

Beerenhautoberfläche ökologisch ausgewogen zu optimieren. Allerdings ist bisher wenig über potentielle fördernde oder hemmende Interaktionen von *B. cinerea* mit anderen Mikroorganismen, die die Beerenhaut besiedeln, bekannt. Entsprechend fehlen bislang Erkenntnisse, wie die mikrobielle Zönose der Beerenhaut gezielt durch Bewirtschaftungs- und Pflanzenschutzmaßnahmen, z. B. durch Förderung von Antagonisten, beeinflusst werden kann.

Vor diesem Hintergrund wurden in den Jahren 2010 und 2011 an jeweils drei Terminen gesunde, ganze Trauben der Rebsorte Riesling (*Vitis vinifera* L.) aus insgesamt elf Weinbergen des Anbaugebietes Rheingau (49°59'N, 7°57'E) isoliert. Die Probenahmestandorte unterscheiden sich hinsichtlich des Bewirtschaftungssystems (integriert, biologisch-organisch, biologisch-dynamisch), der Stickstoffdüngung (0, 60 und 150 kg N/ha und Jahr) sowie der Standorteigenschaften (Rebflächen aus „Terroir“-Projekt).

Die Organismen der Beerenhautoberfläche wurden nach Abwaschung von den Trauben einer DNA-Extraktion unterzogen, indem die gesamte DNA dieser Organismen mit Hilfe des PowerSoil® DNA Isolation Kit isoliert wurden. Mittels PCR wurden die Regionen des pilzlichen ITS (Primer ITS1F und ITS2) bzw. der bakteriellen 16S rDNA (Primer 27f und 337r) amplifiziert und mit Hilfe der 454 Pyrosequenzierung analysiert. Über eine Auswertung von ca. 80.800 Sequenzen konnten 18 pilzliche und 17 bakterielle Gruppen differenziert werden. Hierbei zeigte sich, dass verschiedenartig bewirtschaftete Weinberge deutliche Unterschiede in der Zusammensetzung der mikrobiellen Zönose aufwiesen. Darüber hinaus waren im Falle der Proben aus den drei Bewirtschaftungsformen innerhalb des Untersuchungszeitraumes von sechs Wochen strukturelle Veränderungen der Beerenhaut-Mikroflora zu erkennen.

Detaillierte Erkenntnisse über die funktionelle und strukturelle Diversität der Mikrozönose von Beerenhautoberflächen sind eine wichtige Basis, um vorhandene Antagonisten zu fördern oder an dieses Habitat gut angepasste Gegenspieler gezielt anzusiedeln, um so eine mikrobiologische Stabilisierung zur Unterdrückung des Krankheitskomplexes „Traubenfäulen“ zu erreichen. Dies ist besonders vor dem Hintergrund der Auswirkungen des Klimawandels und des zu erwartenden weiteren Anstiegs der Fäulnis-Problematik im mitteleuropäischen Weinbau von großer Bedeutung.

#### **47-3 - Walter, R.; Altmayer, B.; Kortekamp, A.**

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz

### **Einfluss verschiedener Umweltbedingungen auf den Sekundärmetabolismus von *Penicillium*-Arten**

Environmental factors affecting the secondary metabolism of *Penicillium* species

*P. expansum*, der Haupterreger der Grünfäule an Weintrauben, kann die sensorisch und gesundheitlich relevanten Sekundärmetabolite Geosmin, Patulin und Citrinin bilden. Zudem bilden andere *Penicillium*-Arten beispielsweise das stark nierenschädigende und kanzerogene Mykotoxin Ochratoxin A (OTA). Geosmin wird für die modrigen und muffigen Fehltöne in Weinen verantwortlich gemacht. Patulin und Citrinin sind Mykotoxine, für die zulässige Höchstgehalte in Lebensmitteln in EU-Verordnungen festgelegt sind, streng kontrolliert werden (Höchstgehalte: Patulin 50 µg/l, Ochratoxin A 2 µg/l). Da eine zuverlässige Abschätzung der Qualitätsminderung anhand einer visuellen Bonitur der Trauben kaum möglich ist, konnte eine Schadensschwelle für den Befall mit *Penicillium*-Arten bisher nicht definiert werden. Mit dem Ziel, eine Schadensschwelle an Trauben zu ermitteln, wird am DLR Rheinpfalz in einem vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) geförderten Projekt (2810HS016) die Bildung relevanter Stoffwechselprodukte durch *Penicillium*-Arten untersucht.

#### **Geosmin**

*In vitro* bildet *P. expansum* insbesondere dann Geosmin, wenn ein Überschuss an Nahrung vorhanden ist. Dies äußert sich auch durch starkes Myzelwachstum und starke Sporulation. Die Bildung von Geosmin in künstlichen Nährlösungen ist Isolat-abhängig. Untersuchungen von La Guerche et al. (2007) in Frankreich zeigten, dass *P. expansum* in Traubensaft kein Geosmin bilden kann. Erst in Wechselwirkung mit bestimmten *Botrytis*-Stämmen, sogenannte Bot(+)-Stämmen kam es zur Bildung des Metaboliten in Traubensaft. Eigene Untersuchungen bestätigten dies auch für die in deutschen Weinanbaugebieten gewonnenen *Penicillium*-Isolate, die *in vitro* in Traubensaft der Sorte 'Riesling' kultiviert wurden. Neun von bisher 63 geprüften *Botrytis*-Stämmen aus deutschen Weinanbaugebieten wurden als Bot(+)-Stämme identifiziert. Die Verbreitung und Verteilung der Bot(+)-Stämme und deren Auswirkung auf die Mostqualität wird in einem mehrjährigen Screening geprüft.

#### **Ochratoxin A**

In den Jahren 2006 und 2011 konnten an befallenen Trauben auch in geringer Anzahl die Arten *P. crustosum* und *P. purpurogenum* identifiziert werden. Dabei zeigte sich, dass einige Isolate in der Lage sind, in künstlichen Nährmedien, in Traubensaft und an künstlich infizierten Einzelbeeren Ochratoxin A (OTA) zu bilden. Mit bis zu

50 µg/l wurde der Grenzwert von 2 µg/l in einigen Versuchsansätzen deutlich überschritten. *P. purpurogenum* konnte in komplex zusammen gesetzten Nährlösungen OTA bilden, stellte jedoch die Bildung ein, sobald Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> und Fe<sup>2+</sup> oder Phosphate vorenthalten wurden.

#### **Patulin und Citrinin**

Bei Untersuchungen in 2010 und 2011 konnten Patulin und Citrinin in Traubenproben aus dem Freiland nicht nachgewiesen werden. Allerdings lag der Befall durch *Penicillium* im Freiland in diesen Jahren unter 0,5 %. Auch in Nährlösungen oder in Traubensaft konnte die Bildung von Citrinin durch *P. expansum* nicht quantifiziert werden. Lediglich nach massiver Infektion von Einzelbeeren im Labor wurde das Toxin nachgewiesen (bis 13 µg/l). Diese Ergebnisse unterstützen die Beobachtung, dass Citrinin in wässriger Lösung nicht stabil ist (Schneider 2007).

Die Bildung von Patulin durch verschiedene *P. expansum*-Stämme in Traubensaft und künstlichen Nährlösungen konnte nur selten in geringen Konzentrationen nachgewiesen werden. Mit bis zu 1 µg/l lagen die Werte deutlich unterhalb des Grenzwertes von 50 µg/l. Bei *in vitro*-Versuchen mit Traubensaft, in denen verschiedene *Botrytis*-Stämme in Konkurrenz mit *P. expansum* inkubiert wurden, konnte jedoch Patulin in hohen Konzentrationen (bis 560 µg/l) gemessen werden.

Die Untersuchungen zeigen, dass die Konkurrenz mit *Botrytis* in besonderem Maß Einfluss auf den Sekundärmetabolismus von *P. expansum* hat (Bildung von Geosmin und Patulin). Vor diesem Hintergrund ist eine effektive Bekämpfung von *Botrytis* in den Rebflächen von zentraler Bedeutung für die Sicherung der Qualität des Leseguts.

#### **Literatur**

- LA GUERCHE, S., L. DE SENNEVILLE, D. BLANCARD, P. DARRIET, 2007: Impact of the *Botrytis cinerea* strain and Metabolism on (-)-geosmin production by *Penicillium expansum* in grape juice. *Antonie van Leeuwenhoek*, 92, 3, 331-341.
- SCHNEIDER, C., 2007: Vorkommen und Nachweis von Citrinin in Nahrungsmitteln pflanzlicher Herkunft. Dissertation, LMU München: Tierärztliche Fakultät.

**47-4 - Buckel, I.<sup>1)</sup>; Molitor, D.<sup>2)</sup>; Liermann, J. C.<sup>3)</sup>; Sandjo, L. P.<sup>3)</sup>; Berkelmann-Löhnertz, B.<sup>4)</sup>; Opatz, T.<sup>3)</sup>; Thines, E.<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup> Institut für Biotechnologie und Wirkstoff-Forschung e. V.

<sup>2)</sup> Centre de Recherche Public - Gabriel Lippmann

<sup>3)</sup> Johannes Gutenberg-Universität Mainz

<sup>4)</sup> Forschungsanstalt Geisenheim

#### **Phytotoxic secondary metabolites from the grape black rot fungus *Guignardia bidwellii***

One of the most devastating diseases of grapevine is black rot caused by the ascomycete *Guignardia bidwellii*. Reasons for the establishment of the pathogen are increasing numbers of abandoned vineyards serving as reservoir for fungal spores, and increasing temperatures due to global warming. In integrated plant protection programs the disease can easily be controlled by the application of modern synthetic fungicides. However, such control agents are not registered in organic viticulture and can therefore not be applied. As a consequence there is a strong demand for alternative control methods. In order to develop new vine protection strategies it appears mandatory to understand the molecular basis of the *Vitis vinifera*/*Guignardia bidwellii* interaction.

Bioactivity guided isolation from submerged cultures of the grape black rot fungus led to the identification of new phytotoxic secondary metabolites. These compounds are structurally related to guignardic acid, a dioxolanone-type metabolite isolated previously from *Guignardia* species. However, in contrast to guignardic acid, which is presumably synthesised via deamination products of valine and phenylalanine, the biochemical precursors for the biosynthesis for the other phytotoxins appear to be alanine, phenylalanine or tyrosine. Potentially, the secreted phytotoxins serve as important virulence factors within pathogenesis.