

Untersuchung essentieller Gene des Fumonisin-Biosyntheseweges in Isolaten unterschiedlicher *Fusarium*-Arten



Anne-Mareen Eisold, Oliver Martinez Lopez, Susanne von Bergen, Monika Goßmann, Carmen Büttner
Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin
Phytomedizin@agr.ar.hu-berlin.de



Einleitung

Mittels PCR und RFLP wurden zwei initiale Gene der Fumonisin-Biosynthese, eine Polyketid-Synthase (*fum1*) und eine Aminocyl-Transferase (*fum8*), von unterschiedlichen *Fusarium*-Arten untersucht. Die Isolate wurden aus verschiedenen Wirtspflanzen gewonnen und anhand morphologischer Charakteristika den Arten *Fusarium proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. redolens*, *F. subglutinans* (Abb. 1) sowie *F. verticillioides* zugeordnet.

Nachweis des *fum1*- und *fum8*-Gens in *Fusarium* spp.

Aus Reinkulturen wurde von 42 verschiedenen *Fusarium* spp.-Isolaten DNA isoliert. Mit Hilfe der PCR wurde von *fum1* bzw. *fum8* jeweils ein spezifischer Genabschnitt (525 bp bzw. 801 bp groß) amplifiziert (Abb. 2). Hierbei wurden *F. proliferatum* sequenzbasierte Primer für alle untersuchten *Fusarium*-Arten eingesetzt.

Beide Gene waren in allen untersuchten *F. proliferatum* Isolaten detektierbar (Tab. 1). Unter Standard-PCR-Bedingungen war der *fum1*- und *fum8*-Nachweis für *F. proliferatum* spezifisch. Sowohl *Fum1*- als auch *fum8*-Fragmente konnten auch bei *F. oxysporum*, *F. redolens*, und *F. verticillioides* amplifiziert werden, wobei neben den spezifischen PCR-Produkten noch zusätzliche Fragmente generiert wurden (Abb. 3). In den untersuchten *F. subglutinans* Isolaten waren diese Gene nicht nachweisbar.

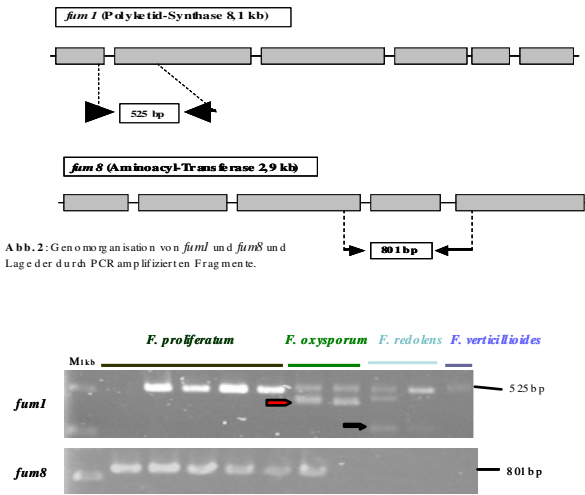


Abb. 2: Genomorganisation von *fum1* und *fum8* und Lage der durch PCR amplifizierten Fragmente.

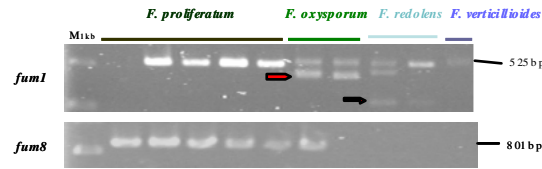


Abb. 3: PCR-Produkte von *fum1* (525 bp) und *fum8* (801 bp) aus Isolaten verschiedener *Fusarium*-Arten. Unspezifische Fragmente sind mit einem roten Pfeil markiert.

