

Pflanzen-Mikroben-Interaktionen

Zelltodregulation und Immunmodulation durch Wurzelpilze fördert Symbiose

NICK DUNKEN, ALGA ZUCCARO

INSTITUT FÜR PFLANZENWISSENSCHAFTEN, UNIVERSITÄT ZU KÖLN UND CLUSTER OF EXCELLENCE ON PLANT SCIENCES (CEPLAS), KÖLN

Symbiotic interactions between plants and fungi depend on tightly regulated molecular mechanisms that enable fungal colonization while modulating host immunity and metabolism. In our current study, we show how the beneficial root endophyte *Serendipita indica* employs specific enzymatic activities to regulate host cell death – an essential process for the establishment of a functional symbiosis.

DOI: 10.1007/s12268-025-2496-7
© The Author(s) 2025

■ Pflanzenwurzeln interagieren ständig mit Mikroorganismen in einem der diversesten Ökosysteme – dem Boden. Dieser beherbergt eine vielschichtige mikrobielle Gemeinschaft aus Bakterien, Pilzen, Viren, Einzellern und Nematoden. Die Bandbreite dieser Interaktionen reicht von Mutualismus – einer für beide Partner vorteilhaften Symbiose – bis hin zum Parasitismus, bei dem die Pflanze geschädigt wird.

Bisher lag der Fokus vor allem auf pathogenen Pilzen und deren Bekämpfung, da sie erhebliche Ernteverluste verursachen können. Angesichts des Klimawandels und zunehmender Fungizidresistenzen rückt

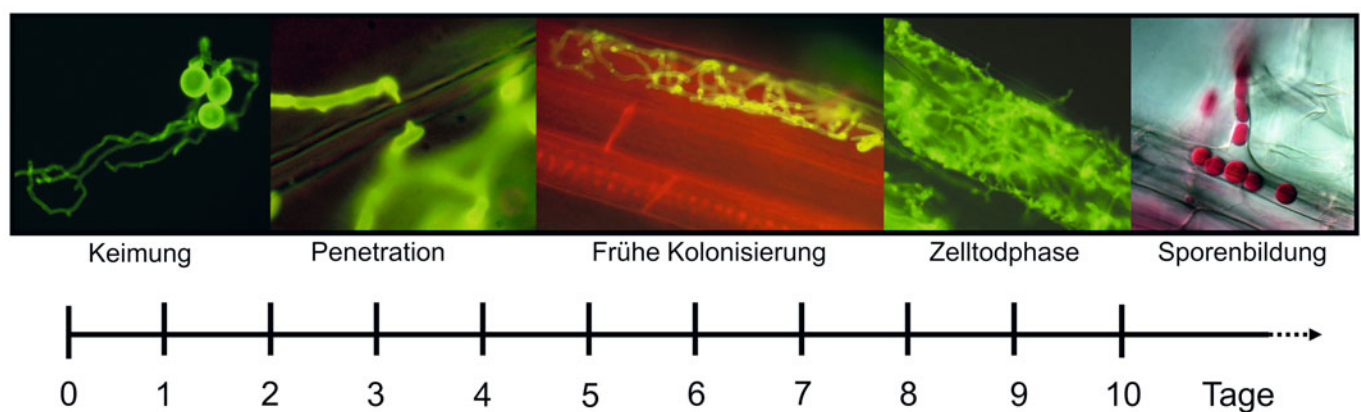
jedoch der Nutzen symbiotischer Pilze immer stärker in den Mittelpunkt. Diese könnten neue Strategien zur Stärkung der pflanzlichen Widerstandsfähigkeit ermöglichen. Das klassische Krankheitsdreieck beschreibt die Interaktion zwischen einem Krankheitserreger, seinem Wirt und Umweltfaktoren, welche die Infektion beeinflussen. Neue Studien zeigen jedoch, dass komplexe Mikrobiome – sowohl im menschlichen Körper, beispielsweise in der Darmflora, als auch in Pflanzenwurzeln – eine entscheidende Rolle für den Ausgang jeder Wirt-Mikroben-Interaktion spielen und aktiv vom Wirt rekrutiert werden. Dabei treten häufig syn-

ergistische Wechselwirkungen zwischen taxonomischen Reichen (Interkingdom) auf, bei denen Mikroben über spezialisierte Signalmechanismen kooperieren und gemeinsam zur Abwehr und Anpassung des Wirts beitragen [1]. Somit könnte das klassische Krankheitsdreieck um eine weitere Dimension erweitert werden.

Serendipita indica – ein Modell für vorteilhafte Pilze

Unsere Forschung konzentriert sich auf filamentöse Pilze der Ordnung Sebaciales, die global verbreitet sind und zahlreiche Pflanzenarten kolonisieren können [2]. Als Modell dient *Serendipita indica*, ein Pilz, der axenisch kultiviert und genetisch manipuliert werden kann und sowohl Kulturpflanzen wie Gerste als auch die Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* besiedelt.

Die Besiedelung durch *S. indica* fördert das Pflanzenwachstum, steigert die Erträge und erhöht die Resistenz gegenüber abiotischem und biotischem Stress [3]. Der Pilz folgt einem zweiphasigen Kolonisierungszyklus (Abb. 1): Nach der Keimung der Chlamydosporen auf der Wurzeloberfläche durchwächst der Pilz die Epidermis- und Kortextzellen der Wurzel, ohne jedoch das Leitgewebe zu besiedeln. Die Kolonisierung bleibt auf



▲ **Abb. 1:** Kolonisierung einer Wurzel durch den Pilz *Serendipita indica*. Nach der Keimung der Sporen penetriert die Pilzhyphe (grün) die Epidermis der Wurzel. Nach der intra- und interzellulären Besiedlung der äußeren Wurzelschichten löst der Pilz den programmierten Zelltod einzelner Zellen aus. In diesen abgestorbenen Zellen bildet *S. indica* neue Sporen und vollendet seinen Lebenszyklus.

äußere Wurzelschichten beschränkt. In dieser ersten, biotrophen Phase sekretiert *S. indica* eine Vielzahl an Effektormolekülen, die das pflanzliche Immunsystem modulieren und so die Etablierung der Symbiose ermöglichen. Die Integrität der pflanzlichen Zellmembranen bleibt erhalten.

Später erfolgt der Übergang in die zweite Kolonisierungsphase: Das Transkriptionsprofil des Pilzes verändert sich, es werden vermehrt Hydrolasen und Nährstofftransporter exprimiert. In stark besiedelten Zellen kommt es schließlich zum programmierten Zelltod. Wahrscheinlich wird der Wechsel zwischen den Kolonisierungsphasen durch Stickstoffmangel ausgelöst und dient der langfristigen Aufrechterhaltung der Symbiose und Bildung neuer Sporen [4]. Der pilzinduzierte Zelltod ist gekennzeichnet durch die Fragmentierung des Zellkerns, eine Stressreaktion des endoplasmatischen Retikulums (ER) und den Verlust der Integrität der Vakuolen- und Zellmembran [5]. Trotz des Absterbens einzelner Zellen bleibt die Gesamtfunktion der Wurzel erhalten. Die positiven Effekte der Kolonisierung bleiben bestehen. Während einzelne molekulare Komponenten dieses Zelltodmechanismus bereits identifiziert wurden, blieben die auslösenden Signale und zentralen Ausführungskomponenten lange unklar – erst kürzlich konnten hier neue mechanistische Einblicke gewonnen werden.

Induktion von Zelltod durch einen Purinmetaboliten

Während der Zelltodphase sekretiert *S. indica* zwei Effektorenzyme: die Nuklease NucA und die Nukleotidase E5NT (**Abb. 2**, obere Hälfte). E5NT bewirkt in der biotrophen Phase eine Reduktion der extrazellulären, immunogen wirkenden ATP-Konzentration [6]. Neben Nukleotiden wie ATP katalysiert E5NT jedoch auch den Abbau von Desoxyribonukleotiden.

Da *S. indica*-Hyphen und transgen exprimiertes NucA häufig in der Nähe von pflanzlichen Zellkernen lokalisiert sind, behandelten wir Pflanzen-DNA mit rekombinanten NucA und E5NT und analysierten die Proben anschließend massenspektrometrisch. Die synergistische Anwendung beider pilzlichen Effektoren führte zur Produktion von Desoxynukleosiden, wobei eine deutliche Präferenz für die Bildung von Desoxyadenosin (dAdo) zu beobachten war.

