

Agroscope Forschungsprogramm „Mikrobielle Biodiversität“

Die Agroscope Forschungsprogramme (AFP) dienen dazu, besonders relevante und zukunftssträchtige Forschungsgebiete durch zusätzliche Mittel gezielt zu fördern. Sie tragen der ständig wachsenden Bedeutung der interdisziplinären Forschung Rechnung und haben das Ziel, den Transfer von Erkenntnissen aus der praxisrelevanten Grundlagenforschung in die problem- und anwendungsorientierte Forschung zu verstärken und dadurch einen konkreten praktischen Nutzen für die Schweizer Land- und Ernährungswirtschaft zu erreichen.

Programmbeschreibung

1. KURZBESCHREIBUNG: Eine Welt voller Mikroorganismen



Abbildung. 1: Die Erde mit all ihren Ökosystemen, Habitaten und dem dafür angepassten Leben. Aufgenommen von Apollo 17 am 7. Dezember 1972 (Wikipedia).

Die Biodiversität umfasst die globale Vielfalt der Ökosysteme und aller darin lebenden Organismen; sie setzt sich zudem auch mit den Wechselwirkungen innerhalb und zwischen den Systemen auseinander. Die Mikroorganismen weisen die grösste Diversität aller Lebewesen auf und spielen in allen Ökosystemen eine fundamentale Rolle. Da die Mikroorganismen - wie der Name sagt - mikroskopisch klein sind, ist ihre Untersuchung und Beschreibung sehr schwierig. Nur von ganz wenigen Arten weiss man genau, welche Funktionen sie ausüben, die meisten sind noch unbekannt oder wenig erforscht.

In den letzten Jahren haben sich neue genetische Analysemethoden durchgesetzt, welche es erlauben, zum einen die Gesamtheit der Mikroorganismen in verschiedenen Ökosystemen als deren sogenannte „Mikrobiome“ zu beschreiben, zum anderen die Erbsubstanz (Genom) von mikrobiellen Stämmen zu entschlüsseln und dadurch erste Hinweise auf deren Funktionen zu erhalten.

Das AFP Mikrobielle Biodiversität‘ hat das Ziel, die Mikrobiome und Funktionen von Mikroorganismen in drei für die Land- und Ernährungswirtschaft relevanten Ökosystemen zu untersuchen und zu beschreiben. Diese Ökosysteme werden in drei Arbeitspaketen (AP) durch interdisziplinäre Zusammenarbeit von Forschenden der Agroscope Institute (siehe Abschnitt 7, KONTAKT) bearbeitet. **Arbeitspaket 1** bearbeitet das Mikrobiom des Bodens mit seinen vielfältigen Funktionen in der Landwirtschaft. Im **Arbeitspaket 2** wird das Mikrobiom der Pflanze analysiert. Pflanzen bilden eine zentrale landwirtschaftliche Erzeugnisgruppe, welche in verschiedenster Weise mit Mikroorganismen interagieren. In diesem Arbeitspaket sollen Mikroorganismen identifiziert werden, welche die Pflanzen günstig beeinflussen und zum Beispiel den Befall durch Pathogene vermindern. Im **Arbeitspaket 3** werden die Mikrobiome fermentierter Milchprodukte analysiert, welche wichtige Schweizer Landwirtschaftserzeugnisse sind. In einem zusätzlichen, **vierten Arbeitspaket** wird ein Agroscope-Netzwerk für Genomik und Bioinformatik (ANET-GB) aufgebaut, welches das methodische Know-how für die Agroscope Forschung sichern und ausbauen soll. Die Kompetenz der molekulargenetischen Diagnostik soll dadurch mittelfristig auf weitere Bereiche, jenseits des mikrobiellen Rahmens, ausgeweitet werden.

