

# Fumonisinbildungsvermögen und Pathogenität von *Fusarium proliferatum*- und *Fusarium oxysporum*-Isolaten

A. Scholz<sup>1)</sup>, S. von Bargaen<sup>1)</sup>, O. Martinez-Lopez<sup>1),2)</sup>, M. Goßmann<sup>1)</sup> & C. Büttner<sup>1)</sup>



<sup>1)</sup> Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55-57, 14195 Berlin  
<sup>2)</sup> Forschungsanstalt Geisenheim, Fachgebiet Obstbau/Phytomedizin, von-Lade-Str. 1, 65366 Geisenheim

Fumonisine sind sekundäre Stoffwechselprodukte die hauptsächlich von *Fusarium*-Arten gebildet werden. Heute kennt man 28 Fumonisine, die vier Hauptgruppen (A, B, C und P) zugeordnet sind. Zur Bildung dieser Toxine sind insgesamt 16 Gene notwendig, wobei *FUM1* (~ 8163 bp)

und *FUM8* (~ 2936 bp) essentielle Gene des Fumonisinbiosyntheseweges darstellen. *F. proliferatum* und *F. oxysporum* gehören zu den 18 *Fusarium*-Arten, die Pflanzen nicht nur durch Ihren Befall schädigen, sondern neben anderen Mykotoxinen auch Fumonisine bilden können.

## Artdeterminierung und Fumonisin-Gen-Detektion

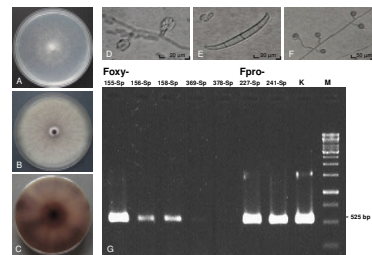


Abb. 1: SNA-Kultur von Fpro-241-Sp (A); PDA-Kultur von Foxy-378-Sp (B); Rückseite der PDA-Kultur von Foxy-155-Sp (C); Monophaliden mit Mikrokonidien in Köpfchen (D), Makrokonidie (E) und terminale Chlamydosporen (F) von *F. oxysporum*; PCR-amplifiziertes *FUM1*-Genfragment (525 bp) der untersuchten Spargelisolat. K = Kontrolle, M = Marker (G)

Die taxonomische Einteilung aufgrund morphologischer Kriterien von 7 *Fusarium* spp. Isolaten aus Spargel wurde durch die Sequenzierung eines PCR-amplifizierten TEF-Genfragmentes (Translation-Elongation-Factor1 $\alpha$ -Gen) verifiziert. Ebenfalls mittels PCR wurde bei den *F. proliferatum*-Isolaten und bei Foxy-155-Sp, Foxy-156-Sp und Foxy-158-Sp das *FUM1*-Gen nachgewiesen (Abb. 1 G). Der Nachweis des *FUM8*-Genes erfolgte für die *F. proliferatum*-Isolate, sowie für Foxy-155-Sp. Teilbereiche des *FUM1*- (1136 bp & 1373 bp) und des *FUM8*-Genes (2025 bp) der beiden *F. proliferatum*-Isolate, sowie der Isolate Foxy-155-Sp (*FUM1*: 525 bp & *FUM8*: 132 bp) und Foxy-156-Sp (*FUM1*: 556 bp) wurden zudem kloniert und sequenziert.

## in vitro-Fumonisinest

Die dreiwöchige Kultivierung der von Spargel abisolierten *Fusarium*-Isolate auf Maisextrakt-Agar erlaubte eine Quantifizierung der B-Fumonisine (FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub>) durch HPLC. Dabei wies das Isolat Fpro-241-Sp mit durchschnittlich 1302,4 und 281,7  $\mu\text{g}$  FB<sub>2</sub>/g Kultursubstrat die höchsten Werte auf. Die durchschnittlichen Fumonisin-Werte des Isolates Fpro-227-Sp betragen nur noch ein Drittel davon (FB<sub>1</sub> = 416,4 und FB<sub>2</sub> = 104,8  $\mu\text{g}/\text{g}$ ). Bei den *F. oxysporum*-Isolaten waren die Werte am geringsten und lagen für FB<sub>1</sub> zwischen 3,9 und 144,7  $\mu\text{g}/\text{g}$ , sowie für FB<sub>2</sub> zwischen 0 und 5,0  $\mu\text{g}/\text{g}$  (Abb. 2).

