

Analysis of metabolites produced by endophytic *Pseudomonas* bacteria with relevance for biocontrol and plant growth promotion of crop plants

Caroline Worring

Fakultät für Chemie- Biofilm Centre
Home Supervisor: Prof. Dr. Bettina Siebers

Arbeitsgruppe

EnviroCORE: Centre of Research and Enterprise in BioEnvironmental Technologies

- Institute of Technology Carlow
- Irland

Erforschung von

- Phyto- und Biotechnologie in der Landwirtschaft
- Aufbereitung landwirtschaftlicher Abfälle und Abwässer
- Microorganismen der Rhizosphäre zur Verbesserung landwirtschaftlicher Nutzpflanzen

Host Supervisor: Dr. David Dowling

Hintergrund der Arbeit I

Pilzbefall in der Landwirtschaft

- Suche nach Alternativen zu chemischen Fungiziden
- Endophytische Mikroorganismen können mit Hilfe von Stoffwechselprodukten das Wachstum von Pilzen hemmen
- Untersuchung verschiedener *Pseudomonas fluorescens* Stämme auf Hemmung von Pilzen

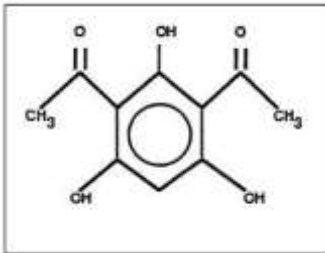
Hintergrund der Arbeit II

Stoffwechselprodukte:

- **Fluoreszierende Siderophore:** Komplexieren Fe(III) aus der Umgebung und bringen es in die Zelle
- Vorteil gegenüber anderer Microorganismen



- **2,4-Diacetylphloroglucinol (DAPG):**

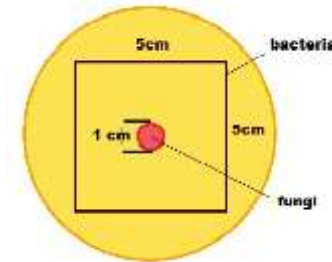


Hemmt das Wachstum von pathogenen Pilzen (*Pythium ultimum*)

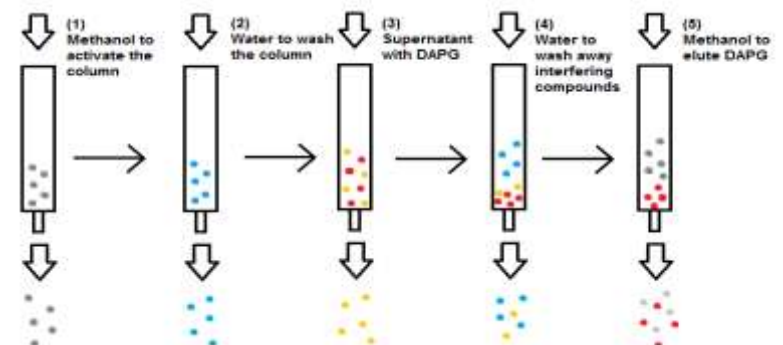
Träger des *PhlD* Gens: *P. fluorescens* F113, L124, S118, S110

Methoden

- **Biocontrol assays:** Bakterienstämme werden auf die Hemmwirkung gegenüber verschiedener Pilze getestet.
- **Eisenhaltige** und **eisenarme** Nährmedien
- Inkubieren von Pilzen und Bakterien in den selben Petrischalen
- Bestimmung des Wachstums der Pilze abhängig von Medien und Bakterien



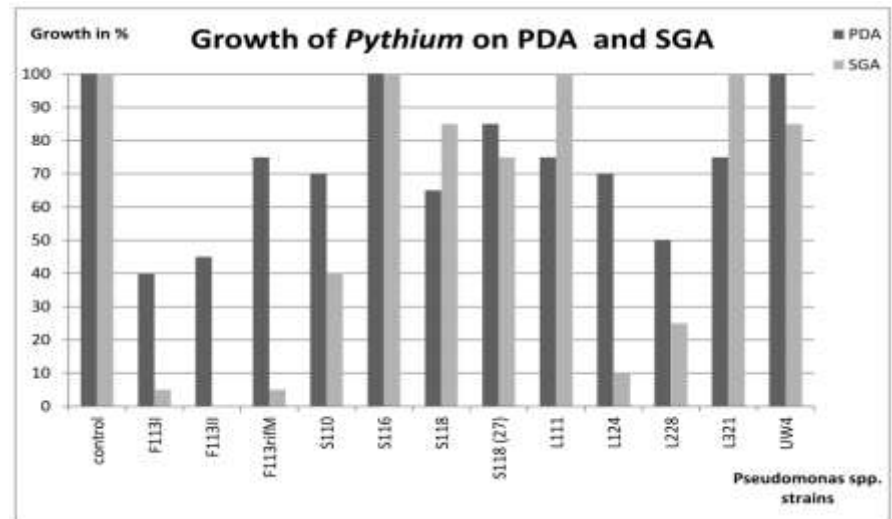
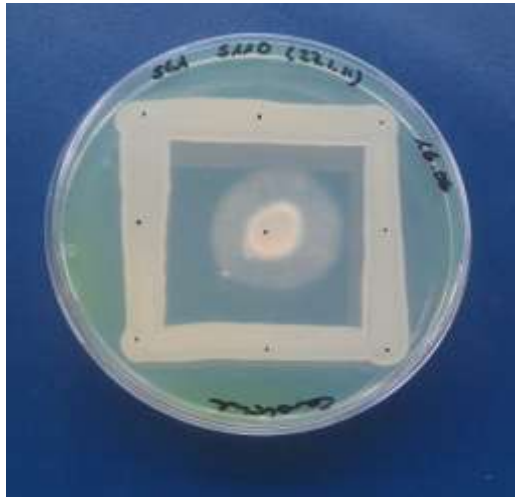
- **HPLC:** Die Menge des produzierten DAPG wird untersucht.
- Inkubation der Bakterienstämme in Flüssigkulturen (12 Tage, 20°C).
- Extraktion von DAPG mittels Extraktionssäule (Probenvorbereitung)



- Messen der Proben mittels HPLC

Ergebnisse I

Biocontrol assays: Bestimmung des Wachstums durch das Abmessen des Radius des Pilzes



- Hemmung des Pilzwachstums durch alle Bakterienstämme bis auf S116, L111 und L321 (von insg. 12)
- F113 hemmt Wachstum besonders gut
- Hemmung besonders stark, wenn Siderophore gebildet werden, aber auch ohne diese gibt es Hemmung → Hinweis auf andere Stoffwechselprodukte

Ergebnisse II

HPLC: Ergebnisse nicht so eindeutig wie erhofft.

- Flüchtige Komponenten der mobilen Phase führten zu Problemen mit Retentionszeiten (R_t).
- Quantitative Werte sind im Vergleich zur Literatur zu hoch

Dennoch: bei *P. fluorescens* F113 wurde Peak mit R_t von DAPG gemessen
→ Hinweis auf Produktion von DAPG

Zukünftig: Verbesserung der Methode nötig

Fazit

Geteste Stämme (vor allem F113) zeigen Fähigkeit zur Hemmung von Pilzwachstum durch:

- Fluoreszierende Siderophore
- Andere Stoffwechselprodukte, darunter vermutlich DAPG
- Einige Stämme geeignet für weitere Forschung als biotische Fungizide (biocontrol agents)

Persönliche Erfahrungen

Ausland und Arbeit:

- Ausland lohnt sich
- Tolle Freunde gefunden
- Kultur WIRKLICH kennen gelernt
- Das Englisch ist nicht so schlecht wie gedacht
- Gute Vorbereitung durch Praktika → keine Angst
- Laborarbeit manchmal frustrierend, Ergebnisse dann umso spannender

Tipps:

- Querbeet nach interessanten Bereichen googeln und Bewerbungen schreiben
- Früh genug nach Unterkunft suchen
- Einleitung und Material & Methoden früh schreiben (ist der nervigste Teil)
- Literatur ordnen und wissen wo was steht
- Laborjournal ordentlich führen und direkt alles aufschreiben (!)
- Auch mal Urlaub im Land machen

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit