

Klaus Schlüter · Ute Kropf · Petr Karlovsky

Untersuchungen zur systemischen Infektion von *Fusarium culmorum* an Winterweizen in Schleswig-Holstein

Eingegangen: 6 April 2006 / Angenommen: 25 April 2006 / Online veröffentlicht: 25 Mai 2006
© Springer-Verlag 2006

Zusammenfassung In Nordwestdeutschland wird die partielle Taubährigkeit des Weizens auch in maisfreien Fruchtfolgen besonders häufig von *Fusarium culmorum* und *Fusarium graminearum* verursacht. Bislang wurde das Schadbild überwiegend auf Infektionen während der Blüte zurückgeführt. Die Autoren gehen von der Möglichkeit der systemischen Infektion des Weizens durch *Fusarium culmorum* aus und untersuchten 2003 über 1100 Gewebeproben aus Praxisflächen mit Hilfe der real-time PCR auf das Vorhandensein dieses Schadpilzes in den Halm- und Spindelinternodien partiell taubähriger Pflanzen. Über 30% der untersuchten Gewebeproben enthielten *F. culmorum*-DNA, wobei zahlreiche Halme nachweislich voll- oder teilsystemisch besiedelt waren. Diese Befunde stehen im Einklang mit einer Vielzahl von Ergebnissen anderer Autoren, die systemisches Wachstum von Fusarien in Getreide unter kontrollierten Bedingungen nachwies. Bei Auftreten von *F. culmorum* muss davon ausgegangen werden, dass die Infektion nicht zwangsläufig während der Blüte über die Ähre sondern auch vom Boden über Chlamydosporen oder befallene Pflanzenreste erfolgen kann. Deshalb ist der Erreger als standorttreuer Auslöser einer Fruchtfolgekrankheit anzusehen. Insbesondere bei trockener, warmer Witterung nach der Aussaat und geringem Wasserpotential ist *F. culmorum* in der Lage, Winterweizen in hohem Maße über die Wurzeln und die Halmbasis zu besiedeln. Der Einsatz von Fungiziden während der Vollblüte muss in einem solchen Fall erfolglos bleiben.

Schlüsselwörter *Fusarium culmorum* · *Fusarium graminearum* · systemische Infektion · partielle Taubährigkeit

An examination of systemic infections of *Fusarium culmorum* on winter wheat in Schleswig-Holstein

Abstract In north-west Germany *Fusarium* head blight of wheat (FHB) is frequently caused by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*. This damage has, however, mainly been caused by infections during flowering; the incidence of FHB has increased steadily for many years in crop rotations without maize. The authors postulate that *F. culmorum* can cause systemic infections in wheat. In 2003 they used real-time PCR to analyse more than 1 100 tissue samples from wheat fields in order to determine whether *F. culmorum* was present in the internodes and spikes of the wheat plants. More than 30% of all analysed samples contained *F. culmorum*-DNA, and many wheat stems were completely or nearly completely systemically colonized by *F. culmorum*. These findings are consistent with those of other researchers who have detected a systemic growth of *F. culmorum* during experiments under controlled conditions. It cannot be automatically assumed that the fungus spreads from the wheat head during flowering; the plant could have become infected through chlamydospores or mycelium on residual plant debris in the soil. Therefore this pathogen must be regarded as a crop rotation disease. *F. culmorum* is able to severely infect wheat through the roots and stem bases, especially when the soil is dry and warm. Thus, spraying fungicides during flowering is ineffective.

Keywords *Fusarium culmorum* · *Fusarium graminearum* · systemic infection · *Fusarium* head blight (FHB)

K. Schlüter (✉) · U. Kropf
Fachhochschule Kiel,
Fachbereich Landbau,
Am Kamp 11, 24783 Osterrönfeld
E-Mail: klaus.schlueter@fh-kiel.de
Tel.: +49-4331-845125

P. Karlovsky
Abt. Molekulare Phytopathologie und Mykotoxinforschung,
Institut für Pflanzenpathologie,
Grisebachstr. 6, 37077 Göttingen

Einleitung

Getreidefusariosen in Norddeutschland

In Nordwestdeutschland gehören *Fusarium culmorum* und *Fusarium graminearum* zu den häufigsten Erregern der partiellen Taubährigkeit des Weizens und tragen in erheblichem Umfang über die Bildung von Mykotoxinen zur Belastung des Ernteguts bei (Engeldardt 2000). Bislang wurde der Befall vorwiegend auf eine Blüteninfektion zurückgeführt, wonach der Schadpilz über seine Sporenformen die Antheren besiedelt und sich schnell durch das betroffene Ährchen hindurch bis in die Ährenspindelachse hinein ausbreitet und weitere Ährchen befällt (Diehl 1984;

Parry et al. 1995; Weinert u. Wolf 1995; Büttner u. Dehne 2004)(Abb. 1a–e).

Für eine erfolgreiche Blüteninfektion müssen verschiedene Voraussetzungen erfüllt sein:

- Anfällige Wirtspflanze im Stadium der Blüte (BBCH 61–69)
- Infektionsfähige Sporenform des *Fusarium*-Pilzes
- Milde, feuchte Witterung während der Blüte

Nachdem in den norddeutschen Küstenländern vor allem in den Jahren 1998 und 2002 extreme Befallsbedingungen aufgetreten waren, herrschte im Sommer 2003 in Schleswig-Holstein während der Weizenblüte



Abb. 1 Partielle Taubährigkeit (a) Partielle Taubährigkeit des Weizens (Sorte „Ritmo“, seitr. Ansicht) (b) Partielle Taubährigkeit des Weizens (Sorte „Ritmo“, Frontansicht); die entfernten Ährchen geben den Blick auf die verbräunte Spindel frei (c) Strichelartige und Stängel umfassende Verbräunung des untersten Internodiums und Verfärbung des Knotens (d) Einzelblüteninfektion durch *Fusarium* spp. (Sorte „Ritmo“) (e) Partiiell taube Ähre im Bestand (Sorte „Ritmo“)

ausgesprochen milde, niederschlagsfreie Witterung. Aus diesem Grund wurde trotz des hohen Anbauumfangs der für *Fusarien* hoch anfälligen Sorte „Ritmo“ auch kein nennenswerter Befall erwartet. Eine schlagartig einsetzende Hitzeperiode sorgte Anfang Juli für eine untypisch früh einsetzende Abreife, was zu einer schnellen Aufhellung der Ähren führte. Damit wurden allerdings die Symptome des tatsächlich vorhandenen *Fusarium*-Befalls überdeckt. Erst nach der Ernte zeigte sich bei Qualitätsuntersuchungen, dass in einigen Landesteilen teilweise erhebliche Belastungen des Ernteguts mit weit über 1000 µg DON/kg vorlagen (Obenauf 2003). Da dieses Toxin nur dann gebildet wird, wenn es zur Entwicklung bestimmter *Fusarium*-Arten in der Ähre kommt, ist sein Vorkommen zweifelsfrei ein Indiz für abgelaufene Infektionen. Darüber hinaus wurde in Praxis und Wissenschaft beobachtet, dass sogar nach „gesunden“ Vorfrüchten wie Raps oder Zuckerrüben eine Toxinbelastung des folgenden Weizens eingetreten war, obwohl diese Vorfrüchte keine Wirtspflanzen für *Fusarium*-Arten sind (Weinert 2006).

Untersuchungen der Autoren im Jahr 2003 belegen, dass diese ungewöhnlichen Effekte auf einen bislang in Deutschland nicht berücksichtigten Infektionsmechanismus bei *Fusarium culmorum* zurückgeführt werden können. Dabei wird davon ausgegangen, dass eine bodenbürtige Infektion von Winterweizenpflanzen es *Fusarium culmorum* grundsätzlich möglich macht, sich systemisch in der Pflanze auszubreiten (Schlüter, Kropf, Karlovsky 2004; Kropf u. Schlüter 2006).

Im vorliegenden Beitrag wird zuerst auf die zum Thema vorliegende Literatur eingegangen und danach erfolgt die Darstellung der wichtigsten Resultate der Freilandhebung aus dem Jahr 2003.

Aufgetretene *Fusarium*-Arten

Unter norddeutschen Anbaubedingungen treten von den zahlreichen *Fusarium*-Arten in Winterweizen am häufigsten *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum* auf. Noch in den 1980er Jahren war dabei *F. culmorum* die dominierende Art, während *F. graminearum* nur selten nachgewiesen werden konnte (Schlüter 1985). Im Laufe der Jahre hat sich die Häufigkeitsverteilung der Arten erheblich verschoben, und in vielen Jahren scheint *F. graminearum* inzwischen bei der Ährenbesiedlung zu dominieren.

Während von *F. culmorum* ausschließlich die asexuelle Konidienform bekannt ist, existiert von *F. graminearum* darüber hinaus auch die sexuelle Askosporenform *Gibberella zeae* (Booth 1971; Obst u. Gehring 2002), so dass sich diese Art immer weiter verbreitet.

Im norddeutschen Anbaugesbiet ist somit davon auszugehen, dass Infektionen der Wirtspflanzen mit hoher Wahrscheinlichkeit durch *F. culmorum* oder *F. graminearum* ausgelöst werden, wobei auch Mischinfektionen nicht auszuschließen sind. Erkrankt Winterweizen an Taubährrigkeit, muss also grundsätzlich mit beiden Erregern

gerechnet werden. Dabei sind nach den bisherigen Kenntnissen Infektionen durch *F. graminearum* im Wesentlichen über die Blüte zu erwarten. *F. culmorum* dagegen kann saprophytisch an Pflanzenresten oder auch in Form langlebiger Chlamydosporen im Boden überdauern und auf diese Weise die Wirtspflanzen vom Boden aus besiedeln (Cook 1981a,b).

Überdauerung von *F. culmorum* im Boden

Die Pilzart *F. culmorum* weist eine ausgesprochen geringe saprophytische Konkurrenzfähigkeit auf. Aus diesem Grund kann eine massive Besiedlung von Pflanzenresten nur dann erfolgen, wenn *Fusarien* sehr viel früher als andere Zersetzer das Substrat besiedeln. Dabei bildet *F. culmorum* neben Makrokonidien und Dauermyzel auch Chlamydosporen aus, mit deren Hilfe der Pilz lange im Boden überdauert (Cook 1970). Das Fehlen flugfähiger Askosporen vermindert die Ausbreitung dieser *Fusarium*-Art, wobei das Auftreten der Chlamydosporen ihre Bedeutung als potentiellen Verursacher einer Fruchtfolgekrankheit deutlich macht. Inglis und Cook wiesen bereits 1986 eine dreijährige Überlebensdauer von *Fusarium culmorum* in Ackerböden insbesondere bei Hitze und Trockenheit nach.

Unter norddeutschen Anbaubedingungen findet *F. culmorum* jedoch längst nicht in allen Jahren günstige Entwicklungsbedingungen im Boden vor. Neben dem relativ hohen Temperaturanspruch im Herbst ist der Pilz in seiner Entwicklung an ein geringes Bodenwasserpotential angepasst (Cook 1980). Deshalb kann es zu verstärktem Befall mit *F. culmorum* nur dann kommen, wenn die Keimlinge nach der Aussaat hohen Bodentemperaturen ausgesetzt sind. Jahre mit trockener, warmer Witterung im September und Oktober fördern damit die Infektion des Getreides. Derartige Bedingungen lagen nach der Getreideaussaat im Herbst 2002 in Schleswig-Holstein verbreitet vor.

Besonderheiten der Infektion von *F. culmorum*

Bereits 1973 stellten Malalasekera et al. als Folge der Infektion der Weizenwurzel eine akro- und basipetale Ausbreitung von *F. culmorum* in der jungen Pflanze fest. 1977 zeigte Fischer den Infektionsvorgang an der Weizenwurzel, wobei der Erreger sich interzellulär bis zum Zentralzylinder ausbreitet und das Xylem 4–5 Tage nach der Inokulation erreicht.

Duben (1978) isolierte *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum* und *Microdochium nivale* aus unterschiedlichen Halmhöhen und konnte bis in 15 cm Höhe die drei *Fusarium*-Arten häufig nachweisen.

Jordan u. Fielding (1988) berichten von einem systemischen Wachstum bei *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum* und *F. nivale* in Sommerweizen nach einer Agar-Myzelinfektion an der Halmbasis.

Ein durchgängig systemisches Wachstum von *F. culmorum* bis zum sechsten und höchsten Internodium stellte Snijders (1990) sowohl nach Bodeninokulation als auch nach Inokulation durch Verletzungen fest. Einen Zusammenhang zwischen systemischem Wachstum und Ähreninfektion konnte er allerdings nicht nachweisen, da keine Ähreninfektionen sichtbar waren. Im Hinblick auf das potentielle systemische Wachstum dieses Erregers in der Pflanze stellt Snijders erstmals fest, dass *F. culmorum* den soliden Halmknoten von einem Internodium zum nächsten durchwachsen kann.

Hutcheon u. Jordan (1992) berichten von durchgängigem, systemischem Wachstum im Halm bis zur Ähre bei Winterweizen. Sie isolierten nach einer Agar-Myzelinfektion an der Halmbasis *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* und *F. nivale* aus allen Internodien sowie der symptomlosen Ähre. Nirenberg (1996) führte vergleichbare Untersuchungen an Hartweizen mit *F. graminearum* und *Microdochium nivale* durch. Einen Nachweis konnte sie aber nur bis zum dritten Internodium durchführen; dabei wuchsen die Erreger aber nicht systemisch, sondern im inneren Hohlraum des Halmes.

Clement und Parry (1998) untersuchten die Entwicklung von *F. culmorum*, *F. graminearum* und *Microdochium nivale* an Weizenpflanzen nach Inokulation der Pflanze mit einer Sporensuspension. Die Autoren zeigten mit ihren Experimenten, dass die *Fusarien* aus dem Halmgewebe isoliert werden konnten und *Fusarium culmorum* am häufigsten vertreten war. Dabei wuchsen *F. culmorum* und *F. graminearum* etwa gleich weit in das Halmgewebe hinein, aber sehr viel höher als *Microdochium nivale*. Die Autoren stellten fest, dass zur Ernte (BBCH 95) zwar 97% der inokulierten Pflanzen infiziert waren, aber nur 53% klare Symptome von Stängelfusarium zeigten. Clement und Parry (1998) dokumentierten ihre Befunde mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Sie konnten unter anderem zeigen, dass die *Fusarien* beispielsweise zwischen dem ersten und zweiten Knoten ein interzelluläres Wachstum durchlaufen und auch das Parenchym des Halmknotens durchdringen. Weiterhin stellten die Autoren fest, dass die *Fusarien* interzelluläre Hyphen im Leitgewebe, vor allem im Xylem ausgebildet hatten. Weiterhin kamen Clement und Parry zu der Erkenntnis, dass *F. culmorum*, *F. graminearum* und auch *Microdochium nivale* in der Lage sind, symptomlos in der Pflanze nach oben zu wachsen, wobei *F. culmorum* in ihren Untersuchungen die höchste Aggressivität aufwies.

Material und Methoden

Pflanzenproben

Die hier vorgestellten Untersuchungen erfolgten im Jahr 2003 an Weizenpflanzen aus ganz Schleswig-Holstein. Aus 41 Ackerflächen unterschiedlichster Naturräume und Bodenarten wurden Weizentriebe entnommen, die das Symptom der partiellen Taubährigkeit aufwiesen,

während *Fusarium*-typische Halmgrundverbräunungen kein Selektionskriterium darstellten. In diesen Pflanzen wurde das Gewebe der Internodien und Ährenspindeln auf das Vorhandensein von *F. culmorum* und außerdem auf *F. graminearum* per real-time PCR untersucht. Bei der Sammlung der Feldproben ging es also nicht um eine statistische Erhebung, sondern ausschließlich um den Nachweis des postulierten, systemischen Infektionsweges von *F. culmorum*.

Die Entnahme der Pflanzenproben erfolgte nach folgenden Kriterien:

- Es wurden partiell taubährige Pflanzen in EC 75 beprobt.
- Die Proben stammten fast ausschließlich aus Raps/Zuckerrüben-Getreide-Fruchtfolgen.

Von jeder Pflanze wurden die Proben nach gleichem Muster unter semisterilen Bedingungen gewonnen:

- 1 cm Halmgewebe aus jedem Internodium ohne Blattscheide,
- 1 cm Spindelgewebe ohne Ährchen aus der Ähre oberhalb des dritten Ährchens,
- durchlaufende Nummerierung der Proben von unten nach oben (Abb. 2).

Mikroskopie

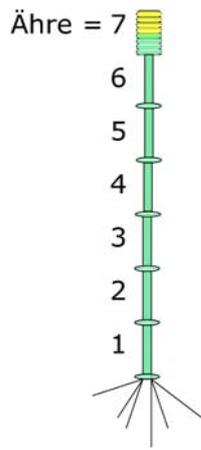
Um im Vorfeld der PCR-Untersuchungen einen Überblick über die auftretenden *Fusarium*-Arten zu bekommen, wurden je Bestand 2 bis 3 sporulierende Ähren mikroskopisch auf vorhandene *Fusarium*-Konidien untersucht. Jede Ähre wurde dazu mit a. dest. gespült und die Sporensuspension bei 100–400-facher Vergrößerung in wässriger Suspension diagnostiziert. Die Bestimmung erfolgte nach Booth (1971). Nach der Abschwemmung wurden die Ähren verworfen.

PCR

Bei dem artspezifischen Nachweis der Pilzbiomasse kam eine semiquantitative real-time PCR-Methode zum Einsatz. Damit war es möglich, den Erreger artspezifisch, in geringen Mengen im Gewebe und mit einem hohen Probendurchsatz nachzuweisen. Die PCR-Analyse für *F. culmorum* und *F. graminearum* wurde gemäß dem folgenden Protokoll durchgeführt.

DNA wurde mit Hilfe einer modifizierten CTAB-Methode extrahiert (Brandfass u. Karlovsky 2006; Abschnitt „DNA extraction from plant material“), die Proben wurden jedoch vor dem Zermahlen gefriergetrocknet. Gesamt-DNA aus 5 mm-langen Segmenten von Internodien bzw. Spindeln wurde in 100 µl TE-Puffer aufgenommen (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8,0), in der PCR-Reaktion wurden 2 µl dieser Lösung eingesetzt.

Abb. 2 Kennzeichnung der Internodien und Ähren für die PCR-Untersuchung



Für den Nachweis von *F. graminearum* wurden die Primer Fg16NF/Fg16NR (Nicholson et al. 1998) und für *F. culmorum* FcOpt18F/FcOpt18R (Schilling et al. 1996) verwendet. Die PCR-Reaktion für den Nachweis von *F. culmorum* enthielt einen mit BIOTaq DNA Polymerase gelieferten Puffer (Bioline, Luckenwalde), 4 mM MgCl₂, 200 µM dNTPs, je 0,3 µM Primer, 10 nM Fluorescein (interner Standard für den Thermocycler), 1:1000-Verdünnung von SYBR GREEN II (Molecular Probes/Invitrogen, Karlsruhe) und 0,25 u BIOTaq DNA Polymerase (Bioline, Luckenwalde) in 25 µl. Der Reaktionsansatz für *F. graminearum* enthielt SYBR Premix von Takara (Cambrex Bio Science, Verviers, Belgien) und die gleichen Konzentrationen von Fluorescein und Primern wie beim *F. culmorum*-Nachweis. Das PCR-Programm bestand aus einem Denaturierungsschritt von 90 s bei 95 °C, gefolgt von 35 Zyklen 94 °C/30 s, 64 °C/45 s (in dieser Phase erfolgte die Fluoreszenzmessung) und 72 °C/45 s. Eine abschließende Elongation wurde 5 Min bei 72 °C durchgeführt. An die PCR schloss sich eine Schmelzkurvenanalyse mit den folgenden Schritten an: Denaturierung 1 Min bei 95 °C, Renaturierung 1 Min bei 55 °C und 60 Denaturierungsschritte von jeweils 30 s bei 65 °C bis 95 °C

(die Differenz zwischen zwei nachfolgenden Schritten war 0,5 °C). Die Anregung der Fluoreszenz erfolgte bei 490 ± 10 nm, die Emission wurde bei 530 ± 15 nm gemessen.

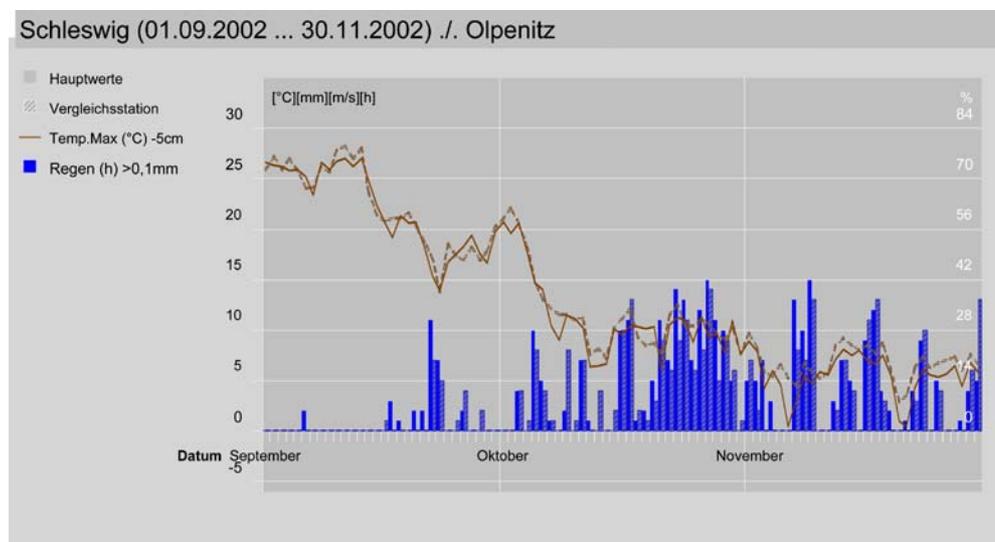
Als Standards wurden Verdünnungen pilzlicher DNA verwendet, die mit einer CTAB-Methode (Brandfass u. Karlovsky 2006; Abschnitt "DNA isolation from pure fungal cultures") aus pilzlichen Reinkulturen extrahiert wurde. Für die Konzentrationsbestimmung wurde eine densitometrische Auswertung der Bandenintensität nach elektrophoretischer Auftrennung im 0,6-prozentigen Agarose-Gel durchgeführt, wobei als Standard bekannte Mengen kommerziell erhältlicher DNA des Bakteriophagen Lamda (MBI Fermentas, St. Leon-Rot) dienten. Damit wurde eine Überbewertung der Konzentration vermieden, die bei der Konzentrationsbestimmung mittels Absorptionsmessung bei 260 nm typischerweise entsteht (Hubermann 1995; Glasel 1995). In jedem PCR-Ansatz wurde eine Negativkontrolle und Standards von 1 pg und 10 pg Pilz-DNA in doppelter Aufschrift mit amplifiziert. Die semiquantitative Auswertung erfolgte nach dem folgenden Schlüssel: ### kennzeichnet Proben mit mehr als 10 pg *Fusarium*-DNA, ## bezeichnet Proben mit DNA-Mengen zwischen 1 pg und 10 pg DNA und # bezeichnet diejenigen positiven Proben mit weniger als 1 pg DNA, für welche die Spezifität des Amplifikationsprodukts durch eine Schmelzkurvenanalyse bestätigt wurde. Alle übrigen Proben wurden als „negativ“ bewertet (DNA-Menge liegt unter der Nachweisgrenze).

Ergebnisse

Wettercharakteristik

Die trockene und sehr warme Witterung nach der Aussaat 2002 im September (Abb. 3) lieferte für bodenbürtige

Abb. 3 Bodentemperaturen und Niederschläge von September bis November 2002, (Wetterstationen Schleswig und Olpenitz), aus Pro_Plant Expert



Durchgehende, vollsystemische Infektion

Vorfrucht, Bodenbearbeitung		Internodium						7 Ähre		
		Schlag	Trieb	1	2	3	4	5	6	
WR	pfluglos	BC	1	#	#	#	#	#		#
WR	pfluglos	BC	3	#	##	##	#	##		###
WR	pfluglos	BC	4	#	#	##	##	##		#
WR	pfluglos	BD	4	#	#	##	###	#		#
WW	gepflügt	X	4	###	###	##	##	###	###	###
WW	gepflügt	X	5	###	###	###	##	##		#
WW	gepflügt	H	4	#	##	##	##			#

Unterbrochene, teilsystemische Infektion

Vorfrucht, Bodenbearbeitung		Internodium						7 Ähre		
		Schlag	Trieb	1	2	3	4	5	6	
WR	gepflügt	AA	5	#	0	0	#	##		#
WR	gepflügt	AE	1	#	#	#	#	#		0
WR	gepflügt	AE	2	0	0	#	##	##		#
ZR	gepflügt	AH	1	##	#	0	##	##	##	0
ZR	gepflügt	AH	4	##	#	0	##	##		#
WW	pfluglos	AK	3	0	##	#	0	##		#
WW	pfluglos	AK	4	###	0	##	##	##		#
WW	pfluglos	AK	5	0	#	#	#	##	0	##
WR	gepflügt	BA	1	##	#	##	0	##		###
WR	gepflügt	BA	2	##	##	##	0	##		###
WR	gepflügt	BA	3	#	##	##	0	###		##
WR	gepflügt	BA	4	##	0	0	#			###
WR	gepflügt	BA	5	##	#	##	0	0		###
WR	gepflügt	BB	1	0	##	###	###	0	##	###
WR	gepflügt	BB	2	0	##	##	##	##	##	###
WR	gepflügt	BC	2	#	#	##	##	0		###
WR	gepflügt	BC	5	0	##	##	##	##		0
WR	gepflügt	BG	1	##	0	#	#	#		##
WR	gepflügt	BG	2	##	##	##	##	##	0	0
WR	gepflügt	BG	3	0	#	##	#	##		0
M	gepflügt	BM	1	#	#	0	0	#		###
WW	gepflügt	G	2	##	#	#	#	##		0
WW	gepflügt	I	1	#	#	#	0			0
WW	gepflügt	K	1	0	#	#	#	#		0
WR	gepflügt	T	2	0	#	0	###	##	#	###
WR	gepflügt	T	3	##	##	##	##	0		0
WW	gepflügt	V	2	0	#	0	#			##
WW	gepflügt	V	3	##	0	#	#	0		###
WW	gepflügt	W	4	#	#	#	#	0		0
WW	gepflügt	X	1	#	##	0	##	##		0
WW	gepflügt	X	2	0	##	#	##	##		0
WW	gepflügt	X	3	0	##	#	###	###	##	###
WR	gepflügt	Z	1	#	#	#	#	0		###

Erläuterungen:

In jeder Zeile wird der Befall in den Internodien und der Ährenspindel eines Halmes dargestellt

Vorfrüchte: WR= Winterrraps; WW= Winterweizen

0: *F. culmorum*-DNA nicht nachweisbar

#: *F. culmorum*-DNA nachweisbar, aber unter der Bestimmungsgrenze

##: 1 – 10 pg *F. culmorum*-DNA

###: mehr als 10 pg *F. culmorum*-DNA

Abb. 4 Systemisch mit *Fusarium culmorum* besiedelte Weizenhalme

Tabelle 1 *Fusarium culmorum*-DNA in den verschiedenen Internodienpositionen

Internodium	Anzahl der untersuchten Halm- und Spindelinternodien	Anteil der Internodien mit <i>F. culmorum</i> -DNA			
		...oberhalb der Nachweisgrenze (Summe aus #, ##, ###) (%)	davon # (%)	davon ## (%)	davon ### (%)
1	187	32.6	18.2	10.7	3.7
2	187	35.3	23.5	9.6	2.1
3	187	28.9	15.5	10.7	2.7
4	187	27.8	15.5	10.2	2.1
5	179	23.5	8.9	12.3	2.2
6	44	25.0	11.4	11.4	2.3
Ähre7	187	36.9	11.2	4.8	20.9
Total	1158	30.7	15.4	9.8	5.5

Infektionen durch *F. culmorum* auf vielen Ackerflächen günstige Voraussetzungen. Bei Bodentemperaturen zwischen 25 °C im September und 15 °C in der ersten Oktoberwoche lag die nutzbare Feldkapazität zwischen 40% und 80%, woraus ein geringes Wasserpotential resultierte.

Während der Blüte (11.–18. Juni) traten keine Niderschläge auf. In der frühen Abreifephase förderte strahlungsreiche und sehr warme Witterung Anfang Juli 2003 die Alterung der Weizenbestände, deren Ähren sehr früh ihre intensiv grüne Farbe verloren und sich gelblich färbten. Dadurch wurden die typischen Symptome der Taubährigkeit überdeckt und oft nicht erkannt.

Befall der Pflanzenproben

Die Sporenabschwemmung der Ähren ergab fast ausschließlich Infektionen von *F. culmorum* und *F. graminearum* und machte deutlich, dass beide Erreger an dem Schadbild beteiligt waren, teilweise auch in Mischinfektion.

PCR-Analyse auf *F. culmorum*

Insgesamt wurden 187 Weizentriebe mit insgesamt 1158 Internodien- und Spindelproben untersucht. Dabei zeigte sich, dass in 30,7% aller Halm- und Spindelinternodien ein Befall mit *F. culmorum* vorlag. Tendenziell waren die basalen Internodien 1 und 2 häufiger befallen als die darü-

ber liegenden. Den höchsten prozentualen Anteil wiesen die Spindelinternodien auf, in denen auch deutlich mehr Erreger-DNA vorlag als in den Halminternodien. Tabelle 1 gibt Aufschluss über die detaillierten Ergebnisse.

Vollsystemisches Wachstum

Von den 187 untersuchten Trieben waren 7 Triebe von 4 Standorten **vollständig** in jedem Internodium und der Ährenspindel mit *F. culmorum* besiedelt (Abb. 4). Daraus lässt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit schließen, dass der Schadpilz in der Lage ist, sich systemisch in einer Weizenpflanze auszubreiten.

Teilsystemisches Wachstum

Ein erheblicher Teil der untersuchten Halme (33 von 187) war über mehrere Internodien durchgehend von *F. culmorum* befallen, wobei aber jeweils ein oder zwei Internodien ohne Erregernachweis blieben (Abb. 4). Diese Proben werden als teilsystemisch besiedelt beschrieben. In den restlichen Halmproben konnte *F. culmorum* nur vereinzelt über mehrere Internodien durchgehend nachgewiesen werden.

PCR-Analyse auf *F. graminearum*

Nachdem durch Sporenabschwemmung gezeigt werden konnte, dass die Ähren nicht nur von *F. culmorum*, sondern

Tabelle 2 *Fusarium graminearum*-DNA in den verschiedenen Internodienpositionen

Internodium	Anzahl der untersuchten Halm- und Spindelinternodien	Anteil der Internodien mit <i>F. graminearum</i> -DNA			
		...oberhalb der Nachweisgrenze (Summe aus #, ##, ###) (%)	davon # (%)	davon ## (%)	davon ### (%)
1	191	4.2	3.7	0.5	0
2	190	3.2	2.1	0.5	0.5
3	191	3.7	1.6	1.6	0.5
4	192	1.6	1.0	0.5	0
5	183	2.7	0	1.1	0
6	43	7.0	2.3	2.3	2.3
Ähre 7	191	45.0	11.0	19.4	14.7
Total	1181	10.0	3.5	3.7	2.8

auch von *F. graminearum* befallen waren, wurde die PCR-Analyse auch auf *F. graminearum* ausgeweitet. Damit sollte geprüft werden, ob und in welchem Umfang der Erreger möglicherweise eine Besiedlung tiefer gelegener Gewebeareale realisieren konnte. Von 1181 untersuchten Halm- und Spindelinternodien zeigten nur 10% ein Signal in der PCR. Die höheren DNA-Gehalte wurden wiederum in den Ährenspindeln gefunden, von denen 45% ein positives PCR-Signal zeigten. Die Halminternodien waren nur mit einer Häufigkeit zwischen 1,6 und 7,0% mit *F. graminearum* befallen (Tabelle 2).

Diskussion

Die hier vorgelegten Ergebnisse belegen, dass nach trocken-warmen Bestell- und Aufwuchsbedingungen eine bodenbürtige Infektion von *F. culmorum* bei Weizen möglich ist und den Erreger zu einem systemischen Wachstum im Halm befähigt. In über 30% der untersuchten Halminternodien und Ährenspindeln war *F. culmorum*-DNA vorhanden (Abb. 5). Damit ist ein zweifelsfreier Nachweis des Erregers gegeben, auch wenn infizierte Internodien zum Zeitpunkt der Probenahme keine Befallssymptome zeigten.

Systemisches Wachstum

Bei 40 von 187 untersuchten Trieben konnte der Erreger in mehreren Internodien nachgewiesen werden, bei sieben Trieben sogar durchgehend von der Basis bis zur Ähre (Abb. 4).

Diese Befunde stehen völlig im Einklang mit den Ergebnissen diverser Autoren (s. Kap. 2.1 und 2.2.), dass *F. culmorum* als Folge einer bodenbürtigen Infektion den Weg in die Pflanze finden kann. Allerdings müssen – wie schon von Inglis u. Cook (1986) beschrieben – während der Jungpflanzenentwicklung trocken-warme Bedingungen mit geringem Bodenwasserpotential herrschen, damit eine Infektion zustande kommen kann.

Nachweisempfindlichkeit

Auch wenn bei 30% der untersuchten Pflanzenproben ein positiver Nachweis von *F. culmorum* möglich war,

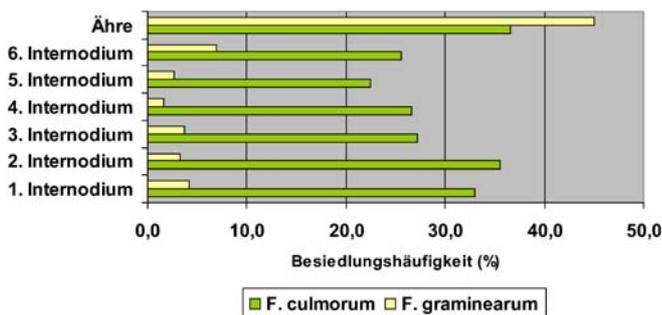


Abb. 5 Nachweis von *Fusarium culmorum* und *Fusarium graminearum* in den untersuchten Halm- und Ähreninternodien

so konnte doch in zahlreichen Halminternodien partiell taubähriger Pflanzen der Erreger nicht nachgewiesen werden. Das bedeutet natürlich aber noch lange nicht, dass er tatsächlich nicht vorhanden war. Dafür gibt es zwei Erklärungsansätze:

Trotz der hohen Nachweisempfindlichkeit der real-time PCR von 1 pg *Fusarium*-DNA kann die Biomasse des Erregers in dem untersuchten Gewebe der Internodien unterhalb dieses Wertes gelegen haben.

Denkbar ist auch, dass *F. culmorum* innerhalb der besiedelten Xylemgefäße Myzelbruchstücke abschnürt, die dann mit dem Transpirationsstrom akropetal verlagert werden und sich an anderer Stelle neu etablieren und möglicherweise sogar die Ähreninfektion auflösen.

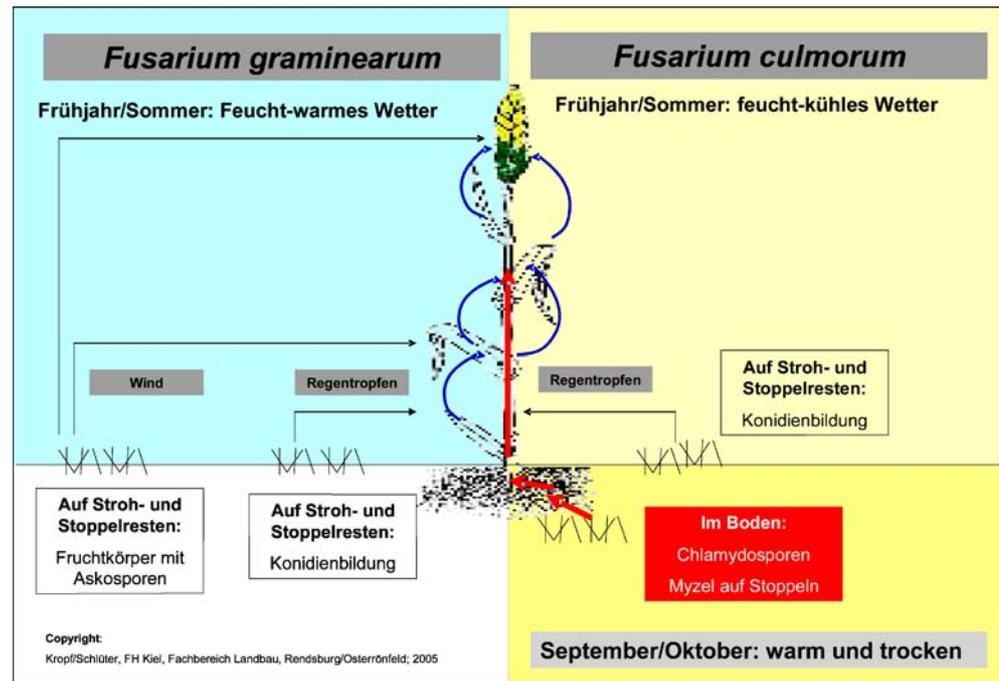
Besiedlung der Pflanze

Die Daten in Tabelle 1 zeigen, dass die basalen Internodien 1 und 2 häufiger von *F. culmorum* befallen waren als die oberen. Das mag daran liegen, dass der Schadpilz während der Bestockung der Weizenpflanzen lange Zeit hat, die älteren Gewebeteile des sich differenzierenden Halms zu besiedeln. Es ist davon auszugehen, dass der Umfang der Keimlingsbesiedlung im Frühjahr einen Einfluss auf die weitere Ausbreitung in der Pflanze haben muss. Wenn nämlich bereits zu Schosbeginn die noch eng aneinander liegenden Gewebe der verschiedenen Internodien besiedelt werden, könnte der Pilz sich sehr viel sicherer etablieren als bei einem allmählichen, langsamen Wachstum während der schnell ablaufenden Schossphase. Wenn dann die Schossphase beginnt, und das Streckungswachstum der jüngeren, weiter oben gelegenen Halminternodien einsetzt, dann bleibt für die Erschließung dieses Gewebes durch *F. culmorum* nicht sehr viel Zeit. Deshalb liegt die Vermutung nahe, dass die schon von Clement u. Parry (1998) nachgewiesene Besiedlung des Xylems für die weitere Ausbreitung des Erregers eine besonders wichtige Rolle spielt.

Denkbar ist auch ein Besiedlungsweg, bei dem ein diskontinuierliches Wachstum in den Gefäßen durch abreißende Myzelstücke ausgelöst wird, die im Xylem über gewisse Distanzen über den Wasserstrom passiv transportiert werden, bevor sie ihr Wachstum fortsetzen können.

Aufgrund der fehlenden sexuellen Vermehrungsform kann sich *F. culmorum* nicht über den Askosporenflug verbreiten. Aus diesem Grund erlangt die Anreicherung des Inokulums im Boden eine herausragende Bedeutung. Der Schadpilz kann auf infizierten Pflanzenresten in Form von Myzel saprophytisch überleben, wobei seine Konkurrenzkraft gegenüber anderen Saprophyten nicht sehr hoch ist und er daher auf eine Erstbesiedlung angewiesen ist (Cook und Bruehl, 1968). Die Bildung von Chlamydosporen im Boden wurde von Inglis und Cook 1986 beschrieben; sie wiesen außerdem eine dreijährige Überlebensdauer von *F. culmorum* in Ackerböden bei Hitze und Trockenheit nach.

Abb. 6 Gegenüberstellung der Entwicklung von *Fusarium culmorum* und *Fusarium graminearum*



Fruchtfolge

Große Strohmenngen, intensiver Einsatz von Azol- und Strobilurinfungiziden, späte Ernte und frühe Aussaat bieten keine idealen Voraussetzungen zur Einleitung einer guten Strohhotte. Tiefes Pflügen verlagert die infizierten Pflanzenreste in die biotisch weniger aktive Bodenschicht, so dass eine Konservierung des Inokulums erfolgt, welches vor allem in Form von Chlamydosporen von Bedeutung ist. Diese werden erst bei der nächsten Bodenbearbeitung wieder in die oberen Schichten eingemischt und können somit Neubefall auslösen. Bereits 1980 zeigte Cook den Zusammenhang zwischen der Chlamydosporenkonzentration im Boden und dem eintretenden Befall der Pflanzen. Damit kann der Erreger als standorttreuer Auslöser einer Fruchtfolgekrankheit angesehen werden.

Wenn es durch ackerbauliche Maßnahmen gelingt, befallene Pflanzen möglichst schnell in einen Rotteprozess zu überführen, so wird damit bereits die erfolgreiche Unterdrückung des Inokulums im Boden eingeleitet. Aus diesem Grund führt eine pfluglose Bodenbearbeitung in reinen Getreide-Raps/Zuckerrüben-Fruchtfolgen auch nicht zwangsläufig zu stärkerem Befall von *F. culmorum* an Weizen.

Langjährige Fruchtfolgeuntersuchungen (Schlüter 2003) zeigten bereits, dass der unbedeutende Befallsdruck durch *F. culmorum* in pfluglos bestelltem Monoweizen auf die gesteigerte Abbaurate zurückgeführt werden kann, denn durch den wiederholten Anbau von Weizen werden Stroh zersetzende Mikroorganismen gefördert. Bereits Cook (1970) erbrachte den Nachweis, dass eine schnelle Besiedlung *Fusarium*-infizierter Pflanzenreste durch Saprophyten dem Schadpilz die Fähigkeit der Überdauerung auf dem Stroh nimmt.

Schlussfolgerungen

Die beiden *Fusarium*-Arten *F. culmorum* und *F. graminearum* weisen unterschiedliche Entwicklungszyklen auf (Abb. 6), woraus sich Folgen für den Befall von Getreidepflanzen ergeben. *Fusarium culmorum* verfügt nur über einen imperfekten Zyklus und kann sich deshalb ausschließlich über Myzel, Konidiosporen und Chlamydosporen verbreiten. Diese Infektionsstrukturen nutzt der Erreger, um von befallenen Pflanzenresten im Boden die Wirtspflanze zu besiedeln. Dies erfolgt über Kurzstreckentransport durch Regenspritzer oder über ein direktes Einwachsen in die Wurzel und/oder Halmbasis. Gerade in trockenen Jahren, in denen die konidiale Ausbreitung durch Regenspritzer über die Blätter nicht möglich ist, stellt *Fusarium culmorum* durch eine systemische Ausbreitung sein Überleben sicher.

F. graminearum kann sich zusätzlich über die Askosporen des Perfektstadiums (*Gibberella zae*) ausbreiten. Da Askosporen über einen langen Zeitraum und damit auch zum Zeitpunkt der Blüte durch Wind und Thermik ideale Verbreitungsbedingungen finden, kann *F. graminearum* die Ähre auch unter trockenen Bedingungen infizieren. Insofern ist es erklärbar, dass *F. graminearum* im Jahr 2003 in den Ähren wesentlich häufiger auftrat als *F. culmorum* und in den Internodien kaum nachweisbar war.

Es ist also nicht verwunderlich, dass *F. culmorum* über Jahrzehnte der dominierende Erreger unter den maritimen Bedingungen Norddeutschlands war, während *F. graminearum* über die Askosporen-Verbreitung unter den kontinentalen, trocken-warmen Bedingungen Süddeutschlands dominierte. Mit der Ausbreitung des

Maisanbaus nach Norden scheint *F. graminearum* auch hierzulande immer häufiger aufzutreten. Es ist fraglich, ob *F. graminearum* das Potential hat, *F. culmorum* zu verdrängen. Dies wird auch von anderen Faktoren wie Fruchtfolge, Bodenbearbeitung und Witterung abhängen.

Die Gefahr für einen Bestand, durch *F. culmorum* befallen zu werden, ist offenbar dann am größten, wenn der Pilz im Herbst saprophytisch ausgehungert und seine saprophytische Existenz durch ungünstige Bodenbedingungen gefährdet ist. Das wäre bei trocken-warmen Bodenbedingungen bis Bestockungsbeginn nach einer Pflugfurche und einer gesunden Vorfrucht der Fall. Damit erklären sich einerseits das unregelmäßige Auftreten dieses Schadpilzes und vor allem der Befall von Winterweizen, der in der Fruchtfolge nach „gesunden“ Kulturen wie Raps oder Zuckerrüben steht.

Um Empfehlungen für die Reduktion des Befalls durch *Fusarien* geben zu können ist es unabdingbar, künftig in der Beratung zwischen *F. culmorum* und Askosporen bildenden *Fusarien* wie beispielsweise *F. graminearum* und auch *F. avenaceum* zu unterscheiden.

Literatur

- Booth C (1971) The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England
- Brandfass C, Karlovsky P (2006) Simultaneous detection of *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* in plant material by duplex PCR with melting curve analysis. BMC Microbiol, 6/4, S 1–10
- Büttner C, Dehne HW (2004) Ährenfusariosen im Getreide – Auftreten, Vermeidung, Herausforderungen. Mitteilungen aus der BBA 396:186
- Clement JA, Parry DW (1998) Stem-base disease and fungal colonisation of winter wheat grown in compost inoculated with *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* and *Microdochium nivale*. Europ J Plant Pathol 104:323–330
- Cook RJ (1970) Factors affecting saprophytic colonization of wheat straw by *Fusarium roseum* f. sp. *cerealis* 'culmorum'. Phytopathol 60 (11):1672–1676
- Cook RJ (1980) *Fusarium* foot rot in wheat and its control in the Pacific Northwest. Plant Disease 64:1061–1066
- Cook RJ (1981a) *Fusarium* Diseases of wheat and other small grains in North America. In: Nelson PE, Toussoun TA u. Cook RJ (Hrsg.): *Fusarium* diseases, biology and taxonomy. Pennsylvania State University Press, S 39–52
- Cook RJ (1981b) Water relations in the biology of *Fusarium*. In: Nelson PE, Toussoun TA u. Cook RJ (Hrsg.): *Fusarium* diseases, biology and taxonomy. Pennsylvania State University Press, S 236–244
- Cook RJ, Bruhl GW (1968) Relative significance of parasitism versus saprophytism in colonization of wheat straw by *Fusarium roseum* 'Culmorum' in the field. Phytopathol 58 (3):306–308
- Diehl T (1984) Weizenfusariosen – Zur Symptomentwicklung und Schadensanalyse bei Blatt- und Ährenbefall. Diss. Göttingen
- Duben J (1978) Untersuchungen zum Fußkrankheitskomplex an Winterweizen unter besonderer Berücksichtigung von Arten der Gattung *Fusarium* Lk. Diss. Göttingen
- Engelhardt G (2000) Mycotoxine – Giftige Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen. <http://www.life.bayern.de/lebensmittel/mycotox.html>. In: Bayerische Landesanstalt für Ernährung (Hrsg.)
- Fischer H (1977) Untersuchungen über Fußkrankheiten an Weizen unter besonderer Berücksichtigung von *Fusarium* ssp. als Fußkrankheitserreger. Diss. Bonn.
- Gerlach W, Nirenberg H (1982) The genus *Fusarium*. Paul Parey, Hamburg
- Glasel JA (1995) Validity of nucleic acid purities monitored by 260nm/280nm absorbance ratios. BioTechniques 18:62–63
- Huberman JA (1995) Importance of measuring nucleic acid absorbance at 240 nm as well as at 260 nm and 280 nm. BioTechniques 18:636
- Hutcheon JA, Jordan VWL (1992) Fungicide timing and performance for *Fusarium* control in wheat. Brighton Crop Protect Conf: Pests and Diseases, S 633–338
- Inglis DA, Cook RJ (1986) Persistence of chlamydospores of *Fusarium culmorum* in wheat field soils of Eastern Washington. Phytopathol 76 (11):1205–1208
- Jordan VWL, Fielding EC (1988) *Fusarium* spp. on wheat. Annual Report 1987, Long Ashton Research Station, S 23
- Kropf U, Schlüter K (2006) Auftreten von *Fusarium culmorum* und *Fusarium graminearum* im Ackerbau Schleswig-Holsteins 2003. RD Druck & Verlagshaus OHG, Osterrönfeld, 196 Seiten, ISBN 3-9810912-0-5, e-ISBN 978-3-9810912-0-5
- Nicholson P, Simpson DR, Weston G, Rezanoor HN, Lees AK, Parry DW, Joyce D (1998) Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays. Physiol Molec Plant Pathol 53:17–37
- Malalasekera RAP, Sanderson FR, Colhoun J (1973) *Fusarium* diseases of cereals. IX. Penetration and invasion of wheat seedlings by *Fusarium culmorum* and *F. nivale*. Trans Br mycol Soc 60 (3):453–462
- Nirenberg HI (1996) Überprüfung eines systemischen Wachstums von *Fusarium* in Getreidepflanzen. Jahresbericht der Biologischen Bundesanstalt 209:133
- Obenauf U (2003) Fusariumtoxingehalt bei Weizen – Bewertung von Sorten. Bauernblatt/Landpost, Ausgabe 19 (59./155):24–30
- Obst A, Gehring K (2002) Getreide: Krankheiten, Schädlinge, Unkräuter. Verlag Th Mann, Gelsenkirchen
- Parry DW, Jenkinson P, McLeod L (1995) *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals – a review. Plant Pathol 44:207–238
- Schlüter K (1985) Auftreten von Schadpilzen der Gattungen *Pseudocercospora* und *Fusarium*. In: Fungizidversuchen der Abteilung Pflanzenschutz des Amtes für Land- und Wasserwirtschaft Itzehoe in den Kreisen Segeberg, Pinneberg und Steinburg in den Jahren 1984–1986, unveröffentlicht
- Schlüter K (2003) Vergleich von Fruchtfolge- und Bodenbearbeitungssystemen im schleswig-holsteinischen Ackerbau auf dem Versuchsstandort Ostenfeld der FH Kiel. Ergebnisse aus einem Forschungsprojekt. Im Internet unter: <http://www.landbau.fh-kiel.de/Forschung>
- Schlüter K, Kropf U, Karlovsky P (2004) Systemische Entwicklung von *Fusarium culmorum* in Winterweizen. Mitt Biol Bundesanst 396:158–159
- Snijders CHA (1990) Systemic fungal growth of *Fusarium culmorum* in stems of winter wheat. J Phytopathol 129:133–140
- Schilling AG, Moeller EM, Geiger H (1996) Polymerase chain reaction-based assays for species-specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, and *F. avenaceum*. Phytopathol 86:515–522
- Weinert J (2006) persönliche Mitteilung. Inst Pflpath, Georg-August-Universität Göttingen
- Weinert J, Wolf GA (1995) Gegen Ährenfusarien helfen nur resistente Sorten. Pflanzenschutz-Praxis 2:30–32