



## Doctoral Thesis

# **Ecology of fungal root endophytes in a changing climate A case study with taxa of the *Phialocephala fortinii* s.l. - *Acephala applanata* species complex**

**Author(s):**

Reininger, Vanessa

**Publication Date:**

2012

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-007348443> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH No. 20343

**ECOLOGY OF FUNGAL ROOT ENDOPHYTES IN A CHANGING CLIMATE -  
A CASE STUDY WITH TAXA OF THE *PHIALOCEPHALA FORTINII* S.L. - *ACEPHALA APPLANATA*  
SPECIES COMPLEX**

A dissertation submitted to  
ETH ZURICH  
For the degree of  
Doctor of Sciences

Presented by  
VANESSA REININGER  
Dipl.-Biol. univ., LMU Munich

Born June 30, 1979  
Nationality: Austrian

Accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. Ottmar Holdenrieder, Referee  
Prof. Dr. Erhard Halmschlager, Co-Referee  
Dr. Thomas N. Sieber, Co-Referee

2012

# SUMMARY

Every plant is supposed to host endophytic microorganisms, which can colonize all plant organs without causing any harm. A very common group of fungal endophytes are ascomycetous dark septate endophytes (DSE). Fungi of the *Phialocephala fortinii* s.l. – *Acephala applanata* species complex (PAC) belong to this group and colonize roots predominantly of coniferous trees and ericaceous shrubs in the Northern hemisphere. Recent studies showed that the behavior of PAC on the host plant depends on its genotype and ranges from neutral to pathogenic, and that some strains provide biological control of serious root pathogens. Nevertheless, our understanding of the mechanisms leading to community formation and the ecological role of these fungi is still very limited. Since PAC endophytes are very common and several species and genotypes can live spatially closely together, PAC species and genotypes are supposed to interact with each other and with other microbes, e.g. ectomycorrhizal fungi (ECM). Considering that plant communities are presumably shaped by the microbial communities they host, PAC might contribute significantly to this process. Therefore, interaction studies using clearly defined PAC strains investigating their intra- and interspecific competition as well as the effects of PAC communities on different host plants are needed. Microbe-microbe and microbe-plant interactions are strongly influenced by environmental factors. However, nothing was known about the effect of global warming on the PAC-plant symbioses. Therefore, the effects of rising temperatures on a tripartite system, comprising host plants, different PAC genotypes and ECM were addressed for the first time in this study.

Two multifactorial interaction experiments were performed to investigate PAC's competitive behavior in the host. (1) In the first experiment, intra- and interspecific competition was studied among four PAC strains (two strains each of two species) differing in pathogenicity on *Picea abies*. The strains were used to inoculate two host species (*Betula pendula* and *Picea abies*) which were incubated at two temperatures (18°C and 23°C). Single-strain and dual-strain treatments were performed to test fungal interactions and to reveal the effect of the genetic diversity of PAC endophytes on the host plant. (2) In the second experiment PAC-ECM interaction was tested using the same four PAC strains in competition with the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N on two host species (*Pseudotsuga menziesii* and *Picea abies*) and at two temperatures (19°C and 25°C). Measured variables were plant dry weight, fungal biomass in both experiments and the degree of mycorrhization in the second experiment. To analyze these experiments, a method based on competitive microsatellite PCR was developed to quantify endophytic biomass of two PAC strains in the same root sample. PAC biomass was used as an estimate for competitive success.

All three host species were colonized with PAC but affected differentially. Endophytic PAC biomass was highest and responses to different strains and strain combinations varied the most in *Picea abies* whereas *Betula pendula* and *Pseudotsuga menziesii* were hardly affected. Interactions among PAC strains was shown to occur since, depending on the genotype of the co-colonizing strain, endophytic fungal biomass was either reduced or increased by the co-colonizing strain. This effect was independent of temperature. As a result of these interactions among PAC strains, positive effects on plant performance were obtained, emphasizing the importance of genetic diversity of endophytes for their hosts. An effect due to temperature could only be detected in the PAC-ECM interaction experiment. PAC colonization density in roots of *Pseudotsuga menziesii* and the degree of mycorrhization were reduced at the higher temperature whereas plant biomass of *Picea abies* was increased. Mycorrhization reduced the negative effect of PAC on plant growth, particularly in *Picea abies*, confirming the beneficial impact of mycorrhizae on their host plant. Accordingly, PAC's colonization density in *Pseudotsuga menziesii* was significantly reduced due to mycorrhization but had only little influence on growth performance of this host.