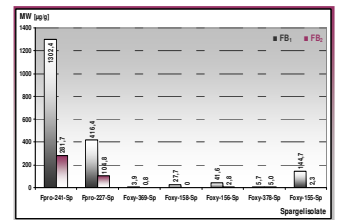


Abb. 2: Mittelwerte (n = 6) der FB<sub>1</sub>- und FB<sub>2</sub>-Gehalte der *Fusarium*-Isolate *in vitro*

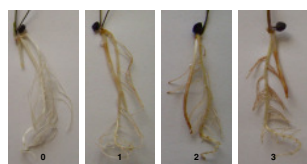


Abb. 3: Visualisierte Schadensklassen 0 - 3 der Wurzelbonitur; 0 = keine Schädigung, bzw. gesunde Wurzel; 1 - 3 = zunehmende Verbräunung (25 - 75 %) und Vermorschung

## Pathogenitätsschnelltest

Vierzehn Tage alte Spargelpflanzen (*Asparagus officinalis*, Abb. 5 C) wurden *in vitro* mit den jeweiligen Isolaten inokuliert. Nach zwei Wochen wurde der Befallsgrad mittels einer mikro- und makroskopischen Wurzelbonitur (Abb. 3) ermittelt, sowie die Frischmassen von Wurzel und Spross erfasst. Die *F. proliferatum*-Isolate unterschieden sich in ihrer Aggressivität signifikant von den *F. oxysporum*-Isolaten und wiesen Befallsgrade von über 55 % auf, während bei den *F. oxysporum*-Isolaten die Befallsgrade zwischen 31 und 43 % lagen. Die Frischmassen von Wurzel und Spross der Spargeljungpflanzen, die mit den *F. oxysporum*- und *F. proliferatum*-Isolaten infiziert waren, unterschieden sich signifikant von der Kontrollvariante, aber nicht signifikant untereinander (Abb. 4).

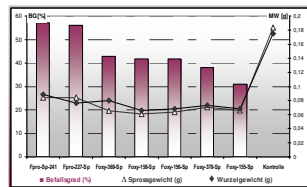


Abb. 4: Übersicht der anhand der Schadensklassen errechneten Befallsgrade, sowie die durchschnittliche Frischmasse von Wurzel und Spross der Varianten (n = 24)



Abb. 5 A & B: Röhren mit *in vitro* kultivierten Spargeljungpflanzen nach 5 Tagen; Abb. 5 C: 14 Tage alte Spargelpflanzen mit applizierten *Fusarium*-Isolaten. Die Kultivierung erfolgte bei 25 °C und einem Rhythmus von 16 h Licht und 8 h Dunkelheit

## Schlussfolgerungen

Alle 7 *Fusarium*-Isolate erwiesen sich als pathogen für die Spargeljungpflanzen. Die *F. proliferatum*-Isolate waren am aggressivsten und bildeten zudem *in vitro* auf Maisextrakt-Agar die höchsten FB<sub>1</sub>- und FB<sub>2</sub>-Mengen. Dies könnte auf eine Rolle dieser Toxine als Virulenzfaktoren hinweisen.

Innerhalb der *F. oxysporum*-Isolate bildete Foxy-155-Sp die höchsten Mengen an FB<sub>1</sub>, wies aber den niedrigsten Befallsgrad auf. Von *F. oxysporum* wie auch *F. proliferatum* werden auch andere Toxine gebildet, die bei der Pathogenese maßgebend sein könnten.