



Regulation der Mykotoxinbiosynthese in *Penicillium verrucosum* als Adaption an Wachstum unter oxidativem Stress

D.A. Stoll, M. Schmidt-Heydt, R. Geisen

Max Rubner-Institut, Institut für Sicherheit und Qualität bei Obst und Gemüse

Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe

Einleitung

Nach Schätzungen der WHO sind bis zu 25 % der jährlichen Welternte durch Schimmelpilze und deren Mykotoxine belastet. Aus diesem Grund ist es notwendig die Regulation der Mykotoxin-biosynthese auf molekularer Ebene zu verstehen, um Vermeidungsstrategien entwickeln zu können, die es ermöglichen die Kontamination von Lebensmitteln mit Schimmelpilzen und deren Mykotoxine zu verringern. Verschiedene Umweltparameter, insbesondere Parameter die den oxidativen Status verändern, können einen starken Einfluss auf die Mykotoxinbiosynthese haben. Im Folgenden wurde der Einfluss von oxidativem Stress auf die Regulation der Mykotoxine Ochratoxin A und Citrinin untersucht, die beide von *P. verrucosum* gebildet werden können. Oxidativer Stress wurde durch Wachstum auf unterschiedlichen Konzentrationen an Kupfersulfat, Kaliumnitrit oder durch Bestrahlung mit kurzweiligem Licht erzeugt, was zu einer erhöhten Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) führte. Analysiert wurden die Parameter Wachstum, Mykotoxin-biosynthese und intrazelluläre Konzentration an ROS in *Penicillium verrucosum*.

Material und Methoden

P. verrucosum BFE 808, ein typischer Ochratoxin- und Citrininbildner, sowie *P. verrucosum* BFE 613, ein Stamm der kein Toxin bildet, wurden unter den folgenden Bedingungen wachsen gelassen: 7 Tage Inkubation bei 25°C auf MG-Nährmedium welches mit 0-40 mg/l CuSO_4 substituiert wurde, bzw. auf YES-Nährmedium mit 0-6 g/l KNO_2 . Zur Induktion des oxidativen Stresses durch Licht, wurde der entsprechende Stamm auf YES Medium inokuliert und 7 Tage bei 20°C unter Blaulicht der Wellenlänge 455 nm bzw. im Dunkeln inkubiert. Anschließend wurde die Wachstumszunahme des Myzels ermittelt. Die Bestimmung der Mykotoxin-biosynthese erfolgte mittels HPLC. Die Konzentration an ROS wurde mit dem OxiSelect™ *In Vitro* ROS/RNS Assay Kit von CELL BIOLABS, INC. bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

Auf kupfersulfathaltigem Medium war mit steigender Konzentration an Cu^{2+} bei beiden Stämmen von *P. verrucosum* keine Veränderung im Wachstum zu erkennen, das Wachstum auf kaliumnitrit-haltigem Medium war hingegen mit steigender NO_2^- Konzentration eingeschränkt. Auch bei einer Inkubation unter Blaulicht war das Wachstum im Vergleich zur Dunkelkontrolle signifikant gehemmt. Im toxinbildenden Stamm, BFE 808, kommt es bei einer Zunahme an Cu^{2+} und NO_2^- , aber auch unter Blaulicht, zu einer mutuellen Verschiebung der Mykotoxinbiosynthese von Ochratoxin A zu Citrinin. Im Nicht-Toxinbildner nimmt der oxidative Stress sowohl unter Blaulicht, als auch unter steigenden Cu^{2+} und NO_2^- -Konzentrationen zu, während er im Toxinbildner mit zunehmender Citrininbiosynthese jeweils abnimmt.

Schlussfolgerung

Es konnte gezeigt werden, dass eine steigende Konzentration an Cu^{2+} und NO_2^- im Medium und Wachstum unter Blaulicht zu einer Induktion des oxidativen Stresses in *Penicillium verrucosum* führt. In *Penicillium verrucosum* erfolgt eine Adaptation an oxidativen Stress durch mutuelle Regulation der Mykotoxinbiosynthese, indem vermehrt Citrinin gebildet und die Bildung von Ochratoxin A verringert wird. Citrinin, ein Coumarinderivat, hat antioxidative Eigenschaften [1] und führt daher wie gezeigt zu einer Verringerung des oxidativen Stresses. Darüber hinaus fungiert Citrinin als Lichtprotektans wie vorher in eigenen Arbeiten und durch Arbeiten anderer Arbeitsgruppen gezeigt werden konnte [2]. Die Biosynthese von Ochratoxin A wird unter den gezeigten Bedingungen verringert.



Literatur

- [1] EM Heider, JK Harper, DM Grant, A Hoffman, F Dugan, DP Tomer, KL O'Neill (2005) Exploring unusual antioxidant activity in a benzoic acid derivative: a proposed mechanism for citrinin. *Tetrahedron* 62, 1199-1208
- [2] FC Størmer, P Sandven, HS Huitfeldt, W Eduard, A Skogstad (1998) Does the mycotoxin Citrinin function as a sun protectant in conidia from *Penicillium verrucosum*? *Mycopathologia* 142, 43-47