These findings clearly demonstrate the importance of genotypic diversity of PAC root endophytes for mitigating negative effects of pathogenic PAC genotypes on host plants, resulting from intraspecific interactions among PAC. Additionally, ECM can reduce negative effects of PAC-symbionts on its host. Based on the common occurrence of PAC infections and host-dependent disease expression, I conclude that these fungi may contribute significantly to plant community formation as well as to ecosystem resilience in a changing environment. However, we should keep in mind that this study was performed under laboratory conditions and included only a limited set of variables. Therefore, unraveling the ecological role of PAC endophytes in plant communities in nature remains a major challenge.

# ZUSAMMENFASSUNG

Jede Pflanze beherbergt vermutlich endophytische Mikroorganismen, welche alle Pflanzenorgane besiedeln können, ohne hierbei einen Schaden zu verursachen. Eine sehr häufige Gruppe von Pilzendophyten sind die Dunklen Septierten Endophyten (DSE), welche zu den Askomyzeten gehören. Die Pilze des *Phialocephala fortinii* s.l. – *Acephala applanata* Artenkomplexes (PAC) gehören zu dieser Gruppe und besiedeln vornehmlich Wurzeln von Koniferen und Erikazeen auf der Nordhemisphäre. Neuere Studien zeigen, dass das Verhalten, welches PAC auf der Wirtspflanze zeigt, vom jeweiligen PAC-Genotyp abhängig ist und von neutral bis pathogen reicht. Einige Stämme konnten zudem eine biologische Kontrolle gegen ernsthafte Pathogene bieten. Trotzdem ist unser Verständnis der Mechanismen, welche zur Bildung von PAC-Gemeinschaften führen, und der ökologischen Rolle dieser Pilze, noch immer sehr gering. Weil PAC-Endophyten sehr häufig sind und verschiedene Arten und Genotypen räumlich eng zusammenleben können, wird angenommen, dass PAC-Arten und Genotypen untereinander und mit anderen Mikroben in Interaktion treten, so z.B. mit Ektomykorrhizapilzen (ECM). Da Mikroben-Gemeinschaften die Pflanzengesellschaften mitgestalten, könnten PAC-Symbionten deren Zusammensetzung maßgeblich beeinflussen. Interaktionsstudien mit eindeutig definierten PAC-Stämmen können sowohl deren intra- und interspezifische Konkurrenz, als auch die Effekte von PAC-Gesellschaften auf verschiedene Wirtspflanzen aufzeigen. Mikroben-Mikroben und Mikroben-Pflanzen Interaktionen sind stark beeinflusst von der Umwelt. Bisher lagen jedoch keine Erkenntnisse über die Effekte eines globalen Temperaturanstiegs auf die PAC-Pflanzen-Symbiose vor. Deshalb werden in dieser Studie erstmals die Effekte einer Klimaerwärmung auf Dreikomponentensysteme aus Pflanzen, verschiedenen PAC-Genotypen und ECM untersucht.

Es wurden zwei multifaktorielle Interaktionsexperimente durchgeführt, um das Konkurrenzverhalten von PAC in der Wirtspflanze zu untersuchen. (1) Im ersten Experiment wurden die intra- und interspezifische Konkurrenz zwischen vier PAC-Stämmen (je zwei Stämme gehören zu einer Art), welche eine unterschiedliche Pathogenität auf Fichte aufweisen, erforscht. Hierfür wurden zwei Wirtspflanzen (*Betula pendula* und *Picea abies*) mit den PAC-Stämmen beimpft und anschließend bei zwei Temperaturen (18°C und 23°C) inkubiert. Um den Effekt der genetischen Diversität von PAC-Endophyten auf die Wirtspflanze aufzudecken, wurde diese mit je einem oder mit zwei verschiedenen PAC-Genotypen inokuliert. (2) In einem zweiten Experiment wurden PAC-ECM-Interaktionen mittels der gleichen vier PAC-Stämme in Konkurrenz mit dem Ektomykorrhizapilz *Laccaria bicolor* S238N an zwei Wirtspflanzen (*Pseudotsuga menziesii* und *Picea abies*) und unter zwei Temperaturen (19°C und 25°C) getestet. Die Messgrößen waren Pflanzentrockengewicht und Pilzbiomasse in beiden Experimenten und zusätzlich der Mykorrhizierungsgrad im zweiten

Experiment. Es wurde eine Methode entwickelt, welche auf kompetitiver Mikrosatelliten-PCR basiert, mittels derer die endophytische Biomasse zweier PAC-Stämme in der gleichen Wurzelprobe quantifiziert werden kann. Die PAC-Biomasse wurde als Messgröße für erfolgreiche Konkurrenz angenommen.

Alle drei Wirtsarten wurden von PAC besiedelt, aber in unterschiedlichem Ausmaß von ihm beeinflusst. Die endophytische PAC-Biomasse war am höchsten in *Picea abies* und auch die Reaktionen auf die verschiedenen Stämme und Stammkombinationen waren bei *Picea abies* am stärksten ausgeprägt. *Betula pendula* und *Pseudotsuga menziesii* hingegen zeigten kaum Unterschiede in ihrer Reaktion auf die PAC-Infektionen. Interaktionen zwischen den PAC-Stämmen zeigten sich darin, dass in Abhängigkeit des Genotyps des mit-besiedelnden Stammes die endophytische Biomasse entweder reduziert oder erhöht wurde. Dieser Effekt war unabhängig von der Temperatur. Als Ergebnis der Interaktion zwischen verschiedenen PAC-Stämmen konnte ein positiver Effekt auf das Pflanzenwachstum nachgewiesen werden. Dies zeigt die Bedeutung der genotypischen Diversität von Endophyten für ihre Wirtspflanze. Ein Temperatureffekt konnte nur im PAC-ECM-Interaktionsexperiment beobachtet werden. Die Besiedlungsdichte von PAC in Wurzeln von *Pseudotsuga menziesii* und der Mykorrhizierungsgrad waren bei höherer Temperatur reduziert, hingegen bei *Picea abies* war die Pflanzenbiomasse erhöht. Die Mykorrhizierung reduzierte, besonders bei *Picea abies*, den negativen Effekt von PAC auf das Pflanzenwachstum. Dies bestätigt den positiven Effekt der Mykorrhiza auf ihre Wirtspflanze. Entsprechend war die Besiedlungsdichte von PAC in *Pseudotsuga menziesii* unter Mykorrhizierung signifikant reduziert, aber es zeigte sich bei diesem Wirt kaum ein Effekt auf das Pflanzenwachstum.

Diese Ergebnisse zeigen deutlich, wie wichtig die genotypische Diversität von PAC-Wurzelendophyten ist, um die negativen Effekte von pathogenen Genotypen auf die Wirtspflanze mittels intra- oder interspezifischer Interaktionen abzuschwächen. Zudem können ECM-Pilze negative Effekte von PAC-Symbionten auf den Wirt reduzieren. Aufgrund des häufigen Vorkommens von PAC-Infektionen und der wirtsabhängigen Symptomausprägung folgere ich, dass diese Pilze signifikant zur Entwicklung von Pflanzengesellschaften als auch zur Erhaltung von Ökosystemen in einer sich verändernden Umwelt beitragen können. Dennoch sollte man sich darüber im Klaren sein, dass diese Studien unter Laborbedingungen durchgeführt wurden und nur einen relativ kleinen Teil der Variablen, welche in der Natur vorkommen, widerspiegeln. Die Aufklärung der ökologischen Rolle von PAC-Endophyten in Pflanzengesellschaften bleibt daher eine große Herausforderung.