

INTERUNIVERSITÄRES FORSCHUNGSINSTITUT FÜR
AGRARBIOTECHNOLOGIE TULLN

ENDBERICHT über das Forschungsprojekt

TEIL I

KOLBENFUSARIOSE BEI MAIS:
RESISTENZUNTERSUCHUNGEN UND MYCOTOXINKONTAMINATION UNTER
ÖSTERREICHISCHEN ANBAUBEDINGUNGEN

Forschungsprojekt Nr. 1153
GZ 24.002/06-IIA1a/99

Im Auftrag des
BUNDESMINISTERIUMS FÜR LAND- UND FORSTWIRTSCHAFT
UMWELT UND WASSERWIRTSCHAFT

O. Univ.-Prof. DI. Dr. Peter RUCKENBAUER, IFA Tulln
DI. Dr. M. LEMMENS, IFA Tulln
AO. Univ.Prof. DI. Dr. R. KRŠKA, IFA Tulln
DI. J. PLIENEGGER, IFA Tulln

HR. DI. J. HINTERHOLZER, BFL Wien
Dr. H. LEW, BA für Agrarbiologie Linz
DI. Dr. K. MAYER, LANDESKAMMER für LuF STMK

SYNGENTA SEEDS GMBH
PIONEER SAATEN GMBH
RAGT SAATEN ÖSTERREICH GMBH
SAATBAU LINZ reg.Gen.mbH
RAIFFEISEN WARE AUSTRIA AG

Tulln, Februar 2002

INHALTSVERZEICHNIS

TEIL I

Problemstellung, Ziele und experimenteller Ansatz	5
EINLEITUNG	6
A. Fusarien und deren Toxine	6
B. Symptome, Infektionsvorgang und Resistenzmechanismen	7
C. Natürliche Infektion versus künstliche Inokulation	8
D. Beziehung zwischen Befall und Toxingehalt	9
E. Resistenzfaktoren	9
MATERIAL UND METHODEN	10
A. Hybridensortiment	10
B. Standorte und Versuchsanlage	11
C. Infektiöses Material	12
D. Inokulationsmethoden	12
E. Zeitpunkte der Befallserhebung	13
F. Bonitursystem und Krankheitsparameter	13
F1.) Bonitursystem (Prüfkonzept)	13
a) Getrennte Erfassung nach visuellem Schädigungsgrad	13
b) Registrierung des Zünslerbefalls am Kolben	14
c) Verwendung einer linearen Boniturskala	14
F2.) Feldparameter	15
F3.) Proben für zusätzliche Parameter	15
F4.) Toxinanalysen	15
F5.) Andere Krankheitsparameter (Laborparameter)	15
a) Keimfähigkeit	15
b) Ergosteringehalt	16
F6.) Resistenzmechanismen	16
a) Einfluß morphologischer und physiologischer Faktoren	16
b) Boniturmerkmale	17
c) Pollen als Nährstoffquelle für pilzliches Wachstum	20

ERGEBNISSE UND DISKUSSION	21
I. ZWEIJÄHRIGE BONITURDATEN UND FELDRÉSISTENZ	21
A. NATÜRLICHE Infektion	21
A 1.) Einführende Bemerkungen zu den Rohdaten	21
A 2.) Zünslerbefall	23
A 3.) MITTELFRÜHE Hybriden	25
a) %KK	25
b) %KFKK	31
c) %KFAK	38
A 4.) SPÄTE Hybriden	45
a) %KK	45
b) %KFKK	49
c) %KFAK	54
A 5.) Parameter und Reifegruppen	59
a) %KK	59
b) %KFKK	60
c) %KFAK	61
B. KÜNSTLICHE Infektionsauslösung	62
B 1.) Grundsätzliche Bemerkungen	62
B 2.) Seidenresistenz Typ 1	64
B 3.) Seidenresistenz Typ 2	69
B 4.) Kornresistenz	71
B 5.) Resistenzkombinationen in den Genotypen	73
a) Natürliche Infektionsbedingungen	73
b) Künstliche Infektion	75
B 6.) Künstliche Inokulation versus Natürliche Infektion	76
a) Variante zur Testung der Seidenresistenz Typ 1 (PKK als Parameter)	77
b) Variante zur Testung der Seidenresistenz Typ 2 (PKFKK als Parameter)	77
c) Variante zur Testung der Kornresistenz nach Beschädigung (PKFKK)	77
d) Eindringungsresistenz als Maß für die Verpilzung des Erntegutes	77
TEIL II	
II. TOXINANALYSEN	78
A. Grundlegende Bemerkungen	78
a) DON-Analysen am Erntegut beider Versuchsjahre	78
b) ZON-Analysen am Erntegut beider Versuchsjahre	79
c) Aufbereitung der N.N.-Analysenwerte	80

B. Auswertung der Analysendaten	82
a) Reifegruppe MITTELFRÜH	82
b) Reifegruppe SPÄT	87
III. Beziehung der FELDBONITURDATEN mit dem TOXINGEHALT	87
A. Bei Verhältnissen NATÜRLICHER Infektion	93
B. Bei Verhältnissen KÜNSTLICHER Infektion	98
IV. ERGOSTERINGEHALT als KRANKHEITSPARAMETER	105
V. TOXIZITÄTSSTUDIE von DON bei MAIS	111
VI. POLLENSTUDIE	113
VII. SEIDENSCHNITTE	116
VIII. KEIMFÄHIGKEIT	120
IX. LEITFÄHIGKEIT	123
X. KORNDICHTE, HEKTOLITERGEWICHT, TKG	128
XI. AGRONOMISCHE und MORPHOLOGISCHE MERKMALE	130
XII. BENEDELUNGSVERSUCH	132
XIII. NAH-ISOGENE LINIEN	138
ZUSAMMENFASSUNG	147
SUMMARY	148
LITERATURHINWEISE	149

GRUNDLEGENDE ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN DER KOLBENFUSARIOSE BEI MAIS UNTER ÖSTERREICHISCHEN ANBAUBEDINGUNGEN (Zusammenfassung)

Die Zielsetzung des Projekts umfaßte drei Themenbereiche:

- a) Entwicklung eines für alle Projektteilhaber nutzbaren **Bonitursystems** zur Erfassung der Kolbenfusarioseresistenz.
- b) Beziehung zwischen **Feldboniturdaten** und der **Toxinkontamination**.
- c) Untersuchungen über den Einfluß **biochemischer, physiologischer und morphologischer** Eigenschaften auf die Kolbenfusarioseresistenz.

Das Datenmaterial basiert auf zwei jeweils 9 Hybriden umfassende, nach Reifegruppen

sortierte Versuchsgruppen, sodaß die Ergebnisse auf mehr als 80 % des österreichischen Anbaugesbietes übertragen werden können. Der statistischen Absicherung der für beide Gruppen ermittelten Werte diente ein über jeweils 4 Standorte und 2 Versuchsjahre angelegtes Versuchsnetz.

Die Basis für die Erarbeitung eines **Bonitursystems** war eine möglichst breit gefächerte,

lineare Skala zur Erhebung der Felddaten. Dieser lagen Kolben mit durchschnittlich 500 Körnern zugrunde, sodaß 1 verpilztes Korn 0,2 Prozentpunkte Befallsbonitur entspricht. Der große Vorteil dieses Systems liegt nun einerseits in der hohen Boniturtagesleistung und, was noch wesentlicher ins Gewicht fällt, in der Reduzierung des Einflußfaktors „Mensch“, da von ihm vor Ort keine Bewertung abverlangt wird. Abhängig vom durchschnittlichen **Befallsdruck** des jeweiligen Jahres wird nachträglich eine Gewichtung (Klassifizierung) der Daten vorgenommen.

