
Sektion 21 - Ackerbau V: Qualitätsgerechte Pflanzenproduktion

21-1 - Gollnow, M.; Varrelmann, M.; Christ, D.

Institut für Zuckerrübenforschung

Auftreten von *Fusarium* spp. und Mykotoxinakkumulation in Zuckerrüben in Abhängigkeit unterschiedlicher Lagerungsbedingungen

Occurrence of Fusarium spp. and mycotoxin accumulation in sugar beet under different storage conditions

Aus Zuckerrüben wurden mittlerweile ebenso viele unterschiedliche *Fusarium*arten isoliert wie aus Weizen. Trotzdem gilt die Zuckerrübe allgemein immer noch als Nichtwirtspflanze. Mit Hilfe von Feld- und Lagerungsversuchen wurden das Auftreten und die Bedeutung von *Fusarium* spp. für die Zuckerrübenproduktion in Deutschland untersucht. Dabei zeigte sich eine sehr hohe Speziesvielfalt mit mehr als zehn unterschiedlichen *Fusarium* spp. pro Standort. Standortübergreifend hing die Isolationsfrequenz einzelner Arten dabei deutlich von der Dauer der Lagerung ab. Die auch im Getreideanbau bekannten Trichothecen- und Zearalenonproduzenten *F. culmorum*, *F. cerealis* und *F. graminearum* traten erst im Zusammenhang mit deutlicher Lagerfäule nach Langzeitlagerung in erhöhter Frequenz auf. Vorher überwogen in erster Linie endophytisch wachsende Arten wie *F. redolens*.

Zudem wurde in einer zweijährigen Untersuchung der Einfluss von Ernte- und Lagerungsbedingungen auf den Fäulnisbefall und eine mögliche Mykotoxinproduktion in Zuckerrüben bestimmt. Dafür wurden Zuckerrüben unterschiedlich hoch geköpft bzw. entblättert und unter verschiedenen Temperaturbedingungen und Zeiträumen inkubiert. Durch die anschließende Mykotoxinanalyse wurde die zuvor festgestellte Artzusammensetzung bestätigt. In frisch geernteten Zuckerrüben wurden ausschließlich Beauvericin und Enniatine detektiert, die u. a. von *F. redolens* produziert werden. Hohe Konzentrationen von z. B. Zearalenon und Deoxynivalenol wurden lediglich in Zuckerrüben detektiert, die bei hoher Lagertemperatur und -dauer inkubiert wurden. Diese Toxine werden überwiegend von *F. graminearum*, *F. culmorum* und *F. cerealis* produziert. Die Köpferverletzung zeigte kaum einen Einfluss auf die Mykotoxinakkumulation.

21-2 - Tillmann, M.; von Tiedemann, A.

Georg-August-Universität Göttingen

Spezifische *Fusarium*-Artenpektren in Weizen in Abhängigkeit von Vorfrucht und Blattfungiziden

Fusarium spp. gehören zu den wichtigsten pilzlichen Schaderregern im Getreidebau und sind von großer wirtschaftlicher Bedeutung. An Weizen treten zumeist mehrere pathogene Arten als Komplex auf. Die agronomische Bedeutung des Gesamtspektrums dieser meist toxigenen Arten und deren Risikobeurteilung für die Gesundheit von Mensch und Tier sind noch nicht ausreichend geklärt. In den Jahren 2010 und 2011 wurde daher das *Fusarium*-Artenpektrum an Weizen in einem Fruchtfolgeversuch nördlich von Göttingen untersucht. Ziel war es, bei nichtwendender Bodenbearbeitung den Einfluss der Vorfrucht (Winterweizen, Mais, Zuckerrübe, Ölrettich), der Weizensorte ('Ritmo', hochanfällig; 'Centrum', resistent) und der Blattfungizidbehandlung zu BBCH 31 und BBCH 39 auf die *Fusarium*-Artenzusammensetzung und Kolonisationsraten an der Halmbasis zu BBCH 37-39, 61-65 und 71-75 und an der Ähre zu BBCH 92 zu ermitteln. Die Identifikation der Arten erfolgte sowohl morphologisch als auch molekulargenetisch mittels TEF1alpha-PCR und anschließender RFLP-Analyse sowie mittels artspezifischer PCR. Die im Jahr 2010 häufigsten Arten wurden in nachfolgenden Inokulationsversuchen im Feld sowie in Gewächshaus und Klimakammer auf ihre Pathogenität und Mykotoxinprofile hin überprüft.

