



Projekte des SFF 8:
**Die mikrobielle Biodiversität für die Land- und Ernährungs-
wirtschaft nutzbar machen**

Projets du CSR 8:
***Exploitation du potentiel de la biodiversité microbienne pour
l'agriculture et le secteur agroalimentaire***

- 18.08.13.10.01 Molekulare mikrobielle Ökologie in landwirtschaftlichen Systemen
- 18.08.13.11.02 Bioinformatikmethoden für eine gezielte Nutzung von Mikrobiomen
- 18.08.18.03.01 Nutzung der genetischen und metabolischen Vielfalt für fermentierte Lebensmittel



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für
Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF
Agroscope

Arbeitsprogramm

Projektnummer

AP 2018-2021

18.08.13.10.01

Kurzbegriff/Projektkronym (max. 20 Zeichen)

MolMikOek

Nr. Bereich.

13

Methodenentwicklung und Analytik (MEA)

Nr. Gruppe

13.1

Molekulare Ökologie

Projektleitung/Stellvertretung

Jürg Enkerli / Franco Widmer

Projektdauer

Projektstart

Projektende

4 Jahre

2018

2021

Projekt

Total Arbeitstage ohne Drittmittel	1720
Beitrag zu SFF	8
Beitrag zu weitem SFF	1, 5, 15, 16

Bedürfniserhebung: Beitrag zu Anliegen Nr.	5.42; 12.40; 18.117; 23.89; 28.7; 28.10; 28.16; 28.22
Projekt enthält Arbeiten mit Drittmitteln	<input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
Projekt enthält Beitrag zu Biolandbau	<input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein

Titel Originalsprache

Molekulare mikrobielle Ökologie in landwirtschaftlichen Systemen

Molekulare mikrobielle Ökologie

Molecular microbial ecology

Microbial diversity, microbial community structure, genetic markers, genetic profiling

Ausgangslage und Problemstellung

Viele der zentralen Funktionen in Ökosystemen, zum Beispiel landwirtschaftliche Systeme, werden durch Mikroorganismen gewährleistet. Mikroorganismen sind als Primärzersetzer für den Abbau und die Mineralisierung von organischem Material im Boden verantwortlich und sie sind wichtig als Pathogene von Tieren und Pflanzen, als Pflanzensymbionten und am Transport und der Zirkulation von Wasser, Nähr- und Mineralstoffen beteiligt und sie haben einen erheblichen Einfluss auf die Bodenstruktur.

Die Stabilität von landwirtschaftlichen Systemen ist weitgehend abhängig von intakten mikrobiellen Gemeinschaften und der Diversität der vorhandenen mikrobiellen Umsetzungsprozesse und Funktionen. Sie stellen zum Beispiel wichtige Bestandteile der Bodenqualität dar (Verordnung über die Belastung des Bodens, VBBo).

Neue molekularbiologische Methoden bieten die Möglichkeit, Mikroorganismen auf der Ebene der Erbsubstanz (DNS) und der exprimierten Gene (RNS) zu beschreiben, zu identifizieren und zu quantifizieren. Zudem erlauben sie die Komplexität mikrobieller Gemeinschaften und deren Aktivitäten in verschiedenen Habitaten zu untersuchen und Veränderungen nachzuweisen. Die Datenmengen, welche mit diesen Methoden anfallen sind riesig und erfordern intensive Auswertungen mit den modernsten Bioinformatik- und Biostatistikansätzen. Die Entwicklung dieser Methoden und Ansätze sind zentrale Aspekte, um die funktionelle Diversität von Mikroorganismen in landwirtschaftlichen Systemen zu verstehen und deren positive und negative Beeinflussung durch landwirtschaftliche Praktiken und Massnahmen zu untersuchen. Solche Untersuchungen bilden die Grundlage dafür, spezifische Funktionen von Mikroorganismen in landwirtschaftlichen Systemen gezielt nutzen, fördern, oder kontrollieren zu können, z. B. in der biologische Schädlingsbekämpfung, für die Umsetzung von Habitat Management Strategien oder für die Entwicklung von Indikatoren der Bodenqualität. Also Forschungsgruppe im KB MEA ist es eine zentrale Aufgabe der Molekularen Ökologie die Methodik und Ansätze für solche Fragestellungen zu entwickeln.

Die Infrastruktur eines Molekularbiologielabors ist in der Anschaffung und in der Betreuung aufwändig. Deshalb hat die Forschungsgruppe Molekulare Ökologie den Auftrag erhalten, andere Forschungsgruppen bei molekularbiologischen Arbeiten zu unterstützen. Dies wurde so umgesetzt, dass am Standort Reckenholz ein molekularbiologisches Userlab aufgebaut wurde, welches andern anderen Forschungsgruppen für molekularbiologische Arbeiten zur Verfügung steht. Sie werden in die Nutzung und den Umgang mit dem Labor und den Geräten eingeführt und können diese dann in Zusammenarbeit, betreut oder selbständig nutzen.

Ziele und Forschungsfragen

1. Entwickeln von molekularbiologischen Methoden für die Detektion, Quantifizierung und Beschreibung von Mikroorganismen und deren Populationen. Diese Methoden bilden Grundlagen, die in verschiedenen Forschungsgruppen von Agroscope für die Untersuchung spezifischer Fragen genutzt werden können.
2. Aufbau der nötigen Kompetenz in Bioinformatik und Biostatistik, um eine maximale Nutzung der entwickelten molekularbiologischen Methodik zu ermöglichen.
3. Anwendung der entwickelten Methodik, um Effekte landwirtschaftlicher Massnahmen auf die Umweltmikrobiologie zu erfassen. Dies erfolgt im Rahmen von Agroscope-internen und drittfinanzierten Forschungsprojekten sowie in Zusammenarbeiten mit externen Partnern.
4. Erforschen der Interaktionen zwischen Mikroorganismen und Wirtsorganismen, damit positive Eigenschaften von Mikroorganismen gezielt in landwirtschaftlichen Systemen genutzt oder negative Eigenschaften bekämpft werden können.