Aufgrund dieser Untersuchungen ist es in der Praxis nicht erforderlich, Bereiche mit Myzelschleier getrennt vom schweren Befall (Kornveränderungen) zu erfassen. Über alle Umwelten hinweg zeigt der **Gesamtbefallswert** die engste Beziehung zur Toxinbelastung.

Während unter **natürlichen** Infektionsbedingungen bei „Musreife“ im Durchschnitt aller geprüfter Genotypen der Prozentsatz verpilzter Kolben für die Beurteilung der möglichen Toxinkontamination (DON=Vomitoxin, ZON=Zearalenon) der wichtigste Feldparameter ist, liegt das Ansteigen des Risikos weitestgehend in der schnellen Vergrößerung der Verpilzungsfläche schon zur Musreife erkrankter Kolben. Den Landwirt interessiert primär der aus der multiplikativen Verknüpfung obiger Einzelparameter abgeleitete **Anteil verpilzter Körner im Erntegut**. Im Zusammenhang mit der Toxinkontamination zeigten die DON-Werte geringere Variation zwischen Wiederholungen und waren mit den Verpilzungsboniturwerten enger korreliert als jene von ZON, besonders ausgeprägt in der späten Reifegruppe. In Summe gesehen reichen die diesbezüglichen Korrelationen aber bei weitem nicht aus, um von den Befallswerten die Toxinkontamination abzuleiten ($r = 0,400$). Nur durch den Einsatz von Methoden **künstlicher** Infektionsauslösung kann die Beziehung auf ein aussagefähiges Niveau gehoben werden ($r = 0,804$). Die künstliche Infektion eröffnet einen rationalen Weg zur Schätzung des Resistenzniveaus einzelner Hybriden. Die hier angesprochene Methode mißt die sogenannte **EINDRINGUNGSRESISTENZ** und stellt einen sehr „naturnahen“ Bezug her. Möchte man aber das Toxinrisiko nach schweren

Hagelschäden einschätzen, müßten die Sorten zusätzlich auf KORNRESISTENZ geprüft werden.

Das in unserem Projekt untersuchte Spektrum an **Genotypen** deckte einen weiten Resistenz-

bereich ab. Ausgeprägte Wechselwirkungen machen die **Sortenwahl** im Hinblick auf **Nutzungsrichtung** (Erntezeitpunkt) und **Standortangepaßtheit** zu einem entscheidenden Kriterium der Senkung des Verpilzungsrisikos.

Verstärkte Ausbildung von Nebenkolben scheint auf den Verpilzungsgrad und die Toxinkontamination des Hauptkolbens einen markanten Einfluß auszuüben. Unvollständig ausgebildete Zweitkolben bilden ebenfalls einen Risikofaktor für erhöhte Toxin-kontamination. Das Verpilzungsausmaß wird unabhängig vom Zeitpunkt der Infektion von der Herbstwitterung entscheidend beeinflusst. Hohe Luftfeuchtigkeit (Nebel) während der Abreifephase bedeutet erhöhtes Verpilzungsrisiko.

FUNDAMENTAL RESULTS OF INVESTIGATIONS ON EAR ROT IN MAIZE UNDER AUSTRIAN GROWING CONDITIONS (Summary)

The project had to meet three objectives:

- a) Development of a universally usable **system of data recording**, regarding resistance to ear rot in corn.
- b) Interrelation of field data and toxin contamination
- c) Investigations on the effect of **biochemical, physiological and morphological** traits on the resistance to ear rot.

The data were based on two sets of 9 hybrids each, representing the main maturity groups

(FAO 270 – 310 and 330 – 400). Subsequently the investigations were covering approximately 80 % of the Austrian Maize crop. For getting statistically reliable data each maturity group have been tested on 4 locations over a two-years' period.

The basis for a widely adapted **ear rot rating system** was a detailed linear scale for taking the field data. For the average ear size 500 kernels were taken as the unit, subsequently one diseased kernel representing 0,2 %.

The big advantages of this system can be seen in 1) that there is a high capacity in taking records and 2) at time of scoring the staff is not confronted with assessing the value of the records. In a second step the field data are evaluated on the basis of the average ear rot level of the respective year.

One of the consequences of the investigations are that there is no actual need for splitting the ratings of atypical and typical (heavy) diseased kernels: Overall rating of diseased kernels gives the closest correlation with toxin contamination.

Under natural conditions of infection and harvesting the crop for grain silage or CCM (at kernel moisture of 33 to 38 %) the **percentage of diseased ears** gives the best measure for the toxin contamination (Deoxynivalenol, Zearalenon). Later in the season the risk is basically resulting from the **diseased area of the ears**. From the farmer's point of view the **percentage of diseased kernels** in his Maize crop is of primary interest. This parameter is the multiplicative product of the percentage of ears diseased and the area infected.

As far as the risk of **toxin contamination** is concerned on the average the DON-data showed

the more homogeneous variation over replications and closer relation to field data than ZON, most expressed in the later maturing set of hybrids. Nevertheless, under **natural infection conditions** the field data are not correlated closely enough with the toxin contamination to be of practical value ($r = 0,400$). Only the use of **artificial inoculation techniques** can make sure that field ratings can be used reasonably for predicting the toxin contamination ($r = 0,804$) and subsequently, being a powerful tool for assessing the resistance level of hybrids. The method of artificial inoculation in discussion above gives a measure of the **silk resistance**, which covers well most natural infection conditions. To get informations on the risks of toxin contamination of

hybrids after mechanical damage, e.g. a severe hail storm, artificial inoculation techniques measuring specifically **kernel resistance** must be employed.

In general, the hybrids under investigation reflected a wide range of the level of silk and kernel resistance, respectively.

Pronounced interactions makes the **choice of the hybrid** regarding the final **use of the product** (and consequently the time of harvest) and **adaptation to local growing conditions** to be an important criteria for reducing risks.

An expressed development of finger ears increases the rate of diseased kernels and the toxin contamination. A higher rate of incompletely developed second ears also seem to contribute to higher toxin contamination. Humid conditions during the fall saison (fog) have a strong impact on the development of ear rotting fungi, independently of the time infection had been established.

Problemstellung, Ziele und experimenteller Ansatz

Die heimische Landwirtschaft hat in manchen Jahren bei Mais massive Probleme mit Kolbenfusariose. Verschiedene *Fusarium spp.* können die Kolben befallen, wobei Pilzgifte produziert werden, die für Mensch und Tier schädlich sind. Die wichtigsten Fusarientoxine bei Mais in Österreich sind Desoxynivalenol (Vomitoxin), Zearalenon, Moniliformin und auch Beauvericin. Da in der Praxis an eine chemische Bekämpfung dieser Krankheit nicht zu denken ist und pflanzenbauliche Maßnahmen nur bedingt zu einem Rückgang der Krankheit führen, bietet sich für eine effiziente Kontrolle der Anbau resistenter Hybriden an.

Aus der Praxis ist bekannt, daß im Sortensortiment der in Österreich zugelassenen Maishybriden eine beträchtliche Variabilität an Kolbenfusarioseresistenz vorhanden ist. Immer wieder erleben nicht nur die Bauern, sondern auch die offiziellen Berater Überraschungen mit neuen leistungsfähigen, aber für Kolbenfusariose sehr empfindliche Hybriden. Auch die Saatzuchtindustrie kann es sich nicht mehr erlauben, stark anfällige Sorten auf den Markt zu bringen. Die Nachfrage für ein allgemein anerkanntes Prüfsystem für Kolbenfusarioseresistenz wird immer dringlicher.

Das **erste Ziel** dieses Projektes ist die Erarbeitung solch ein Prüfkzeptes. Es würde in der Züchtung und Qualitätssicherung (Saatzuchtindustrie), aber auch bei der Sortenzulassung, Sortenberatung und Forschung Anwendung finden. Gleichzeitig wird aber auch erwartet, daß eine Resistenzsteigerung mit einer geringeren Mykotoxinkontamination im Erntegut einhergeht.

Der Zusammenhang zwischen Kolbenfusarioseresistenz und Toxingehalt ist noch weitgehend ungeklärt und wird ebenfalls im Rahmen dieses Projektes erforscht (**zweites Ziel**). Es wird nach Krankheitsparametern (wie z.B. Prozentanteil erkrankter Körner im Erntegut...), die gut mit dem Toxingehalt korrelieren, gesucht.

Bei der **dritten Zielsetzung** wird der Einfluß morphologischer (z.B. lange oder kurze Lieschen), physiologischer (z.B. früh- oder spätreif) und biochemischer (z.B. Toxintoleranz des Mais) Faktoren auf Kolbenfusarioseresistenz untersucht.

Um diese Ziele zu erreichen, wird ein Sortiment von 18 Hybriden (10 Hybriden werden von den Saatzuchtfirmen zur Verfügung gestellt), an 7 verschiedenen Standorten in Österreich über zwei Saisonen angebaut, und der Befall der Kolben untersucht. An einem Standort werden künstliche Inokulationen durchgeführt. Es werden mehrere Resistenzfaktoren und Krankheitsparameter untersucht. Die Daten, erhoben nach natürlicher Infektion, werden mit Daten, bestimmt nach künstlicher Inokulation, verglichen. In einem zweiten Schritt wird im Erntegut eine Reihe zusätzlicher Befallparameter gemessen (z.B. Korndichte, Ergosteringehalt...) und mit dem Toxingehalt korreliert. Um das dritte Ziel zu erreichen, werden Hybriden unterschiedlicher Resistenz genauer unter die Lupe genommen und ihr Resistenzverhalten miteinander verglichen. Es wird untersucht, ob markante Unterschiede im Bereich Seidenresistenz und/oder Kornresistenz vorliegen und worauf diese zurückzuführen sind.

Einleitung

A. Fusarien und deren Toxine

Der Befall landwirtschaftlicher Produkte mit toxinbildenden Pilzen ist ein Problem, mit dem die Landwirtschaft weltweit zu kämpfen hat. Auch die heimische Landwirtschaft hat in manchen Jahren Probleme mit von der Gattung *Fusarium* produzierten Mykotoxinen (Lew, 1993). Untersuchungen über Vorkommen und Toxigenität von Fusarien bei Weizen in Österreich liegen vor. Aus Mais wurden 12 *Fusarium spp.* isoliert (Adler, 1993). Als Haupterreger der Kolbenfusariose bei Mais in Österreich sind *F. graminearum* und *F. subglutinans* zu nennen. Zusätzlich vorkommende Arten sind *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. tricinctum*, *F. cerealis*, *F. equiseti*, *F. verticilloides*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides* und *F. proliferatum* (Adler, 1993). *F. graminearum* wird am häufigsten gefunden. Nach Maiszünslerschäden wird vor allem *F. sacchari var. subglutinans* auf den Kolben angetroffen. Obwohl die anderen Fusarienarten eine untergeordnete Rolle spielen, können von Jahr zu Jahr immer wieder Verschiebungen im Fusariumspektrum auftreten: so wurde 1998 ein verstärktes Vorkommen von *F. avenaceum* beobachtet (Lew, pers. Mitt.).

Fusarium-Pilze können Schäden an allen Pflanzenorganen (Kolben, Stengel, Blatt) hervorrufen, aber vor allem der Befall der Kolben wird als gravierend betrachtet. Kolbenfusariose kann empfindliche Schäden verursachen. Einerseits kommt es wegen schlechter Kornausbildung zu Ertragsausfällen, andererseits zu massiven Beeinträchtigungen der Qualität: 1) durch die Pilzinfektion des Kornes kommt es zu einer Schwächung der Keimfähigkeit des Saatgutes (Zwatz, 1987), und 2) das gravierendste Problem ist die Kontamination von Nahrungs- und Futtermitteln mit Mykotoxinen.

Die wichtigsten Fusarientoxine bei Mais in Österreich sind 1) Desoxynivalenol (DON), 2) Zearalenon (ZON) und 3) Moniliformin (MON), wobei in der Regel zumeist alle drei - wenn auch in unterschiedlichen Konzentrationen - zusammen auftreten (Lew, 1993). Kürzlich wurde in Österreich 4) Beauvericin (BEA), ein neu entdecktes Toxin, in Mais nachgewiesen (Krska u.M., 1997). Stärker toxische Fusarienmetabolite wie T-2 Toxin, sowie die krebsfördernden Fumonisine werden von Fusarienarten gebildet, die in Österreich eine geringere Rolle spielen (für eine detaillierte Übersicht siehe Lew, 1993).

1. Die für *F. graminearum* charakteristischen Mykotoxine in Mais gehören zur Gruppe der B-Trichothecene, wobei DON (Vomitoxin) am häufigsten vorkommt (Kurata und Ueno, 1984; Marasas u.M., 1984). Die Trichothecene können als die wirksamsten derzeit bekannten Hemmstoffe der Proteinsynthese angesehen werden. Verschiedene Arbeiten berichten über die Wirkungen von DON. Kontaminiertes Futter führte bei Haustieren zu Futterverweigerung, vermindertem Wachstum und Organerkrankungen (Trenholm u.M., 1981; Friend und Trenholm, 1988). Krankheitserscheinungen infolge Aufnahme von DON und seiner Metabolite mit der Nahrung können auch beim Menschen auftreten. Neben akuten Symptomen einer Vergiftung (Hautirritationen, Appetitlosigkeit, Erbrechen, Durchfall, Blutungen, neurale Störungen, Fehlgeburt und Tod) führt chronische Aufnahme kleiner Mengen Trichothecene zu erhöhter Anfälligkeit gegenüber Infektionskrankheiten infolge Unterdrückung des Immunsystems (Joffe, 1986; Kuiper-Goodman, 1985; Miller und Atkinson, 1987).
2. *F. graminearum* bildet auch ein östrogenartig wirkendes Toxin, das Zearalenon. Dieses Toxin wurde vor allem durch seine östrogene Wirkung bei Haustieren bekannt. *In vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen zeigten eine große Affinität des Toxins zum Östrogenrezeptor (Tashiro u.M., 1979). Da ZON durch dasselbe Enzym wie die Östrogensteroiden abgebaut

wird, kann es zu Störungen im Abbau der Steroide durch Substratverdrängung kommen. Im Stoffwechsel entsteht durch Reduktion Zearalenol. Dieses ist wesentlich wirksamer als die Stammsubstanz. ZON führt bei Schweinen zu einer Vulvovaginitis und überhaupt bei Säugetieren zu Störungen der Sexualfunktion (Lindner, 1990). Nach kanadischen Untersuchungen ist ZON auch leicht kanzerogen (Kuiper-Goodman, 1985).

3. Auf Mais wurden *F. subglutinans* und *F. avenaceum* ebenfalls häufig nachgewiesen (Adler, 1993). Diese Fusarienarten produzieren Moniliformin (MON). Von MON, welches neben dem Vomitoxin das in Österreich am häufigsten vorkommende Fusarientoxin sein dürfte (Lew, 1993), existieren kaum toxikologische Daten. Es besitzt eine sehr niedrige LD₅₀ (4 bis 5 mg /kg bei Geflügel, Burmeister u.M., 1979) und gilt als myokardschädigend.
4. *F. subglutinans* produziert zusätzlich auch Beauvericin (BEA). BEA ist ein Mykotoxin, das erst 1997 in Österreich in Mais nachgewiesen wurde. Es ist ein Cyclodepsipeptid und wirkt wie ein Ionophor für einwertige Kationen. Über BEA existieren ebenfalls kaum toxikologische Daten. Dieses Mykotoxin reduzierte konzentrationsabhängig die Kontraktionskraft an terminalen Ilea von Meerschweinchen (Krska u.M., 1997).

Der direkte Nachweis der oben beschriebenen Pilzgifte in natürlich kontaminierten österreichischen Maisproben wurde ausführlich dokumentiert (siehe Lew, 1993; Krska u.M., 1997). Gegenwärtig gibt es in Österreich für DON und ZON nur Richtwerte, allerdings keine gesetzlichen Regelungen für den maximal zulässigen Gehalt dieser Toxine in Getreide, das der menschlichen Ernährung dient (500-750 ppb für DON und 60 ppb für ZON). Auch in der EU wird der Mykotoxingehalt des Getreides zunehmend als wichtiges Qualitätskriterium herangezogen und eine europaweite gesetzliche Regelung angestrebt (Van Egmond, 1994).

B. Symptome, Infektionsvorgang und Resistenzmechanismen

Befallene Kolben zeigen an einzelnen Körnern, einzelnen Kolbenabschnitten oder im Extremfall am gesamten Kolben einen weißlichen, grauen bis rötlichen Schimmelbelag. Die Infektion startet meistens an der Kolbenspitze. Auch die Kolbenspindel und der Kolbenansatz können betroffen sein. Nach einer Frühinfektion (z.B. bei feuchter Witterung zur Milchreife) können die betroffenen Körner stark vom Pilz durchwachsen werden und weisen Zersetzungserscheinungen auf (in der angelsächsischen Literatur auch "symptomatic kernels" genannt). Findet die Infektion später statt, kann man zwischen den Körnern einen leichten Pilzrasen beobachten. Die Körner scheinen gesund zu sein ("asymptomatic kernels"), der Pilz ist aber im Korn angesiedelt. Im letzteren Fall ist auch die Toxinkontamination im allgemeinen im Korn viel geringer (Reid u.M., 1996a; Lew, pers. Mitt.).

Das Auftreten dieser Krankheit ist sehr stark von Umweltbedingungen abhängig. Warmes Wetter (Optimum bei 24-26°C) und anhaltende Feuchtigkeit (z.B. Regen, Taubildung) während der Blüte, sowie in frühen Stadien der Körnerentwicklung sind Schlüsselfaktoren für das Auftreten von Kolbenfusariose. Der Pilz überlebt vor allem auf Ernterückständen von Mais und Getreide (z.B. Weizen...) aus der letzten Saison. Auf diesen Rückständen sporuliert der Pilz. Es wird angenommen, daß Sporen (Askosporen und Makrokonidien) hauptsächlich mittels Wind verbreitet werden (Reid u.M., 1996b).

Das Eindringen des Pilzes in den Kolben kann wie folgt stattfinden: 1) Fusariensporen keimen auf den Seiden oder in der Nähe des Seidenkanals und das Pilzmyzel wächst durch den Seidenkanal bis in den Kornbereich, oder 2) der Pilz dringt durch Verletzungsstellen unmittelbar zum Kornbereich durch. Solche Verletzungen können durch Maiszünsler, aber auch durch Hagel- und Vogelschäden hervorgerufen werden (Reid u.M., 1996b).

Der Widerstand der Pflanze gegenüber dem ersten Eindringungsweg wird als Seidenresistenz ("Silk resistance") und die Resistenz gegenüber *Fusarium* nach Verletzung wird als Kornresistenz ("Kernel resistance") definiert. Beide Resistenzfaktoren sind nicht gekoppelt (Reid u.M., 1996b). Seidenresistenz allein reicht nicht, weil in den meisten Entwicklungsstadien der Kolben nach Verletzung der Körner Infektionen auftreten können. Auf der anderen Seite ist allein Kornresistenz nicht ausreichend, weil Infektionen durch den Seidenkanal zu starkem Befall führen können, wenn die Körner noch nicht vollständig entwickelt sind (Reid u.M., 1996b).

C. Natürliche Infektion versus künstliche Inokulation

Unter österreichischen Witterungsbedingungen treten natürliche Infektionen mit *Fusarium* unregelmäßig und nicht vorhersagbar auf. Der Infektionsdruck ist meistens auch nicht gleichmäßig über das Versuchsfeld verteilt. Durch die starke Umweltabhängigkeit dieser Krankheit können nicht nur große Jahreseffekte auftreten, sondern variierende klimatische Bedingungen innerhalb einer Inokulationsperiode können zu großen Jahr*Genotyp- und Ort*Genotyp-Interaktionen führen (Reid u.M., 1994; Reid u.M., 1995). Deshalb müssen Versuche über mehrere Jahre und Orte ausgelegt sein. Außerdem können mehrere *Fusarium*arten, jede mit ihrem eigenen Mykotoxinspektrum, auftreten (z.B. *F. subglutinans* nach Zünslerbefall (Lew, 1993) oder nach Hagelschäden (Lemmens u.M)). Das kann zu unerwarteten Verschiebungen des Mykotoxinspektrums und in der Folge im Mykotoxingehalt führen. Ist der Infektionsdruck gering, ist ein Mykotoxin in vielen Proben nicht nachweisbar, was zu Problemen mit der statistischen Verarbeitung der Daten führt.

Ein möglicher Ausweg könnte eine zuverlässige künstliche Inokulationsmethodik sein. Dabei ist der Infektionsdruck gesichert und gleichmäßig über das Versuchsfeld verteilt. Das *Fusarium*isolat, das man für Inokulationen verwendet, ist bekannt, und damit ist - abgesehen von zusätzlich auftretenden natürlichen Infektionen - auch das zu erwartende Mykotoxinspektrum definiert. Mittels Benebelungsanlage ist es möglich, einen für *Fusarium* wichtigen Umweltfaktor, nämlich ausreichende Feuchtigkeit, in den Griff zu bekommen. Diese Inokulationsverfahren sind aber alle sehr arbeitsaufwendig.

In der Literatur werden mehrere Inokulationsmethoden mit oder ohne Verletzung der Kolben beschrieben (Drepper und Renfro, 1990; Schaafsma u.M., 1993; Snijders, 1994; Chungu u.M. 1996; Reid u.M., 1996b). Die Verwendung eines mit *Fusarium*pilz überwachsenen Zahnstochers, der in die Mitte der Kolben hineingedrückt wird, ist weit verbreitet. Reid u.M. (1996b) untersuchten sowohl Seiden- als auch Körnerresistenz. Auf den Infektionserfolg üben neben den Eigenschaften des Inokulums und dem Entwicklungsstadium des Maises auch die Umweltbedingungen großen Einfluß aus (Mesterhazy, 1978; Reid u.M., 1996b). Daher werden für die Inokulationsversuche mehrere *Fusarium*-Inokula mit unterschiedlicher Aggressivität verwendet. Diese Strategie bietet eine Absicherung gegen (unvorhersehbare) große Schwankungen im wirksamwerdenden Infektionsdruck, hervorgerufen durch Umweltbedingungen. Bei Mais wurde keine fusarienartsspezifische Kolbenfusarioseresistenz gefunden (Gendloff u.M. 1986).

D. Beziehung zwischen Befall und Toxingehalt

Reid u.M. (1996a) beschreiben eine positive Relation zwischen Deoxynivalenolgehalt und Fusariumbefall (r variierte von 0,89 bis 0,98). Die Daten wurden nach künstlicher Inokulation erhoben, wobei das Inokulum in den Seidenkanal injiziert wurde. Aus diesen Ergebnissen wird geschlossen, daß für eine Vorselektion auf einen geringen DON-Gehalt das Ausmaß des Fusariumbefalls herangezogen werden kann (Reid u.M., 1996a; Schaafsma u.M. (1993) Zwischen Daten für den DON- und ZON-Gehalt in den gleichen Maisproben nach künstlicher Inokulation mit *Fusarium graminearum* wurde ein Korrelationskoeffizient von 0,73 gefunden (Hamilton u.M., 1988). Der r -Wert zwischen DON- und Ergosteringehalt war 0,57. Über Moniliformin und Beauvericin liegen in dieser Hinsicht keine Informationen vor.

E. Resistenzfaktoren

Obwohl weltweit die dritt wichtigste Kulturpflanze, sind veröffentlichte Informationen über Resistenzmechanismen gegenüber Kolbenfusariose bei Mais spärlich.

Morphologische und physiologische Faktoren spielen eine Rolle bei der Kolbenfusarioseresistenz. Fest verschlossene Lieschen reduzieren die Inokulummenge, die passiv bis in den Kornbereich der Kolben durchdringen kann (Gulya u.M., 1980). Solche Lieschenblätter bilden auch eine Barriere gegen das Eindringen von Trips und reduzieren damit zusammenhängende Fusariuminfektionen (Farrar und Davis, 1991; Warfield und Davis, 1996). Andererseits trocknen Hybriden, bei denen sich die Lieschenblätter vom Kolben lösen, schneller ab als Sorten, bei denen die Lieschenblätter eng am Kolben haften bleiben. Die Bestimmung der Dicke des Perikarps der Körner zeigte, daß bei empfindlichen Hybriden dieser Teil der Samen dünner war als bei resistenteren (Hoenisch und Davis, 1994; Nankam und Pataky, 1996). Das Vorkommen von Infektionen war geringer bei Genotypen, bei denen die Narbenfäden nach Bestäubung mehrere Tage lang grün blieben und aktiv weiter wuchsen (Headrick u.M., 1990; Headrick und Pataky, 1991). Alternde Narbenfäden können leichter von Pilzen befallen werden und fungieren als initiale Infektionsstelle, von wo aus die Kolben befallen werden können (Hesseltine und Bothast, 1977). *F. moniliforme* infiziert die Maiskörner hauptsächlich über die Nabelschnur (Pedicel) (Zummo und Scott, 1990).

Es wurde gezeigt, daß Resistenz gegenüber Korninfektionen durch *F. moniliforme* vor allem im mütterlichen Gewebe des Korns exprimiert wird - mit signifikant additiven, dominanten und epistatischen Effekten (Headrick und Pataky, 1991). Reid u.M. (1994) beschrieben ein einzelnes dominantes Gen für Seidenresistenz. Allerdings konnten diese Ergebnisse bei höherem Infektionsdruck nicht bestätigt werden.

In der Literatur wurden einige biochemische Resistenzfaktoren beschrieben. Es wurde ein signifikant negativer Korrelationskoeffizient ($r = -0,68$ bis $-0,71$) zwischen Gehalt an Ferulasäure im Korn und Empfindlichkeit gegenüber Kolbenfusariose gefunden (Assabgui u.M., 1993). Ebenfalls im Korn wurde ein Oligopeptid mit starker fungistatischer Wirkung gegenüber *F. graminearum* und *F. moniliforme* isoliert und aufgereinigt (Duvick u.M., 1992). Phytotoxische Wirkungen von Fumonisin B1, Moniliformin und T-2 Toxin an Kalluskulturen wurden beschrieben (Van Asch u.M., 1992), aber ob diese Pilzgifte bei Mais eine wichtige Rolle als Aggressivitätsfaktor spielen, ist zur Zeit nicht bekannt.

MATERIAL UND METHODEN

Der Erreichung unserer Ziele dient ein mehrgliedriges Set experimenteller Schritte:

A. HYBRIDENSORTIMENT :

Tab. 1: Hybridensortiment des Hauptversuchs

Versuchsglieder d. Gruppe MITTELFRÜH			Versuchsglieder der Gruppe SPÄT		
	Versuchsglied	Reifeinstufung		Versuchsglied	Reifeinstufung
	(Hybrid)	(FAO)		(Hybrid)	(FAO)
	DK 256	280		DK 312	330
	BENICIA	300		JASPE	330
	PACTOL	300		MONALISA	360
	LG 23.06	310		LG 24.50	400
	SAL 1	280		SAL 2	340
	PIO 1	270		PIO 2	400
	RWA 1	270		RWA 2	380
	RAG 1	280		RAG 2	340
	NOV 1	320		NOV 2	400

Zur Ermittlung der Kolbenfusarioseresistenz werden 18 Hybriden – der Reifeinstufung entsprechend davon 9 einem Set MITTELFRÜH und 9 Hybriden dem Set SPÄT zugeordnet – einbezogen. Jede der am Projekt beteiligten Firmen stellt 1 Versuchsglied pro Reifegruppe. Die verbleibenden Prüfplätze wurden mit von den Organisatoren ausgewählten Hybriden beschickt.

Das Saatgut wurde von den beteiligten Firmen mengenmäßig ausreichend für eine dreijährige Versuchsserie bereits am Beginn des Projektes zur Verfügung gestellt.

STANDORTE UND VERSUCHSANLAGE

		<u>Kurzbezeichnung</u>
Standorte der Gruppe MITTELFRÜH:	Tulbing (NÖ)	TULB
	Ritzlhof (OÖ)	RITZ
	Großwilfersdorf (Stmk)	WILF
	IFA TULLN	

Standorte der Gruppe SPÄT:	Gosdorf bzw. St.Georgen a.d. St. (Stmk)	GOSD;GEORG
	Paurach (Stmk)	PAUR
	Bruck a.d.L.	BRUCK
	IFA TULLN	

Versuchsanlage: random. Blockanlage

	IFA Tulln	AUSSENSTANDORTE
Versuchsgliederzahl	18	9
Wiederholungen	3	3
Reihen je Parzelle	4	6
Legestellen je Reihe	50	50 – 60

Die Versuche der **Außenstandorte** dienen zur Erhebung der **natürlichen Infektion**.

Die technische bzw. kulturtechnische Betreuung dieser Versuche (Aussaat, Unkrautkontrolle u.ä.) liegt in den Händen von Herrn D.I. HINTERHOLZER (NÖ, OÖ) bzw. Dr. MAYER (Stmk). Während Tätigkeiten wie Bonitieren, Versuchsernte, Musterziehung und Probenaufbereitung der nördlichen Standorte vom IFA (PLIENEGGER, LEMMENS) erledigt werden, gibt es für die steirischen Versuchsorte eine gemeinsame Organisation (MAYER, PLIENEGGER).

Der Versuchsstandort **IFA TULLN** wird außer zur Erhebung der **natürlichen Infektion** zusätzlich für **künstliche Inokulationen** genutzt. Der Hauptversuch mit den 18 Hybriden ist aus diesem Grunde in zwei Serien angelegt:

Serie 100: Alle 3 Wiederholungen stehen einige Wochen unter Sprühbenebelung. Die Wiederholungen 1 und 2 dienen der Ermittlung der SEIDENRESISTENZ (Eindringungsresistenz). Die Kolben der 3. Wiederholung liefern Vergleichswerte.

Serie 200: Diese dient der Ermittlung der KORNRESISTENZ einerseits und der SEIDENRESISTENZ des Typs 2 andererseits. Auch hier bleibt die 3. Wiederholung unbehandelt, um entsprechende Vergleichswerte zur Verfügung zu haben.

In den Serien 300 und 400 stehen nahisogene Linien (NILS), um auf Linienniveau die verschiedenen Resistenzmechanismen, den Einfluß morphologischer Faktoren auf Fusarienresistenz, u.ä., studieren zu können. Die Serie 300 ist diesbezüglich wieder die unter Benebelung stehende Versuchsgruppe. Beide Serien umfassen dasselbe Linienset von 9 NILS-Paaren und sind in zweireihigen Parzellen zweiwiederholig in einer randomisierten Blockanlage angelegt.

Eine 10 Hybriden umfassende Versuchsgruppe ist in den Serien 600 und 700 strukturell gleich den vorgenannten Serien angelegt. Diese dient aufgrund bereits in bestimmtem Umfang bekannten Resistenzverhaltens einerseits Testzwecken (Tastversuchsstatus) und liefert zudem in verschiedenen Entwicklungszuständen stehendes und genetisch variables Kolbenmaterial, z.B. für Laboruntersuchungen.

In der Versuchsserie 800 stehen 4, aufgrund ihres weitgehend bekannten Resistenzverhaltens ausgewählte Hybriden, 4-reihig in 2 Wiederholungen, um in zeitlich unterschiedlich gestalte-

ten Nebelungsvarianten die Beziehung Luft- bzw. Pflanzenoberflächenfeuchte und Infektionsausbreitung studieren zu können.

B. INFEKTIOSES MATERIAL:

Folgende österreichische Fusarienisolat werden für die künstlichen Inokulationsversuche verwendet: *F. graminearum* (ein Desoxynivalenol (DON)- und Zearalenon (ZON)-Produzent) und *F. culmorum* (ein DON-Produzent). Diese Isolate wurden aus befallenen Körnern isoliert und identifiziert, wie beschrieben (Nelson u.M., 1983). Die Anzucht von Reinkulturen wird durch Einsporisierungen vorgenommen. Zur Erhaltung als Dauerkultur werden diese Reinkulturen in Erdröhrchen transferiert.

Die verschiedenen Inokula mit unterschiedlicher Aggressivität werden für die Feldversuche mit der "bubble breeding" Methode (*Fus. graminearum*) oder auf einer Mischung von autoklavierten Weizen- und Haferkörnern (*Fus. culmorum*) hergestellt.

Abhängig vom Isolat, wird die Konzentration der Makrokonidien für die Feldversuche fix eingestellt.

Tab. 2: Verwendete ISOLATE:

		<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>			
			F.gr. 1	F.gr. 2	F.gr. 3	F.gr. 4
LVU/ml		10 ⁵ K	10 ⁴ K	10 ⁵ K	5*10 ⁵ K	5*10 ⁵ K+5*10 ⁴ M
SEIDENRESISTENZ	Typ 1			X		X
	Typ 2				X	
KORNRESISTENZ		X	X	X		

K = Konidien M = Mycel LVU/ml = Lebende Vermehrungseinheiten/ml

C. INOKULATIONSMETHODEN

Inokulationen werden zwei Wochen nach 50%igem Seidenschleiben des untersuchten Maisgenotyps durchgeführt.

Seidenresistenzen (Resistenz gegenüber dem Eindringen des Pilzes durch den Seidenkanal) werden mittels zweier Inokulationsmethoden bestimmt. In einer ersten Methode werden die Seiden mit 3 ml einer Fusariensuspension angesprüht. Es werden *F. graminearum*-Isolate (2 Isolate mit unterschiedlicher Aggressivität) verwendet. Mittels einer Sprühnebelanlage wird eine hohe relative Luftfeuchtigkeit, notwendig für erfolgreiche Infektion, gewährleistet. Bei der zweiten Methode (nach Reid u.M., 1996) wird eine Fusariensuspension direkt in den Seidenkanal hineingespritzt: dazu wird eine Nadel auf halbem Weg zwischen Anfang und Ende des Seidenkanals durch die Lieschen bis in die Mitte des Kanals gestochen und die Fusariensuspension (2 ml) gezielt injiziert.

Zur Bestimmung der **Kornresistenz** (Resistenz gegenüber dem Wachstum der Fusarien auf den Körnern nach Verletzung) werden die Kolben in der Mitte mittels 4 Nägel, die in die Fusariensuspension eingetaucht wurden, verletzt. Es werden *F. graminearum*- und *F. culmorum*- Isolate mit unterschiedlicher Aggressivität verwendet.

D. ZEITPUNKTE DER BEFALLSERHEBUNG (Bonitur)

Die Erhebung des Befalls, verursacht durch **natürliche Infektion**, erfolgt an zwei Terminen, die sich aus dem durchschnittlichen Reifezustand der Körner (Wassergehalt) herleiten :

Erster Termin: „Musreife“; der Korn-H₂O-Gehalt liegt bei etwa 32 – 36%

Zweiter Termin: zu Saisonende

Um die Möglichkeit zu schaffen, einen Einfluß von Zweitkolben (generell Kolben höherer Ordnung) auf den Toxingehalt zu analysieren, wird bei jedem der zwei Auswertungstermine jeweils eine Reihe MIT bzw. OHNE Zweitkolben getrennt geerntet. Sowohl die Zahl der vorhandenen Zweitkolben als auch deren durchschnittlicher Gesundheitszustand wird registriert.

Die Auswertung der **künstlichen Infektionsvarianten** beginnt ab etwa 40 Tagen nach künstlicher Infektionsauslösung. Der erste Durchgang umfaßt 50 % der infizierten Kolben. Der zweite Auswertungstermin orientiert sich am durchschnittlichen Befallsgrad der ersten Auswertung.

E. BONITURSYSTEM UND KRANKHEITSPARAMETER

F1.) Bonitursystem (Prüfkonzept)

Ein erfolgreicher und universeller Einsatz eines bestimmten Prüfsystems hat die Erarbeitung und Verfolgung gemeinsamer Grundprinzipien zur Voraussetzung:

a) Getrennte Erfassung des Schadbildes nach **visuellem** Schädigungsgrad

1. STARK befallene Körner

In dieser Bonitureinheit werden Körner mit sichtbaren Kornveränderungen zusammengefaßt. Vom Fusarienpilz bereits zerstörte Körner zählen ebenso dazu, wie jene mit farblichen Veränderungen und Mycelbesatz. Meist resultiert dieser Schädigungsgrad aus einer Frühinfektion.

2. Nur mit sichtbarem Mycel überzogene Körner (sog. „SCHLEIER“)

Ursächlich entstammt dieses Schadbild entweder einer Spätinfektion, es stellt überhaupt die erste Phase einer Infektion dar oder umfaßt die Randbereiche einer sich ausbreitenden bzw. gestoppten schweren Infektion.

3. GESAMT-Infektion

Diese Bonitureinheit summiert den **schweren** Befall und den **Schleier**.

Die Aufgliederung des Gesamtbefalls ist vorallem im Hinblick auf das Studium des Zusammenhanges der visuellen Bonitur mit der qualitativen und quantitativen Toxinsituation von Bedeutung. Boniturtechnisch werden die Bonitureinheiten STARK und GESAMT direkt erhoben, der Anteil SCHLEIER als Differenz daraus errechnet.

b) Registrierung des ZÜNSLERBEFALLS am Kolben

Dieser interferiert einerseits mit der **Seidenresistenz**, andererseits verschiebt sich das Fusarienarten- und in Folge zwangsläufig auch das Toxinspektrum.

c) Verwendung einer LINEAREN Boniturskala

Diese Forderung ist vor allem im Hinblick auf die statistische Verarbeitung der Boniturdaten von Bedeutung (Prozentwerte). Da es aus Erfahrung für die bonitierende Person nicht möglich ist, im unteren Befallsbereich die Befallsprozente direkt zu erfassen, wird vereinbarungsgemäß die Kornzahl des Hybridkolbens mit 500 Körnern definiert. Jedes als mit Fusarien infiziert bonitiertes Korn geht also mit 0,2 Prozentpunkten in die Bonitur. Sollte in einem Set von Genotypen die Kornzahl je Kolben eine große Variationsbreite aufweisen, d.h. einzelne Versuchsglieder stark von den 500 Körnern abweichen, bestünde die Möglichkeit, die Boniturergebnisse nachträglich vor der Datenverarbeitung mit dem entsprechenden Faktor zu korrigieren.

BONITURSKALA bei MAIS:

Zahl infizierter Körner	Boniturwert (% kranke Körner)
0	0
1	0,2
2	0,4
3	0,6
4	0,8
5-8	1
9-12	2
13-17	3
18-22	4
23-27	5

Ab Befallswerten ab 10 % wird es bei einiger Übung durchaus möglich sein, die Werte gedanklich direkt als Prozentwerte zu erfassen. Realistischerweise werden in der Praxis im Bereich von 10 bis etwa 30 Befalls-% 5%-, darüber 10%-Schritte gemacht.

F2.) Feldparameter

Unter **natürlichen** Infektionsbedingungen werden am Feld die Rohdaten für folgende Krankheitsparameter erhoben:

- 1) Prozentanteil befallener (**Krank**) **Kolben** (%KK)
- 2) Prozentanteil befallener Oberfläche (**Kranke Fläche**) der **Kranken Kolben** (%KFKK).

Der Prozentanteil befallener Körner (**Kranke Fläche**) der ganzen Parzelle (**ALLER Kolben**) kann wie folgt aus beiden erwähnten Boniturwerten berechnet werden (%KFAK):

$$\frac{\text{Prozentanteil befallene Kolben} * \text{Prozentanteil befallene Oberfläche der kranken Kolben}}{100}$$

Nach **künstlichen** Inokulationen werden ebenfalls beide oben beschriebenen Parameter (%KK und %KFKK) bestimmt. Vorallem bei der Ermittlung der **Kornresistenz** sind als Folge des Verletzens aber alle Kolben erkrankt, d.h. %KK wird 100 und somit %KFAK ident %KFKK.

F3.) Proben für zusätzliche Parameter

Zur Ermittlung weiterer Parameter sowie der Toxinkontamination werden entsprechende Proben geerntet, unmittelbar danach sorgfältig getrocknet und am IFA zwischengelagert.

Bei den Versuchen, die zum Analysieren der **natürlichen** Infektionsbedingungen angelegt wurden, werden je Untersuchungseinheit (= 1 Reihe) immer alle Hauptkolben bzw. alle Hauptkolben + Zweitkolben geerntet. Bei den 6-reihig angelegten Versuchen sind dies dann beim 1. Termin die 2. und 3. Reihe, beim 2. Termin die 4. und 5. Reihe.

F4.) Toxinanalysen

Toxinanalysen werden vom Analytikzentrum des IFA-Tulln durchgeführt. Es werden in erster Linie die DON- und ZON-Kontamination bestimmt.

F5.) Andere Krankheitsparameter (Laborparameter)

Neben Bonituren des Krankheitsbefalles und Analyse des Toxingehalts des Erntegutes werden noch eine Reihe anderer Krankheitsparameter bestimmt, mit der Absicht, einen zu finden, der möglichst einfach zu bestimmen ist und gut mit dem Toxingehalt in den natürlich und/oder künstlich infizierten Maisproben korreliert. Das würde z.B. der Züchtung einen Großteil der zeitaufwendigen und teuren Toxinanalysen ersparen.

a) *Keimfähigkeit:*

In einem ersten Ansatz geht es darum, ein für unsere Zwecke brauchbares Prüfungsverfahren zu etablieren. Vorallem Faktoren wie Temperaturführung

Oberflächendesinfektion

Optimale Auswertungszeitpunkte

Beurteilungsschema

Befallsentwicklung

sollten bearbeitet werden.

Materialmäßig wurden je 3 Genotypen der zwei Reifegruppen miteinbezogen. Grundlage der Auswahl der Prüfglieder waren die zur Verfügung gestandenen Feldboniturdaten. Dieses Set sollte die ganze Variationsbreite der visuell erhobenen Anfälligkeitsskala abdecken.

Verwendete Auswertungsklassen:

- NORMAL gekeimt (nach ISTA-Beurteilung)
- SCHWACH gekeimt
- ANGEKEIMT
- NICHT gekeimt

Jede dieser Hauptklassen wurde weiter unterteilt:

- a) Gesunde Körner
- b) Fusarienbefall
 - leicht
 - stark
- c) andere Pilze
 - leicht
 - stark

b) *Ergosteringehalt:*

Das Erntegut des zweiten Erntetermins (Saisonende) der Standorte GOSDORF (**späte** Reifegruppe), TULBING und RITZLHOF (Gruppe **mittelfrüh**) wurde auf den Ergosteringehalt untersucht.

Ergosterin wird nur von Pilzen, nicht von Pflanzen produziert. Der Ergosteringehalt der kontaminierten Proben gilt als Maß für die vorhandene Pilzmasse. Die Analysen werden vom Bundesamt f. Agrarbiologie durchgeführt. Bei Mais wurde bei bisherigen Untersuchungen ein guter Zusammenhang zwischen Ergosterin- und Toxingehalt nach natürlicher Kontamination gefunden (Lew, pers. Mitt.). Das ist auf die Tatsache zurückzuführen, daß in Österreich *Fusarium* die dominierende Pilzgattung und *F. graminearum* die dominierende Fusariumart bei Mais ist. So wie Toxinanalysen sind aber auch Ergosterinbestimmungen langwierig und kostspielig.

F6.) Resistenzmechanismen

a). *Einfluß morphologischer und physiologischer Faktoren auf den Fusariumbefall*

Die Rolle morphologischer (z.B. Lieschenlänge) und physiologischer (z.B. Reifezahl) Faktoren auf Fusariumbefall wird untersucht.

Das unten angeführte Set an Faktoren mit möglichem Bezug zur Fusarienbefallsstärke oder zum Toxingehalt wird an drei Materialgruppen erhoben:

- aa) Das Hybridsortiment des Hauptversuchs mit den 18 Genotypen dient als diesbezügliches Basisforschungsobjekt (Serie 100 und 200 am IFA bzw. die Versuche an den Außenstandorten).
- ab) Für wissenschaftlich spezifischere Aussagen haben wir ein von der Fa. LIMAGRAIN stammendes Set an NILS (Nah-isogene Linien) zur Verfügung (Serie 300 und 400). Jedes dieser insgesamt 9 Linienpaare unterscheidet sich in einem Hauptmerkmal:

Blühzeitpunkt

Korntyp
Kolbenlänge
Kolbengesundheit
Wuchshöhe bzw. Kolbenansatzhöhe
Kornreihenzahl
Kornabreife

ac) Für ergänzende Merkmalsbetrachtungen stehen uns bei Bedarf auch die Hybriden der Serien 600 und 700 zur Verfügung.

b) Boniturmerkmale:

Auf den nächsten beiden Seiten sind alle Merkmale zusammengestellt, die 1999 z.T. bereits direkt am Feld erhoben wurden, deren Ausprägungsstufen mit dem einen oder anderen Resistenzmechanismus in Beziehung stehen könnten.

		B O N I T U R M E R K M A L E								1 9 9 9					
		/00													
		P R O J E K T a m I F A								A U S S E N S T A N D O R T E					
M E R K M A L		1	2	3	4	5	6	7	8	T	R	B	Gr.	P	G
		0	0	0	0	0	0	0	0	U	I	U	W	A	O
		0	0	0	0	0	0	0	0	L	T	R	L	U	S
										B	Z	U	F.	A	D
										N	H	C		R	O
										G	O	K		A	C
										F	F	L.		C	H
A. während der Vegetation															
	KOLBENBLÜTE (50 %)	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X			
	Gleichmäßigkeit	X	X				X	X							
	Länge des SEIDENKANALS	X	X				X	X							
	Querschnitt des SEIDENKANALS	X	X				X	X							
	KOLBENHALTUNG	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X
	SEIDENLÄNGE	X	X				X	X							
	SEIDENTYP	X	X				X	X							
	LIESCHENSPREITEN	X													
	LIESCHENSCHLUSS	X	X	X	X			X		X	X		X	X	X
	ABREIFE - Lieschen	X	X			X	X	X		X	X		X	X	X
	- Blätter	X	X			X	X	X		X	X		X	X	X
	WUCHSHÖHE der Pflanzen	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
	KOLBENANSATZHÖHE	X	X	X	X		X	X	X	X	X		X	X	X
	Höhe des KOLBENS	X	X	X	X		X	X	X						
	KOLBENSTIELLÄNGE	X	X	X	X		X	X							
	NEBENKOLBEN	X	X				X	X		X	X		X	X	X
	ZWEITKOLBEN	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X
	BATTHALTUNG	X	X			X									
	BESTOCKUNG	X	X	X	X					X	X	X	X	X	X
	KORNANSATZ	X	X												
	WURZELLAGER	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X

		B O N I T U R M E R K M A L E												1 9 9 9/00	
		P R O J E K T a m I F A								A U S S E N S T A N D O R T E					
M E R K M A L		1	2	3	4	5	6	7	8	T	R	B	Gr.	P	G
		0	0	0	0	0	0	0	0	U	I	R	W	A	O
		0	0	0	0	0	0	0	0	L	Z	U	L	F	S
										B	H	C		R	D
										N	O	K/		A	O
										G	F	L.		C	R
														H	F
ZÜNSLERBEFALL	- Pflanzen	X	X	X	X	X	X	X		X	X		X	X	X
	- Kolben	X		X	X		X	X	X	X	X		X	X	X
HELM. TURCICUM										X	X		X	X	X
BEULENBRAND		X	X	X	X	X	X	X		X	X		X	X	X
FUSARIUM GRAM. (Pflanze)		X				X	X	X			X		X	X	X
b) am reifen Kolben:															
KORNANSATZ															
	- reie Spindel										X	X			
	- Gleichmäßigkeit										X	X			
KORNREIHENZAHL											X	X			
SPINDEFARBE											X	X			
KORNTYP											X	X			
KOLBENLÄNGE											X	X			
KOLBENDICKE											X	X			
KORNTIEFE											X	X			
KOLBENOberFLÄCHE											X	X			
	Kornausbildung (Kolbenspitze)										X	X			
	KOLBENFORM										X	X			

c) Pollen als Nährstoffquelle für das pilzliche Wachstum

Pollen können vom Pilz als Nährstoffquelle verwendet werden und könnten im Aufbau eines ausreichenden Inokulumpotentials für eine erfolgreiche Infektion eine Rolle spielen (Naik und Busch, 1978). Es wird untersucht, ob zwischen Pollen verschiedener Hybriden Unterschiede in der "Verwertbarkeit" für den Fusariumpilz vorliegen. Dazu wird in Anwesenheit von Pollen bzw. Pollensubstrat die Keimungs- und Wachstumsgeschwindigkeit von Fusariummakrokonidien im Labor untersucht.

Im Winter des ersten Projektjahres ging es um erste Ansätze der Etablierung des Verfahrens. Zu diesem Zweck wurden Pflanzen von 5 verschiedenen Genotypen (Hybriden) in Zeitstufensaat im Glashaus herangezogen. Im Bezug auf die Fusariumanfälligkeit repräsentieren die ausgewählten Hybriden ein weites Spektrum.

Faktoren, die diesbezüglich besonders bearbeitet wurden:

- Art des Substrates
- Substratkonzentration
- Inkubationszeiten
- Temperaturführung
- Konidienkonzentration
- Auswertungsintervalle

Als Fusarienarten standen sowohl *F. culmorum* als auch *F. graminearum* in den Testreihen..

Am Beginn des zweiten Projektjahres standen nochmals im Glashaus gezogene Maispflanzen zur endgültigen Abklärung methodischer Fragen zur Verfügung.

Inwieweit Pollen eine Rolle in der pilzlichen Entwicklungsdynamik eine genotypspezifische Rolle spielt, wurde im Sommer des zweiten Projektjahres an einer Auswahl unseres 18 Genotypen umfassenden Hauptsortiments untersucht.