

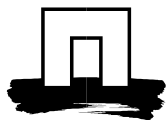
Fusarium in granen

Identificatie van cruciale lacunes in kennis omtrent een internationaal probleem

G.H.J. Kema, J. Köhl, L.P.N.M. Kroon, H.J.M. Löffler, E.T.M. Meekes,
H.T.A.M. Schepers, O.E. Scholten, M. van Harmelen & C. Waalwijk



Nota 142



Fusarium in granen

Identificatie van cruciale lacunes in kennis omtrent een internationaal probleem

G.H.J. Kema¹, J. Köhl¹, L.P.N.M. Kroon¹, H.J.M. Löffler¹, E.T.M. Meekes¹,
H.T.A.M. Schepers¹, O.E. Scholten², M. van Harmelen² & C. Waalwijk²

¹ Plant Research International B.V.

² Praktijkonderzoek Plant en Omgeving

© 2002 Wageningen, Plant Research International B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Plant Research International B.V.

Plant Research International B.V.

Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
: Postbus 16, 6700 AA Wageningen
Tel. : 0317 - 47 70 00
Fax : 0317 - 41 80 94
E-mail : post@plant.wag-ur.nl
Internet : <http://www.plant.wageningen-ur.nl>

Inhoudsopgave

	pagina
Voorwoord	1
1. Pathogenese	3
Resistentietypen	3
Toxinen en celwandsplitsende enzymen	5
2. Detectie van <i>Fusarium</i> soorten en door deze schimmels geproduceerde mycotoxinen	7
Detectie van de schimmel	7
Detectie van toxinen	9
Kits voor DON, T-2 en ZEA en hun toepassingen	10
3. Veredeling	23
Inleiding	23
Toetsmethoden	23
Resistentie	25
Specialisatie	25
Correlatie resistentie en toxine gehalte	25
Genetische analyses	28
GMO	29
4. Epidemiologie	31
Stand van zake	31
<i>Fusarium</i> soorten	31
Vatbaarheid graansoorten	33
Inoculumbron	33
Invloed weer	35
Biologische bestrijding	35
5. Toepassing van fungiciden	37
Zaaizaadontsmetting	37
Gewasbespuitingen	37
Spuittechniek	38
Adjuvants	38
Bewaring	39
Gerst	39
Invloed rassen	39
Beslissingsondersteunende systemen	39
6. Identificatie van cruciale lacunes in kennis	41
Pathogenese	41
Detectie van <i>Fusarium</i> soorten en door deze schimmels geproduceerde mycotoxinen	41
Veredeling	41
Epidemiologie	42
Toepassing van fungiciden	42
7. Further reading: algemeen toegankelijke <i>Fusarium</i> informatie	43
Literatuur	47

Voorwoord

De nota 'Fusarium in granen: identificatie van cruciale lacunes in kennis omtrent een internationaal probleem' werd geschreven in opdracht van het Gewasbeschermingsprogramma LNV337 en het Productschap voor Granen, Zaden en Peulvruchten. In deze nota wordt een kritische analyse gegeven van de huidige stand van zaken in het internationale Fusarium onderzoek in granen. De auteurs hebben zich vooral beperkt tot de situatie voor tarwe en in mindere mate gerst. De studie heeft een onderzoek-beleidsbepalend karakter en draagt op deze wijze nadrukkelijk bij aan de strategische inzet van expertise en middelen ten aanzien van Fusarium onderzoek in Nederland.

G.H.J. Kema
Wageningen, 17 December 2001

1. Pathogenese

Resistentietypen

Onderzoek naar de pathogenese van *Fusarium* in granen concentreert zich met name op het effect van i) resistentietypen en ii) van toxinen en celwandsplitsende enzymen. In de literatuur wordt onderscheid gemaakt tussen verschillende typen resistentie. Vrij algemeen wordt type I en type II resistentie onderscheiden. Dit onderscheid is al lang geleden gemaakt door Schroeder & Christensen (1963). Omdat in de literatuur nog drie, zij het veel minder gedefinieerde resistentietypen, worden genoemd heerst er grote onduidelijkheid omtrent het aantal te onderscheiden resistentietypen en vooral omtrent de genetische basis van de typen. Er is daardoor ook weinig zicht op de mogelijkheden om deze typen door middel van resistentieveredeling te combineren. Pritsch *et al.*, (2000) hebben een goede histologische studie uitgevoerd, waarin ook naar genexpressie van PR eiwitten werd gekeken. Zij hebben zich hier geconcentreerd op de eerste fase van de infectie en geven daarbij een goede beschrijving van de vijf actieve resistentietypen die gevonden worden bij de interactie *Fusarium graminearum* – tarwe: type I) Resistentie tegen initiële infectie, type II) Resistentie tegen verspreiding van de infectie, type III) Resistentie tegen korrelinfectie, type IV) tolerantie en type V) resistentie tegen mycotoxine accumulatie. Bushnell (2000) onderscheidt later in type III resistentie twee mogelijkheden; verminderde trichothecenen (toxine) accumulatie (deze eigenschap wordt ook soms bij type V ondergebracht) of verminderde korrel-kwaliteit. In zijn artikel legt hij de vinger bij de zere plek door aan te geven dat de huidige definities van resistentietypen heroverwogen moeten worden gezien de geringe kennis van de achterliggende resistentiemechanismen van tarwe tegen *F. graminearum*. Naast actieve resistentie wordt passieve resistentie beschreven, dit is gebaseerd op groei-eigenschappen die de kans beïnvloeden dat infectie optreedt, zoals stengellengte en timing van bloei.

Type II resistentie is relatief het meest uitvoering beschreven omdat er een koppeling lijkt te zijn met een aantal pathogenese-gerelateerde (PR)-eiwitten, ook wel antifungal proteïns (AFP's) genoemd, hoewel de PR-eiwitten ook een rol kunnen spelen in andere resistentietypen. Snelle screeningsmethoden zijn ontwikkeld om deze AFP's te testen in celsuspensie culturen van maïs (Hilburn *et al.*, 2000; Zeyen *et al.*, 2000). De expressie en het effect van PR-eiwitten is bekeken in de interacties *F. graminearum* en *F. culmorum* op tarwe, *F. verticillioïdes* op maïs en *F. graminearum*, *F. culmorum* en *F. poae* op gerst. Pritsch *et al.*, (2000; 2001) bestudeerden de expressie van een aantal genen die betrokken zouden kunnen zijn bij de activatie van een defensieve reactie van tarwe bij *F. graminearum* aantasting. Het betreft een peroxidase, en PR1-PR5. Deze genen worden zowel bij resistente als vatbare rassen aangeschakeld, en verhoogde expressie is ook gemeten in weefsels die niet in direct contact waren gekomen met hyfen van *F. graminearum*. De PR-eiwitten accumuleerden 6-12 uur post-inoculatie en bereikten hun hoogste waarde na 36-48 uur. Bij een resistent ras bleef de expressie hoog bij 48 uur, terwijl bij het vatbare ras op dat moment de expressie al weer afnam. Voor PR4 en PR5 (thaumatine-like proteïne) had het resistente ras een significant hogere expressie in vergelijking met het vatbare ras. Pritsch *et al.*, (2000; 2001) vermoeden ook een verband tussen ontwikkelingsstadia in infectie en PR-gen expressie. Caruso *et al.*, (1996; 1999) hebben vooral de expressie bestudeerd van PR-genen die een rol spelen bij infectie van kiemende tarwekorrels (*F. culmorum*/tarwe). Een deel van de PR-eiwitten lijken ook een normale functie te hebben in verschillende ontwikkelingsstadia tijdens de kieming. Tijdens pathogenese komen een aantal isovormen van deze eiwitten specifiek tot expressie als reactie op het pathogeen. Twee PR-eiwitten worden specifiek beschreven, wheatwin1 en 2, behorend tot de PR-4 eiwit-familie. Deze eiwitten hebben een remmende werking op *Botrytis cinerea*, *F. graminearum* en *F. culmorum*. Chen *et al.*, (1999) hebben 't1p', een thaumatine-like proteïne, constitutief tot expressie gebracht in tarwe. Zij zien veel heil in het combineren van PR-genen om resistentie tegen *F. graminearum* te vergroten. Het niveau van expressie van 't1p' in de planten die dit constitutief tot expressie brengen, is in niet geïnoculeerde planten zelfs hoger dan in wild-type planten die wel geïnoculeerd zijn. T1p's lijken de membraan doorlaatbaarheid en/of signaaltransductie pathways van het pathogeen te beïnvloeden. Het negatieve

effect van 'tlp' op de groei van het pathogeen is twee weken effectief en is ook stabiel gebleken in de drie volgende generaties transformanten.

Ook in de interactie *F. verticillioïdes*-maïs komen een aantal PR-eiwitten tot expressie. Murillo *et al.*, (1999) vinden vooral expressie van PRms (Pathogenese related maïs seed, een type I eiwit) tegen de hyfen aan, en concluderen ook dat er in de centrale cilinder van maïs-weefsel een barrière voor *F. moniliforme* is, aangezien het pathogeen alleen in de cortex voorkomt. Raventos *et al.*, (1994) stellen dat veel PR-eiwitten een aantal gemeenschappelijke kenmerken hebben; ze zijn van een laag MW, resistent tegen proteolytische digestie en selectief extraheerbaar bij een lage pH. Skadsen *et al.*, (2000) hebben een AFP in het endosperm van gerst gevonden, hordothionine (HTH). De groep wil HTH tot expressie brengen in de weefsels die als eerste in contact komen met *F. graminearum*, namelijk de lemma/palea en het pericarp. Zo kan het binnendringen van het pathogeen geremd worden. In Skadhauge *et al.*, (1997) wordt een mooie oplossing gevonden voor het probleem van flavonoïd vorming in gerst bij het bierbrouwen. Flavonoïde monomeren (anthocyanide en proanthocyanide) zijn effectief tegen schimmels, maar de aanwezigheid van deze flavonoiden zorgt voor een ongewenst eiwitprecipitaat tijdens het brouwproces. Knock-out mutanten voor flavonoidenvorming hadden een veel grotere ziekteaantasting, behalve in één geval. Deze mutant produceerde een zeer effectieve stof tegen *F. graminearum*, dehydroquercitine. Zo is er dus een mutant beschikbaar die geen problemen geeft bij het brouwen, en toch een zeer effectieve ziekteresistentie heeft. De (pro)anthocyaniden kunnen de volgende werking hebben; effectieve eiwit cross-linking, microbiële cellulases en xylanases worden geïnhibeerd, chelaatvorming van metalen (co-factoren weggevangen) en vorming van een harde fysieke barrière. Deze groep heeft ook een histologische studie gedaan naar de aantasting van de aren in gerst.

In deze literatuurstudie komen de resistentietypen III, IV en V niet of nauwelijks naar voren. Ondanks informatie over de uitbreiding van het pathogeen in de korrels, is er geen verschil in initiële infectie aangetoond. Type IV, tolerantie, wordt beschreven in Yates *et al.*, (1997). Aantasting van maïs door endofytische *F. verticillioïdes*-isolaten resulteert zelfs in een gestimuleerde groei. Een groot nadeel is echter, dat deze endofytische isolaten toxinen produceren, die zeer schadelijk kunnen zijn. Bovendien is er nauwelijks literatuur beschikbaar waarin de pathogenese mechanismen in tarwe en gerst wordt vergeleken. *F. graminearum* in gerst wordt slechts behandeld in een korte mededeling van Bushnell *et al.*, (2000). Daarin wordt beschreven dat het pathogeen zowel intercellulair als intracellulair koloniseert en dat chlorosevorming achterblijft bij de ontwikkeling van intercellulaire hyphen, die zich in gerstbladsegmenten sneller ontwikkelen dan intracellulaire hyfen. Artemenko *et al.*, (1999) bestudeerden het effect van *F. graminearum* gibberillinen op tarweplanten. Deze stoffen beïnvloeden het metabolisme van de tarweplanten, en stimuleren de ectofytische groei van het pathogeen. Het gibberilline is een compatibiliteitsfactor bij de invasie en voortgangsgroei van het pathogeen. Het effect van de endofytische infectie van maïs door *F. verticillioïdes* (Yates *et al.*, 1997) werd hierboven reeds beschreven.

De moleculaire achtergrond van de pathogenese van *Fusarium* is een vrijwel onontgonnen terrein. Di Pietro *et al.*, (2001) bestudeerden de expressie van fmk1, een mitogen geactiveerd proteïne kinase (MAPK) in *F. oxysporum*. Hoewel het hier geen pathogeen van tarwe of gerst betreft is deze studie wel relevant omdat de genen die hier worden beschreven in diverse andere plant-pathogeen combinaties cruciaal blijken voor de pathogeniteit van de desbetreffende schimmels. Disruptie van fmk1 heeft verregaande effecten op de pathogeniteit van het isolaat. Knock-outs blijken een verstoorde hydrofobine huishouding te hebben en kunnen niet meer hechten aan het worteloppervlak waardoor de mutant niet in de wortel kan groeien. Ook is de expressie van pectaat lyase (pI1) verminderd hetgeen de invasieve groei in tomatenvruchten sterk reduceert. De mutant kan gedeeltelijk worden gecompenseerd door een homolog, 'Pmk1', uit *Magnaporthe grisea*, de veroorzaker van bladplekkenziekte in rijst. Het fmk1 eiwit behoort tot de YERK1 subfamilie (yeast and fungal extracellular signal-regulated kinase). Deze groep eiwitten is belangrijk in de infectie-gerelateerde morfogenese en pathogeniciteit.

Toxinen en celwandsplitsende enzymen

Desjardins & Hohn (1997) hebben een review geschreven over toxineproductie in een aantal plant-pathogeen systemen, o.a. *Cochliobolus carborum* in maïs (HC-toxine), *C. heterostrophus* in maïs (T-toxine) en *C. victoriae* in haver (victorine). Knock-out mutanten waren flink gereduceerd in pathogenese. Er zijn 4 toxine-soorten beschreven: Ergot alkaloiden (*Claviceps purpurea* in graan), aflatoxinen (*Aspergillus flavus* in pinda's), trichothecenen (*Fusarium* spp. in granen, rijst en maïs) en fumonisinen (*F. verticillioïdes* in maïs). Er is waarschijnlijk een host-effect bij de aantasting van planten door toxine-producerende pathogenen. Dit is echter alleen te goed onderzoeken door het gericht aanbrengen van gendisrupties door middel van transformatie. Bij het screenen van knock-out mutanten moet er voldoende aandacht zijn voor het feit dat essentiële processen niet noodzakelijkerwijs verstoord zijn als gevolg van de mutagenese. Hierdoor kunnen enerzijds isolaten met een verstoorde toxinebiosyntheseroute toch pathogeen blijven of kan anderzijds een gereduceerde fitness van de mutanten resulteren in het onvermogen om een waard aan te tasten. Het maken en toetsen van revertanten is dan ook onontbeerlijk bij dergelijk onderzoek. Kang & Buchenauer (1999) hebben de timing en plaats van productie (en verspreiding) van desoxynivalenol (DON) en A-desoxynivalenol (ADON) door *F. culmorum* in tarwe onderzocht. Ze concluderen dat toxinen een belangrijke rol spelen bij de pathogenese en dat deze zich verspreiden in de plant via het floeëm en xyleem, ook zonder dat er daadwerkelijk schimmelweefsel aanwezig is. Hoge concentraties van de toxinen werden vooral rond het penetratiepunt gemeten. In een vervolgstudie hebben dezelfde auteurs de mogelijke rol van celwandsplitsende enzymen onderzocht. Zij komen hierin tot de conclusie dat de degradatie van cellulose, xylan en pectine in de celwanden van met *F. culmorum* geïnfecteerde tarwe een indirecte aanwijzing vormt voor de productie en functie van celwandsplitsende enzymen (Kang & Buchenauer 2000).

Toxinen kunnen een positief effect hebben op de pathogenese doordat zij de eiwitsynthese remmen en zo een negatieve invloed hebben op de afweerreactie. Volgens Adams & Hart (1989) is dit al het geval bij lage toxine-waarden. Zij zien voor DON en ADON echter geen rol als virulentie of pathogeniteitsfactor, evenals Logrieco *et al.*, (1990) die een relatie tussen productie van trichothecenen-vormen (DON's) en pathogeniteit niet konden aantonen. Nivalenol (NIV) en fumonisine (FUS) werden wel gedetecteerd *in vitro*, maar niet *in vivo*, en daar kan volgens hen uit geconcludeerd worden dat deze toxinen niet in de plant gevormd worden, of worden afgebroken, en dus geen cruciale rol spelen bij de pathogenese. Een andere mogelijkheid is dat deze toxinen zeer lokaal gevormd worden en daardoor moeilijk te detecteren zijn. Eudes *et al.*, (1997) constateerden een sterk verminderd uitgroeiend vermogen in een isolaat waarin de trichothecenen productie werd uitgeschakeld. Volgens deze groep is er dus toch een duidelijke rol voor toxinen tijdens de pathogenese, mede door het sterke fytoxische effect. Zij stellen dat er, door te selecteren op resistentie tegen de trichothecenen-mix, resistentie tegen *Fusarium* head blight gevonden kan worden.

2. Detectie van *Fusarium* soorten en door deze schimmels geproduceerde mycotoxinen

Het geslacht *Fusarium* is een bonte verzameling van plantpathogene en saprophytische schimmels, waarvan de taxonomische indeling gedurende decennia aan veranderende inzichten onderhevig is. Door deze veranderingen worden soorten samengevoegd dan wel opgesplitst en vaak ook van een andere naam voorzien. Tabel 1 is in dit overzicht ingevoegd om eventuele misverstanden op dit terrein te voorkomen. Grofweg zijn er twee groepen *Fusarium* soorten die vanuit toxicologisch oogpunt voor deze studie van belang zijn. De groep van *Gibberella fujikuroi*, waarin vooral producenten van m.n. fumonisine voorkomen, hebben in het algemeen een beperkte, maar specifieke waardplantenreeks. De tweede groep betreft de soorten die voornamelijk zijn terug te vinden op 'small grains'. Het betreft hier vaak een complex van morfologisch zeer slecht onderscheidbare soorten, die vooral mycotoxinen van de klasse van trichothecenen produceren. Diverse isolaten van dit complex, zoals *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*, en *F. sporotrichioides* produceren bovendien aanvullende mycotoxinen zoals zearalenone en afgeleiden en moniliformin (Tabel 1).

Bij de identificatie en detectie van toxine producerende schimmels dienen verschillende facetten te worden onderscheiden, die hier de revue zullen passeren. Naast identificeren van de soort is het ook belangrijk te bepalen hoeveel van deze soort aanwezig is en of er sprake is van een mengsel van verschillende, al dat niet toxinen producerende, soorten. Klassieke methoden van detectie betreffen het visueel beoordelen van partijen (Hormdock *et al.*, 2000), het tellen van geïnfecteerde aren (Lacy *et al.*, 1999) of pakjes (Hilton *et al.*, 1999) en het van tellen van door *Fusarium* aangetaste (Jones & Mirocha, 1999) of geïnfecteerde korrels. (Hormdock, 2000). Deze methoden hebben alle het grote nadeel dat hiervoor veel ervaring vereist is (Desjardins *et al.*, 2000). Getrainde fytopathologen bleken veel efficiënter in het verwijderen van alleen de besmette korrels dan ongetrainden (Desjardins *et al.*, 2000). Daarnaast is de correlatie tussen deze kenmerken en de hoeveelheid mycotoxine (DON en/of NIV) over het algemeen niet erg goed, met name wanneer fungiciden werden toegepast (Edwards *et al.*, 2001). Detectie van mycotoxinen in het geoogste product is uiteindelijk het meest betrouwbaar, maar op dat moment is niets meer uit te richten, aangezien met trichothecenen besmet graan niet meer opgeschoond kan worden (De Nijs, 1997). Een vroegtijdige detectie van de toxinen producerende schimmels tijdens de teelt maakt het mogelijk een fungicidebehandeling toe te passen om het risico van mycotoxinen in het te oogsten product te reduceren. Het mogelijke verschil in gevoeligheid van verschillende (zowel DON-producerende als niet-producerende) *Fusarium* soorten voor diverse fungiciden maakt het uiterst belangrijk de aanwezige soorten te identificeren.

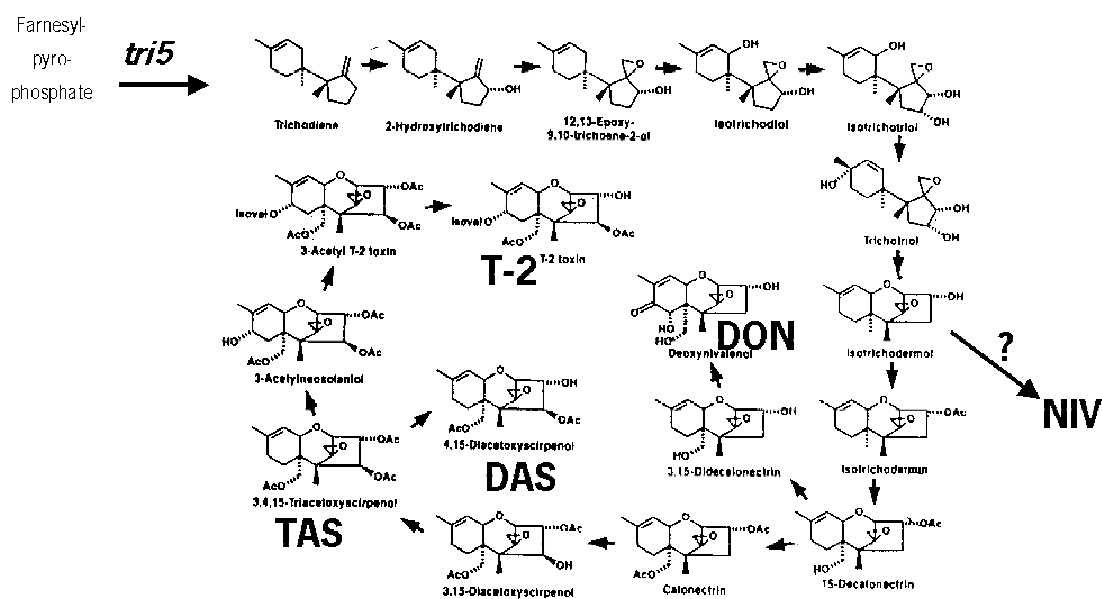
Detectie van de schimmel

Identificatie

Klassieke identificatie is gebaseerd op determinatie volgens morfologische kenmerken, maar het voorkomen van atypische isolaten maakt deze methode minder betrouwbaar zodat identificatie steeds vaker plaats vindt met behulp van moleculaire kenmerken. Moleculaire identificatie van *Fusarium* soorten in het algemeen, en toxine-producerende *Fusarium* soorten in het bijzonder, is meestal gebaseerd op fingerprints. De Nijs *et al.*, (1997), Ouellet & Seifert (1993), Schilling *et al.*, (1996), Yoder & Christiansen (1998) en vele anderen gebruiken RAPDs voor het genereren van zulke fingerprints. Deze methode is echter sterk afhankelijk van de kwaliteit van het DNA dat als template in de reactie wordt gebruikt, en derhalve niet erg geschikt voor grootschalige toepassing. Andere fingerprint technieken, zoals SCARs, RFLPs, ITS-RFLPs en AFLPs geven veel betrouwbaarder patronen, hoewel

ITS-RFLPs vaak niet voldoende discriminerend zijn (Schilling *et al.*, 1996). Moleculaire taxonomie met behulp van sequentiegegevens van specifieke regio's in het genoom heeft een veel groter onderscheidend vermogen dan de op uiterlijke kenmerken gebaseerde taxonomie. Hierdoor is het aantal *Fusarium* soorten momenteel explosief aan het toenemen. Een goed voorbeeld hiervan is het *Gibberella fujikuroi* complex, dat een aantal belangrijke fumonisine producerende *Fusarium* soorten bevat. Deze groep bevatte tot voor kort zes *Fusarium* soorten met elk een eigen toxineprofiel en waardplantenreeks. Ten gevolge van moleculaire taxonomie is dit aantal inmiddels toegenomen tot 46 soorten (O'Donnell *et al.*, 1998). Dezelfde technologie is door O'Donnell *et al.*, (2000) gebruikt om *F. graminearum* te analyseren. *F. graminearum* blijkt uit zeven verschillende lijnen te bestaan, die ieder een eigen geografische herkomst hebben. Sommige van deze lijnen hebben fytopathologische en toxicologische karakteristieken, waardoor geconcludeerd moet worden dat hier feitelijk sprake is van verschillende soorten. Een nadere beschrijving van deze lijnen zal ongetwijfeld leiden tot nieuwe soorten, zoals dat ook is gebeurd voor de type I isolaten van *F. graminearum* (Aoki & O'donnell, 1999). Kruisreacties tussen de reeds beschreven soorten en deze 'soorten in ontwikkeling' en de epidemiologische relevantie ervan is voor de graanteelt onvoldoende onderzocht.

De gedeeltelijke opheldering van de biosynthese route voor trichothecenen (Figuur 1) en de identificatie van verschillende genen uit deze route, maakt specifieke identificatie van trichothecenen producenten mogelijk. Het enzym trichodiene synthase verzorgt de eerste stap in de route naar trichothecenen (TCTCs). Met name het *tri5* gen, dat codeert voor dit enzym wordt momenteel veel gebruikt voor een specifieke identificatie van TCTC-producenten. (Edwards *et al.*, 2001, Mulfinger *et al.*, 2000, Nicholson *et al.*, 1996; 1998 en Niessen *et al.*, 1997; 1998).



Figuur 1. Biosyntheseroute leidend tot trichothecenen in *Fusarium*. Farnesyl pyrofosfaat wordt door trichodiene synthase, gecodeerd door het *tri5* gen, omgezet in trichodiene (Alexander *et al.*, 1997). De route naar Nivalenol (NIV) is nog niet opgehelderd.

Kwantitatieve detectie van de schimmel

Kwantitatieve detectie van diverse *Fusarium* soorten is momenteel niet mogelijk. Dit is een belangrijke reden om in het HPA2 project een kwantitatieve methode te ontwikkelen zodat dit mogelijk wordt. Semi-kwantitatieve methoden die nu gebruikt worden (m.n. in de UK) berusten op een competitieve PCR reactie, waarbij een interne standaard aan het reactiemengsel voor de PCR wordt toegevoegd. Hierbij wordt echter voorbijgegaan aan verschillen in extractie-efficiëntie van diverse DNAs, zoals DNA van de waardplant en van de koloniserende schimmel.

Detectie van expressie van genen betrokken bij mycotoxine productie

Detectie van de expressie van genen uit de biosynthese-route voor trichothecenen wordt momenteel gebruikt als indicator voor mycotoxinencontaminaties. Hiervoor is door Doohan *et al.*, (1999) een RT-PCR procedure ontwikkeld, die het *tri5* mRNA gebruikt als target voor de amplificatie. Daarnaast is inmiddels ook een NASBA protocol ontwikkeld op basis van hetzelfde *tri5* gen (Klerks *et al.*, 2000). Aangezien na deze eerste stap nog een groot aantal reacties volgt alvorens deze mycotoxinen worden gevormd, is het van essentieel belang de correlatie tussen *tri5* gen-expressie en mycotoxine-productie te bepalen. Genen verder downstream in de biosyntheseroute, of genen die onderscheid maken tussen DON en NIV enerzijds en T2-toxine anderzijds geven een robuustere predictie van de aanwezigheid van de verschillende mycotoxinen.

Detectie van toxinen

Detectiemethoden voor mycotoxinen zijn te verdelen in extractiemethoden, monstervoorbereiding en de uiteindelijke bepaling.

Extractie van mycotoxines

DON, NIV en andere trichothecenen zijn relatief polaire verbindingen en kunnen goed via waterige oplossingen worden uitgeschud. Wel is gebleken dat natuurlijk besmette monsters moeilijker te extraheren zijn dan monsters waaraan DON als controle werd toegevoegd (Trenholm *et al.*, 1985). Een overzicht van de gangbare methodieken voor de verschillende type B-TCTCs, waaronder DON en NIV de belangrijkste zijn, is weergegeven in de Tabellen 2 en 3. Extractie van zearalenone (ZEA) en derivaten van dit mycotoxine vindt meestal plaats met behulp van een mengsel van organische oplosmiddelen en water of waterige zuren. Tabellen 4 en 5 geven een overzicht van de meest gangbare methoden voor kwantitatieve analyse vantage A-TCTCs, zoals T-2 toxine en HT-2 toxine.

Monstervoorbereiding

Voor de monsters kunnen worden geanalyseerd moeten zij eerst worden ontdaan van allerlei interfererende componenten zoals lipiden, die uit het substratum afkomstig zijn. Uit de Tabellen 2 t/m 7 blijkt duidelijk dat de matrix waaruit de mycotoxines worden geëxtraheerd grote invloed heeft op de recovery. Daarom zijn verschillende 'clean-up' methoden voorhanden, die na de extractie worden toegepast. Dit betreft methoden zoals vloeistof-vloeistof extractie, vaste fase extractie, kolomchromatografie en immunoaffiniteitskolommen. De meest gebruikte methode voor de monstervoorbereiding voor ZEA zijn immunoaffiniteitskolommen. Helaas zijn deze kolommen specifiek voor elk toxine zodat een simultane monstervoorbereiding niet mogelijk is.

Detectie van mycotoxines

Gas-chromatografie (GC) is de meest gangbare methode voor de bepaling van trichothecenen (zie Tabellen 2 en 3). Vaak wordt deze methode gekoppeld aan massa-spectroscopie (GC-MS), electron-capture detection (GC-ECD) of flame-ionisatie detectie (GC-FID) (Tabel 3). ZEA wordt voornamelijk gedetecteerd door HPLC gekoppeld aan fluorescentie detectie (HPLC-FLD) en HPLC-MS, maar GC-MS wordt ook toegepast, zodat simultane detectie van trichothecenen en ZEA mogelijk is. Tot zeven verschillende TCTCs en ZEA kunnen tegelijkertijd worden aangetoond in minder dan 37 minuten (Tanaka *et al.*, 2000).

Ringonderzoek

Ringonderzoek tussen verschillende laboratoria in diverse Europese landen heeft recent laten zien dat er behoefte bestaat aan verbetering van de bepaling van TCTCs om meer vergelijkbare resultaten te krijgen. Eenzelfde conclusie werd ook getrokken uit door TNO gecoördineerd onderzoek in Nederland. Derhalve bestaat er een dringende behoefte aan gecertificeerde referentiemonsters en standaarden om onderlinge vergelijkingen te vereenvoudigen. Daarnaast is er een grote behoefte aan simpele en betrouwbare methoden voor de snelle detectie van TCTCs tegen een acceptabele prijs.

Kits voor DON, T-2 en ZEA en hun toepassingen

Resultaten van het gebruik van kits voor de screening van respectievelijk type B-TCTCs en type A-TCTCs door de verschillende onderzoeksgroepen zijn samengevat in de Tabellen 6 en 7. Een selectie van producenten en adressen van commercieel verkrijgbare kits zijn vermeld in Tabel 8 en een overzicht van de snelheid van analyse van deze kits is vermeld in Tabel 9.

Tabel 1. *Fusarium* soorten en de mycotxines die door deze soorten kunnen worden geproduceerd.

Species	Mating population	Host	Fumonisin	Beauvericin	Fusaproliferin	Moniliformin	Zearalenone	Trichothecenes
<i>Gibberella fujikuroi</i> complex								
<i>Fusarium verticillioides</i>	MP-A	Maize	++					-
<i>Fusarium sacchari</i>	MP-B	Sugarcane	±	+				-
<i>Fusarium fujikuroi</i>	MP-C	Rice		+		+		-
<i>Fusarium proliferatum</i>	MP-D	multiple	++	+	+	+		-
<i>Fusarium subglutinans</i>	MP-E	Maize			+	+		-
<i>Fusarium thapsinum</i>	MP-F	Sorghum	±			+		-
<i>Fusarium nygamai</i>	MP-G	Soil						
<i>Fusarium circinatum</i>	MP-H	Pine						
<i>Fusarium</i> species found in cereals								
<i>Fusarium culmorum</i>		Wheat	-	-	-	+	+	DON, NIV
<i>Fusarium graminearum</i>		Wheat,maize	-	-	-	+	+	DON, NIV
<i>Fusarium poae</i>		Wheat	-	-	-			NIV, T-2
<i>Fusarium avenaceum</i>		Wheat	-	-	-	+	+	-
<i>Fusarium sporotrichioides</i>		Wheat	-	-	-			T-2, HT-2
<i>M nivale</i>		Wheat	-	-	-	-	-	-

Tabel 2. Kwantitatieve vloeibaar chromatografische methoden voor de detectie van *B-trichothecen*, in het bijzonder DON (zie voor literatuur referenties Kryka et al., 2001).

Reference	Matrix	Extraction	Clean-up	Separation, detection	Toxins assayed	LOD/LOQ	Recovery (%)
A. Veldman	Feed	CH ₃ CN-H ₂ O	Celite- charcoal-alumina	HPLC-UV	DON	100-500	60-86
M.W. Trucksess et al.	Wheat, flour and bran	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	HPLC-UV	DON	500	87-97
M. Reutter	Cereals feed	CH ₃ CN-H ₂ O	Charcoal-alumina-celite-immunoaffinity column	HPLC-UV	DON	50-100	NA
DONtest HPLC	Cereals	PEG-salt water	Immunoaffinity column	HPLC-UV	DON	100	NA
R. Schuhmacher et al.	Wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	HPLC-DAD	DON	500	79
A. Sano et al.	Maize, wheat, barley	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil and CN-SepPak	HPLC-FLD (methyl acetate)	DON NIV FUS-X	20	70
U. Berger et al.	Wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	HPLC-MS	DON FUS-X 3-AcDON	3-6, 1-10	86-98, 80-113
L.M. Cahill et al.	Wheat	H ₂ O-PEG	DONtest	HPLC-UV	DON	100	81-100
E. Razzazi-Fazeli et al.	Wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	HPLC-APCI-MS	DON NIV	40-50	70-86

LOD, Limit of detection

LOQ, Limit of quantification

Tabel 3. Kwantitatieve gaschromatografische methoden voor de detectie van *B-trichothecenen*, in het bijzonder DON (zie voor literatuur referenties Krška *et al.* 2001).

Reference	Matrix	Extraction	Clean-up	Separation, detection	Toxins assayed	LOD/ LOQ	Recovery (%)
H. Van Egmond	Wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	GC-FID	DON, T-2, HT-2	25	96-103
R. Josephs <i>et al.</i>	Wheat	SFE	SFE	GC-ECD	DON	1600	53
B. K. Tacke <i>et al.</i>	Wheat, barley, malt	CH ₃ CN-H ₂ O	C ₁₈ alumina	GC-ECD (TMS)	DON	50	94-100
J. Weingärtner <i>et al.</i>	Wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	GC-ECD (Tri-Sil-TBT)	DON, NIV, 3-AcDON, 15-AcDON, FUS-X	33	66-102
M. Croteau <i>et al.</i>	Corn	CH ₃ CN-H ₂ O, shake 2.5 h	Charcoal- alumina	GC-ECD (DMAP, HFBA)	DON	50	73-108
V. Seidel <i>et al.</i>	Wheat, corn	MeOH-H ₂ O	Florisil-C ₁₈	GC-ECD (HFB)	DON	3.5	75-80
H. Pettersson, H. Stenwig <i>et al.</i>	Barley, oats, wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Charcoal- alumina	GC-ECD (TMS)	DON, NIV	10	90
Y. Luo <i>et al.</i>	Wheat, corn	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil	GC-ECD (TMS)	DON, NIV	5	97-103
T. Möller <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN- EtOAc-H ₂ O	Florisil- SepPak	GC-ECD (Tri-Sil-TBT)	DON, NIV, FUS-X 3-AcDON	NA	72-111
R. Krška <i>et al.</i>	Wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	GC-ECD (Tri-Sil-TBT)	DON	23-41	76-107
F. Kotal <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O, CH ₃ CN-MeOH	GPC BioBeads S-X3	GC-ECD (TFAA)	DON, NIV, FUS-X	40-100	78-88
D. Lauren <i>et al.</i>	Corn	CH ₃ CN- MeOH-H ₂ O	Alumina-cation-resins- Celite	GC-ECD (TFAA) HPLC-UV	DON, NIV	20-30	55-103
T. Tanaka <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil	GC-ECD (TMS)	DON, NIV	1	88-91
W. Liu <i>et al.</i>	Wheat, barley, oats	CH ₃ CN-H ₂ O	Charcoal-alumina- Celite	GC-ECD (TMS)	DON, NIV, 3-AcDON	30-50	NA

Vernolg Tabel 3.

Reference	Matrix	Extraction	Clean-up	Separation, detection	Toxins assayed	LOD/ LOQ	Recovery (%)
V. Hietaniemi <i>et al.</i>	Cereals, feed	MeOH-H ₂ O	Silica gel Florisil-C ₁₈	GC-MS (TMS)	DON, NIV FUS-X 3-AcDON	5	72-128
T. Tanaka <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil	GC-MS	DON, NIV T-2	5-10	81-84
F. Groves <i>et al.</i>	Corn	CH ₃ CN-H ₂ O	Alumina-C ₁₈	GC-MS (TMS)	DON, NIV, 3-AcDON, 15-AcDON	500	80-100
K.A. Scudamore	Corn	CH ₃ CN-4% KCl	Charcoal- alumina	GC-MS (TFAA)	DON, NIV, FUS- X	10	72-80
C. Mirocha	Wheat, barley	CH ₃ CN-H ₂ O	C ₁₈ -alumina	GC-MS (TMS, TCMS)	DON	NA	87-97
J.C. Park <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil	GC-MS (TMI-TMA-TMCS)	DON, NIV	15	83-89
P.M. Scott	Wheat, corn	NA	Charcoal-C ₁₈	GC-MS (TMS, HFB)	DON, NIV	7-100	48-96
Y. Onji <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O	BondElut, Florisil	GC-MS (on-column)	DON, FUS-X, 3-AcDON	100-500	49-82
K. Schwadorf, H.M. Muller	Wheat, barley, oats, corn	CH ₃ CN-H ₂ O	Liquid-liquid extraction with <i>n</i> -hexane + Florisil	GC-MS	DON, NIV, 3-AcDON,	1-5	78-89
M. Schollenberger <i>et al.</i>	Cereals, food, Feed	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil-BondElut CBA	GC-MS (TFA)	DON, FUS-X, 15-AcDON, 3-AcDON, NIV	5-12	71-120
R. Kostianen, S. Nokelainen	Oats	MeOH-H ₂ O	Florisil	GC-MS	DON	5-50	NA

Vervolg Tabel 3.

Reference	Matrix	Extraction	Clean-up	Separation, detection	Toxins assayed	LOD/ LOQ	Recovery (%)
W. Langseth, T. Rudberger	Grains	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	GC-MS (PFPA)	DON, NIV	20	72-90
T. Tanaka <i>et al.</i>	Wheat, corn	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil	GC-MS (TMS)	DON, 3-AcDON, NIV, FUS-X	5-10	84-88

Tabel 4. Kwantitatieve vloeibaar chromatografische methoden voor de detectie van A-trichothecenen, in het bijzonder T-2 and HT-2 toxine (zie voor literatuur referenties Krska et al., 2001).

Reference	Matrix	Extraction	Clean-up	Separation, detection	Toxins assayed	LOD/ LOQ	Recovery (%)
U Berger <i>et al.</i>	Wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	HPLC-MS	T-2 HT-2	1	87-90
E. Rajakylä <i>et al.</i>	Wheat, rye	CH ₃ CN	BondElut	HPLC-MS	T-2 HT-2	250-1000	89-90

Tabel 5. Kwantitatieve gaschromatografische methoden voor de detectie van *A-Trichothecenen*, in het bijzonder T-2 and HT-2 toxine (zie voor literatuur referenties Krzka et al. 2001).

Reference	Matrix	Extraction	Clean-up	Separation, detection	Toxins assayed	LOD/ LOQ	Recovery (%)
H. Pettersson	Barley, oats, wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Charcoal-alumina	GC-ECD (TMS)	T-2 HT-2	10-50	NA
Y. Luo <i>et al.</i>	Wheat, corn	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil	GC-ECD (TMS)	T-2 HT-2	100	97-103
R. Josephs	Wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	GC-ECD (HFBI)	T-2 HT-2	10	100-117
F. Kotal <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O	GPC	GC-ECD (TFAA)	T-2 HT-2	100-200	91-105
M. Croteau <i>et al.</i>	Corn	CH ₃ CN-MeOH CH ₃ CN-H ₂ O, shake 2.5 h	BioBeads S-X3 Charcoal-alumina	GC-ECD (DMAP, HFBA)	T-2 HT-2	50-100	70-121
T. Möller <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN- EtOAc- H ₂ O	Florisil- SepPak	GC-ECD (TRI-SIL-TBI)	T-2 HT-2	NA	71-94
M. Schollenberger	Cereals, food, feed	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil- BondElut CBA	GC-MS (TFA)	T-2 HT-2	2-5	74-110
Y. Onji <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O	BondElut Florisil	GC-MS (on-column)	T-2	100-500	98
Y. Onji <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O	BondElut Florisil	GC-MS (on-column)	T-2	100-500	98
F. Groves <i>et al.</i>	Corn	CH ₃ CN-H ₂ O	Alumina-C ₁₈	GC-MS (TMS)	T-2 HT-2	500	80-100
K.A. Scudamore	Corn	CH ₃ CN-4%KCl	Charcoal-alumina	GC-MS (TFAA)	T-2 HT-2 DAS	10	21-103
V. Hietaniemi	Cereals, feed	MeOH-H ₂ O	Silica gel- Florisil-C ₁₈	GC-MS (TMSI)	T-2 HT-2	15	72-128
J.C. Park <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil	GC-MS (TMI-TMA-TMCS)	T-2	15	83

Vernold Table 5.

Reference	Matrix	Extraction	Clean-up	Separation, detection	Toxins assayed	LOD/ LOQ	Recovery (%)
P.M. Scott	Wheat, corn	NA	Charcoal-C ₁₈	GC-MS (TMS, HFB)	T-2 HT-2	NA	88-93
T. Tanaka <i>et al.</i>	Wheat, corn	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil	GC-MS (TMS)	T-2	5	92-93
W. Langseth, T. Rudberget	Grains	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	GC-MS (PFPA)	T-2 HT-2	20	90-91

NA - not available

Tabel 6. Screening methoden for B-trichothecenen, in het bijzonder DON (zie voor literatuur referenties Kraska et al. 2001).

Reference	Matrix	Extraction	Clean-up	Separation, detection	Toxins assayed	LOD/ LOQ	Recovery (%)
B.R. Malone <i>et al.</i>	Wheat, barley, corn, bran, oats	CH ₃ CN-H ₂ O	Mycosep	Fluorimetric determination after derivatization	DON	100	NA
DONtest TAG test kit	Cereals	PEG-salt water	Immunoaffinity column	Fluorimetric determination	DON	150	NA
C. Fernandez <i>et al.</i>	Wheat, corn, food, feed	CH ₃ CN-H ₂ O	Charcoal-alumina-celite	TLC	DON, NIV, FUS-X	20-300	72-99
T. Romer	Wheat, barley, oats, corn	Distilled water	None	ELISA	DON	500	NA
Ridascreen DON	Wheat, maize, cereals, feed	CH ₃ CN-H ₂ O	Acetylation	ELISA	Sum of DON 3-AcDON, 15-AcDON	1.25	100-102, 80-90
R. Sinha <i>et al.</i>	Wheat, corn	MeOH-H ₂ O	None	ELISA	DON, 15-AcDON	250	NA
M. Abouziad, Veratox test	Cereals, wheat, barley, corn, oats	H ₂ O	None	ELISA	DON	20-500	NA
L. Scheider <i>et al.</i>	Wheat	CH ₃ CN-H ₂ O	None	ELISA (IgY)	DON	160	104-120
C.E.N. Mills <i>et al.</i>	Wheat	60% MeOH	None	ELISA	DON	100	NA
E. Ustleber <i>et al.</i>	Wheat	MeOH-H ₂ O	Ethyl acetate	ELISA	DON	4.5 ng/mL ⁻¹	71-79

Tabel 7. Screening methoden voor *a-trichothecenen*, in het bijzonder voor T-2 and HT-2 toxine (zie voor literatuur referenties Krška *et al.*, 2001).

Reference	Matrix	Extraction	Clean-up	Separation, detection	Toxins assayed	LOD / LOQ	Recovery (%)
Ridascreen T-2 Toxin	Wheat, maize, cereals, feed	MeOH-H ₂ O	None	ELISA	T-2	3.5	100-102, 80-90
O. Kawamura <i>et al.</i>	Cereals	CH ₃ CN-H ₂ O	Florisil	ELISA	T-2	0.2	NA
E. Märtbauer <i>et al.</i>	Milk	MeOH	None	ELISA	T-2	0.5	68-98
I. Barna-Vetro <i>et al.</i>	Cereals	89% CH ₃ CN	None	ELISA	T-2	50	85
C.H. Yang <i>et al.</i>	Wheat	CHCl ₃ -EtOH	Charcoal-alumina	ELISA	T-2	NA	NA
T-2 TAG	Cereals	PEG-salt water	Immunoaffinity column	Fluorimetric determination	T-2	150	NA

Tabel 8. *Commerciële immunologische kits (en specificaties) voor de analyse van mycotoxinen. Approval status.*

Manufacturer	Mycotoxin type / Trade name	Immunoassay format	Matrix	Sensitivity	Reference	Analysis
Vicam, LP ¹	Deoxynivalenol (DON; DONtest TAG)	IAC	Feeds, foods, grains, nuts, coffee, beer	0.5 ppm by fluorometry	D/A	
	Deoxynivalenol (DONtest HPLC)	IAC	Feeds, foods, grains, nuts, coffee, beer	100 ppb by HPLC; wheat	Cahill <i>et al.</i> ,	Quan
	T-2 (tricothecene) (T-2 TAG)	IAC	Grains, feeds	0.15 ppm by fluorometry	D/A	
	Zearalenone (Zearala Test)	IAC	Feeds, cereals	100 ppb by fluorometry, or 2.5 - 1 - ppb	Kruger <i>et al.</i> ,	Quan
Rhone Diagnostics Technologies Ltd. ²	Zearalenone (Zearaplate)	Microtitre plate ELISA	Feeds, cereals	25 ppb	N/A	Quan
International Diagnostics systems corp. ³	DON	Microtitre plate ELISA	Agricultural products	250 ng/ml	N/A	Quan
	DON (Agri-Screen)	Microtitre plate ELISA	Agricultural products	< 500 ppb	USDA	Q
	DON (Veratox) ⁶	Microtitre plate ELISA	Agricultural products	0.2 - 40 ppm, wheat, barley, malt	Tacke & Casper	Quan

Vernolg Tabel 8.

Manufacturer	Mycotoxin type / Trade name	Immunoassay format	Matrix	Sensitivity	Reference	Analysis
Neogen Corporation ⁴	DON (Agri-Screen)	Microtitre plate ELISA	Agricultural products	< 500 ppb	USDA	Q
	DON (Veratox) ⁶	Microtitre plate ELISA	Agricultural products	0.2 - 40 ppm, wheat, barley, malt	Tacke & Casper	Quan
	Zearalenone (Agri-Screen) ⁶	Microtitre plate ELISA	Agricultural products	> 800 ppb, com, wheat and pig feed	Bennett <i>et al.</i>	Q/SQ
R-Biopharm Ltd ⁵	DON (Ridascreen)	Microtitre plate ELISA	milk products	1.25 ppb, cereals/feeds 6 ppb, beer	D/A	Quan
	T-2 Toxin (Ridascreen)	Microtitre plate ELISA	milk products	3.5 ppb, cereals	D/A	Quan
	Zearalenone (Ridascreen)	Microtitre plate ELISA	milk products	1250 ppt, cereals/feeds 250 ppt, beer	D/A	Quan
	DON (Ridascreen EXPRESS)	Microtitre plate ELISA	Cereals, malt, feed	Standards: 0.5,1,2,5 ppm	D/A	S/Q

¹ Vicam, LP, 313 Pleasant Street, Watertown, MA 02472, USA, www.vicam.com

² Rhone Diagnostics Technologies Ltd., West of Scotland Science, Unit 306 Kelvin Campus, Maryhill Road, Glasgow G20 0SP, UK www.rhone-diagnostics.co.uk

³ International Diagnostics systems corp., www.ids-kits.com

⁴ Neogen Corporation, www.neogen.com

⁵ R-Biopharm Ltd, www.r-biopharm.co.uk

⁶ Approval status, AOAC

Bron: Agram report DS 214

Tabel 9. De belangrijkste mycotoxinen en details met betrekking tot hun detectie.

Target	Trade name	Company	Substrate	Format	Assay sensitivity	Results	Time	Approval
DON	DON test TAG	Vicam	Various	Affinity column	0.5 ppm - 5 ppm	Quantitative	Less than 15 minutes	n/a
DON	DON test HPLC	Vicam	Various	Affinity column	0.10 ppm - 10 ppm	Quantitative	Less than 10 minutes	n/a
DON	Veratox	Neogen	Grain, silage	CD ELISA	0.3 ppm	0.5-6 ppm	20 minutes	AOAC license
DON	Veratox 5/5	Neogen	Grain, silage	CD ELISA	0.3 ppm	0.5-6 ppm	10 minutes	n/a
DON	AgriScreen	Neogen	Various	CD ELISA	n/a	0.5-6 ppm	12-20 minutes	USDA/GIPSA
DON	Plate, HS & Tube	Beacon	n/a	ELISA, Coated tube	n/a	n/a	n/a	n/a
T-2	T-2 TAG	Vicam	Various	Affinity column	0.15-2 ppm	Quantitative	Less than 20 minutes	n/a
T-2	Veratox	Neogen	Corn, hay, various	CD ELISA	50 ppb	150-1500 ppb	20 minutes	n/a
Zearalenone	ZearaTest	Vicam	Various	Affinity column	0-50 ppm	Quantitative	Less than 15 minutes	n/a
Zearalenone	Veratox	Neogen	Various	CD ELISA	125 ppb	Quantitative	20 minutes	AOAC
Zearalenone	Easi-Extract	Rhône-Diagnostics	All cereals and feed	Affinity column	< 5 ppb	Quantitative	30 minutes	n/a

Bron: *Agron report DS 214*

3. Veredeling

Inleiding

Historisch gezien is resistentieveredeling is een zeer succesvolle manier om ziekten en plagen in gewassen het hoofd te bieden. In veel gevallen heeft resistentieveredeling geleid tot het uitbannen van de betreffende ziekten. Het is dan ook niet verwonderlijk dat er in belangrijke plant-pathogeen combinaties veel aandacht is voor resistentieveredeling. Echter, resistentieveredeling biedt niet altijd een definitieve oplossing. Bekend is de aanpassing van sommige schimmels aan plantresistentie, waardoor de resistentie zijn effectiviteit verliest. De resistentie wordt dan doorbroken en is niet duurzaam. De verschillende vormen van het pathogeen worden dan fysio's genoemd. Deze ontwikkeling bemoeilijkt resistentieveredeling, omdat er zicht moet zijn op de verschillende fysio's. Om bruikbaar te zijn moet een eventuele nieuwe resistentie werkzaam zijn tegen alle in het veld voorkomende fysio's. Met behulp van resistentiemanagement -een uitgekiend gebruik van beschikbare resistentiegenen- kan een gewas ook met al doorbroken resistenties tot op zekere hoogte beschermd worden.

Een ander probleem kan zijn dat er onvoldoende genetische variatie voor resistentie voorhanden is. Een uitgebreide toetsing van resistentie in wilde verwanten kan dan uitkomst bieden. In een aantal gevallen zijn interspecifieke of zelfs intergenerieke kruisingen nodig om de resistentie over te kunnen brengen naar een cultuurgewas. Soms hebben resistente wilde verwanten van een cultuurgewas slechte agronomische eigenschappen. Het inkruisen van resistentie uit dergelijke verwanten in moderne rassen met behoud van alle gewenste eigenschappen kost dan veel tijd. Dat geldt vooral als de resistentie op meerdere genen berust. Efficiënte selectiemethoden zijn dan noodzakelijk om de aanwezige resistenties te kunnen exploiteren. Om snel en goed te kunnen screenen zijn toetsmethoden nodig, die herhaalbaar, betrouwbaar (d.w.z. overeenkomen met de praktijk), nauwkeurig (d.w.z. ook kleinere verschillen in resistentie aantonen) en goed praktisch uitvoerbaar zijn. Snelle zaailingtoetsen of -tegenwoordig steeds meer- merker gestuurde selectie bieden uitkomst.

Toepassing van biotechnologie biedt nieuwe mogelijkheden. Met behulp van genetische modificatie kunnen genen tot expressie gebracht worden in cultuurgewassen van zeer diverse -zelfs synthetische- oorsprong. Tegen virussen en insecten zijn ondertussen veelbelovende genen voorhanden. Ondanks veel onderzoek is dat voor schimmels slechts beperkt het geval. Maatschappelijke discussies over gemodificeerde voedingsgewassen hebben echter tot gevolg dat deze moleculaire technieken maar in een beperkt aantal gewassen toegepast worden en dat bedrijven terughoudend zijn het aantal gewassen uit te breiden.

Ook aan *Fusarium* in granen wordt wereldwijd veel resistentieonderzoek gedaan. De onderliggende gedachte is dat door resistentie niet alleen de oogstzekerheid zal toenemen, maar dat ook het myco-toxineprobleem opgelost zal worden. De huidige inventarisatie biedt inzicht in de stand van zaken in het onderzoek naar resistentieveredeling. Een overzicht wordt gegeven welke toetsmethoden voorhanden zijn, in welke bronnen resistenties gevonden zijn, wat bekend is over de fysiologische achtergrond van de resistentie, hoeveel informatie er is over de genetica van de resistentie en of onderzocht is wat het effect is van resistentie op toxinevorming in de plant. Verder wordt aandacht gegeven aan efficiënte selectiemethoden, duurzaamheid van resistentie en eventuele fysiovorming bij de schimmel.

Toetsmethoden

Verschillende onderzoeksgroepen gebruiken verschillende toetsmethoden. De meeste groepen toetsen in het veld, enkele andere groepen toetsen in de kas. In het veld wordt meestal gebruik gemaakt van kunstmatige besmetting met conidiosporen. Inoculatie heeft als voordeel dat de infectieomstandighe-

den beter gecontroleerd kunnen worden, bijvoorbeeld door de installatie van een beregeningssysteem zodat kort voor inoculatie en gedurende enige tijd na inoculatie het gewas bevochtigd kan worden, waardoor de schimmel kans krijgt het gewas binnen te dringen en zich vervolgens te vermeerderen. Een nadeel van inoculatie in resistentieproeven is dat het niet zeker is dat het isolaat of zelfs de schimmel waarmee geïnoculeerd wordt ook in de praktijk de meeste problemen veroorzaakt. Daarnaast kan de gebruikte infectiedruk sterk verschillen van de praktijk. Er kan te zwaar of te licht getoetst worden, hetgeen leidt tot respectievelijk een onderschatting of een overschatting van de bruikbaarheid van de resistentie.

In geval van kunstmatige infectie wordt vrijwel altijd geïnoculeerd op het moment van bloei. Op dat moment zijn de aren het meest ontvankelijk voor infectie. Inoculatie van planten in het veld gebeurt meestal door sprayen met een sporensuspensie, maar ook wel door het verstrooien van geïnfecteerd graan (Bai *et al.*, 1989) of meel, of door al in het voorjaar geïnfecteerde plantresiduen aan te brengen op het veld (Xu & Chen, 1993). Het probleem met toetsmethoden - zowel in proeven met inoculatie als in proeven waarbij de natuurlijke infectie wordt gevolgd - is dat de bloeitijd van genetisch verschillende planten kan variëren. De infectie zal bij de ene plant efficiënter verlopen dan bij een andere plant, waardoor de aantasting in de ene plant heviger is dan in de andere. Dat speelt zeker een rol in splitsende populaties als de ene ouder veel vroeger is dan de andere ouder. Ten onrechte kan dan geconcludeerd worden dat verschillen in resistentie een genetische basis hebben. Om hiervoor te corrigeren wordt wel verschillende malen geïnoculeerd. Vaak wordt twee of drie maal geïnoculeerd met tussenpozen van enkele dagen. Hoewel de resultaten hierdoor betrouwbaarder worden zal de variatie in bloeitijd naar verwachting toch een rol blijven spelen in de uiteindelijke resultaten.

Een duidelijk inoculatieprotocol wordt gegeven door Snijders & Perkowski (1990). Zij inoculeren drie maal tijdens de bloei door te spuiten met 250.000 sporen per ml, waarbij ca. 1 liter inoculum per 10 m² wordt gebruikt. Ter verkrijging van een hoge luchtvochtigheid tijdens de nachten na inoculatie werd gedurende een periode van twee weken elke avond een uur beregend. Drie en vier weken na inoculatie werd de aantasting bepaald door vaststelling van de *Fusarium* head blight index, het product van het percentage geïnfecteerde aren en het aandeel geïnfecteerde pakjes per geïnfecteerde aar. Chen *et al.*, (2000) beschrijven een grotendeels vergelijkbaar protocol, maar gebruiken slechts 50.000 sporen per ml, waarbij eveneens ca. 1 liter per 10 m² wordt gebruikt. Zij spuiten de eerste keer al tijdens de aarvorming en vervolgens nog twee maal tijdens de bloei. Naast aantasting bepalen zij ook de opbrengst en het 1000-korrel gewicht bepaald.

Een alternatief voor de spray-inoculatie van hele planten is injectie van enkele afzonderlijke bloempjes per aar, die tijdens de bloei geïnjecteerd worden met een sporensuspensie. Om de infectie kans te geven en om kruisinfectie tegen te gaan wordt de geïnfecteerde aar ingepakt in plastic. Na ongeveer 25 dagen kan beoordeeld worden op aantasting (Shen & Ohm, 2000).

Ook in de kas worden beide inoculatiemethoden gebruikt. Chen *et al.*, (2000) injecteren 30 µl van een suspensie van 50.000 sporen per ml in een enkel bloempje aan het begin van de bloei. De planten worden vochtig gehouden door middel van mistirrigatie. Na 3-5 dagen zijn de eerste symptomen zichtbaar. Infectie wordt gemeten door vaststelling van een ziekte-index met tussenpozen van 7 dagen. In China is er in 1990 een vergelijking gemaakt tussen kunstmatige infectie door middel van injectie en natuurlijke infectie (Zhang *et al.*, 2000). Zij vinden geen correlatie tussen beide toetsmethoden.

Er zijn verschillende pogingen gedaan om zaailingentoetsen te ontwikkelen (zie voor een overzicht van diverse toetsmethode een review van Miedaner, 1997). Tot nu toe is echter nooit een goede correlatie gevonden met resistentie in de praktijk. Miedaner concludeert dan ook dat resistentie tegen *Fusarium* in verschillende groeistadia van de plant waarschijnlijk gebaseerd is op verschillende mechanismen en dat selectie voor resistentie in volwassen planten op zaailingenniveau derhalve niet mogelijk is.

Naast bovenstaande toetsen heeft men ook getracht labtoetsen te ontwikkelen, waarbij de gevoeligheid voor *Fusarium*-toxines van verschillende explantaten wordt vastgesteld. Meestal worden coleoptielen, protoplasten of calluscultures gebruikt en wordt groei c.q. overleving in aanwezigheid van toxines als maat voor resistentie genomen. Soms worden goede resultaten gemeld (Wang & Miller, 1989; Wang *et al.*, 1989) en soms wordt geen correlatie gevonden met de praktijk situatie (Srobarova & Pavlova, 2001). Dergelijke toetsen worden op dit moment niet op enige schaal gebruikt.

Aan gerst wordt aanmerkelijk minder onderzoek gedaan dan aan tarwe. Symptomen in gerst als gevolg van *Fusarium*-infectie zijn veel moeilijker waarneembaar dan in tarwe, waardoor uitvoering van betrouwbare resistentietoetsen lastiger uitvoerbaar zijn. Legge (2000) suggereert dan ook om niet op aantasting te scoren, maar alleen op DON-gehalte. Een dergelijke toetsing is -althoewel duur- goed hanteerbaar en richt zich direct op het belangrijkste probleem: toxine besmetting.

Resistentie

Er wordt veel resistentie tegen *Fusarium* gemeld in de literatuur. Daarbij worden drie afzonderlijke genenpools onderscheiden: wintertarwe uit Oost-Europa, zomertarwe uit China en Japan (b.v. Nobeoka Bozu Komugi, Sumai 3, Ning selecties) en zomertarwe uit Brazilië (b.v. Frontana en Encruzilhada) (Mesterhazy, 1987; Snijders, 1990c). Het is niet altijd eenvoudig na te gaan of resistentiebronnen werkelijk verschillen of dezelfde oorsprong hebben.

In verschillende veredelingsprogramma's zijn vele cultivars en lijnen getest. Een compleet overzicht is niet te maken, doordat resultaten vaak onder nummer gepubliceerd worden en informatie over de achtergrond van de genotypen ontbreekt. Dit overzicht beperkt zich daarom tot enkele belangrijkste resistentiebronnen (zie Tabel 10). Sumai 3 is wereldwijd ongetwijfeld de bekendste resistentiebron. Deze lijn is ontwikkeld uit Funo en een Taiwanese tarwe. Opmerkelijk is dat beide ouders matig resistent zijn, waaruit geconcludeerd kan worden dat de resistentie van Sumai 3 berust op transgressie. Volgens diverse literatuur bezit Sumai 3 zowel type I als type II resistentie. Sumai 3 is veel gebruikt als kruisingsouder en heeft geleid tot de ontwikkeling van diverse rassen die in Aziatische landen goed presteren, zoals bijvoorbeeld Een 1 en 2 en Xiangmai 10 en 11 (Liu *et al.*, CS pp 187-193). Frontana is een andere zeer bekende en veel gebruikte bron.

Voor gerst is veel minder resistentie aanwezig. Meestal wordt Chevron als bron gebruikt. De twee-rijige CI 4196 wordt minder gebruikt maar heeft een hoger niveau van resistentie (Steffenson, 1999).

Specialisatie

Fusarium aar ziekte wordt voornamelijk veroorzaakt door *Fusarium graminearum* en *Fusarium culmorum*. Voor zover bekend is de aanwezige resistentie effectief tegen beide soorten. Er zijn geen aanwijzingen dat er binnen de soorten fysio's optreden, die de resistentie makkelijk doorbreken. De aanwezige resistentie lijkt dus duurzaam, in tegenstelling tot een aantal andere plant-pathogeen combinaties (Miller, 1999; Mesterhazy *et al.*, 1999).

Correlatie resistentie en toxine gehalte

Aangenomen wordt dat toxines een rol spelen in de pathogenese. Uitschakelen van de toxine-productie in de schimmel door genen uit de trichothecen-syntheseroute te blokkeren vermindert de agressiviteit van de schimmel (Desjardins *et al.*, 1996). In de literatuur wordt over deze relatie zowel melding gemaakt van significante correlaties als de afwezigheid daarvan. Liu *et al.*, (1997) melden een goede correlatie tussen korrelinfectie en DON gehalten. Ze vinden echter geen correlatie tussen DON-gehalte

en aaraantasting in het veld. Bai *et al.* (2001) vinden een significante correlatie tussen aantasting en DON-gehalte in een toets met 16 cultivars. Wang & Miller (1988) melden echter een 2-10 maal afwijkende toxineconcentraties in rassen met hetzelfde resistentieniveau. Scott *et al.*, (1984) toonden aan dat DON afgebroken kan worden in het veld en dat waargenomen symptomen niet strikt gecorreleerd zijn aan de hoeveelheid aanwezige DON. Mirocha *et al.*, (1994) vonden geen duidelijk verband bij tarwe (Stoa, MN87150, Sumai 3, YMI-6, Wheaton) en gerst (Robust, Excel, Chevron, M69) tussen aantasting en de gehalten van de trichothecenen DON, 15-ADON en nivalenol. Ook Mesterhazy *et al.*, (1999) laten zien dat er geen duidelijk verband bestaat tussen symptomen en DON-gehalte. Ze vinden genotypen met lage infectie en hoge DON concentratie en omgekeerd. Een betere correlatie tussen toxinegehalte en resistentie wordt gevonden als naast DON ook nivalenol meegenomen wordt. De grootste verschillen tussen mycotoxine-gehalte en aantasting worden aangetroffen in vatbare en matig resistente genotypen. Hoog resistente rassen waar nauwelijks aantasting gevonden wordt, bevatten meestal geen of zeer weinig toxine.

Mogelijke oorzaken voor slechts matige correlaties tussen resistentie en DON accumulatie kunnen een gevolg zijn van de epidemiologie van de ziekte. Miedaner (1997) kwam met de volgende verklaringen. In jaren met zware aantasting of in sterk vatbare genotypen zal het aantal korrels per aar laag zijn als gevolg van verlies van ernstig verschrompelde korrels tijdens het dorsen of van vroege abortie. In zulke gevallen kan het mycotoxine-gehalte onderschat worden. Daarnaast is het, vooral bij vroege infectie, ook mogelijk dat de vaatbundels in de aar worden gekoloniseerd, waarna de aar boven de primaire infectieplaats bleek verkleurt als gevolg van water- en nutriëntentekort, zonder dat daar infectie heeft plaatsgevonden. In dergelijke gevallen kan het mycotoxine-gehalte dus overschat worden. Daarnaast is de correlatie tussen resistentie en toxine-gehalte sterk afhankelijk van het gebruikte schimmelisolaat (Snijders en Perkowski, 1990).

Een andere mogelijke verklaring berust op de verschillende aanwezige resistentietypes. Slechts enkele hiervan worden in verband gebracht met verminderde accumulatie van toxine. Op grond daarvan is het onlogisch te verwachten dat de overall resistentie (bestaande uit een aantal componenten) gecorreleerd zou zijn met slechts één van die componenten en is er theoretisch dus geen algemeen verband te verwachten tussen resistentie en toxine-gehalte. De verwachting is dat een eventuele correlatie duidelijker wordt naarmate de resistenties in de onderzochte genotypen berusten op afbraak van toxine (type III). In geval van type IV resistentie, ongevoeligheid van planten voor toxine, zal juist geen correlatie gevonden worden.

Tabel 10: Resistentiebrommen gebruikt in divers veredelingsonderzoek.

Naam	Herkomst	Opmerkingen	Recente referentie
Tarwe			
ND2603	Sumai3/Wheaton		Stack & Froberg (2000)
ND2710	Sumai3/Wheaton//Grandin		Stack & Froberg (2000)
ND2829	Sumai 3/Wheaton//REFX01		Stack & Froberg (2000)
ND2831	Sumai3/Wheaton//ND688		Stack & Froberg (2000)
CM82036	Sumai3/Thorbird		Burstmayr <i>et al.</i> (2000)
Ning 7840	Aurora/Anhui 11//Sumai 3		Ban (2000), Townley-Smith (2000)
Ning lijnen	Divers / Sumai 3		Townley-Smith (2000)
Wangshuibai	China		Wang & Liu (1989)
Sapporo Haru Komugi Jugo	Japan		Zhang <i>et al.</i> (2000)
Sumai 3	Funo/Taiwanxiaomai		Bai <i>et al.</i> (1999)
Frontana	Brazilië		Snijders (1990c), Chen <i>et al.</i> , (2000), Burstmayr <i>et al.</i> (2000)
Cltr 11028	?		Ban (2000)
Sakai 165	Sumai 3/Asakaze-komugi (MR)		Fujita <i>et al.</i> (1988)
Shinchunaga	Japan		Chen <i>et al.</i> (2000)
Nobeokabouza-komugi	Japan		Chen <i>et al.</i> (2000)
Shaan 85	China	Agronomisch beter dan Sumai3	Chen <i>et al.</i> (2000)
Futai 8944	China	Agronomisch beter dan Sumai3	Chen <i>et al.</i> (2000)
Wuhan 1	China		Chen <i>et al.</i> (2000)
Futai 9002	China		Chen <i>et al.</i> (2000)
VR95B717	China		Chen <i>et al.</i> (2000)
W14	China		Chen <i>et al.</i> (2000)
Arina	China		Ruckebauer (pers. med.)
Ringo Sztar	Europa	Agronomisch beter dan Sumai3	Ruckebauer (pers. med.)
SVP-72017-17-5-10	Europa	Agronomisch beter dan Sumai3	Ruckebauer (pers. med.)
Suzhoc	China	Wintertarwe: matig resistent Wintertarwe: matig resistent	Snijders (1990a)
Gerst			Townley-Smith (2000)
CI 4196		2-rijige	Steffenson (1999)
Chevron		beste 6-rijige, niet zo goed als CI 4196	Steffenson (1999)

Genetische analyses

Fusarium-resistentie betreft een kwantitatieve eigenschap, die overwegend additief overerft (Snijders & van Eeuwijk, 1991; Bai & Shaner, 1994). Binnen de non-additieve componenten van genetische variatie wordt dominantie gevonden, maar dominantie uitgedrukt als heterosis voor resistentie is slechts in enkele F1 kruisingen significant (Snijders 1990a; Miedaner 1997). In een enkel geval wordt epistasie genoemd (Bai & Shaner, 1994), maar benadrukt wordt dat dit slechts een ondergeschikte rol speelt (Zhuang & Li, 1993). Snijders (1990b) onderzocht de overerving van resistentie in een vijftal SVP-lijnen en schatte het aantal resistentiegenen tussen de één en de zes. Voor Frontana kwamen Singh *et al.*, (1995) uit op drie tot vijf resistentiegenen.

Het meest uitgebreid bestudeerd is de genetica van resistentie in Sumai 3. Onderzoek met monosome addities van Sumai 3 toonde de aanwezigheid van resistentiegenen aan op de volgende vijf chromosomen: 1B, 2A, 5A, 6D en 7D (Yu, 1982). Deze resultaten komen echter in het geheel niet overeen met resultaten van Yao *et al.*, (1997), die met behulp van substitutielijnen van Sumai 3 tot de conclusie kwamen dat de resistentiegenen gelegen zijn op de chromosomen 2B, 3B en 6B. Op basis van reactie type en distributieverdelingen van RIL's (recombinante inteeltlijnen) en DH's (dubbele haploïden) werd geconcludeerd dat de resistentie van Sumai 3 op twee hoofdgenen berust (Ban & Suenaga, 1997). Ook in Wangshuibai zijn monosome additielijnen gebruikt (Liao *et al.*, 1985). Zij vonden resistentie op de volgende koppelingsgroepen: 4A, 5A, 7A, 7B en 4D.

Onderzoek met moleculaire merkers bevestigde bovenstaande resultaten voor Sumai3 gedeeltelijk. In een QTL-analyse (analyse naar loci voor kwantitatieve eigenschappen) met moleculaire merkers in F₅-RIL's van de kruising Sumai 3 (R) x Stoa (MV) zijn vier significante koppelingen met resistentie gevonden: twee voor de resistente Sumai 3 (3B en 6B) en twee voor de matig vatbare Stoa (2A en 4B) (Anderson *et al.*, 1998). Het grootste effect werd gevonden op de korte arm van chromosoom 3B. Dit gebied is zeer interessant omdat ook resistenties tegen andere pathogenen (roest en meeldauw) in dit gebied liggen. Mogelijk is er sprake van een cluster resistentiegenen. De Sumai 3 merkers blijken ook gekoppeld aan resistentie in een andere kruising: ND2603 x Butte 86 (Anderson *et al.*, 2000). Hieruit is geconcludeerd dat de merkers niet alleen in Sumai 3 bruikbaar zijn als selectiemerkers maar breder. De aanwezigheid van dergelijke moleculaire merkers is van primair belang om resistenties te kunnen stapelen en te komen tot resistente en agronomisch goede nieuwe rassen. Dit geldt zeker voor resistentie tegen *Fusarium* aarziekte in een gewas als tarwe, omdat primair de selectie op resistentie als gevolg van de grote milieuvariatie in resistentietoetsen een moeilijkheid is voor veredelaars.

Voor gerst cultivar Chevron zijn vele QTLS gevonden voor FHB resistentie. In een studie 10 QTL's voor resistentie, 1 voor DON en 4 voor korrelverkleuring (De la Pena, 1999) en in een andere studie met DH's 9 QTL's voor resistentie (Ma *et al.*, 2000). In Tabel 11 is een overzicht gegeven van resistentie-onderzoek met behulp van moleculaire merkers die tot nu toe gepubliceerd zijn.

Tabel 11. Overzicht van genetische analyse van resistentie met behulp van moleculaire merkers.

Materiaal	Type	Resultaat	Referentie
Tarwe			
Sumai 3/Stoa	RIL ¹	3BS, 6BL (SUMAI 3) 2AL, 4BL (STOA)	Anderson <i>et al.</i> (2000)
Sumai 3/Akibdra	RIL F8 ²	4 QTL's	Zhu <i>et al.</i> (2000)
CM82036/Remus	DH ³	2 QTL's	Burstmayr <i>et al.</i> (2000)
Sapporo Haru Komugi Jugo	BC1F2	3 QTL's	Zhang <i>et al.</i> (2000)
Wanshuibai	MA ⁴	4A, 4D, 5A, 7A, 7B	Liao <i>et al.</i> (1985)
T. Macha in Hobbit sib	SL ⁴	1B, 4A, 7A	Nicholson <i>et al.</i> (2000)
Gerst			
Chevron		10 QTL's voor Fusarium resistentie, 1 QTL voor DON, 4 QTL's korrelverkleuring	De la pena (1999)
Chevron	DH	9 QTL's	Ma <i>et al.</i> (2000)

¹ Analyse AFLP, RFLP en SSR

² Analyse RAPD

³ Analyse AFLP en RFLP

⁴ MA= monosome additielijnen, SL=Substitutielijnen

GMO

Genetische modificatie is een heel nieuwe methode om eigenschappen van gewassen te veranderen. In plaats van het combineren van genetische variatie door middel van kruisen worden hier heel gericht genen die coderen voor gewenste eigenschappen ingebracht. Zo is het in principe mogelijk Fusarium-resistentiegenen direct in granen in te brengen en zo de granen resistent te maken. Een groot voordeel van deze techniek is het gegeven dat eigenschappen toegevoegd kunnen worden aan een verder agronomisch goed ras. Het gericht maken van een ras aan de hand van een ontwerp komt binnen handbereik.

Er zijn een aantal voorwaarden voor een succesvolle toepassing van deze techniek: sommige van technologische aard en anderen van economisch/maatschappelijke aard. De technologische voorwaarden zijn de beschikbaarheid van een efficiënt transformatiesysteem en de beschikbaarheid van Fusarium-resistentiegenen. Transformatie van tarwe en gerst is beschreven in de literatuur. Hoewel monocotylen over het algemeen weerbarstiger zijn dan dicotylen zijn er diverse protocollen ontwikkeld (O' Brien & Henry, 2000), al dan niet gebaseerd op het *Agrobacterium tumefaciens* transformatiesysteem. Een veelgebruikte methode bij monocotylen, de particle bombardment, is ook bij granen effectief en biedt het voordeel dat meerdere genen tegelijk ingebracht kunnen worden (Campbell *et al.*, 2000). Voor standaardgebruik dienen de methoden echter nog geoptimaliseerd te worden. Op dit moment staan zaken als raskeuze, moeilijke regeneratie, lage transformatie-frequenties, somaclonale variatie en stabiliteit van de genexpressie een high-throughput transformatie van tarwe en gerst nog in de weg (Dahleen, 2001).

Lastiger ligt het bij de beschikbaarheid van Fusarium-resistentiegenen. In het algemeen zijn er tegen geen enkele schimmel goede resistentiegenen beschikbaar, in tegenstelling tot genen die resistentie geven tegen insecten (het bekende BT-gen) of virussen. Omdat echter schimmelziekten heel belangrijk zijn wordt er mondiaal hard gewerkt aan de isolatie van schimmelresistentiegenen. De verwachting is dan ook dat in de (nabije) toekomst dergelijke genen wel beschikbaar komen.

Er is beperkt onderzoek naar mogelijke Fusarium-resistentiegenen in tarwe. Chen *et al.*, (1999) vonden dat de introductie van tlp (thaumatine-like protein) en chi (chitinase) genen in tarwe de ontwikkeling van de ziekte vertraagde. Muhitch (2000) introduceerde genen in tarwe die zich richten op het verhogen van de ongevoeligheid voor toxines. Zowel de introductie van een gen dat het toxine-transport beïnvloedt (pdr5) als de introductie van een gen dat codeert voor afbraak van toxine (TRI101) verminderden de Fusarium-aantasting in de transgene tarwe. Een overzicht van mogelijke effectieve genen is gepubliceerd door Dahleen (2001).

Een ander punt van overweging in de GMO-benadering is de publieke acceptatie. Zoals bekend is er op dit moment geen groot maatschappelijk draagvlak voor GMO's. Een deel van de bezorgdheid wordt veroorzaakt doordat tijdens transformatie naast het betreffende gen extra DNA ingebracht wordt, waaronder soms genen die coderen voor antibioticaresistentie. Dit is nodig voor de gebruikte transformatie- en selectietechnieken. Op dit moment wordt veel onderzoek gedaan naar nieuwe 'merkervrije' methoden die veel gericht zijn en de hoeveelheid extra ingebracht DNA sterk verminderen. Een andere ontwikkeling is het gebruik van 'soortseigen' genen: de ingebrachte genen zijn in dit geval geïsoleerd uit een ander ras (of wilde verwant) van het betreffende gewas. Recurrent selection zou een zeer vergelijkbaar veredelingsresultaat kunnen opleveren, maar veel langer duren. In dit geval wordt wel gesproken van cisformatie in plaats van transformatie.

Een laatste punt van overweging is de patentposities. In moleculaire verdeling geldt niet het kwekersrecht maar het patentrecht. Het is op dit moment tamelijk lastig precies in te schatten welke patenten precies gelden voor welke toepassingen en daarmee is de licentiepositie moeilijk vast te stellen.

4. Epidemiologie

Stand van zake

Verschillende *Fusarium* soorten zijn in staat granen te infecteren, zo kunnen *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* en *M. nivale* (voorheen *F. nivale*) kiemplantenziekte, voetziekte en aarfusarium (kafjesrood) veroorzaken, terwijl *F. poae* alleen aren kan infecteren (Parry *et al.*, 1994).

In Nederland lijkt een verschuiving plaatsgevonden te hebben in de samenstelling van soorten pathogenen die kafjesrood veroorzaken. In de jaren tachtig werden met name *M. nivale* en *F. culmorum* geïsoleerd uit aren, gevolgd door *F. avenaceum* en *F. graminearum* (Daamen *et al.*, 1991). Bij de inventarisatie van Waalwijk *et al.*, (2000), bleek dat *F. graminearum* het meest frequent voorkwam, gevolgd door *F. culmorum* en *M. nivale*. In dezelfde aar kunnen meerdere *Fusarium* soorten worden aangetroffen en de samenstelling van *Fusarium* soorten kan verschillen tussen graansoorten. De bovengenoemde *Fusarium* soorten zijn allen in staat toxines te produceren, met uitzondering van *M. nivale* (Chelkowski 1998). Gevolgen en aanbevelingen t.a.v. het voorkomen van het toxine deoxynivalenol (DON) in graan, staan weergegeven in een rapport van de gezondheidsraad (Gezondheidsraad 2001).

Problemen met *Fusarium* verschillen per plaats, jaar en teeltsysteem. Warm weer gecombineerd met regen tijdens de bloei zal infectie stimuleren. Verder zijn er een aantal teeltfactoren die *Fusarium* infectie kunnen beïnvloeden zoals: 1 - vruchtwisseling, 2 - grondbewerking, 3 - rassenkeuze, 4 - gebruik van fungiciden en groeiregulatoren, 5 - bemesting en 6 - onkruid-bestrijding (Bauer 2000; Meier *et al.*, 2000), niet noodzakelijkerwijs in deze volgorde. Het **niet** ploegen na een maïs-voorvrucht wordt als grootste risicofactor gezien en heeft meer invloed op de aarfusarium dan de weersomstandigheden tijdens bloei (Bauer 2000). *Fusarium* infectie is een onregelmatig optredende ziekte, waardoor het toxineprobleem vaak onderschat wordt.

Fusarium soorten

Aarfusarium kan door verschillende soorten *Fusarium* worden veroorzaakt, waarbij bij tarwe voornamelijk *F. graminearum* en *F. culmorum* worden genoemd. Dat deze samenstelling per jaar, gewasrotatie en regio erg variabel kan zijn, bleek in 1999 in Saksen-Anhalt waar na een voorvrucht maïs voornamelijk *F. graminearum* in tarwe voorkwam, na een voorvrucht graan voornamelijk *F. poae* en na een bladvoorvrucht een gelijke verdeling tussen *F. graminearum*, *F. poae* en *M. nivale* gevonden werd (Sperling *et al.*, 2000), terwijl in Beieren in 1999 voornamelijk *M. nivale* werd aangetroffen, gevolgd door *F. graminearum* (Obst & Fuchs 2000). Een enkele keer wordt aarfusarium voornamelijk veroorzaakt door *F. poae*, wat waarschijnlijk samengaat met koele weersomstandigheden (Adolf 1998). Men heeft dus bij aarinfectie niet met één epidemie te maken heeft, maar met meerdere epidemieën die parallel lopen aan elkaar. De *Fusarium* soorten kunnen sterk verschillen in schimmelstructuren die ze vormen, eisen die ze aan hun omgeving stellen enz. Dit kan de vaak tegenstrijdige resultaten verklaren.

Schimmelstructuren

Op overblijvende gewasresten vormt alleen *F. graminearum* (*Gibberella zeae*) ascosporen. Deze worden door de wind verspreid, waarna 90% van de infectie plaats vond binnen een straal van 22 m van de inoculumbron (Fernando *et al.*, 1997), maar mogelijk kunnen ze ook over veel grotere afstanden verspreid worden (Maldonado-Ramirez & Bergstrom 2000). In welke periode van het jaar deze ascosporenluchten plaats vinden is afhankelijk van de regio, in Duitsland – waarschijnlijk overeenkomstig met de situatie in Nederland – is dit van eind april tot eind juni (Adolf 1998). Ascosporenluchten komen voor in een droge periode, 1 à 3 dagen na regen (> 1-5 mm) (Fernando *et al.*, 2000); de regen is nodig

voor het vrijkomen van de ascosporen (Suty and Mauler-Machnik 1996). Naast ascosporen kunnen macroconidia (*F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *M. nivale*) en microconidia (*M. nivale*, *F. poae*) worden gevormd (Domsch *et al.*, 1980). De voornaamste manier voor verspreiding van macroconidia is door middel van spatwater (Fernando *et al.*, 2000; Jenkinson & Parry 1994b); 90% van de infectie door macroconidia vond dan ook plaats binnen een straal van 5 m van de inoculumbron (Fernando *et al.*, 1997). Microconidia worden met name door de wind verspreid (Rintelen 2000a). Bij veel schimmels spelen de microconidia geen rol in het infectieproces, maar gezien *F. poae* voornamelijk microconidia vormt, is het voor deze soort waarschijnlijk wel van belang. Daarnaast zijn *F. avenaceum* en *F. poae* niet in staat om chlamydosporen (overlevingsstructuren) te vormen, terwijl de andere soorten dat wel kunnen (Domsch *et al.*, 1980). De structuren die een *Fusarium* soort kan vormen zijn van belang voor verspreidings- en overlevingsmogelijkheden van die soort. Voor de epidemiologie van *Fusarium* ziektes is het dus erg belangrijk te weten met welke soorten men in het veld te maken heeft.

Intrinsieke eigenschappen

Ook kunnen de *Fusarium* soorten verschillende eisen aan hun omgeving stellen, bijvoorbeeld qua temperatuur en benodigde vochtigheid. Zo heeft *F. graminearum* een grotere behoefte aan warmte dan bijvoorbeeld *F. avenaceum*, *F. culmorum* en *M. nivale* (Domsch *et al.*, 1980; Rintelen 2000a). Ook kunnen ze verschillen in hun infectie-strategie. Bij inoculatie van aren breidden alleen *F. graminearum* en *F. culmorum* zich uit – het duizendkorrelgewicht werd dan ook met name door deze soorten bepaald (Schade-Schütze *et al.*, 2000) –, terwijl *F. avenaceum*, *F. poae* en *F. sporotrichioides* beperkt bleven tot de primaire infectieplek (Meier & Oerke 2000). *F. avenaceum* geldt in het algemeen als een zwakker pathogeen dan *F. culmorum* en *F. graminearum* (Rintelen 2000a). Daarnaast bleek bijvoorbeeld dat *F. graminearum* en *F. poae* eerder in de aar aanwezig waren dan andere *Fusarium* soorten (Rintelen 1995), maar of er een relatie bestaat tussen tijdstip van infectie en uiteindelijk toxineniveau is onbekend. Ook deze factoren zullen ziekteontwikkeling in het veld danig beïnvloeden.

Concurrentie

Als de verschillende *Fusarium* isolaten of soorten tegelijkertijd in een aar voorkomen, kunnen ze elkaar beconcurreren. Bij aarrot van maïs, veroorzaakt door *F. moniliforme*, *F. proliferatum* en *F. graminearum*, zijn *F. moniliforme* en *F. proliferatum* de sterkere concurrenten, door dat ze een kortere vochtige periode nodig hebben voor groei en infectie. Interacties met elkaar en met andere schimmels leiden tot minder infectie door *Fusarium* soorten, maar niet altijd tot lagere toxineproductie. Hoe de onderlinge interacties tussen de schimmels verlopen is afhankelijk van de temperatuur en het vochtgehalte in de maïskorrels (Marín *et al.*, 1998). Ook bij tarwe kunnen meerdere *Fusarium* soorten tegelijkertijd in een aar voorkomen (Waalwijk *et al.*, 2000). Het is echter onduidelijk of bovenstaande processen zich ook binnen tarwearen afspelen en of onderlinge concurrentie een rol speelt bij het uiteindelijke toxineniveau.

Isolaten

Binnen de *Fusarium* soorten bestaat een grote mate van diversiteit; isolaten van *F. culmorum* en *F. graminearum* verschillen in hun agressiviteit, in welke toxines geproduceerd worden en in de mate waarin zij toxines produceren (Meier & Oerke 2000). Er is discussie over in hoeverre toxineproductie, met name DON, gekoppeld is aan agressiviteit van *F. culmorum* en *F. graminearum* (Muthomi *et al.*, 2000), hoewel er meer en meer aanwijzingen zijn dat dit niet het geval is (Miedaner *et al.*, 2000; Stack *et al.*, 2000). Daarnaast kan men zich afvragen of er bij *F. graminearum* adaptatie heeft plaatsgevonden, omdat deze soort in Amerika en Duitsland, en misschien ook in Nederland, een steeds groter probleem vormt. Bij adaptatie kan gedacht worden aan timing van het afrijpen van de ascosporen, waardoor er een betere synchronisatie met de bloei van tarwe heeft plaatsgevonden, een betere concurrentiepositie t.o.v. andere schimmels, eventueel door vorming van hogere toxineniveaus, etc. (Clear 1999; Langevin & Comeau 1999). Op dit moment is het onmogelijk om aan te geven of adaptatie van de schimmel een wezenlijke rol speelt, en/of dat veranderde teelt- en/of weersomstandigheden een rol spelen.

Uitspraken over *Fusarium* epidemiologie en de gevolgen, zoals de toxineproductie en duizend-korrelgewicht, zijn dus afhankelijk van de soort én het isolaat waarmee in het laboratorium gewerkt wordt of welk spectrum van soorten in het veld voorkomt.

Vatbaarheid graansoorten

De diverse graansoorten vertonen een verschil in vatbaarheid, zo lijken winter- en zomergerst minder vatbaar dan wintertarwe, triticale en haver, die op hun beurt weer minder vatbaar zijn dan durumtarwe (Beck & Lepschy 2000; Rintelen 2000a). Dit zou te maken kunnen hebben met al dan niet synchron verlopen van de bloeiperiode en de ascosporenluchten (Rintelen 2000a), hoewel weersomstandigheden ten tijde van de bloei doorslaggevend zijn. Het verschil in vatbaarheid kan echter ook te maken hebben met de voorvrucht, wintertarwe en triticale worden in bijvoorbeeld Duitsland vaak na maïs verbouwd, wat een verhoogd risico op *Fusarium* infectie met zich mee brengt; voor durum, gerst en haver geldt dit niet (Beck & Lepschy 2000). Verder komt op haver veel *F. poae* voor (Müller & Bröther 2000; Obst & Fuchs 2000). Dit zou gedeeltelijk verklaard kunnen worden doordat haver met kaf geoogst wordt en *F. poae* voornamelijk in het kaf voorkomt (Lepschy 2000).

Daarnaast is er een grote variatie in vatbaarheid binnen een graansoort, zo verschilden 108 wintertarwerassen sterk in vatbaarheid voor *Fusarium*, onafhankelijk van standplaats en jaar (Wosnitza 2000). Daarnaast worden een aantal morfologische eigenschappen van rassen genoemd die vatbaarheid zouden kunnen beïnvloeden. Rassen met kortstro (< 70/80 cm) worden vaak zwaarder aangetast dan rassen met langstro (> 90/100 cm) (Lienemann and Oerke 2000; Parry *et al.*, 1995). Dit kan duiden op een 'simpel' ontsnappingseffect: grotere afstand bodem – aar. Echter, het minder vatbaar zijn van langstro rassen heeft wel degelijk een genetische basis, bij directe aarinoculatie waren deze rassen namelijk nog steeds minder vatbaar (Hilton *et al.*, 1999). Bij een vertikaal vlagblad werd meer aantasting gevonden dan bij een horizontaal vlagblad, evenals bij het aanwezig of afwezig zijn van kafnaalden, wat verklaard zou kunnen worden aan de hand van een ander microklimaat (Lienemann & Oerke 2000; Parry *et al.*, 1995).

Inoculumbron

Gewasresten

Zowel in Duitsland als in Noord Amerika verdringt *F. graminearum* andere *Fusarium* soorten (Clear & Patrick 2000; Rintelen 2000b). Dit wordt o.a. geweten aan het veelvuldig verbouwen van maïs in dezelfde gebieden en in dezelfde vruchtwisselingscyclus als graan (Rintelen 2000b; Stack 2000). De mate van decompositie van geïnfecteerde gewasresten komt overeen met aantasting door *F. graminearum* (Klaasen *et al.*, 1991; Pereyra *et al.*, 1999). Gewasresten van maïs vergaan minder makkelijk dan die van tarwe en zouden daarom een goed overlevingssubstraat vormen voor *Fusarium*, daarnaast hebben ze een gunstigere C-N verhouding (Beck & Lepschy 2000). Ook in Nederland lijkt *F. graminearum* steeds meer voor te komen. Of hier dezelfde relatie met maïsteelt bestaat is niet bekend, omdat maïs en tarwe vaak niet in hetzelfde vruchtwisselingschema voorkomen. Daarnaast vindt maïsteelt met name plaats in gebieden met intensieve veehouderij, Brabant, Overijssel en Gelderland (Anonymus 1999). Echter, het areaal met maïs is de afgelopen decennia fors toegenomen: van 5.000 ha in 1970 tot 255.500 ha in 1999 (Anonymus 1970; Anonymus 1999) en er wordt de laatste jaren ook in akkerbouwgebieden meer maïs verbouwd. In de jaren '90 is ook de teelt van korrelmaïs opgekomen, wat een groter risico voor *Fusarium* infectie met zich meebrengt dan snijmaïs, doordat korrelmaïs langer op het veld blijft staan en meer organisch materiaal achterlaat (Beck & Lepschy 2000; Obst 1997). Verder is het onduidelijk in welke mate de invloed van maïs als voorvrucht doorwerkt in latere teelten, gezien na herhaald ploegen maïsresten opnieuw aan de oppervlakte kunnen komen en als voedingsbron voor *Fusarium* dient (Beck & Lepschy 2000).

Onkruid

F. avenaceum, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. graminearum* en *F. sambucinum* werden geïsoleerd van dicotyle onkruiden en al deze isolaten waren pathogeen voor tarwe. Met uitzondering van *F. poae* kunnen de andere *Fusarium* soorten overleven op gewasresten of als chlamydo-sporen (Jenkinson & Parry 1994a). Verder bleek dat onkruidbestrijding leidde tot minder aantasting door *Fusarium*; er is echter niet gekeken of er een kwantitatief verband was (Parry *et al.*, 1995). Het is onduidelijk of onkruiden een wezenlijke rol spelen in de epidemiologie van toxigene *Fusarium* soorten. Daarnaast kunnen onkruiden nog een ander risico opleveren, namelijk als bij het oogsten geïnfecteerde onkruidzaden meegeogst worden. Door het hogere vochtgehalte in deze zaden zal het een infectiehaard kunnen vormen tijdens opslag.

Grassen en groenbemesters

Naast dicotyle onkruiden worden ook grassen als Engels raaigras, Italiaans raaigras en vele andere grassoorten geïnfecteerd door *Fusarium*, waarbij *M. nivale*, *F. culmorum* en *F. avenaceum* het vaakst genoemd worden b.v. (Engels & Kramer 1996; Holmes 1983; Raikes 1997; Winter 1986). Bij grassen wordt *Fusarium* meestal geassocieerd met zaailingziekte of voetziekte (Holmes 1983; Winter 1986), slechts in enkele gevallen wordt gerapporteerd dat ook grasaren geïnfecteerd worden (Cagas *et al.*, 1998). Deze *Fusarium* isolaten zijn in staat in gras toxinen te produceren (Engels & Kramer 1996). Er zijn duidelijke aanwijzingen dat de *Fusarium* isolaten die zaailingziekte/voetziekte bij grassen veroorzaken ook zaailingziekte/voetroet bij tarwe veroorzaken (Gussin & Lynch 1983; Hall & Sutton 1998). Het is echter niet bekend of dezelfde isolaten in staat zijn aarfusarium bij granen te veroorzaken. Gezien Engels en Italiaans raaigras soms als onderzaai gebruikt worden bij granen (Anonymus 1999) en bovengenoemde grassoorten veelvuldig gebruikt worden, is het belangrijk om te weten of grassen een rol spelen in de epidemiologie van aarfusarium. Ook groenbemesters zoals gras (zie hierboven), klaver, lupinen e.a. kunnen door *Fusarium* geïnfecteerd worden. Met name *F. avenaceum* en *F. culmorum* worden genoemd als veroorzakers van zaailingziekte en voetziekte bij bovengenoemde gewassen (b.v. (Nedelnik 1992; Satyaprasad *et al.*, 2000; Wanson & Maraité 1984). De *F. avenaceum* isolaten die van lupinen zijn geïsoleerd waren ook in staat om voetziekte bij tarwe te veroorzaken (Satyaprasad *et al.*, 2000). Ook hier geldt dat de rol van groenbemesters in het verloop van aarfusarium onbekend is.

Relatie tussen kiemplantenziekte, *Fusarium*-voetziekte en aarfusarium

Kiemplantenziekte, voetziekte en aarfusarium worden veroorzaakt door verscheidene *Fusarium* soorten. Het is echter onduidelijk wat het verband is tussen deze ziekteverschijnselen. Zo kan met *F. graminearum* geïnfecteerd zaad leiden tot een lager kiemgetal en kiemplantenziekte, maar er lijkt geen verband te bestaan tussen mate van geïnfecteerd zaad en uiteindelijke aaraantasting (Gilbert 2001). Daarentegen werd bij zaadinoculatie van tarwe met *F. avenaceum* of *F. culmorum* deze soorten nauwelijks aan de halmbasis teruggevonden, terwijl deze soorten wel weer terug te vinden waren in de aar (Schade-Schütze *et al.*, 1997). De vraag of deze ziekteverschijnselen gecorreleerd zijn, wordt verder gecomplieerd doordat *F. graminearum* bestaat uit 2 groepen. Groep I tast bodemorganen aan, wordt zelden of nooit uit aren geïsoleerd, vormt geen ascosporen en is beschreven als een nieuwe soort, *F. pseudograminearum* (Aoki & O'Donnell 1999). Groep II veroorzaakt aarinfectie en vormt wel ascosporen (Rintelen 2000b), maar kan óók voetziekte veroorzaken (Langevin *et al.*, 1999).

De waardplant

Er zijn verschillende manieren waarop de plant zelf een rol speelt als inoculumbron, namelijk via 1) systemische infectie: *Fusarium* groeit via de halm naar de aar, of via 2) trapsgewijze infectie: *Fusarium* sporen landen hierbij op het blad, vermeerderen zich daar, om vervolgens de aar te infecteren; dit i.t.t. een spatverspreiding van *Fusarium* sporen van de bodem (gewasresten) direct naar de aar. Systemische infectie van aren is uiterst onwaarschijnlijk, omdat aren vaak al geïnfecteerd zijn voordat de ziekte uit de bovenste stengelknopen geïsoleerd kan worden (Adolf 1998). Trapsgewijze infectie kan echter wel een rol spelen in het ontstaan van een *Fusarium* epidemie. Aarinfectie wordt vaak gelijktijdig met, of later dan, infectie van het vlagblad waargenomen, maar zelden eerder. Daarnaast gaat een hoge aantasting van het blad vaak samen met hoge aantasting van de aar. Dit geldt met name voor *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* en *M. nivale* (Adolf 1998). Hieruit blijkt dat er een relatie tussen blad- en aar-

aantasting is, maar er zijn uitzonderingen waarbij weinig bladaantasting werd waargenomen en er toch sprake was van een zware aantasting van de aar. De infectie kan in dit geval ontstaan zijn door ascosporen die met de wind van elders meegevoerd zijn (Adolf 1998). Verschillende *Fusarium* soorten, waaronder *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. sambucinum* en *F. sporotrichoides* kunnen zowel van tarweblad zonder symptomen als van tarweblad met symptomen geïsoleerd worden. Er is dus sprake van zowel een epifytische (niet pathogene), als een pathogene relatie. Of er sprake is van successie, namelijk dat een latente infectie later over kan gaan in een pathogene infectie, is onduidelijk (Francl *et al.*, 2000b). Hoewel *Fusarium* soorten en isolaten in staat zijn om zowel tarwearen als tarweblad te infecteren, bestaat er een grote variatie voor de verschillende soorten en isolaten in de mate waarin aar en blad geïnfecteerd worden (Schade-Schütze *et al.*, 2000). Trapsgewijze infectie speelt waarschijnlijk een belangrijke rol in het infectieproces, maar hierover is nog veel onduidelijkheid.

Invloed weer

Warm weer gecombineerd met regen tijdens de bloei zal aarinfectie stimuleren. Er zijn verschillende modellen opgesteld die de kans op een *F. graminearum* epidemie kunnen voorspellen (De Wolf *et al.*, 2000; Francl *et al.*, 2000a; Moschini & Fortugno 1996; Obst & Bechtel 2000). Modellen, die gebruik maken van zowel temperatuur als luchtvochtigheid danwel regen, voorspellen *Fusarium* aantasting het best. Echter gebruikswaarde van een model is afhankelijk van de juistheid van een weersvoorspelling ter plekke (De Wolf *et al.*, 2000). Daarnaast wordt een gedeelte van de *F. graminearum* epidemieën **niet** voorspeld door deze modellen. Het kan zijn dat andere *Fusarium* soorten infectie veroorzaken, maar *F. graminearum* kan ook in een gewas aanwezig zijn zonder duidelijke symptomen te veroorzaken (zie hierboven), zich vermeerderen op de bladeren d.m.v. conidia en ondanks lage temperatuur toch behoorlijke schade veroorzaken (Obst & Bechtel 2000). Echter ook bij weinig regen dan wel lage luchtvochtigheid in combinatie met warm weer kan alsnog infectie optreden (Adolf 1998). *Fusarium* infectie is afhankelijk van een complex van weersfactoren, waarbij het ongunstig zijn van de ene factor (bv. temperatuur) gecompenseerd kan worden door het optimaal zijn van een andere factor (vocht). Dit maakt het voorspellen van een *Fusarium* epidemie lastig. Het voorspellen van een epidemie op basis van weersfactoren zal kwalitatief zijn, omdat de mate van aantasting ook door teeltfactoren wordt bepaald, zoals rassenkeuze, voorvrucht, etc.. Daarnaast kunnen omstandigheden ongunstig zijn voor *F. graminearum* maar gunstig voor andere *Fusarium* soorten. Ook kan een natte afrijpingsfase leiden tot een zwaardere aaraantasting, maar is weinig of niets bekend over de invloed van regen op *Fusarium* en het toxinegehalte **nadat** infectie heeft plaatsgevonden (Obst *et al.*, 2000).

Biologische bestrijding

Biologische bestrijding van *Fusarium* is in ontwikkeling. Er zijn verschillende methoden om m.b.v. antagonistische micro-organismen in te grijpen in de *Fusarium* ontwikkeling: spuiten van antagonisten tijdens bloei (overeenkomstig met fungicide behandeling), toepassing op geïnfecteerd zaad en toepassing op gewasresten (Stockwell *et al.*, 1999). Verschillende bacteriën (*Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*) en gisten (*Cryptococcus*, *Sporobolomyces*) zijn toegepast tijdens de bloei en reduceerden *F. graminearum* aarinfectie, soms tot 50%, t.o.v. de controle (Bleakley *et al.*, 2000; Khan *et al.*, 2001; Stockwell *et al.*, 1999). Voorlopige resultaten lijken erop te wijzen dat deze organismen tijdens epidemieën niet in staat zijn *Fusarium* volledig te onderdrukken (Anonymous 2001). Onderzoek is echter nog gaande en in 2001/2002 zullen verschillende producten meegenomen worden in de 'U.S. - Fungicide Uniform Trials' (McMullen 2001). Bij toepassing van biologische bestrijding tijdens de bloei, loopt men echter tegen hetzelfde probleem aan als bij het gebruik van fungiciden, namelijk dat de timing van essentieel belang is voor het effectief zijn van de behandeling. Toepassing van antagonisten op zaad zal zeker een effect hebben tegen kiemplantenziekte en evt. tegen voetziekte, maar of dit ook effect zal hebben op aarinfectie is onduidelijk (zie eerder). Gewasresten vormen een zeer belangrijke inoculumbron

(zie eerder), maar geen van de bacteriën of gisten reduceerde peritheciënvormig van *F. graminearum* bij behandeling van gewasresten (Stockwell *et al.*, 2000). Het testen van organismen die gespecialiseerd zijn in afbraak van organisch materiaal of met een grote kolonisatiecapaciteit en goed aangepast zijn aan de heersende omstandigheden, zouden wel eens veel succesvoller kunnen zijn in deze fase van de epidemiologie. Een *Microsphaeropsis* isolaat, dat ook tegen appelschurft wordt gebruikt, is getest op invloed op de rijping van vruchtlichamen van *G. zeari* (*F. graminearum*). Het isolaat bleek niet zozeer de rijping te beïnvloeden, als wel het aantal vruchtlichamen en/of ascosporen te verminderen. Toepassing moet echter nog verder geoptimaliseerd worden (Bujold *et al.*, 2001).

5. Toepassing van fungiciden

Zaaizaadontsmetting

Het gebruik van ontsmet zaaizaad beperkt de aantasting van de kiemplant. Een betere opkomst en een goede begingroei leiden tot een beter plantenbestand. De hoeveelheid inoculum onderin het gewas is daardoor kleiner en de ontwikkeling van een goed plantenbestand bemoeilijkt de opwaartse verspreiding van de sporen. De toegelaten fungiciden fludioxonil (Beret Gold) en guazatine/imazalil (Panocrine) (toegelaten tot 1/10/2001) werken goed tegen *Fusarium*. Na het vervallen van Panocrine op 1/10/2001 blijft er in NL alleen Beret Gold over. In andere Europese landen waaronder Duitsland en Frankrijk zijn een hele reeks producten toegelaten met een goede werking op *Fusarium*. De relatie tussen zaaizaadontsmetting en het al dan niet voorkomen van aarfusarium is onduidelijk (Parry *et al.*, 1995; Adolf, 1998).

Gewasbespuitingen

De infectie van *Fusarium* in de aar heeft grotendeels plaats tijdens de bloeiperiode. De bloei duurt meestal circa 10 dagen. Onderzoek heeft aangetoond dat de toepassing van fungiciden het grootste effect heeft als deze tijdens de bloei worden toegepast (Parry *et al.*, 1995, Rodeman *et al.*, 2000). Uit proeven met kunstmatige infecties kan worden afgeleid dat toepassing enkele dagen vóór (1-2) en ná infectie (2-4) leidt tot de beste werking tegen aarfusarium. Wereldwijd zijn/worden vele fungiciden getest op werking tegen aarfusarium en aansluitend op het gehalte aan mycotoxinen. Duidelijk is dat er verschil in werking bestaat tegen de *Fusarium*-soorten.

F. culmorum, *F. avenaceum* en *F. graminearum*, die mycotoxinen (waaronder DON) kunnen vormen, worden bestreden door andere fungiciden als de sneeuwschimmel *M. nivale* die wel aarfusarium veroorzaakt maar geen DON vormt. Proeven met kunstmatige infecties worden vaak uitgevoerd met *F. culmorum* of *F. graminearum* omdat dan ook het effect van behandelingen op het DON-gehalte kan worden bepaald. In natuurlijke situaties zullen vaak verschillende schimmels voorkomen. Het is wel gesuggereerd dat bestrijding van één soort de weg effent voor de andere soort. Ook is het mogelijk dat fungiciden antagonistische/ niet-pathogene/andere pathogenen soorten doden waardoor de kansen voor de pathogene DON-vormende soorten stijgen (Liggitt *et al.*, 1997; Bateman, 1993). Proeven waarin kunstmatig besmet wordt met een mengsel van *F. culmorum*/*F. graminearum* én *M. nivale* benaderen de werkelijkheid waarschijnlijk beter (Simpson *et al.*, 2001).

In veel proeven wordt gevonden dat een aantal azolen een werking hebben op de mycotoxine vormende *Fusarium*-soorten. Tebuconazool (Folicur, Matador) is vaak het meest effectieve fungicide (Suty-Heinze, 2000; Kang *et al.*, 2000; Suty & Mauler-Machnik, 1996; Mesterházy & Bartok, 1996; Milus & Parsons, 1994; Jones, 2000; McMullen *et al.*, 1999a). Maar ook metconazool (Caramba) heeft een goed effect (Kang *et al.*, 2001; Blankennagel, 2000). De werking op aarfusarium is nooit 100%, afhankelijk van de proefopzet wordt aangenomen dat met tebuconazool en metconazool maximaal 60-90% werking op aarfusarium kan worden verkregen en maximaal 50-70% reductie van het DON-gehalte (Siradinou & Buchenauer, 2001; Weinert *et al.*, 2000). De andere azolen, zoals propiconazool, bromuconazool, cyproconazool en epoxiconazool hebben een geringere werking op aarfusarium. Ook carbendazim en prochloraz hebben een werking op aarfusarium maar duidelijk geringer in vergelijking met tebuconazool en metconazool (Mesterházy & Bartok, 1996).

In een aantal gevallen is gevonden dat tebuconazool wel aarfusarium verminderde máár het gehalte aan mycotoxinen (NIV) juist verhoogde (Gareis & Ceynowa, 1994). Na toepassing van sub-lethale doses

van fungiciden kan een verhoogde productie van mycotoxinen worden gemeten (D'Mello *et al.*, 1998; Matthies, 1998). D'Mello *et al.*, (1998) toonden ook aan dat isolaten van *F. culmorum* die resistent zijn tegen fungiciden méér mycotoxinen produceren.

De strobilurine fungiciden azoxystrobine en kresoxim-methyl hebben vooral werking tegen *F. nivale*, de azolen werken niet op deze schimmel. Er zijn een aantal publicaties met gegevens die er op wijzen dat door gebruik van strobilurinen (en met name azoxystrobine) het mycotoxine-gehalte wordt verhoogd (Siranidou & Buchenauer, 2001; Ellner & Schröer, 2000; Simpson *et al.*, 2001; Shaner & Buechley, 2000; Bauer, 2000; Obst & Gammel, 2000; Forrer *et al.*, 2000). Matthies *et al.*, (2000) nuanceren de 'hypothese dat strobilurinen het DON-gehalte verhogen' door te zeggen dat niet alle strobilurinen hetzelfde reageren. Azoxystrobine zou dit sterker doen dan kresoxim-methyl. Kresoxim-methyl is in Nederland alleen toegelaten in combinatie met een azol (epoxiconazool) als het produkt Allegro.

Meier & Oerke (2000) vinden geen negatief maar ook geen positief effect op werking tegen aarfusarium en DON-gehalte als strobilurinen worden toegevoegd aan azolen. Hoe het effect tot stand komt is nog niet duidelijk. Het kan komen door de fysiologische effecten van de strobilurinen (vervroegen bloei, langere afrijping) of door het selectief uitschakelen van niet DON-vormende schimmels (*M. nivale*).

Spuittechniek

Voor een goede bescherming van de aar c.q. bestrijding van de schimmel is het noodzakelijk, dat de spuitvloeistof gelijkmatig verdeeld over de gehele aar terecht komt. Panigrahi *et al.*, (1999) ontwikkelen een methode om met image analysing de bedekking van de aar te meten. De spleetdoppen die nu standaard worden gebruikt voor ziektebestrijding in granen produceren een verticale spuitkegel die gericht is op een optimale bedekking van 'horizontale' bladeren. De rechtopstaande aren worden met deze spuittechniek niet optimaal bedekt. In diverse onderzoeken wordt gevonden dat met naar voren én naar achteren gerichte spuitkegels onder een hoek een verbetering van de bedekking op de aar kan worden verkregen (Lukach *et al.*, 1998; Schepers & Spits, 2001; Halley *et al.*, 1999). Ook het spuitvolume heeft invloed op de bedekking en daardoor op werking tegen aarfusarium en DON-gehalte (Lukach *et al.*, 1998).

Adjuvants

Adjuvants zijn hulpstoffen die zelf geen fungicide werking hebben maar wel de werking van het fungicide kunnen verbeteren door een bijvoorbeeld een betere verdeling van de spuitvloeistof of door een verbeterde penetratie van de werkzame stof in de plant. Er zijn resultaten van proeven waarin adjuvants de werking van tebuconazool tegen aarfusarium verbeteren én het DON-gehalte verder lagen (Schepers & Spits, 2001; Lukach *et al.*, 1998; Rodeman *et al.*, 2000). Draper *et al.*, (2000) vonden geen positief effect van het toevoegen van een vloeibare meststof aan tebuconazool.

Stoffen die niet de schimmel remmen maar wel een effect hebben op de biosynthese van mycotoxinen zouden de fungiciden kunnen helpen het mycotoxinen gehalte verder te verlagen. Matthies (1998) heeft een aantal stoffen geïdentificeerd die de trichotecenenbiosynthese remmen. In vitro zijn een aantal stoffen erg effectief. In veldproeven kon met één van die stoffen slechts een erg variabele verbetering van de werking van de fungiciden worden aangetoond. De verlaging van het mycotoxine gehalte door het fungicide prochloraz werd door één van die stoffen (piperonylbutoxide=PbO) verbeterd. Siranidou & Buchenauer (2001) beschrijven dat bij het ras Agent de werking van fungiciden werd verhoogd door toevoeging van PbO.

Bewaring

Onder stabiele, droge bewaaromstandigheden is er een duidelijke afname van de activiteit van micro-organismen waaronder schimmels. Bij vochtigere omstandigheden (>14% vocht) is er een verhoogde activiteit van schimmels. Ook tijdens het mouten bepalen de omstandigheden of mycotoxine vormende schimmels zich kunnen ontwikkelen (Beck, 2000). In de USA zijn stoffen op de markt die toegevoegd kunnen worden aan veevoer en er voor zorgen dat er geen mycotoxinen meer gevormd worden of onschadelijk worden gemaakt door de toxinen te binden (Grant & Phillips, 1998). In Duitsland zijn een aantal mycotoxinenbinders getest. Resultaten waren verschillend per mycotoxine. Zearaleone en aflatoxine werden voor 80% gebonden terwijl DON en Ochratoxine slechts voor 10-15% werden gebonden (Dobbin & Rathmann, 2000). Carvon heeft naast een kiemremmende werking ook een (neven)werking op schimmels. Darwinkel (2001) vond geen invloed op het DON-gehalte na toevoeging van carvon aan te nat geoogst *Fusarium*-besmette tarwe.

Gerst

Slechts weinig proeven met fungiciden zijn beschreven in gerst. Ook in dat gewas gaf tebuconazool goede werking op aarfusarium, maar ook andere fungiciden zoals BAS500 (experimenteel strobilurine) en fludioxonil waren effectief (Mc Mullen *et al.*, 1999b; McMullen & Lukach, 2000; Jones, 2000).

Invloed rassen

Omdat de effectiviteit van fungiciden tegen aarfusarium nooit volledig is, zal in de bestrijdingsstrategie ook het gebruik van resistentere rassen thuishoren. Mielke & Weinert (1996) bereikten een bijna volledige bestrijding van aarfusarium door in een resistent ras tebuconazool te spuiten. Ook Schepers & Spits (2001) vonden bij resistentere rassen (Residence, Florida) een betere bestrijding van aarfusarium met tebuconazool in vergelijking met een gevoelig ras (Ritmo) en een lager DON-gehalte.

Beslissingsondersteunende systemen

Een van de meest lastige zaken bij de toepassing van fungiciden is de beslissing óf er moet worden gespoten en zo ja wanneer. Factoren die dit beïnvloeden zijn o.a. de ziektedruk, de weersomstandigheden en de resistentie van het ras. In granen worden wel beslissingsondersteunende systemen gebruikt (ProPlant, PC Plant Protection), hierin is tot op heden aarfusarium nog niet in opgenomen. Er zijn nog te veel onbeantwoorde vragen om te komen tot een goede advisering. Op onderdelen zijn er al wel gegevens bekend. Met behulp van ascosporenvallen in het veld konden Suty & Mauler-Machnik (1996) de bespuitingen met tebuconazool zodanig optimaal timen dat ook met lagere doseringen 70% werking kon worden bereikt. Obst & Bechtel (2000) hebben afgeleid wat de kritieke weersomstandigheden voor infectie in Beieren zijn. In Argentinië is met behulp van ziektegegevens en weersgegevens uit de periode 1978-1990 gekeken wat de kritieke perioden zijn geweest (Moschini & Fortugno, 1996). Met deze gegevens zouden bespuiting getimed kunnen worden. In het EU-RTD project RAMFIC dat 1/10/2000 is begonnen, worden voor Europa verbanden tussen weersgegevens en het voorkomen van aarfusarium en DON onderzocht om te komen tot een risk assessment model.

6. Identificatie van cruciale lacunes in kennis

In deze studie is, ondanks de grote internationale inspanningen op *Fusarium* onderzoek, een aantal cruciale lacunes in kennis geconstateerd op diverse terreinen. Deze zijn in dit hoofdstuk gegroepeerd per aandachtsgebied en kunnen behulpzaam zijn het voorbereiden en uitvoeren van onderzoeksbeleid.

Pathogenese

- Er bestaat onvoldoende kennis omtrent de identiteit en betrouwbare herkenning van resistentietypen en resistentiemechanismen in tarwe en gerst. Hierdoor ontbreekt het aan duidelijkheid met betrekking tot de genetische basis voor de geconstateerde resistentietypen en ontbreekt de mogelijkheid om deze mechanismen te combineren in veredelingsprogramma's.
- De rol van van toxinen en celwandsplitsende enzymen tijdens de pathogenese door *Fusarium* (diverse toxinen en *Fusarium* soorten) is onduidelijk door elkaar tegensprekende publicaties op dit terrein.
- Het zoeken naar cruciale genen die tijdens de pathogenese van *Fusarium* in tarwe en gerst tot expressie komen en die zodoende aan aangrijpingspunt vormen voor het ontwikkelen van innovatieve bestrijdingsmethoden is nog nauwelijks van de grond gekomen.

Detectie van *Fusarium* soorten en door deze schimmels geproduceerde mycotoxinen

- Het is onvoldoende duidelijk welke *Fusarium*-soorten van belang zijn in Nederland en daardoor ontbreekt het ook aan inzicht in de interacties tussen deze soorten. Bovendien is het niet duidelijk welke toxinen onder welke omstandigheden door deze schimmels worden geproduceerd. Zo wordt er melding gemaakt van *F. graminearum* en *F. culmorum* die NIV of DON produceren. Het is niet duidelijk of er ook isolaten bestaan die geen of beide toxinen produceren.
- De betekenis van 'nieuwere soorten', zoals *F. equiseti*, *F. trincinctum* is onduidelijk.
- Welk proces is verantwoordelijk voor de verschuivingen binnen de Nederlandse *Fusarium* populatie.
- Voor een betrouwbare kwantitatieve detectie van *Fusarium* is het nodig een goede interne standaard te ontwikkelen. Daarbij moet rekening worden gehouden met de efficiëntie van de extractie van schimmel DNA uit verschillende substrata (stro, groene plantendelen, aren, geoogst product), en zal ook de invloed van andere schimmels in het algemeen en *Fusarium* soorten in het bijzonder op de detectie van toxine-producenten moeten worden onderzocht.
- De correlatie tussen de kwantitatieve detectie van het *tri5* gen en/of *tri5* mRNA enerzijds en mycotoxine concentratie anderzijds moet worden opgehelderd. Tevens zal moeten worden bepaald welke enzymen (genen) de synthese van DON, NIV en T-2 en hun derivaten bepalen.

Veredeling

- Het aantal gebruikte resistentiebronnen is beperkt. Alhoewel er uitgebreid resistentie-onderzoek gedaan wordt duiken vaak dezelfde bronnen op (Sumai 3, Frontana, Ringo Sztar). Dit kan een gevolg zijn van terughoudendheid in veredelingsonderzoek om belangrijke bronnen bij naam en toenaam te noemen.

- Het is onduidelijk in hoeverre er van kruisresistentie sprake is (werkt een resistentie tegen meerdere *Fusarium*-soorten). De populatiesamenstelling en -dynamiek dient hierbij in overweging genomen te worden.
- De gebruikte toetsmethoden zijn meestal niet gevalideerd. Hierdoor lijken er in de spaarzame artikelen waarin dezelfde rassen met verschillende toetsen worden geanalyseerd behoorlijke afwijkingen op te treden. Dit houdt mogelijk verband met het nauwe besmettingsvenster (mid-bloei).
- Bij de veredeling tegen *Fusarium* ontbreekt het aan efficiënte selectiemethoden. Mede hierdoor is het onvoldoende mogelijk om gericht bepaalde *Fusarium*-resistentiegenen in te kruisen. Dit hangt samen met de grotendeels kwantitatieve overerving van resistentie en het ontbreken van merkers die 'marker assisted selection' (MAS) mogelijk maken.
- De associatie tussen *Fusarium*-aantasting c.q. resistentie(typen) en toxinegehalte is omstreden.

Epidemiologie

- Aarfusarium wordt door diverse *Fusarium* soorten veroorzaakt, elk met eigen verspreidingsmogelijkheden en overlevingsmogelijkheden in bodem, op gewasresten en andere planten en daarmee samenhangend andere infectiekansen. Zo tast bijvoorbeeld *F. graminearum* zowel graan als maïs aan en is in staat ascosporen te vormen (geslachtelijke fase). Echter, het aandeel van de verschillende inoculumbronnen – gewasresten, onkruiden, grassen, groenbemesters – in de opbouw van een aarfusariumepidemie is onbekend, evenals de rol van de toenemende maïsteelt in Nederland in de verspreiding van *F. graminearum*.
- Het is onduidelijk of er een verband bestaat tussen zaailingziekte, voetziekte en aarinfectie en of bladinfecties kunnen bijdragen aan de opbouw van een *Fusarium* epidemie.
- Het is belangrijk te weten hoe teeltmaatregelen – zoals rijafstand en zo mogelijk ondergroei – kunnen worden ingezet om het microklimaat te beïnvloeden en spatverspreiding tegen te gaan om op deze wijze infectie te voorkomen.
- Gezien de potentie van biologische bestrijding van diverse andere plantpathogenen is het de vraag of dit ook een alternatief is voor de preventie of bestrijding van *Fusarium*.
- Voor een effectieve beheersing van *Fusarium* in granen dienen beslissingsondersteunende modellen – voor fungicidentoepassingen en andere teeltmaatregelen – te worden ontwikkeld voor, of aangepast aan de Nederlandse situatie. Hiertoe moeten meerdere risicofactoren worden opgenomen, waaronder meten ziektedruk – sporenvallen, monitoring *Fusarium* soorten –, kritieke weersomstandigheden per *Fusarium* soort en inoculumbron, de teelthistorie c.q. vruchtwisseling op een perceel en aangrenzende percelen, de rol van onkruiden, groenbemesters en grassen al alternatieve inoculumbronnen, de rol van grondbewerking en het effect van resistentieverschillen tussen tarwerassen. Hierbij dient ook in overweging genomen te worden dat de actiedrempels niet alleen in relatie moeten staan tot zichtbare *Fusarium* aantasting maar vooral tot DON gehalten.

Toepassing van fungiciden

- Het is onduidelijk of strobilurinen ook onder Nederlandse omstandigheden het DON-gehalte verhogen en of het toelaten van meer zaaizaadontsmettingsmiddelen een betere preventieve aanpak van *Fusarium* zou bevorderen.
- Het toepassen van diverse spuitdoppen en spuitvolumen kan een consistent betere verdeling van fungiciden op de aar bevorderen. Uit nader onderzoek dient naar voren te komen of op deze wijze een betere bestrijding van aarfusarium kan worden bereikt en of dit resulteert in een lager DON-gehalte. Hierbij zal in overweging moeten worden genomen of, en zo ja welke, adjuvant(s) in staat zijn de effectiviteit van fungiciden te optimaliseren.
- Er dient te worden nagegaan of het gebruik van fungiciden c.q. schimmelwerende stoffen tijdens de bewaring of in veevoer de DON-vorming kan beperken en/of neutraliseren.

**7. Further reading: algemeen toegankelijke
Fusarium informatie**

Webadres (http://www.)	Naam
scabusa.org	US Wheat and Barley Scab Initiative
ag.ndsu.nodak.edu.cropdisease/wheat/scabmgmt.htm	North Dakota State University
ext.nodak.edu/extpubs/plantsci/smgrains/pp804w.htm	North Dakota State University
ianr.unl.edu/pubs/plantdisease/g1207.htm	University of Nebraska
crl.umn.edu/scab/scab.html	University of Minnesota
ohioline.ag.ohio-state.edu/ac-fact/0004/html	University of Ohio
agric.gov.ab.ca/agdex/100/1006321.html	Government of Canada
egg.ca/pubs/fusarium/fusarium-e2.html	Canadian Grain Commission
ksu.ksu.edu/plantpath/extension/facts/wheat6.html	Kansas State University
abs.sdstate.edu/plantsci/ext/path/scab/scabfungicide.html	South Dakota University
btny.purdue.edu/extension/pathology/cropdisease/wheat/wheat2.html#scab	Purdue University
ipm.ppws.vt.edu/stromberg/smallgrain/biology/wscab.html	Virginia Polytechnic Institute
cpro.dlo.nl/general/fusarium/default.asp	Plant Research International
agric.gov.ab.ca/pests/diseases/63010130.html	Fusarium Head Blight (FHB), Scab, Pink Mold or White heads
mycotoxin.de/	Society for Mycotoxin research
uvigo.es/webs/servicios/biblioteca/sumarios/0633631.HTM	Fresenius J of Anal. Chem
europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out44_en.pdf	over DON (9 dec 1999)
europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out65_en.pdf	over Zearalenon (22 juni 2000)
europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out73_en.pdf	over Fumonisin B1 (17 okt 2000)
europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out74_en.pdf	over Nivalenol (19 okt 2000)
europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out88_en.pdf	over T-2 en HT-2 (30 mei 2001)
europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scp/out56_en.pdf	relatie tussen gewasbeschermings-producten en mycotoxinen in voedsel (24 sept 1999)
fao.org/ES/jecfa/jecfa56.pdf	55ste bijeenkomst van de JECFA (joint FAO/WHO expert committee on food additives) in Geneve 6-15 Februari 2001 over Mycotoxins

Webadres (http://www.)	Naam
mycotoxin-prevention.com	Prevention of Fusarium mycotoxins entering the human and animal food-chain - project waar onze groep in meewerkt.
europa.eu.int/comm/research/quality-of-life/ka5/en/31517.html	RAMFIC - Sustainability, product safety and quality in cereals: development of novel quantitative models for risk assessment for mycotoxigenic Fusarium species
mycotowin-prevention.com/Project3.htm	COST 835
detox.ba.cnr.it	EU project DeTox
mycotosin-prevention.com	Mycotoxin cluster
europa.eu.int/comm/research/quality-of-life/ka5/en/02044.html :	Novel tools for developing fusarium-resistant and toxin-free wheat for Europe

Literatuur

- Adams, G.C. & L.P. Gartm, 1989.
The role of deoxynivalenol and 15-acetyldeoxynivalenol in pathogenesis by *Gibberella zeae*, as elucidated through protoplast fusions between toxigenic and nontoxigenic strains. *Phytopathology* 79: 404-408.
- Adolf, B., 1998.
Epidemiologie und Nachweis von Getreidefusariosen: Untersuchungen an Weizen und Gerste, pp. 125 in *Phytopathology*. Technische Universität München, München.
- Adolf, B., 1998.
Epidemiologie und Nachweis von Getreidefusariosen: Untersuchungen an Weizen und Gerste. Dissertation Technische Universität München.
- Alexander, N.J, T.M. Hohn & S.P. McCormick, 1997.
Molecular characterization of TRI12 which encodes an apparent transport protein involved in trichothecene production by *Fusarium sporotrichioides*. *Cereal Res. Commun.* 25: 347-348.
- Anderson, O.D. & A.E. Blechl, 2000.
Transgenic Wheat-Challenges and Opportunities. In: *Transgenic cereals*, L. O'Brien & R.J. Henry (Eds), American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN publ., pp. 1-27.
- Anderson, J.A., B.L. Waldron, B. Moreno-Sevilla, R.W. Stack & R.C. Froberg.
DNA markers for a *Fusarium* head blight resistance QTL in two wheat populations. Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China, pp 105-110.
- Anderson, J.A., B.L. Waldron, B. Moreno Sevilla, R.W. Stack & R.C. Froberg, 1998.
Detection of *Fusarium* head blight resistance QTL in wheat using AFLPs and RFLPs. In: Proceedings of the 9th International Genetics Symposium, pp 135-137.
- Anonymous, 2001.
Crop scientists report research headway at FHB Forum. *Scab News* 3/1: 1-3.
- Anonymus, 1970.
45^e Beschrijvende Rassenlijst voor Landboungewassen 1970. IVRO, Wageningen, the Netherlands.
- Anonymus, 1999.
75^e Rassenlijst voor Landboungewassen 2000. CPRO, Wageningen.
- Anonymous.
Classical and molecular genetic analysis of *Fusarium* head blight resistance in wheat. Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China, pp 100-104.
- Aoki, T. & K.A. O'Donnell, 1999.
Morphological and molecular characterization of *Fusarium pseudograminearum* sp. nov., formerly recognized as the Group 1 population of *F. graminearum*. *Mycologia* 91: 597-609.
- Artemenko, E.N., G.A. Devyatkina & V.L. Sadovskaya, 1999.
Involvement of gibberellins from germinating conidia of *Fusarium graminearum* Schw. in the pathogenesis of *Fusarium* wheat head blight. *Russian Journal of Plant Physiology* 46: 252-254.
- Bai, G.H. & G. Shaner, 1994.
Scab of wheat: prospects of control. *Plant Disease* 87: 760-766.
- Bai, G.H., L.F. Chen & G.E. Shaner, 1999.
Breeding for resistance to head blight of wheat in China. In: *Wheat Fusarium head blight*. Kurt Leonard (ed). APS press.
- Bai, G.H., R. Plattner, A. Desjardins & F. Kolb, 2001.
Resistance to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *Plant Breeding* 120: 1-6.

- Ban, T. & K. Suenaga, 1997.
Inheritance of resistance to Fusarium head blight caused by *Fusarium graminearum* in wheat. Cereal Research Communication 25: 727-728.
- Ban, T., 2000.
Studies on the genetics of resistance to Fusarium head blight caused by *Fusarium graminearum* in wheat - review. Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China, pp 82-93.
- Bateman, G.L., 1993.
Development of disease symptoms and fungal pathogens on shoot bases in continuous winter wheat, and effects of fungicides. Plant Pathology 42: 595-608.
- Bauer, G., 2000.
Zur analyse der Daten des Fusarium-Monitorings Bayern. In: Risiken durch den Ährenparasiten *Fusarium graminearum*: Ergebnisse eines LBP-Forschungsverbunds: 33-37.
- Beck, R. & J. Lepschy, 2000.
Ergebnisse aus dem Fusarium-Monitoring 1989-1999 - Einfluss der produktionstechnischen Faktoren Fruchtfolge und Bodenbearbeitung. Bodenkultur und Pflanzenbau 4: 39-47.
- Beck, R., 2000.
Einfluss von Lagerbedingungen auf die Keimfähigkeit und Verarbeitungsqualität von Winterweizen. In: Risiken durch den Ährenparasiten *Fusarium graminearum*: Ergebnisse eines LBP-Forschungsverbunds: 99-104.
- Blankennagel, R., 2000.
Mehrjährige Erfahrungen mit CARAMBA zur optimalen Bekämpfung von Ährenfusariosen und anderen Abreifekrankheiten im Weizen. Mitt. aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 376: 102-103.
- Bleakley, B.H., M.A. Draper & K.R. Ruden, 2000.
Control of Fusarium head blight with biological antagonists, pp. 75-76 in 2000 National Fusarium Head Blight Forum, Cincinnati, USA.
- Breeding for Fusarium blight resistance in wheat in Canada. Proceedings of the Canadian workshop on Fusarium head blight, November 28-30 1999, Manitoba, Canada, pp 56-58.
- Buerstmayr, H., L. Doldi, M. Stierschneider, M. Lemmens, B. Steiner, S. Berlakovich & P. Ruckenbauer, 2000.
Classical and molecular genetic analysis of Fusarium head blight resistance in wheat. Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China, pp. 100-104.
- Bujold, I., T.C. Paulitz & O. Carisse, 2001.
Effect of *Microsphaeropsis* sp. on the production of perithecia and ascospores of *Gibberella zeae*. Plant Disease 85: 977-984.
- Bushnell, W.R., 2000.
The need for uniformity in designating types of scab resistance. Proceedings of the 2000 National Fusarium Head Blight Forum, pp 245.
- Cagas, B., A. Zemanova & A. Fojtik, 1998.
Fusarium species, a likely cause of Lolium wilt. Plant Protection Science 34: 109-111.
- Campbell, B.T., P.S. Baenziger, A. Mitra, S. Sato & T. Clemente, 2000.
Inheritance of multiple transgenes in wheat. Crop science 40: 1133-1141.
- Carusco, C., C. Caporale, G. Chilosi, F. Vacca, L. Bertini *et al.*, 1996.
Structural and antifungal properties of a pathogenesis related protein from wheat kernel. J. Prot. Chem. 15: 35-44.
- Carusco, C., G. Chilosi, C. Caporale, L. Leonardi & L. Bertini *et al.*, 1999.
Induction of pathogenesis related proteins in germinating wheat seeds infected with *Fusarium culmorum*. Plant Science Limerick 140: 87-97.
- Chelkowski, J., 1998.
Distribution of *Fusarium* species and their mycotoxins in cereal grains, pp. 45-64 in *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*, edited by K. K. Sinha and D. Bhatnagar. Marcel Dekker, New York.

- Chen, J., C.A. Griffey, T. Pridgen, M. Chappell & J. Shaw, 2000.
Assessment and rational utilization of scab-resistant sources in the Virginia wheat breeding program. Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China, pp 10-17
- Chen, L., S.P. McCormick & T.M. Hohn, 2000.
Altered regulation of 15-Acetyldeoxynivalenol production in *Fusarium graminearum*. Appl. Environm. Microbiol. 66: 2062-2065.
- Chen, W.P., P.D. Chen, D.J. Liu, R. Kynast, B. Friebe, R. Velazhahan, S. Muthukrishnan & B.S. Gill, 1999.
Development of wheat scab symptoms is delayed in transgenic wheat plants that constitutively express a rice thaumatin-like protein gene. Theoretical and Applied Genetics 99: 755-760.
- Clear, R., 1999.
Developing threat of FHB to Saskatchewan and Alberta, pp. 33-35 in *Canadian Workshop on Fusarium Head Blight*, Winipeg, Manitoba, Canada.
- Clear, R.M. & S.K. Patrick, 2000.
Fusarium head blight pathogens isolated from fusarium-damaged kernels of wheat in western Canada, 1993 to 1998. Canadian Journal of Plant Pathology 22: 51-60.
- D'Mello, F.P.F., A.M.C. Macdonald, D. Postel, W.T.P. Dijkma, A. Dujardin & C.M. Placinta, 1998.
Pesticide use and mycotoxin production in Fusarium and Aspergillus pathogens. European Journal of Plant Pathology 104: 741-751.
- Daamen, R.A., C.J. Langerak & W. Stol, 1991.
Surveys of cereal diseases and pests in the Netherlands. 3. *Monographella nivalis* and *Fusarium* spp. in winter wheat fields and seed lots. Netherlands Journal of Plant Pathology 97: 105-114.
- Dahleen, L.S., P.A. Okubara & A.E. Blechl, 2001.
Transgenic approaches to combat fusarium head blight in wheat and barley. Crop Science 41: 628-637.
- Darwinkel, A., 2001.
Mycotoxinen in wintertarwe. PPO projectrapport nr. 11.41.733, maart 2001.
- De la Pena, R.C., K.P. Smith, F. Capettini, G.J. Muehlbauer, M. Gallo-Meagher, R. Dill-Macky, D.A. Somers & D.C. Rasmusson, 1999.
Quantitative trait loci associated with resistance to Fusarium head blight and kernel discoloration in barley. Theoretical and Applied Genetics 99: 561-569.
- De Nijs, M. 1997.
Public health aspects of *Fusarium* mycotoxins in food in The Netherlands: A risk assessment. Ph.D Thesis, Wageningen Univ.
- De Nijs, M., J. Larsen, W. Gams, F.R. Rombouts, K. Wernars, U. Thrane & S.H.W. Notermans, 1997.
Variations in random amplified polymorphic DNA patterns and secondary metabolite profiles within *Fusarium* species from cereals from various parts of The Netherlands. Food Microbiol. 14: 449-459.
- De Saeger, S. & C. van Peteghem, 1996.
Dipstick enzyme immunoassay to detect *Fusarium* T-2 toxin in wheat. Appl. Environm. Microbiol. 62: 1880-1884.
- De Wolf, E.D., L.V. Madden & P.E. Lipps, 2000.
Prediction of Fusarium head blight epidemics, pp. 131-135 in *2000 National Fusarium Head Blight Forum*, Cincinnati, USA.
- Desjardins, A.E. & T.M. Hohn, 1997.
Mycotoxins in plant pathogenesis. Molec. Plant-Microbe Interact. 10: 147-152.
- Desjardins, A.E., G. Manandhar, R.D. Plattner, C.M. Maragos, K. Srestha & S.P. McCormick, 2000.
Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. J. Agric. Food Chem. 48: 1377-1383.
- Desjardins, A.E., R.H. Proctor, G. Bai, S.P. McCormick, G. Shaner, G. Buechley & T.M. Hohn, 1996.
Reduced virulence of trichothecene non-producing mutants of *Giberella zeae* in wheat field tests. Molecular Plant-Microbe Interactions 9: 775-781.

- Di Pietro, A., F.I. Garcia-Maceira, E. Meglecz & M.I.G. Roncero, 2001.
A MAP kinase of the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* is essential for root penetration and pathogenesis. *Molec. Microbiol.* 39: 1140-1152.
- Dobbin, U.H. & E. Rathmann, 2000.
Mit speziellen Futterzusätzen Pilzgifte 'entscharfen'. *DLZ Magazin* 6: 106-109.
- Domsch, K.H., W. Gams & T.H. Anderson, 1980.
Fusarium, Gibberella, Monographella, pp. 303-341, 352-365, 428-430 in *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press, London.
- Doohan, F.M., D.W. Parry, P. Jenkinson & P. Nicholson, 1998.
The use of species-specific PCR-based assays to analyse *Fusarium* ear blight of wheat. *Plant Pathol.* 47: 197-205.
- Doohan, F.M., G. Weston, H.N. Rezanoor, D.W. Parry & P. Nicholson, 1999.
Development and use of a reverse transcription PCR assay to study the expression of *tri5* by *Fusarium* species *in vitro* and *in planta*. *Appl. Environm. Microbiol.* 65: 3850-3854.
- Draper, M.A., J.C. Rudd, H.H. Casper, K.R. Ruden & G. Lammers, 2000.
Interaction of 28% nitrogen with Folicur fungicide when applied at heading as a tank mix. *National FHB Forum* 2000: 82-84.
- Edwards, S.G., S.R. Pirgozliev, M.C. Hare & P. Jenkinson, 2001.
Quantification of trichothecene-producing *Fusarium* species in harvested grain by competitive PCR to determine efficacies of fungicides against *Fusarium* Head Blight of winter wheat. *Appl. Environm. Microbiol.* 67: 1575-1580.
- Ellner, F.M. & R. Schröder, 2000.
Effekte Strobilurin-haltiger Pflanzenschutzmittel auf der Bildung von Mykotoxinen in Weizen. *Mitt. aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft* 376: 331-332
- Engels, R. & J. Kramer, 1996.
Incidence of fusaria and occurrence of selected *Fusarium* mycotoxins on *Lolium* spp. in Germany. *Mycotoxin Research* 12: 31-40.
- Eudes, F., J. Collin, S. Rioux & A. Comeau, 1997.
The trichothecenes, a major component of wheat scab pathogenesis. *Cer. Res. Comm.* 25: 495-496.
- Fekete, C., A. Logrieco, G. Gizycki & L. Hornok, 1997.
Screening of fungi for the presence of the trichodiene synthase encoding sequence by hybridisation of the *tri5* gene cloned from *Fusarium poae*. *Mycopathol.* 138: 91-97.
- Fernando, W.G.D., J.D. Miller, W.L. Seaman, K. Seifert & T.C. Paulitz, 2000.
Daily and seasonal dynamics of airborne spores of *Fusarium graminearum* and other *Fusarium* species sampled over wheat plots. *Canadian Journal of Botany* 78: 497-505.
- Fernando, W.G.D., T.C. Paulitz, W.L. Seaman, P. Dutilleul & J.D. Miller, 1997.
Head blight gradients caused by *Gibberella zeae* from area sources of inoculum in wheat field plots. *Phytopathology* 87: 414-421
- Forrer, H.R., A. Hecker, C. Külling, P. Kessler, J. Effi & H. Krebs, 2000.
Fusarienbekämpfung mit Fungiziden? *AGRARForschung* 7: 258-263.
- Francl, L.J., C. Larson & E.D. de Wolf, 2000a.
Description and evaluation of the NDSU regional wheat disease forecasting system, pp. 147-152 in *2000 National Fusarium Head Blight Forum*, Cincinnati, USA.
- Francl, L.J., S. Markell, S. Ali & T.L. Friesen, 2000b.
Gibberella zeae population dynamics: a progress report, pp. 144-146 in *2000 National Fusarium Head Blight Forum*, Cincinnati, USA.
- Fujita, M., Y. Ban, K. Ujihara & R. Yoshikawa, 1988.
Efficiency of scab resistance in wheat breeding. *Jap. J. Breeding* 38: 412-413.
- Gareis, M. & J. Ceynowa, 1994.
Einfluss des Fungizid Matador (Tebuconazole/Triadimenol) auf die Mykotoxinbildung durch *Fusarium culmorum*. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 198: 244-248.

- Gezondheidsraad, 2001.
Deoxynivalenol (DON). Gezondheidsraad (www.gr.nl), Den Haag.
- Gilbert, J., 2001.
 Effects of *Fusarium graminearum* infection of wheat seed, pp. 48 in *Sustainable systems of cereal crop protection against fungal diseases as the way of reduction of toxin occurrence in food webs*. Agricultural Research Institute Kromeriz, Kromeriz, Czech Republic.
- Grant, P.G. & T.D. Phillips, 1998.
 Isothermal adsorption of aflatoxin B1 on HSCAS clay. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 46: 599-605.
- Gussin, E.J. & J.M. Lynch, 1983.
 Root residues: substrates used by *Fusarium culmorum* to infect wheat, barley and ryegrass. *Journal of General Microbiology* 129: 271-275.
- Hall, R. & J.C. Sutton, 1998.
 Relation of weather, crop, and soil variables to the prevalence, incidence, and severity of basal infections of winter wheat in Ontario. *Canadian Journal of Plant Pathology* 20: 69-80.
- Halley, S., J. Pederson, M. McMullen & J. Lukach, 1999.
 Sprayer modifications for enhanced control of FHB with fungicides. *National FHB Forum* 1999: 51-52.
- Hilburn, K.L.B., G.D. Baldrige, W.R. Bushnell & R.J. Zeyen, 2000.
 A visible fungal growth approach to rapid antifungal protein gene pretesting, pp. 33-36 in *National Fusarium Head Blight Forum*.
- Hilton, A.J., P. Jenkinson, T.W. Hollins & D.W. Parry, 1999.
 Relationship between cultivar height and severity of Fusarium ear blight in wheat. *Plant Pathology* 48: 202-208.
- Holmes, S.J.I., 1983.
 The susceptibility of agricultural grasses to pre-emergence damage caused by *Fusarium culmorum* and its control by fungicidal seed treatment. *Grass and Forage Science* 38: 209-214.
- Hormdick, S., H. Fehrmann & R. Beck, 2000.
 Effects of field application of tebuconazole on yield, yield components and the mycotoxin content of *Fusarium*-infected wheat grain. *J. Phytopathol.* 148: 1-6.
- Höxter, H., T.H. Miedaner, E. Sander & H.H. Geiger, 1991.
 Quantitative assessment of *M nivale* in rye with ELISA. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 98: 13-17.
- Jenkinson, P. & D.W. Parry, 1994a.
 Isolation of *Fusarium* species from common broad-leaved weeds and their pathogenicity to winter wheat. *Mycological Research* 98: 776-780.
- Jenkinson, P. & D.W. Parry, 1994b.
 Splash dispersal of conidia of *Fusarium culmorum* and *Fusarium avenaceum*. *Mycological Research* 98: 506-510.
- Jones, R.K. & C.J. Mirocha, 1999.
 Quality parameters in small grains from Minnesota affected by fusarium head blight. *Plant Dis.* 83: 506-511.
- Jones, R.K., 2000.
 Assessments of FHB of wheat and barley in response to fungicide treatment. *Plant Disease* 84: 1021-1030.
- Kang, Z. & H. Buchenauer, 1999.
 Immunocytochemical localization of fusarium toxins in infected wheat spikes by *Fusarium culmorum*. *Physiol. Molecul. Plant Path.* 55: 275-288.
- Kang, Z. & H. Buchenauer, 2000.
 Ultrastructural and cytochemical studies on cellulose, xylan and pectin degradation in wheat spikes infected by *Fusarium culmorum*. *J. Phytopathology* 148: 263-275.
- Kang, Z., B.J. Zange, U. Krieg, H.J. Diehl & H. Buchenauer, 2000.
 Ultrastrukturelle und cytochemische Untersuchungen zur Wirkung des Fungizids Tebuconazol an

- Fusarium culmorum* in vitro und in vivo. Mitt. aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 376: 393.
- Kang, Z., L. Huang & H. Buchenauer, 2001.
Ultrastructural and cytochemical studies of effects of the fungicide metconazole on *Fusarium culmorum* in vitro. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 108: 419-432.
- Khan, N.I., D.A. Schisler, M.J. Boehm, P.J. Slininger & R.J. Bothast, 2001.
Selection and evaluation of microorganisms for biocontrol of *Fusarium* Head Blight of wheat incited by *Gibberella zeae*. Plant Disease 85: 1253-1258.
- Klaasen, J.A., F.N. Matthee, W.F.O. Marasas & D.J. v. Schalkwyk, 1991.
Comparative isolation of *Fusarium* species from plant debris in soil, and wheat stubble and crowns at different locations in the southern and western Cape. Phytophylactica 23: 299-307.
- Klerks, M., C. Schoen & C. Waalwijk, 2000.
The detection of trichodiene synthase mRNA in *Fusarium* on seeds using AmpliDet RNA. Mitt. aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 377: 49.
- Koopmann, B., P. Karlovsky & G.A. Wolf, 1994.
Differentiation between *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* by RFLP and species-specific DNA probes. In: Schots, A., Dewey, F.M. and Oliver, R. (eds). Modern assays for plant pathogenic fungi, identification, detection and quantification. Wallington, UK. CAB International, p 37-46.
- Koopmann, B., P. Karlovsky & G.A. Wolf, 1997.
Development of DNA-assays for *in vitro* differentiation and *in planta* detection of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum*. In: Dehne, H-W., *et al.*, (eds). Diagnosis and Identification of Plant Pathogens. p 429-432.
- Krska, R. & R. Josephs, 2001.
The state-of-the-art in the analysis of estrogenic mycotoxins in cereals. Fresenius J. Anal. Chem. 369: 469-476.
- Krska, R., S. Baumgartner & R. Josephs, 2001.
The state-of-the-art in the analysis of type-A and -B trichothecene mycotoxins in cereals. Fresenius J. Anal. Chem. 371:285-299.
- Lacy, J., G.L. Bateman & C.J. Mirocha, 1999.
Effects of infection time and moisture on development of ear blight and deoxynivalenol production by *Fusarium* spp. In wheat. Ann. Appl. Biol. 134: 277-283.
- Langevin, F. & A. Comeau, 1999.
Evolutionary potential of *Fusarium graminearum*: a risk for the future?, pp. 121 in *Canadian Workshop on Fusarium Head Blight*, Winnipeg, Manitoba, Canada.
- Langevin, F., S. Poleur, D. Mongrain & A. Comeau, 1999.
Relationship between *Fusarium* head blight and common root of wheat and barley in Quebec, pp. 121-122 in *Canadian Workshop on Fusarium Head Blight*, Winnipeg, Manitoba, Canada.
- Lee, T., D.W. Oh, H.S. Kim, J. Lee, Y.H. Kim, S.H. Yun & Y.W. Lee, 2001.
Identification of deoxynivalenol and nivalenol producing chemotypes of *Gibberella zeae* by using PCR. Appl. Environm. Microbiol. 67: 2966-2972.
- Lees, A., P. Nicholson, H.N. Rezanoor & D.W. Parry, 1995.
Analysis of variation within *M nivale* from wheat: evidence for a distinct sub-group. Mycol. Res. 99:103-109.
- Legge, W.G., 2000.
Breeding for *Fusarium* head blight resistance in barley. Proceedings of the Canadian workshop on *Fusarium* head blight, November 28-30 1999, Manitoba, Canada, pp 59-66.
- Lepschy, J., 2000.
Die häufigsten Fusarientoxine in Getreide - Analytik, Toxikologie, Grenzwerte. Bodenkultur und Pflanzenbau 4: 27-32.
- Li, B., F. Liu, R. Xu, C. Huang, F. Cheng, J. Liu, J. Meng & J. Mou, 2000.
Sumai 3: It's development, genetic characteristics, and applications in wheat breeding for *Fusarium*

- head blight. Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China, pp187-193.
- Liao, Y.C. & Y.J. Yu, 1985.
Genetic analysis of scab resistance in the local wheat variety Wangshuibai. Journal of Huazhong Agricultural College 4: 6-14.
- Lienemann, K. & E.C. Oerke, 2000.
Einfluss charakteristischer Sorteneigenschaften auf Befall und Schadwirkung von Ährenfusariosen an Winterweizen. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 376: 330.
- Liggitt, J., P. Jenkinson & D.W. Parry, 1997.
The role of saprophytic microflora in the development of Fusarium ear Blight of winter wheat caused by *Fusarium culmorum*. Crop Protection 16: 679-685.
- Liu, W.Z., W. Langseth, H. Skjones, O.N. Elen & L. Sundheim, 1997.
Comparison of visual head blight ratings, seed infection levels, and deoxynivalenol production for assessment of resistance in cereals inoculated with *Fusarium culmorum*. European Journal of Plant Pathology 103: 589-595.
- Logrieco, A., M. Manka, C. Altomare & A. Bottalico, 1990.
Pathogenicity of *Fusarium graminearum* chemotypes towards corn, wheat, triticale and rye. Journal of Phytopathology 130: 197-204.
- Lukach, J., S. Halley & T. Gregoire, 1998.
Effect of nozzle type, application volume and adjuvants on fungicide efficacy in controlling FHB in wheat 1998. Fungicide & Nematicide tests 54: 332-334.
- Ma, Z., N. Lapitan & B.J. Steffenson, 2000.
Molecular mapping of chromosomal regions associated with FHB resistance in barley. I. Mapping of chromosome regions associated with FHB severity and DON production. Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China, pp 111-121.
- Maldonado-Ramirez, S.L. & G.C. Bergstrom, 2000.
Temporal patterns of ascospore discharge by *Giberella zeae* from colonized corn stalks under natural conditions, pp. 159-162 in *2000 National Fusarium Head Blight Forum*, Cincinnati, USA.
- Marín, S., V. Sanchis, A.J. Ramos, I. Vinas & N. Magan, 1998.
Environmental factors, in vitro interactions, and niche overlap between *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, and *F. graminearum*, *Aspergillus* and *Penicillium* species from maize grain. Mycological Research 102: 831-837.
- Matthies, A., 1998.
Untersuchungen zur Hemmung der Trichothecenbiosynthese bei *Fusarium graminearum* in vitro und zur Reduzierung des Ährenbefalls und der Mykotoxinproduktion durch Fusarien an Getreide. Dissertation Universität Hohenheim.
- Matthies, A., B.H. Menck & H. Bleiholder, 2000.
Untersuchungen zur Wirksamkeit von Strobilurin-haltigen Fungiziden im Vergleich zu Azolen auf den Gehalt an Deoxynivalenol (DON) in Weizenproben des Erntejahres 1999 (erste Erkenntnisse). Gesunde Pflanzen 52: 26-32.
- McCormick, S.P., N.J. Alexander, S.E. Trapp & T.M. Hohn, 1999.
Disruption of *tri101*, the gene encoding trichothecene 3-O-Acetyltransferase from *Fusarium sporotrichioides*. Appl. Environm. Microbiol. 65: 5252-5256.
- McMullen, M. & J. Lukach, 2000.
Uniform fungicide trial for controlling FHB in barley, ND, 2000. National FHB Forum 2000: 99.
- McMullen, M., 2001.
Chemical and biological control. Scab News 3/1: 3.
- McMullen, M., G. Milus & L. Prom, 1999a.
Uniform fungicide trials to identify products effective against FHB in wheat. National FHB Forum 1999: 64-68.

- McMullen, M., R. Jones, J. Pedersen, S. Halley & J. Lukach, 1999b.
Uniform fungicide trial for FHB in barley. National FHB Forum 1999: 69-70.
- Meier, A. & E.C. Oerke, 2000.
Möglichkeiten der Bekämpfung von *Fusarium* spp. und *M. nivale* an Weizen durch Fungizide. Mitt. aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 376: 86.
- Meier, A., B. Birzele, E.C. Oerke & H.W. Dehne, 2000.
Impact of growth conditions on the occurrence of *Fusarium* spp. and the mycotoxin content of wheat. Mycotoxin Research 16A: 12-15.
- Mesterházy, A. & T. Bartók, 1996.
Control of *Fusarium* head blight of wheat by fungicides and its effect on the toxin contamination of the grains. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 49: 181-198.
- Mesterházy, A., 1987.
Selection of head blight resistant wheats through improved seedling resistance. Plant Breeding 98: 25-36.
- Mesterházy, A., 1995.
Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. Plant Breeding 114: 377-386.
- Mesterházy, A., T. Bartók, C.G. Mirocha & R. Komoroczy, 1999.
Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. Plant-Breeding. 118: 2, 97-110.
- Miedaner, T., 1997.
Breeding wheat and rye for resistance to *Fusarium* diseases - review. Plant Breeding 116, 201-220.
- Miedaner, T., C. Reinbrecht & A.G. Schilling, 2000.
Association among aggressiveness, fungal colonization, and mycotoxin production of 26 isolates of *Fusarium graminearum* in winter rye head blight. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 107: 124-134.
- Mielke, H. & J. Weinert, 1996.
Untersuchungen zur Wirkung verschiedener Fungizide gegenüber dem Erreger der Partiiellen Taubährigkeit (*Fusarium culmorum*). Nachrichtenblatt Deut. Pflanzenschutzd. 48:93-95.
- Miller, J.D., 1999.
Type 2 resistance and other thoughts on *Fusarium*. Proceedings of the Canadian workshop on *Fusarium* head blight, November 28-30 1999, Manitoba, Canada, pp 1-11.
- Miller, J.D., J.C. Young & D.R. Sampson, 1985.
Deoxynivalenol and *Fusarium* head blight resistance in spring cereals. Journal of Phytopathology 113: 359-367.
- Milus, E.A. & C.E. Parsons, 1994.
Evaluation of foliar fungicides for controlling FHB of wheat. Plant Disease 78: 697-699.
- Mirocha, C.J., W. Xie, Y. Xu, R.D. Wilcoxson, R.P. Woodward, R.H. Etebarian & G. Behele, 1994.
Production of trichothecene mycotoxins by *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* on barley and wheat. Mycopathologia 128: 19-23.
- Moschini, R.C. & C. Fortugno, 1996.
Predicting wheat head blight incidence using models based on meteorological factors in Pergamino, Argentina. European Journal of Plant Pathology 102: 211-218.
- Muhitch, M.J., S.P. McCormick, N.J. Alexander & T.M. Hohn, 2000.
Transgenic expression of the TRI101 or PDR5 gene increases resistance of tobacco to the phytotoxic effects of the trichothecene 4,15-diacetoxyscirpenol. Plant Science 22: 201-207.
- Mulfinger, S., L. Niessen & R.F. Vogel, 2000.
PCR based quality control of toxigenic *Fusarium* spp. In brewing malt using ultrasonication for rapid sample preparation. Adv. Food Sci. 22: 38-46.
- Müller, C. & H. Bröther, 2000.
Zum Artenspektrum von *Fusarium* am Erntegut von Getreide im Land Brandenburg. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 376: 329.

- Murillo, T., L. Cavallarin & B. San Segundo, 1999.
Cytology of infection of maize seedlings by *Fusarium moniliforme* and immunolocalization of the pathogenesis related PRms protein. *Phytopathology* 89: 737-747.
- Muthomi, J.W., A. Schutze, H.W. Dehne, E.W. Mutitu & E.C. Oerke, 2000.
Characterization of *Fusarium culmorum* isolates by mycotoxin production and aggressiveness to winter wheat. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 107: 113-123.
- Nedelnik, J., 1992.
Spectrum of pathogenic species of the *Fusarium* genus on red clover at locations of the Czech Republic in 1990. *Ochrana Rostlin* 28: 9-15.
- Nicholson, P., A. Mentewab, H.N. Rezanoor, N. Gosman & A.J. Worland, 2000.
Chromosomal location of *Fusarium* head blight resistance genes and analysis of the relationship between resistance to head blight and brown foot rot. *Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance*, 5-11 May 2000, Nanjing, China, pp 140.
- Nicholson, P., A.K. Lees, N. Maurin, D.W. Parry & H.N. Rezanoor, 1996.
Development of a PCR assay to identify and quantify *M nivale* var. *nivale* and *M nivale* var. *majus* in wheat. *Physiol. Molec. Plant Pathol.* 48: 257-271.
- Nicholson, P., D.R. Simpson, G. Weston, H.N. Rezanoor, A.K. Lees, D.W. Parry & D. Joyce, 1998.
Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays. *Physiol. Molec. Plant Pathol.* 53: 17-37.
- Niessen, L.M. & R.F. Vogel, 1997.
A molecular approach to the detection of potential trichothecene producing fungi. *Cereal Res. Commun.* 25: 245-249.
- Niessen, L.M. & R.F. Vogel, 1998.
Group specific PCR-detection of potential trichothecene-producing *Fusarium* species in pure cultures and cereal samples. *Syst. Appl. Microbiol.* 21: 618-631.
- Niessen, L.M., J. Klusmann & R.F. Vogel, 1997.
Quantitative estimation of *Fusarium graminearum* using a novel solid phase PCR-assay. In: Dehne, H-W., *et al.*, (eds). *Diagnosis and Identification of Plant Pathogens*. 207-211.
- Obst, A. & A. Bechtel, 2000.
Witterungsvoraussetzungen für den Ährenbefall des Weizens mit *Fusarium graminearum*. *Bodenkultur und Pflanzenbau* 4: 81-88.
- Obst, A. & H. Fuchs, 2000.
Der *Fusarium*-Besatz bei Winter- und Sommergetreide - Untersuchungsergebnisse von Saatgetreidestichproben aus Bayern 1987-99. *Bodenkultur und Pflanzenbau* 4: 21-25.
- Obst, A. & P. Gammel, 2000.
Fungizide gegen den Ährenparasiten *Fusarium graminearum*. In: *Risiken durch den Ährenparasiten Fusarium graminearum: Ergebnisse eines LBP-Forschungsverbands*: 89-98.
- Obst, A., 1997.
Mykotoxine, Taxonomie, Pathogenität und Resistenz. *Gesunde Pflanzen* 49: 276-279.
- Obst, A., G. Bauer, R. Beck & J. Lepschy, 2000.
Zusammenfassende Bewertung der Ergebnisse des LBP-Forschungsverbands *Fusarium*. *Bodenkultur und Pflanzenbau* 4: 105-107.
- O'Donnell, K., H.C. Kistler, B.K. Tacke & H.H. Casper, 2000.
Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA* 97: 7905-7910.
- O'Donnell, K., E. Cigelnik & H.I. Nirenberg, 1998.
Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia* 90: 465-493.
- Ouellet, T. & K.A. Seifert, 1993.
Genetic characterization of *Fusarium* strains using RAPD and PCR amplification. *Phytopathol.* 83: 1003-1007.

- Panigrahi, S., H. Gu, V. Hofman, M. McMullen & S. Halley, 1999.
‘SCES’ an objective fungicide coverage evaluation system for control of FHB. National FHB Forum: 71-77.
- Parry, D.W. & P. Nicholson, 1996.
Development of a PCR assay to detect *Fusarium poae* in wheat. Plant Pathol. 45:383-391.
- Parry, D.W., P. Jenkinson & L. McLeod, 1995.
Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals - a review. Plant Pathology 44: 207-238.
- Parry, D.W., T.R. Pettitt, P. Jenkinson & A.K. Lees, 1994.
The cereal *Fusarium* complex, pp. 301-320 in *Ecology of Plant Pathogens*, edited by J. P. Blakeman and B. Williamson. CAB International, Wallingford, UK.
- Pereyra, S.A., R. Dill-Macky & A.L. Sims, 1999.
Survival and inoculum potential of *Fusarium graminearum* in wheat residues. Phytopathology 89: S60.
- Polley, R.W., J.A. Turner, V. Cockerell, J. Robb, K.A. Scudamore, M.F. Sanders & N. Magan, 1991.
Survey of *Fusarium* species infecting winter wheat in England, Wales and Scotland, 1989-1990. In: Home Grown Cereals Authority Report 39. London, UK. Home Grown Cereals Authority Publication.
- Pritsch, C., C.P. Vance, W.R. Bushnell, D.A. Somers, T.M. Hohn *et al.*, 2001.
Systemic expression of defence response genes in wheat spikes as a response to *Fusarium graminearum* infection. Physiol. Molecul. Plant Path. 58: 1-12.
- Pritsch, C., G.J. Mühlbauer, W.R. Bushnell, D.A. Somers & C.P. Vance, 2000.
Fungal development and induction of defence response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*. Molec. Plant-Microbe Interact. 13: 159-169.
- Raikes, C., 1997.
Fusarium patch disease on winter sports turf in the UK: a potential biocontrol candidate. Journal of Turfgrass Management 2: 35-50.
- Raventos, D., M.J. Cordero & B. San Segundo, 1994.
Fungal induced synthesis of pathogenesis related proteins in germinating maize embryos. Physiol. Molecul. Plant Pathol. 45: 349-358.
- Rintelen, J., 1995.
Zum Infektionszeitpunkt von Fusarien an Weizenkörnern. Gesunde Pflanzen 47: 315-317.
- Rintelen, J., 2000a.
Erste Untersuchungen in den Jahren 1982 bis 1989 zum Befall von Futtergetreide, Mais-, Hafer- und Weizenkörnern mit Fusarien. Bodenkultur und Pflanzenbau 4: 15-20.
- Rintelen, J., 2000b.
Ist das starke Auftreten von *Gibberella zea* (*Fusarium graminearum*) and Getreideähren auf die Zunahme des Maisanbaus zurückzuführen? Bodenkultur und Pflanzenbau 4: 11-14.
- Rodemann, B., H. Mielke & G. Bartels, 2000.
Ährenfusariosen in Winterweizen – gibt es Fortschritte in der Bekämpfung? Mitt. aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 376: 87.
- Satyaprasad, K., G.L. Bateman & E. Ward, 2000.
Comparisons of isolates of *Fusarium avenaceum* from white lupin and other crops by pathogenicity tests, DNA analyses and vegetative compatibility tests. Journal of Phytopathology 148: 211-219.
- Schade-Schütze, A., E.C. Oerke & H.W. Dehne, 1997.
Isolation and identification of *Fusarium* spp. and *M. nivale* from winter wheat, pp. 337-340 in *Diagnosis and Identification of Plant Pathogens*, edited by H.-W. Dehne, G. Adam, M. Diekmann, A. Mauler-Machnik and P. v. Halteren. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- Schade-Schütze, A., E.C. Oerke & H.W. Dehne, 2000.
Biologische Charakterisierung von *Fusarium*-Arten und *M. nivale*. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 376: 328-329.
- Schepers, H.T.A.M. & H.G. Spits, 2001.
Control of *Fusarium* Head Blight and effects on DON by tebuconazole using different nozzles and an organosilicone adjuvant. Sustainable systems of cereal crop protection against fungal

- diseases as the way of reduction of toxin occurrence in food webs. Kromeriz, Czech Republic, 2-6 July 2001.
- Schilling, A.G., E.M. Möller & H.G. Geiger, 1996.
Polymerase chain reaction-based assays for species-specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. avenaceum*. *Phytopathol.* 86: 515-522.
- Schroeder, H.W. & J.J. Christensen, 1963.
Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. *Phytopathology* 53: 831-838.
- Shaner, G. & G. Buechley, 2000.
Control of FHB of wheat with foliar fungicides. *National FHB Forum 2000*: 110-113.
- Simpson, D.R., G.E. Weston, J.A. Turner, P. Jennings & P. Nicholson, 2001.
Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology* 107: 421-431.
- Singh, R.P., M. Hong & S. Rajaram, 1995.
Genetic analysis of resistance to scab in spring wheat cultivar Frontana. *Plant Disease* 79: 238-240.
- Siranidou, E. & H. Buchenauer, 2001.
Chemical control of *Fusarium* head blight on wheat. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 108: 231-243.
- Skadhauge, B., K.K. Thomsen & D. v. Wettstein, 1997.
The role of the barley testa layer and its flavonoid content in resistance to *Fusarium*. *Hereditas Landskrona* 126: 147-160.
- Skadsen, R.W., P. Sathish, J. Fu, M.L. Federico & H. Käßler, 2000.
Targeted expression of a thionin gene to inhibit growth of *Fusarium graminearum* in barley, pp. 46-48 in *National Fusarium Head Blight Forum*.
- Snijders, C.H.A. & F.A. van Eeuwijk, 1991.
Genotype by strain interactions for resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 81: 239-244.
- Snijders, C.H.A. & J. Perkowski, 1990.
Effects of head blight caused by *Fusarium culmorum* on toxin content and weight of wheat kernels. *Phytopathology* 80: 566-570.
- Snijders, C.H.A., 1990a.
Diallel analysis of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica* 50: 1-9.
- Snijders, C.H.A., 1990b.
The inheritance of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica* 50: 11-18.
- Snijders, C.H.A., 1990c.
Genetic variation for resistance to *Fusarium* head blight in bread wheat. *Euphytica* 50: 171-179.
- Sperling, U., R. Gippert & H. Hartleb, 2000.
Zweijährige Untersuchungen zum Artenspektrum der an Weizenkörnern auftretenden *Fusarien*. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft* 376: 330-331.
- Srobarova, A. & A. Pavlova, 2001.
Toxicity of secondary metabolites of the fungus *F. culmorum* in relation to resistance of winter wheat cultivars. *Cereal Research Communications* 29: 101-108.
- Stack, R.W. & R.C. Frohberg, 2000.
Inheritance of resistance to *Fusarium* head blight in spring wheat F1 hybrids. *Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China*, pp 94-97.
- Stack, R.W., C.E. Wolf-Hall, H.H. Caspar & J.M. Hansen, 2000.
DON level in grain from wheat inoculated with *F. graminearum* is not correlated to the DON producing potential of individual cultures, pp. 198 in *2000 National Fusarium Head Blight Forum, Cincinnati, USA*.

- Stack, R.W., 2000.
Return of an old problem: Fusarium head blight of small grains.
<http://www.apsnet.org/education/feature/FHB/Top/htm>.
- Steffenson, B.J., 1999.
Combating Fusarium head blight: an emerging threat to malting barley quality throughout the world. In: EBC congress 1999, pp 531-539.
- Stockwell, C.A., G.C. Bergstrom & W.C. de Luz, 1999.
Selection of microbial antagonists for biological control of Fusarium head blight of wheat, pp. 82-84 in 1999 National Fusarium Head Blight Forum, Sioux Falls, South Dakota, USA.
- Stockwell, C.A., G.C. Bergstrom & W.C. de Luz, 2000.
Identification of bioprotectants for control of *Gibberella zeae*, pp. 114-117 in 2000 National Fusarium Head Blight Forum, Cincinnati, USA.
- Suty, A. & A. Mauler-Machnik, 1996.
Ährenfusariose an Weizen - Neue Erkenntnisse zur Epidemiologie und Bekämpfung von *Gibberella zeae*, der Hauptfruchtvorm von *Fusarium graminearum* mit Folicur. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 49: 55-70.
- Suty-Heinze, A., 2000.
Bedeutung von Ährenfusariosen an Weizen in Europa und Möglichkeiten der Bekämpfung mit tebuconazole-haltigen Produkten. Mitt. aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 376: 332-333.
- Tag, A.G., G.F. Garifullina, A.W. Peplow, C. Ake, T.D. Phillips, T.M. Hohn & M.N. Beremand, 2001.
A novel regulatory gene, *tri10*, controls trichothecene toxin production and gene expression. Appl. Environm. Microbiol. 67: 5294-5302.
- Tanaka, T., A. Yoneda, S. Inoue, Y. Sugiura & Y. Ueno, 2000.
Simultaneous determination of trichothecene mycotoxins and zearalenone in cereals by gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr. A. 882: 23-28.
- Townley-Smith, 2000.
Breeding for Fusarium blight resistance in wheat in Canada. Proceedings of the Canadian workshop on Fusarium head blight, November 28-30 1999, Manitoba, Canada, pp. 56-58.
- Trenholm, H.I., R.M. Warner & D.B. Prelusky, 1985.
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68: 645-649.
- Turner, A.S., R.B. O'Hara, H.N. Rezanoor, M. Nuttall, J.N. Smith & P. Nicholson, 1999.
Visual disease and PCR assessment of stem base disease in winter wheat. Plant Pathol. 48: 742-748.
- Waalwijk, C., T. Hesselink, P.M. de Vries, B. H. de Haas, P. Kastelein, E.C.P. Verstappen, T.A.J. van der Lee & G.H.J. Kema, 2000.
Fusarium in Nederland: inventarisatie en identificatie. Plant Research International, Wageningen.
- Wang, Y.Z. & J.D. Miller, 1988.
Effects of *Fusarium graminearum* metabolites on wheat tissue in relation to Fusarium head blight resistance. Journal of Phytopathology 122: 118-125.
- Wang, Y.Z. & J.D. Miller, 1989.
Studies of the resistance of wheat cultivars to the mycotoxin produced by *Fusarium graminearum*. Acta Phytopathologica Sinica 19: 105-108.
- Wang, Y.Z., H.G. Chen, X.N. Yang, M. Lu & Z.F. Wu, 1989.
Bioactivity of crude toxin produced by *Fusarium graminearum* and its application in identification of Fusarium head blight resistance of wheat cultivars. Acta Phytopathologica Sinica 22: 54-57.
- Wanson, P. & H. Maraite, 1984.
Root rot, cause of red clover decline in Belgium. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent 49/2a: 207-215.
- Weinert, J., G. Bartels, E. Beer, H.J. Krauthausen, E. Oldenburg & G.A. Wolf, 2000.
Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Pflanzenschutzmassnahmen auf den Fusarium-Besatz und den Mykotoxingehalt im Erntegut von Getreide. Mitt. aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 376: 70.

- Winter, W., 1986.
Winter killing in pure ryegrass stands, the importance of fungal pathogens and their possible control. I. Results from field trials with natural infection. *Journal of Phytopathology* 117: 226-243
- Wosnitza, A., 2000.
Verbesserung der Fusariumresistenz-Bewertung bei Weizen. *Bodenkultur und Pflanzenbau* 4: 59-74.
- Yao, J.B., Y.F. Ge & S.W. Wang, 1997.
Chromosomal location of genes for scab resistance in wheat cultivar Sumai 3. *Acta Agronomica Sinica* 23: 450-453.
- Yates, I.E., C.W. Bacon & D.M. Hinton, 1997.
Effects of endophytic infection by *Fusarium moniliforme* on corn growth and cellular morphology. *Plant Disease* 81: 723-728.
- Yoder, W.T. & L.M. Christianson, 1998.
Species-specific primers resolve members of *Fusarium* section *Fusarium*. Taxonomic status of the edible 'Quorn' fungus reevaluated. *Fungal Genet. Biol.* 23: 68-80.
- Yu, Y.J., 1982.
Monosomic analysis for scab resistance and yield components in the wheat cultivar Sumai 3. *Journal of Huazhong Agricultural College* 2: 70-72.
- Zeyen, R.J., W.R. Baldridge, W.R. Bushnell & K. L.B. Hilburn, 2000.
A microassay approach to rapid antifungal protein gene pretesting, pp. 64-67 in *National Fusarium Head Blight Forum*
- Zhang, X., Y. Jin & J. Rudd, 2000.
Inheritance of scab resistance in Sapporo Haru Komugi Jugo. *Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China*, pp 98-99.
- Zhu, Z., L. Ren, Y. Xiang, X. Shen, X. Zhang, M. Zhou & W. Lu, 2000.
Identification of RAPD markers linked to scab resistance in the wheat Sumai 3. *Proceedings of the International Symposium on wheat improvement for scab resistance, 5-11 May 2000, Nanjing, China*, 132-135.
- Zhuang, Q.S. & Z.S. Li, 1993.
Present status of wheat breeding and related genetic studies in China. *Wheat Information Service* 76: 1-15.