Ein ähnlicher Mechanismus ist vom humanpathogenen Bakterium *Staphylococcus aureus* bekannt [7]. Dieses sekretiert sowohl eine Nuklease als auch eine Nukleotidase, um der durch neutrophile Immunzellen vermittelten DNA-Falle, den *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs), zu entgehen. Dies führt zum Abbau der NETs und der Produktion von dAdo, einem starken Induktor des programmierten Zelltods in Makrophagen. Auch in Pflanzen löst dAdo programmierten

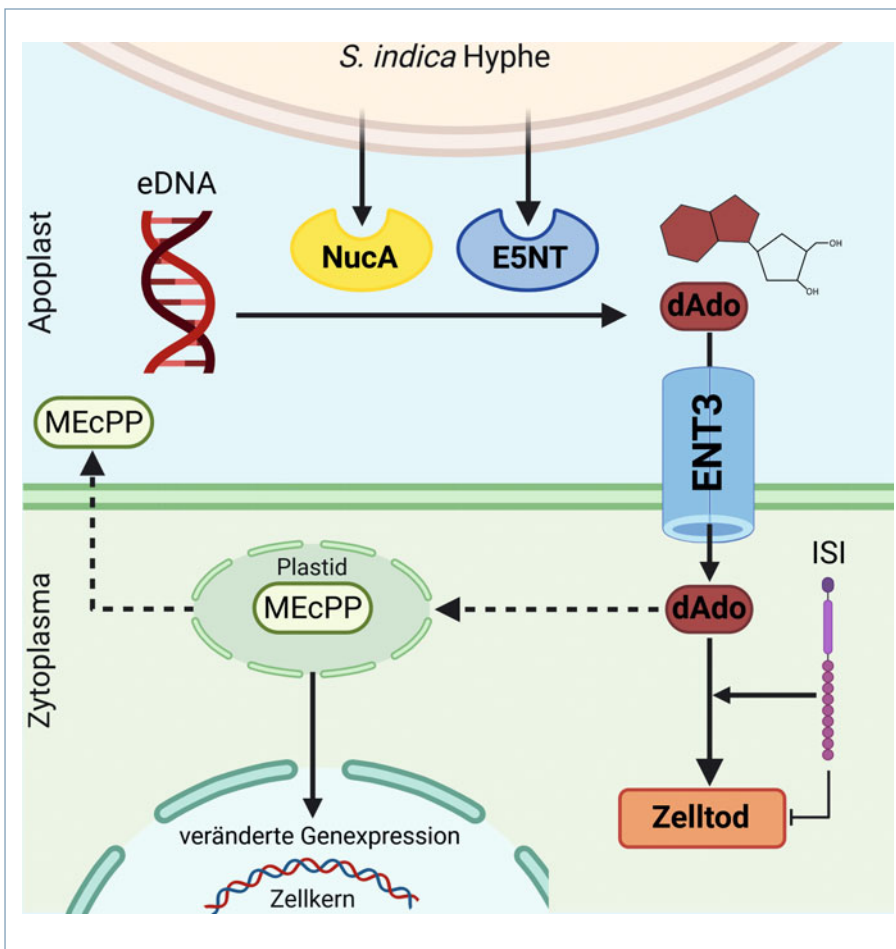
Zelltod aus, charakterisiert durch die Induktion klassischer Zelltod-Markergene und die Akkumulation von Stressmetaboliten wie MECPP aus dem Methylerythritolphosphat (MEP)-Weg (**Abb. 2**, untere Hälfte). Durch die Untersuchung von Mutanten verschiedener Nukleosidtransporter auf ihre dAdo-Sensitivität konnten wir zeigen, dass dAdo in das Zytoplasma transportiert wird. In *Arabidopsis*-Wurzeln werden zwei equilibrative Nukleosidtransporter (ENT) exprimiert: ENT1, lokalisiert in der Vakuolenmembran, und ENT3, das in der Zellmembran vorkommt. Interessanterweise zeigt nur die *ent3*-Mutante eine Resistenz gegenüber dAdo, was darauf hinweist, dass dAdo über ENT3 transportiert wird. *ent3*-Pflanzen wiesen während der Kolonisierung mit *S. indica* eine reduzierte Akkumulation von Stressmetaboliten auf und entwickelten keinen Zelltod. Diese Ergebnisse legen nahe, dass dAdo zentral am Wirtszelltod beteiligt ist und verdeutlichen die evolutionäre Konservierung von Immunmanipulationsstrategien über verschiedene biologische Reiche hinweg.

Die Rolle des pflanzlichen Immunsystems beim dAdo-induzierten Zelltod

In tierischen Zellen regulieren Caspasen den dAdo-induzierten Zelltod [8]. Da Pflanzen jedoch weder Caspasen noch homologe Enzy-

Hier steht eine Anzeige.

