



(10) **DE 10 2012 204 237 A1** 2013.09.19

(12) **Offenlegungsschrift**

(21) Aktenzeichen: **10 2012 204 237.7**

(22) Anmeldetag: **16.03.2012**

(43) Offenlegungstag: **19.09.2013**

(51) Int Cl.: **A01H 3/04 (2012.01)**

(71) Anmelder:
**Georg-August-Universität Göttingen Stiftung
Öffentlichen Rechts, 37073, Göttingen, DE**

(72) Erfinder:
**Becker, Eva-Maria, 37083, Göttingen, DE;
Splivallo, Richard, 37073, Göttingen, DE;
Karlovsky, Petr, 37073, Göttingen, DE**

(74) Vertreter:
**WUESTHOFF & WUESTHOFF Patent- und
Rechtsanwälte, 81541, München, DE**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:
siehe Folgeseiten

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Volatile Biomarker für die Detektion von Mykotoxin produzierenden pilzlichen Pathogenen bei Maispflanzen**

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Erzeugung von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mit vermindertem Pilzbefall, insbesondere umfassend die Schritte des Testen der Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf mindestens zwei volatile organische Stoffe aus der Gruppe bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpen, wobei das Vorliegen der volatilen organischen Stoffe einen Pilzbefall anzeigt, und Behandeln des Pilzbefalls oder Aussortieren von befallenen Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern. Zudem betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Nachweis von Pilzbefall bei Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern. Des Weiteren betrifft die Erfindung ein entsprechendes System und dessen Verwendung zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe (VOCs), sowie die Verwendung einer Kalibrierlösung.

Molekulare Masse	Identifikation/ VOC	CAS	KI (Ber.)
42 (103), 41 (76), 55 (67), 70 (56), 48 (27)	2-Pentanal ¹	000371-42-0	751
43 (103), 58 (59), 41 (38), 57 (41), 100 (1)	2-Hexanon ¹	000581-78-6	777
74 (103), 41 (96), 56 (71), 43 (63), 57 (58)	Hexanal ¹	000066-25-1	787
41 (103), 47 (73), 55 (60), 42 (25), 82 (2)	3-Hexen-1-ol ¹	000528-95-1	856
56 (108), 45 (74), 41 (67), 55 (65), 47 (62), 66 (56)	1-Hexanol ¹	000111-72-8	871
45 (100), 55 (55), 70 (43), 104 (32), 41 (28)	keine ID		889
43 (100), 58 (46), 41 (33), 71 (12), 42 (2)	2-Heptanon ¹	000110-43-0	891
45 (100), 43 (39), 41 (39), 55 (42), 44 (3)	2-Heptanal ¹	000243-45-7	904
57 (103), 43 (24), 41 (24), 55 (16), 79 (70)	1-Octen-3-ol ¹	000191-86-4	974
57 (103), 43 (83), 72 (53), 71 (47), 99 (40)	3-Octanon ¹	000106-68-8	985
81 (120), 53 (24), 82 (23), 41 (14), 138 (13)	Paran, 2-pentyl ¹	003777-69-3	987
59 (103), 55 (58), 41 (49), 83 (42), 43 (21)	3-Octenol ¹	000549-38-0	953
67 (100), 41 (39), 55 (59), 65 (20), 124 (20)	keine ID		1017
105 (100), 41 (98), 91 (87), 94 (69), 161 (59), 139 (58), 204 (53), 77 (48), 93 (47), 79 (47)	(-)-Cyclisozettren ¹	000000-00-0	1375
105 (100), 119 (93), 93 (74), 91 (71), 120 (65), 161 (55), 92 (42), 77 (41), 79 (28), 107 (26)	α -Ylangen ¹	015812-44-8	1380
41 (100), 91 (65), 55 (60), 63 (45), 79 (45), 77 (40), 105 (37), 43 (34), 87 (30), 53 (29)	(-)-Anomaldien ¹	000489-39-4	1410
41 (100), 91 (99), 145 (65), 105 (62), 79 (60), 93 (53), 55 (49), 94 (48), 77 (47), 107 (46)	Longifolen ¹	000475-20-7	1412
93 (100), 41 (63), 108 (64), 95 (49), 91 (47), 107 (40), 43 (28), 55 (37), 94 (34), 57 (33)	SQT unbekannt	093060-59-6	1418
161 (100), 91 (59), 41 (98), 130 (66), 105 (75), 77 (55), 79 (51), 93 (47), 43 (44), 119 (41)	Germazen D ¹	023989-71-5	1431
161 (100), 91 (68), 41 (63), 105 (66), 119 (41), 77 (43), 79 (37), 93 (32), 55 (28), 61 (27)	SQT unbekannt		1442

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

DE	100 02 880	C1
DE	199 50 396	C2
FR	2 650 475	A1
WO	02/ 032 222	A1

Demyttenaere et al. 2004. Use of headspace solid phase microextraction and headspacesorptive extraction for the detection of the volatile metabolites produced by toxigenicFusarium species. Journal of Chromatography A 1027 (1 2), 147 - 154

Huffaker et al. Novel Acidic Sesquiterpenoids Constitute a Dominant Class of Pathogen Induced Phytoalexins in Maize. Plant Physiology (2011), Band 156, 2082 – 2097

Köllner et al. 2004 The sesquiterpene hydrocarbons of maize (Zea mays) form five groups with distinct developmental and organ-specific distributions Phytochemistry, 65, 1895 -1902.

Köllner et al. 2008 Protonation of a Neutral (S)- β -Bisabolene Intermediate Is Involved in (5)- β -Macrocarpene Formation by the Maize Sesquiterpene Synthases TPS6 and TPS11. Journal of Biological Chemistry, Band 283, Nr. 30, Seiten 20779 – 20788

Piesik et al. 2011 Cereal crop volatile organic compound induction after mechanical injurybeetle herbivory (Oulema spp.), or fungal infection (Fusarium spp.). Journal of PlantPhysiology 168(9), 878 - 886

Schmelz et al. 2003. Simultaneous analysis of phytohormones, phytotoxins, and volatile organic compounds in plants. PNAS, 100, 10552 – 10557

Spiegel 50 /2010, 13. 12. 2010: Titelbild

Spiegel 50 /2010, 13. 12. 2010: Sensor riecht Ackerschädlinge

Tholl et al. Practical approaches to plant volatile analysis", The Plant Journal(2006) 45, 540 - 560

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Erzeugung von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mit vermindertem Pilzbefall, insbesondere umfassend den Schritt des Testens der Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner auf mindestens zwei volatile organische Stoffe (VOCs) aus der Gruppe bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpen, wobei das Vorliegen der VOCs einen Pilzbefall anzeigt, und den Schritt des Behandeln des Pilzbefalls oder dem Aussortieren von befallenen Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern. Zudem betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Nachweis von Pilzbefall bei Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern. Des Weiteren betrifft die Erfindung ein entsprechendes System und dessen Verwendung zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf VOCs, sowie die Verwendung einer Kalibrierlösung zum Testen.

Stand der Technik

[0002] Pilze können nicht nur Nutzpflanzen schädigen und den Ertrag senken, sondern auch Toxine erzeugen, welche dann in die Nahrungskette eintreten. So können *Fusarium ssp. Fumonisine* herstellen, sowie *Trichothecene* wie Deoxynivalenol (DON), Nivalenol (NIV) oder T2-Toxin. Es ist bekannt, dass *Trichothecene* multiple toxische Auswirkungen auf physiologische Vorgänge innerhalb des menschlichen und tierischen Körpers haben, beispielsweise beeinträchtigen sie das Immunsystem. In der Agrarwirtschaft führt der Pilzbefall von Nutzpflanzen zum großflächigen Ausbringen von Fungiziden. Dies ist mit großen Kosten und Umweltbelastung verbunden.

[0003] Mais ist die wichtigste Nutzpflanze, mit mehr als 810 Millionen Tonnen Produktion im Jahr 2009. Allein im Jahr 2011 wurden in den USA 144 000 Quadratmeilen angepflanzt. *Fusarium*-Pilze befallen vor allem Getreide (Demyttenaere et al. 2004), insbesondere die Nutzpflanzen Mais und Weizen. Durch *Fusarium*-Infektionen können sich Ertragsausfälle von bis zu 50% ergeben. In den USA wird der jährliche Verlust auf bis zu 1 Milliarde US-Dollar geschätzt. Zudem betrug allein in Deutschland der jährliche Einsatz von Fungiziden in 2007 ca. 436 Millionen Euro. Appliziert werden die Spritzmittel auf Verdacht und mit einem Mengenaufschlag von ca. 30%. Bei bedarfsge rechter Anwendung von Fungiziden ergäbe sich somit ein hohes Einsparpotenzial. Somit besteht ein Bedarf an Verfahren und Messsystemen, die Fungizide auf Pflanzen und Pflanzenfrüchten sicher und rechtzeitig erkennen.

[0004] Mit Ausnahme der visuellen Kontrolle von Getreidebeständen durch Landwirte und Experten, gibt es bislang kein effizientes System für die Früherkennung einer *Fusarium*-Infektion im Feld. Die exakte Bestimmung der pilzlichen Biomasse durch molekularbiologische Methoden, z. B. quantitative Real-Time PCR (Polymerase-Kettenreaktion) und die Bestimmung der Toxin-Konzentration mit analytischen Methoden, wie HPLC-MS (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie) sind zeitaufwändig, kostenintensiv und als schnelle Entscheidungsgrundlage für Landwirte ungeeignet.

[0005] Wie oben erwähnt, besteht neben der Ertragsminderung in der Agrarwirtschaft das Problem, dass pilzbefallene Lebensmitteln verzehrt werden. Wenn Pilzbefall bei Lebensmitteln nicht rechtzeitig detektiert und die betroffenen Lebensmittel nicht aussortiert werden, verbleiben die vom Pilz produzierten Giftstoffen im Lebensmittelkreislauf und werden vom Menschen konsumiert. Für den Fall, dass der Pilzbefall rechtzeitig erkannt wird, können die befallenen Pflanzen bzw. Pflanzenfrüchte aussortiert werden, so dass sie nicht mehr in den Lebensmittelkreislauf gelangen. Sie können dann aber beispielsweise noch zur Herstellung von Kraftstoffen verwendet werden. Aufgrund der resultierenden geringeren Kosten erträge ist aber die Bekämpfung des Pilzes bei der Kultivierung der Pflanzen von Vorteil. Die frühzeitige Detektion von Pilzbefall bei Nutzpflanzen wäre somit vorteilhaft, um rechtzeitig Gegenmaßnahmen zu treffen, beispielsweise um die Pflanzen mit geeigneten Spritzmitteln zu behandeln.

[0006] Ein zusätzliches Problem in der Agrarwirtschaft stellt auch der Befall von Nutzpflanzen durch andere Schädlinge, wie beispielsweise Fraßschädlinge dar (Piesik et al. 2011a/b). Bislang wurden bereits unterschiedliche Marker beschrieben, die den Befall von Schädlingen, beispielsweise Fraßschädlingen oder Pilzbefall, anzeigen können.

[0007] Es ist bekannt, dass Pflanzen auf Schädlingsbefall, wie beispielsweise Befall durch Pilze oder Fraßschädlinge, sowie in Reaktion auf veränderte Umweltbedingungen, wie beispielsweise der Änderungen der Temperatur, Ozonwerte, Staunässe etc., mit der Emission von VOCs reagieren. Hierbei können unterschiedliche Mengen und Arten von VOCs emittiert werden, wobei man bereits eine große Vielzahl verschiedener VOCs kennt. VOCs sind kleine Kohlenwasserstoffe unterschiedlichster Verbindungen (z. B. Aldehyde, Ketone, Ester), die eine hohe Volatilität aufweisen und über weite Strecken transportiert werden können (siehe beispielsweise Degenhardt et al. (2009)). VOCs werden durch eine Vielzahl von Organismen (von den Pflanzen selbst oder auch von den Schädlingen) produziert, wobei die Zusammensetzung der volatilen Komponenten für eine Art, unter den gegebenen Umweltbedingungen und phy-

siologischen Bedingungen, spezifisch bzw. charakteristisch sein kann (Fischer et al. (1999).

[0008] Die Detektion von VOCs kann mittels GC-Methode (Gaschromatographie), GC-MS-Methode (Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometer), mittels IMS (Ionen-Mobilitäts-Spektrometer) oder EN (Electric Nose/elektronischen Nasen) erfolgen. Die Verwendung von elektronischen Nasen zur Detektion von VOCs, die von den Pilzen selbst emittiert werden, ist in Magan et al. (2000) beschrieben.

[0009] Im Hinblick auf eine Infektion mit *Fusarium* spp. wurde das volatile Sesquiterpen Trichodien als geeigneter Marker für die Biosynthese von Trichothecenen identifiziert. Trichodien ist ein volatiles Ausgangsprodukt im Syntheseweg der Trichothecene durch den Pilz selbst, also Mykotoxinen wie DON, DAS, NIV usw. und seit vielen Jahren bekannt (Jelen et al. (1997)). Diese Arbeitsgruppe kultivierte unterschiedliche *Fusarium* spp. auf autoklavierten Weizenkörnern und analysierte diese mittels Headspace GC-MS. Jelen et al. beschreibt auch, dass *Fusarium*-Pilze β -Bisabolen herstellen und emittieren können.

[0010] Die VOC-Emissionen einer Infektion mit *Fusarium culmorum* unter Feldbedingungen wurde erstmalig von Perkowski et al. (2008) untersucht. Die Gruppe führte ein Monitoring von infizierten Weizen- und Triticalebeständen mittels SPME(Festphasenmikroextraktion)-GC/MS Technik durch. Unter diesen Bedingungen konnten neben Trichodien keine weiteren relevanten Sesquiterpene identifiziert werden.

[0011] Auch Girotti et al. (2010) untersuchten VOC-Emissionen unterschiedlicher *Fusarium* spp. auf sterilen Reiskörnern und detektierten ein breites Spektrum von unbekanntes Sesquiterpenen neben den Trichodienen.

[0012] Zudem ist bekannt, dass das volatile Profil aus in vitro-Experimenten signifikant von dem Komplex der volatilen organischen Komponenten aus in vivo-Experimenten abweicht. In in vitro-Experimenten hängen das Auftreten und die Konzentration spezifischer volatiler organischer Stoffe von der Wahl des Mediums (z. B. sterile Getreidekörner) ab (beschrieben in Perkowski et al (2008)). Durch das Abtöten des pflanzlichen Materials fehlen jedoch in solchen Experimenten biotische Faktoren, die das pilzliche Wachstum beeinträchtigen können, beispielsweise pflanzliche Abwehrreaktionen. Aus diesem Grund können sich die Pilze ungehindert ausbreiten.

[0013] Der Artikel von Köllner et al. (2008) beschreibt, dass β -Bisabolen in Mais nachweisbar ist, der von Fraßschädlingen befallen ist. Zudem wurde β -Macrocarpen in den Wurzeln von Maispflanzen detektiert. Jedoch konnte in den Blättern kein β -Macrocarpen nach Schädlingsbefall festgestellt werden

(siehe Fig. 11, auf Seite 20787). Ähnliches wird auch in Köllner et al. (2004) berichtet. Zudem wurde β -Macrocarpen in Pflanzengewebe nachgewiesen (Huffaker et al. (2011)). Huffaker et al. berichten, dass das VOC β -Macrocarpen in verwandte nicht volatile Verbindungen umgewandelt wird.

[0014] In der Dissertationsschrift von C. Zipfel (2007) wird die Emission von volatilen Organischen Stoffen (VOCs) durch transgene und nicht-transgene Maispflanzen, insbesondere nach Schädlingsbefall, über längere Zeiträume untersucht. Tabelle 2.15 auf Seite 32 der Dissertationsschrift zeigt die Emission von verschiedensten VOCs, beispielsweise β -Selinen, α -Selinen und β -Bisabolen. Allerdings konnte keine Erklärung für die Emission von diesen VOCs gegeben werden und verschiedenste Ursachen wurden erwähnt, beispielsweise Schädlingsbefall, Kultivierungstemperaturen, Ozonwerte, Staunässe, Herbizide etc. Ein eventueller Pilzbefall durch *Fusarium* spp. wurde weder berücksichtigt, noch sind die durchgeführten Experimente hierzu geeignet. Insbesondere ist ein Pilzbefall nicht immer optisch erkennbar und andere Detektionsverfahren sind daher notwendig, um Pilzbefall nachzuweisen oder auszuschließen.

[0015] In der Dissertationsschrift von P. Thakeow (2008) wird die Emission von VOCs von Holz nach Pilzbefall beschrieben.

[0016] Im Hinblick auf die bisherigen Erkenntnisse besteht weiterhin noch ein großer Bedarf an geeigneten Messsystemen und Verfahren zum Detektieren von Pilzbefall bei Maispflanzen.

[0017] Insbesondere besteht ein Bedarf an Messsystemen und Verfahren zur frühzeitigen, verlässlichen, kostengünstigen und einfachen Durchführung. Darüberhinaus besteht ein Bedarf an Verfahren, die Maispflanzen und Maiskolben/Maiskörner mit reduziertem Pilzbefall erzeugen und detektieren können. Auch besteht ein Bedarf an Verfahren, die den gezielten Einsatz von Spritzmittel, oder das Aussortieren von Maispflanzen/Maiskolben/Maiskörnern mit Pilzbefall ermöglichen.

Zusammenfassung der Erfindung

[0018] Wie oben beschrieben, ist die Emission von VOCs in Pflanzen von verschiedensten Faktoren abhängig, beispielsweise Fraßschädlingbefall, Pilzbefall, Kultivierungstemperaturen, Ozongehalt in der Luft, Staunässe etc. Um eine verlässliche Aussage bezüglich der Ursachen für die Emission von VOCs machen zu können, wurde im Rahmen der vorliegenden Erfindung ein Versuchssystem entwickelt, dass es erlaubt, die relevanten Umwelteinflüsse auf Pflanzen weitgehend zu kontrollieren. Insbesondere wurden die Pflanzen unter "Gewächshausbedingungen" kultiviert, da im Freiland nicht alle Umweltein-

flüsse kontrolliert werden können und auch nicht im Nachhinein berücksichtigt werden können. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurde zur exakten Analyse des Pilzbefalls ein gentechnisches Verfahren verwendet (Polymerase Kettenreaktion, PCR, von Pilz-DNA). Nur so konnte eine eindeutige Aussage getroffen werden, ob die gemessenen VOCs bei pilzbefallenen oder gesunden Maispflanzen gemessen wurden. Nachdem die erfindungsgemäßen Marker nun gefunden wurden, kann der Schädlingsbefall nun unabhängig von äußeren Einflüssen im Freiland eindeutig detektiert werden.

[0019] Wie in Köllner et al. (siehe oben) beschrieben, konnte in den Blättern von Mais kein β -Macrocarpen nach Schädlingsbefall festgestellt werden. Huffaker et al. haben zudem berichtet (siehe oben), dass β -Macrocarpen in saure, nicht volatile Verbindungen umgewandelt wird, was eventuell erklärt, dass kein β -Macrocarpen von den Maisblättern abgegeben wird.

[0020] Es war daher überraschend, dass β -Macrocarpen nach Pilzbefall bei Maispflanzen mit Maiskolben bzw. bei Maispflanzen ab der Vollblüte detektiert werden konnte. Somit beruht die vorliegende Erfindung unter anderem auf der überraschenden Erkenntnis, dass die VOC-Emission bei Mais mit Maiskolben und ohne Maiskolben unterschiedlich ist. Ohne diese Erkenntnis war es bislang nicht möglich zu unterscheiden, ob eine bestimmte VOC-Emission bei Maispflanzen aufgrund des Wachstumsstadiums hervorgerufen wird, oder durch (temporären) Schädlingsbefall oder ähnliches verursacht wurde (siehe oben erwähnte Dissertation von C. Zipfel).

[0021] Unter Verwendung der vorliegenden Erfindung konnte in den durchgeführten Experimenten ein Pilzbefall bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt nach der Infektion, z. B. mit *Fusarium* spp. (beispielsweise ab 4 Tage nach Inokulation mit einer Sporensuspension) detektiert werden. Zu diesem Zeitpunkt sind äußerlich noch keine Schadsymptome (z. B. Verbräunungen im Bereich der Kolben) zu erkennen. Nach der Ernte der Kolben und dem Entfernen der Lieschblätter (zum Zeitpunkt 4 Tage nach Inokulation-dpi) war lediglich bei 2 von 6 Kolben ein schwacher Befall zu erkennen. Natürlich hängt es von der Konzentration der Sporen, den spezifischen Eigenschaften der verwendeten Pilzstämmen sowie von den Wachstumsbedingungen ab, wie schnell sich die Pathogene auf der Pflanze entwickeln können. Unter natürlichen Infektionsbedingungen im Feld kann man ohne destruktive Maßnahmen, einen Befall mit dem menschlichen Auge vermutlich erst wesentlich später erkennen.

[0022] Die erfindungsgemäßen Marker (VOCs) ermöglichen somit bei Maispflanzen mit Maiskolben bzw. ab der Vollblüte eine sichere und frühzeitige De-

tektion von Pilzbefall. Das gleiche gilt für die Untersuchung von Maiskolben, die von der Pflanze abgetrennt, d. h. geerntet oder zu Analysezwecken abgetrennt wurden, sowie für Maiskörner. Erst die Erkenntnis, dass bestimmte VOCs als Marker für Pilzbefall verwendet werden können, wenn sich Maiskolben entwickeln, ermöglichte die vorliegende Erfindung, insbesondere ist die Erkenntnis maßgebend für den Zeitpunkt der Messung der Marker, d. h. es wird gemessen wenn sich Maiskolben entwickeln, und für die geeigneten Messpunkte, d. h. in der Nähe der Maiskolben. Insbesondere ein früher Pilzbefall kann mit dem erfindungsgemäßen Verfahren und System gegebenenfalls festgestellt werden, da die Marker eine hohe Sensitivität und Spezifität aufweisen und da zudem die Kenntnis über die Pflanzenteile (Maiskolben), die die VOCs emittieren, eine zielgerichtete Messung von bereits sehr geringen VOC Konzentrationen erlaubt.

[0023] Des Weiteren ermöglicht die vorliegende Erfindung das Bereitstellen eines geeigneten Messsystems, das auf der Basis der hier beschriebenen Erkenntnisse, bezogen auf seine baulichen Eigenschaften und/oder bezogen auf seine Messfunktionen, derart angepasst ist, dass es für die Detektion von Pilzbefall bei Maispflanzen mit Maiskolben und von der Pflanze abgetrennten Maiskolben und Maiskörnern verwendet werden kann. Insbesondere ist es vorteilhafterweise möglich GC, GC-MS, IMS, FAIMS oder günstigere Sensor-Expertsysteme (z. B. elektrochemischen Sensor-Arrays, kolorimetrischen Sensoren, und elektrischen/elektronischen Nasen) zu verwenden, da die Kombination der erfindungsgemäßen Marker das Testen auf einen charakteristischen VOC-Fingerprint, wobei die Messsysteme auf diesen VOC-Fingerprint kalibriert sind, ermöglicht.

[0024] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurde zudem unerwarteterweise festgestellt, dass Mischinfektionen dazu führen können, dass bestimmte VOCs, die für den Nachweis von einzelnen Stämmen geeignet sind, bei einer Mischinfektion von zwei Stämmen nicht mehr nachweisbar sind. Für die getesteten Mischinfektions-Varianten wurden unterschiedliche Stämme verwendet, die auch als Einzelinfektion getestet wurden. Die in den Experimenten verwendeten Stämme besitzen jeweils unterschiedliche Eigenschaften (z. B. Herkunft, Mykotoxin-Spektrum, Aggressivität). Auf der Pflanze wachsend, stehen die beiden Spezies in einem Konkurrenz-Verhältnis, bei der meist eine der Arten die Oberhand gewinnt. Je nach Ausprägung dieser komplizierten Interaktion, kommt es zur Synthese/Emission oder sogar der Unterdrückung von bestimmten VOCs-Signalen. Wie in [Fig. 2](#) und [Fig. 3](#) gezeigt, wurden vorliegend Mischinfektionen von *Fusarium graminearum* (Stamm 1) mit *Fusarium verticillioides* (Stamm 1) (MIX 1 in [Fig. 2](#) und [Fig. 3](#)) und *Fusarium graminearum* (Stamm 2) mit *Fusarium verticillioides* (Stamm

2) (MIX 2 in [Fig. 2](#) und [Fig. 3](#)) untersucht und die Eignung der VOCs als Marker in den Mischungen geprüft. Aufgrund der Beeinflussung der Pilzstämmen untereinander, war es nur möglich, geeignete Marker zu finden, indem die verschiedenen Stämme einzeln und in Gemischen untersucht worden sind.

[0025] Es hat sich dabei gezeigt, dass β -Selinene besonders für den Nachweis von MIX1 und MIX2 Infektionen geeignet ist. Zudem ist β -Selinene für beide *Fusarium graminearum* Stämme und *Fusarium verticillioides* Stamm 1 charakteristisch. Um zudem einen Befall mit *Fusarium verticillioides* Stamm 2 nachweisen zu können kann bevorzugterweise β -Macrocarpene zusätzlich getestet werden.

[0026] In einer bevorzugten Ausführungsform ist das erfindungsgemäße Verfahren somit gegebenenfalls geeignet, Mischinfektionen zu erkennen.

[0027] Eine Ausführungsform der Erfindung betrifft daher ein Verfahren zur Erzeugung von Maispflanzen (mit Maiskolben), Maiskolben und/oder Maiskörnern mit vermindertem Pilzbefall, umfassend die Schritte:

(i) Bereitstellen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern, wobei die Maispflanzen mindestens das Wachstumsstadium BBCH-Codierung 65 erreicht haben,

(ii) Testen der Maispflanzen aus Schritt (i), Maiskolben und/oder Maiskörner auf mindestens zwei volatile organische Stoffe aus der Gruppe bestehend aus: Longifolen, α -Selinene, β -Selinene, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolene und β -Macrocarpene, wobei das Vorliegen der volatilen organischen Stoffe einen Pilzbefall anzeigt,

(iii) Behandeln der Maispflanzen aus Schritt (ii) mit Pilzbefall mit Spritzmittel(n), das/die gegen den in Schritt (ii) festgestellten Pilz wirksam ist/sind, oder Trennen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern aus Schritt (ii) mit Pilzbefall von denen ohne Pilzbefall, und

(iv) Gewinnen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern aus Schritt (iii) mit gegenüber den in Schritt (i) bereitgestellten Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern vermindertem Pilzbefall.

[0028] Eine andere Ausführungsform betrifft ein Verfahren zum Nachweis von Pilzbefall bei Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern, umfassend das erfindungsgemäße Testen der Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner gemäß Schritt (ii) wie hier beschrieben, wobei das Vorliegen der volatilen organischen Stoffe einen Pilzbefall anzeigt. Der Ausdruck "Vorliegen der volatilen organischen Stoffe" bedeutet hierbei, dass die VOCs nachweisbar sind, d. h. dass ein Messsignal erkennbar ist, das stärker als ein eventuelles Hintergrundrauschen ist.

[0029] Eine weitere Ausführungsform betrifft ein System zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe (VOCs), wobei das System ein Messgerät umfasst, das auf mindestens zwei volatile organische Stoffe aus der Gruppe, bestehend aus: Longifolen, α -Selinene, β -Selinene, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolene und β -Macrocarpene, kalibriert ist.

[0030] Ein anderer Aspekt der Erfindung betrifft die Verwendung des erfindungsgemäßen Systems zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe (VOCs) zum Nachweis von Pilzbefall.

[0031] Ein weiterer Aspekt ist die Verwendung einer Kalibrierlösung, umfassend mindestens zwei organische Stoffe aus der Gruppe, bestehend aus: Longifolen, α -Selinene, β -Selinene, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolene und β -Macrocarpene, zur Kalibrierung eines Messgeräts zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe zum Nachweis von Pilzbefall.

Beschreibung der Figuren

[0032] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung werden die folgenden Abkürzungen verwendet:

SQT = Sesquiterpen; KI = Kovatsindex; KI ber./berechnet = berechneter Kovats Retentionsindex; Dpi = Tage nach Inokulation; *Fusarium gr.* = *Fusarium graminearum*; FG1 = *Fusarium graminearum* Stamm 1, FG2 = *Fusarium graminearum* Stamm 2; *Fusarium sub.* = *Fusarium subglutinans*; FSUB = *Fusarium subglutinans* Stamm 1; *Fusarium vert.* = *Fusarium verticillioides*; FV1 = *Fusarium verticillioides* Stamm 1; FV2 = *Fusarium verticillioides* Stamm 2; MIX1 = Gemischte Inokulation mit FG1 und FV1; MIX2 = Gemischte Inokulation mit FG2 und FV2; SQT unbekannt = unbekanntes Sesquiterpen; keine ID = keine Identifizierung möglich = unbekannt.

[0033] [Fig. 1](#): Die Figur zeigt eine Auflistung der molekularen Massen von VOCs. Erläuterungen:

¹ die Signale Hexanal, 2-Heptanon und 2-Pentylfuran sind als konstitutive VOCs für Mais in die Tabelle aufgenommen worden. Sie sind statistisch nicht relevant.

² die Identifikation erfolgte mit Hilfe der Datenbanken (NIST 08, Adams and Wiley mass spectral libraries) bzw. dem Abgleich mit der Literatur.

³ die Identifikation erfolgte durch direkten gaschromatographischen Vergleich mit einem Standard

[0034] **Fig. 2:** Dargestellt ist eine Tabelle, die auf Normalisierung der mittleren integrierten Peakflächen ($n = 4$) (Rohdaten) basiert, wobei 1 = maximale Peakfläche innerhalb des Signals und 0 = VOC-Signal ist nicht vorhanden. Durch diese Darstellung sind die Unterschiede/Verhältnisse für die einzelnen Behandlungen innerhalb eines volatilen Signals gut sichtbar.

[0035] Die "kursiv und fett" markierten Signale Hexanal, 2-Heptanon und 2-Pentylfuran sind als konstitutive VOCs für Mais in die Tabelle aufgenommen worden. Sie sind statistisch nicht relevant. **Fig. 2** enthält keine statistische Analyse. Die Werte für die integrierten Peakflächen wurden für jeden ausgewählten Marker innerhalb der Behandlungen (FG1, FG2, Kontrolle...) gemittelt und anhand des maximalen Wertes normiert.

[0036] Farbliche Markierung der Zellen: weiß = 0 = das Signal tritt nicht in der entsprechenden Behandlung auf; hellgrau = $< 0,75$ = das Signal tritt moderat in der entsprechenden Behandlung auf; dunkelgrau = das Signal tritt in der entsprechenden Behandlung stark auf (der Maximalwert ist mit 1 gekennzeichnet).

[0037] **Fig. 3:** Diese Figur basiert auf statistischer Auswertung, Kruskal-Wallis test (one-way analysis of variance by ranks) nach Siegel & Calstellan (1988), $p < 0.01$.

[0038] Das Symbol: "↗" bedeutet, dass die VOCs nur in infizierten Proben vorhanden sind. Das Symbol "↘" bedeutet, dass die VOCs in der Kontrolle vorhanden sind, aber in infizierten Pflanzen überexprimiert sind. Graue Flächen bedeuten, dass der VOC zu einem Zeitpunkt 4–24 dpi vorliegt. Das Symbol: "↖" bedeutet, dass die VOCs ausschließlich in der Kontrolle (gesunde Pflanzen) vorhanden waren, jedoch bei Behandlung abwesend waren, äquivalent zur Kontrolle. Das Symbol: "↕" bedeutet, dass die VOCs in der Kontrolle und in infizierten Pflanzen vorhanden sind, jedoch nach Infektion unterexprimiert sind.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

[0039] Im Rahmen der Erfindung bezieht sich der Begriff "Maispflanzen" oder "Maispflanzen mit Maiskolben" im Zusammenhang mit dem erfindungsgemäßen Pilznachweisverfahren auf Maispflanzen ab dem Wachstumsstadium BBCH(Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundessortenamt und Chemische Industrie)-Codierung 65. Dieses Wachstumsstadium zeichnet sich durch eine männliche Infloreszenz mit Vollblüte, d. h. obere und untere Rispenäste in Blüte und einer weiblichen Infloreszenz mit vollständig geschobenen Narbenfäden aus. Das Wachstumsstadium kann mit dem bloßen Auge bestimmt werden.

[0040] Die Frucht-/Maiskolbenentwicklung beginnt mit der Hauptblüte der Pflanze, diese ist durch die BBCH-65 gekennzeichnet. Die Blüte markiert den Beginn der Kolbenentwicklung bzw. den pflanzenphysiologischen Übergang von der vegetativen Phase zur generativen Phase. Ab diesem Zeitpunkt werden die Maispflanzen erfindungsgemäß somit als Maispflanzen mit Maiskolben bezeichnet. Weiter bevorzugt liegt ein Kolben vor, sobald die Körnerbildung mit bloßem Auge erkennbar ist.

[0041] In einer bevorzugten Ausführungsform werden die Maispflanzen frühestens 4 Tage ab BBCH-65, weiter bevorzugt frühestens 5, frühestens 6, frühestens 7, frühestens 8, frühestens 9 oder frühestens 10 Tage nach BBCH-65, verwendet. Ebenso ist es möglich, das erfindungsgemäße Testverfahren ab dem Zeitpunkt durchzuführen, ab dem die Körnerbildung im Kolben bemerkbar, ertastbar oder mit bloßem Auge erkennbar ist.

[0042] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Erzeugung von Maispflanzen, insbesondere Maispflanzen mit mindestens BBCH-65 Wachstumsstadium, Maiskolben und/oder Maiskörnern mit vermindertem Pilzbefall, umfassend die Schritte (i)–(iv).

[0043] Schritt (i) ist das Bereitstellen von Maispflanzen, (von der Maispflanze abgetrennten) Maiskolben und/oder (von der Maispflanze/Maiskolben abgetrennten) Maiskörnern.

[0044] Der Ausdruck "Bereitstellen" umfasst das Kultivieren von Maispflanzen und gegebenenfalls das anschließende Ernten der Maiskolben und Maiskörner. Die Maispflanzen und die von der Maispflanze abgetrennten Maiskolben und Maiskörner können aber auch separat hergestellt werden und dann dem erfindungsgemäßen Verfahren unterzogen werden. Falls das Verfahren das Kultivieren der Maispflanzen umfasst, kann der Einsatz von Spritzmitteln erfindungsgemäß kontrolliert und gesteuert werden. Falls das Kultivieren und Ernten der Pflanzen in einem separaten Verfahren erfolgt, kann das Aussortieren von pilzbefallenen Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern erfindungsgemäß kontrolliert und gesteuert werden. Bevorzugt wird *Zea mays* verwendet.

[0045] Bevorzugterweise umfasst das Verfahren in Schritt (i) mindestens einen Schritt, der ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Kultivieren von Maispflanzen, Ernten von Maiskolben, und Bereitstellen von geernteten Maiskolben oder Maiskörnern.

[0046] Das Verfahren kann an Maispflanzen durchgeführt werden, vorausgesetzt, dass die Maispflanzen bereits Maiskolben entwickeln. Das Verfahren kann vor oder nach der Ernte durchgeführt werden.

[0047] Zusätzlich bevorzugt umfasst das Bereitstellen der Maispflanzen im vorliegenden Verfahren das Kultivieren von Maispflanzen in einem Substrat, beispielsweise in Erde, insbesondere im Freiland oder Ackerbau. Besonders bevorzugt werden die Maispflanzen auf leicht erwärmbaren Böden mit guter Nährstoff- und Wasserversorgung kultiviert. Weniger bevorzugt ist die Kultivierung in Erde mit Staunässe oder schwere Böden. Um ein möglichst natürliches Substrat für den Anbau des Hybridmais im Gewächshaus zu erzeugen, wurden im Rahmen der Versuche 2/3 handelsübliche Komposterde mit 1/3 Sand vermischt. Es erfolgte eine mäßige Düngerezufuhr mit handelsüblichem Dünger (Harnstoff, Kali, Phosphor sowie Mikronährstoffe).

[0048] Schritt (ii) umfasst das Testen der Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner auf mindestens zwei, weiter bevorzugt auf mindestens drei, weiter bevorzugt auf mindestens vier, weiter bevorzugt auf mindestens fünf, weiter bevorzugt auf mindestens sechs und weiter bevorzugt auf mindestens 7 bzw. genau zwei, bevorzugt genau drei, weiter bevorzugt genau vier, weiter bevorzugt genau fünf, weiter bevorzugt genau sechs, weiter bevorzugt genau sieben, weiter bevorzugt genau acht volatile organische Stoffe aus der Gruppe bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpen, wobei das Vorliegen der volatilen organischen Stoffe einen Pilzbefall anzeigt.

[0049] In einer anderen Ausführungsform ist die Gruppe der volatilen organischen Stoffe gebildet aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, β -Bisabolen und β -Macrocarpen. Bevorzugt wird auf mindestens zwei, weiter bevorzugt auf mindestens drei, weiter bevorzugt auf mindestens vier, weiter bevorzugt auf fünf bzw. auf genau zwei, bevorzugt auf genau drei, weiter bevorzugt auf genau vier, weiter bevorzugt auf genau fünf VOCs aus der vorstehenden Gruppe getestet. Zusätzlich bevorzugt wird in dem erfindungsgemäßen Verfahren auf mindestens β -Selinen und β -Macrocarpen, weiter bevorzugt auf mindestens β -Selinen, β -Macrocarpen und α -Selinen getestet. Weiter bevorzugt werden nicht nur zwei VOCs aus der Gruppe bestehend aus α -Selinen, SQT 1442 und SQT 1445 getestet.

[0050] Weiter bevorzugt werden nur VOCs getestet, die in Maispflanzen mit mindestens BBCH-65 Wachstumsstadium, Maiskolben und/oder Maiskörnern, die nicht von Pilzen und anderen Schädlingen befallene sind, nicht vorkommen. Insbesondere werden bevorzugt nur VOCs getestet, die in [Fig. 2](#) in der Spalte "gesunde Maiskolben VOCs" nicht feststellbar waren (weißes Feld). Besonders bevorzugt werden nur volatile organische Stoffe aus der Gruppe bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesqui-

terpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpen getestet. Zusätzlich bevorzugt werden die volatilen organischen Stoffe, die mit dem Symbol "↘↘" bezeichnet sind und/oder die volatilen organischen Stoffe, die mit dem Symbol "↘" in [Fig. 3](#) bezeichnet sind, nicht als Marker verwendet.

[0051] In einer anderen Ausführungsform werden β -Selinen und β -Macrocarpen, und zusätzlich mindestens ein oder zwei der vorgenannten Gruppe von volatilen organischen Stoffen (VOCs) getestet, bevorzugt werden zusätzlich mindestens Longifolen und/oder β -Bisabolen/ α -Selinen getestet. In einer anderen Ausführungsform werden ausschließlich β -Selinen und β -Macrocarpen und optional α -Selinen getestet.

[0052] Grundsätzlich können beliebig viele volatile organische Stoffe (VOCs) getestet werden, bevorzugt sind es aber maximal 10, maximal 7, maximal 6, maximal 5 oder maximal 4 volatile organische Stoffe (VOCs). Insbesondere ist es zusätzlich bevorzugt, dass ausschließlich VOCs aus der Gruppe bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpen oder aus der Gruppe bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, β -Bisabolen und β -Macrocarpen getestet werden.

[0053] In einer Ausführungsform werden zusätzlich zu den oben erwähnten Gruppen von VOCs ein, zwei, drei oder mehrere organische volatile Stoffe getestet werden, die ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus: 2-Hexanon, 3-Octanon, 3-Octanol, Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1410, Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1477, Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1485, Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1488, und Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1547.

[0054] In einer Variante des Verfahrens kann in Schritt (ii) zusätzlich zu den oben erwähnten Gruppen von VOCs auch auf volatile Mykotoxine oder Mykotoxinvorläufer, bevorzugt Trichodien, oder andere geeignete Marker getestet werden, insbesondere VOCs die von dem jeweiligen Schädling selbst hergestellt werden.

[0055] Die hierin angegebenen Werte für den Kovatsindex der VOCs sind auf der Basis von Alkankohlenwasserstoffen berechnet. Das Verfahren ist beschrieben in Kovats, E. (1958).

[0056] Aufgrund der hierin beschriebenen Zusammenhänge zwischen Schädlingsbefall und Emission von VOCs (insbesondere wie in den Figuren dargestellt) sind die Vorteile der verschiedenen VOCs bzw. Gruppen von VOCs dem Fachmann ersichtlich und

die VOCs können je nach gewünschter Anwendung ausgewählt werden. Beispielsweise kann die Art des zu testenden Pilzbefalls (Pilzart, Mischung von Pilzarten) berücksichtigt werden. Es ist auch möglich, je nach Typ und Sensibilität des Messgeräts bestimmte VOCs auszuwählen.

[0057] Bevorzugt wird das erfindungsgemäße Testverfahren ab dem Zeitpunkt BBCH-65 durchgeführt, weiter bevorzugt frühestens 4 Tage ab BBCH-65, weiter bevorzugt frühestens 5, frühestens 6, frühestens 7, frühestens 8, frühestens 9 oder frühestens 10 Tage nach BBCH-65. Ein Maisbestand im Feld hat das Stadium BBCH 65 erreicht, wenn ca. 50% der Pflanzen dieses Stadium aufweisen. Man kann hierbei insbesondere die Pflanzen im Zentrum der Kultur betrachten, wohingegen die Pflanzen an den Feldränder (z. B. bis zu 1, 2, 3, 4 oder 5 Meter vom Feldrand entfernt) unberücksichtigt bleiben können. Ebenso ist es möglich, das erfindungsgemäße Testverfahren ab dem Zeitpunkt durchzuführen, ab dem die Körnerbildung im Kolben mit bloßem Auge erkennbar, oder die Körner ertastbar ist.

[0058] In einer bevorzugten Ausführungsform des Verfahrens wird der Pilzbefall durch *Fusarium* spp. verursacht, insbesondere durch einen Pilz aus der Gruppe bestehend aus: *Fusarium graminearum*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium verticillioides*, und Mischungen davon, bevorzugt *Fusarium graminearum* und/oder *Fusarium verticillioides*.

[0059] In einer weiteren Ausführungsform wird ein Pilzbefall als angezeigt angesehen, wenn die volatilen organischen Stoffe in Konzentrationen gemessen werden, die über festgelegten Schwellenwerten liegen. Bei diesem Verfahren können zunächst Maispflanzen mit mindestens BBCH Wachstumsstadium, Maiskolben und/oder Maiskörnern, die nicht von Pilzen und anderen Schädlingen befallen sind, auf die gewünschten VOCs getestet werden. Der Schwellenwert, der bei Überschreitung einen Pilzbefall anzeigt, wird dann oberhalb der Konzentrationen der Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern, die nicht von Pilzen und anderen Schädlingen befallen sind, gewählt. Beispielsweise kann als Schwellenwert ein Wert von 10%, 30%, 50% oder mehr über dem gemessenen Wert gewählt werden. Beispielsweise kann als Schwellenwert ein Messwert der Größe von mindestens zwei- oder dreimal der Stärke des Signals des Messrauschens gewählt werden. Beispielsweise kann ein Schwellenwert bei einer "Open Loop" Messung über 24 Stunden 0,1–4,0 µg betragen. Der Schwellenwert hängt aber beispielsweise von der Empfindlichkeit des Messgerätes ab und kann daher vom Fachmann im jeweiligen System passend gewählt werden.

[0060] Zusätzlich bevorzugt umfasst der Schritt des Testens auf volatile organische Stoffe das Kalibrie-

ren des Messgerätes mittels einer Probe enthaltend die jeweiligen volatilen Stoffe. Geeignete Mischverhältnisse der VOCs können vom Fachmann ohne Weiteres gewählt werden. Beispielsweise können die VOCs, auf die das Messgerät weniger sensibel reagiert, in größeren Mengen verwendet werden. Das Messgerät kann vor oder eventuell auch während bzw. zwischen den Messvorgängen kalibriert werden. Der Fingerprint der Kalibrierlösung wird dann als charakteristisch für Schädlingsbefall angesehen.

[0061] Zum Testen der volatilen organischen Stoffe kann beispielsweise ein Messgerät verwendet werden, das ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Gaschromatographen (GC), Gaschromatographen gekoppelt mit Massenspektrometern (GC-MS), Ionen-Mobilitäts-Spektrometern (IMS), Starkfeld Ionenmobilitäts-Spektrometern mit asymmetrischer Wellenform (FAIMS, high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry), elektrochemischen Sensoren, elektrochemischen Sensor-Arrays, kolorimetrischen Sensoren, und elektrischen/elektronischen Nasen.

[0062] Das Testen auf volatile organische Stoffe kann beispielsweise im Luftraum, der die Maiskolben der Maispflanzen, von der Pflanze abgetrennte (z. B. geerntete) Maiskolben und/oder Maiskörner umgibt, bevorzugt mittels einer Head-Space-Probenentnahme, durchgeführt werden. Besonders bevorzugt wird ein dynamischer Headspace-Sampler verwendet. Der Begriff "Head-Space" ist der (unmittelbare) Luftraum der die Pflanzenteile oberhalb der Erde umgibt. Der Abstand der Messsensoren richtet sich nach der Art und Sensitivität des Sensors.

[0063] Grundsätzlich gibt es zwei Verfahren für die Sammlung von volatilen organischen Komponenten. Es wird hier zwischen dem dynamischen bzw. statischen Verfahren unterschieden. Beim dynamischen Verfahren (engl. dynamic headspace sampling) wird ein Luftstrom kontinuierlich über eine Probe (z. B. infizierte Pflanze, Pilzkultur) geleitet, die sich in einem speziellen Gefäß aus inertem Material (z. B. Glas) befindet. Mit diesem Luftstrom werden die von der Probe emittierten VOCs durch eine Glaskartusche geleitet, die mit einem geeigneten Filter (z. B. Aktivkohle) bestückt ist. Auf ihm werden die Komponenten angereichert. Der Prozess dauert üblicherweise mehrere Stunden (Jelen et al. (1995)). Im Anschluss werden die absorbierten volatilen Komponenten mit organischen Lösungsmitteln aus dem Filtermaterial herausextrahiert.

[0064] Beim statischen Verfahren (engl. static headspace sampling) wird die Probe in ein luftdicht verschlossenes Gefäß, üblicherweise aus Glas, überführt. Durch Diffusion lösen sich die volatilen Komponenten nach und nach von der Probe und reichern sich in der umgebenden Luft, auch Headspace ge-

nannt, an. Für diesen Prozess spielen Temperatur und Luftfeuchtigkeit eine entscheidende Rolle (Balasubramanian & Panigrahi (2011)). Die emittierten VOCs können sich an eine absorbierende Matrix, die über eine bestimmte Zeit in die Umgebungsluft der Probe exponiert wird, anlagern. Die gebräuchlichste Form innerhalb der statischen Verfahren ist die Festphasenmikroextraktion (SPME). Hier wird eine mit spezifischen Polymeren beschichtete Faser in die Headspace einer beliebigen Probe exponiert (dies ist beispielsweise in Tholl et al. (2006) beschrieben). Die Absorption erfolgt selektiv gemäß den Eigenschaften des Absorptionsmaterials.

[0065] Das Messverfahren kann so durchgeführt werden, dass sich eine gaschromatographische Analyse an das statische bzw. dynamische Verfahren der Sammlung volatiler Komponenten anschließt.

[0066] Neben der exakten, aber sehr zeit- und kostenintensiven Analytik durch GC-MS (Gaschromatographie mit Massenspektrometrikopplung) existieren tragbare elektronische Sensoren, sogenannte E-noses (elektrische/elektronische Nasen). Diese können ebenfalls dazu dienen, spezifische VOCs zu detektieren. Sie sind üblicherweise als Multisensor-Array, bestehend aus mehreren chemoresistiven Metalloxid-Sensoren (z. B. In_2O_3 , SnO_2), konstruiert (Presicce et al. (2006); Abramson et al. (2005); Falasconi et al. (2005), Dickinson et al. (1998)).

[0067] Gobbi et al. (2011) sowie Falasconi et al. (2005) untersuchten die Eignung solcher elektronischen Sensoren für die Vorhersage der Fumonisin-kontamination an Mais. Sie wählten in vitro Bedingungen für ihre Untersuchungen. Mit Hilfe der E-nose Technik und GC/MS detektierten Olsson et al. (2002). Balasubramanian et al. (2007) verwendeten die E-nose zur Ergosterolbasierten Klassifizierung innerhalb von Gersteproben.

[0068] Bei der Messung der VOCs gemäß der vorliegenden Erfindung wird bevorzugt der Luftraum in der Nähe der Maiskolben der Maispflanzen, der von der Pflanze abgetrennten Maiskolben und/oder der Maiskörner getestet, wobei der geeignete Abstand zu den Maiskolben der Maispflanzen, der von der Pflanze getrennten Maiskolben und/oder Maiskörnern vom Messgerät abhängt und vom Fachmann gewählt werden kann. Bevorzugterweise wird ein Messgerät verwendet, das eine Auflösung im Zentimeterbereich hat und dadurch zwischen benachbarten Pflanzen unterscheiden kann. Somit kann beispielsweise eine befallene Pflanze von ihrer benachbarten, nicht befallenen Pflanze unterschieden werden.

[0069] Beispielsweise kann das Testen durch Ansaugen von Luft aus der Umgebung der Maispflanzen, insbesondere aus der Umgebung der Maiskolben der Pflanzen, der Maiskolben und/oder der Mais-

körner in das Messgerät erfolgen, wobei diese Luft auf volatile organische Stoffe getestet wird. Bevorzugt wird die Luft in 0,7–1,8 m, bevorzugt 1–1,5 m, Höhe vom Boden gemessen. Der horizontale Abstand zur Pflanze ist beispielsweise 5 bis 50 cm.

[0070] Schritt (iii) umfasst das Behandeln von Maispflanzen mit mindestens BBCH-65 Wachstumsstadium mit Pilzbefall mit Spritzmittel(n), das/die gegen den in Schritt (ii) festgestellten Pilz wirksam ist/sind, oder das Trennen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mit Pilzbefall von denen ohne Pilzbefall.

[0071] Das Testen in Schritt (ii) führt zu einem Messergebnis, das entweder Pilzbefall anzeigt, oder anzeigt, dass kein Pilzbefall vorliegt. Basierend auf dem Messergebnis wird bestimmt, ob gehandelt werden muss, oder ob lediglich der nächste Zeitpunkt für eine Messung festgelegt wird. Das Handeln basierend auf den Messergebnissen kann das Behandeln der Pflanzen mit Spritzmitteln gegen den Pilz, aber auch das Entfernen von befallenen Pflanzen aus der Pflanzenkultur umfassen.

[0072] Bevorzugt umfasst das Behandeln der Maispflanzen in Schritt (iii) das Aufbringen von Spritzmitteln, bevorzugt von Spritzmitteln gegen *Fusarium* spp., weiter bevorzugt gegen einen oder mehrere Pilze aus der Gruppe bestehend aus *Fusarium graminearum*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium verticillioides*, und Mischungen davon. Insbesondere ist die *Fusarium*-Infektion eine Kolbenfusariose. Bevorzugt enthält das Spritzmittel ein Fungizid oder Gemisch aus mehreren Fungiziden.

[0073] Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren kann Spritzmittel selektiv auf positiv getestete (d. h. pilzbefallene) Maisanbauflächen aufgebracht werden. Die Bereiche der Maisanbauflächen, die keinen Pilzbefall aufweisen, können dabei ausgespart werden.

[0074] Falls die Maispflanzen, Maiskolben oder Maiskörner bereits geerntet sind, liegt das Handeln in Schritt (iii) des erfindungsgemäßen Verfahrens basierend auf den Messergebnissen im Aussortieren von befallenen Maispflanzen, Maiskolben oder Maiskörnern. Somit wird der Pilzbefall bezogen auf eine bestimmte Menge an Maispflanzen, Maiskolben oder Maiskörnern verringert bzw. es werden Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner mit vermindertem Pilzbefall erzeugt.

[0075] Zusätzlich bevorzugt erfolgt das Trennen von pilzbefallenen und nicht befallenen Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mittels einer landwirtschaftlichen Maschine, bevorzugt mittels einer Erntemaschine.

[0076] In dem hier beschriebenen Verfahren können die Maispflanzen, (von der Pflanze abgetrennte) Maiskolben und/oder Maiskörner in Schritt (i) in Chargen (d. h. nicht kontinuierlich) oder in einem kontinuierlichem Verfahren bereitgestellt werden, wobei die Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner in Schritt (ii) chargenweise oder in einem kontinuierlichem Verfahren getestet werden, und wobei der Verfahrensschritt in (iii) das Trennen der befallenen und nicht befallenen Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner in verschiedenen Chargen umfasst, bei denen dann die jeweiligen volatilen organischen Stoffe detektiert/nicht detektiert, oder zumindest in unterschiedlichen Mengen detektiert werden, oder der Verfahrensschritt in (iii) das kontinuierliche Trennen von pilzbefallenen und nicht befallenen Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern umfasst.

[0077] In einer anderen Ausführungsform der Erfindung umfasst das Bereitstellen von Maispflanzen bzw. von Maispflanzen mit Maiskolben das Anpflanzen und Kultivieren von Maispflanzen bis zur Vollblüte bzw. Entwicklung von Maiskolben.

[0078] Das Trennen von Maispflanzen mit Pilzbefall von denen ohne Pilzbefall kann dann dadurch erfolgen, dass entweder nur die Maiskolben mit Pilzbefall, oder die Maiskolben ohne Pilzbefall geerntet werden. Somit werden die Maiskolben mit Pilzbefall und die ohne Pilzbefall getrennt geerntet. Die Reihenfolge ist hierbei beliebig, bevorzugt werden aber die Maiskolben ohne Pilzbefall geerntet um eine weitere Verbreitung des Pilzes zu vermeiden.

[0079] Vorrichtungen und Verfahren zum Aussortieren von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern sind dem Fachmann bekannt. Beispielsweise können befallene Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner von Hand aussortiert werden, oder mit Druckluft vom Förderband geschossen werden. Insbesondere das chargenweise Aussortieren ist bevorzugt, wobei der Sensor in den Sammelbehälter mit der Charge gehalten/integriert wird.

[0080] Basierend auf den bestehenden Techniken können die erfindungsgemäßen Vorrichtungen ohne Probleme bereitgestellt werden. Beispielsweise können die Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner auf einem Förderband transportiert werden. Oberhalb des Förderbands befindet sich das erfindungsgemäße Messsystem. Falls die charakteristischen VOCs gemessen werden, wird ein bestimmter Teil des Förderguts, der sich in diesem Moment unter dem Messsensor befunden hat, als pilzbefallen angesehen. Dieser Teil des Förderguts kann dann auf einen anderen Transportweg als der des nicht befallenen Förderguts geleitet werden und somit abgetrennt werden.

[0081] Falls die Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner chargenweise in Behältnissen bereitgestellt werden, kann das Messverfahren auch in den jeweiligen Behältnissen erfolgen und somit eine Klassifizierung in nicht befallene und pilzbefallene Chargen erfolgen.

[0082] Die erfindungsgemäßen Messsysteme können insbesondere direkt auf Erntemaschinen eingesetzt werden, sodass während des Erntevorgangs gleich eine Verminderung der Pilzbelastung erfolgt.

[0083] Falls das erfindungsgemäße Verfahren das Kultivieren von Maispflanzen umfasst, können die Schritte (ii) und (iii) auch wiederholt durchgeführt werden. Dabei kann Schritt (iii) beispielsweise entweder das Behandeln oder Aussortieren von befallenen Pflanzen umfassen, oder lediglich das Bestimmen des nächsten Zeitpunkts zum Messen (Schritt (ii)).

[0084] Schritt (iv) des erfindungsgemäßen Verfahrens umfasst das Gewinnen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mit gegenüber den in Schritt (i) bereitgestellten Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern vermindertem Pilzbefall.

[0085] In Schritt (iv) wird das "Produkt" des erfindungsgemäßen Verfahrens erhalten. Vergleicht man eine definierte Menge gewonnener Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner mit der gleichen, vergleichbaren Menge der in Schritt (i) bereitgestellten Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner, so ist der Pilzbefall im erhaltenen Produkt geringer. Werden in Schritt (i) Maispflanzen kultiviert, so weist das erhaltene Produkt einen verminderten Pilzbefall im Vergleich zu einem Produkt auf, das erhalten worden wäre, wenn das erfindungsgemäße Verfahren, das beispielsweise den selektiven Einsatz von Spritzmitteln umfassen kann, nicht durchgeführt worden wäre.

[0086] Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zum Nachweis von Pilzbefall bei Maispflanzen mit mindestens BBCH-65 Wachstumsstadium, (von der Pflanze getrennte) Maiskolben und/oder Maiskörnern, umfassend das Testen der Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner gemäß Schritt (ii) wie hierin beschrieben, wobei das Vorliegen der volatilen organischen Stoffe einen Pilzbefall anzeigt. Das Verfahren zum Nachweis von Pilzbefall wird durchgeführt um Festzustellen, ob Pilzbefall vorliegt. Falls kein Pilzbefall vorliegt, muss nicht gehandelt werden, das heißt es ist beispielsweise kein Schritt des Spritzens oder Aussortierens von Maispflanzen, Maiskolben oder Maiskörnern notwendig. Falls Pilzbefall vorliegt, kann wie oben beschrieben gehandelt werden. Alle bevorzugten Ausführungsformen, die für das Verfahren zur Erzeugung von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mit vermindertem Pilzbefall beschrieben

worden sind, können auch für das Verfahren zum Nachweis von Pilzbefall verwendet werden und umgekehrt.

[0087] Des Weiteren betrifft die Erfindung ein System zum Testen von Maispflanzen mit mindestens BBCH-65 Wachstumsstadium, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe (VOCs), wobei das System ein Messgerät umfasst, das auf mindestens zwei, bevorzugt drei volatile organische Stoffe aus der Gruppe, bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpene, kalibriert ist. Alle bevorzugten Ausführungsformen, die für das Verfahren zur Erzeugung von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mit vermindertem Pilzbefall beschrieben worden sind, können auch für das System zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe (VOCs) verwendet werden und umgekehrt.

[0088] Bevorzugterweise ist das System auf einem landwirtschaftlichen Nutzfahrzeug oder auf einer fahrbaren Drohne angebracht. Drohne können beispielsweise unabhängig von großen landwirtschaftlichen Nutzfahrzeugen Maisanbauflächen überprüfen, um Pilzbefall festzustellen. Natürlich kann ein menschengesteuertes Fahrzeug gleichermaßen für das Abfahren und Testen der Anbauflächen verwendet werden. Gleichermaßen kann das System derart ausgestaltet sein, dass es von einem Menschen getragen werden kann.

[0089] Zusätzlich bevorzugt enthält das System einen Computer mit entsprechender Software, der die Steuerung des Messgeräts übernimmt.

[0090] Bevorzugt umfasst das System ein Steuerungselement, das eine Sortieranlage zur Sortierung von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern unter Verwendung von Messsignalen, die vom Messgerät an das Steuerungselement übermittelt werden, steuert.

[0091] Zusätzlich bevorzugt ist das Messgerät ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Gaschromatographen (GC), Gaschromatographen gekoppelt mit Massenspektrometer (GC-MS), insbesondere field-portable GC-MS wie Z-Nasen (erhältlich von Electronic Sensor Technology, USA), Ionen-Mobilitäts-Spektrometern (IMS), Starkfeld Ionenmobilitäts-Spektrometern mit asymmetrischer Wellenform (FAIMS, high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry), elektrochemischen Sensoren, elektrochemischen Sensor-Arrays, kolorimetrischen Sensoren, und elektrischen/elektronischen Nasen.

[0092] Elektrische/elektronische Nasen umfassen üblicherweise drei Elemente: einen Sensor-Array, der den VOCs ausgesetzt ist, einem Mittel, das die Sensorsignale in ein lesbares Format oder wahrnehmbares Signal umwandeln können und eine Software, die die Daten verarbeiten kann. Erfindungsgemäß können übliche Sensoren verwendet werden, beispielsweise Metall-Oxid-Sensoren (MOX), z. B. Zinnoxid oder Zinkoxid, MOSFET-Sensoren (Metalloxid Halbleiter Feld-Effekt-Sensoren), leitende Polymersensoren, Infrarot-Sensoren, Quarzsensoren (QMB, Quartz Crystal Micro Balance), Feld-Effekt-Sensoren, oder Glasfaser-Sensoren.

[0093] Auch die anderen, vorstehend beschriebenen Messgeräte, beispielsweise IMS, GC-MS, können erfindungsgemäß eingesetzt werden, indem kommerziell verfügbare Geräten erfindungsgemäß angepasst werden. "Erfindungsgemäß angepasst" heißt hierbei, dass die Messgeräte beispielsweise erfindungsgemäß kalibriert werden, mit einer Einheit ausgestattet werden, die die erfindungsgemäße Kalibrierlösung enthält, oder geometrisch so im System angebracht werden, dass die Probenahme erfindungsgemäß in der Nähe der Maiskolben oder Maiskörner erfolgen kann. Die Funktionsweise eines IMS ist beispielsweise in der DE 10 2009 011 102 A1 beschrieben.

[0094] Zusätzlich bevorzugt weist das System ein Mittel auf, das das Messsignal in ein optisch oder akustisch wahrnehmbares Signal umwandelt, falls Pilzbefall festgestellt wird. Ein derartiges Mittel kann beispielsweise eine Lampe, ein Display oder ein Lautsprecher sein. Bei Wahrnehmung des Signals kann dann entsprechend auf den Pilzbefall reagiert werden.

[0095] In einer weiter bevorzugten Ausführungsform weist das System eine Kalibrierungseinheit auf, die eine Kalibrierlösung enthält, wobei die Kalibrierlösung eine erfindungsgemäße Mischung aus VOCs enthält und das System automatisch auf diese Kalibrierlösung zugreifen kann, um automatisch Kalibrierungsprozesse in geeigneten Abständen durchzuführen.

[0096] Zusätzlich bevorzugt umfasst das System ein Steuerungselement, das eine Vorrichtung zum Ausbringen von Spritzmittel auf Maispflanzen, unter Verwendung von Messsignalen, die vom Messgerät an das Steuerungselement übermittelt werden, steuert.

[0097] Die Erfindung betrifft auch eine Kalibrierlösung, umfassend mindestens zwei, bevorzugt mindestens drei organische Stoffe aus der Gruppe, bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpene. Weitere bevor-

zugte Ausführungsformen, insbesondere bevorzugte Kombinationen von VOCs, die für die Kalibrierlösung verwendet werden können, sind im Vorangegangenen beschrieben.

[0098] Die Erfindung betrifft zudem die Verwendung der Kalibrierlösung zur Kalibrierung eines Messgeräts zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe. Insbesondere kann die Kalibrierlösung im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden.

Beispiele

1. Materialien

[0099] Die VOCs, die für die Kalibrierlösung verwendet werden, sind entweder kommerziell erhältlich oder können durch Synthese oder Extraktion hergestellt werden.

[0100] Beispielsweise kann Selenin (beide Isomere alpha und/oder beta) durch Extrahieren aus z. B. Sellerie (*Apium graveolens*), Pfeffer (*Piper nigrum*), aus ätherischen Öl von Sweet Annie (*Artemisia annua*) oder Calamus (*Acorus calamus*) gewonnen werden. Alpha- und Beta-Selenin können auch aus Sellerie Oil von Roth (Karlsruhe, Germany) gewonnen werden. Siehe bezüglich Sellerie auch: *Journal of Food Science and Technology*, 200, 37, 6, 631–635; *Food Chemistry*, 2010, 120, 230–234; *Parasitol Res* 2008, 104, 107–115. Bezüglich Pfeffer siehe: *African Journal of Biotechnology* 2009, 8, 424–431). Beta-bisabolen kann von Santa Cruz Biotechnology, Inc. USA bezogen werden. Longifolen kann von Sigma-Aldrich, DE, oder Metha Oil Industrie (Indien) bezogen werden.

2. Bestimmung geeigneter VOCs

[0101] Kommerzieller Hybridmais (Ronaldinio, KWS) wurde unter Gewächshausbedingungen kultiviert. Die Pflanzen wurden auf einem autoklavierten Boden-Sand-Gemisch angezogen. Zum Zeitpunkt der Blüte (BBCH 65) wurden Sporensuspensionen von *Fusarium graminearum*, *F. verticillioides* und *F. subglutinans* sowie gemischte Suspensionen in den Narbenfädenkanal injiziert. Die Kontrollpflanzen wurden mit autoklaviertem Wasser behandelt. Das dynamische Verfahren der VOC-Sammlung wurde über einen Zeitraum von 24 h im Abstand von 8 Tagen an den Kolben durchgeführt. Hierzu wurde ein offenes Kreislaufsystem (engl. open loop) mit einem kontinuierlichen Luftstrom etabliert. Für die statische Sammlung der volatilen Komponenten mittels SPME Technik wurden die Kolben nach 24 Tagen geerntet. Des Weiteren wurde der zeitliche Verlauf der VOC-Synthese in einem Zeitreihenversuch mit Erntezeitpunkten im Abstand von 4 Tagen untersucht.

[0102] Die systematische Verbreitung der VOCs innerhalb der infizierten Maispflanzen wurde durch die Beprobung des Blattmaterials untersucht.

[0103] Die Analysen wurden mit einem Agilent 6890 Gaschromatographen, gekoppelt mit einem Agilent 5973 Massenspektrometer durchgeführt. Zur Identifikation der Komponenten wurden die Massenspektren mit kommerziellen und/oder wissenschaftlich üblichen Massenspektrometrischen Datenbanken verglichen. Es wurde ein eigenes Perl Skript für die Datenprozessierung verwendet, gefolgt von einem Kruskal-Wallis-Rangsummentest nach Siegel & Castellan (1988), siehe oben.

Zitierte Literatur:

- Abramson et al. "Mycotoxins, ergosterol, and odor volatiles in durum wheat during granary storage at 16% and 20% moisture content" *Journal of Stored Products* (2005) 41 (1), 67–76;
- Balasubramanian & Panigrahi "Solid-Phase Microextraction (SPME) Techniques for Quality Characterization of Food Products. A review" (2011), *Food Bioprocess Technology* 4, 1–26
- Balasubramanian et al. ("Evaluation of an artificial olfactory system for grain quality discrimination" *LWT-Food Science and Technology* (2007) 40 (10), 1815–1825); DE 10 2009 011 102 A1;
- Degenhardt et al. "Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants" *Phytochemistry* (2009) 70, 1621–1637;
- Demyttenaere et al. 2004 "Use of headspace solid-phase microextraction and headspace sorptive extraction for the detection of the volatile metabolites produced by toxigenic *Fusarium* species", *Journal of chromatography A* 1027 (1–2), 147–154;
- Dickinson et al. "Current trends in artificial-nose technology" *Trends in Biotechnology* (1998) 16 (6), 250–258);
- Falascioni et al. "Detection of toxigenic strains of *Fusarium verticillioides* in corn by electronic olfactory system" (2005), *Sensors and Actuators B: Chemical* 108 (1–2), 250–257;
- Fischer et al. 1999 "Species-specific production of microbial volatile organic compounds (MVOC) by airborne fungi from a compost facility", *Chemosphere* 39 (5), 795–810;
- Girotti et al. ("Use of solid phase microextraction coupled to capillary gas chromatography-mass spectrometry for screening *Fusarium* spp. based on their volatile sesquiterpenes" *World Mycotoxin Journal* (2010) 3 (2), 121–128).
- Gobbi et al. ("Electronic nose predicts high and low fumonisin contamination in maize cultures" *Food Research International* In Press, Corrected Proof, 5 March 2011);

- Huffaker et al. "Novel Acidic Sesquiterpenoids Constitute a Dominant Class of Pathogen-Induced Phytoalexins in Maize", *Plant Physiology* (2011), Band 156, 2082–2097;
- Jelen et al., 1997: „Trichodiene as a volatile marker for trichothecenes biosynthesis", *Journal of Microbiological Methods* 31 (1997) 45–49;
- Jelen et al. "Production of Volatile Sesquiterpenes by *Fusarium sambucinum* Strains with Different Abilities to Synthesize Trichothecenes", *Applied Environmental Microbiology* (1995), 61 (11), 3815–3820;
- Kovats, E. (1958). "Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone". *Helv. Chim. Acta* 41 (7): 1915–32. doi:10.1002/hlca.19580410703;
- Köllner et al. "Protonation of a Neutral (S)- β -Bisabolene Intermediate Is Involved in (S)- β -Macrocarpene Formation by the Maize Sesquiterpene Synthases TP56 and TPS11", *Journal of Biological Chemistry*, Band 283, Nr. 30, Seiten 20779–20788 (2008);
- Köllner et al.: "The sesquiterpene hydrocarbons of maize (*Zea mays*) form five groups with distinct developmental and organspecific distribution" (*Phytochemistry* (2004), 65, 1895–1902);
- Magan et al.: "Volatiles as an indicator of fungal activity and differentiation between species, and the potential use of electronic nose technology for early detection of grain spoilage", *Journal of Stored Products Research* 36 (2000) 319–340;
- Olsson et al. ("Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grain by GC-MS and electronic nose" *International Journal of Food Microbiology* (2002), 72 (3), 203–214);
- Perkowski et al. ("Content of trichodiene and analysis of fungal volatiles (electronic nose) in wheat and triticale grain naturally infected and inoculated with *Fusarium Culmorum*"; *International Journal of Food Microbiology* (2008) 126 (1–2), 127–134);
- Piesik et al. 2011a "Cereal crop volatile organic compound induction after mechanical injury, beetle herbivory (*Oulema* spp.), or fungal infection (*Fusarium* spp.)" *Journal of Plant Physiology* 168(9), 878–886;
- Piesik et al. 2011b "Fusarium infection in maize: Volatile induction of infected and neighboring uninfected plants has the potential to attract a pest cereal leaf beetle, *Oulema melanopus*", *Journal of Plant Physiology*, im Druck;
- Presicce et al. "Response evaluation of an E-nose towards contaminated wheat by *Fusarium poae* fungi" *Sens. Actuators B* (2006), 118, 433–438.;
- Siegel & Calstellan 1988 "Nonparametric statistics for the behavioral sciences (2nd ed.)"; McGraw-Hill Book Company, New York, England. xxiii, 399;
- Journal of Food Science and Technology*, 200, 37, 6, 631–635; *Food Chemistry*, 2010, 120, 230–234;
- Parasitol Res* 2008, 104, 107–African Journal of Biotechnology 2009, 8, 424–431;
- Thakeow: "Development of a Basic Biosensor System for Wood Degradation using Volatile Organic Compounds", Georg-August-Universität Göttingen, 2008;
- Tholl et al. beschrieben "Practical approaches to plant volatile analysis", *The Plant Journal* (2006) 45, 540–560;
- Zipfel, Dissertationsschrift ("The effect of Bt-transformation and various environmental factors on the volatile emission of maize: Potential influence on direct and indirect defense against herbivores"; Friedrich-Schiller-Universität Jena, 2007);

ZITATE ENHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Patentliteratur

- DE 102009011102 A1 [0093]

Zitierte Nicht-Patentliteratur

- Demyttenaere et al. 2004 [0003]
- Piesik et al. 2011a/b [0006]
- Degenhardt et al. (2009) [0007]
- Fischer et al. (1999) [0007]
- Magan et al. (2000) [0008]
- Jelen et al. (1997) [0009]
- Perkowski et al. (2008) [0010]
- Girotti et al. (2010) [0011]
- Perkowski et al (2008) [0012]
- Köllner et al. (2008) [0013]
- Köllner et al. (2004) [0013]
- Huffaker et al. (2011) [0013]
- C. Zipfel (2007) [0014]
- P. Thakeow (2008) [0015]
- Köllner et al. [0019]
- Huffaker et al. [0019]
- Siegel & Calstellan (1988), $p < 0.01$ [0037]
- Kovats, E. (1958) [0055]
- Jelen et al. (1995) [0063]
- Balasubramanian & Panigrahi (2011) [0064]
- Tholl et al. (2006) [0064]
- Presicce et al. (2006) [0066]
- Abramson et al. (2005) [0066]
- Falasconi et al. (2005) [0066]
- Dickinson et al. (1998) [0066]
- Gobbi et al. (2011) [0067]
- Falasconi et al. (2005) [0067]
- Olsson et al. (2002) [0067]
- Balasubramanian et al. (2007) [0067]
- Journal of Food Science and Technology, 200, 37, 6, 631–635 [0100]
- Food Chemistry, 2010, 120, 230–234 [0100]
- Parasitol Res 2008, 104, 107–115 [0100]
- African Journal of Biotechnology 2009, 8, 424–431 [0100]
- Siegel & Calstellan (1988) [0103]

Patentansprüche

1. Verfahren zur Erzeugung von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mit vermindertem Pilzbefall, umfassend die Schritte:

(i) Bereitstellen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern, wobei die Maispflanzen mindestens das Wachstumsstadium BBCH (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundessortenamt und Chemische Industrie) Codierung 65 erreicht haben, wobei BBCH-65 durch eine Blüte der oberen und unteren Rispenäste und vollständig geschobene Narbenfäden charakterisiert ist,

(ii) Testen der Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner aus Schritt (i) auf mindestens zwei volatile organische Stoffe (VOCs) aus der Gruppe bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpen, wobei das Vorliegen der volatilen organischen Stoffe einen Pilzbefall anzeigt, (iii) (A) Behandeln der Maispflanzen aus Schritt (ii) mit Pilzbefall mit Spritzmittel(n), das/die gegen den in Schritt (ii) festgestellten Pilz wirksam ist/sind; oder (B) Trennen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern aus Schritt (ii) mit Pilzbefall von denen ohne Pilzbefall, und

(iv) Gewinnen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern aus Schritt (iii) mit gegenüber den in Schritt (i) bereitgestellten Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern vermindertem Pilzbefall.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei der Pilzbefall durch *Fusarium* spp. verursacht ist, insbesondere durch einen Pilz aus der Gruppe bestehend aus: *Fusarium graminearum*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium verticillioides*, und Mischungen davon, bevorzugt *Fusarium graminearum* und/oder *Fusarium verticillioides*.

3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, wobei auf mindestens β -Selinen und β -Macrocarpen getestet wird.

4. Verfahren gemäß einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei das Messgerät zum Testen der volatilen organischen Stoffe ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Gaschromatographen (GC), Gaschromatographen gekoppelt mit Massenspektrometern (GC-MS), