

## Pathogen-Pflanze-Interaktionen

# Kommunizieren statt Vergiften – neue Strategien für den Pflanzenschutz

PETER NICK

ABTEILUNG MOLEKULARE ZELLBIOLOGIE, BOTANISCHES INSTITUT,  
KARLSRUHER INSTITUT FÜR TECHNOLOGIE

**Agriculture needs plant protection. However, the classic approach, using compounds that are less toxic to the crop plant, but damage fungal pathogens or weedy competitors is progressively reaching a dead-end. We propose a paradigm shift by considering agrobiologie from the viewpoint of communication theory. Interactions between different life forms are steered by a complex and specific chemical communication. For this purpose, we present some strategies with examples in this article.**

DOI: 10.1007/s12268-023-1910-2  
© Der Autor 2023

■ Auch wenn das in der öffentlichen Diskussion gerne ausgeblendet wird, ist Landwirtschaft ohne Pflanzenschutz nicht möglich – es sei denn, man akzeptiert Lebensmittelpreise, die um ein Vielfaches höher liegen als heute. Die sinkende gesellschaftliche Akzeptanz, die sinkende Zahl von noch zugelassenen Leitstrukturen und die schnelle Entstehung von Resistenzen bringen den chemischen Pflanzenschutz jedoch zunehmend an seine Grenzen. Dies wird sich infolge des Klimawandels noch weiter verschärfen.

### Neue Ideen aus der Kommunikationstheorie

Es sind also neue Ideen und Konzepte gefragt, die über das differenzielle Vergiften hinausgehen. Leben basiert auf Signalen. Ein Signal kann durch jeden Prozess oder jedes Molekül erzeugt werden, sobald Information übertragen wird. Wie von Karl Bühler in seiner Organon Theorie (1934) ausgeführt, hängt Information stark vom Kontext zwischen Sender und Empfänger ab. Hierbei entsteht die Spezifität. Ein und dasselbe Ereignis oder Molekül kann unterschiedliche „Bedeutung“ übertragen, wenn sich der Kontext verändert. Wenn man die Kommunikation zwischen Organismen verändert, kann man also viele unerwünschte Nebenwirkungen vermeiden. Dazu muss man diese Signa-

le jedoch erst einmal dingfest machen, was auf zwei Schwierigkeiten stößt:

1. Chemische Signale werden nicht dauerhaft freigesetzt, sondern abhängig von einem spezifischen Kontext, der in der Mehrzahl der Fälle unbekannt ist.
2. Chemische Signale sind keine Massenkörpermoleküle, sondern werden in kleinsten Mengen erzeugt.

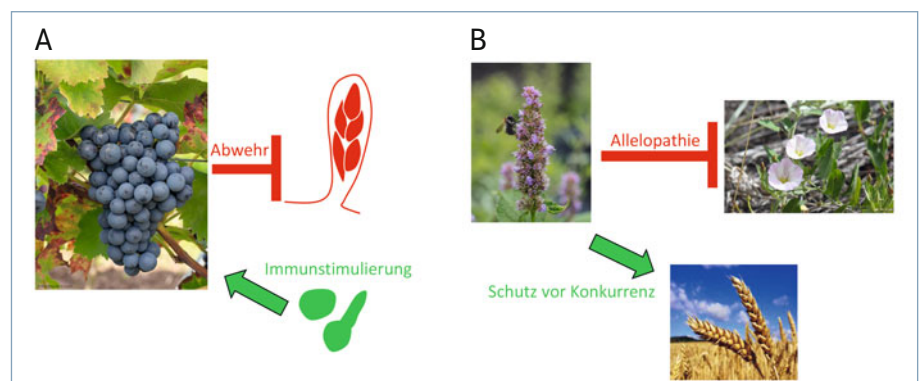
Um diese Herausforderungen anzugehen, sind neue Strategien nötig, die über die Grenzen der Lebenswissenschaften hinausgehen und Expertise und Technologien aus Chemie,

Biologie und Mikrosystem-Technologie verbinden. Hierbei interessierten wir uns für Signale aus Pilzen, die pflanzliche Immunität aktivieren oder abwandeln können (Typ 1, **Abb. 1A**) und für Signale aus Pflanzen, die pflanzliches Wachstum modulieren können (Typ 2, **Abb. 1B**).

