

Ergebnisse aus ersten Untersuchungen zur toxischen Wirkung von Rostpilzen an Gräsern auf Säugetierzellen

S. Hartmann¹, J. Bauer² und W. Richter³

¹Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising; ²Lehrstuhl für Tierhygiene der Technischen Universität München, Freising ; ³Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Poing-Grub

Einleitung

In der Ordnung *Uredinales* (Rostpilze) werden parasitische biotrophe Pilze zusammengefasst. Das heißt Pilze, die zu ihrem Wachstum stets lebendes Wirtsgewebe benötigen. Diese Ordnung wird von 120 Gattungen mit ca. 5.000 Arten gebildet (HOFFMANN und SCHMUTTERER 1983). Der Name bezieht sich auf die oft rostbraune Farbe bestimmter Sporenlager, die im Laufe des hoch differenzierten Entwicklungszyklus der Erreger auf dem Wirtsgewebe gebildet werden. Die bei Gramineen wichtige Gattung *Puccinia* umfasst ca. 3.000 bis 4.000 dieser oft sehr hoch wirtsspezialisierten Arten, also die deutliche Mehrheit der „Roste“. Die Spezialisierung bei der Auswahl der Wirte beschränkt sich dabei in der Regel nicht nur auf einzelne Wirtsarten, sondern darüber hinaus auf einzelne Genotypen, Sorten oder Herkünfte. Aus der Vielzahl von Arten wurden für die Toxizitätstests die bei Gräsern bedeutsamen Arten Gelbrost (*P. striiformis*) und Kronenrost (*P. coronata*)

Die Angaben in der bekannten Literatur zur toxischen Wirkung von Rostbefall des Erntegutes auf die Gesundheit des Viehs sind eher älteren Datums und beschreiben in der Regel Symptome, die auf Grund von Beobachtungen aus der Praxis mit dem Befall des Futters mit Rost in Beziehung gebracht wurden (HAPKE 1988, WIESNER 1970, STÄHLIN 1957). So wird von örtlichen Reizungen auf Haut und Schleimhäuten, Lähmungen, als auch dem Auftreten von blutigen Durchfall, bis hin zum Verwerfen und Todesfällen berichtet. Aktuelle Ergebnisse mit direktem Bezug sind nicht bekannt.

Eine Kontrolle der Roste auf Futterflächen durch Fungizide ist nicht möglich (fehlende Zulassung) und auch nicht sinnvoll (z. B. bei Übertragung der Wartezeiten im Getreidebau ohne Berücksichtigung einer deutlich schwierigeren Rückstandssituation).

Daher beschränken sich die Möglichkeiten auf eine gezielte Sortenwahl und auf einen möglichst raschen Schnitt nach der Wahrnehmung eines ersten Befalls (je nach Witterungsverlauf August/September). Betroffen ist in der Regel der Jahre damit der 4. Schnitt. In Befallslagen bedeutet dies bereits eine Beeinflussung des 3. Schnittes, da sich sonst kein erntefähiger Bestand bilden kann bzw. für einen Schröpfungsschnitt (nach Möglichkeit aus der Fläche entfernen!) zuviel auf der Fläche steht.

Während mit der Sortenwahl bei Neuansaat (Dauergrünland, Feldfutterbau, Zwischenfrucht) die Resistenz der Bestände und damit die Qualität der Futteraufwüchse deutlich beeinflusst werden kann, ist dies bei Nachsaaten auf Dauergrünlandflächen nur bedingt möglich („Verdünnungseffekt“ durch die Altnarbe). Aber auch bei der Sortenwahl für Nachsaaten sollte die Sortenresistenz gegen Roste berücksichtigt werden.

Zielstellung

Diese langfristigen pflanzenbaulichen Empfehlungen sind jedoch keine Lösungen für akuten Rostbefall in Betrieben mit knapper Futterbasis. Die Entwicklung auf der Erregerseite, wie auch die Kenntnis um das begrenzte Resistenzvermögen im Grünland Bayerns, lassen eine zunehmende Verbreitung der Erreger und damit auch ein stärkeres Auftreten von höher belastetem Futter erwarten. Wie Abb. 1 zeigt, tritt Rost an Deutschem Weidelgras in anderen Regionen Deutschlands schon seit längerer Zeit auf - in Bayern hingegen erst in den letzten Jahren. In Höhenlagen Bayerns, wie zum Beispiel der Standort Hötzelndorf, ist er bis heute die seltene Ausnahme.

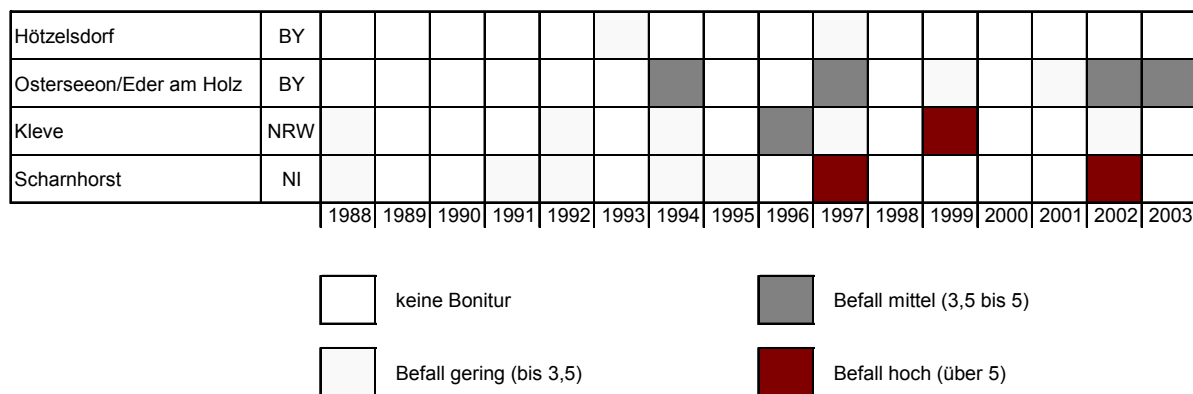


Abb. 1: Auftreten von Rosten an den Vergleichs- und Verrechnungsorten in Versuchen bei Deutschem Weidelgras an ausgewählten Standorten in Deutschland (Quelle: LfL, BSA)

Aus der Beratung werden von Seiten der LfL Lösungen zur Vermeidung von belasteten Futter und Abwägungen zu dessen Einsatz, wie auch zu den Grenzen einer möglichen Verwendung erwartet. Ziel der Arbeit ist es, eine mögliche Toxinwirkung von Rostpilzen an Futtergräsern auf landwirtschaftliche Nutztiere besser abschätzen zu können. Auf der Basis von Zelltesten sollen hierzu erste Ergebnisse erarbeitet werden, die erste quantitative Abschätzungen für die Beurteilung von Futter erlauben und damit erste Hinweise für Sortenpotenzial und Produktionstechnik aber auch Möglichkeiten und Grenzen der Verwertung aufzeigen. Dieses Projekt soll hierzu erste Beiträge leisten.

Material und Methoden

Im Gewächswach von IPZ 4b wurde Deutsches Weidelgras angezogen. Ein Teil dieses Pflanzenmaterials wurde mit *Puccinia coronata* Sporen, die aus Freilandsammlungen im Raum Oberbayerns gewonnen wurden, inokuliert. Durch Besprühen der Pflanzen mit Wasser und Einhüllen mit Klarsichtfolien konnte von diesen Pflanzen jeweils definiert befallenes Material geerntet werden. Der andere Teil wurde parallel als unbefallene Kontrolle angezogen.

Aus den gewonnenen Pflanzenproben wurden jeweils Extrakte hergestellt (TANAKA et al., 1985). Diese Probenkonzentrate wurden im Zellkulturmedium auf 0,4 geq/ml eingestellt.

Vero B4 Zellen (Zelllinie aus Affennieren) wurden nach Protokoll trypsiniert und in einer Konzentration von 1×10^6 Zellen/ml in einem Volumen von 100 μ l in die Vertiefung einer 96er Mikrotiterplatte pipettiert, wobei die Randvertiefungen frei blieben. In die Randvertiefungen kamen pro Well 200 μ l PBS. Die Platte wurde ca. 24 h bei 37 °C, 5 % CO₂ und 95 % Luftfeuchtigkeit inkubiert. Im 3fach Ansatz pro Platte und im Doppelansatz wurde

von der zu testenden Substanz 0,1 ml pro Vertiefung zugegeben (Verdünnungsreihe von 1:2 – 1:256).

Als Negativkontrolle dient der Zusatz von Kulturmedium.

Als Positivkontrolle dient Gliotoxin (von 10 µg/ml – 0,3125 µg/ml)

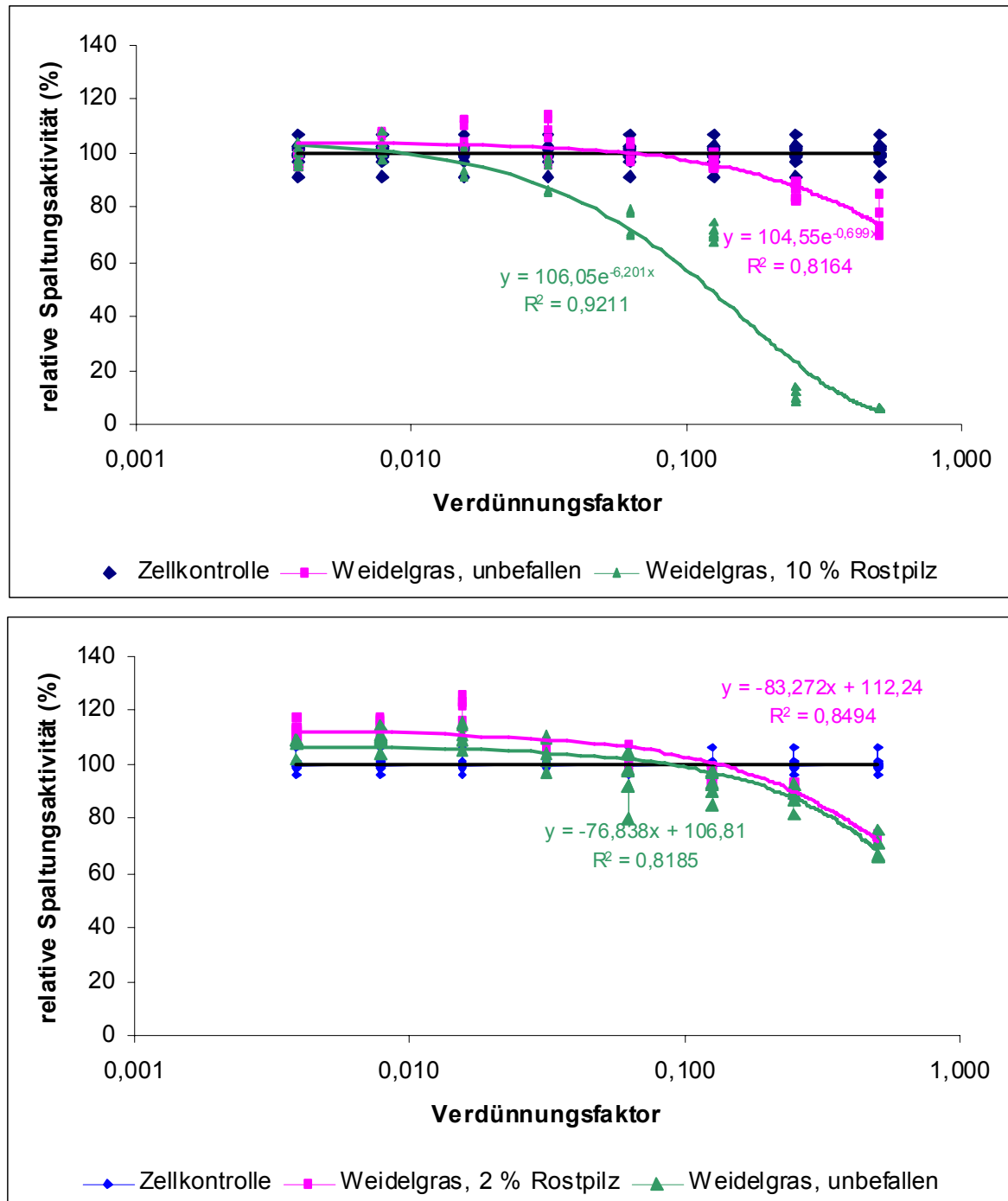


Abb. 2 und 3: Einfluss von unterschiedlichen Rostbefalls an Gräsern auf die Stoffwechselaktivität an Säugetierzellen am Beispiel von Kronenrost (*Puccinia coronata*) an Deutschem Weidelgrass (*Lolium perenne* L.)

In den Randvertiefungen wurde das PBS mit je Well 0,1 ml Medium ersetzt, dies diente als Matrixkontrolle. Die Zellen wurden dann für weitere 24 h kultiviert. Pro Vertiefung pipettierte man 20 µl MTT Lösung (5mg/ml) und inkubierte die Zellen für weitere 4 h im Brutschrank. Durch Abpipettieren wurde das Kulturmedium entfernt. Die Zellen wurden durch Zugabe von 100 µl DMSO lysiert und der Farbstoff damit herausgelöst. Dieser Vorgang wurde durch 5 min schütteln auf dem Plattenschüttler verstärkt. Nach gutem Durchmischen (es sollen keine Zelltrümmer mehr zu sehen sein) wurde die Absorption bei 492 nm im ELISA Reader gemessen.

Ergebnisse

Vergleicht man die beiden Ansätze mit Extrakt aus Material mit geringem Rostbefall (ca. 2 % Blattfläche) und hohem (ca. 10 % Blattfläche), so fällt die deutlich stärkere Abnahme der Stoffwechselaktivität bei der Variante mit hohem Befall im Vergleich zur unbefallenen Variante auf. Dies deutet auf ein mögliches toxisches Potenzial ab einem Blattbefall von mehr als 10 % hin (siehe Abb. 2 und 3).

Diskussion und Ausblick

Diese ersten Tastversuche zeigen ein mögliches toxisches Potenzial bei hohen, aber in der Praxis durchaus auftretenden Befall mit *Puccinia coronata* an Deutschem Weidelgras. Noch nicht untersucht ist die Wirkung einer Silierung auf die Toxizität des Erntegutes. Auch die toxisch wirkenden Stoffe sind noch unbekannt.

Aktuell bleibt damit für die Beratung die Bestätigung möglichst auf mit Rost befallenen Erntegut in der Fütterung zu verzichten.

Aus fachlicher Sicht ist daher eine Fortführung dieser ersten Tastversuche, einerseits mit Modellen, die nun näher an der Praxis liegen können und die andererseits Fragen der Wirkung einer Silierung auf das toxische Potenzial abdecken, wünschenswert.

Dank geht an das Bayerische Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten für die kurzfristige Bereitstellung der für diese Arbeit notwendigen Sachmittel.

Literatur

- HAPKE H.-J. (1988): Toxikologie für Veterinärmediziner. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- HOFFMANN, G.M. und SCHMUTTERER; H. (1983): Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Verlag Eugen Ulmer.
- STÄHLIN, A. (1957): Methodenbuch XII Beurteilung der Futtermittel VDLUFA Neumann Verlag Hadebeul und Berlin.
- TANAKA T., HASEGAWA, A., MATSUKI, Y., ISHII, K. und UENO, Y. (1985): Deoxynivalenol and nivalenol in cereals. Food Add. Contam., **2**, 125-137.
- WIESNER, E. (1970): Ernährungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere VEB G. Fischer Verlag Jena.