



# Mitteilungen

aus der Biologischen Bundesanstalt  
für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem

**55. Deutsche Pflanzenschutztagung  
in Göttingen 25. - 28. September 2006**

# 400

Herausgegeben von der  
Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft  
Berlin und Braunschweig

2006

## ***Diagnose- und Nachweisverfahren***

### **I. Vorträge**

#### **Sektion 2 – Diagnose– und Nachweisverfahren I**

##### **02–1 – Hecht, D.**

Technische Universität München, Lehrstuhl für Phytopathologie

##### **Gushing – ein durch *Fusarium* verursachtes Phänomen**

Gushing – a phenomenon caused by *Fusarium*

Gushing oder auch "Wildwerden" des Bieres bezeichnet das plötzliche Entweichen von Kohlendioxid beim sachgemäßen Öffnen einer Flasche, das von so starker Schaumbildung begleitet ist, dass es zu einer mehr oder weniger starken Entleerung der Flasche kommt. Man unterscheidet zwischen primären und sekundären Gushing, wobei das sekundäre Gushing technologisch bedingt ist, während das primäre Gushing durch den Befall des Kornes mit Schimmelpilzen, hauptsächlich *Fusarium*, verursacht wird. Der Pilzbefall führt zu einer qualitativen und quantitativen Veränderung des Kornes. Laut Literatur handelt es sich bei den Gushing–auslösenden Faktoren, um kleine, saure, oberflächenaktive, proteinogene Verbindungen. Das pflanzentypische Lipid Transfer Protein 1 (LTP1), ein wichtiger Schaumbildner im Bier, weist alle diese Merkmale auf und steht im Verdacht Gushing auslösen zu können. Man vermutet, dass es bei einem Befall des Kornes mit Schimmelpilzen zu einem Anstieg des LTP1 Gehaltes kommt, was wiederum zu einem Anstieg des LTP1 Gehaltes im Bier führt und beim Überschreiten eines bestimmten Schwellenwertes Gushing auslöst. Mit der Gewinnung von polyklonalen Antikörpern gegen das LTP1 aus Weizen wurde der LTP1 Gehalt in Weizenbieren und weizenhaltigen Proben untersucht.

Durch Immunoblotting und ELISA konnte gezeigt werden, dass der LTP1 Gehalt von Weizen, der während der Kornbildung mit *Fusarium culmorum* und *Fusarium graminearum* künstlich infiziert wurde, deutlich anstieg. Andererseits wiesen die gushenden Biere, entgegen der Vermutung, wesentlich weniger LTP1 auf als die nicht–gushenden Biere. Qualitative Unterschiede (andere Modifikationen oder Isoformen des LTP1) konnten nicht nachgewiesen werden. Ob jetzt das LTP1 Auslöser oder nur ein Indikator für das Gushing ist, muss durch weitere Untersuchungen überprüft werden.

##### **02–2 – Lange, R.<sup>1)</sup>; Goßmann, M.<sup>2)</sup>; Büttner, C.<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup> Alberta Research Council

<sup>2)</sup> Humboldt–Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin

##### **Untersuchungen zur Identität, Pathogenität und genetischen Diversität von *Fusarium oxysporum* an Sommerraps in Kanada**

Investigation of the Identity, Pathogenicity and Genetic Diversity of *Fusarium oxysporum* on summer rape (*Brassica napus*) in Canada

1999 wurden erstmals bisher unbekannte Symptome in Sommerrapsfeldern in der kanadischen Provinz Albertas beobachtet. Die Stängel und Blätter der betroffenen Pflanzen wurden chlorotisch, später nekrotisch, die Pflanzen reiften vorzeitig, die Schoten schrumpften und wurden dürr. Zwischen 1999 und 2005 wurde diese Welkenkrankheit auch in anderen Gebieten Albertas und in den Provinzen Saskatchewan und Manitoba an Sommerrapspflanzen identifiziert. In Vorarbeiten wurde der Erreger nach Oberflächendesinfektion von symptomatischen Rapsstängelstücken isoliert. Durch Inokulation von Rapspflanzen mit *Fusarium oxysporum*–Isolaten und nachfolgender Rückisolierung konnte man den Erreger als *F. oxysporum* bestätigen.

Zur weiteren Charakterisierung und Beschreibung der Identität, Pathogenität und genetischen Diversität des Erregers wurde an 88 *Fusarium* spp.–Isolaten in Deutschland und Kanada Untersuchungen durchgeführt. Zu Vergleichszwecken wurden *F. oxysporum*–Isolate von Kohl (*Brassica oleracea*) aus der ATCC Sammlung verwendet, sowie Isolate von Gerste (*Hordeum vulgare*), Mais (*Zea mays*) und Hafer

(*Avena sativa*). Ein Isolat wurde jeweils von symptomatische Kohl- und Senfpflanzen (*B. juncea*) isoliert. Der Rest der Isolate wurden nach systematischen Probenahmen von infizierten Sommerrapspflanzen (*B. napus*) im Freiland gesammelt. Zusätzlich zu den mykologischen Untersuchungen wurden genomische DNA-Sequenzen von Elongation Factor 1- $\alpha$  (EF1- $\alpha$ ) bestimmt. Der Vergleich dieser Sequenzen mit die NCBI und FUSARIUM-ID [1] Datenbanken bestätigte 72 der 77 Isolate von *B. napus*, zusammen mit den Isolaten von Kohl, Mais und Senf, als *F. oxysporum*. Die EF1- $\alpha$  Sequenzen der Isolate von Gerste bzw. Hafer, und auch fünf Isolate von Raps, ähnelten *F. redolens* mehr als *F. oxysporum*. Zusätzlich wurde die Identität von 32 *F. oxysporum*-Isolaten von *B. napus* und *B. oleracea* mittels  $\beta$ -Tubulin Sequenzen [2] bestätigt.

Die Virulenz der *Fusarium* spp.-Isolate wurde mittels Tauchinokulation an anfälligen (Canterra 1604) und resistenten (SP Banner) Sommerrapsorten mit Konidiensuspensionen in Klimazellen bestimmt. Unter den *F. oxysporum*-Isolaten, waren 68 pathogen gegenüber Canterra 1604. Die vermutlichen *F. redolens*-Isolate und sechs *F. oxysporum*-Isolate von Raps, ein *F. oxysporum* Isolat von Kohl und die *F. oxysporum*-Isolate von Mais und Hafer waren nicht pathogen. Keine Symptome wurden auf SP Banner beobachtet.

Unter den 64 pathogenen *F. oxysporum*-Isolaten von Sommerraps gehörten 60, darunter auch zwei Isolate von Kohl und das Isolat von *B. juncea*, zur selben Verträglichkeitsgruppe (VCG) [3]. Die übrigen vier pathogenen und alle apathogenen Isolate, darunter alle *F. redolens*-Isolate, gehörten zu verschiedenen VCG. Die mögliche Verwandtschaftsverhältnisse zwischen *F. oxysporum* Populationen auf Sommerraps werden diskutiert.

#### Literatur

[1] Geiser, D.M., Jimenez-Gasco, M.D., Kang, S.C., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kuldau, G.A., O'Donnell, K. 2004. FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. European Journal of Plant Pathology, 110 (5-6), 437-479.

[2] O'Donnell, K., Kistler, H.C., Tacke, B.K., Casper, H.H. 2000. Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America 97 (14), 7905-7910.

[3] Correll, J. C., Klittich, C. J. R., Leslie, J. F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. Phytopathology 77 (1), 1640-1646.

### 02-3 – Utermark, J.; Karlovsky, P.

Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften,  
Abteilung Molekulare Phytopathologie und Mykotoxinforschung

#### Biosensor für Zearalenon auf Basis des Mykoparasiten *Gliocladium roseum*

Kontamination landwirtschaftlicher Produkte mit Mykotoxinen ist zum globalen Problem der Nahrungsmittel- und Futtermittelproduktion geworden. Zearalenon (ZON) ist ein nichtsteroides Mykotoxin das von pathogenen Pilzen der Gattung *Fusarium* gebildet wird. Die Belastung von Ernteprodukten mit ZON beeinträchtigt die Tierproduktion und stellt ein Risiko für die Gesundheit der Konsumenten dar. Im Hinblick auf die in Deutschland existierende Höchstmengeverordnung (für Getreideerzeugnisse 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), stehen für den Nachweis von Zearalenon hauptsächlich zeit- und kostenaufwendige Methoden (HPLC, ELISA) zur Verfügung.

Der Mykoparasit *Gliocladium roseum* detoxifiziert ZON durch Expression einer spezifischen Lactonase, codiert durch das Gen zes 2. Die regulierende Sequenz von zes 2 wurde mit einem GFP Gen (Green Fluorescence Protein) fusioniert. Durch einen *Agrobacterium tumefaciens* vermittelten Transfer des Genkonstrukts wurde zes 2 substituiert. Die Inkubation von *Gliocladium roseum* Transformanten mit östrogen wirkenden Substanzen führte nur bei ZON sowie Derivaten des Toxins zur konzentrationsabhängigen Expression des Reporter Gen Produkts GFP. Für ein routinemäßiges ZON- Biomonitoring von landwirtschaftlichen Erzeugnissen wurde ein Hochdurchsatz- Screening im Mikrotiterplattenformat etabliert.