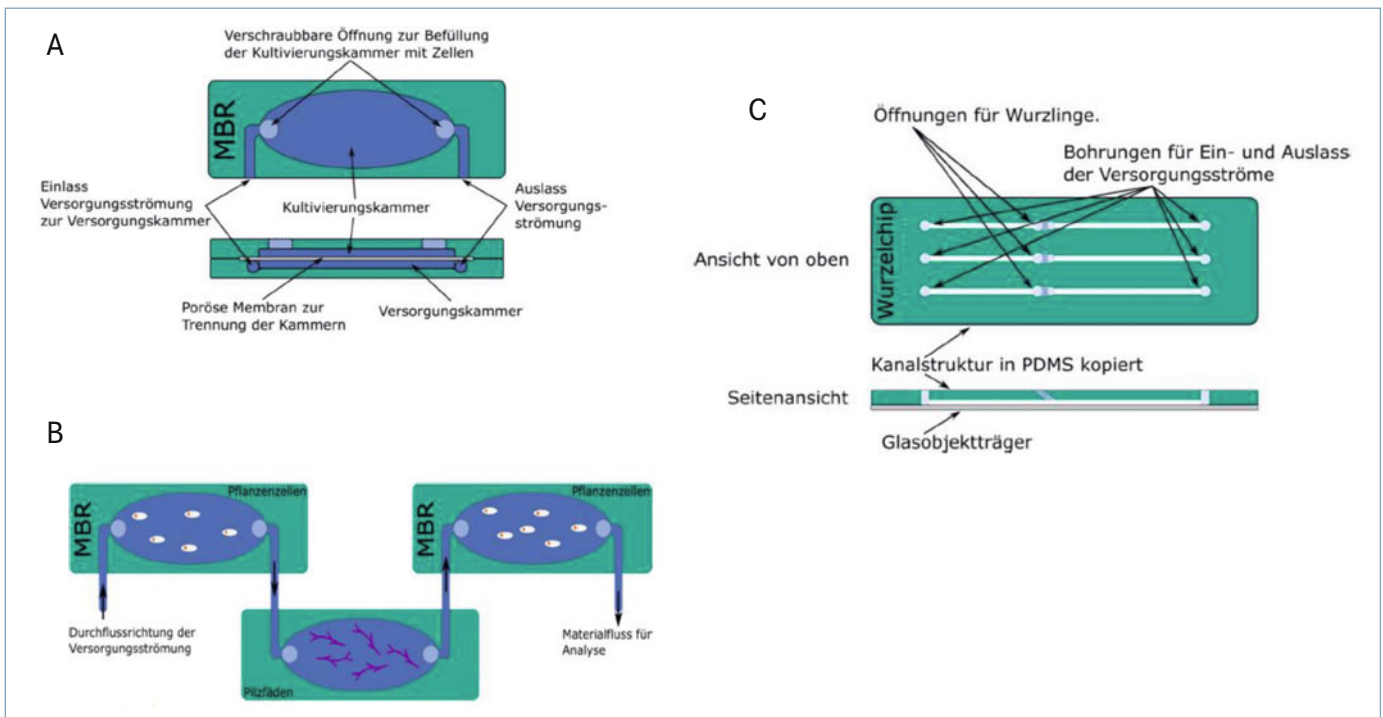
Typ 1 kann für ökologisch unbedenkliche Alternativen zu derzeitigen Fungiziden dienen, Typ 2 kann genutzt werden, um ökologisch unbedenkliche Wachstumsregulatoren oder Bioherbizide zu entwickeln.

### Mikrofluidik als neuer Weg, um chemische Kommunikation zu untersuchen

Um solche chemischen Signale auffangen zu können, entwickelten wir einen modularen Mikrochip im Rahmen des interdisziplinären, von Interreg Oberrhein geförderten Verbundprojekts „Chemischer Dialog als Protektive Technologie im nachhaltigen Pflanzenschutz“ (DialogProTec, [www.dialogprotec.eu](http://www.dialogprotec.eu)). Dazu werden die pflanzlichen Testzellen in einer Kammer kultiviert, die über eine für Nährstoffe und Signale (aber nicht für die Pflanzenzellen selbst) durchlässige Membran in einen mikrofluidischen Fluss integriert ist (**Abb. 2A**). Stromauf kann man dann in einer zweiten Kammer weitere Zellen kul-



▲ **Abb. 1:** Nutzung von Signalen aus Pilzen und Pflanzen für den nachhaltigen Pflanzenschutz. **A,** Signale aus Pilzen können dafür genutzt werden, die Immunität von Kulturpflanzen zu stimulieren, sodass sie sich gegen Krankheitserreger besser zur Wehr setzen können. **B,** Allelopathische Signale aus Pflanzen können dafür genutzt werden, Unkräuter zu unterdrücken und so Kulturpflanzen vor Konkurrenz zu schützen.



▲ **Abb. 2:** Entwicklung eines mikrofluidischen Systemen, um chemische Kommunikation zwischen Pilzen und Pflanzen untersuchen zu können.

**A,** Design eines mikrofluidischen Bioreaktors (MBR) für Pflanzenzellen mit einer Kultivierungskammer, in der sich die Pflanzenzellen befinden und einer Versorgungskammer, die in den mikrofluidischen Strom integriert ist. Beide Kammern sind durch eine poröse Membran getrennt, die zwar den Stofffluss erlaubt, aber nicht den Übertritt der Zellen aus der Kultivierungs- in die Versorgungskammer. **B,** modulare Anordnung von MBRs für Pflanzen- und Pilzzellen, um die chemische Kommunikation technisch nachstellen zu können. **C,** Design eines Wurzelchips, mit dem die Wirkung von Testsubstanzen (etwa Wirkstoffen, die aus Pilzen oder Pflanzen gewonnen wurden) auf das Wurzelwachstum der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand) gemessen und mikroskopisch beobachtet werden kann. Quelle: DialogProTec ([www.dialogprotec.eu](http://www.dialogprotec.eu)).

tivieren, die möglicherweise ihr Signal in den mikrofluidischen Strom abgeben. So können Zellen auf chemischem Wege miteinander kommunizieren, ohne jedoch in physischem Kontakt zu stehen. Durch gewisse Anpassungen der Membran ist es auch möglich, Pilze in diesem Chip zu kultivieren und so den chemischen Dialog zwischen Pilz- und Pflanzenzellen nachzustellen (**Abb. 2B**).

Um allelopathische Signale untersuchen zu können, musste diese Strategie verändert werden. Hierzu wurde ein Wurzelchip (**Abb. 2C**) mit mehreren parallelen Kanälen entwickelt, in die Wurzeln der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand) eingeführt und dann über die Mikrofluidik mit den jeweiligen Testsubstanzen konfrontiert. Dieser Wurzelchip war so gestaltet, dass man die Reaktion der Wurzeln mikroskopisch verfolgen konnte. Damit ließen sich quantitative Messungen der Hemmwirkung gewinnen. Durch Nutzung von transgenen Pflanzen, die fluoreszente Marker für das Cytoskelett exprimierten, konnten aber auch die Reaktionen der Mikrotubuli und der Aktinfilamente mithilfe eines

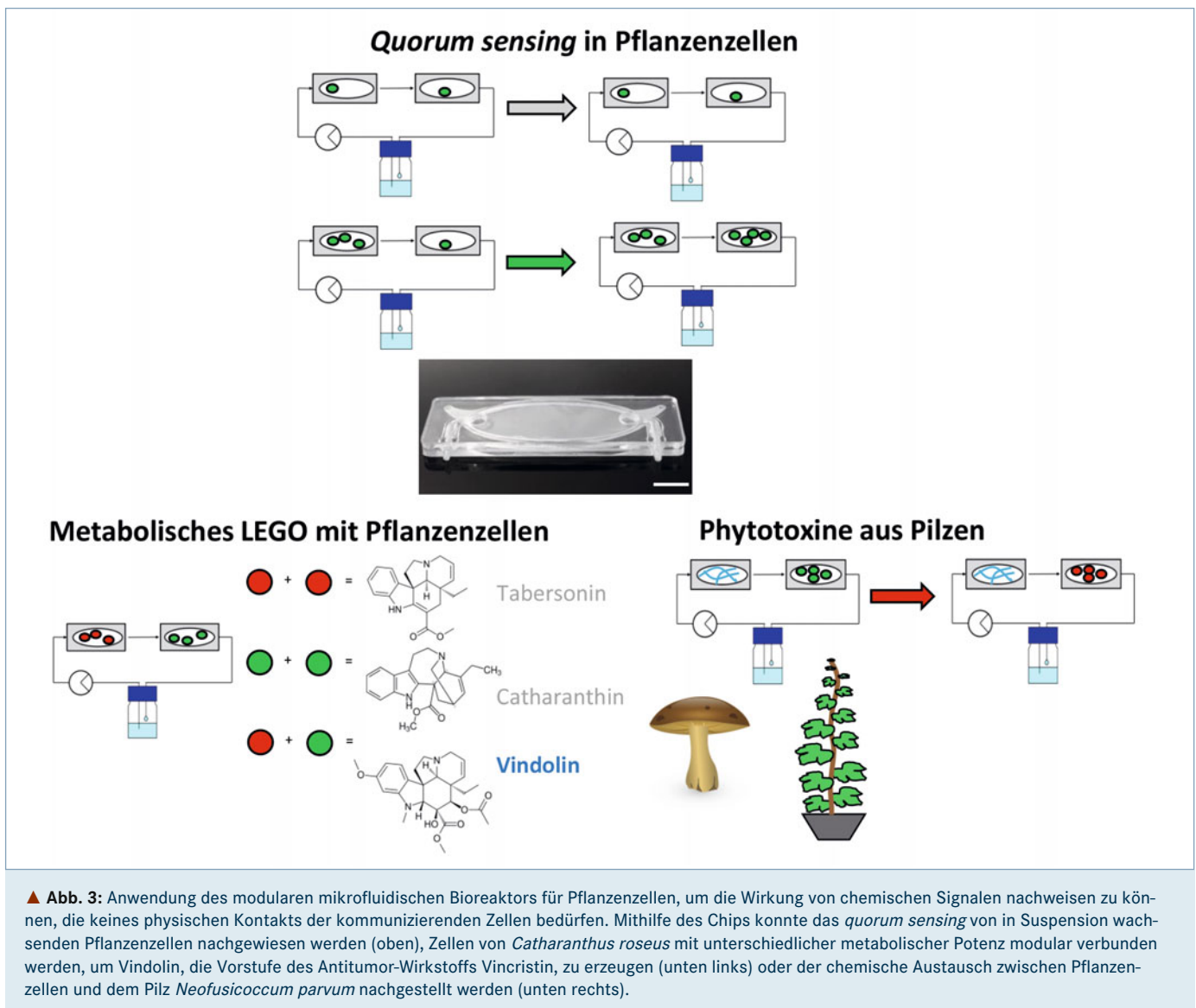
Konfokalmikroskops in Echtzeit beobachtet werden.

Dieser mikrofluidische Chip ermöglichte verschiedene Anwendungen [6]. Beispielsweise konnte damit gezeigt werden, dass Pflanzenzellen in Kultur Signale austauschen, um feststellen zu können, ob sie allein oder in Gesellschaft sind, das *quorum sensing* (**Abb. 3**). In einer weiteren Anwendung konnten zwei metabolisch komplementäre Zelllinien des Madagassischen Wintergrüns (*Catharanthus roseus*) kombiniert werden, um damit über den Austausch regulatorischer Signale die Bildung von Vindolin, der Vorstufe des wertvollen Anti-Tumorwirkstoffs Vincristein, zu erreichen. In einer dritten Anwendung wurde versucht, den chemischen Dialog zwischen Zellen aus unterschiedlichen Organismen nachzuweisen, also eine Art „Ökosystem auf dem Chip“ nachzustellen. Hier konnten wir zeigen, dass Hyphen des Pilzes *Neofusicoccum parvum* auf lösliche Stoffe von Pflanzenzellen mit der Bildung von Toxinen reagieren, die dann wiederum das Absterben der Pflanzenzelle hervorrufen. Da Pilzhypen und Pflanzenzellen in verschiedenen Chips gehalten werden, ist