<i>Fusarium</i> -Art	Wirtspflanze	untersuchte Isolate [n]	Nachweis <i>Fum1</i>	Nachweis <i>Fum8</i>
<i>F. proliferatum</i>	Spargel	16	16	16
	Mais	2	2	2
		Σ	18	18
<i>F. oxysporum</i>	Spargel	4	0	0
	Raps	2	1	1
	Lupine	1	1	0
	Miscanthus	1	1	1
		Σ	3	2
<i>F. redolens</i>	Spargel	3	2	1
	Kartoffel	3	1	1
	Rübe	1	1	0
	Erbse	2	1	1
		Σ	5	3
<i>F. subglutinans</i>	Mais	2	0	0
		Σ	0	0
<i>F. verticillioides</i>	Sojahu	3	1	0
	Mais	2	0	2
		Σ	1	2
Gesamtsumme		42	27	25

Tab. 1: Nachweis von *fum1* bzw. *fum8* in Isolaten unterschiedlicher *Fusarium*-Arten aus verschiedenen Wirtspflanzen.

Ergebnisse der Restriktionsanalyse

Nach Restriktion mit AluI, RsaI, Bsp143I und BamHI zeigte das 525 bp lange *fum1*-Genfragment in 13 von 14 untersuchten *F. proliferatum* Isolaten ein einheitliches Bandenmuster (Abb. 4). Ein aus Mais stammendes Isolat wies eine AluI-Schnittstelle weniger auf (Abb. 4, roter Pfeil).

Die neun untersuchten 801 bp langen *fum8*-Fragmente von *F. proliferatum*-Isolaten aus Spargel wiesen keine durch die verwendeten Restriktionsenzyme detektierbare genetische Heterogenität auf (Abb. 5).

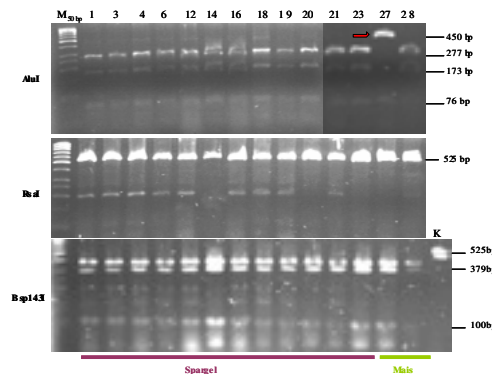


Abb. 4: RFLP-Analyse des *fum1* PCR-Fragmentes (525 bp) mit AluI, RsaI und Bsp143I.

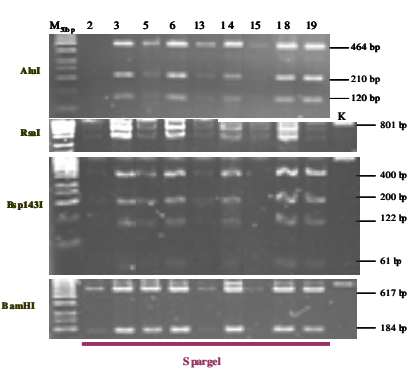


Abb. 5: RFLP-Analyse des *fum8* PCR-Fragmentes (801 bp) mit AluI, RsaI, Bsp143I und BamHI.

Fazit

In mehr als 50 % der untersuchten Isolate war sowohl *fum1* als auch *fum8* nachweisbar. Diese *Fusarium*-spp. Isolate konnten als potentielle Fumonisin-Bildner charakterisiert werden. Die Untersuchungen bestätigen Befunde, dass innerhalb der Species *F. proliferatum* und *F. verticillioides* offenbar fast alle Isolate zur Fumonisin-Bildung fähig sind (Rheeder et al., 2002; Proctor et al. 2002), während in den anderen analysierten Arten lediglich einzelne Isolate diese Eigenschaften aufweisen (Desjardins 2003, 2006). Eine genetische Heterogenität konnte nur in einem Fall für das *fum1*-Fragment nachgewiesen werden. Ob tatsächlich eine intraspezifische Variabilität der initialen Fum-Gene von *F. proliferatum*-Isolaten vorliegt, wird durch Sequenzierung ermittelt.