

Fusarien und ihre Toxine bei Mais in Österreich

H. Lew, A. Adler, W. Edinger, W. Brodacz, E. Kiendler und J. Hinterholzer

Fusarium species and their toxins in Austrian maize

1. Einleitung und Aufgabenstellung

In den letzten Jahrzehnten kommt es vermehrt zu Fusariosen bei Getreide, wobei die dabei gebildeten Toxine zu Leistungsdepressionen und Erkrankungen bei Haustieren führen und für die menschliche Gesundheit zumindest ein latentes Risiko darstellen.

Besonders massive Fusarieninfektionen und hohe Toxin-konzentrationen kommen in Maiskolben vor, da sich die Pilze innerhalb der Lieschen geschützt entwickeln können.

Neben den bekannten Fusarientoxinen wie Desoxynivalenol und Zearalenon, deren Vorkommen in österreichischem Mais, ebenso wie die Abhängigkeit der Kontaminationen von Witterung, Sorte und Erntezeitpunkt bereits in den siebziger und achtziger Jahren erforscht wurden (LENGAUER et al., 1978; LEW et al., 1979; BIEDERMANN, 1985; HINTERHOLZER, 1988; ADLER et al., 1990), traten in letzter Zeit andere Toxine wie z.B. das Moniliformin und die Fumonisine in den Vordergrund des Interesses. Diese Toxine werden von Fusarien der Sektion *Liseola* gebildet, deren

Summary

Since in the middle term the EU is likely to set maximum admissible values for fumonisins as well as other *Fusarium* toxins, one urgent task was to obtain a representative picture of *Fusarium* infestation and the toxin content of domestic maize.

Consequently, the project set out to investigate maize grain samples from the major maize growing areas of Austria. The project, which spanned three vegetation periods and focussed on *Fusarium* infection, distribution of species and toxin contamination, involved the toxins deoxynivalenol (DON, vomitoxin), 15-acetyldeoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, zearalenone, nivalenol, T-2 toxin, HT-2 toxin, fumonisin B₁, B₂ and moniliformin.

The relatively humid vegetation periods of 1998 and particularly 1996 were dominated by *F. graminearum*, so that in both years relatively high concentrations of deoxynivalenol and zearalenone could be detected in the maize grain samples. Thus, 41 out of 46 samples from the 96 harvest showed a DON content of over 0.1 mg/kg, with an average content in the positive samples of 0.645 mg/kg. The tests also showed that 15-acetyldeoxynivalenol is far more common in Austrian maize than 3-acetyldeoxynivalenol.

The occurrence of the chief moniliformin producer *F. subglutinans* remained largely uninfluenced by any climatic variations. In all vegetation periods the proportion of this fungus in the total figure of isolated fusaria was around 30 %. The percentage of *F. avenaceum*, also a moniliformin forming species, varied between 14 % in 1996, an extremely wet year, and 23 % in 1997. In all three vegetation periods about 15 % of the maize samples considered showed a moniliformin content of well over 0.05 mg/kg, with an average value of the positive samples of 0.22 mg/kg.

In contrast to *F. graminearum*, *F. poae* appeared to find favourable conditions especially in 1997, a fairly dry vegetation period. However, infestation of the ears was much less conspicuous; in fact the nivalenol content in all tested maize samples was below the detection limit of 0.05 mg/kg. Finally, the occurrence of the trichothecenes T-2 toxin and HT-2 toxin in the three years under study was limited to a few isolated cases, with consistently low concentrations.

Compared to a similar investigation in the years 1988/89, a significant increase in the incidence of *F. proliferatum*, a fumonisin-producer, could be observed. Especially in the unusually warm vegetation period of 1998 conditions for the development of *F. proliferatum* were very good, so that some of the maize samples yielded toxicologically relevant fumonisin contents (up to 2 mg/kg).

Key words: Maize, *Fusarium* species, trichothecenes, zearalenone, fumonisins, moniliformin.

Zusammenfassung

Körnermaisproben aus allen relevanten Maisanbaugebieten Österreichs wurden drei Vegetationsperioden hindurch auf Fusarienbefall, -artenzusammensetzung und -toxinkontamination untersucht. Erfasst wurden dabei die Fusarientoxine Zearalenon, Desoxynivalenol (DON, Vomitoxin), 15-Acetyldeoxynivalenol, 3-Acetyldeoxynivalenol, Nivalenol, T-2 Toxin, HT-2 Toxin, Fumonisin B₁, B₂ und Moniliformin.

Die drei untersuchten Vegetationsperioden 1996, 1997 und 1998 unterschieden sich deutlich hinsichtlich der klimatischen Bedingungen, was sich in der Artenzusammensetzung und dem daraus resultierenden Toxingehalt widerspiegelte.

In den relativ feuchten Vegetationsperioden 1998 und insbesondere 1996 dominierte *F. graminearum*. In beiden Jahren konnten daher relativ hohe Konzentrationen an Desoxynivalenol und Zearalenon in den Körnermaisproben nachgewiesen werden. So wiesen 41 von 46 untersuchten Proben der Ernte 96 einen DON-Gehalt über 0,1 mg/kg auf, mit einem Durchschnittsgehalt der positiven Proben von 0,645 mg/kg. Die Untersuchungen zeigten auch, dass 15-Acetyldeoxynivalenol in heimischem Mais wesentlich häufiger vorkommt als 3-Acetyldeoxynivalenol.

Das Vorkommen des wichtigsten Moniliforminbildners *F. subglutinans* blieb von den unterschiedlichen klimatischen Bedingungen weitgehend unbeeinflusst. In allen Vegetationsperioden betrug der prozentuelle Anteil dieses Pilzes an der Gesamtzahl isolierter Fusarien ca. 30 %. Der Anteil von *F. avenaceum*, einer ebenfalls moniliforminbildenden Art, variierte zwischen 14 % im extrem feuchten Jahr 1996 und 23 % im Jahr 1997. In allen 3 Vegetationsperioden wiesen ungefähr 15 % der untersuchten Maisproben Moniliformingehalte über 0,05 mg/kg auf, mit einem Durchschnittsgehalt der positiven Proben von 0,22 mg/kg.

F. poae trat vor allem in der relativ trockenen Vegetationsperiode 1997 verstärkt auf und verhielt sich somit konträr zu *F. graminearum*. Allerdings waren die Kolben nur schwach befallen, sodass in allen untersuchten Maisproben der Nivalenolgehalt unter der Nachweisgrenze von 0,05 mg/kg lag. Die Trichothecene der A-Gruppe T-2 Toxin und HT-2 Toxin konnten in den 3 Untersuchungsjahren nur vereinzelt und in geringen Konzentrationen nachgewiesen werden. Gegenüber einer vergleichbaren Untersuchung in den Jahren 1988/89 war ein starkes Aufkommen des Fumonisinbildners *F. proliferatum* zu beobachten. Besonders in der überdurchschnittlich warmen Vegetationsperiode 1998 waren die Bedingungen für die Entwicklung von *F. proliferatum* günstig und so konnten in den Maisproben vereinzelt auch toxikologisch relevante Fumonisingehalte (bis zu 2 mg/kg) nachgewiesen werden.

Schlagworte: Mais, *Fusarium*-Arten, Trichothecene, Zearalenon, Fumonisine, Moniliformin.

Auftreten sehr stark durch Maiszünslerbefall gefördert wird (LEW et al., 1991). Moniliformin besitzt eine relativ hohe akute Toxizität gegenüber Geflügel mit einer oralen LD₅₀ von ca. 5 mg/kg Körpergewicht (COLE et al., 1973; BURMEISTER et al., 1979) und ist daher, da Mais in Geflügelmastrationen in sehr hohem Anteil enthalten ist, vor allem für die Geflügelhaltung von großer Bedeutung. Die Fumonisine stehen wegen ihrer kanzerogenen Wirkung zurzeit auf internationaler Ebene im Mittelpunkt der Fusarientoxinforschung (MARASAS, 1996). Außerdem können sie Leukoencephalomalazie beim Pferd (KELLERMAN et al., 1990) und Lungenödeme beim Schwein (HARRISON et al., 1990) hervorrufen. Eigene unveröffentlichte Untersuchungen lieferten Hinweise dafür, dass sich möglicherweise auch aufgrund der geänderten Witterungsbedingungen der letzten Jahre (mildere Winter und heißere, trockenere Sommer) fumonisinbildende Pilze, wie *F. proliferatum* und *F.*

verticillioides in Österreich vermehrt entwickeln.

Da es in den nächsten Jahren im Rahmen der EU zu Höchstwertregelungen für Fumonisine und auch für andere Fusarientoxine kommen dürfte, war es vordringlich, ein repräsentatives Bild des Fusarienbefalls und der Toxinbelastung des heimischen Mais zu gewinnen. Die dabei erzielten Ergebnisse sind außerdem eine wichtige Grundlage für Maßnahmen in pflanzenbaulicher und produktionstechnischer Hinsicht zur Vermeidung einer übermäßigen Kontamination von Mais und Maisprodukten mit Fusarientoxinen.

In diesem Projekt wurden daher Körnermaisproben von Versuchsstandorten des Bundesamtes und Forschungszentrums für Landwirtschaft und des Bundesamtes für Agrarbiologie in den relevanten Maisanbaugebieten Österreichs drei Vegetationsperioden hindurch auf Fusarienbefall, -artenspektrum und -toxinkontamination untersucht.

Erfasst wurden dabei die Fusarientoxine Desoxynivalenol (DON), 15-Acetyldeoxynivalenol (15-ADON), 3-Acetyldeoxynivalenol (3-ADON), Zearalenon (ZON), Nivalenol (NIV), T-2 Toxin (T-2), HT-2 Toxin (HT-2), Fumonisin B₁ (FB₁), Fumonisin B₂ (FB₂) und Moniliformin (MON).

2. Material und Methoden

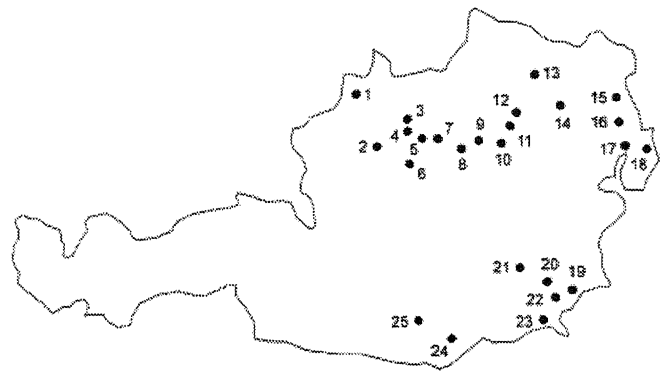
Die mykologischen und mykotoxinologischen Untersuchungen der Maisproben aus den Erntejahren 1996, 1997 und 1998 wurden bei Standard- bzw. Vergleichssorten, die im Rahmen der laufenden Sortenwertprüfungen als Bezugsgrößen für den Maisertrag dienen, durchgeführt. Folgende Standardsorten wurden untersucht:

- | | |
|-----------------|--|
| Reifegruppe I | Helix (Reifezahl 240)
DK 212 (Reifezahl 250) |
| Reifegruppe II | Banguy (Reifezahl 270)
Cesar (Reifezahl 280) im Erntejahr 1996
Fanion (Reifezahl 270) im Erntejahr 1997
Prinz (Reifezahl 270) im Erntejahr 1998 |
| Reifegruppe III | DK 300 (Reifezahl 330)
LG 23.10 (Reifezahl 330) im Erntejahr 1996
Clarica (Reifezahl 310) in den Erntejahren 1997 und 1998 |
| Reifegruppe IV | Raissa (Reifezahl 350)
Clarisia (Reifezahl 400) |

Die Lage der Versuchsstandorte ist aus der Abbildung 1 zu ersehen. Die Sortenwertprüfung erfolgte an den einzelnen Standorten in dreifacher Wiederholung von Parzellen mit 4 Reihen zu je 35 bis 50 Pflanzen.

Für die mykologische Erhebung wurden die Maiskolben der beiden Randleihen einer Parzelle händisch entliescht und auf sichtbare Fusarieninfektion sowie auf Zünslerbefall untersucht. Von einer repräsentativen Anzahl der befallenen erntefrischen Kolben wurden im Labor Fusarienisolat abgeimpft.

Für die Toxinanalysen wurden die geernteten Maiskörner aus den beiden Mittelreihen aller 3 Parzellen einer Sorte herangezogen. Die Körner wurden getrocknet und von ca. 1 kg Mischprobe wurde durch Vermahlen unter Verwendung eines 1 mm-Siebes die Analysenprobe hergestellt.



- | | |
|------------------------|--------------------------|
| 1 = Taufkirchen, OÖ | 14 = Tulbing, NÖ |
| 2 = Lambach, OÖ | 15 = Weikendorf, NÖ |
| 3 = Alkoven, OÖ | 16 = Fuchsenbigl, NÖ |
| 4 = Breitbrunn, OÖ | 17 = Pachfurth, NÖ |
| 5 = Ritzlhof, OÖ | 18 = Dt. Jahrndorf, Bgld |
| 6 = Wartberg, OÖ | 19 = Eltendorf, Bgld |
| 7 = Enns, OÖ | 20 = Kalsdorf/Ilz, Stmk |
| 8 = Amstetten, NÖ | 21 = Gleisdorf, Stmk |
| 9 = Wieselburg, NÖ | 22 = Hatzenhof, Stmk |
| 10 = Kilb, NÖ | 23 = Flutendorf, Stmk |
| 11 = Hofing, NÖ | 24 = Völkermarkt, Ktn |
| 12 = Unterwölbling, NÖ | 25 = Hörzendorf, Ktn |
| 13 = Großnondorf, NÖ | |

Untersuchte Standorte:

Erntejahr 1996: 1 bis 25, ausgenommen 12, 15, 18

Erntejahr 1997: 1 bis 25, ausgenommen 7, 10, 14

Erntejahr 1998: 1 bis 25, ausgenommen 7, 12, 15, 18

Abbildung 1: Lage der Versuchsfelder

Figure 1: Location of the test fields

2.1 Isolierung und Identifizierung der Fusarienarten

Von Maiskolben mit sichtbarem Fusarienbefall erfolgte ein direkter Transfer von Myzel bzw. Sporen mittels Impfnadel auf Potato-Dextrose-Agar (Oxoid CM 139)-Platten und diese wurden 1 Woche lang bei 28° C bebrütet. Anschließend wurden Fusarienkolonien als Einzelsporenisolate auf SNA (NIRENBERG, 1976) subkultiviert. Die Identifizierung der Isolate erfolgte nach BURGESS et al. (1988) bzw. NIRENBERG und O'DONNELL (1998).

2.2 Fusarientoxinanalysen

2.2.1 Trichothecene der A-Gruppe (HT-2 Toxin, T-2 Toxin) und der B-Gruppe (Desoxynivalenol, Nivalenol, 3-Acetyldeoxynivalenol, 15-Acetyldeoxynivalenol)

Die Bestimmung erfolgte mittels Vorreinigung über eine Mycosep-Säule mit anschließender Kapillar-GC der HFB- bzw. TMS-Derivate und EC-Detektion.

Clean-up und Derivatisierung

10 g der Analysenprobe wurden mit 100 ml Acetonitril/Wasser (84+16, v/v) versetzt, 120 min geschüttelt und der Extrakt filtriert. 6 ml des Filtrats wurden über eine Mycosep # 227-Säule (Romer Labs Inc.) nach Vorschrift des Herstellers gereinigt. 2 ml des gereinigten Extraktes wurden schließlich am Rotationsverdampfer bei ca. 45° C zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in 400 µl Acetonitril aufgenommen, durch Schwenken im Ultraschallbad gelöst und je 100 µl für die Halogenierung der A-Trichothecene bzw. die Silylierung der B-Trichothecene bei unter -18° C aufbewahrt. Die Halogenierung mittels Heptafluorbutyrylimidazol und die Silylierung mittels TriSil TBT wurden entsprechend der Methodik von SCOTT et al. (1986) durchgeführt.

GC-Bedingungen

Gerät: HP 5890 A mit Autosampler HP 7673 und ⁶³Ni Elektroneneinfangdetektor

Trennsäule: Chrompack 50 m x 0,32 mm, Stationäre Phase: CP-Sil-8CB, Filmdicke: 0,1 µm

Trärgas: Helium; 200 kPa Vordruck, Injektortemperatur: 250° C (2 min splitless)

Injektionsvolumen: 3 µl (in 2,2,4-Trimethylpentan)

Zur Gewährleistung einer guten Auftrennung der Trichothecene untereinander, sowie zur Abtrennung von Matrixpeaks wurden die Temperaturprogramme mit Hilfe der computergestützten GC-Simulation optimiert (BRODACZ, 1996a, b). Zuvor wurde durch Kombination dieser Technik mit GC/MS-Identifizierungen der Derivate die zweifelsfreie Peakidentität im EC-Chromatogramm verifiziert (BRODACZ, 1997a, b).

Daraus resultierten folgende Temperaturprofile:

A-Trichothecene: Beginnend mit 80° C für 2 min, anschließend mit einer Aufheizrate von 28° C/min bis 205° C, dann mit 2° C/min bis 240° C und schließlich mit 25° C/min bis 290° C, diese Temperatur für 1 min gehalten.

B-Trichothecene: Beginnend mit 80° C für 2 min, anschließend mit einer Aufheizrate von 9,5° C/min bis 192° C, diese Temperatur für 5 min gehalten, dann mit 1° C/min bis 212° C und schließlich mit 25° C/min bis 290° C, diese Temperatur für 1 min gehalten.

2.2.2 Fumonisine (FB₁ und FB₂)

Die Fumonisine wurden nach SAX-Kartuschen-Reinigung mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion der OPA-Derivate bestimmt.

Das Clean-up folgte im Wesentlichen der Methodik nach CEN 275/WG5 N132 (1996): 10 g der Analysenprobe wurden mit 50 ml eines Acetonitril/Wasser-Gemisches (1+1, v/v) versetzt und 60 min geschüttelt.

Vorkonditionierung der SAX-Kartusche (starker Anionenaustauscher) mit 5 ml Methanol und 5 ml Methanol/Wasser-Gemisch (3 + 1, v/v).

10 ml des filtrierten Extraktes wurden auf die vorkonditionierte SAX-Kartusche aufgegeben (Tropfgeschwindigkeit unter 2 ml/min). Die Kartusche wurde mit 8 ml Methanol/Wasser-Gemisch (3+1, v/v) und anschließend mit 3 ml Methanol gewaschen. Die Fumonisine wurden mit 10 ml 1 %iger Essigsäure in Methanol eluiert. Das Eluat wurde am Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt und der Rückstand in 200 µl Acetonitril/Wasser (1+1, v/v) aufgenommen.

Derivatisierung

Die Derivatisierung von 20 µl Probenextrakt mit 40 µl OPA-Reagenz wurde automatisch im Autosampler durchgeführt.

OPA-Reagenz: 40 mg o-Phthaldialdehyd gelöst in 1 ml Methanol, 5 ml wässrige di-Natriumtetraboratlösung (0,1 mol/l) sowie 50 µl 2-Mercaptoethanol hinzugefügt.

HPLC-Bedingungen

HPLC-System HP 1050 mit Fluoreszenzdetektor HP 1046 A
Trennsäule: LiChrospher 100, RP 18 e, 250 x 4 mm, 5 µm,
Säulentemperatur: 40° C

Mobile Phase: Acetonitril/Wasser/Essigsäure (50+50+1, v/v/v), Fluss: 1,3 ml/min

Anregungswellenlänge: 335 nm, Emissionswellenlänge: 440 nm

2.2.3 Moniliformin

Die Bestimmung des Moniliformins erfolgte unter Anwendung einer Festphasen- und einer Ionenpaarextraktion im Clean-up mit anschließender Ionenpaarchromatographie und Diodenarraydetektion.

10 g der Analysenprobe wurden mit 100 ml eines Gemisches Methanol/Wasser (7+3, v/v) versetzt, 60 min geschüttelt und anschließend filtriert. 20 ml Filtrat wurden am Rotationsverdampfer zur Entfernung des Methanols eingengt (bis ca. 5 ml) und der Rückstand mit Wasser auf ca. 10 ml aufgefüllt. Der gesamte wässrige Extrakt wurde mit einer Spritze mit Luer-Konus durch eine mit 10 ml Wasser

vorkonditionierte Sep-Pak C₁₈-Kartusche gedrückt, das Eluat mit 10 ml Wasser und 50 µl 20 %iger wässriger Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung versetzt und auf eine Extrelut-Säule aufgegeben. Nach einer Einwirkzeit von 10 min wurde mit 150 ml Chloroform eluiert. Das Eluat wurde am Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt und in 0,5 ml mobiler Phase für die HPLC nach SCOTT und LAWRENCE (1987) aufgenommen.

HPLC-Bedingungen

HPLC-System HP 1050 mit Diodenarraydetektor HP 1040 M

Trennsäule: LiChrospher 100, RP 18 e, 250 x 4 mm, 5 µm, Säulentemperatur: 40° C

Mobile Phase: 10 ml Ionenpaarpuffer + 150 ml Methanol, mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

Fluss: 1,3 ml/min; Messwellenlänge: 228 nm

Ionenpaarpuffer: 48 ml 20%ige wässrige Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung + 26 ml Wasser + 7,5 g Kaliumdihydrogenphosphat, auf pH 7,3 gestellt.

2.2.4 Zearalenon

Zearalenon wurde nach Vorreinigung mittels Alkalibehandlung mit anschließender HPLC und Fluoreszenzdetektion bestimmt. Clean-up und HPLC-Bestimmung erfolgten entsprechend der Veröffentlichung von SCHUH-MACHER et al. (1998).

3. Ergebnisse und Diskussion

Die drei untersuchten Vegetationsperioden unterschieden sich deutlich hinsichtlich des Witterungsverlaufes. 1996

waren die Sommermonate relativ kühl und feucht, der Oktober mild und niederschlagsreich. 1997 wies der Juli hohe Niederschläge auf, der September war mild und trocken, der Oktober relativ kühl und trocken. 1998 war die gesamte Vegetationsperiode wärmer als es dem langjährigen Durchschnitt entsprach und mit Ausnahme des Juli niederschlagsreich. Diese unterschiedlichen klimatischen Bedingungen spiegeln sich in der Artenzusammensetzung, der Befallsstärke und den daraus resultierenden Toxingehalten wider (Tabellen 1, 2, 3, 4). Im Erntejahr 1996 wiesen 10,5 % der entlieschten Maiskolben sichtbaren Fusarienbefall auf, im darauf folgenden Jahr 6,1 % und 1998 schließlich 9,7 %.

In den relativ feuchten Vegetationsperioden 1996 und 1998 dominierte *F. graminearum*, während *F. poae* und *F. avenaceum* vor allem im relativ trockenen Jahr 1997 verstärkt auftraten. Das gegenläufige Verhalten von *F. graminearum* und *F. poae* hinsichtlich des Feuchtigkeitseinflusses fanden auch TURNER und JENNINGS (1997) bei Weizen. *F. poae*, eine vergleichsweise schwach pathogene Fusarienart bei Weizen, zeigte in ihren Untersuchungen unter künstlichen und natürlichen Infektionsbedingungen bei hoher Feuchtigkeit den relativ schwächsten Befall, während die aggressiveren Fusarienarten wie *F. graminearum* und *F. culmorum* bei hoher Feuchtigkeit die stärksten Krankheits-symptome bei Weizen produzierten.

F. graminearum ist der weitaus wichtigste DON- und ZON-Produzent in Österreich. Diese Pilzart befällt die Maiskolben massiver als die anderen Fusarienarten. Daher sind die DON-Gehalte in den Maiskörnern in Relation zu den anderen Fusarientoxinen hoch. Da die Produktion von ZON durch *F. graminearum* später als die DON-Bildung einsetzt (LEW, 1995; LEW und ADLER, 1997), erreichen die ZON-Gehalte nicht das Niveau der DON-Gehalte. *F. gra-*

Tabelle 1: Häufigkeitsverteilung der Fusarienarten auf Maiskolben

Table 1: Frequency distribution of *Fusarium* species on maize ears

Erntejahr	1996	1997	1998
Befallene Kolben	482	289	438
Untersuchte Kolben	343	228	316
Anzahl Isolate	360	244	330
<i>Fusarium</i> -Arten	% der Isolate	% der Isolate	% der Isolate
<i>F. graminearum</i>	47	16	31
<i>F. subglutinans</i>	29	32	33
<i>F. avenaceum</i>	14	23	17
<i>F. poae</i>	2	17	4
<i>F. proliferatum</i>	2	5	7
<i>F. equiseti</i>	1	2	2
Andere <i>Fusarium</i> spp.*	5	7	6

* einschließlich: *F. acuminatum*, *F. cerealis*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. verticillioides*

minearum dominiert die Fusarienflora vor allem in den südlichen Anbauregionen (Versuchsfelder 19-25), während im Alpenvorland (Versuchsfelder 1-12) *F. graminearum* und *F. subglutinans* etwa gleich häufig auftraten. In den Trockengebieten (Versuchsfelder 13-18) konnte hingegen *F. subglutinans* als häufigster Kontaminant isoliert werden.

Seit den Untersuchungen von MIROCHA et al. (1989) über das Toxinbildungsvermögen von *F. graminearum*-Stämmen hinsichtlich der DON-Vorstufen 15-ADON und 3-ADON hält sich in der Literatur die Meinung, dass europäische Isolate vorwiegend 3-ADON bilden. Eigene Untersuchungen an *F. graminearum*-Kulturen zeigten allerdings, dass österreichische Stämme von Mais vorwiegend 15-ADON produzieren (ADLER und LEW, 1996). Diese Laborversuche wurden nun durch die Untersuchungen natürlich kontaminierter Maisproben voll bestätigt.

Seit Mai 1999 gibt es in Österreich ein empfohlenes Richtwerteschema für DON und ZON im Futter (LEW, 1999), da erhöhte Gehalte dieser Fusarientoxine nachweislich zu Leistungsdepressionen bzw. Fruchtbarkeitsstörungen bei Tieren führen. Betrachtet man die Ergebnisse der DON-Analysen im Jahr 1996 in Hinblick auf den Richtwert von 0,5 mg DON/kg Futter bei Mastschweinen, die auf dieses Toxin besonders empfindlich reagieren, dann wäre es unter der Annahme einer durchschnittlichen Beimischrate von 60 % Mais bei ca. 25 % der Schweinemastfutterchargen zu Richtwertüberschreitungen gekommen. Im Jahr 1998 wäre dies in 4 % der Fall gewesen, während es im Jahr 1997 keine Richtwertüberschreitungen gegeben hätte.

Die Ergebnisse unserer Toxinuntersuchungen im Jahr 1996 stimmen gut mit den Resultaten einer gleichzeitig von ELLEND et al. (1997) durchgeführten Erhebung über den Gehalt an Zearalenon und Trichothecen der B-Gruppe in österreichischem Körnermais überein.

Während sich in unseren Untersuchungen der DON-Medianwert der steirischen Maisproben im Jahr 1996 mit 0,41 mg/kg nicht wesentlich vom DON-Gesamtmedianwert (0,35 mg/kg) unterschied, fanden DIEBER und KÖFER (1999) allerdings in steirischem Mais der Ernte 1996 wesentlich höhere DON-Gehalte, selbst wenn man berücksichtigt, dass mit der von den Autoren angewandten ELISA-Methodik die Gehalte an 15-ADON und 3-ADON im DON-Gehalt inkludiert sind. Die höheren Werte in diesen Praxisproben sind zusätzlich sicherlich auf die späte, teilweise bis in den November hinein verzögerte Ernte und möglicherweise auch auf ein anfälligeres Mais-sortiment zurückzuführen.

Zu erwähnen ist noch, dass es bedingt durch die extrem

feuchte Witterung während der gesamten Vegetationsperiode 1996 in Österreich verbreitet zu massiven Stängelfusariosen kam, von denen auch einige der in diesem Projekt untersuchten Standorte betroffen waren. Als verantwortliche Fusarienart wurde *F. graminearum* nachgewiesen, wobei aber auch gezeigt werden konnte, dass es zu keinem Übergreifen der Fusariosen von den befallenen Stängeln in die Maiskolben kam (LEW et al., 1997a).

F. poae ist der wichtigste Nivalenolproduzent auf Getreide in Europa (PETERSSON, 1991; CHELKOWSKI et al., 1994; LEW et al., 1997b). Obwohl *F. poae*-Infektionen im Jahre 1997 häufig auf den Maiskolben nachgewiesen werden konnten, war die daraus resultierende Verpilzung sehr gering, sodass in allen untersuchten Maisproben der Nivalenolgehalt unter der Nachweisgrenze von 0,05 mg/kg lag.

T-2 Toxin und HT-2 Toxin konnten in den drei Untersuchungsjahren nur vereinzelt und in geringen Konzentrationen

Tabelle 2: Fusarientoxine in Körnermaisproben (n = 46) der Ernte 1996
Table 2: *Fusarium* toxins in maize grain samples (n = 46) of the 1996 crop

Toxine	Anteil positiver Proben ⁺ (%)	Mittelwert der Gehalte positiver Proben (mg/kg)	Bereich der Toxingehalte (mg/kg)
DON	89	0.645	0.06–2.81
15-ADON	61	0.265	0.06–0.98
3-ADON	13	0.09	0.06–0.13
ZON	63	0.09	0.02–0.28
NIV	15	0.14	0.08–0.33
MON	15	0.13	0.05–0.29
FB ₁	4	0.17	0.09–0.25
FB ₂	0		
T-2	2	0.26	
HT-2	2	0.11	

Tabelle 3: Fusarientoxine in Körnermaisproben (n = 58) der Ernte 1997
Table 3: *Fusarium* toxins in maize grain samples (n = 58) of the 1997 crop

Toxine	Anteil positiver Proben ⁺ (%)	Mittelwert der Gehalte positiver Proben (mg/kg)	Bereich der Toxingehalte (mg/kg)
DON	66	0.14	0.05–0.58
15-ADON	17	0.09	0.05–0.19
3-ADON	0		
ZON	9	0.04	0.02–0.14
NIV	0		
MON	14	0.24	0.07–0.39
FB ₁	5	0.41	0.06–1.03
FB ₂	2	0.26	
T-2	0		
HT-2	0		

Tabelle 4: Fusariantoxine in Körnermaisproben (n = 48) der Ernte 1998
 Table 4: *Fusarium* toxins in maize grain samples (n = 48) of the 1998 crop

Toxine	Anteil positiver Proben * (%)	Mittelwert der Gehalte positiver Proben (mg/kg)	Bereich der Toxingehalte (mg/kg)
DON	75	0.38	0.05–1.36
15-ADON	56	0.21	0.06–0.83
3-ADON	0		
ZON	44	0.06	0.01–0.34
NIV	8	0.08	0.06–0.11
MON	17	0.28	0.07–0.80
FB ₁	10	0.87	0.26–1.75
FB ₂	3	0.32	0.25–0.39
T-2	3	0.14	0.13–0.15
HT-2	3	0.10	0.08–0.12

* Nachweisgrenzen: 0,01 mg/kg (ZON)
 0,05 mg/kg (DON, 15-ADON, 3-ADON, NIV,
 HT-2, MON, FB₁)
 0,1 mg/kg (T-2, FB₂)

nen gefunden werden. Welche Fusarienart für die Kontamination verantwortlich war, konnte anhand der mykologischen Untersuchung nicht abgeklärt werden. In Frage kommen sowohl *F. sporotrichioides* als auch *F. equiseti*, die als T-2- und HT-2-Bildner bekannt sind und an den betreffenden Standorten nachgewiesen werden konnten. Atypische *F. poae*-Stämme, die in morphologischer Hinsicht *F. poae*, in chemotaxonomischer und genetischer Hinsicht aber eher *F. sporotrichioides* entsprechen, und die sich nach eigenen, noch unveröffentlichten Untersuchungen als wichtige Produzenten von T-2 und HT-2 bei heimischem Hafer herausstellten, konnten auf den Maiskolben nicht nachgewiesen werden.

Das Vorkommen von *F. subglutinans* blieb von den unterschiedlichen klimatischen Bedingungen weitgehend unbeeinflusst. Ein Befall der Maiskolben mit *F. subglutinans* und auch mit den anderen Vertretern der Sektion *Liseola*, wie *F. proliferatum* und *F. verticillioides* wird in Österreich stark durch Fraßschäden der Maiszünslerlarve begünstigt, während das Auftreten von *F. graminearum* von der Maiszüns-

lerlarve nicht wesentlich beeinflusst wird (LEW et al., 1991). Da *F. graminearum*, wie oben erwähnt, der bedeutendste DON- und ZON-Bildner ist, die Fusarien der *Liseola*-Sektion hingegen MON und/bzw. Fumonisine bilden, unterscheiden sich Maisproben aus Feldern mit unterschiedlichem Zünslerbefall auch beträchtlich in ihrem Toxingehalt (Tabelle 5).

Moniliformin, Fumonisine, aber auch das hier nicht untersuchte Fusariantoxin Beauvericin (KRSKA et al., 1997) sind demnach überwiegend in zünslerbefallenen Maiskolben vorzufinden. Mit einer Maiszünslerbekämpfung, sei sie biologisch, chemisch oder mit pflanzenbaulichen Methoden, kann man daher den Gehalt an diesen Toxinen in Maiskornchargen wesentlich reduzieren, wobei allerdings der DON- und ZON-Gehalt kaum beeinflusst wird.

Während bei einer vergleichbaren Untersuchung in den Jahren 1988/89 *F. proliferatum* in Österreich noch nicht nachgewiesen werden konnte (LEW et al., 1991), etablierte sich diese Fusarienart in der vorliegenden Untersuchung im Alpenvorland und in den Trockengebieten als wesentlicher Toxinbildner. Vor allem in der überdurchschnittlich warmen Vegetationsperiode 1998 waren die Bedingungen für die Entwicklung von *F. proliferatum* aber auch von *F. verticillioides* besonders günstig. Vereinzelt konnten in den Maisproben der Ernte 1998 toxikologisch relevante Fumonisine festgestellt werden (Tabelle 4), die über einem in der Schweiz bereits existierenden Grenzwert von 1 mg Fumonisine/kg Mais lagen.

Diese Ergebnisse untermauern die Annahme, dass es im Zusammenhang mit geänderten Klimabedingungen in den letzten Jahren zu einer Verschiebung im Artenspektrum kommt und wärmeliebende Fusarienarten wie *F. proliferatum* an Bedeutung gewinnen. Um eine Verschärfung der Fumonisinproblematik zu vermeiden, muss die Maiszünslerbekämpfung intensiviert werden. Dabei sollte vor allem nach der Ernte des Mais der Ackerhygiene große Beachtung geschenkt und für eine gründliche Einarbeitung der Pflanzenreste gesorgt werden.

Tabelle 5: Einfluss von Zünslerbefall auf den Fusariantoxingehalt von Körnermaisproben
 Table 5: Effect of corn borer damage on the *Fusarium* toxin content of maize grain samples

Proben von Versuchsflächen	n	Anteil DON-positiver Proben (%)	Median DON-positiver Proben (mg/kg)	Anteil MON-positiver Proben (%)	Median MON-positiver Proben (mg/kg)	Anteil FB ₁ -positiver Proben (%)	Median FB ₁ -positiver Proben (mg/kg)
mit starkem ¹ Zünslerbefall	38	74	0,12	42	0,18	16	0,25
mit schwachem ² Zünslerbefall	44	77	0,11	0	–	2	0,09

¹ = mehr als 5 % der Kolben wiesen Fusarienbefall in Verbindung mit Zünslerschäden auf

² = weniger als 3 % der Kolben wiesen Fusarienbefall in Verbindung mit Zünslerschäden auf

Literatur

- ADLER, A., H. LEW und W. EDINGER (1990): Vorkommen und Toxigenität von Fusarien auf Getreide und Mais. Die Bodenkultur 41 (2), 145–152.
- ADLER, A. und H. LEW (1996): Das Toxinbildungsvermögen heimischer Getreidefusarien. Forschungsbericht 1995 des Bundesministeriums für Land- und Forstwirtschaft, Wien, 37–38.
- BIEDERMANN, R. (1985): Erfassung der Auswirkungen von sowohl Pilzkrankungen (Fusarienerkrankungen) als auch der Bildung der Mykotoxine Vomitoxin und Zearalenon auf Getreide, Mais und Futtermitteln sowie Bestimmung der Einflussfaktoren, die Pilzwachstum und Toxinbildung fördern. Forschungsbericht, Institut für Umweltforschung in der Forschungsgesellschaft Joanneum, Graz.
- BRODACZ, W. (1996a): Trennungsoptimierung in der Kapillar-GC, 1. Teil: Temperaturprogramm und GC-Simulation. Labor Praxis, Februarheft, 48–52.
- BRODACZ, W. (1996b): Trennungsoptimierung in der Kapillar-GC, 2. Teil: GC-Simulation und Optimierungsstrategien in der Praxis. Labor Praxis, Märzheft, 46–54.
- BRODACZ, W. (1997a): Computersimulation für den Transfer von GC-Methoden, Teil 1. Labor Praxis, Februarheft, 84–91.
- BRODACZ, W. (1997b): Computersimulation für den Transfer von GC-Methoden, Teil 2. Labor Praxis, Märzheft, 46–49.
- BURGESS, L. W., C. M. LIDDELL and B. SUMMERELL (1988): Laboratory manual for *Fusarium* research. Department of Plant Pathology and Agricultural Entomology, University of Sidney.
- BURMEISTER, H. R., A. CIEGLER and R. F. VESONDER (1979): Moniliformin, a metabolite of *Fusarium moniliforme* NRRL 6322: Purification and toxicity. Appl. Environ. Microbiol. 37, 11–13.
- CEN 275/WG/5/N132 (1996): Analytical methods for fumonisins. Determination of fumonisins B1 and B2 in maize. Visconti et al.
- CHELKOWSKI, J., H. LEW and H. PETTERSSON (1994): *Fusarium poae* (Peck) Wollenw. Occurrence in maize ears, nivalenol production and mycotoxin accumulation in cobs. Mycotoxin Research 10, 116–120.
- COLE, R. J., J. W. KIRKSLEY, H. G. CUTLER, B. L. DOUPNIK and J. C. PECKHAM (1973): Toxin from *Fusarium moniliforme*. Effects on plants and animals. Science 179, 1324–1326.
- DIEBER, F. und J. KÖFER (1999): Mykotoxinbelastung von steirischem Mais – Abhängigkeit von Menge und zeitlicher Verteilung der Niederschläge. Ernährung/Nutrition 23, 294–301.
- ELLEND, N., J. BINDER, R. KRŠKA and E. M. HORVATH (1997): Contamination of Austrian corn with *Fusarium* toxins in autumn 1996. Cereal Research Communications 25, 359–360.
- HARRISON, L. R., B. M. COLVIN, J. T. GREENE, L. E. NEWMAN and J. R. COLE (1990): Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. J. Vet. Diagn. Invest. 2, 217–221.
- HINTERHOLZER, J. (1988): Untersuchungen über das Auftreten von Fusarientoxinen bei Mais. Forschungsbericht. Bundesanstalt für Pflanzenbau, Wien.
- KELLERMAN, T. S., W. F. O. MARASAS, P. G. THIEL, W. C. A. GELDERBLOM, M. E. CAWOOD and J. A. W. COETZER (1990): Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B1. Onderstepoort J. Vet. Res. 57, 269–275.
- KRŠKA, R., R. SCHUHMACHER, M. GRASSERBAUER, M. LEMMENS, R. LEMMENS-GRUBER, A. ADLER and H. LEW (1997): Effects of beauvericin to mammalian tissue and its production by Austrian isolates of *Fusarium proliferatum* and *Fusarium subglutinans*. Mycotoxin Research 13, 11–16.
- LENGAUER, E., H. LEW und J. WIMMER (1978): Zearalenonbildung bei Körnermais auf dem Feld. Getreide, Mehl und Brot 32, 55–58.
- LEW, H. (1995): Mykotoxinbelastung von Getreide und Konsequenzen für seine Verarbeitung. Getreide, Mehl und Brot 49, 16–19.
- LEW, H. (1999): Empfohlenes Richtwerteschema für Desoxynivalenol (Vomitoxin) und Zearalenon im Futter. Der Förderdienst 47, 157.
- LEW, H. und A. ADLER (1997): Fusariumbefall – der größte Schaden entsteht im Stall. Mais 25, 71–73.
- LEW, H., E. MÜLLNER, R. HAGER und M. GREGOR (1979): Fütterungsprobleme bei Mastschweinen verursacht durch fusarientoxinhaltigen Mais. Die Bodenkultur 30, 309–316.
- LEW, H., A. ADLER und W. EDINGER (1991): Moniliformin and the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*). Mycotoxin Research 7A, 71–76.
- LEW, H., A. ADLER und W. EDINGER (1997a): Dynamics of the *Fusarium* toxin distribution in maize plants affected by stalk rot. Cereal Research Communications 25, 3/1, 467–470.

- LEW, H., A. ADLER, W. BRODACZ und W. EDINGER (1997b): Zum Vorkommen von Nivalenol in Getreide und Mais. Proceedings, 19. Mykotoxin-Workshop, München, 6–9.
- MARASAS, W. F. O. (1996): Fumonisin: History, worldwide occurrence and impact. In: L. S. JACKSON, J. W. DeVRIES and L. B. BUTTERMAN (Ed.): Fumonisin in food. Plenum Press, New York, 1–17.
- MIROCHA, C. J., H. K. ABBAS, C. E. WINDELS and W. XIE (1989): Variation in deoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, and zearalenone production by *Fusarium graminearum* isolates. Appl. Environ. Microbiol. 55, 1315–1316.
- NIRENBERG, H. (1976): Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstw. Berlin-Dahlem 169, 1–117.
- NIRENBERG, H. I. and K. O'DONNELL (1998): New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia 90, 434–458.
- PETTERSSON, H. (1991): Nivalenol production by *Fusarium poae*. Mycotoxin Research 7 A, 26–30.
- SCHUHMACHER, R., R. KRŠKA, M. GRASSERBAUER, W. EDINGER and H. LEW (1998): Immuno-affinity columns versus conventional clean-up: a method-comparison study for the determination of zearalenone in corn. Fresenius J. Anal. Chem. 360, 241–245.
- SCOTT, P. M., S. R. KANHERE and E. J. TARTER (1986): Determination of nivalenol and deoxynivalenol in cereals by electron-capture gas chromatography. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 69, 889–893.
- SCOTT, P. M. and G. A. LAWRENCE (1987): Liquid chromatographic determination and stability of the *Fusarium* mycotoxin moniliformin in cereal grains. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 70, 850–853.
- TURNER, J. A. and P. JENNINGS (1997): Effect of humidity on disease development and yield loss caused by *Fusarium* species. In: D. R. JONES, P. JENKINSON, J. A. TURNER, P. JENNINGS and P. GLADDERS (Eds.): Epidemiology and control of *Fusarium* ear blight. H-GCA Project Report, No 143, Home-Grown Cereals Authority, Hamlyn House, Highgate Hill, London.

Anschrift der Verfasser

Dr. Hans Lew, Dipl.-Ing. Dr. Andreas Adler, Ing. Walter Edinger, Dipl.-HTL-Ing. Wolfgang Brodacz, Ing. Elisabeth Kiendler, Bundesamt für Agrarbiologie, Wieningerstraße 8, A-4021 Linz; e-mail: lew@agrobio.bmlf.gv.at
 Dipl.-Ing. Josef Hinterholzer, Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Spargelfeldstraße 191, A-1226 Wien.

Eingelangt am 20. Juli 2000
 Angenommen am 4. Februar 2001