ein physischer Kontakt offensichtlich unnötig, der mikrofluidische Strom bringt Moleküle mit sich, die auf beiden Seiten die entsprechende Reaktion auslösen.

### Von der Grundlagenforschung zur Anwendung – chemische Kommunikation nutzen

Die heißen und trockenen Sommer lassen auch bei uns immer häufiger Weinreben in der Blüte ihrer Produktivität plötzlich zusammenbrechen. Ursache sind holzbesiedelnde Pilze, die auch in gesunden Reben vorkommen und dort als harmlose „Mitesser“ von Zellresten leben. Wenn die Wirtspflanze jedoch unter Stress gerät, wie es bei den zunehmend heißen und trockenen Sommern auch hierzulande immer häufiger vorkommt, verändern diese Pilze plötzlich ihr Verhalten und fangen an, Giftstoffe zu bilden, um ihren Wirt umzubringen. Wir konnten zeigen, dass Pilz und Pflanze einen „chemischen Ringkampf“ austragen. Die Pflanze versucht, Abwehrstoffe, die Stilbene, zu bilden, die den Pilz abtöten können. Der Pilz wiederum versucht, die Pflanze so zu manipulieren, dass sie möglichst viel Monolignole bildet. Diese



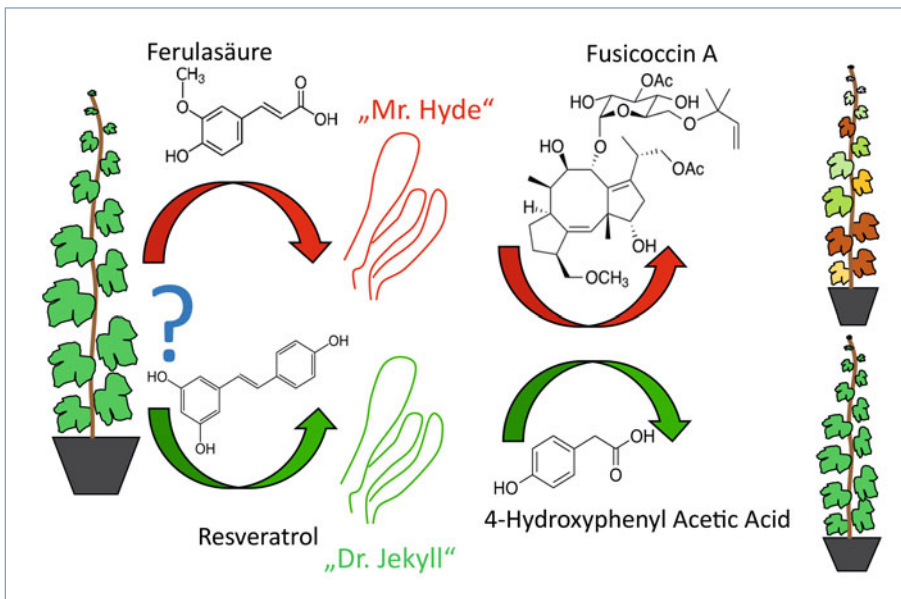
Bausteine für Holz sind nämlich die Leibspeise des Pilzes. Pikanterweise werde sowohl Stilbene als auch Monolignole aus dem phenolischen Molekül Cumarsäure gebildet, die beiden Stoffwechselwege konkurrieren also um denselben Vorläufer.

Für einen dieser Pilze, *Neofusicoccum parvum*, konnten wir aufklären, über welche Signale Pilz und Pflanze dieses chemische Ringen für sich zu entscheiden versuchen [7]. Um an die Moleküle heranzukommen, wurden die von Pilz und Pflanze abgegebenen chemischen Signale über präparative HPLC aufgetrennt, um dann prüfen zu können, welche Fraktion für die Wirkung verantwortlich war. Diese Strategie, aktivitätsgeleitete Fraktionierung genannt, wurde von einer Modellierung der Stoffwechselwege begleitet.

Solange die Pflanze nicht durch Klimastress geschwächt ist, reagiert sie auf die Anwesenheit des Pilzes mit der Bildung des Stilbens Resveratrol, dem Baustein für weitere Stilbene, die den Pilz in Schach halten (**Abb. 4**). Der Pilz hingegen bildet 4-Hydroxyphenyl-Essigsäure, die das pflanzeigene Auxin Phenyl-Essigsäure imitiert und das Wachstum der Zellen stimuliert, andererseits aber die Immunreaktion dämpft, was dem Pilz erlaubt, sich leichter im Holz zu verbreiten. Dennoch scheint er seinem Wirt keinen Schaden zuzufügen. Unter Klimastress wird der Stilbenweg gedämpft, was dazu führt, dass Coumarsäure in Ferulasäure umgewandelt wird, die dann für die Ligninbildung verbraucht wird. Unter Klimastress ist die Bildung von Holz jedoch verlangsamt, sodass sich die Ferulasäure anhäuft. Dies nutzt der Pilz als Signal, um die Krise der Wirtspflanze

wahrnehmen zu können. Die Anhäufung von Ferulasäure ist also gewissermaßen ein „Kapitulationssignal“ des Wirts. Der Pilz reagiert auf Ferulasäure mit der Bildung von Fusicoccin A. Dieses wiederum löst beim Wirt einen Signalweg aus, der zum programmierten Zelltod führt, einer pflanzlichen Variante der Apoptose. Auch für den Pilz *Eutypa lata* konnten wir manipulierende Signale identifizieren. Hier wird über O-Methylmellein die Abwehrreaktion gegen Bakterien so verstärkt, dass der Pilz konkurrierende Bakterien elegant aus dem Felde schlagen kann [8]. In einer zweiten Welle sezerniert er dann Eutypin und Eutypinol, die – ähnlich wie Fusicoccin A – über eine Signalreaktion den Wirt in den Selbstmord treiben [9].

Was können wir mit diesem Wissen nun anfangen? Es gibt im Grunde eine Langzeit- und eine Kurzzeitstrategie. Die Langzeitstra-



▲ **Abb. 4:** Die chemische Kommunikation zwischen dem holzbesiedelnden Pilz *Neofusicoccum parvum* und der Weinrebe wird durch Klimastress gestört, was den Pilz dazu veranlasst, Fusicoccin A abzugeben, was in der Pflanze ein Selbstmordprogramm auslöst. Dieser plötzliche Zusammenbruch (Apoplexie) führt zu großen Schäden im Weinbau.

ategie besteht darin, Esca-resistente Reben zu züchten, so wie das schon bei den PiWi-Reben (für Pilz-Widerstandsfähig) gelungen ist. In der Tat konnten wir in unserer Sammlung der Europäischen Wildrebe (der Stammutter der Kulturrebe) Resistenzen finden. Die Resistenz beruht darauf, dass die Bildung von Stilbenen sehr wirksam verläuft, was den Pilz in Schach hält, weil die Anhäufung dieses Kapitulationssignals unterdrückt wird. Um die hierfür verantwortlichen Gene finden zu können, haben wir mehr als 200 komplette Genome unserer Wildreben sequenziert [11] und daraus die Genomdatenbank GrapeKIT aufgebaut. Nun können wir für jedes Gen von Interesse herausfinden, welche Varianten die Natur für uns bereithält, und dann mithilfe der entsprechenden Wildrebe im Garten die Funktion dieser Variante prüfen und sie danach für die Züchtung nutzen, indem wir sie auf natürlichem Wege in Kulturreben einkreuzen. Mithilfe des molekularen Wissens kann man dann aber in der Nachkommenschaft schon im Sämlingsstadium über PCR-Analysen feststellen, welche Individuen die gewünschte Genvariante aus der Wildrebe mitbekommen haben. Dieses als markergestützte Selektion bekannte Verfahren spart Zeit, Platz, Kosten und Arbeit.

