

43-6 - Muftah Alkhatay, D.; Karlovsky, P.; Vidal, S.

Georg-August-Universität Göttingen

Entomopathogens as Endophytes

Whereas there is increasing evidence demonstrating that several strains of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* can endophytically colonize different plant species and demonstrating the insecticidal effects on some target pests, only few papers have so far proved this colonisation inside plant tissues.

In our research, we hypothesize that three strains of *Beauveria bassiana* (Bb), and two strains of *Metarhizium anisopliae* are able to successfully endophytically colonize two varieties of tomato plants (*Solanum lycopersicum*); 'Harzfeuer' and 'Ruthje', with no significant production of mycotoxins, and significant insecticidal effects on greenhouse whitefly development (*Trialeurodes vaporariorum*). Plants were inoculated with fungal conidiospores or blastospores in different ways; such as seed treatments, foliar applications, agar block applications, or root inoculations, and left growing under greenhouse conditions. At harvest time, plants were checked for successful endophytic colonization by re-isolating the target fungi on selective medium from the plant stems and leaves, checking the presence of the fungal DNA inside the plant tissues by applying Real-Time PCR and investigating the production of mycotoxins (i.e. Beauvericin and Destruxin A), using HPLC analysis. Thereafter, colonized plants were offered to greenhouse whitefly to assess their insecticidal effect on the development of the larvae.

Our results demonstrate that endophytic entomopathogenic fungi can be a new option for biological control strategies. Future research will analyse a wider spectrum of potential mycotoxins and will look at the interactions between host plant colonisation by the fungi and plant metabolism, as well as the interaction between the endophytic entomopathogenic fungus and other plant pathogens.

43-7 - Lohse, R.¹⁾; Jakobs-Schönwandt, D.¹⁾; Vidal, S.²⁾; Patel, A.¹⁾

¹⁾ Fachhochschule Bielefeld

²⁾ Georg-August-Universität Göttingen

Fermentation und Verkapselung eines endophytischen *Beauveria bassiana*-Isolats zur Etablierung einer neuen Pflanzenschutzstrategie

In den letzten Jahren hat die Suche nach alternativen Pflanzenschutzstrategien aufgrund von Resistenzentwicklungen und politischen Vorgaben erheblich an Bedeutung gewonnen. Eine innovative Möglichkeit Kulturpflanzen auf biologische Weise vor dem Befall von Schadinsekten zu schützen, besteht in der Nutzung des entomopathogenen Nutzpilzes *Beauveria bassiana*, welcher sich endophytisch in den Pflanzen etablieren kann. In einem kürzlich bewilligten BMBF-Projekt werden daher die Entwicklung eines neuartigen Fermentations- und Formulierungsverfahrens für ein endophytisches *B. bassiana* Isolat (ATP-04) entwickelt. Ziel ist es dabei, den Pilz in einer möglichst widerstandsfähigen Dauerform, wie den Submers-Konidiosporen (SKS), massenzu vermehren und im Anschluss so zu formulieren, dass er Rapspflanzen systemisch besiedelt und, analog zu herkömmlichen Insektiziden oder transgenen Pflanzen, vor Schadinsekten schützt.

B. bassiana ATP-04 wurde zunächst in verschiedenen technischen Kulturmedien basierend auf unterschiedlichen Kohlenstoffquellen, Mineralien und Hefeextrakten im Schüttelkolbenmaßstab angezogen. In einem Mineralmedium mit 5 % Melasse wurde nach einer Kultivierungsdauer von 170 h eine Sporenausbeute von $9,2 \times 10^9$ SKS/g Substrat erzielt. Dabei konnte die Ausbeute durch die Zugabe von 50 g/l NaCl auf $2,0 \times 10^{10}$ SKS/g Substrat gesteigert werden. Bei der Fermentation im 2 L-Rührkesselreaktor konnte ohne Salzzugabe nach 170 h eine Sporenausbeute von $1,3 \times 10^{10}$ SKS/g Substrat erreicht werden. Außerdem ließ sich der Anteil an SKS in Bezug auf den Gesamtsporenertrag durch NaCl-Zugabe von 40 auf 86 % steigern.

Im Anschluss an die Vermehrung des Pilzes erfolgten die ersten Versuche zur Verkapselung der Biomasse. Dazu wurde der Einfluss verschiedener Nährstoffzusätze auf das Auswuchsverhalten des Pilzes aus feuchten und getrockneten Ca-Alginatkapseln untersucht. Über die Messung des radialen Myzeldurchmessers konnte gezeigt werden, dass die Steigerung des Myzelwachstums bei Kapseln mit 1 % Hefeextrakt und 2 % Protein gegenüber Kapseln ohne Nährstoffe bei 30 % und bei Kapseln mit 1 % autoklavierter Bäckerhefe und 2 % Protein bei 42 % lag. Des Weiteren wurden je 5 g der feuchten Kapseln an Wurzeln von 3 Wochen alten Rapspflanzen platziert und unter Gewächshausbedingungen inkubiert. *B. bassiana* konnte in 2 von 10 Behandlungen aus dem Pflanzenmaterial re-isoliert und mittels molekularbiologischer Methoden nachgewiesen werden.

Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass es möglich ist, *B. bassiana* ATP-04 in kostengünstigen Kulturmedien zu sehr hohen Zelldichten zu kultivieren und mit Hilfe von Verkapselungsmethoden zu formulieren. Weitere Versuche werden sich mit der gezielten Herstellung der Submers-Konidiosporen unter Anwendung innovativer