Konkreter Beitrag zum SFF Nr. 8 (in wenigen Sätzen den konkreten Beitrag und die neuen Erkenntnisse zum SFF beschreiben, dies mit einem klaren inhaltlichen Bezug zu den Forschungsfragen im SFF)

Die Erforschung und Nutzung der funktionellen mikrobiellen Biodiversität ist das zentrale Thema des SFF8. Im Projekt „Molekulare mikrobielle Ökologie in landwirtschaftlichen Systemen“ geht es um die Weiterentwicklung von Forschungsaktivitäten, welche schon in Vorgängerprojekten und im AFP „Mikrobielle Biodiversität“ bearbeitet wurden. Es ist das Ziel der Projekte und Aktivitäten der Forschungsgruppe „Molekulare Ökologie“, das Know-How aus der Entwicklung in die Anwendung, d.h. zu den Forschungsgruppen und den Systemen zu tragen. Zeichen für den Erfolg dieser Strategie zur gezielten Umsetzung sind die Zusammenarbeiten mit anderen SFFs zu den Themen Boden (NABO), Pflanzenschutz (entomopathogene Pilze) und Graslandssysteme (EU-Projekt BioInvent).

Die Methodenentwicklung wird für diese Phase vermehrt die mikrobiellen Funktionen fokussiert. Dabei werden in verschiedenen Umweltsystemen (z.B. Boden) mikrobielle Populationen basierend auf spezifischen funktionellen Genen beschrieben und untersucht. Auf der anderen Seite werden Genomanalysen benutzt um Virulenz Faktoren des hoch spezifischen, für die Maikäferkontrolle angewendeten Pilzes *Beauveria brongniartii* oder des breiter anwendbaren Pilzes *Metarhizium* spp. zu beschreiben und deren Verbreitung und Aktivität in verschiedenen Habitaten in der Umwelt.

Beitrag zu maximal 3 weiteren SFF (in wenigen Sätzen den konkreten Beitrag zu den Forschungsfragen im SFF beschreiben)

zu SFF Nr. 15 Boden (DNA Extraktion 19 NABObio Standorte, 5 AT)

zu SFF Nr. 5: Nachhaltiger Pflanzenschutz (Monitoring von Biokontrollorganismen, Qualitätskontrolle, Nicht-Zieleffekte)

zu SFF Nr. 1: Graslandssysteme (EU Projekt Bioinvent)

Hauptnutzen für Biolandbau (falls Beitrag, in wenigen Sätzen den konkreten Beitrag beschreiben)

Biologische Schädlingsbekämpfung, Bodenqualität

Material und Methoden (grob skizziert)

Kultivieren von Bakterien und Pilzen
DNA Extraktion (Bakterien, Pilzen, Insekten, Pflanzen, Boden) und Quantifizierung der DANN-Mengen
PCR
DNA Fragmentklonierung
Fragmentanalyse (Gelelektrophorese, Kapillarelektrophorese)
Sequenzierung (Sanger und NGS)
Datenverarbeitung und Statistik (Bioinformatik)

Literatur (neueste Kenntnisse, wenige eigene und fremde wissenschaftliche und praxisorientierte Publikation)

- Nesme J., Achouak W., Agathos S., Bailey M., Baldrian P., Brunel D., Frostegard A., Heulin T., Jansson J. K., Jurkevitch E., Kowalchuk G. A., Kruus K. L., Lagares A., Lapin-Scott H. M., Le Paslier D., Mandic-Mulec I., Murrell C., Myrold D. D., Nalin R., Nannipieri P., Neufeld J. D., O'Gara F., Parnell J. J., Pühler A., Pylro V., Ramos J. L., Roesch L., Schleper C., Schloter M., Sczyrba A., Sessitsch A., Sjöling S., Sørensen J., Sørensen S. J., Tebbe C.

C., Topp E., Tsiamis G., Van Elsas J. D., Van Keulen G., Wagner M., Widmer F., Zhang T., Zhang X., Zhao L., Zhu Y.-G., Vogel T. M., Simonet P. (2016) Back to the Future of Soil Metagenomics. *Frontiers in Microbiology*, 10 February 2016 | <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00073>

Frey B., Rime T., Phillips M., Stierli B., Hajdas I., Widmer F., Martin Hartmann M. (2016). Microbial diversity in European alpine permafrost and active layers. *FEMS Microbiology Ecology* 92:fiw018

- Moll J., Okupnik A., Gogos A, Knauer K., Bucheli T. D., Van der Heijden M. G. A., Widmer F. (2016). Effects of Titanium Dioxide nanoparticles on red clover and its rhizobial symbiont. *PLoS ONE* 11(5):e0155111, DOI:10.1371/journal.pone.0155111
- Castro T, Mayerhofer J, Enkerli J, Eilenberg J, Meyling N, de Andrade Moral R, Garcia Borges Demétrio C, Delalibera Jr I. (2016) Persistence of Brazilian isolates of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *M. robertsii* in strawberry crop soil after soil drench application. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 233:361-369, DOI.org/10.1016/j.agee.2016.09.031
- Jaber L, Enkerli J (2016) Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. *Biological Control* 103: 187-195, DOI.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.008
- Rauch H, Steinwender BM, Mayerhofer J, Sigsgaard L, Eilenberg J, Enkerli J, Zelger R, Strasser H (2017). Field efficacy of *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematoda: Heterorhabditidae), *Metarhizium brunneum* (Hypocreales: Clavicipitaceae), and chemical insecticide combinations for *Diabrotica virgifera virgifera* larval management. *Biological Control* 107: 1–10, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.01.007>
- Hersemann L, Wibberg D, Blom J, Goesmann A, Widmer F, Vorhölter FJ, Kölliker R (2016) Comparative genomics of host adaptive traits in *Xanthomonas translucens* pv. *graminis*; *BMC Genomics*; in press

Teaser und Kurzzusammenfassung des Projektes für Kommunikation/Internet
 (Teasertext: max. 400 Zeichen; Kurzzusammenfassung: max. 800 Zeichen inkl. Leerzeichen)

Mikroorganismen spielen eine fundamentale funktionelle Rolle in vielen Ökosystemen einschliesslich der landwirtschaftlichen Systeme. Eine intakte mikrobielle Gemeinschaft und die Diversität der mikrobiellen Umsetzungsprozesse und Funktionen sind wichtig für die Stabilität von landwirtschaftlichen Systemen. Molekularbiologische Methoden bieten die Möglichkeit, Mikroorganismen auf der genetischen Ebene zu beschreiben und zu quantifizieren und sie erlauben die Komplexität mikrobieller Gemeinschaften

Im Rahmen dieses Tätigkeitsfeldes werden neuen Methoden zur Detektion und Beschreibung von Mikroorganismen und deren Populationen entwickelt und angewendet. Diese Methoden sind zentral, um die funktionelle Diversität von Mikroorganismen in landwirtschaftlichen Systemen zu verstehen und deren positive und negative Beeinflussung durch landwirtschaftliche Praktiken und Massnahmen zu untersuchen. Erkenntnisse, welche mit diesen Ansätzen gewonnen werden können massgeblich zum Schutz und der schonenden Nutzung natürlicher Ressourcen genutzt und eingesetzt werden. Sie liefern Wissen bezüglich der Interaktionen zwischen Mikroorganismen und Wirtsorganismen, damit positive Eigenschaften von Mikroorganismen gezielt in landwirtschaftlichen Systemen genutzt oder negative Eigenschaften bekämpft werden können, stellen Entscheidungsgrundlagen zur Verfügung.

Genehmigung des Projektes

Datum: 31.08.2017	Visum FGL: wifr
Datum: 31.10.2017	Visum FBL / KBL: ju cr
Datum: 31.10.2017	Visum V SFF: ju cr



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für
Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF
Agroscope

Arbeitsprogramm

Projektnummer

AP 2018-2021

18.08.13.11.02

Kurzbegriff/Projektakronym (max. 20 Zeichen)

MikBioDiv_ANET-GB

Nr. Bereich.

13 Methodenentwicklung und Analytik

Nr. Gruppe

13.11 Molekulare Diagnostik, Genomik und Bioinformatik

Projektleitung/Stellvertretung

Christian H. Ahrens / Jürg E. Frey

Projektdauer

Projektstart

Projektende

4 Jahre

2018

2021

Projekt

Total Arbeitstage ohne Drittmittel	750
Beitrag zu SFF	8
Beitrag zu weitem SFF	5, 15, 9

Bedürfniserhebung: Beitrag zu Anliegen Nr.	9.26, 12.38, 12.41, 12.45, 18.16, 18.119, 23.11, 23.35, 23.89, 28.1, 28.78, 28.79, 28.90
Projekt enthält Arbeiten mit Drittmitteln	<input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
Projekt enthält Beitrag zu Biolandbau	<input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein

Titel Originalsprache

Entwicklung integrierter bioinformatischer Analysemethoden für eine umfassende Beschreibung von Mikrobiomen und die gezielte praktische Nutzung einzelner Arten

Bioinformatikmethoden für eine gezielte Nutzung von Mikrobiomen

Development of integrated bioinformatics analysis methods for a thorough description of microbiomes and the targeted practical use of individual species

bioinformatics, development of novel data analysis & integration approaches for metagenomics, genomics and transcriptomics, comparative genomics, functional assays, biocontrol, indicator species, soil quality, smart farming, plant pathogen control, mechanism of action, synthetic communities, microbiome engineering

Ausgangslage und Problemstellung

Die mikrobielle Biodiversität hat eine fundamentale Bedeutung für die Funktion von Ökosystemen. Mikrobiome (MB), d.h. die Gesamtheit der Mikroorganismen (Bakterien, Hefen, Pilze, Archaeen, Viren), können zB Pflanzen- und Tiergesundheit unterstützen, natürliche Schädlingskontrolle verbessern, Zersetzung von organischem Material und Nährstoffkreisläufe beschleunigen, sowie die Veredelung landwirtschaftlicher Erzeugnisse durch Fermentation ermöglichen.

Im Gegensatz zum menschlichen Mikrobiom steht man bei der Erforschung und gezielten Nutzung der MB im Bereich der Land- und Ernährungswirtschaft noch am Anfang. Erste Beispiele der positiven Effekte des Einsatzes von Mikroorganismen (MO) konnten jedoch auch hier aufgezeigt werden. Dies beinhaltet Ergebnisse des AFP MikBioDiv (Arbeitsprogramm 2014-17), wo man das Mikrobiom des Bodens im DOK-Versuch beschreiben konnte (Hartmann et al., ISME J 2015). Ebenso gelang es anhand von funktionellen Assays aus der Vielzahl von Organismen auf der Oberfläche von Kartoffelpflanzen einzelne Stämme zu isolieren, die eine Schutzfunktion gegen den Oomyceten *Phytophthora infestans* ausüben (deVrieze et al., Front. Microbiology 2015). Zur umfassenden Beschreibung, zur Aufklärung von Wirkmechanismen und zur späteren gezielten Nutzung von Mikrobiomen oder einzelner MO im Sinne

eines Smart Farming Ansatzes (Schlaeppli & Bulgarelli, Mol Plant Microbe Interact., 2015) ist die Kernkompetenz im Bereich der bioinformatischen Datenanalyse und -integration zwingend notwendig.

Ziele und Forschungsfragen

Ein grundlegendes Ziel dieses Projekts ist die Sicherung der bisher im AFP MikBioDiv geleisteten Aufbauarbeiten des ANET-GB (Arbeitspaket4) sowie deren weiterer Ausbau mit Fokus auf die Analyse und Integration von Genom-, Metagenom- und Transkriptomdaten. Diese Kompetenz ist unerlässlich um eine Beschreibung und nachfolgende praktische Nutzung von Mikrobiomen/ einzelner MO im Rahmen von Smart Farming zu ermöglichen.

In teils enger Zusammenarbeit mit anderen Gruppen werden folgende Forschungsfragen verfolgt:

- 1) Methodenentwicklung für die Analyse moderat komplexer Metagenome anhand von „whole genome sequencing“ Daten (mögliche Partner: S. Irmeler, K. Schläppi, F. Widmer, A. Bühlmann; externe Partner).
Dieser Ansatz wurde während des AFP MikBioDiv initiiert (Dez. 2015) und soll weiterverfolgt werden. Es ist das Ziel moderat komplexe MO Mischungen bis hinunter zur Stammebene zu entschlüsseln, und zwar in einer sicheren in house Umgebung (keine Datenherausgabe an externe Webseiten). Eine Erweiterung auf komplexere Metagenome wird explorieren inwieweit eine potentiell bessere Auflösung als die von Amplicon-Seq-basierte Methoden erreicht werden kann. Somit könnten Mikrobiome genauer beschrieben und einzelne, praktisch nutzbare MO schneller identifiziert werden.
- 2) Weiterführung von de novo Genomassemblierung und -annotierung von relevanten MO (mögliche Partner: F. Freimoser, K. Schläppi, J. Frey, C. Pelludat, F. Widmer, J. Hummerjohann, D. Drissner; externe Partner).
Ausgewählte MO wie zB Quarantäneorganismen, Stämme mit Biocontrol Potential, potentielle Indikatorspezies, Stämme mit interessantem Antibiotikaresistenzprofil, oder Stämme die gewünschte Eigenschaften bei der Fermentierung von Lebensmitteln aufzeigen werden im Rahmen von Kollaborationsprojekten sequenziert, annotiert, genauer beschrieben und publiziert. Untersuchungen zu Wirkmechanismen (siehe Punkt 4) können somit auf der bestmöglichen Basis durchgeführt werden. Die Methoden werden in Richtung komplexere Organismen erweitert. Synergien mit DM Projekten (SNF Proteogenomik zur verbesserten Genomannotierung) werden gezielt genutzt.
- 3) Aufbau von Kompetenzen im Bereich vergleichende Genomik (mögliche Partner: L. Weisskopf, K. Schläppi, F. Freimoser; weitere interne und externe Partner).
Aufbau von Kompetenzen um anhand von Genomsequenzen einer Vielzahl von Stämmen der gleichen Art Rückschlüsse auf spezifische Funktionen einzelner Stämme machen zu können, die somit zB eine zielgerichtete Auswahl der bestgeeignetsten MO für praktische Anwendungen (Biocontrol; Synergieeffekte synthetische communities) ermöglichen können.
- 4) Aufbau einer Pipeline zur Analyse von Transkriptomdaten (mögliche Partner: F. Freimoser, K. Schläppi, L. Weisskopf, ext. Partner).
Aufbau einer Pipeline zur differentiellen Genexpressionsanalyse und zur Aufklärung bzw. dem Verständnis von Wirkmechanismen von potentiellen Biocontrolstämmen (F. Freimoser, K. Schläppi; weitere interne und externe Partner). Gemäss dem Credo des Team G&B „vom Genom zur Funktion“ ist diese Kompetenz essentiell um von der Genomsequenz einer Art zur Identifikation von Genen oder Pathways zu gelangen, die für eine bestimmte Funktion (zB antagonistische Wirkung versus keine) relevant sind. Solche Wirkmechanismen können dann gezielt an anderen potentiell ebenfalls nützlichen MO sehr schnell untersucht werden, um die bestgeeignetsten MO zu identifizieren.
- 5) Methodenentwicklung im Bereich bioinformatische Datenanalyse und -integration. (mögliche Partner: interne Gruppen & ausgewählte Gruppen vom Schweizer Institut für Bioinformatik, SIB)
Das Genomik & Bioinformatik Kernteam verfolgt den Ansatz frei verfügbare open source Softwarelösungen zu nutzen (Vorteil: keine Kosten), und einige davon in Form von „Pipelines“ die eine wichtige Kernkompetenz abdecken (zB Genomassemblierung; Transkriptomanalyse) zusammenzuführen und im Rahmen von Forschungskollaborationen zur Verfügung zu stellen. Ein wichtiges Element ist es die Pipelines auf dem neuesten Stand zu halten und neue, bessere Algorithmen einzubauen. Ebenso werden im Rahmen der kollaborativen Pilotprojekte Daten integriert und versucht für jedes Projekt einen signifikanten Mehrwert für den Forschungspartner zu erzielen.

Konkreter Beitrag zum SFF Nr. 8 (in wenigen Sätzen den konkreten Beitrag und die neuen Erkenntnisse zum SFF beschreiben, dies mit einem klaren inhaltlichen Bezug zu den Forschungsfragen im SFF)

Sicherung und weiterer Ausbau der wichtigen Kernkompetenzen im Bereich Datenanalyse und -integration. Entwicklung von Methoden die eine sichere Analyse der Daten in house ermöglichen. Weiterführung der breiten Kollaboration mit Partnern mit dem Ziel hochrelevante MO zu sequenzieren, Wirkmechanismen zu verstehen und Interaktionen zwischen den wichtigsten Mitspielern von MB zu verstehen.

Beitrag zu maximal 3 weiteren SFF (in wenigen Sätzen den konkreten Beitrag zu den Forschungsfragen im SFF beschreiben)
zu SFF Nr. 5: Sequenzierung, und -annotierung von MO die Kulturpflanzen vor Pathogenen schützen, Analysemethoden zur Aufklärung der Wirkmechanismen. Beitrag zu nachhaltigem, integrierten Pflanzenschutzkonzept mit natürlich vorkommenden MO (Nützlingen); Erhöhung des Ertrags durch Minimierung des „yield gap“ via Einsatz von Mikrobiomen.
zu SFF Nr. 15: Identifizierung von Indikatorspezies zur Beurteilung von Bodenqualität, Untersuchung der Funktion wichtiger MO in der Rhizosphäre; Exploration der Funktion von synthetic communities, Identifizierung minimaler aber funktioneller Mikrobiome.
zu SFF Nr. 9: Sequenzierung antibiotikaresistenter Stämme. Weiterführung Kollaborationsprojekte im Bereich Antibiotikaresistenzforschung mit internen und externen Partnern: Identifizierung dringend benötigter neuer Antibiotika mit neuen Wirkmechanismen; Untersuchung der Mechanismen der Biofilmbildung.

Hauptnutzen für Biolandbau (falls Beitrag, in wenigen Sätzen den konkreten Beitrag beschreiben)
Das Verständnis von Wirkmechanismen wird es ermöglichen funktionell relevante MO aus komplexen Mikrobiomen zu identifizieren und zu charakterisieren. Die so identifizierten Arten können auch im Biolandbau zur Entwicklung neuer Pflanzenschutzprodukte genutzt werden.

Material und Methoden (grob skizziert)
Genomsequenzierung (Illumina MiSeq, PacBio, Oxford Nanopore) Assemblierung (open source Algorithmen), Annotierung (NCBI, in house, Synergie mit SNF Projekt Proteogenomik). Aufbau (benötigt unbedingt OB Stellen!) von Kernkompetenzen in den Bereichen: - Metagenomik (v.a. basierend auf kompletter Genomsequenzierung) - Transkriptomdatenanalyse (hier v.a. statistische Auswertung differenzielle Genexpressionsanalyse) - vergleichende Genomanalyse (comparative Genomics) - Identifizierung funktionell relevanter Gene, Proteine, Pathways (Mechanism of action) - Aufbau Pipeline zur Analyse von Proteomikdaten - Nutzung der Synergie mit SNF Antrag von C. Ahrens auf Proteogenomik für Genomannotationen. - Exploration Metabolomikdaten - Entwicklung neuartiger bioinformatischer Datenanalyse und -integrationsansätze im Bereich Functional Genomics, z. B. für Transposonmutagenesedaten

Literatur (neueste Kenntnisse, wenige eigene und fremde wissenschaftliche und praxisorientierte Publikation)
<ul style="list-style-type: none"> • De Vrieze M, Pandey P, Bucheli TD, Varadarajan AR, Ahrens CH, Weisskopf L, Bailly A. Volatile Organic Compounds from Native Potato-associated <i>Pseudomonas</i> as Potential Anti-oomycete Agents. <i>Front Microbiol.</i> 2015, 6:1295. • Urfer M, Bogdanovic J, Lo Monte F, Moehle K, Zerbe K, Omasits U, Ahrens CH, Pessi G, Eberl L, Robinson JA. A Peptidomimetic Antibiotic Targets Outer Membrane Proteins and Disrupts Selectively the Outer Membrane in <i>Escherichia coli</i>. <i>J Biol Chem.</i> 2016, 291(4):1921-32. • Remus-Emsermann MN, Schmid M, Gekenidis MT, Pelludat C, Frey JE, Ahrens CH, Drissner D. Complete genome sequence of <i>Pseudomonas citronellolis</i> P3B5, a candidate for microbial phyllo-remediation of hydrocarbon-contaminated sites. <i>Stand Genomic Sci.</i> 2016, 11:75. • Čuklina J, Hahn J, Imakaev M, Omasits U, Förstner KU, Ljubimov N, Goebel M, Pessi G, Fischer HM, Ahrens CH, Gelfand MS, Evguenieva-Hackenberg E. Genome-wide transcription start site mapping of <i>Bradyrhizobium japonicum</i> grown free-living or in symbiosis - a rich resource to identify new transcripts, proteins and to study gene regulation. <i>BMC Genomics.</i> 2016, 17:302. • Turnbull L, Toyofuku M, Hynen AL, Kurosawa M, Pessi G, Petty NK, Osvath SR, Cárcamo-Oyarce G, Gloag ES, Shimoni R, Omasits U, Ito S, Yap X, Monahan LG, Cavaliere R, Ahrens CH, Charles IG, Nomura N, Eberl L, Whitchurch CB. Explosive cell lysis as a mechanism for the biogenesis of bacterial membrane vesicles and biofilms. <i>Nat Commun.</i> 2016, 7:11220. • Lardi M, Murset V, Fischer HM, Mesa S, Ahrens CH, Zamboni N, Pessi G. Metabolomic Profiling of <i>Bradyrhizobium diazoefficiens</i>-Induced Root Nodules Reveals Both Host Plant-Specific and Developmental Signatures. <i>Int J Mol Sci.</i> 2016, 17(6): E815. • Hilber-Bodmer M, Schmid M, Ahrens CH, Freimoser FM. Competition assays and physiological experiments of soil and phyllosphere yeasts identify <i>Candida subhashii</i> as a novel antagonist of filamentous fungi. <i>BMC Microbiol.</i> 2017, 17(1):4.

- Marti R, Schmid M, Kulli S, Schneeberger K, Naskova J, Knøchel S, Ahrens CH, Hummerjohann J. Biofilm Formation Potential of Heat-Resistant Escherichia coli Dairy Isolates and the Complete Genome of Multidrug-Resistant, Heat-Resistant Strain FAM21845. Appl Environ Microbiol. **2017**,83(15): e00628-17.
- Omasits U, Varadarajan AR, Schmid M, Goetze S, Melidis D, Bourqui M, Nikolayeva O, Quebatte M, Patrignani A, Dehio C, Frey JE, Robinson MD, Wollscheid B, Ahrens CH. An integrative strategy to identify the entire protein coding potential of prokaryotic genomes by proteogenomics. Genome Research, in press, **2017**.

Teaser und Kurzzusammenfassung des Projektes für Kommunikation/Internet
 (Teasertext: max. 400 Zeichen; Kurzzusammenfassung: max. 800 Zeichen inkl. Leerzeichen)

Die bioinformatische Datenanalyse und -integration von Metagenom-, Genom- und Expressionsdaten ist eine essentielle Voraussetzung um komplexe Mikrobiome umfassend zu beschreiben, sowie einzelne, funktionell relevante Mikroorganismen praktisch zu nutzen, wie z.B. als Schutz vor Schädlingen (Biocontrol), als Indikatorspezies für die Qualität eines Bodens oder eines fermentierten Lebensmittels.

Die mikrobielle Biodiversität hat eine fundamentale Bedeutung für die Funktion von Ökosystemen. Mikrobiome (MB), d.h. die Gesamtheit der Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Archaeen, Viren), können z. B. Pflanzen- und Tiergesundheit unterstützen, natürliche Schädlingskontrolle verbessern, Nährstoffkreisläufe beschleunigen, sowie die Veredelung landwirtschaftlicher Erzeugnisse durch Fermentation ermöglichen.

Zur umfassenden Beschreibung, zur Aufklärung von Wirkmechanismen und zur späteren gezielten Nutzung von Mikrobiomen oder einzelner MO im Sinne einer integrierten Produktion sind Kompetenzen der bioinformatischen Datenanalyse und -integration zwingend notwendig. Dies umfasst die Prozessierung, Analyse und Integration von Metagenom-, Genom-, Expressions- und weiteren Functional Genomicsdaten.

Genehmigung des Projektes

Datum: 31.08.2017	Visum FGL: frju
Datum: 31.10.2017	Visum FBL / KBL: jucr
Datum: 31.10.2017	Visum V SFF: jucr



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für
Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF
Agroscope

Arbeitsprogramm

Projektnummer

AP 2018-2021

18.08.18.03.01

Kurzbegriff/Projektkronym (max. 20 Zeichen)

MikBiodivFood

Nr. Bereich.

18 Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln

Nr. Gruppe

18.3 Kulturen, Biodiversität und Terroir

Projektleitung/Stellvertretung

Hans-Peter Bachmann / Stefan Irmeler

Projektdauer

Projektstart

Projektende

4 Jahre

2018

2021

Projekt

Total Arbeitstage ohne Drittmittel	3360
Beitrag zu SFF	8
Beitrag zu weiteren SFF	10, 9, 4

Bedürfniserhebung: Beitrag zu Anliegen Nr.	SFF08: 17.10, 17.30, 17.35 / SFF10: 17.9, 17.16, 17.40 / SFF 09: 8.7, 23.143
Projekt enthält Arbeiten mit Drittmitteln	<input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
Projekt enthält Beitrag zu Biolandbau	<input checked="" type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein

Titel Originalsprache

Nutzung der genetischen und metabolischen Vielfalt von Mikroorganismen für fermentierte Lebensmittel

Nutzung der genetischen und metabolischen Vielfalt für fermentierte Lebensmittel

Use of genetic and metabolic diversity for fermented food

Microbial diversity, genetic diversity, metabolic diversity, fermented food

Ausgangslage und Problemstellung

Schätzungsweise ein Drittel aller Lebensmittel werden fermentiert. Die Mikrobiom-Forschung am Menschen zeigt deutlich auf, wie wichtig ein vielfältiges Darm-Mikrobiom für die physische und psychische Gesundheit ist. Die mikrobielle Biodiversität in fermentierten Lebensmitteln kann wesentlich zur Vielfalt im Darm-Mikrobiom beitragen.

Agroscope verfügt in Liebefeld über eine Stammsammlung mit mehr als 10'000 Isolaten von Mikroorganismen die hauptsächlich aus Schweizer Milchprodukten (Milch, Fettsirte, Käse, etc.) isoliert wurden. Da diese Mikroorganismen zu einem wesentlichen Teil zu einer Zeit isoliert wurden, als noch von Hand gemolken wurde und keine Antibiotika für die Bekämpfung von Euterentzündungen zur Verfügung standen, ist die Vielfalt in der Stammsammlung sehr hoch. Diese ursprüngliche Biodiversität bildet eine weltweit einzigartige Grundlage für die Erforschung und Entwicklung neuer mikrobieller Kulturen für fermentierte Lebensmittel. Fermentation bewirkt, dass Inhaltsstoffe abgebaut und neu synthetisiert werden. Dadurch werden Lebensmittel haltbarer (sicherer), genussvoller (Aromastoffe), leichter verdaulich und erhalten gesundheitsfördernde Eigenschaften (Vitamine, essentielle Aminosäuren, ungesättigte Fettsäuren etc.). Zudem können toxische Verbindungen (wie z.B. biogene Amine) abgebaut und antimikrobielle Substanzen gebildet werden.

Die Sequenzierung des Erbguts der Mikroorganismen liefert wertvolle Informationen, die für die Entwicklung von Kulturen verwendet werden können. Im Rahmen des Agroscope Forschungsprogramms „Mikrobielle Biodiversität“ sowie verschiedener Drittmittelprojekte wurden wichtige Kernkompetenzen in Genom-Sequenzierung sowie der nachgeschalteten Datenanalyse auf- und ausgebaut. Von mehr als 600 Stämmen wurden die Sequenzen bestimmt und in einer Datenbank namens "Dialact" gespeichert.

Die Genomanalysen werden zurzeit hauptsächlich in Kollaboration mit der Universität Bern ausgeführt. Eine engere Zusammenarbeit mit der Gruppe "Molekulare Diagnostik, Genomik und Bioinformatik" ist etabliert, aber mangels personeller Ressourcen begrenzt.

Durch die Kombination von sequenz-basierten (in silico) mit physiologischen (in vitro) Methoden können evidenz-basierte Kulturenmischungen entwickelt werden, die sich vielfältig für eine bessere Qualität und erhöhte Sicherheit in fermentierten Lebensmitteln, wie z.B. für Schweizer Käse, einsetzen lassen. Diese Vielfalt phänotypischer Ausprägungen mit genomischen Unterschieden in Zusammenhang zu bringen erfordert ein vertieftes Verständnis. Daher soll der Fokus in den nächsten Jahren verstärkt auf die Entwicklung von neuen Methoden zur Unterscheidung von Stämmen (phäno- und genotypisch) und zur Beschreibung von Interaktionen innerhalb eines Mikrobioms einer komplexen Kultur sowie zwischen Bakterien und Bakteriophagen gelegt werden.

Unter anderem sollen dazu auch Knockout-Methoden wie homologe Rekombination und die CRISPR/Cas-Technologie zum Einsatz kommen. Das Nuklease-System CRISPR/Cas - oft auch als molekulare Schere bezeichnet - ist das Werkzeug der Wahl, wenn es darum geht, Veränderungen im Erbgut von Mikroorganismen und Pflanzen präzise, schnell und kostengünstig durchzuführen. CRISPR/Cas ist für die Forschung ein fantastisches Werkzeug, um herauszufinden, welche Gene wofür verantwortlich sind. So kann die Methodik z.B. verwendet werden, um ganz gezielt bestimmte Gene auszuschalten und anschliessend den Phänotyp zu bestimmen.

Ziele und Forschungsfragen

Ziele

- Schnellere und spezifische diagnostische, qualitative und quantitative Methoden zur Detektion von Mikroorganismen (bis auf Stamm-Ebene) und deren Eigenschaften sind entwickelt.
- Die Stammsammlung von Liebefeld und die damit verbundenen Datenbanken sind gepflegt und stehen für die Reproduktion von Kulturen sowie für die Forschung und die Kulturentwicklung zur Verfügung.
- Knockout-Methoden für Milchsäurebakterien wie z.B. homologe Rekombination und Crispr/Cas werden innerhalb von Agroscope angewendet, evaluiert und etabliert.
- Wir (Agroscope) sind anerkannte Wissensträger für fermentierte Lebensmittel und machen den Wissenstransfer in die Praxis, in die Lehre, zu den Behörden und in die Öffentlichkeit.

Forschungsfragen

- Mit welchen neuen Methoden können Stämme in komplexen mikrobiellen Kulturen (Rohmischkulturen, Fettsirtenkulturen) unterschieden werden? Wie lässt sich die Dynamik mikrobieller Populationen in Starterkulturen verfolgen und welchen Einfluss hat dies auf ihre Robustheit und ihren Phänotyp? Mit welchen Methoden können Veränderungen und Interaktionen innerhalb eines Mikrobioms einer komplexen Kultur bei der Herstellung und der Reifung von fermentierten Lebensmitteln bestimmt werden?
- Welchen Einfluss üben ausgewählte, heute noch ungenügend erforschte, Bakterien (z. B. *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus acidilactici*) und deren Interaktionen mit anderen Bakterien auf den Reifungsverlauf von fermentierten Lebensmitteln, wie z.B. Hartkäse aus? Wie schnell verändern sich deren Genome und welchen Einfluss hat dies auf den Phänotyp?
- Gibt es innerhalb der natürlichen mikrobiellen Biodiversität von komplexen Kulturen für fermentierte Lebensmittel bisher unbekannte oder unterschätzte Bakterienstämme oder Interaktionen, die für technologische Fragestellungen (z.B. Autolyse, Proteolyse, Phagenresistenz, antimikrobielle Eigenschaften, Verminderung biogener Amine) interessant sind?
- Welche neuen enzymatischen bzw. fermentativen Prozesse können mittels der Nutzung der vorhandenen Genomdaten entwickelt werden?
- Wie spezifisch sind Knockout-Methoden für Milchsäurebakterien? Können mit diesen Methoden – vor allem mit der CRISPR/Cas-Technologie – unerwünschte Gene wie z.B. Antibiotika-Resistenz- oder toxin-codierende Gene entfernt werden? Welchen Einfluss haben Knockouts auf den Phänotyp und die Genomstabilität? Wie verhalten sich Knockout-Mutanten in Starterkulturen?

Konkreter Beitrag zum SFF Nr. 8 (in wenigen Sätzen den konkreten Beitrag und die neuen Erkenntnisse zum SFF beschreiben, dies mit einem klaren inhaltlichen Bezug zu den Forschungsfragen im SFF)

- Entwicklung von Methoden zur Charakterisierung der Eigenschaften von nützlichen Mikroorganismen aus der Stammsammlung von Liebefeld für ihren Einsatz in fermentierten Lebensmitteln (z. B. Säure- und Aromabildung, Stammdifferenzierung, Proteolyse, Exopolysaccharid-Bildung, Phagenresistenz und Bakteriozinbildung).
- Erkennung von neuen Eigenschaften und Interaktionen von Milchsäurebakterien und Propionsäurebakterien, um bei fermentierten Lebensmitteln die Sicherheit zu steigern und die Qualität zu verbessern.
- Pflege und Weiterentwicklung (durch zusätzliche Stämme, z.B. wie *Lactobacillus helveticus*) der Stammsammlung inklusive der Genomdaten von Liebefeld.

Beitrag zu maximal 3 weiteren SFF (in wenigen Sätzen den konkreten Beitrag zu den Forschungsfragen im SFF beschreiben)

zu SFF Nr.10: Schaffung von wissenschaftlichen Grundlagen, Erkennung des Potenzials in der Stammsammlung und Entwicklung von neuen Methoden für die Entwicklung von neuen mikrobiellen Kulturen, für die Förderung der Qualität von fermentierten Lebensmitteln (mit einem Fokus auf Käse), für Innovationen sowie für die Minimierung von Verlusten (weniger Food-Loss bei optimierte Käsereifung, weniger Käsefehlern usw.).

Ausgewählte wissenschaftliche Grundlagen (Genomdaten, Stammidentifikation, Interaktionen, Phänotyp) können auch bei der Bestimmung des Einflusses von fermentierten Lebensmitteln auf den Stoffwechsel und das Mikrobiom vom Menschen hilfreich sein.

Die seit Jahren bestens etablierte Zusammenarbeit mit den thematisch verwandten Projekten Käse-Mikrobiom (18.10.18.2.01), Käsequalität (18.10.18.2.02), Kulturentwicklung (18.10.18.3.02), Biopréservation (18.10.18.3.03) und Fermentomics (18.10.18.5.01) wird im Arbeitsprogramm 2018-21 fortgesetzt.

zu SFF Nr. 9: Schaffung von wissenschaftlichen Grundlagen, Erkennung des Potenzials in der Stammsammlung und Entwicklung von neuen Methoden für die Entwicklung von Schutzkulturen zur Erhöhung der Lebensmittelsicherheit von fermentierten Lebensmitteln, in enger Zusammenarbeit mit den Projekten DairyFoodSafety (Projekt 18.09.18.4.01) und Challenge Tests Fleisch (Projekt 18.09.18.4.01).

zu SFF Nr. 4: Schaffung von wissenschaftlichen Grundlagen, Erkennung des Potenzials in der Stammsammlung und Entwicklung von neuen Methoden für die Fermentation von proteinhaltigen Nahrungsmitteln (Freisetzung von essentiellen Aminosäuren, Verbesserung der Bioverfügbarkeit).

Hauptnutzen für Biolandbau (falls Beitrag, in wenigen Sätzen den konkreten Beitrag beschreiben)

Die Erkenntnisse sind auch bei der Herstellung von fermentierten Lebensmittel mit Bio-Label anwendbar.

Material und Methoden (grob skizziert)

- Next-Generation Sequencing Technology (Ion Torrent, illumina, PacBio)
- Bioinformatic Tools und Linux-basierte Computer (Genomics Workbench, Prokka, Roary, diverse Assembler, 'Phenotype-Genotype Matching')
- Hochdurchsatz-Methoden für die Bestimmung des Phänotyps, wie z.B. Biolog
- Chromatographische Methode (Dünnschicht- und Flüssigchromatographie)
- Fotometrie und Spektroskopie für Enzymatik
- Massenspektrometrie (hauptsächlich Proteinidentifikation)
- Durchflusszytometrie
- Fermentationstechnologie
- Gentechnologische Methoden wie z.B. Knockout, Gensynthese, Klonierung, Transformation, Expression, Proteinreinigung und -charakterisierung

Literatur (neueste Kenntnisse, wenige eigene und fremde wissenschaftliche und praxisorientierte Publikation)

- Stefanovic, E., Fitzgerald, G., & McAuliffe, O. (2017). Advances in the genomics and metabolomics of dairy lactobacilli: A review. *Food Microbiology*, 61, 33-49.
- Moser, A., Berthoud, H., Eugster, E., Meile, L., & Imler, S. (2017). Detection and enumeration of *Lactobacillus helveticus* in dairy products. *International Dairy Journal*, 68, 52-59.
- Wüthrich, D., Berthoud, H., Wechsler, D., Eugster, E., Imler, S., & Bruggmann, R. (2017). The histidine decarboxylase gene cluster of *Lactobacillus parabuchneri* was gained by horizontal gene transfer and is mobile within the species. *Frontiers in Microbiology*, 8.
- Eugster-Meier, E., Imler, S., Shani, N., Meola, M., & Berthoud, H. (2016). Die mikrobielle Biodiversität in Rohmilchkäse. *Lebensmittel-Technologie*, 9, 10-11.
- Bogicevic, B., Berthoud, H., Portmann, R., Bavan, T., Meile, L., & Imler, S. (2016). Cysteine biosynthesis in *Lactobacillus casei*: identification and characterization of a serine acetyltransferase. *FEMS Microbiology Letters*, 363.
- Sun, Z., Harris, H. M., McCann, A., Guo, C., Argimon, S., Zhang, W., Yang, X., Jeffery, I. B., Cooney, J. C., Kagawa, T. F., Liu, W., Song, Y., Salvetti, E., Wrobel, A., Rasinkangas, P., Parkhill, J., Rea, M. C., O'Sullivan, O., Ritari, J., Douillard, F. P., Paul Ross, R., Yang, R., Briner, A. E., Felis, G. E., de Vos, W. M., Barrangou, R., Klaenhammer, T. R., Caufield, P. W., Cui, Y., Zhang, H., & O'Toole, P. W. (2015). Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nat Commun*, 6, 8322.
- Pogačić, T., Maillard, M.-B., Leclerc, A., Hervé, C., Chuat, V., Valence, F., & Thierry, A. (2015). *Lactobacillus* and *Leuconostoc volatiles* in cheese conditions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 2335-2346.
- Kelleher, P., Murphy, J., Mahony, J., & van Sinderen, D. (2015). Next-generation sequencing as an approach to dairy starter selection. *Dairy Science & Technology*, 95, 545-568.
- Zheng, J., Ruan, L., Sun, M., & Gänzle, M. (2015). A genomic view of lactobacilli and pediococci demonstrates that phylogeny matches ecology and physiology. *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 7233-7243.
- Wolfe, Benjamin E., & Dutton, Rachel J. (2015). Fermented foods as experimentally tractable microbial ecosystems. *Cell*, 161, 49-55.
- Montel, M. C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N., & Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136-154.
- Mayo, B., Rachid, C. T., Alegria, A., Leite, A. M., Peixoto, R. S., & Delgado, S. (2014). Impact of next generation sequencing techniques in food microbiology. *Curr Genomics*, 15, 293-309.