 Springer



▲ **Abb. 2:** *Serendipita indica* induziert Zelltod in Wurzelzellen. Durch die Sekretion der Effektorenzyme NucA und E5NT wird extrazelluläre DNA (eDNA) abgebaut, wodurch dAdo entsteht. Nach dem Transport ins Zytoplasma durch den equilibrativen Nukleosidtransporter ENT3 löst dAdo die Akkumulation von Stressmetaboliten wie MEcPP aus, aktiviert die Expression von Zelltodmarkergenen und induziert Zelltod. Dieser Prozess wird durch den TIR-NLR *ISI* (induced by *S. indica*) reguliert. Die Graphik basiert auf [12]. Erstellt mit BioRender. Dunker N (2025), <https://BioRender.com/t47g363>.

me besitzen, untersuchten wir 6.800 *A. thaliana*-Mutanten auf ihre dAdo-Sensitivität, um pflanzliche Schlüsselfaktoren zu identifizieren.

Eine der wenigen resistenten Linien trug eine Mutation in einem Gen, das für einen bislang nicht charakterisierten Toll-Interleukin-1 (TIR)-Nukleotid-bindenden Leucin-reichen Rezeptor (NLR) codiert. TIR-NLRs spielen eine Schlüsselrolle bei der Erkennung mikrobieller Effektoren und lösen typischerweise eine Immunantwort aus, die oft mit Zelltod einhergeht. Bisher wurden TIR-NLRs jedoch fast ausschließlich in Blättern charakterisiert.

Das untersuchte TIR-NLR-Gen wird während der Kolonisierung durch *S. indica* in der Zelltodphase verstärkt exprimiert und wurde daher *ISI* (induced by *S. indica*) genannt. Ähnlich wie bei der dAdo-resistenten *ent3*-

Mutante erwarteten wir auch in der *isi*-Mutante eine starke Reduktion des Zelltods während der Kolonisierung. Überraschenderweise zeigte die *isi*-Mutante jedoch einen vermehrten Zelltod – sogar in der Abwesenheit jeglicher Mikroben. Dies deutet darauf hin, dass *ISI* nicht nur an der Ausführung des dAdo-induzierten Zelltods beteiligt ist, sondern auch eine hemmende Funktion bei einer anderen Form des programmierten Zelltods in Wurzeln übernimmt. Die *isi*-Mutante weist somit einen Autoimmunphänotyp auf.

Zusätzlich ergab eine Transkriptomanalyse von *S. indica*-kolonisierten *A. thaliana*-Pflanzen, dass zahlreiche NLR-Gene in Wurzeln exprimiert und durch die Kolonisierung mit symbiotischen Pilzen induziert werden. Dies unterstreicht die Rolle von NLRs im pflanzlichen Immunsystem, auch im Wurzelgewebe

Zukunftsperspektive: Immunmetabolismus als Schnittstelle zwischen Effektoraktivität und Mikrobiom-rekrutierung

Unsere Studien zeigen, dass Zelltod kein exklusives Merkmal der Interaktion mit Pathogenen ist. Auch bestimmte nützliche Ektomykorrhizapilze und Knöllchenbakterien induzieren Zelltod zur Etablierung ihrer Symbiosen. Neben dAdo wurden in den letzten Jahren weitere purinbasierte Infochemikalien wie pRib-AMP als immunmodulatorische Metabolite identifiziert, die durch die enzymatische Aktivität pflanzlicher TIR-Domänen produziert werden [9, 10]. Da sie biologischen Ursprungs sind und eine kurze Halbwertszeit haben, bieten sie Potenzial für nachhaltige Pflanzenschutzstrategien.

Trotz der zentralen Bedeutung pflanzlicher NLRs für Immunprozesse wurde ihre Funktion in Wurzeln bislang stark vernachlässigt. Erste Hinweise deuten darauf hin, dass Resistenzgene nicht nur die Abwehr von Pathogenen in Blättern, sondern auch die Rekrutierung des Mikrobioms beeinflussen. Beispielsweise vermittelt das Resistenzgen *Mildew Resistance Locus O* (MLO) in Gerste nicht nur Resistenz gegenüber Mehltau, sondern reguliert auch die Rekrutierung mutualistischer Pilze [11]. Dies legt nahe, dass eine gesteigerte Resistenz im Blatt unbeabsichtigt zu einer Schwächung des Wurzelmikrobioms führen kann. Solche Erkenntnisse unterstreichen die Notwendigkeit, Immunität und Mikrobiominteraktionen organspezifisch zu betrachten. Spross- und Wurzelgewebe unterscheiden sich grundlegend in Struktur, Expositionslage und mikrobieller Umgebung – und damit auch in ihrer Immunarchitektur und Regulation. Zukünftige Arbeiten werden daher untersuchen, wie effektorabhängige Infochemikalien nicht nur die pflanzliche Immunantwort in unterschiedlichen Organen modulieren, sondern auch Interkingdom-Synergien mit bakteriellen Mikrobiotapartnern koordinieren – mit dem Ziel, Mikrobiom-vermittelte Immunhomöostase zu fördern und die Resilienz gegenüber biotischem Stress gezielt zu erhöhen.