2. PROBLEMSTELLUNG: Die mikrobielle Biodiversität landwirtschaftlich relevanter Ökosysteme ist eine grosse Unbekannte

Der immense Wert der Biodiversität wird seit Längerem erkannt: Das Schweizerische Parlament sah sich 2008 veranlasst, die Erarbeitung einer 'Strategie Biodiversität Schweiz' in Auftrag zu geben. Die Strategie wurde am 25. April 2012 vom Bundesrat verabschiedet [1]. Ausgerechnet die diverseste aller Gruppen, die Mikroorganismen, hat in der „Strategie Biodiversität Schweiz“ bisher jedoch wenig bis gar keine Beachtung gefunden.

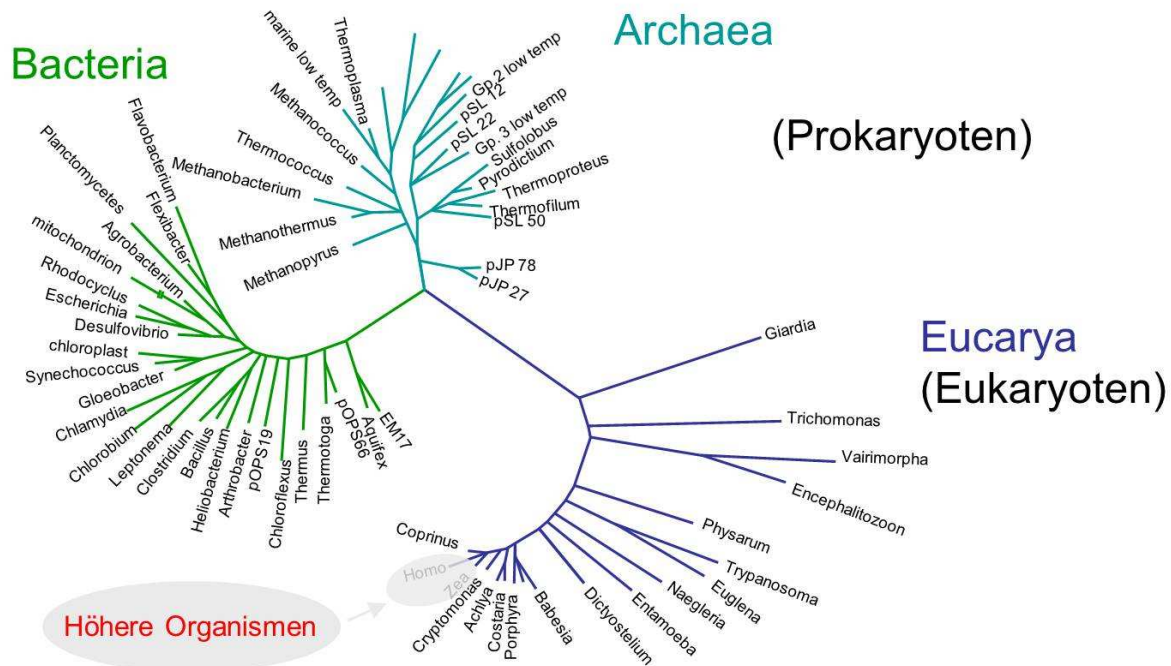


Abbildung 2: Der Baum des Lebens nach Norman Pace [2]. Farblich unterschieden sind die drei Domänen, in die alle Lebewesen eingeteilt sind: Bakterien (grün) und Archaea (türkis), die zu den Prokaryoten gehören, sowie Eukaryoten (blau). Dieser Baum macht deutlich, welch grossen Anteil die Mikroorganismen, besonders im Vergleich mit höheren Organismen (grau hinterlegte Fläche), an der Vielfalt des globalen Lebens haben.

