

## Bedeutung mikrobiell-induzierter Lagerfäule für die Entstehung von Saccharoseverlusten während der Lagerung von Zuckerrüben und Maßnahmen zur Vermeidung

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle:</b>	Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ), Göttingen Prof. Dr. Bernward Märländer/Prof. Dr. Mark Varrelmann/ Dr. Daniela Christ
<b>Industriegruppe:</b>	Verein der Zuckerindustrie e. V., Bonn
	Projektkoordinator: Dr. Andreas Windt Nordzucker AG, Braunschweig
<b>Laufzeit:</b>	2014 - 2017
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 250.050,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Zucker (Saccharose) aus Rüben (*Beta vulgaris* L.) ist ein Produkt der Ernährungsindustrie, das höchste Ansprüche an Verarbeitung und Qualität stellt. Die Wirtschaftlichkeit der industriellen Zuckergewinnung hängt davon ab, wie viel von der ursprünglich in der Zuckerrübe enthaltenen Saccharose kristallisiert, welcher Anteil zu Gunsten von Melasse verloren geht und wie hoch die Menge an Prozessinhibierenden Stoffen ist. Die Rübenkampagne läuft derzeit von Mitte September bis Anfang Januar. Während der Kampagne werden in jeder der 20 deutschen Fabriken durchschnittlich 11.500 t Rüben pro Tag verarbeitet. Zum Erhalt der Wettbewerbsfähigkeit der deutschen Zuckerindustrie auf dem Weltmarkt müssen die bestehenden Produktionskapazitäten besser ausgelastet und damit die Fixkosten gesenkt werden. Es ist somit zukünftig erforderlich, die Verarbeitungskampagne von derzeit ungefähr 120 Tagen auf 150 Tage auszuweiten. Die Ernte muss jedoch aus Gründen des Bodenschutzes und der rechtzeitigen Aussaat der Folgekultur spätestens Mitte November abgeschlossen sein. Zuckerrüben werden daher über mehrere Wochen bis zur Verarbeitung in Feldrandmieten gelagert. Während der Lagerung kommt es jedoch zu direkten Saccharoseverlusten von rund 0,1 %

pro Tag, da ein Teil der Saccharose in einer enzymkatalysierten Reaktion zu Invertzucker umgewandelt wird. Bei der Weißzuckergewinnung kommt es darüber hinaus durch die negative Beeinflussung des Produktionsprozesses (verstärkte Farbgebung, verringerte Kristallisationsrate, saure Hydrolyse) zu weiteren indirekten Verlusten.

Bisher ist unbekannt, ob die Saccharoseverluste während der Lagerung in erster Linie auf physiologische Atmungsprozesse der Rübe oder mikrobielle Besiedelung zurückzuführen sind. Einerseits müssen pflanzliche Atmungsprozesse auch nach der Ernte weiterlaufen, um lebensnotwendige Prozesse aufrecht zu erhalten und Wunden, die bei der Ernte oder der Einlagerung in die Miete entstanden sind, zu heilen. Andererseits kommt es mit zunehmender Lagerdauer zur Entstehung von Lagerfäule. Typische Lagerfäulepathogene sind *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Phoma betae* und *Botrytis cinerea*. Viele dieser Arten verursachen nicht nur optisch sichtbare Fäulnissymptome, sondern produzieren auch für Mensch und Tier gesundheitsgefährdende Mykotoxine.

Das Inokulum hierfür befindet sich im Erdanhang, dessen Menge u.a. von der Witterung zur Ernte bestimmt wird. Die Ursachen für

Lagerfäule sind jedoch nicht hinreichend untersucht. Ein entscheidender Faktor scheint jedoch die Sortenwahl zu sein. In der Literatur werden Resistenzen gegenüber einzelnen Lagerfäulepathogenen beschrieben. Bisher gibt es aber in Europa noch keine marktfähigen Sorten mit ausgewiesener Lagereignung. Dies liegt vor allem daran, dass es zurzeit keine einfache und ökonomisch vertretbare Testmethode gibt, um Sortenunterschiede festzustellen. Darüber hinaus ist unbekannt, ob eine Selektion eher auf pflanzliche Invertaseaktivität oder auf Resistenz gegenüber Lagerfäulepathogenen erfolgen soll.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, Saccharoseverluste durch mikrobielle Besiedlung nachzuweisen, ihren Anteil zu bestimmen und nachhaltig zu verringern. Dafür sollte zunächst ein Infektionsassay für Lagerfäule entwickelt werden sowie die Aktivität pilzlicher und pflanzlicher saccharoseabbauender Enzyme, die relative Genexpression der kodierenden Gene und die Pilzbiomasse im Rübengewebe bestimmt werden. Darüber hinaus sollten pflanzenbauliche Einflussfaktoren sowie eine Optimierung des Lagermanagements erforscht werden.

#### Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Forschungsvorhabens (Arbeitspaket 1) wurde zunächst ein Assay entwickelt, um Lagerfäulen im kleinen Maßstab zu simulieren. Dieses Assay wurde für Feld- und Gewächshausrüben optimiert und mit verschiedenen Lagerungspathogenen getestet. Für die Validierung wurden verschiedene Zuckerrüben-Genotypen mit dem Assay auf ihre Lagerstabilität untersucht und mit den Ergebnissen einer Langzeitlagerung verglichen. Der Invertzuckergehalt wurde dabei als Kriterium der Lagerstabilität herangezogen und zeigte eine deutliche Korrelation der beiden Lagerungsmethoden. Das Assay stellt somit eine zeit- und kostengünstige Alternative für die Analyse von Lagerfäulen an Zuckerrüben da. Gemäß des entwickelten Assays wurden im Arbeitspaket 2, Zuckerrüben mit den beiden Lagerfäuleerregern *Fusarium graminearum* und *Botrytis cinerea* inokuliert und der Einfluss der entstandenen Fäule auf die Entwicklung des nekrotischen Gewebes, der Saccharosekonzentration sowie der pilzlichen Biomasse im Rübengewebe untersucht. Es zeigte

sich, dass vor allem im nekrotischen Gewebe die Aktivität der Saccharose abbauenden Enzyme detektiert werden konnte. Um zu evaluieren, ob pflanzliche oder pilzliche Enzyme für die durch Fäulen verstärkten Zuckerverlust während Lagerung verantwortlich sind, wurde die Expression von sechs pflanzlichen sowie zwei pilzlichen Kandidatengen untersucht. Es konnten zwei pflanzliche Enzyme ermittelt werden, deren Expression durch die Lagerfäule deutlich induziert wurde und die dadurch vermutlich eine wichtige Rolle bei den beobachteten Saccharoseverlusten spielen. Die pflanzliche Reaktion unterschied sich dabei nicht in Abhängigkeit des Lagerfäuleerregers. Die Auswertung ergab weiterhin, dass nur eine sehr geringe Biomasse des pilzlichen Erregers während der untersuchten Lagerungsdauer gebildet wurde. Aus diesem Grund kann davon ausgegangen werden, dass die pilzlichen Saccharose abbauenden Enzyme eine geringe Rolle bei den Saccharoseverlusten während der Lagerung spielen. In Arbeitspaket 3 wurden Zuckerrüben unter realen Bedingungen von aktuell auf dem Markt erhältlichen Rodertypen geerntet und anschließend eingelagert. Es zeigte sich, dass sich die verwendete Rodertechnologie signifikant auf das Ausmaß der während der Ernte herbeigeführten Verletzungen auswirkte. Weiterhin wurden nach einer Lagerung von 12 Wochen signifikante Unterschiede in Bezug auf die Ausprägungen von Lagerfäulen sowie den Zucker- und Invertzuckergehalt ermittelt. Im Arbeitspaket 4 war es dagegen nicht möglich, durch die Variation von Witterungsbedingungen und Rodegeschwindigkeit mit einem Parzellenroder hinreichende Unterschiede in den Erntebedingungen zu generieren, um einen signifikanten Einfluss auf die Lagerstabilität zu ermitteln. Die Eignung des Invertzuckergehalts als Kriterium für ein regionales Ernte- und Lagermanagementsystem sollte in einem zweijährigen Monitoring untersucht werden. Dabei konnte erstmals für Praxismieten ein positiver Zusammenhang zwischen Lagerdauer und Invertzuckergehalten nachgewiesen werden. Eine detaillierte Analyse der Faktoren, die die Invertzuckerbildung während der Lagerung erhöhen, war allerdings aufgrund der geringen Anzahl beprobter Mieten pro Zuckerunternehmen nicht möglich. Da aufgrund der verkürzten Kampagne im Jahr 2015 keine Langzeitlagerung durchgeführt wurde, wurde in Rücksprache mit dem Projektbegleitenden Ausschuss das Arbeitsprogramm



dahingehend verändert, dass auf eine Wiederholung der Feldversuche in Arbeitspaket 4 sowie des Mietenmonitorings im Jahr 2015 verzichtet wurde und stattdessen ein Roder-Systemvergleich durchgeführt wurde. Hierfür wurden in einem vollständig randomisierten Feldversuch an zwei Standorten Zuckerrüben von zwei Roder, die sich vor allem in der Reinigungstechnologie (Walzen- bzw. Siebsterreinigung) unterschieden, geerntet. Die Auswertung zeigte, dass die Varianten mit der höchsten Beschädigung und Spitzenbruch auch den höchsten Befall mit Pathogenen nach der Lagerung aufwiesen und infolgedessen den höchsten Invertzuckergehalt und die höchsten Zuckerverluste zu beobachten waren. Während kein eindeutiger Effekt des Roder auf das Auftreten von Lagerfäulen im Untersuchungszeitraum gezeigt werden konnte, waren signifikanter Unterschiede in Bezug auf den Invertzuckergehalt nach der Lagerung messbar.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Rund die Hälfte der in Deutschland jährlich geernteten 22 Mio. t Zuckerrüben wird vor der Verarbeitung gelagert. Bei einem durchschnittlichen Zuckergehalt von 17,5 % und einem Ausbeuteverlust von 2 % befinden sich damit rund 1,7 Mio. t Zucker in Feldrandmieten. Bei einem Saccharoseverlust von 0,1 % pro Tag ist dies gleichbedeutend mit einem Verlust von 1.550 t/Tag. Beim aktuellen Weltmarktpreis von 700 €/t ergibt sich somit ein finanzieller Verlust von 1,085 Mio. € pro Tag für die deutsche Zuckerindustrie. Diese Zahl bezieht sich jedoch allein auf den direkten Saccharoseverlust. Der zusätzliche Melasseverlust, der durch die Verarbeitung von Rüben mit qualitativen Unreinheiten entsteht, wird um den Faktor 1,6 höher eingeschätzt. Die wirtschaftliche Bedeutung von Saccharoseverlusten während der Lagerung wird sich durch die unvermeidbare Kampagnenverlängerung noch verstärken und erstreckt sich letztlich über alle Ebenen der Wertschöpfungskette: vom Anbauer über Roder- und Reinigungsladerhersteller sowie Roder- und Abfuhrgemeinschaften bis zur Fabrik.

Die Ergebnisse liefern wichtige neue Erkenntnisse über Saccharose abbauende Enzyme und ihre Rolle bei der Lagerstabilität von Zuckerrüben. Es konnte gezeigt werden, dass die

Expression verschiedener pflanzeigener Saccharose abbauender Enzyme, durch den Pathogenbefall deutlich induziert wird. In Kombination mit der ermittelten geringen pilzlichen Biomasse und der analysierten pilzlichen Genexpression weist dieses Ergebnis auf eine dominante Rolle der pflanzlichen Gene bei Lagerungsverlusten hin. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass es vermutlich keine direkte Korrelation zwischen der Expression Saccharose abbauender Enzyme und der pathogenspezifischen Resistenz gibt und es sich bei der Invertaseaktivität während der Lagerung nicht primär um einen Resistenzmechanismus handelt. Diese Ergebnisse stellen einen erheblichen Erkenntnisgewinn in der Erforschung von Lagerfäulen und Zuckerrüben da und bilden den Grundstein für weitere Experimente, um genotypische Einflüsse zu charakterisieren und somit Sorteneigenschaften in Zukunft gezielt zu verbessern. Auch die technische Etablierung des Lagerfäuleassays sowie die Ermittlung der Lagerstabilität anhand von qRT-PCR bieten für die Zukunft zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten, wie beispielsweise den gezielten Einsatz in der Pflanzenzüchtung oder um erweiterte Fragestellungen in der Wissenschaft zu untersuchen. Diese kostengünstigere Analyse der Lagerstabilität kommt somit gerade kleineren Züchtungsunternehmen zugute, für die umfassende Langzeitlagerungsversuche nicht durchführbar sind. Des Weiteren konnte eindeutig gezeigt werden, dass der Grad der Beschädigung der Rüben während der Ernte maßgeblich die Lagerungsverluste beeinflusst und dass bereits jetzt Stellschrauben existieren, Rüben schonender zu ernten, um so Verlusten vorzubeugen. Die Anpassung der Roder-technik wird dabei für die Zukunft maßgeblich sein. Somit sind die in Zusammenarbeit mit den Roderherstellern gewonnenen Erkenntnisse von großem technischem und wirtschaftlichem Nutzen für Roderhersteller und Zuckerunternehmen. Darüber hinaus profitieren vor allem auch die Rohstoffherzeuger und die beteiligten Dienstleister des vorgelagerten Bereichs, welche allesamt zu den KMU gehören. Bei der Annahme der Zuckerrüben in der Fabrik gibt es ein qualitätsorientiertes Bezahlsystem. Somit wirken sich Maßnahmen zur Steigerung der Rohstoffqualität direkt positiv auf die Rohstoffliefernden Betriebe aus, die dadurch die Wirtschaftlichkeit ihrer Produktion und die Flächeneffizienz steigern können.

**Publikationen (Auswahl):**

1. FEI-Schlussbericht 2017.
2. Hofmann, C. M., Engelhardt, M., Gallmeier, M., Gruber, M. & Märländer, B.: Importance of harvesting system and variety for storage losses of sugar beet. Sugar Ind./Zuckerind. 143 (8), 474-484 (2018).
3. Hoffmann, C. M., Engelhardt, M., Gallmeier, M., Gruber, M. & Märländer, B.: Bedeutung von Erntetechnik und Sorte für die Lagerungsverluste von Zuckerrüben. Sugar Ind./Zuckerind. 142 (Sonderheft), 60-71 (2017).
4. Liebe, S. & Varrelmann, M.: Zuckerrübenlagerung – Vom Mikrobiom zum Transkriptom. Zuckerind./Sugar Ind. 142 (Sonderheft), 72-84 (2017).
5. Becker, M., Varrelmann, M. & Christ, D.: Impact of genotype, harvest technology and harvesting conditions on storage rot formation and invert sugar accumulation during long-term storage of sugar beet. Sugar Ind./Zuckerind. 141 (5), 322-330 (2016).

**Weiteres Informationsmaterial:**

Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ)  
Holtenser Landstraße 77, 37079 Göttingen  
Tel.: +49 551 50562-10  
Fax: +49 551 50562-99  
E-Mail: mail@ifz-goettingen.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

**... ein Projekt der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

Gefördert durch:



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.