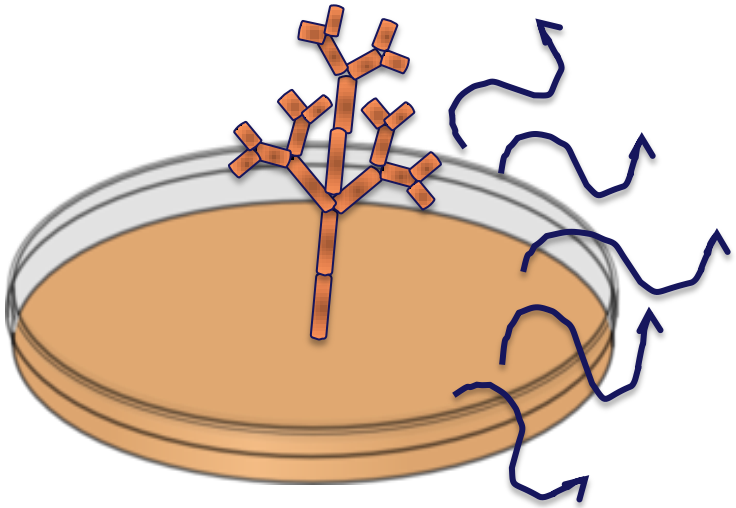
***Paenibacillus polymyxa* Sb3-1 und *Verticillium longisporum* ELV 43 und ihr Austausch über flüchtige Sunstanzen:**

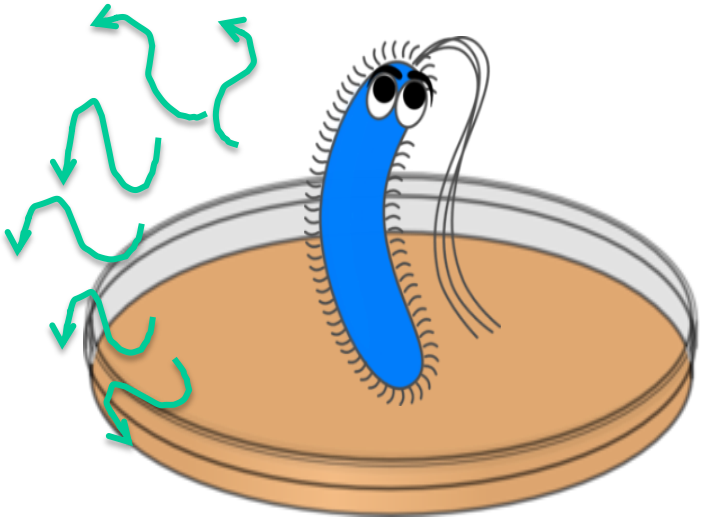
Verticillium

- **Wachstumsreduktion**

Paenibacillus

- **Wachstum**

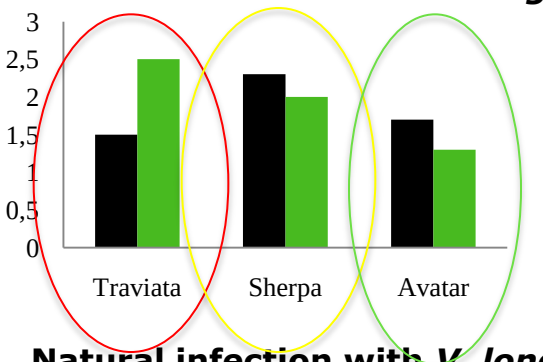




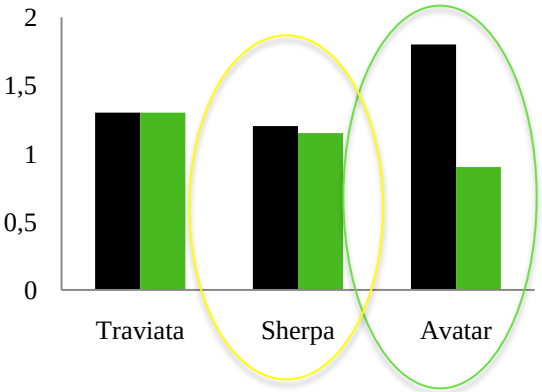
[Rybakova *et al*. Front Plant Sci. 2017]

Der Biokontrolleffekt war Kultivar-spezifisch

Artificial infection with *V. longisporum*



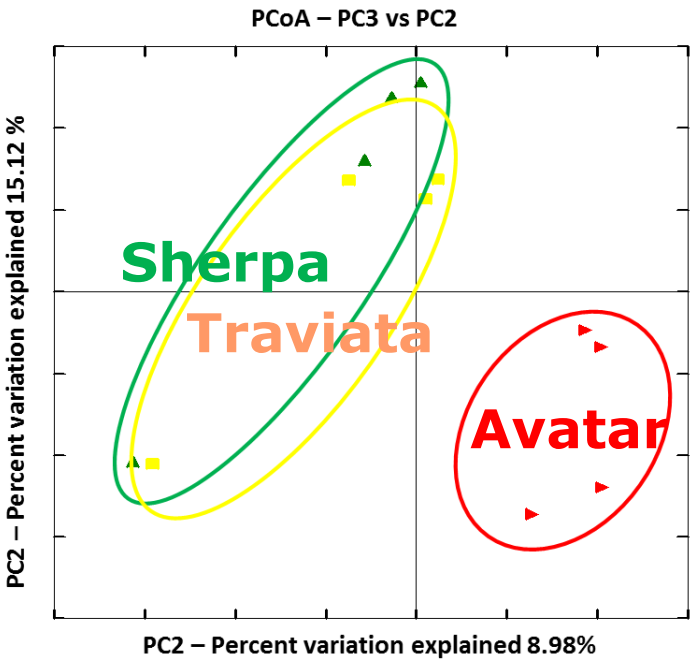
Natural infection with *V. longisporum*

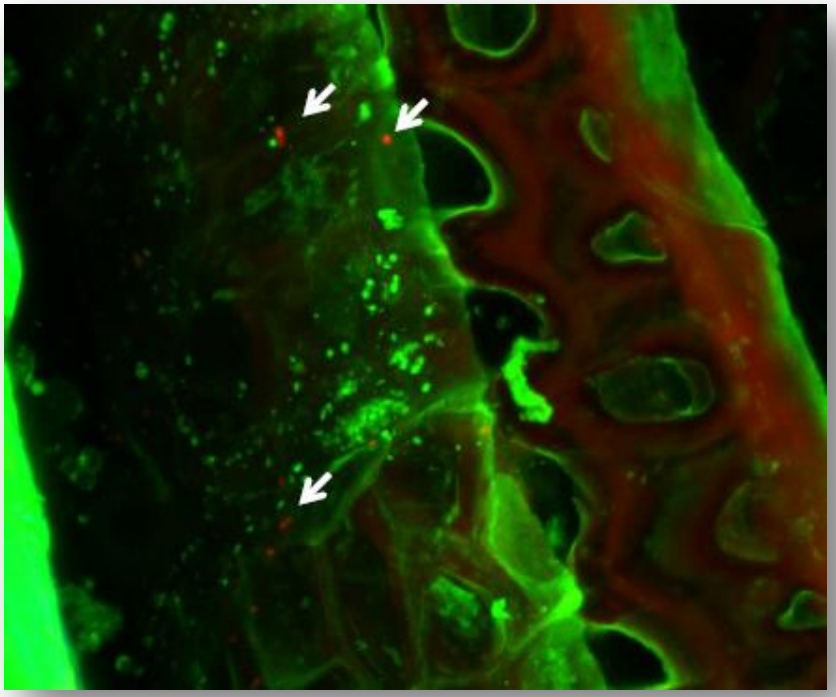


- **Kontrolle (Unbehandelt)**
- **+ *P. polymyxa* Sb3-1**

- **Der Krankheitsbefall steigt in Traviata**
- **Keine Unterschiede in Sherpa**
- **Krankheitskontrolle in Avatar**