Dennoch läuft uns die Zeit davon. Wir benötigen also auch Alternativen zur Züchtung, die schon für unsere derzeit üblichen,

jedoch anfälligen, Kultursorten anwendbar sind. Genau an diesem Punkt setzt unser neues Projekt „Microbes for Future“ (M4F) an, das auf die immunitätssteigernde Wirkung von Mikroorganismen setzt und aus dem Strategiefond des KIT gefördert wird. So wie wir eine Darmflora haben, die auch für unser Immunsystem wichtig ist, besitzen Pflanzen in ihrem Wurzelraum ein sorgsam gepflegtes Pflanzenmikrobiom. Wir suchen daher nach Mikroorganismen, die das pflanzliche Immunsystem aktivieren und so selbst in einem stressreichen Hochsommer, die Anhäufung von Ferulasäure unterdrücken.

#### Allelopathie als Quelle für neue Bioherbizide

Auch Pflanzen tauschen untereinander chemische Signale aus, um etwa konkurrierende Pflanzen zu hemmen (Allelopathie). Auch diese Signale sind sehr spezifisch und zielgenau. Als Fallbeispiel haben wir die vielen verschiedenen Arten von Minzen untersucht, die trotz ihrer engen Verwandtschaft sehr unterschiedliche Duftprofile abgeben und sich in der Natur sehr effizient gegen andere Pflanzen durchsetzen können. In der Tat konnten wir zeigen, dass die besonders wirksame Hemmung durch die Koreanische Minze (*Agastache rugosa*) auf Menthon zurückgeht, dass in der Zielzelle einen schnellen und vollständigen Abbau der

Mikrotubuli bewirkt, sodass Zellteilung und Zellwachstum gestoppt werden [12]. Kann man so neuartige Bioherbizide entwickeln? Hier kam der Wurzelchip zum Einsatz (**Abb. 2**). Wir verglichen den Effekt verschiedener Minzen auf das Wurzelwachstum und beobachteten, dass das Öl der Pferdeminze besonders wirksam war. Die Wirkung war für verschiedene Zielpflanzen unterschiedlich und zielte auf die Aktinfilamente, wodurch auch der Auxintransport gehemmt wird. Dieses Öl sollte also vor allem auf Unkräuter wirken, die sich durch Regeneration von Stängelstücken vermehren. Gemeinsam mit dem Föderalen Institut für biologischen Landbau (FiBL) in der Schweiz entwickelten wir eine konkrete Anwendung, wobei wir mit dem Öl der Pferdeminze über ein spezielles Trägermaterial die Regeneration der Ackerwinde unterdrücken können, einem hartnäckigen Unkraut im Öko-Getreidebau. Glücklicherweise reagiert Getreide, vor allem Gerste, auf das Minzöl nur sehr schwach, sodass es möglich sein sollte, einen Konzentrationsbereich zu finden, in dem man die Ackerwinde unterdrücken kann, ohne dass das Getreide davon tangiert würde.

#### Fazit: Biodiversität schützen und nutzen

Die Idee von DialogProTec war es, die Spezifität biologischer Signale zu untersuchen und daraus Wege zu entwickeln, die Interaktion zwischen Organismen (Pilze und Pflanzen, Pflanzen und Pflanzen) so zu verändern, dass daraus ein Nutzen für uns Menschen entsteht. Dies bietet eine konzeptionelle Alternative zum üblichen Ansatz im Pflanzenschutz, der letztendlich darauf beruht, dass Nutz- und Schadorganismus zu einem möglichst unterschiedlichen Grad geschädigt werden. Die Spezifität von Signalen ist das Ergebnis von evolutionären Anpassungsprozessen, die mit der Entstehung von Diversität einhergehen. Biodiversität ist also der Schlüssel zu unserer Strategie, das Beispiel der gegen *N. parvum* resistenten Wildreben zeigt dies eindrücklich. Um diese Biodiversität für uns Menschen nutzen zu können, müssen wir Biodiversität zuerst schützen – in unserem eigenen Interesse. Eine Landwirtschaft, die mehr Vielfalt zulässt, wird auf lange Sicht resilienter sein, auch wenn sie kurzfristig weniger Ertrag bringen wird. Unsere Gesellschaft muss sich also entscheiden – wollen wir kurzfristige Ertragseinbußen hinnehmen, um langfristig resilientere