Mit einer Grösse im Mikrometerbereich und damit für den Menschen nicht sichtbar, entgehen die Mikroorganismen oft unserer Aufmerksamkeit. Bei genauerem Analysieren erkennt man aber, dass sie allgegenwärtig sind und in grossen Zahlen vorkommen. So besiedeln den menschlichen Körper etwa 10 Mal mehr Bakterien, als er eigene Zellen besitzt (10^{13}) und in einem Gramm Boden können 10 Milliarden (10^{10}) Mikroorganismen leben – etwa so viele, wie es Menschen auf der Erde gibt. Wer in einer so unvorstellbar grossen Anzahl und schon so lange auf der Erde vorkommt - die ersten Mikroorganismen gab es schon vor Milliarden Jahren – muss eine fundamentale Rolle spielen. In der Tat sind etliche Prozesse bekannt, bei denen die Mikroorganismen eine wichtige Rolle spielen. So sind sie z.B. als Primärzersetzer für den Abbau von organischem Material im Boden, genauso wie für die Nährstoffzyklen, welche das Wachstum der Pflanzen massgeblich beeinflussen, verantwortlich. Seit Jahrtausenden werden Mikroorganismen in biotechnologischen Prozessen eingesetzt, um Lebensmittel herzustellen oder landwirtschaftliche Rohprodukte zu veredeln. Neueste Forschungsergebnisse haben gezeigt, dass die Biodiversität von Mikroorganismen sehr hoch ist und wir den grössten Teil nicht kennen und schon gar nicht für uns nutzbar machen. Die Erforschung der mikrobiellen Biodiversität liefert das notwendige Wissen, um natürlich vorkommende Mikroorganismen für eine nachhaltige Land- und Ernährungswirtschaft gezielt zu nutzen. Zum Beispiel wird das Ausbringen von bestimmten Bodenpilzen bereits dazu verwendet, gewisse Schadinsekten gezielt und langfristig im Feld zu kontrollieren [3]. Auch können pflanzenassoziierte Mikroorganismen zum Beispiel Krankheiten unterdrücken, das Wachstum stimulieren oder den Ertrag durch Mobilisierung von Nährstoffen erhöhen [4]. Im Bereich der Herstellung von Käse konnte gezeigt werden, dass die Anwendung einer Käseschmiere, die aus einer grossen Anzahl antagonistisch wirkender Mikroorganismen zusammengesetzt ist, zu einer Verbesserung der Lebensmittelsicherheit (Hemmung von Listerien) führte [5]. Um dieses langfristige Ziel zu erreichen, muss man jedoch zuerst die wichtigsten Mitspieler land- und ernährungswirtschaftlich relevanter Ökosysteme identifizieren, denn Änderungen in ihrer Zusammensetzung, Mengenverteilung

oder Aktivität können die komplexen Ökosysteme massgeblich beeinflussen.

Bei der Identifikation der Mikroorganismen eines Ökosystems gab es bisher ein grosses Hindernis: Mit den klassischen Kultivierungsmethoden kann man nur einen sehr kleinen Teil (manchmal sind es nur ca. 1%) der Mikroorganismen isolieren und beschreiben. Die überwiegende Mehrheit gilt als „nicht-kultivierbar“ und entzog sich daher lange Zeit einer Beschreibung. Erst mit den in jüngster Zeit aufkommenden molekularbiologischen Methoden, konnten die Gene der nicht-kultivierbaren Mikroorganismen isoliert und beschrieben werden. Diese „genetischen Fingerabdrücke“ haben zur Erkenntnis geführt, dass Mikroorganismen eine ungeahnte Biodiversität aufweisen, ihre Lebensräume in den verschiedensten Habitaten haben und dort Schlüsselstellungen einnehmen. Im Bereich der Humanmedizin wurden bereits grosse Fortschritte im Beschreiben des menschlichen Mikrobioms erzielt und die Rolle der Zusammensetzung des Mikrobioms sowohl bei der Entstehung von Krankheiten (z.B. Darmkrebs, Fettleibigkeit, Herz- und Gefässkrankheiten) als auch beim Schutz vor Krankheiten (z.B. durch Bakterien hervorgerufener Durchfall) konnte nachgewiesen werden [6]. Obwohl erste Resultate aus verschiedenen Umweltsystemen vorliegen, besteht hier aber noch ein grosser Nachholbedarf. Mit den heute verfügbaren analytischen Methoden lassen sich aber auch die Mikrobiome in Land- und Ernährungswirtschaftssystemen untersuchen und die assoziierten mikrobiellen Gemeinschaften bestimmen und dadurch eine grosse Unbekannte in Land- und Ernährungswirtschaftssystemen einer gezielten Nutzung näher bringen.

3. GEGENSTAND UND ZIELE: Untersuchung der Mikrobiome in ausgewählten Ökosystemen der Land- und Ernährungswirtschaft

Mit dem Forschungsprogramm „Mikrobielle Biodiversität“ erarbeitet Agroscope mit neuester Technologie vertiefte Erkenntnisse zur mikrobiellen Diversität in ausgewählten Ökosystemen der Land- und Ernährungswirtschaft. Der Fokus liegt in Bereichen, wo Mikroorganismen eine zentrale Rolle spielen aber viele Details unbekannt sind. Das Forschungsprogramm umfasst vier Hauptziele, die in jeweils separaten Arbeitspaketen bearbeitet werden:

Im Arbeitspaket „Mikrobiom des Bodens“ wird die Erforschung der mikrobiellen Biodiversität in verschiedenen für die Schweiz und die Landwirtschaft repräsentativen Böden und Systemen erfolgen, um das Zusammenspiel von Bodentyp, Bodennutzung und den im Boden lebenden Mikroorganismen besser zu verstehen. Das Ziel ist es, diese Information für eine umfassendere Beurteilung und Verbesserung der Bodenqualität nutzen zu können.



Abbildung 3: Im DOK-Versuch bei Therwil (BL) werden in einer Zusammenarbeit von Agroscope und FiBL seit 1978 verschiedene konventionelle und biologische Anbausysteme verglichen. Die Auswirkungen dieser Langzeiteinflüsse auf die mikrobiellen Gemeinschaften im Boden sind Gegenstand der aktuellen Forschung und werden auch im Rahmen des AFP „Mikrobielle Biodiversität“ untersucht (Bild: Agroscope & FiBL).

Im Arbeitspaket „Mikrobiom der Pflanze“ wird die auf der Pflanzenoberfläche vorkommende mikrobielle Biodiversität von Raigras, Kartoffel und Apfel untersucht. Der Einfluss des natürlichen Mikrobioms auf den Schutz der Pflanze vor Schädlingen und Pathogenen sowie dessen Stabilität gegen Umwelt-

oder anthropogene Einflüsse wird analysiert. Ziel ist es, das Pflanzenmikrobiom zur Hemmung von Pathogenen gezielt optimieren zu können.

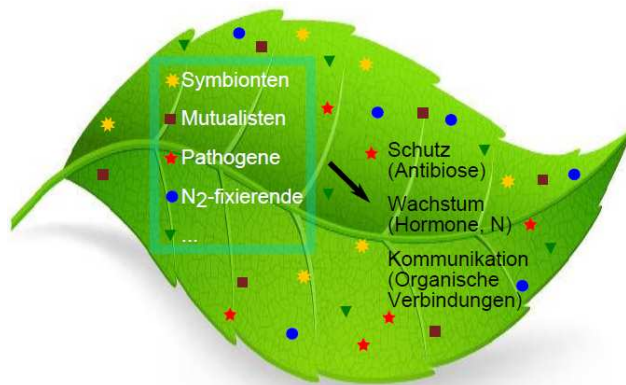


Abbildung 4: Pflanzenassoziierte Mikroorganismen und ihre Funktionen in der Pflanze und im Ökosystem (modifiziert nach [7]).

Im Arbeitspaket „Mikrobiom fermentierter Lebensmittel“ wird die Biodiversität, welche in der Agroscope Stammsammlung (Liebefeld, Wädenswil) repräsentiert ist und die des Ökosystems „Rohmilchkäse“ analysiert, und die mikrobiellen und biochemischen Vorgänge der Käsureifung sowie die Interaktionen der verschiedenen Bakterienspezies innerhalb der verschiedenen Rohmilchkäsetypen untersucht. Ziel ist es, selektiv Bakterien für die Herstellung von fermentierten Milchprodukten auswählen zu können damit die Milchverarbeiter hochwertige Rohmilchkäse mit verringerten Kosten und Fehlgärungen herstellen und Konsumenten sichere, aromatisch diverse fermentierte Milcherzeugnisse angeboten werden können.

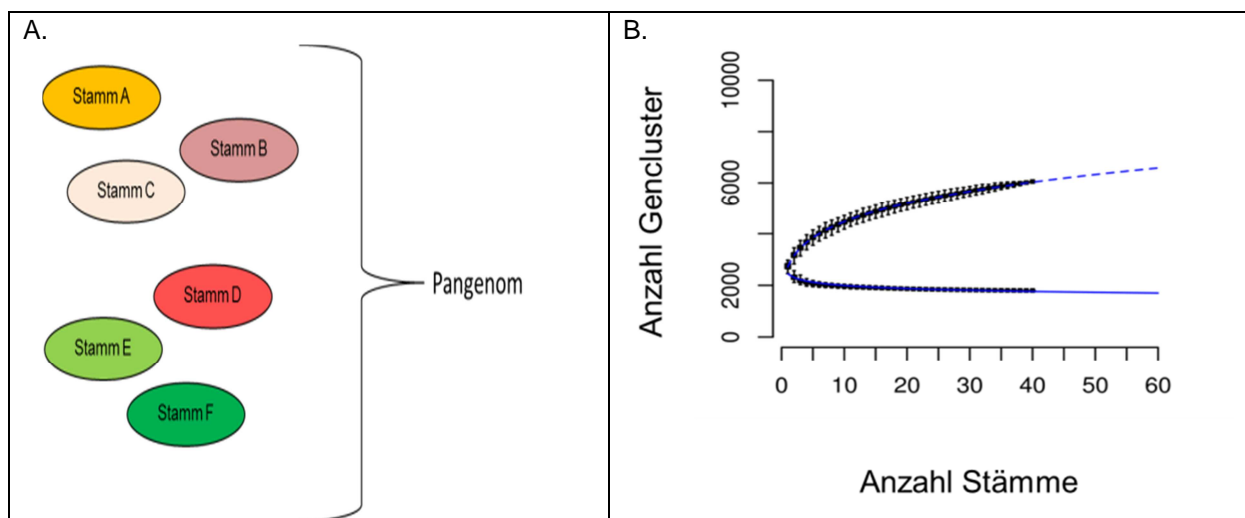


Abbildung 5. Das *Lactobacillus casei* Pangenom. Eine Hypothese besagt, dass Bakterien die Gesamtheit ihrer Gene über viele Stämme verteilen (Abbildung 3A.) und so Gene von Generationen erworben und verloren werden. Die Sequenzierung verschiedener *L. casei* Stämme der Agroscope Stammsammlung förderte immer wieder neue Gene zu Tage (Abbildung 5B). Die gestrichelte Linie zeigt die Summe aller Gene (das Pangenom), die mit jeder weiteren Genomsequenzierung eines *L. casei* Stammes identifiziert wurden. Die durchgezogene Linie symbolisiert die Anzahl Gene, die in allen Stämmen gemeinsam vorhanden sind. Die Untersuchungen bestätigen, dass die Summe aller Gene dieser Spezies tatsächlich über individuelle Stämme verteilt ist. Die Bedeutung dieser Genomdiversität in Milchsäurebakterien für fermentierte Lebensmittel wird im vorliegenden AFP eingehend untersucht.

Im Arbeitspaket „Genomik und Bioinformatik“ geht es um die Einrichtung eines Agroscope-weiten Experten-Netzwerkes und der entsprechenden Infrastruktur. Das Ziel ist es, Agroscope-Projekten die für die Datenaufarbeitung notwendige Infrastruktur zur Verfügung zu stellen und im Rahmen von Kollaborationsprojekten Planung, Durchführung und Datenanalyse optimal begleiten zu können. Darüber hinaus werden neuartige Ansätze zur Analyse und Integration von Daten entwickelt.

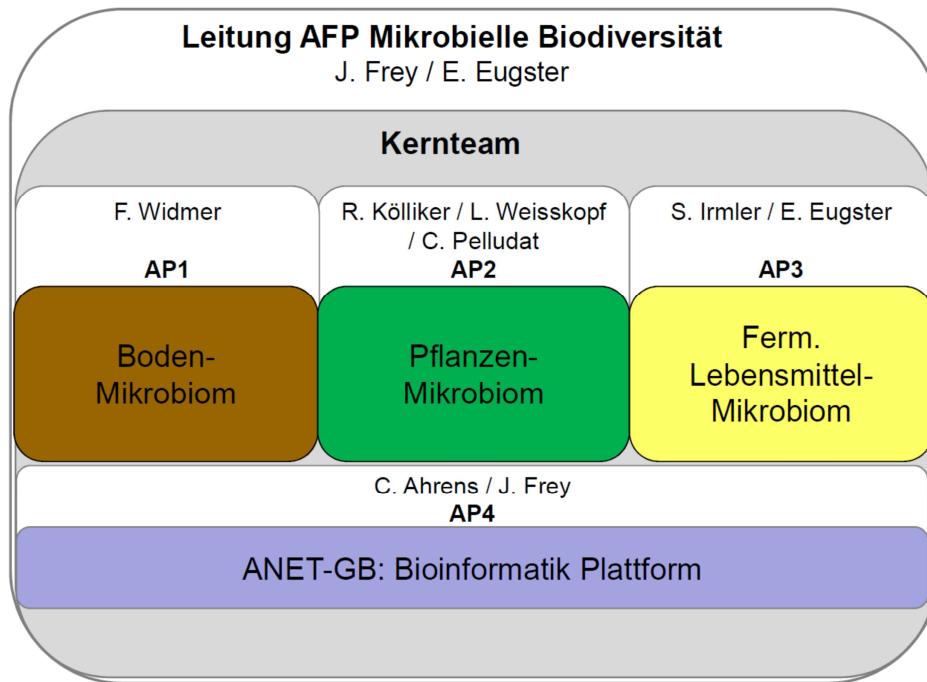


Abbildung 6: Organisationsstruktur des AFP Mikrobielle Biodiversität

4. METHODEN: Genomsequenzierung – die Methode der Wahl

Durch die rasante Technologieentwicklung in den letzten Jahren ist die molekularbiologische Diagnostik heute fähig, in kürzester Zeit und zu immer günstigeren Preisen ganze Genome zu entschlüsseln oder die Mikroorganismen eines Ökosystems zu identifizieren. Die Methoden zur massiven Entschlüsselung genetischer Information, die NGS (Next Generation Sequencing) ermöglichen es, die Abfolge der einzelnen Bausteine in einer DNS zu bestimmen. Dies bringt der Forschung den grossen Fortschritt, mikrobielle Gemeinschaften in den ausgewählten Systemen Boden, Pflanze und fermentierte Lebensmittel auf der Ebene der Erbsubstanz durch Genomsequenzierung (DNS-Seq) charakterisieren zu können, und auf der Ebene der aktiven, exprimierten Gene durch Transkriptomsequenzierung (RNS-Seq) die wichtigsten Gene identifizieren und quantifizieren zu können. Mit diesen Methoden entschlüsselt man auch die Komplexität mikrobieller Gemeinschaften (Metagenomsequenzierung), beschreibt ihre Aktivitäten in verschiedensten Ökosystemen und erkennt mögliche Veränderungen. Dies ist die Grundlage, um spezifische Funktionen von Mikroorganismen in unterschiedlichen Systemen der Land- und Ernährungswirtschaft zu erkennen, gezielt zu nutzen, zu fördern oder kontrollieren zu können.

5. INHALTLICHE GLIEDERUNG DES PROGRAMMS: Folgende Etappen sind geplant

Die Arbeiten im Agroscope Forschungsprogramm „Mikrobielle Biodiversität“ fokussieren zunächst auf die Etablierung der NGS Technologie und die für die Auswertung der generierten Daten notwendigen Analyseprozesse (ab Programmstart bis ungefähr Herbst 2015). Ebenfalls im Mittelpunkt der ersten Phase stehen die Probenentnahme in den ausgewählten Systemen und die Isolierung der zu untersuchenden DNS/RNS.