Das Samenmikrobiom war Kultivar-spezifisch

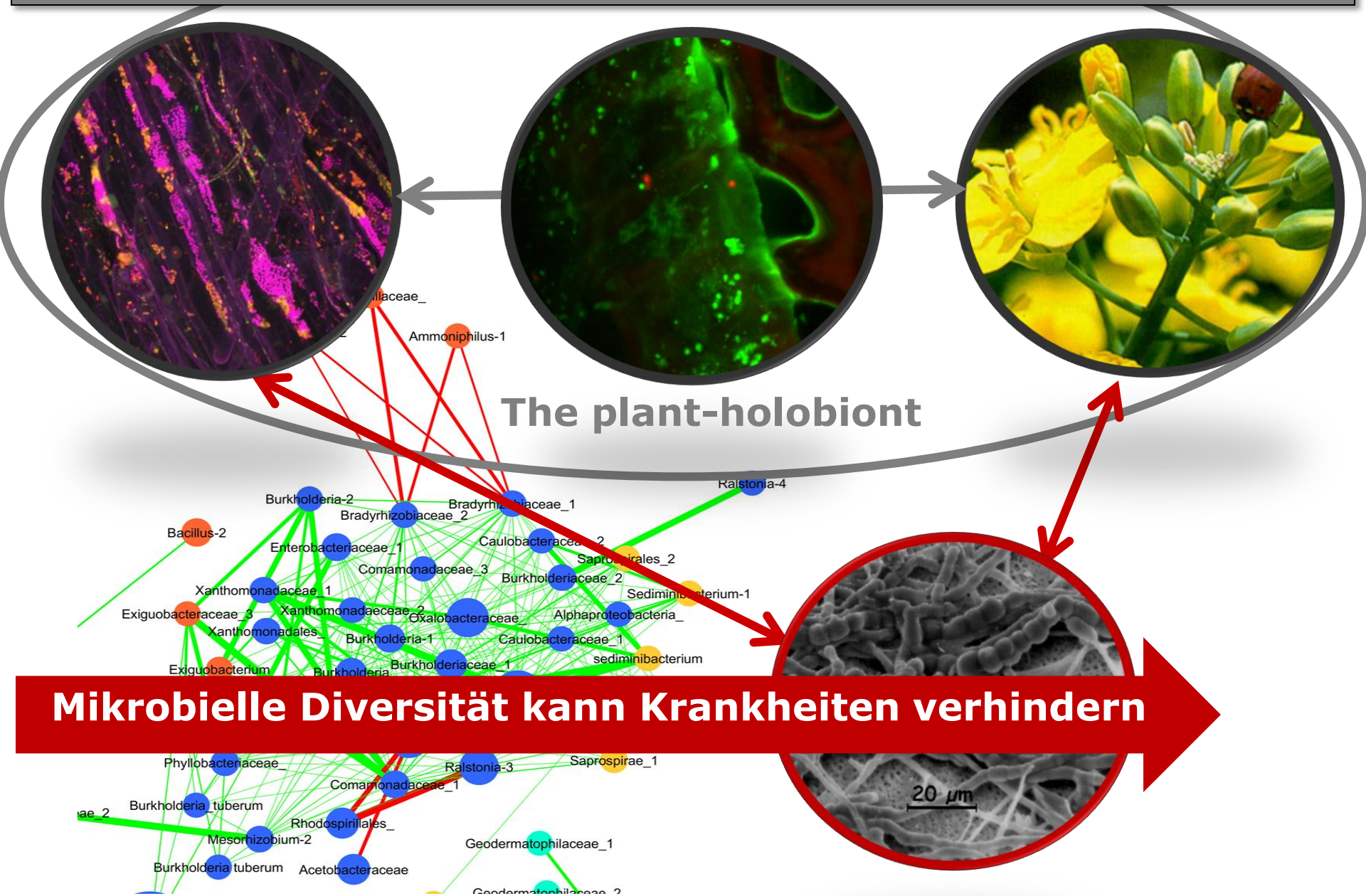




<u>Das Avatar Samenmikrobiom war einzigartig:</u>

- **Niedrige Diversität**
- **Niedriger Anteil von nützlichen Arten**

SCHLUSSDOLGERUNG I

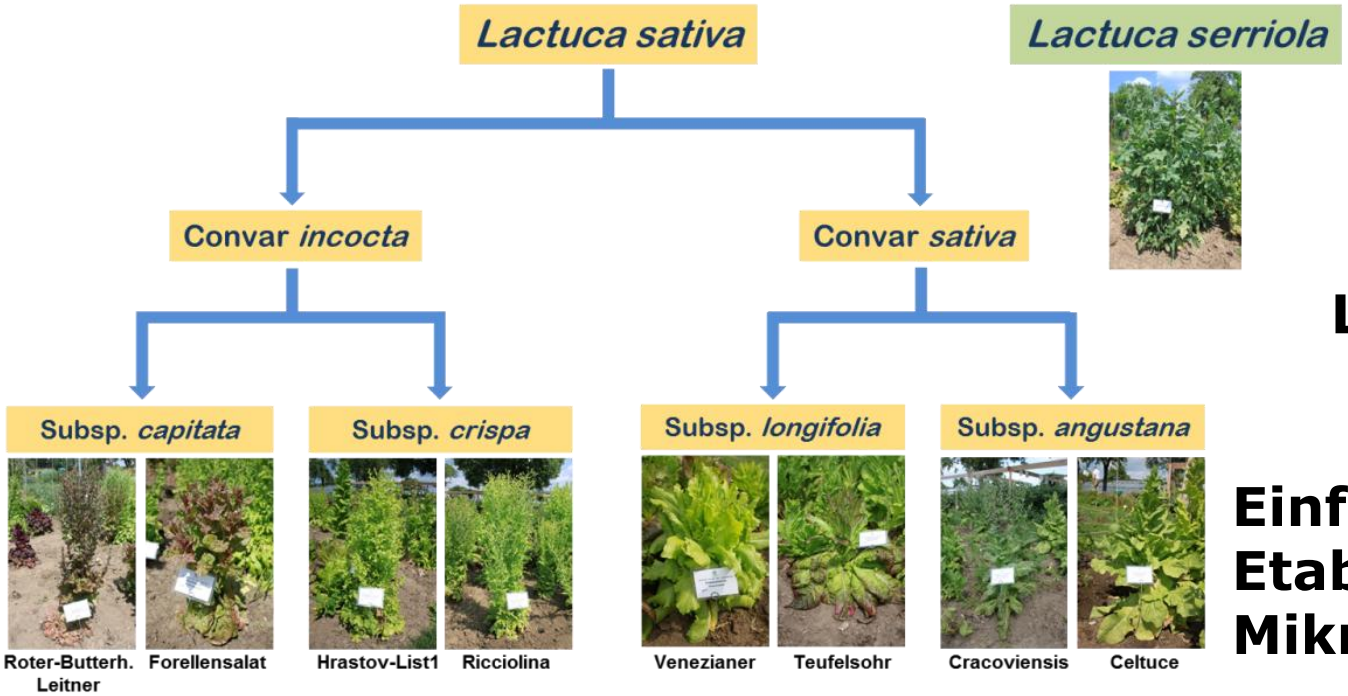


Bestätigung für mediterrane Olivenproduktion

II. Beeinflusst die Züchtung die mikrobielle Diversität?

<u>The Lettuce project (EU)</u>
Armin Erlacher, Massimiliano Cardinale
Martin Grube (KFU Graz)
Rita Grosch (IGZ Großbeeren)

2. Mikroorganismen am und im Salat



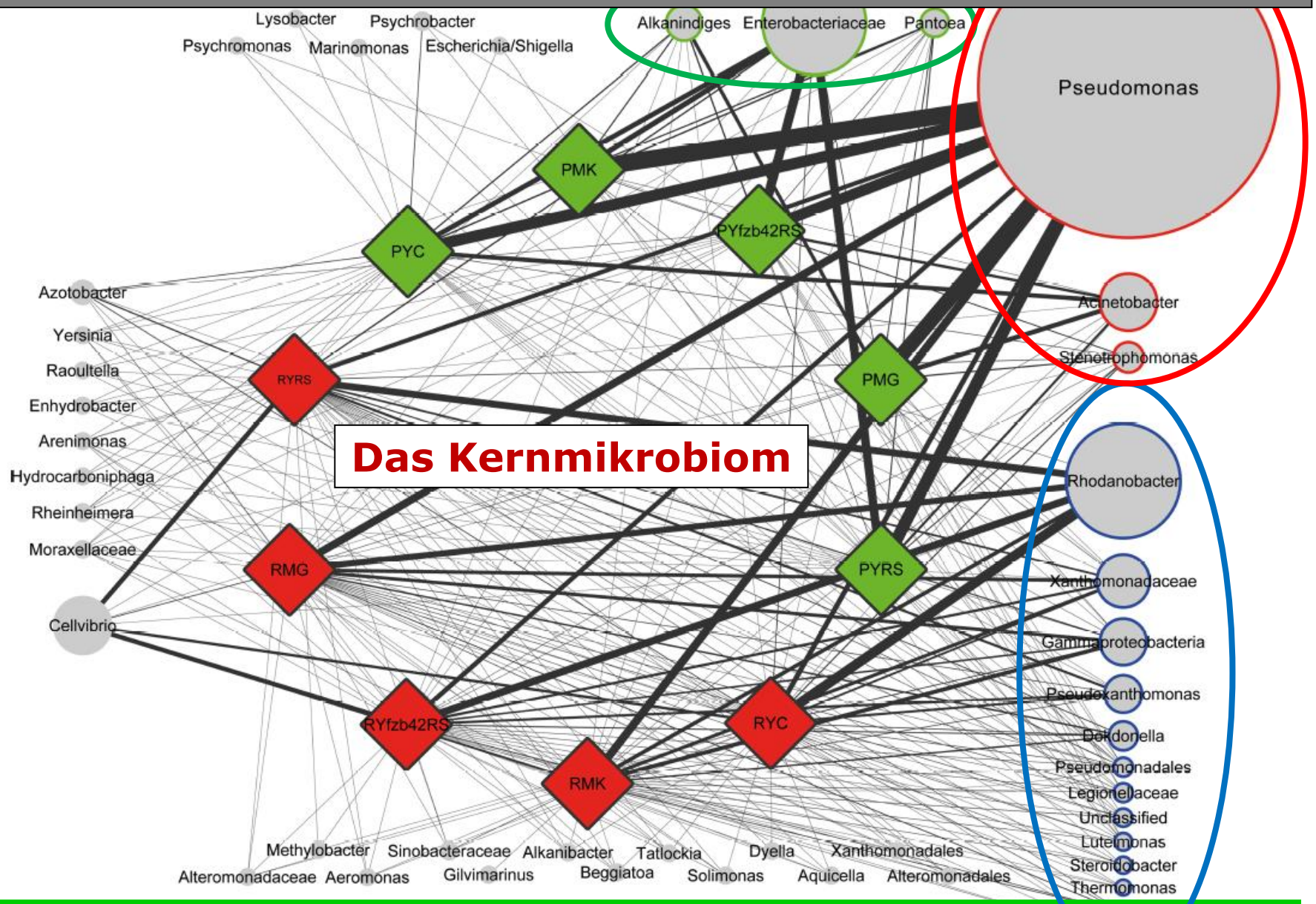
Loses Netzwerk

Einfluss auf die Etablierung neuer Mikroorganismen?

- **signifikante Unterschiede zwischen den Sorten**
- **12,5% Sortenspezifische Bakterien; 49% Kernmikrobiom**

Züchtung führte zur Veränderung des Mikrobioms.

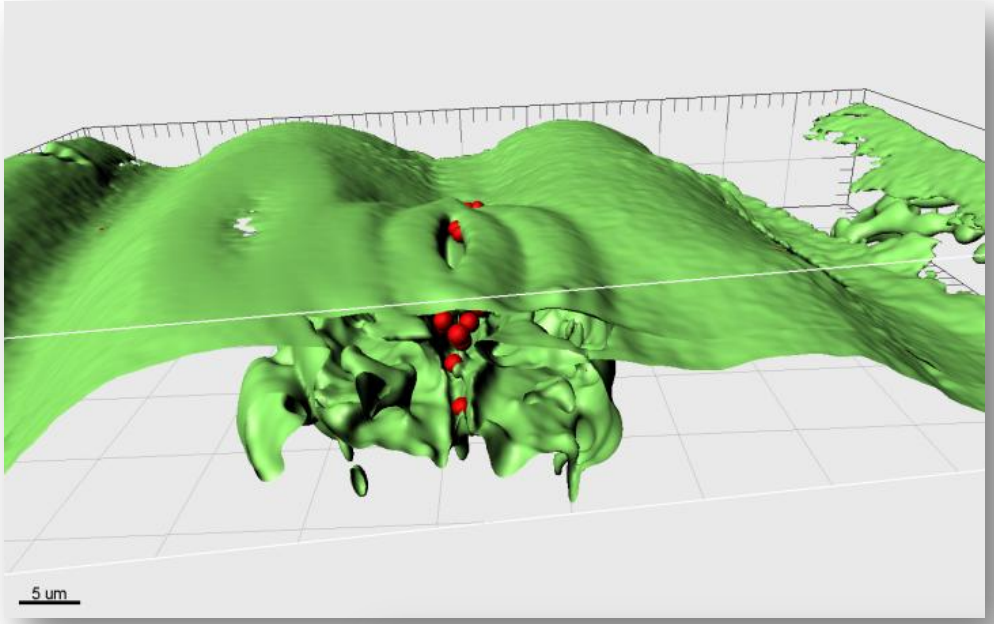
2. Mikroorganismen am und im Salat

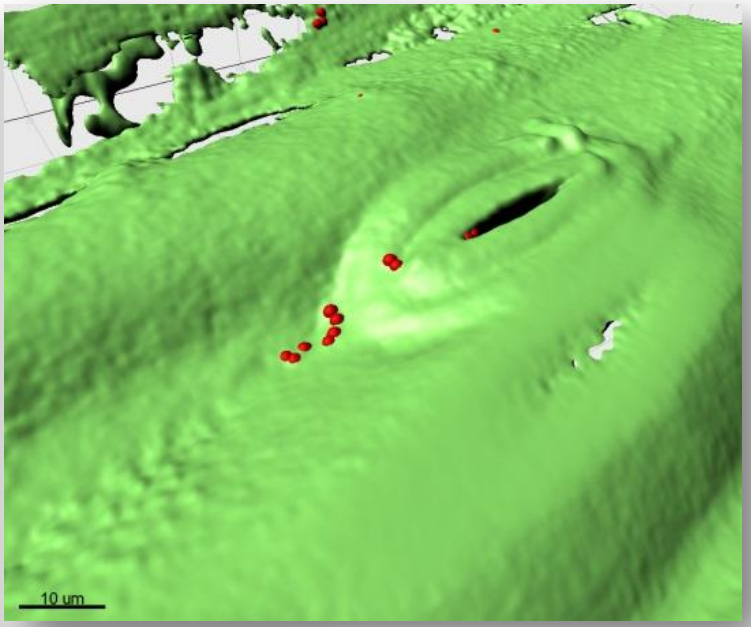


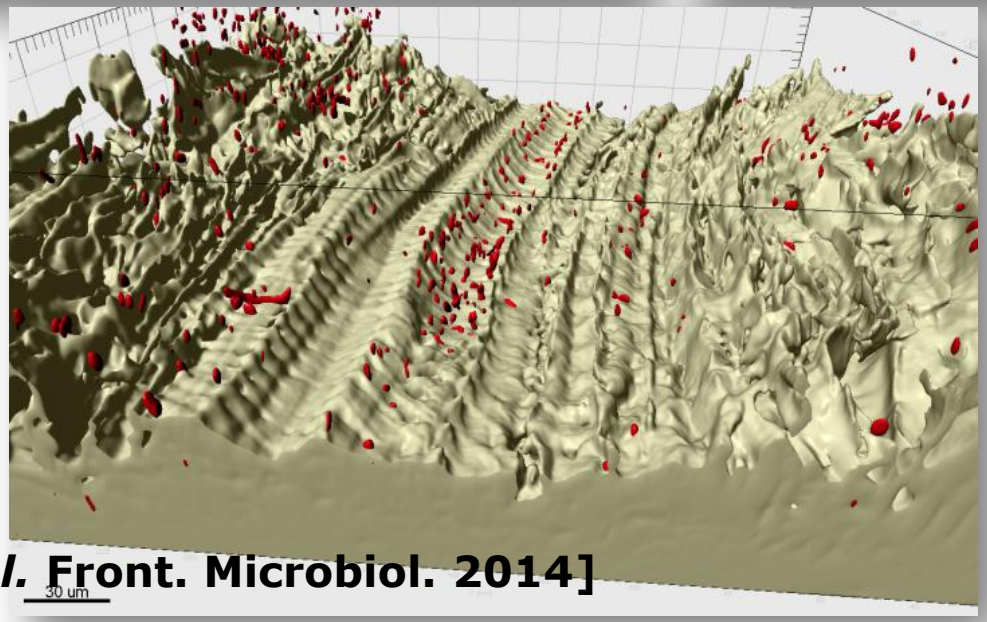
Das Kernmikrobiom

***Acinetobacter* and *Alkanindiges* erwiesen sich als Gesundheitsindikatoren**

2. Mikroorganismen am und im Salat

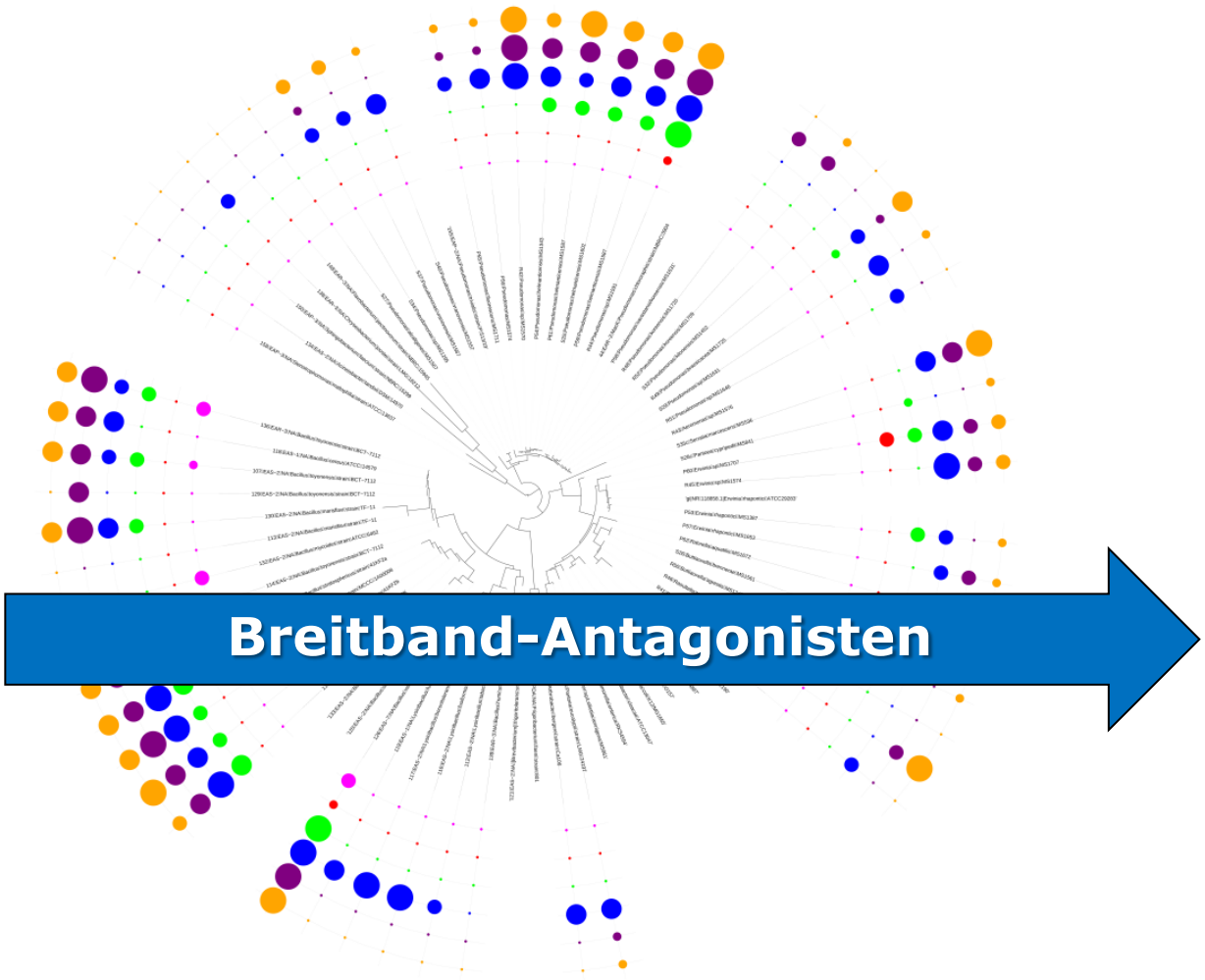






[Erlacher *et al.* Front. Microbiol. 2014]

2. Mikroorganismen am und im Salat



Erhöhung der mikrobiellen Diversität durch Biokontrolle

2. Mikroorganismen am und im Salat

Diversität verhindert Krankheiten

[Berg *et al.* Microb. Biotechnol. 2014]

2. Beispiel: Zuckerrübe

<u>The seed microbiome project (ACIB)</u>
Christin Zachow, Henry Müller
Ralf Tilcher (KWS SAAT AG)

acib austrian centre of industrial biotechnology

KWS

biotenzz Gesellschaft für Biotechnologie mbH

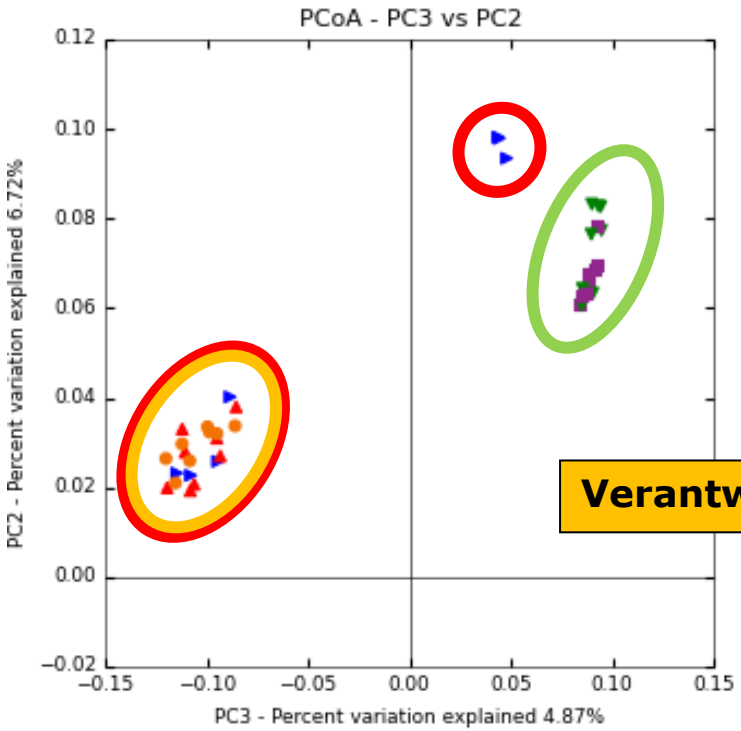
Sind Samen ein Reservoir für das Mikrobiom?

Cultivar*	Properties	Production	Country	Lot.-No.
MATTEA KWS	*Rhizoctonia*-tolerant	2011	Italy	3011-259 C
MATTEA KWS	*Rhizoctonia*-tolerant	2011	France	3011-535 C
LAETITIA KWS	*Rhizoctonia*-tolerant	2008	Italy	308-0041 E
LAETITIA KWS	*Rhizoctonia*-tolerant	2008	France	308-0430 E
BERETTA KWS	*Rhizoctonia*-susceptible	2011	Italy	3011-076 C9
BERETTA KWS	*Rhizoctonia*-susceptible	2011	France	3011-404 C9
BELLADONNA KWS	*Rhizoctonia*-susceptible	2011	Italy	1611-062 M
BELLADONNA KWS	*Rhizoctonia*-susceptible	2011	France	3011-585 C
ISABELLA KWS	*Rhizoctonia*-effective	2011	Italy	3011-221 C9
ISABELLA KWS	*Rhizoctonia*-effective	2011	France	3011-507 C

*KWS SAAT AG provided

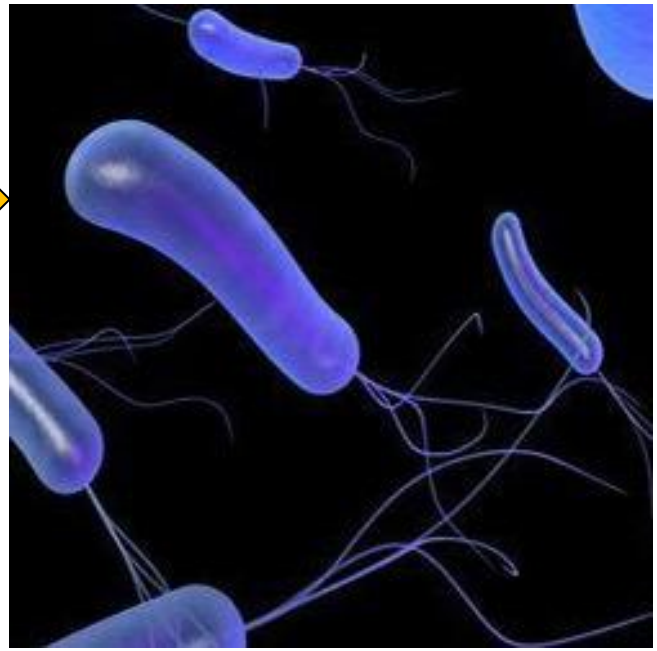
Keimung

Sind Samen ein Reservoir für das Mikrobiom?



Verantwortlich

***Antagonisten der Pseudomonas fluorescens* Gruppe sind verantwortlich**



MATTEA
tolerant
LAETITIA

BERETTA
susceptible
BELLADONNA

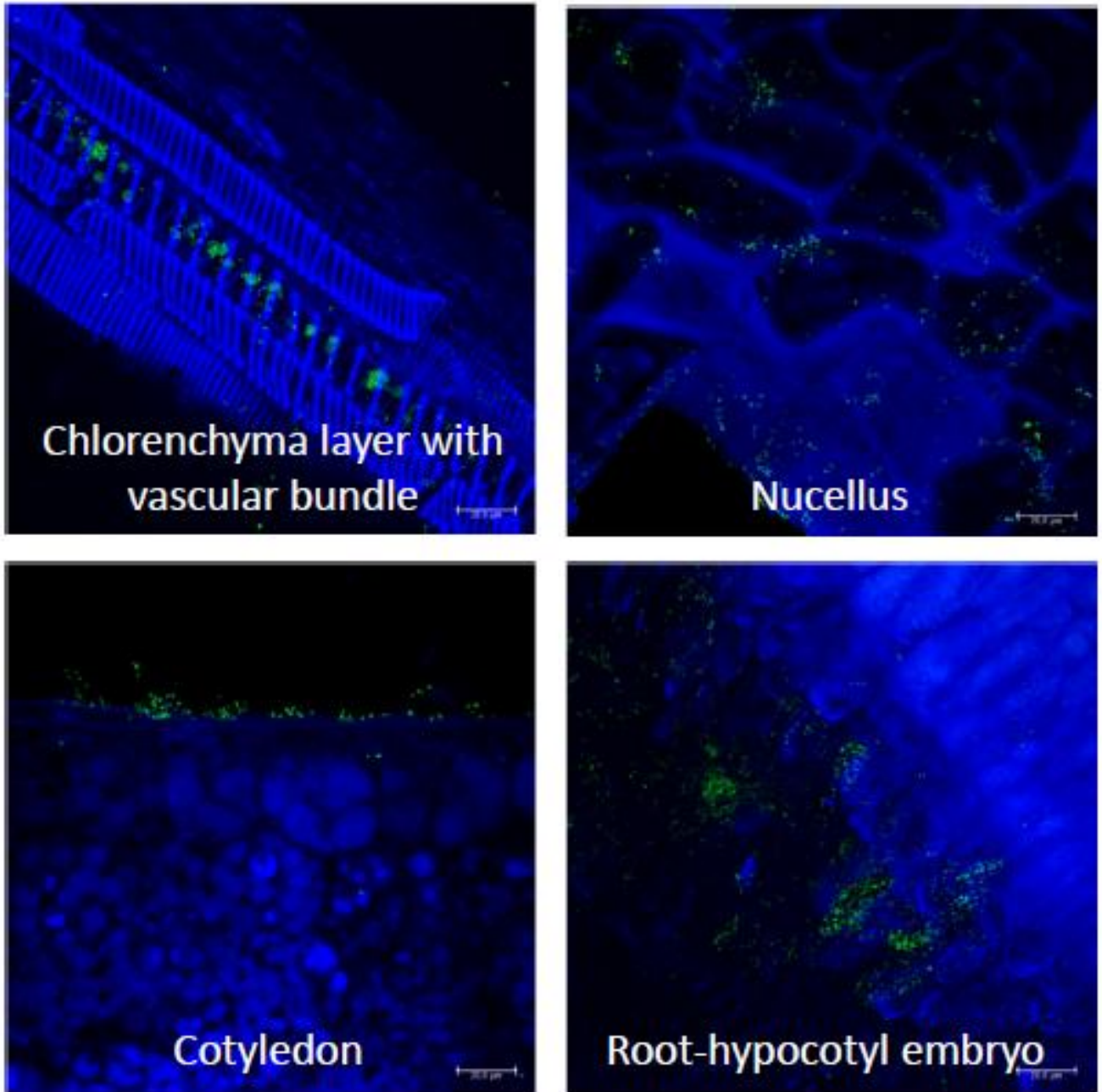
ISABELLA
effective

3. Beipiel: Der steirische Ölkürbis

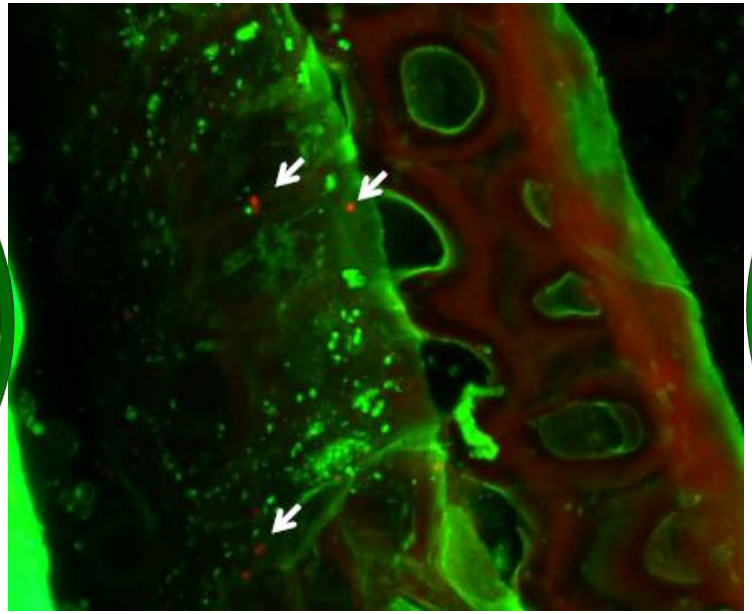
Type	Denomination	Pedigree	Geographic origin	Seed samples
Homozygous inbred lines	Line A - D	-	Austria	
Single cross hybrid	Gleisdorfer Diamant	Line A x Line B	Austria	
Three-way cross hybrids	GL Opal GL Rustikal	Gl. Diamant x Line C Gl. Diamant x Line D	Austria	
Population cultivar	GL Classic	-	Austria	
Single cross zucchini hybrid	Naxos	-	Netherlands	
Segregating breeding lines	Line E – I	-	Germany, Slovenia, China	

[Adam *et al.* Plant and Soil 2016]

3. Beipiel: Der steirische Ölkürbis



SCHLUSSDOLGERUNG II



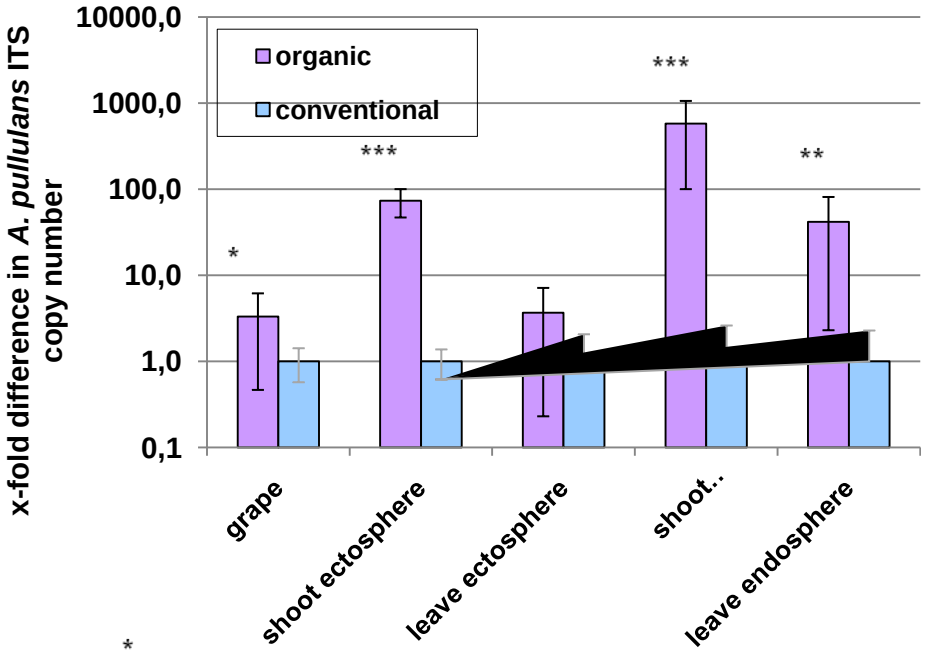
Züchtung führte zur Veränderung des Mikrobioms.

Der Samen überträgt ein Kernmikrobiom, welches ebenfalls durch Züchtung beeinflusst ist.

Auch hier ist die Diversität eine entscheidende Größe.

III. Welche Rolle spielt die Form der Bewirtschaftung?

Das Weinmikrobiom



Höherer Anteil von Antagonisten im organischen Weinbau

***Aureobasidium pullulans* wurde angereichert**

Im organischen Weinbau etabliert sich ein natürliches System zu biologischen Kontrolle

Applied and Environmental Microbiology, Mar. 2011, p. 2188–2191 Vol. 77, No. 6
0099-2240/11/$12.00 doi:10.1128/AEM.02187-10
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Functional and Structural Microbial Diversity in Organic and Conventional Viticulture: Organic Farming Benefits Natural Biocontrol Agents[▽]†

Florian Schmid, Gerit Moser, Henry Müller, and Gabriele Berg*

Institute of Environmental Biotechnology, Graz University of Technology, Petersgasse 12, 8010 Graz, Austria

Received 15 September 2010/Accepted 17 January 2011

Statistically significant differences in the structure and function of above-ground grapevine-associated microorganisms from organically and conventionally managed vineyards were found. *Aureobasidium pullulans*, a copper-detoxifying fungus and biocontrol agent, plays a key role in explaining these differences. The black fungus was strongly enriched in the communities of organically managed plants and yielded a higher indigenous antiphytopathogenic potential.

JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY
ARTICLE

J. Agric. Food Chem. **XXXX,** *XXX,* 000–000 **A**
DOI:10.1021/jf100393w

Production of Volatile Metabolites by Grape-Associated Microorganisms

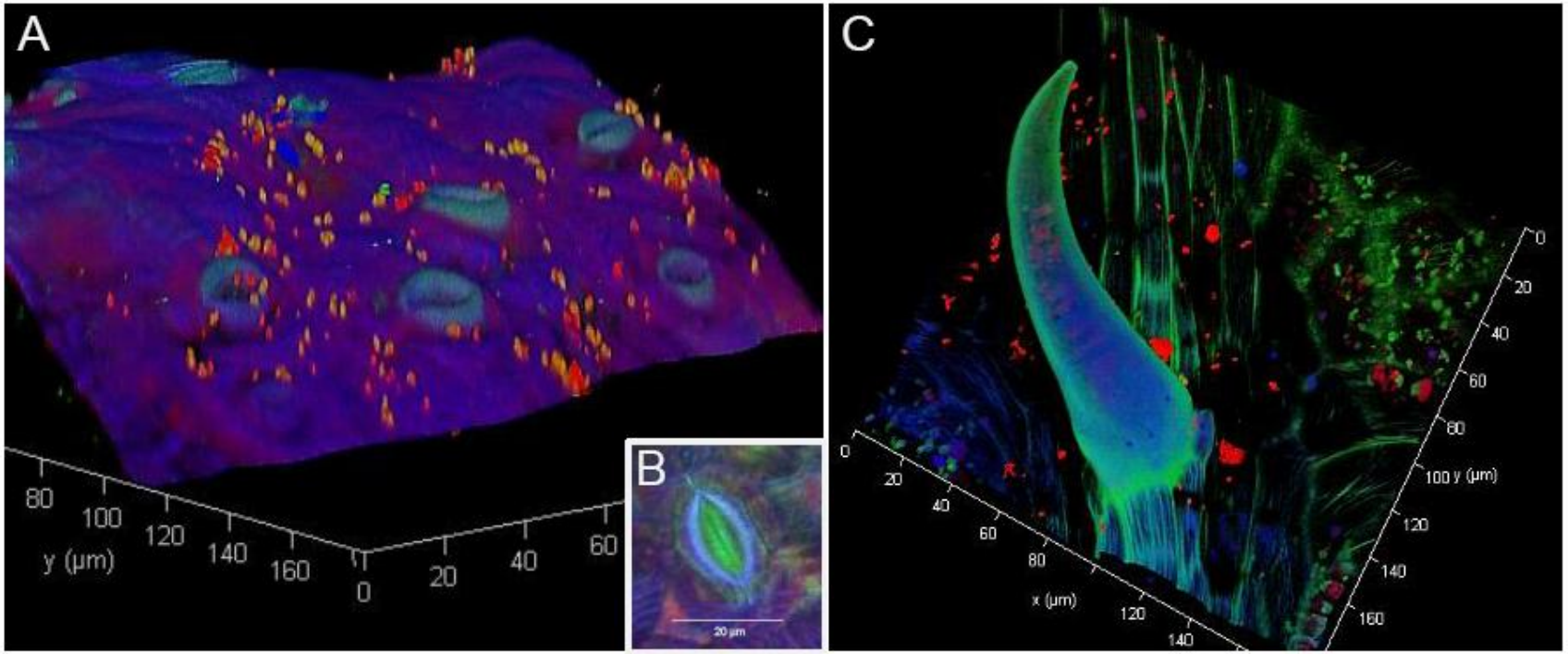
Markus Verginer,[†] Erich Leitner,[‡] and Gabriele Berg*,[†]

[†]Institute of Environmental Biotechnolog and [‡]Institute of Analytical Chemistry and Food Chemistry, Graz University of Technology, A-8010 Graz, Austria

Plant-associated microorganisms fulfill important functions for their hosts. Whereas promotion of plant growth and health is well-studied, little is known about the impact of microorganisms on plant or fruit flavor. To analyze the production of volatiles of grape-associated microorganisms, samples of grapes of the red cultivar 'Blaufraenkisch' were taken during harvest time from four different vineyards in Burgenland (Austria). The production of volatiles was analyzed for the total culturable microbial communities (bacteria, yeasts, fungi) found on and in the grapes as well as for single isolates. The microbial communities produced clearly distinct aroma profiles for each vineyard and phylogenetic group. Furthermore, half of the grape-associated microorganisms produced a broad spectrum of volatile organic compounds. Exemplarily, the spectrum was analyzed more in detail for three single isolates of *Paenibacillus* sp., *Sporobolomyces roseus*, and *Aureobasidium pullulans*. Well-known and typical flavor components of red wine were detected as being produced by microbes, for example, 2-methylbutanoic acid, 3-methyl-1-butanol, and ethyl octanoate.

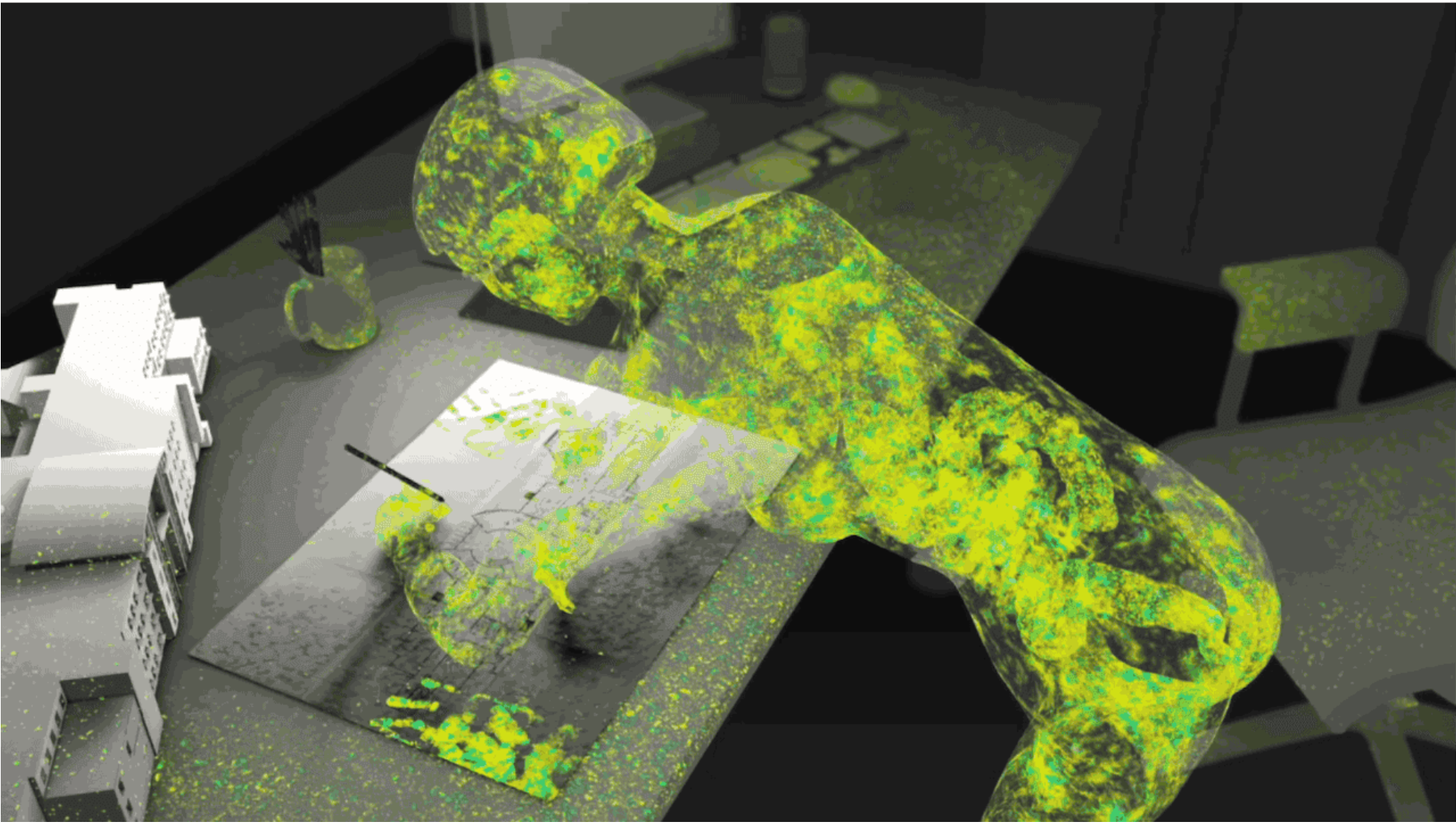
KEYWORDS: Volatile organic compounds; VOCs; microorganisms; grape

SCHLUSSFOLGERUNG III

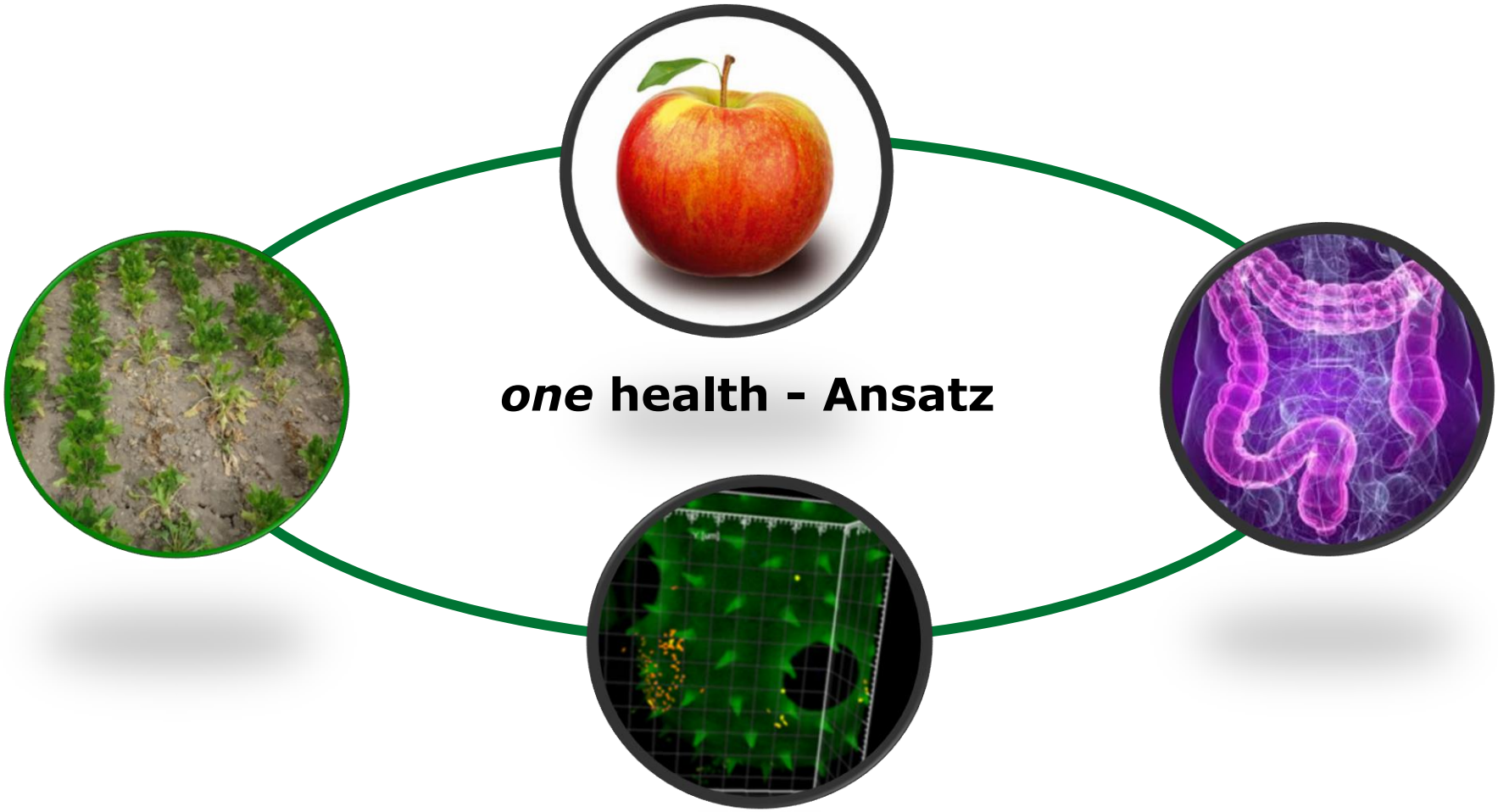


Management führte zur Veränderung des Mikrobioms.

IV. Wie ist der Einfluss auf die Gesundheit allgemein?

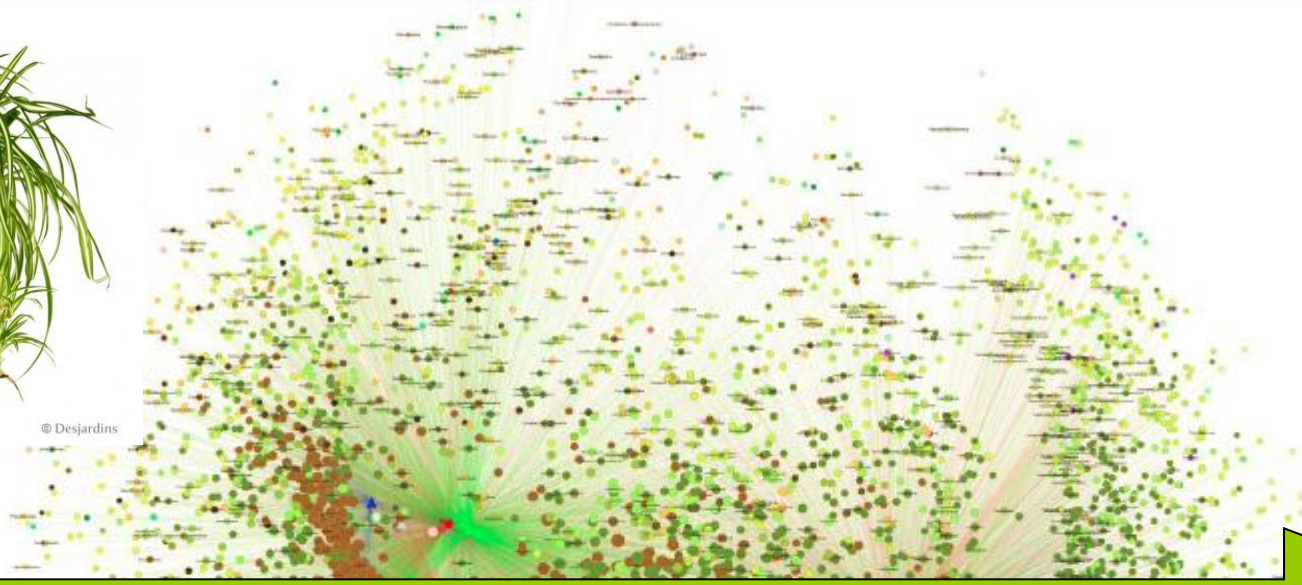


Vernetzte Mikrobiome

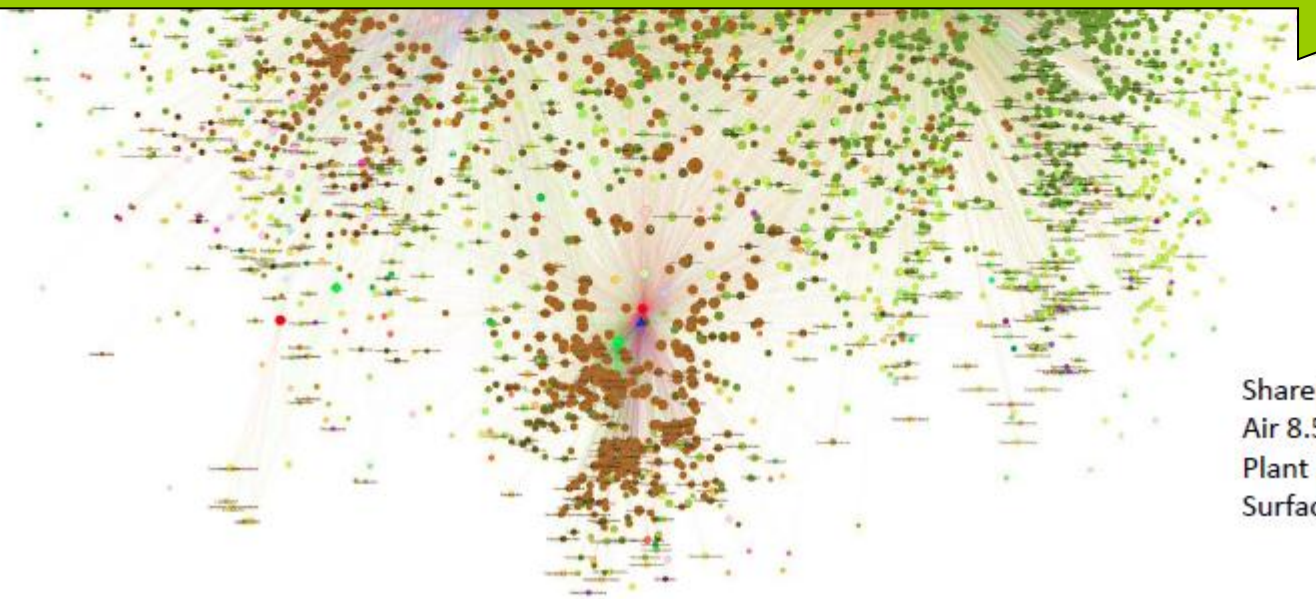


[Microbiome connections: Davis *et al.* Nature 2014; Qian *et al.* Indoor Air 2012; Mahnert *et al.* Frontiers Microbiol 2015]

