

Einfluss von Thiophanat-Methyl und Methyl-Benzimidazol-2-yl-Carbamat auf mykotoxinbildende *Fusarium* spp.

*Effect of thiophanate-methyl and methyl-benzimidazole-2-yl-carbamate on mycotoxin producing *Fusarium* spp.*

T. HIRSCHFELD, F.M. ELLNER, H. BUSCHHAUS, Monika GOßMANN, Carmen BÜTTNER

Zusammenfassung

Bei der Untersuchung des Einflusses von Thiophanat-Methyl und Methyl-Benzimidazol-2-yl-Carbamat auf mykotoxinbildende Arten von *Fusarium* spp. konnte beobachtet werden, dass Thiophanat-Methyl einen deutlich stärkeren Einfluss auf die Biosynthese der Mykotoxine als auf das Wachstum der Pilze aufwies. Die Ergebnisse deuten an, dass durch Thiophanat-Methyl ein Wirkungsmechanismus ausgelöst zu werden scheint, der die Mykotoxinbildung von *Fusarium* spp. unabhängig vom Myzelwachstum hemmen kann.

Schlüsselwörter: *Fusarium* spp., Thiophanat-Methyl, Carbendazim, Mykotoxinbildung

Summary

Investigations into the effect of thiophanate-methyl and methyl-benzimidazole-2-yl-carbamate on mycotoxin producing species of *Fusarium* spp. revealed that the biosynthesis of mycotoxins was more influenced than the fungal growth. The data support an additional mode of action of thiophanate-methyl inhibiting mycotoxin formation of *Fusarium* spp. independently of the growth of the mycelium.

Keywords: *Fusarium* spp., thiophanate-methyl, carbendazim, mycotoxin production

Einleitung

Thiophanat-Methyl (TM) ist ein fungizider Wirkstoff, der über 30 Jahre gegen eine Vielzahl phytopathogener Pilze der Basidiomycota bzw. Ascomycota im Pflanzenbau eingesetzt wurde. TM ist derzeit in Deutschland lediglich für die Indikationen Lagerfäulen an Äpfeln und Weißstängeligkeit im Raps zugelassen, befindet sich jedoch für die Anwendung im Weizen und Triticale zur Unterdrückung der Mykotoxinbildung im Zulassungsverfahren. Die Primärwirkung von TM besteht in einer Störung der Zellteilung während der Mitose, die durch den Metaboliten Methyl-Benzimidazol-2-yl-Carbamat (MBC) ausgelöst wird, indem es an das pilzliche Tubulin bindet und so den Aufbau des Spindelapparates zur Trennung der homologen Chromosomen unterbricht. Eine Sekundärwirkung wurde in *Rhizoctonia solani* sowie *Sacharomyces graminis* nachgewiesen und liegt in der Hemmung der Cytochrom C

Oxidase als Schlüsselenzym der Respiration. Zur Wirkung von TM auf Pilze der Gattung *Fusarium* gibt es bislang nur wenige Untersuchungen.

In Freilandversuchen von Buschhaus und Ellner (2007) an Weizen, der mit *Fusarium graminearum* inokuliert wurde, führte die Applikation von TM zur Blüte zu deutlich reduzierten Mykotoxinkonzentrationen im Erntegut, obwohl der Effekt auf den Anteil *F. graminearum*- infizierter Körner nicht so ausgeprägt war wie in den Vergleichsvarianten mit Azolfungiziden. Sie postulierten daher, dass eine durch TM ausgelöste Hemmung der Respiration in Folge des entstehenden Energiemangels die Mykotoxinbildung von *F. graminearum* einschränkt, da Mykotoxine energiereiche Sekundärstoffwechselprodukte darstellen.

Zur Prüfung dieser Hypothese wurde der Einfluss von TM und MBC auf das Wachstum und die Mykotoxinbildung einiger im Getreideanbau relevanten *Fusarium*-Arten *in vitro* untersucht. Isolate von *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. poae*, *F. subglutinans*, *F. nygamai* und *F. globosum* wurden auf einem Maisextrakt-Agar (MA) bzw. einem Weizenmehl-Agar (WMA) mit TM-Konzentration zwischen 0 und 10mg/l oder MBC-Konzentrationen bis 1mg/l kultiviert und die täglichen Zuwachsraten bestimmt. Begleitend wurden morphologische Veränderungen der Isolate durch mikroskopische bzw. makroskopische Bonituren festgehalten. Nach drei Wochen Inkubation wurde der Agar aufbereitet und der Mykotoxin- sowie Ergosterolgehalt mittels hochauflösender Flüssigchromatographie (HPLC) analysiert.

Morphologische Veränderungen von *Fusarium* spp. durch TM und MBC

Alle untersuchten Isolate von *Fusarium* spp. wiesen bei gleichen Aufwandmengen von TM ähnliche makro- und mikroskopische Veränderungen auf. Bereits ab einer Konzentration von 1mg TM bzw. 2,5mg MBC je Liter Agar zeigte das Myzel bei vergleichbarem Wachstum zur unbehandelten Kontrolle eine deutlich intensivere Farbpigmentierung. Außerdem fand sowohl die Bildung der Makro- und Mikrokonidien als auch der Chlamydosporen bei den Chlamydosporenbildnern wie *F. graminearum* früher sowie in einem stärkeren Umfang statt. Sowohl die intensivere Pigmentierung als auch die frühere und reichlichere Konidienbildung, einschließlich frühzeitigerer und stärkerer Chlamydosporenbildung könnten Anzeichen dafür sein, dass der pilzliche Organismus in Folge des Energiemangels aufgrund der gehemmten Respiration schneller altert und früher von der logarithmischen Wachstumsphase in ein reproduktives Entwicklungsstadium übergeht.

Einfluss von TM und MBC auf das Wachstum und die Mykotoxinbildung

Der Einfluss von TM auf die Fumonisinbildung von *F. verticillioides* war stärker ausgeprägt als auf das Myzelwachstum. Das Wachstum ging bei einer Aufwandmenge von 1mg/l TM um

40% zurück, die Produktion von Fumonisin B₁ (FB₁) und Fumonisin B₂ (FB₂) dagegen um 94% (Abb. 1). Ab einer Aufwandmenge von 5mg/l war das Myzelwachstum nahezu komplett gehemmt und keine Fumonisine mehr nachweisbar.

Im Gegensatz dazu wurden Wachstum sowie Fumonisinproduktion von *F. verticillioides* durch MBC in einem vergleichbaren Ausmaß reduziert. Bei Aufwandmengen von 0,1mg/l MBC bzw. 0,5mg/l MBC wurde das Myzelwachstum um 5% bzw. knapp 90% gehemmt und die Bildung von FB₁ und FB₂ um 9-13% bzw. 98% limitiert.

Ein ähnlicher Einfluss von TM und MBC auf das Myzelwachstum und die Synthese von FB₁ und FB₂ konnte für *F. globosum* nachgewiesen werden.

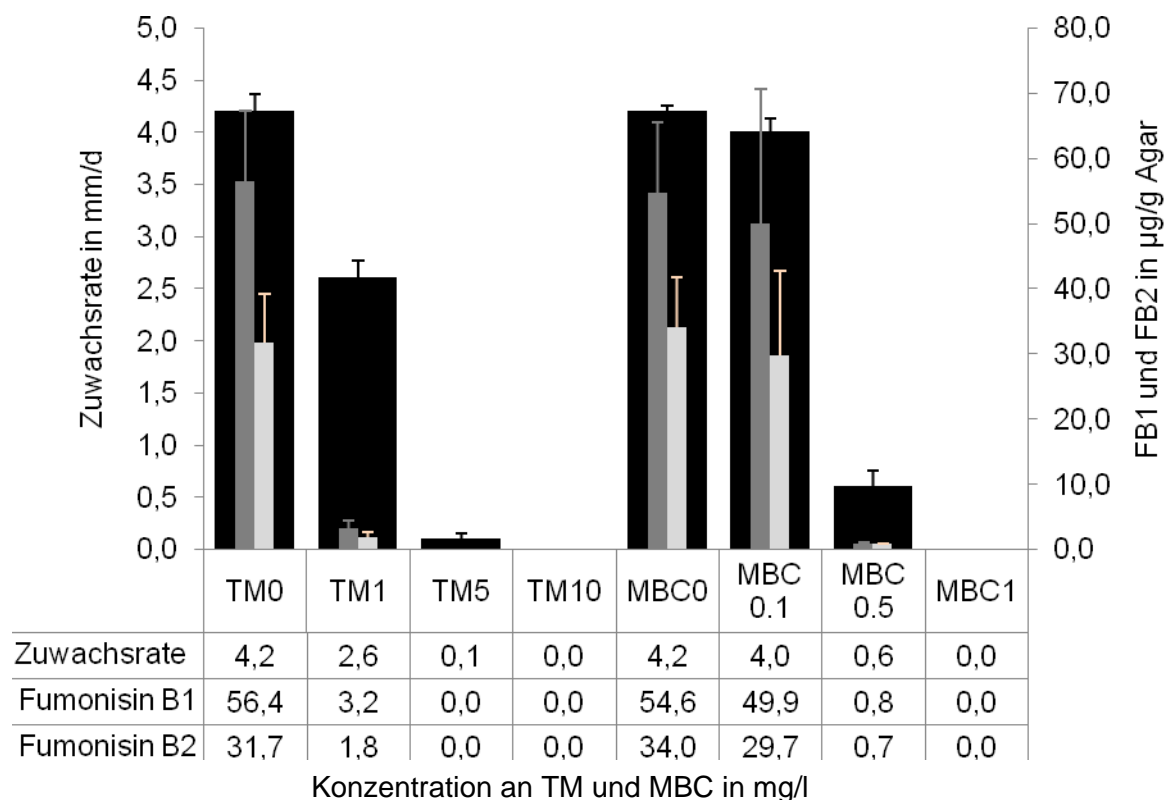


Abb. 1: Wachstum und Fumonisinbildung von *F. verticillioides* bei bestimmten Konzentrationen an TM und MBC

Bei den Trichothecenebildenden *Fusarium*-Arten *F. culmorum* und *F. graminearum* wurde die Toxinproduktion ebenfalls deutlich stärker durch TM beeinflusst als das Wachstum. *F. culmorum* reagierte auf Konzentrationen von 1mg/l bzw. 2,5mg/l TM mit einem Rückgang des Myzelwachstums um 0% bzw 3-15% wohingegen die Produktion der Trichothecene Deoxynivalenol (DON) und Acetyl-Deoxynivalenol (AcDON) um 30-50% bzw. 70-75% eingeschränkt wurde (Abb. 2). Ab einer Aufwandmenge von 5mg/l TM konnten keine Trichothecene mehr nachgewiesen werden. Das Myzelwachstum war im Vergleich dazu nur um 30-60% bezogen auf die unbehandelte Kontrolle (UK) gehemmt. Im Gegensatz zu den

fumonisinbildenden *Fusarium*-Arten zeigte MBC einen ähnlich ausgeprägten Effekt auf die Trichothecenproduktion von *F. culmorum* wie TM.

Dieser Effekt von TM und MBC auf die Trichothecenbildung konnte auch bei *F. graminearum* festgestellt werden.

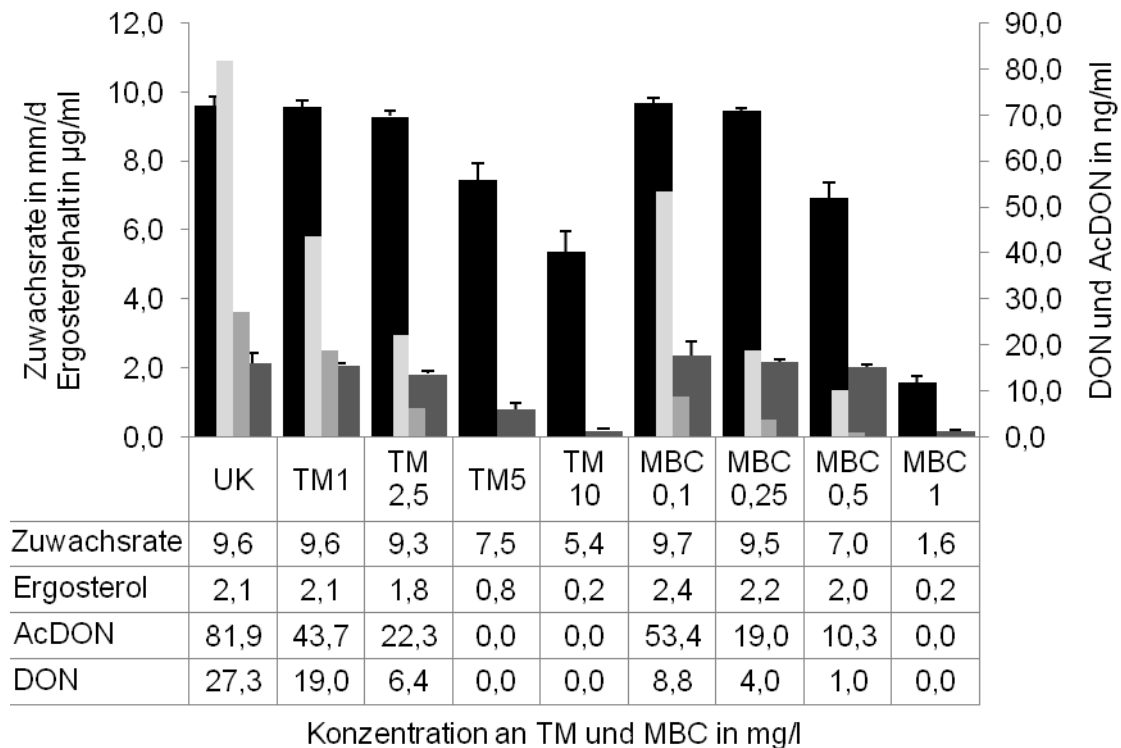


Abb. 2: Wachstum und Trichothecen-Bildung von *F. culmorum* bei unterschiedlichen Konzentrationen an TM und MBC

Diese Ergebnisse unterstützen die aufgestellte Hypothese, da TM die Mykotoxinbildung von *Fusarium* spp. unabhängig vom Myzelwachstum hemmen konnte.

Darüber hinaus korrelierten der Ergosterolgehalt und die Zuwachsrate des Myzels von *F. graminearum* und *F. culmorum* nach Pearson in 80-86% aller gemessenen Einzelwerte, wodurch der Parameter Zuwachsrate als Maß für die gebildete Myzelmenge bestätigt wird.

Autoren

Dipl.-Ing. Tim HIRSCHFELD, Dr. F. M. ELLNER, Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Str. 19, D-14195 Berlin; Dr. Herbert Buschhaus, Nisso Chemical Europe GmbH, Berliner Allee 42, D-40212 Düsseldorf; Dr. Monika GOSSMANN, Prof. Dr. Carmen BÜTTNER: Humboldt-Universität Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55-57, D-14195 Berlin