und stabilere Agroökosysteme zu bekommen oder sind wir nur auf kurzfristige Gewinnmaximierung aus. Diese Entscheidung wird nicht von den Landwirten allein getroffen werden müssen, sondern ist eine Angelegenheit der gesamten Zivilgesellschaft.

## Danksagung

Die in diesem Beitrag dargestellten Forschungsarbeiten wurden im Rahmen des von Interreg Oberrhein geförderten Forschungsverbund DialogProTec unterstützt ([www.dialogprotec.eu](http://www.dialogprotec.eu)).

## Literatur

- [1] Schaller M, Weigel HJ (2007) Analyse des Sachstands zu Auswirkungen von Klimaveränderungen auf die deutsche Landwirtschaft und Maßnahmen zur Anpassung. *Landbauforschung, Sonderheft* 316
- [2] Pimentel D (1996). Green revolution agriculture and chemical hazards. *Sci Total Environ* 188: S86–S98
- [3] Vonberg D (2015) Atrazine in the environment 20 years after its ban: long-term monitoring of a shallow aquifer (in western Germany) and soil residue analysis. Inaugural-Dissertation, RWTH Aachen
- [4] Anthony RG, Waldin TR, Ray JA et al. (1998) Herbicide resistance caused by spontaneous mutation of the cytoskeletal protein tubulin. *Nature* 393: 260–263
- [5] Chen WJ, Delmotte F, Cervera SR et al. (2007) At Least Two Origins of Fungicide Resistance in Grapevine Downy Mildew Populations. *Appl Environ Microbiol* 73: 5162–5172
- [6] Finkbeiner T, Manz C, Raorane M et al. (2022) A modular microfluidic bioreactor to investigate plant cell-cell interactions. *Protoplasma* 259: 173–186
- [7] Khattab I, Fischer J, Kazmierczak A et al. (2023) Hunting the plant surrender signal activating apoplexy in grapevines after *Neofusicoccum parvum* infection. *Plant Cell Environment* 46: 339–358
- [8] Guan P, Terigele, Schmidt F et al. (2020) Hunting modulators of plant defence – the Grapevine Trunk Disease fungus *Eutypa lata* secretes an amplifier for plant basal immunity. *J Exp Bot* 71: 3710–3724
- [9] Guan PY, Schmidt F, Fischer J et al. (2022) The fungal elicitor eutypine from *Eutypa lata* activates basal immunity through its phenolic side chains. *Horticultural Res* 9: uhac120
- [10] Khattab IM, Sahi VP, Baltenweck R et al. (2021) Ancestral chemotypes of cultivated grapevine with resistance to Botryosphaeriaceae related Dieback allocate metabolism towards bioactive stilbenes. *New Phytologist* 229: 1133–1146
- [11] Liang ZC, Duan SC, Sheng J et al. (2019) Whole-genome resequencing of 472 *Vitis* accessions for grapevine diversity and demographic history analyses. *Nat Commun* 10: 1190
- [12] Sarheed MM, Rajabi F, Kunert M et al. (2020) Cellular Base of Mint Allelopathy: Menthone Affects Plant Microtubules. *Front Plant Sci* 11: 546345

**Funding note:** Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.  
**Open Access:** Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.



## Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Peter Nick  
 Abteilung Molekulare Zellbiologie  
 Joseph Kölreuther Institut  
 für Pflanzenwissenschaften  
 Karlsruher Institut für Technologie  
 Kaiserstraße 2  
 D-76133 Karlsruhe  
[peter.nick@kit.edu](mailto:peter.nick@kit.edu)