- Smid, E. J., & Kleerebezem, M. (2014). Production of aroma compounds in lactic fermentations. Annual Review of Food Science and Technology, 5, 313-326.
- Fuchsmann, P., Irmeler, S., & Breme, K. (2013). Volatile sulphur compounds in cheeses - an odorous analytical challenge. Chimia, 67, 610.
- Irmeler, S., Bavan, T., Oberli, A., Roetschi, A., Badertscher, R., Guggenbühl, B., & Berthoud, H. (2013). Catabolism of serine by *Pediococcus acidilactici* and *Pediococcus pentosaceus*. Applied and Environmental Microbiology, 79, 1309-1315.
- Bogicevic, B., Irmeler, S., Portmann, R., Meile, L., & Berthoud, H. (2012). Characterization of the *cysK2-ctf1-cysE2* gene cluster involved in sulfur metabolism in *Lactobacillus casei*. International Journal of Food Microbiology, 152, 211-219.
- Irmeler, S., Bavan, T., & Guggenbühl, B. (2011). Aminosäurestoffwechsel von *Pediococcus* aus Käse. DMW - Die Milchwirtschaft, 20, 695-697.
- Turgay, M., Irmeler, S., Isolini, D., Amrein, R., Fröhlich-Wyder, M.-T., Berthoud, H., Wagner, E., & Wechsler, D. (2011). Biodiversity, dynamics, and characteristics of *Propionibacterium freudenreichii* in Swiss Emmentaler PDO cheese. Dairy Science & Technology, 91, 471-489.
- Grens K, (2015) There's CRISPR in your yogurt. The Scientist 29
- Selle, K., & Barrangou, R. (2015). CRISPR-based technologies and the future of food science. Journal of Food Science, 80, R2367-R2372
- Opinion on the legal classification of New Plant Breeding Techniques, in particular ODM and CRISPR-Cas9. In. (2015) B. f. V. u. Lebensmittelsicherheit (Ed.).
- Oh, J. H., & van Pijkeren, J. P. (2014). CRISPR-Cas9-assisted recombineering in *Lactobacillus reuteri*. Nucleic Acids Research.
- Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. Science, 346, 1258096.
- Jiang, W., Bikard, D., Cox, D., Zhang, F., & Marraffini, L. A. (2013). RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. Nat Biotechnol, 31, 233-239.
- Horvath, P., Coute-Monvoisin, A. C., Romero, D. A., Boyaval, P., Fremaux, C., & Barrangou, R. (2009). Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes. International Journal of Food Microbiology, 131, 62-70.
- Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau, H., Richards, M., Boyaval, P., Moineau, S., Romero, D. A., & Horvath, P. (2007). CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. Science, 315, 1709-1712.
- Bogicevic, B., Berthoud, H., Portmann, R., Meile, L., & Irmeler, S. (2012). *CysK* from *Lactobacillus casei* encodes a protein with O-acetylserine sulfhydrylase and cysteine desulfurization activity. Applied Microbiology and Biotechnology, 94, 1209-1220.
- Bogicevic, B., Berthoud, H., Portmann, R., Bavan, T., Meile, L., & Irmeler, S. (2016). Cysteine biosynthesis in *Lactobacillus casei*: identification and characterization of a serine acetyltransferase. FEMS Microbiology Letters, 363.
- Irmeler, S., Raboud, S., Beisert, B., Rauhut, D., & Berthoud, H. (2008). Cloning and characterization of two *Lactobacillus casei* genes encoding a cystathionine lyase. Applied and Environmental Microbiology, 74, 99-106.
- Knoll, C., du Toit, M., Schnell, S., Rauhut, D., & Irmeler, S. (2010). Cloning and characterization of a cystathionine b- γ -lyase from two *Oenococcus oeni* oenological strains. Applied Microbiology and Biotechnology, 89, 1051-1060.

Teaser und Kurzzusammenfassung des Projektes für Kommunikation/Internet
 (Teasertext: max. 400 Zeichen; Kurzzusammenfassung: max. 800 Zeichen inkl. Leerzeichen)

Die mikrobielle Biodiversität ist allgemein sehr gross und wird heute noch ungenügend verstanden. Dies gilt auch für fermentierte Lebensmittel, vor allem wenn sie ohne Hitzebehandlung (z.B. Rohmilchkäse, Rohwürste) und mit nicht definierten Starterkulturen hergestellt wurden. Das Projekt will die Biodiversität erkennen, erhalten, verstehen und wissenschaftliche Grundlagen für ihre Nutzung erarbeiten.

Die mikrobielle Biodiversität ist allgemein sehr gross und wird heute noch ungenügend verstanden. Dies gilt auch für fermentierte Lebensmittel, vor allem wenn sie ohne Hitzebehandlung (z.B. Rohmilchkäse, Rohwürste) und mit nicht definierten Starterkulturen hergestellt wurden. Das Projekt will die mikrobielle Biodiversität erkennen, Interaktionen erforschen und den Einfluss von Phagen verstehen. Im Rahmen der bestehenden Stammsammlung soll die Vielfalt erhalten und gepflegt werden. Mittels wissenschaftlicher Grundlagen, Erkennung des Potenzials in der Stammsammlung und Entwicklung von neuen Methoden sollen Potenziale für die Nutzung aufgezeigt werden, um die Qualität und die Sicherheit der fermentierten Lebensmittel zu erhöhen, neue mikrobielle Kulturen zu entwickeln und Innovationen zu fördern.

Genehmigung des Projektes

Datum: 22.08.2017	Visum FGL: lupe
Datum: 22.08.2017	Visum FBL / KBL: a.i. waba
Datum: 31.10.2017	Visum V SFF: jucr