Insgesamt wird deutlich, dass Pathogene und Symbionten teilweise ähnliche molekulare Strategien nutzen, etwa zur Modulation der Wirtsimmunität oder zum Gewebszugang. Dennoch unterscheiden sie sich grundlegend in ihren funktionellen Konsequenzen und langfristigen Auswirkungen auf den Wirt. Nur ein ganzheitliches, organspezifisches Verständnis von Pflanzen-Mikroben-

Interaktionen kann neue Perspektiven für die gezielte Förderung pflanzlicher Gesundheit eröffnen – insbesondere durch ein präzises Management effektorvermittelter Signalnetzwerke und funktioneller Mikrobiota-Allianzen. ■

Literatur

- [1] Mahdi LK, Miyauchi S, Uhlmann C et al. (2022) The fungal root endophyte *Serendipita vermifera* displays inter-kingdom synergistic beneficial effects with the microbiota in *Arabidopsis thaliana* and barley. *ISME J* 16: 876–889
- [2] Weiss M, Waller F, Zuccaro A et al. (2016) Sebaciales – one thousand and one interactions with land plants. *New Phytologist* 211: 20–40
- [3] Waller F, Achatz B, Baltruschat J et al. (2005) The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 13386–13391
- [4] Lahrman U, Ding Y, Banhara A et al. (2013) Host-related metabolic cues affect colonization strategies of a root endophyte. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 13965–13970
- [5] Qiang X, Zechmann B, Reitz MU et al. (2012) The mutualistic fungus *Piriformospora indica* colonizes *Arabidopsis* roots by inducing an endoplasmic reticulum stress-triggered caspase-dependent cell death. *Plant Cell* 24: 794–809
- [6] Nizam S, Qiang X, Wawra S et al. (2019) *Serendipita indica* E5'NT modulates extracellular nucleotide levels in the plant apoplast and affects fungal colonization. *EMBO Rep* 20
- [7] Thammavongsa V, Missiakas DM, Schneewind O (2013) *Staphylococcus aureus* degrades neutrophil extracellular traps to promote immune cell death. *Science* 342: 863–866
- [8] Winstel V, Missiakas D, Schneewind O (2018) *Staphylococcus aureus* targets the purine salvage pathway to kill phagocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 115: 6846–6851
- [9] Huang S, Jia A, Song W et al. (2022) Identification and receptor mechanism of TIR-catalyzed small molecules in plant immunity. *Science* 377: eabq3297
- [10] Jia A, Huang S, Song W et al. (2022) TIR-catalyzed ADP-ribosylation reactions produce signaling molecules for plant immunity. *Science* 377: eabq8180

- [11] Hilbert M, Novero M, Rovenich H et al. (2019) MLO Differentially Regulates Barley Root Colonization by Beneficial Endophytic and Mycorrhizal Fungi. *Front Plant Sci* 10: 1678
- [12] Dunken N, Widmer H, Balcke G et al. (2024) A nucleoside signal generated by a fungal endophyte regulates host cell death and promotes root colonization. *Cell Host Microbe* 32: 2161–2177

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. Alga Zuccaro
 Biozentrum
 Institut für Pflanzenwissenschaften
 Universität zu Köln
 Zülpicher Straße 47B
 D-50674 Köln
azuccaro@uni-koeln.de

AUTORINNEN UND AUTOREN



Nick Dunken

Jahrgang 1995. 2013–2020 Biologiestudium an der Universität zu Köln. Dort bis 2025 Promotion im Bereich Pflanzen-Mikroben-Interaktion unter Anleitung von Prof. Dr. A. Zuccaro.



Alga Zuccaro

Biologiestudium. 2004 Promotion. 2010–2016 Forschungsgruppenleiterin am Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie in Marburg. Seit 2014 Professorin an der Universität zu Köln und Koordination CEPLAS-Forschungsbereich „Plant Microbe Interactions“. Sprecherin des DFG-Schwerpunktprogramms SPP2125 DECryPT, der Profilbildungsinitiative iHEAD des Landes NRW sowie Mitglied im Leitungsteam des SFB CRC1403.