In beiden Versuchsjahren 2010 und 2011, in denen der Befall mit Ährenfusarium insgesamt gering war, konnten dennoch insgesamt 11 *Fusarium*-Arten an der Halmbasis und der Ähre von Weizen identifiziert werden. In Hinblick auf die Artenpektren an den beiden Pflanzenorganen zeigten sich signifikante Unterschiede. In beiden Jahren waren die Arten *F. culmorum*, *F. equiseti* und *F. tricinatum* an der Halmbasis die am häufigsten isolierten Arten. An der Ähre waren dies hingegen *F. culmorum* (nur nach Winterweizen 2011), *F. graminearum* (nur nach Mais 2010), *F. poae* und *F. tricinatum*. Sowohl 2010 als auch 2011 zeigten sich hinsichtlich der Kolonisierungsrate an der Halmbasis deutliche Vorfruchteffekte. 2011 war die Rate nach Mais und besonders nach Zuckerrübe stark erhöht, während sich nach Weizen sehr niedrige Raten zeigten. An der Ähre waren weitaus geringere Kolonisierungsraten zu beobachten, jedoch waren ebenfalls deutliche Vorfruchteffekte zu erkennen, die

allerdings zwischen den Jahren schwankten. Während sich 2010 die höchste Kolonisierungsrate nach Mais zeigte, konnte 2011 die höchste Rate nach Winterweizen festgestellt werden. 2011 zeigten sich an der Halmbasis zudem signifikant höhere Kolonisationsraten in den mit Fungizid behandelten Varianten, jedoch kein signifikanter Sorteneffekt. An der Ähre konnte in beiden Jahren ein signifikanter Sorteneffekt ermittelt werden, welcher sich in höheren Kolonisierungsraten mit *F. poae* und *F. tricinctum* der anfälligen Sorte 'Ritmo' zeigte. Pathogenitätstests der häufigsten Arten *F. equiseti*, *F. poae* und *F. tricinctum* an Ähre und Halmbasis von Weizen zeigten, dass alle drei Arten in der Lage sind die Ähre zu befallen und das Black-Point Symptom an den Körnern hervorzurufen [1], welche signifikant erhöhte Mykotoxingehalte aufwiesen.

Die Ergebnisse zeigen, dass neben den Leitpathogenen *F. graminearum* und *F. culmorum* ein weiteres Spektrum mykotoxinbildender *Fusarium*-Arten an Halmbasis und Ähre von Weizen vorkommt, welches sich in seiner Zusammensetzung an den beiden Pflanzenorganen unterscheidet und in Hinblick auf dessen Kolonisierungsraten deutlich stärker von der Vorfrucht und der Sortenwahl als vom Fungizideinsatz abhängig ist.

Literatur

[1] CHRIST, D. S., GÖDECKE, R., VON TIEDEMANN, A., VARRELMANN, M. 2011. Pathogenicity, symptom development, and mycotoxin formation in wheat by *Fusarium* species frequently isolated from sugar beet. *Phytopathology* 101:1338-1345.

21-3 - Kreuzberger, M.; Pawelzik, E.

Georg-August-Universität Göttingen

Veränderungen der Speicherproteine im Weizenkorn nach *Fusarium*-Befall

Impact of Fusarium infection on wheat storage proteins

Ährenfusarium an Weizen ist eine weltweit verbreitete Pilzkrankheit, die zu Ertragsverlusten und zu einer verminderten Qualität von Weizen und seinen Verarbeitungsprodukten führt. Die Qualität des Weizens wird vor allem durch Mykotoxine beeinträchtigt, die von verschiedenen *Fusarium* spp. produziert werden. Darüber hinaus können jedoch auch von *Fusarium* spp. ins Korn abgegebene Enzyme, wie Amylasen und Proteasen, Korninhaltsstoffe abbauen, die für die Verarbeitung von Weizenmehl zu Backwaren von entscheidender Bedeutung sind.

Die vorliegenden Ergebnisse beschäftigen sich mit der Auswirkung eines natürlichen *Fusarium* spp.-Befalls auf die für die Verarbeitungsqualität von Brotweizen bedeutsamen glutenbildenden Proteinfractionen. Die Untersuchung der Glutenproteine erfolgte mittels RP-HPLC an Mehlen der Type 550 zweier Backweizensorten, die sich hinsichtlich ihrer Anfälligkeit gegenüber Ährenfusarium stark unterscheiden und die über drei Jahre im Rahmen eines Fruchtfolgeversuchs nach Winterweizen, Mais und Zuckerrübe angebaut wurden. Der Deoxynivalenol-Gehalt im Mehl wurde mittels HPLC-MS/MS quantifiziert, um den Befall mit *Fusarium* spp. zu charakterisieren.

Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Gesamtgluten-Gehalt, dem Gehalt an hochmolekularen Glutenin-Untereinheiten (HMW-GS) sowie der Zusammensetzung des Glutens (Gliadin/Glutenin-, LMW/HMW-Verhältnis) mit dem DON-Gehalt im Mehl. Die Richtung und Stärke des Effekts sowie die praktische Relevanz der Veränderungen für die Verarbeitung des Weizens werden diskutiert.

21-4 - Trümper, C.; Eggert, K.; Smit, I.; Pawelzik, E.

Georg-August-Universität Göttingen

Proteomprofile in Emmer und Nacktgerste in Abhängigkeit von *Fusarium*-Befall und Reifegrad der Körner

Emmer (*Triticum dicoccum*) ist eine alte Weizenart, welche seit über 60 Jahren nicht mehr in Deutschland kultiviert wird und heute hauptsächlich in der ökologischen Landwirtschaft anzutreffen ist. Verwendung findet Emmer vor allem als Brotgetreide [1]. Besonders der Wilde Emmer (*Triticum diccoides*) gilt als eher anfällig gegenüber *Fusarium* mit einigen resistenten Ausnahmen [2].

Nacktgerste (*Hordium vulgare* ssp. *nudum*) ähnelt morphologisch der bespelzten Kulturform. In der Literatur sind vor allem zweizeilige Gerstensorten als resistent gegen *Fusarium* beschrieben, was u. a. auf die Begrannung der Ähren zurückgeführt wird [3]. Bislang wenig bekannt sind die Auswirkungen einer Fusarien-Infektion der Ähren von Emmer und Nacktgerste auf qualitätsgebende Inhaltsstoffe im Korn.

Emmer und Nacktgerste wurden hinsichtlich ihrer Anfälligkeit gegenüber *Fusarium*-Befall untersucht. Schwerpunkt der Untersuchungen war der Einfluss einer natürlichen und einer künstlichen *Fusarium*-Infektion auf die Speicherproteine und Proteomprofile im Korn. Weiterhin wurden Veränderungen von Proteinen untersucht, welche eine Rolle in der Pathogen-Abwehr spielen. Dabei sollten auch solche Proteine identifiziert werden, die

eine Rolle in der Pathogen-Abwehr spielen. Hierzu erfolgten Untersuchungen an Körnern mit unterschiedlichen Reifegraden.

Mehrere Sorten Emmer und Nacktgerste wurden in einem Feldversuch an zwei Standorten in der Nähe von Göttingen angebaut. Ein Teil der Proben wurde mit *Fusarium culmorum* bzw. mit *Fusarium graminearum* künstlich inokuliert. Während der Kornentwicklung wurden Proben im Reifestadium der Milchreife, Teigreife, Gelbreife, Vollreife und der Erntereife entnommen. Durch Fraktionierung der Proteine nach Osborne wurden Veränderungen von Speicherproteinen im Zusammenhang mit *Fusarium*-Befall untersucht. Die Analysen erfolgten mittels RP-HPLC und 1D-Gelelektrophorese. [4] Spezielle pathogeninduzierte Proteine wurden mittels 2D-Gelelektrophorese und anschließender Identifizierung der Proteine durch MALDI-Tof-MS und LC-MS-MS untersucht.

In Emmer wurde, ähnlich wie in Weizen, eine signifikante Abnahme von Speicherprotein-Fractionen, insbesondere der HMW- und LMW-Glutenin Untereinheiten von bis zu 50 %, nach künstlicher *Fusarium*-Infektion festgestellt. Nacktgerste wies keine charakteristischen Veränderungen der Speicherproteine nach einer Infektion mit *Fusarium* auf.

Emmer und Nacktgerste zeigten nach *Fusarium*-Infektion eine Hochregulierung bis zu einem vierfachen einiger Serin-Protease-Inhibitoren, welche Pilzproteasen hemmen und somit den Infektionsdruck des Pilzes herabsetzen. Weiterhin wurde eine Hochregulierung von PR (pathogenesis related) Proteinen, wie „thaumatin-like protein“ festgestellt. Diese hemmen das Pilzwachstum und somit die Infektion weiterer Pflanzenteile. Erste Ergebnisse zeigen unterschiedliche Proteinanreicherungen in Abhängigkeit vom Reifegrad der Körner.

Literatur

- [1] MIELKE, H., RODEMANN, B., 2007: Zum Anbau und Pflanzenschutz einer wieder entdeckten Weizenart: Emmer (*Triticum dicoccum*). Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutz.
- [2] BUERSTMAYR, H., STIERSCHNEIDER, M., STEINER, B., LEMMENS, M., GRIESSER, M., 2003: Variation for resistance to head blight caused by *Fusarium graminearum* in wild emmer (*Triticum dicoccoides*), *Euphytica* 130, S. 17-23.
- [3] CHOO, T. M., VIGIER, B., SHEN, Q. Q., MARTIN, R. A., HO, K. M., SAVARD, M., 2004: Barley traits associated with resistance to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation. *Phytopathology* 94:1145-1150.
- [4] WIESER, H., 1998: Investigations on the extractability of gluten proteins from wheat bread in comparison with flour. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* S. 128-132.

21-5 - Vorholt, M.; von Alten, H.

Leibniz Universität Hannover

Einfluss von Umwelt- und Lagerbedingungen auf die Mykotoxinproduktion im Spargel

Die weltweit im Spargelbau verbreitete Wurzel-, Kronen- und Stangenfäule wird durch parasitäre Pilze der Gattung *Fusarium* verursacht, darunter *F. oxysporum* Schlecht. und *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg. *Fusarium* spp Infektionen verursachen u. a. ein Welken an Wurzel und Stangen bis zur Fäule an Wurzeln, Rhizom und Stängeln. Eine weitere Qualitätseinschränkung sowie potentielle Gesundheitsgefährdung für den Menschen wird durch die mögliche Mykotoxinproduktion, insbesondere Fuminisinproduktion, hervorgerufen. Dabei zählt *F. proliferatum* zu den Hauptbildnern von Fumonisinen.

Es konnte gezeigt werden, dass die Resistenz einiger agrarwissenschaftlich bedeutsamer Produkte gegenüber bestimmten Pilzinfektionen mit einem hohen Gehalt an phenolischen Substanzen korreliert, und dass diese ferner Potential besitzen, die Produktion von Mykotoxinen zu reduzieren.

Bisherige Untersuchungen haben gezeigt, dass das natürliche Fumonisinbildungspotential in nicht gelagertem, direkt vom Feld entnommenem Spargel durch *Fusarium* spp gering ist. Lagerversuche, in denen Spargel unter optimalen und suboptimalen Bedingungen eingelagert wurde, und in denen Temperatur und Lagerdauer variiert wurden, sollten Aufschluss darüber geben, wie sich das Mykotoxinbildungspotential in gelagertem, natürlich infiziertem Spargel sowie inokuliertem Spargel verhält. Neben Fumonisinen wurden auch Cyclohexadepsipeptide berücksichtigt. Zur Ermittlung der Entwicklung von *Fusarium* spp und der Mykotoxinproduktion unter verschiedenen Lagerbedingungen in Bleichspargel wurden Spargelstangen der Handelsklasse 1 sowie 2 bei 4 °C, 15 °C und 22 °C für jeweils 2 und 7 Tage eingelagert; im Anschluss wurden die Proben gefriergetrocknet und die Fumonisinegehalte mittels HPLC-MS charakterisiert und quantifiziert sowie die Menge an *F. proliferatum* DNA ermittelt. Darüber hinaus wurden phenolische Verbindungen im Zusammenhang mit der *Fusarium*-Infektion sowie der Fumonisinproduktion *in vitro* und *in vivo* eruiert, wobei hier, aufgrund des unterschiedlichen Phenolaufkommens, zwischen Bleich-, Grün- und Purpurspargel unterschieden wurde.

Die Proben wiesen eine geringe Fumonisinproduktion in allen Lagervarianten auf, mit Werten zwischen 2 - 30 ppb, bedingt durch einen geringen natürlichen Infektionsdruck von *F. proliferatum*, wobei die höchsten

Fumonisin-Werte in der suboptimalen Lagerung bei 20 °C, bei einer Dauer von 7 Tagen zu verzeichnen waren. Bei den mit *F. proliferatum* inokulierten Stangen zeigten sich in allen Varianten höhere Fumonisin-Werte zwischen 500-1500ppb. Eine Korrelation zwischen der Menge an pilzlicher DNA und Toxinwerten konnte insgesamt nicht beobachtet werden.

Der Beitrag stellt weiterhin erste Ergebnisse vor, inwiefern phenolische Substanzen *in vivo* sowie *in vitro* ein Potential aufweisen, das Wachstum von *F. proliferatum* und die Produktion von Fumonisinen signifikant zu beeinflussen.

Literatur

- BOUTIGNY, A. et al, 2009: Ferulic acid, an efficient inhibitor of type B trichothecene biosynthesis and Tri gene expression in *Fusarium* liquid cultures, *Mycological Research* 113, 746-753.
- COMA, V. et al, 2011: In vitro inhibitory effect of tetrahydrocurcuminoids on *Fusarium proliferatum* growth and fumonisin B1 biosynthesis, *Food Additives and Contaminants* Vol. 28, 218-225.
- GOSSMANN, M. et al, 2008: Spargelstangenuntersuchungen zur Haupterntezeit auf Infektionen mit *Fusarium* spp. und Kontaminationen mit Fumonisin B1, *Mycotoxin Research* Vol. 24, 88-97.

21-6 - Kössler, P.; Döll, K.; Karlovsky, P.

Georg-August-Universität Göttingen

3-ADON und 15-ADON: Ist eine Unterscheidung mittels HPLC-MS/MS möglich?

3- and 15-ADON: Is a differentiation by LC-MS/MS possible?

3- und 15-ADON sind Isomere von Acetyl-Deoxynivalenol. Eine Unterscheidung anhand der Retentionszeit ist in den meisten HPLC-Systemen nicht möglich. Eine Differenzierung mit Hilfe von MS/MS ist prinzipiell möglich, wenn geeignete, für den jeweiligen Analyten spezifische Tochterionen bei der Fragmentierung entstehen. Die Identifizierung von solchen isomer-spezifischen Fragmenten wird dadurch erschwert, dass viele käuflich erwerbliche 3- und 15-ADON-Standards mit dem jeweils anderen Isomer verunreinigt sind.

In den meisten Multitoxin-Methoden für *Fusarium*-Toxine ist die Detektion von 3- und 15-ADON enthalten, obwohl in der Literatur kontroverse Meinungen über die Spezifität der verwendeten Fragmente und auch über die prinzipielle Möglichkeit der Unterscheidung von ko-eluierenden 3- und 15-ADON mittels LC-MS/MS geäußert werden.

Wir haben die chromatographischen Bedingungen geprüft, die in der Literatur für die Separation der Isomere als geeignet beschrieben sind. Außerdem werden wir die Ergebnisse von Versuchen vorstellen, in denen wir die Fragmentierungsbedingungen für die beiden Analyten systematisch variiert haben.