In der zweiten Phase geht es um die Identifikation, Bestimmung von Häufigkeit und Verbreitung einzelner Mikroorganismen oder Gene, ihre Beeinflussung durch Änderungen in der Umwelt und die daraus resultierende Einwirkung auf die jeweiligen Ökosysteme (Herbst 2015 bis ungefähr Herbst 2017). Die dritte Phase des Forschungsprogramms (Anfang 2016 bis Ende des AFP „Mikrobielle Biodiversität“ Mitte 2018) beschäftigt sich mit der Umsetzung der gewonnenen Erkenntnisse in ersten angewandten Versuchen, zum Beispiel, indem untersucht wird, ob einzelne Mikroorganismen oder Kombinationen von Mikroorganismen einen geeigneten Schutz gegen mikrobielle Schädlinge erwirken oder eine verbesserte Lebensmittelqualität erzielen können.

6. ERWARTETE ERGEBNISSE: Eine Reihe weiterer Fragestellungen...

Die im Forschungsprogramm „Mikrobielle Biodiversität“ erarbeiteten Daten bilden die Grundlage dafür, natürlich vorkommende Mikroorganismen gezielt für eine natürliche, nachhaltige Landwirtschaft, sowie für qualitativ hochwertige, sichere Landwirtschaftserzeugnisse nutzen, fördern und optimieren zu können. Die Erkenntnisse zur Biodiversität der ausgewählten Ökosysteme dienen Agroscope und auch interessierten Partnern als Basis für die Erforschung der mikrobiellen Biodiversität in weiteren Systemen, wie beispielsweise in der Tier- und Pflanzenforschung, der Entomologie oder der Nematologie. Agroscope verbindet mit dieser Forschung direkt modernste Technologie mit den Anforderungen einer modernen, nachhaltigen und umweltfreundlichen Landwirtschaft.

7. KONTAKT: die wichtigsten Ansprechpersonen

Vorname Name	Tel.	E-Mail (...@agroscope.admin.ch)	Agroscope Institut	Arbeits- paket	Bereich. Gruppe
Jürg Frey	058 460 63 32	juerg.frey	IPB	AP4	12
Elisabeth Eugster	058 465 58 88	elisabeth.eugster	ILM	AP3	32
Stefan Irmeler	058 465 81 55	stefan.irmeler	ILM	AP3	38.1
Franco Widmer	058 468 73 76	franco.widmer	INH	AP1	43.4
Martin Hartmann	058 468 71 22	martin.hartmann	INH	AP1	43.4
Roland Kölliker	058 468 73 45	roland.koelliker	INH	AP2	43.4
Laure Weisskopf	058 468 72 11	laure.weisskopf	INH	AP2	42.4
Cosima Pelludat	058 460 64 02	cosima.pelludat	IPB	AP2	13.1
Christian Ahrens	058 460 61 14	christian.ahrens	IPB	AP4	12.3

IPB = Institut für Pflanzenbauwissenschaften; ILM = Institut für Lebensmittelwissenschaften; INH = Institut für Nachhaltigkeitswissenschaften

8. LITERATURNACHWEIS

[1] www.sib.admin.ch/de/biodiversitaetskonvention/nationale-umsetzung/nationale-biodiversitaetsstrategie/index.html

[2] Pace, NR. A molecular view of the microbial diversity and the biosphere. 1997. *Science*, 276:734-740.

[3] Enkerli J, Widmer F, Keller S (2004). Long-term persistence of *Beauveria brogniartii* strains applied as biocontrol agents against European cockchafer larvae in Switzerland. *Biological Control* 29:115-123.

[4] Berg G, Grube M, Schlöter M, Smalla K. Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives. 2014. *Frontiers in Microbiology*, 5:148.

[5] Roth E. Control of *Listeria* contamination on the surface of semi-hard cheeses by natural smear ecosystems and protective cultures, Diss. ETH Nr. 18644, Zürich 2009.

[6] Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. 2012. *Nature Reviews Genetics*, 13:260-270.

[7] Penuelas J, Terradas J. The foliar microbiome. 2014. *Trends in Plant Science*, 19:278-280.