Bedeutung des Pflanzenmikrobioms



Zimmerpflanzen beeinflussen das Indoormikrobiom positiv



Shared proportions:
Air 8.5 – 6.3 %
Plant 24.9 – 29.5 %
Surface 4.2 – 26.5 %

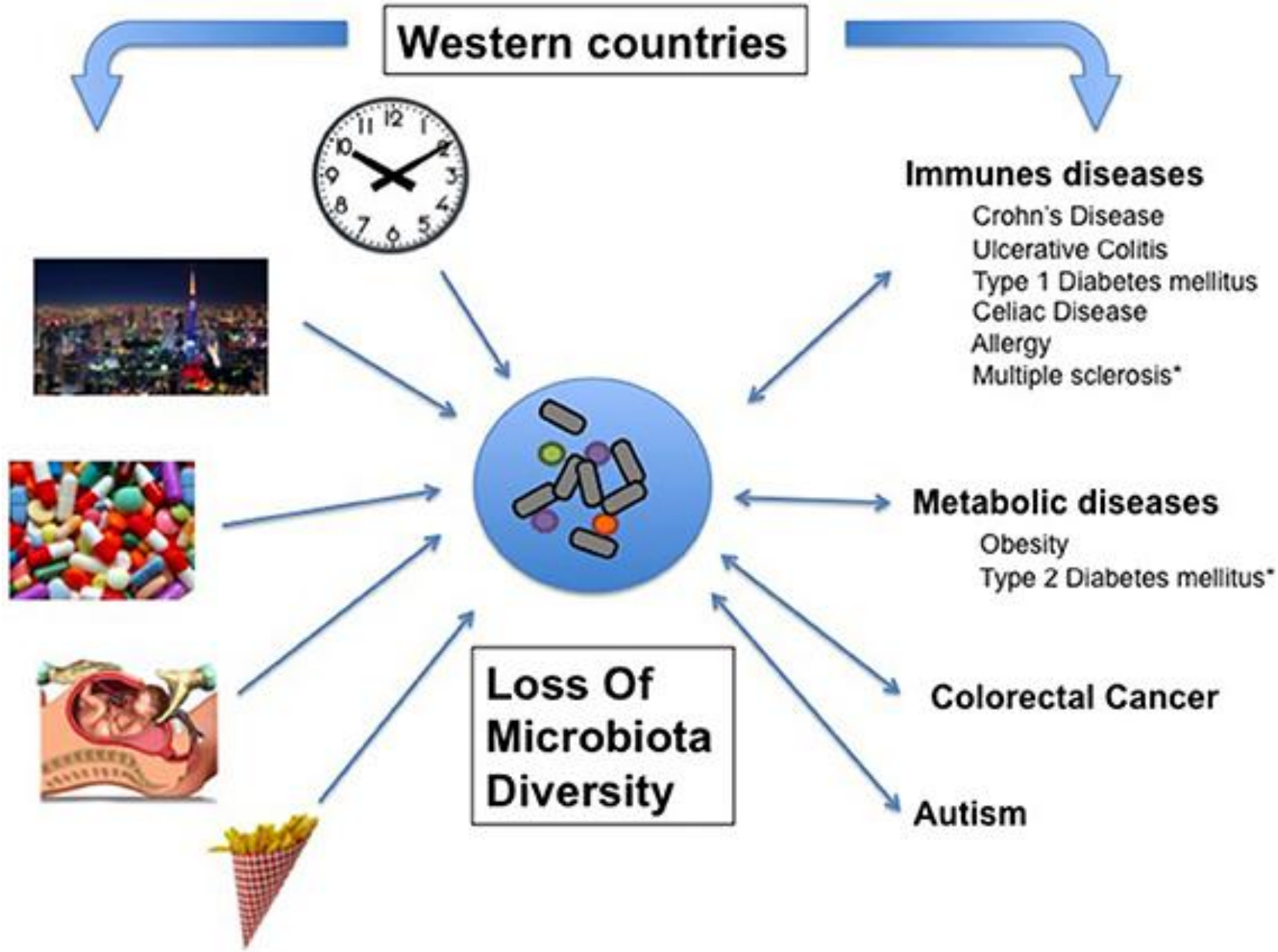
Bedeutung des Humanmikrobioms - Interaktionen

Wir sind ein Superorganismus: 10 x mehr Bakterien

- **40,000 Spezies in1800 Gattungen**
- **9.9 Millionen Gene der Mikroorganismen**
- **~100 Trillionen Zellen von den Mikroorganismen wiegen ca. 1–2 kg im menschlichen Körper; das ist vergleichbar mit dem Gehirn (ca. 1.5 kg)**

Rewieved in Stilling et al. Frontiers 2014

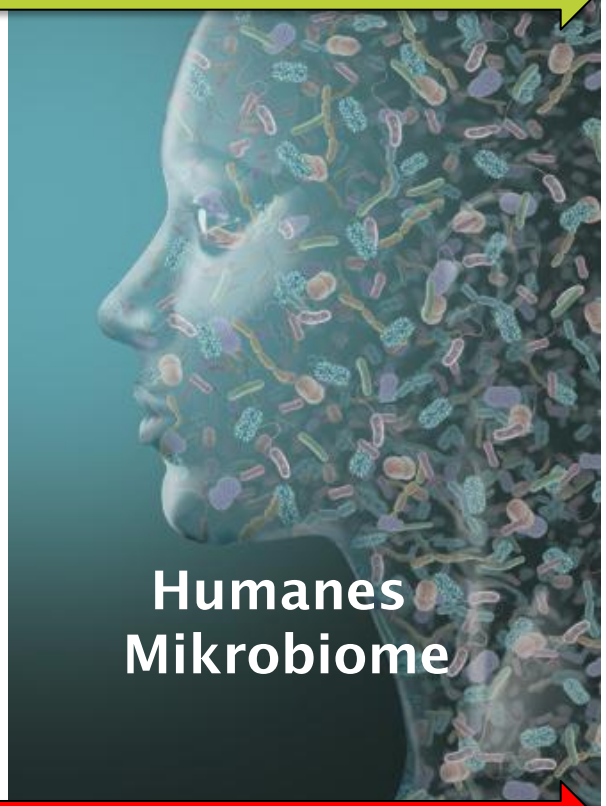
Bedeutung des Humanmikrobioms - Interaktionen

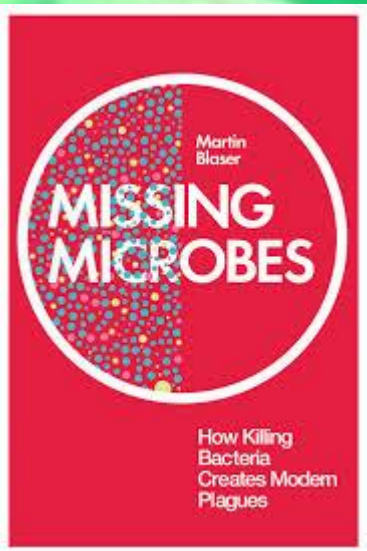


Bedeutung des Pflanzenmikrobioms

Bedeutung für

- **Gesundheit**
- **Wachstum**
- **Größe**
- **Gewicht**
- **Keimung**
- **Geburt**
- **Entwicklung**





Martin Blaser (2014):
Das humane Mikrobiom ist an der Entstehung moderner Krankheiten wie Adipositas, Diabetes und Asthma beteiligt

V. Wie ist die Diversität in den Böden der Steiermark?

Böden haben eine hohe Diversität. In einem Teelöffel Boden leben z.B. 100 Mio bis 1 Billion Bakterien.

Prokaryotische Vielfalt

- Joined Sequences 27.020.569
- Quality Sequences 12.991.230
- - Single & Doubletons 11.035.795
- - Chloroplasts & Mitochondria **10.977.689 Sequenzen**

227.482 prokaryotische $OTUs_{0.97}$

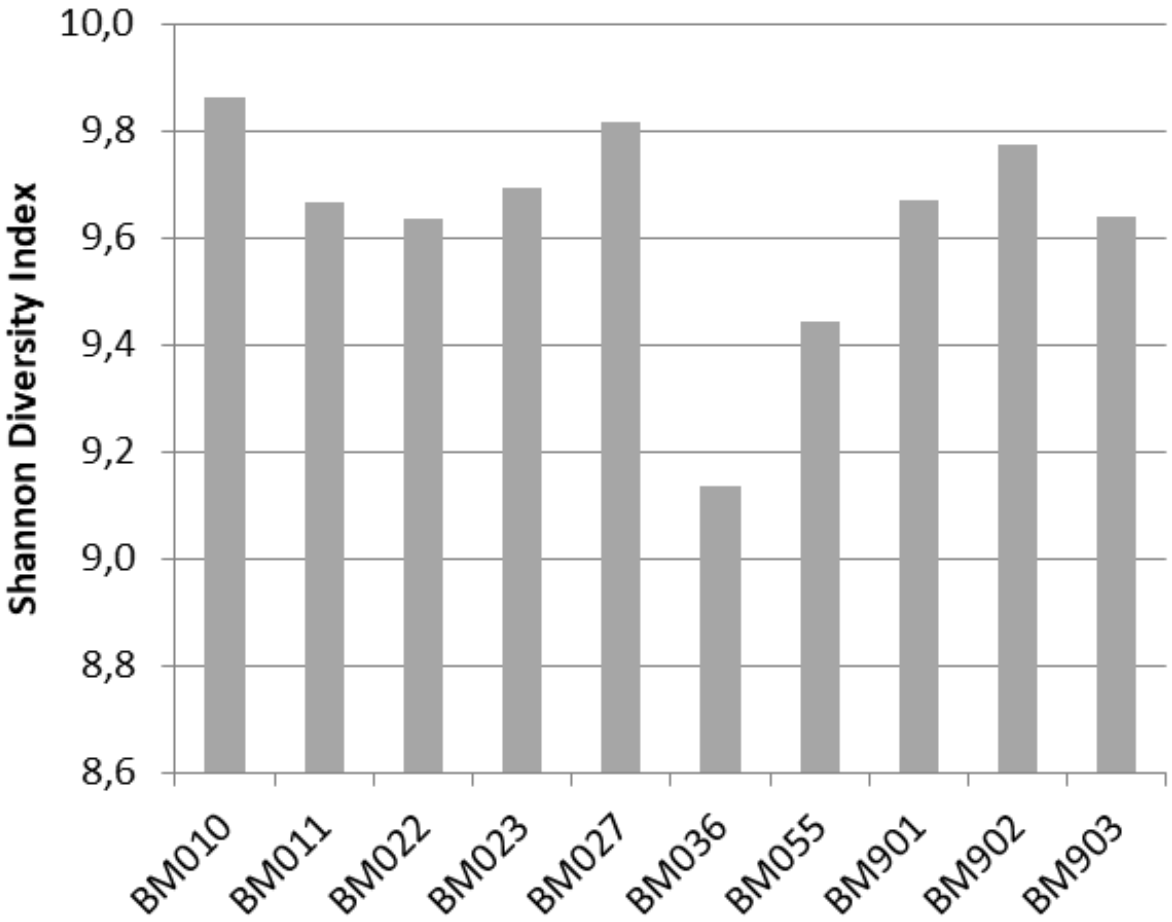
entspricht Arten

Prokaryotische Diversität

Shannon Diversity

Prokaryotische Diversität

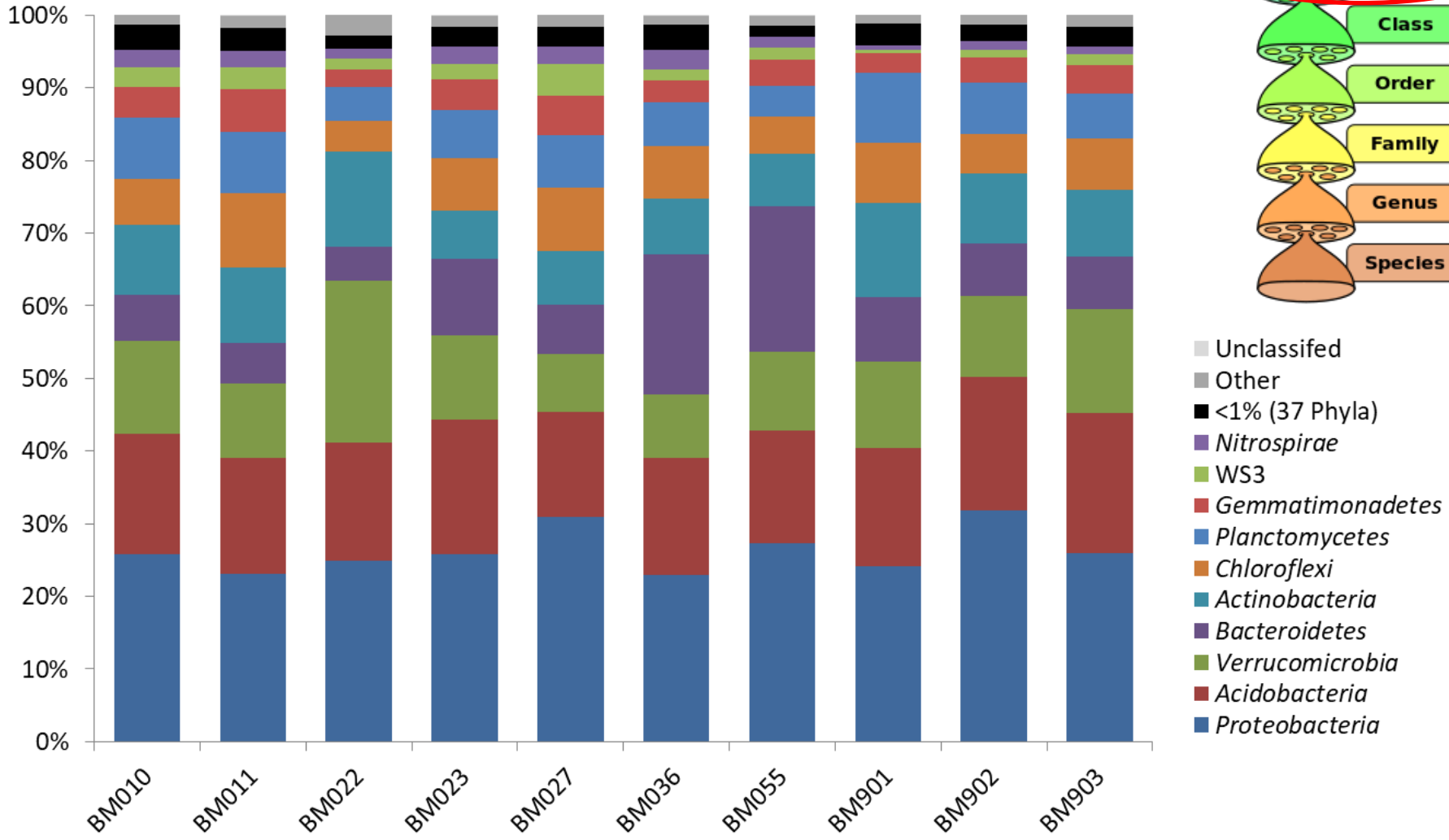
Shannon Diversity

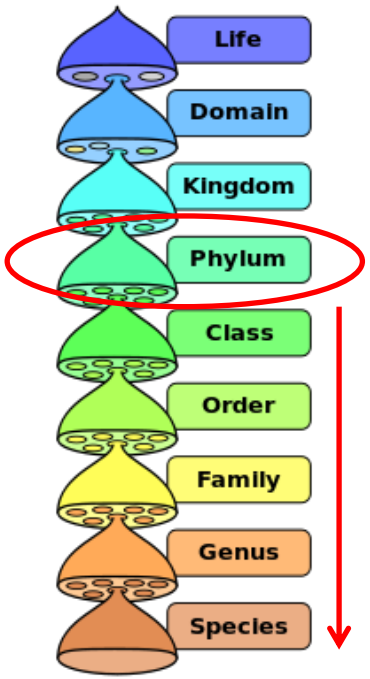


exemplarisch einige Schläge ausgewählt

Taxonomische Zuordnung

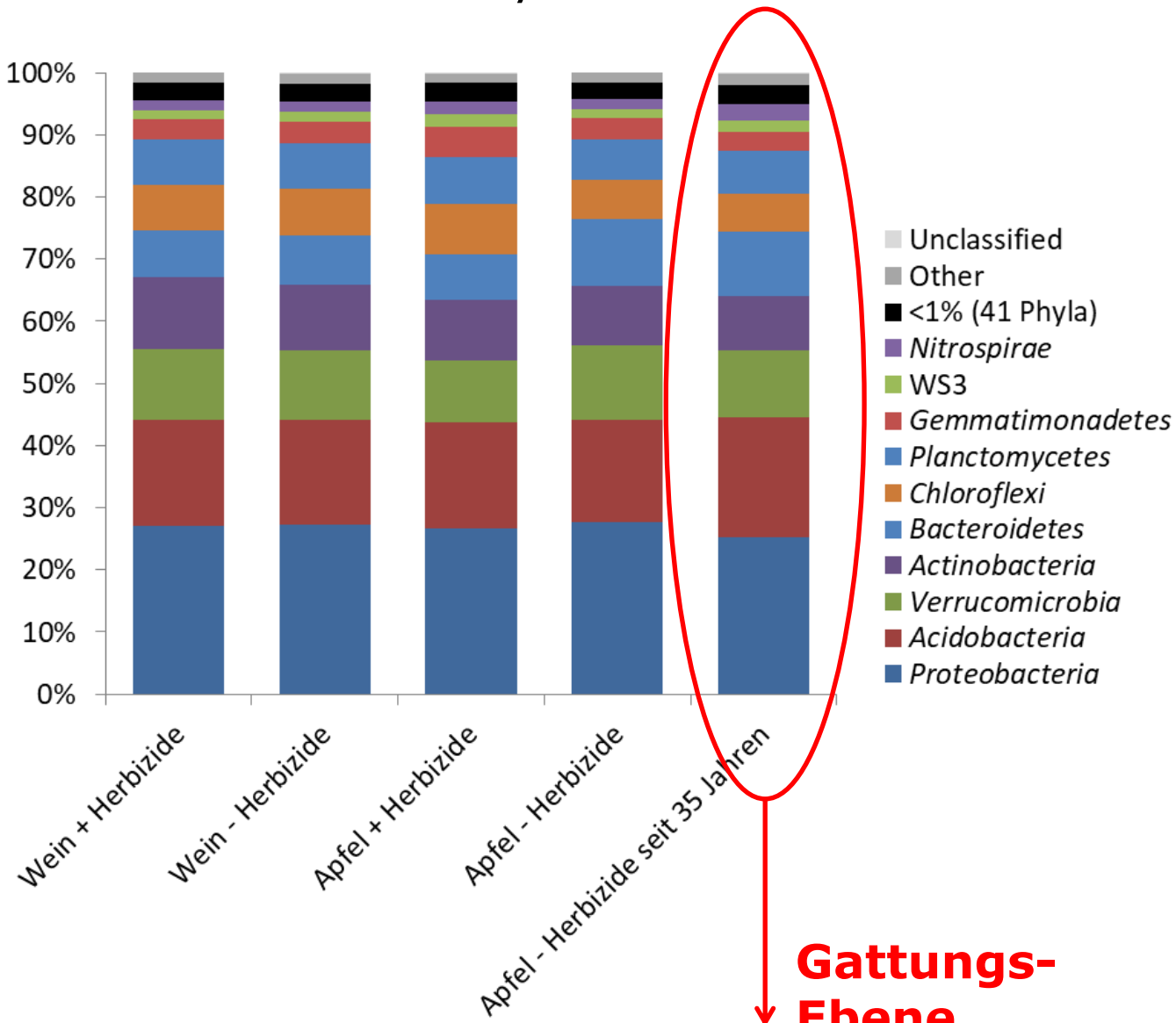
Phylum Level

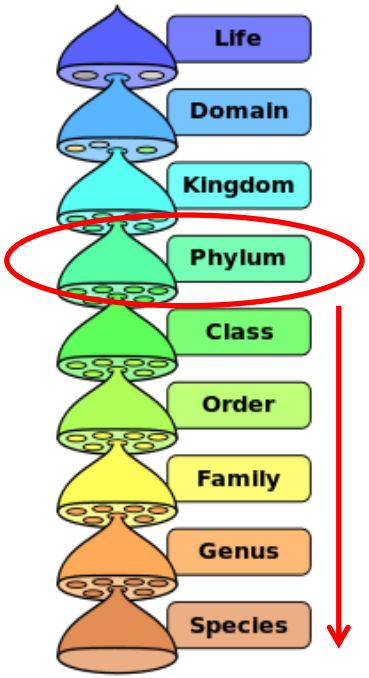




Taxonomische Zuordnung

Phylum Level



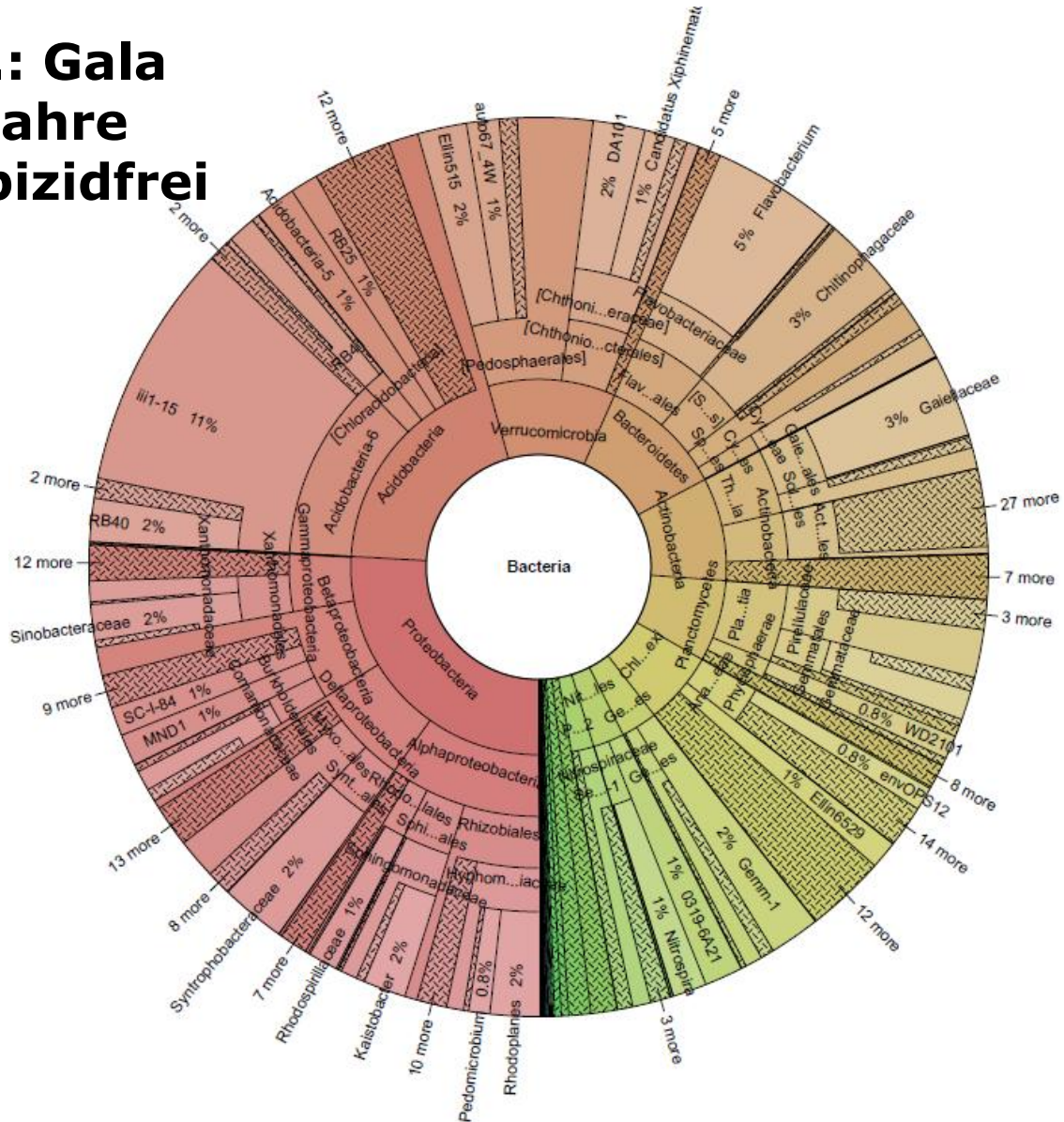


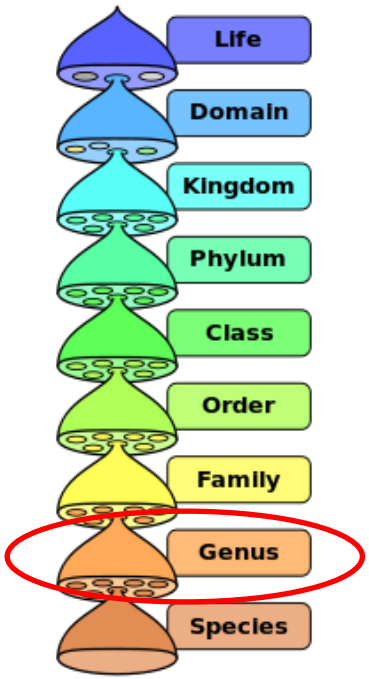
Gattungs-Ebene

Taxonomische Zuordnung

Genus Level

Bsp.: Gala 35 Jahre herbizidfrei



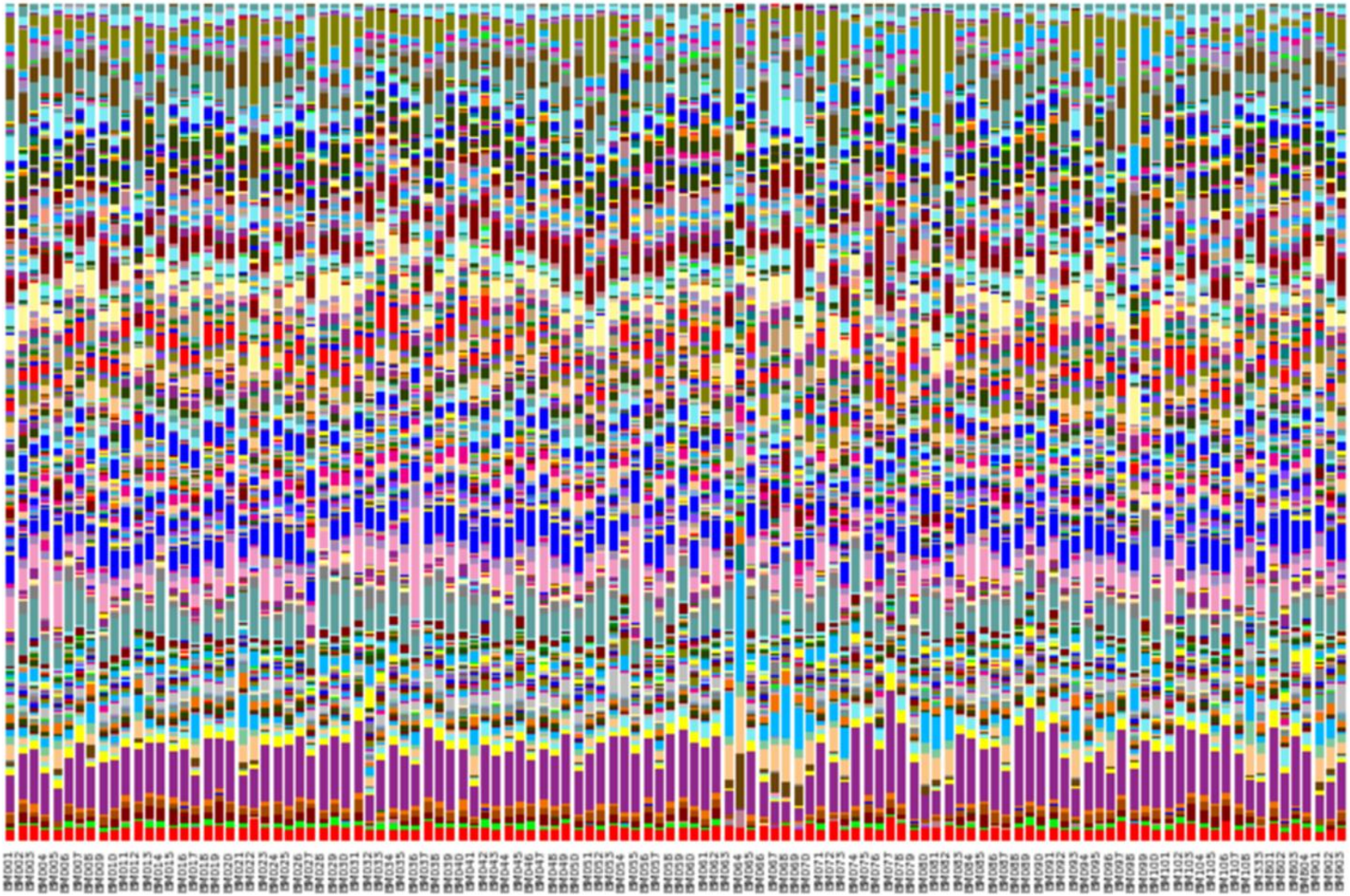


Häufigste Gattungen:

- ***Flavobacterium* 5%**
- ***Rhodoplanes* 2%**
- ***Kaistobacter* 1%**
- ***Nitrospira* 1%**
- ***Candidatus Xiphinematobacter* 1%**
- ***Mycobacterium* 1%**
- ***Pedomicrobium* 1%**
- ***Pirellula* 1%**

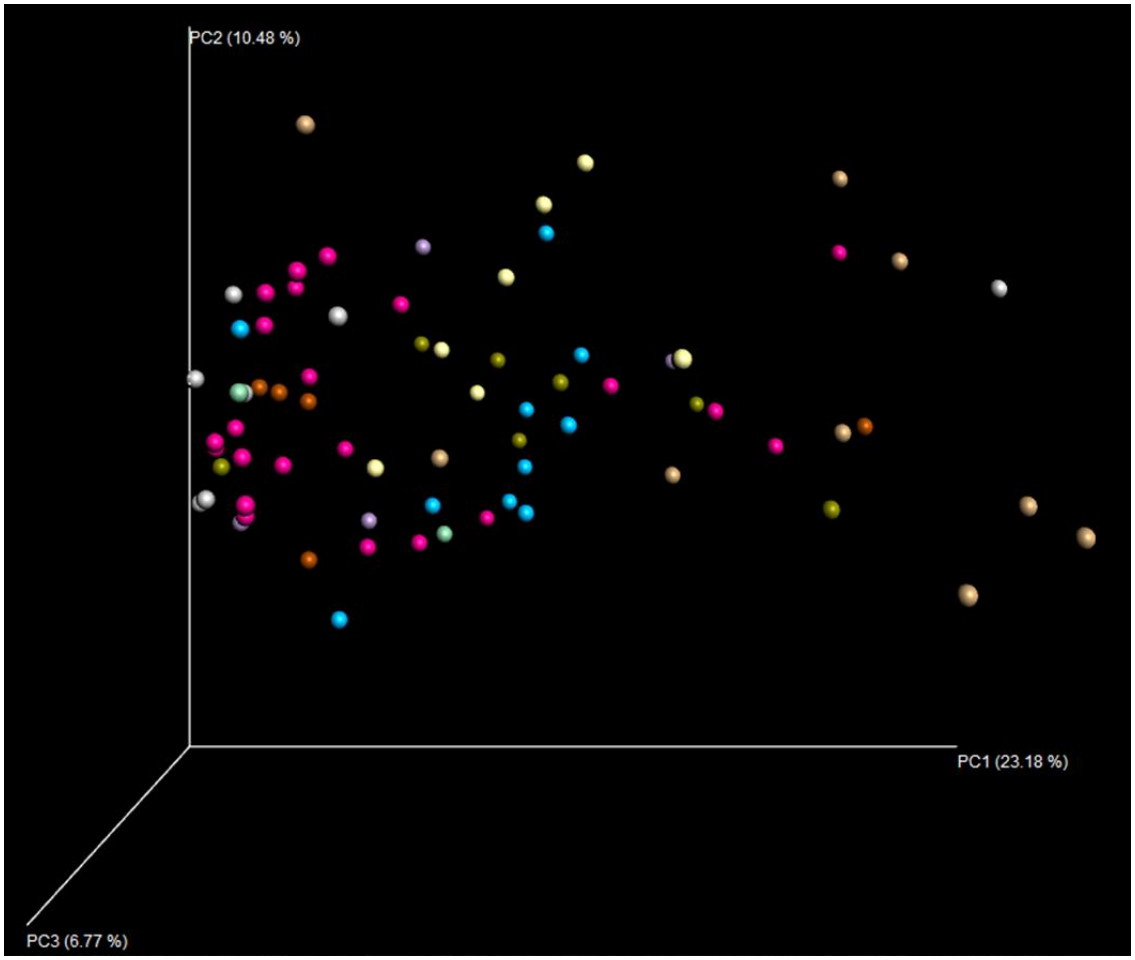
Taxonomische Zuordnung

Genus Level



Probenähnlichkeit

Principal Coordinate Analyses

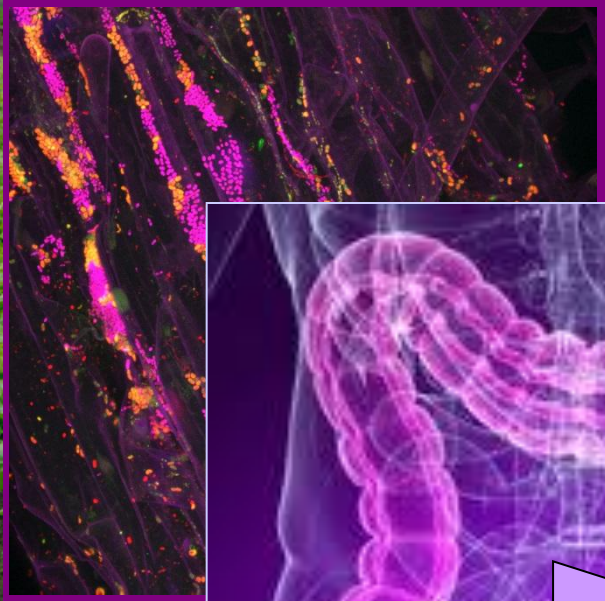


Stärkste Gruppierung der Proben nach Kultur (Apfel, Wein, etc.) und Raum (Leutschach, Südoststeiermark, Hartberg, Leibnitz)

Abgebildet: Wein-Schläge nach Standort gefärbt

Institut für Umweltbiotechnologie
Technische Universität Graz

TU Graz



Vision: Gesundes Essen für unsere Gesundheit

NAWI Graz 10 YEARS

BioTechMed GRAZ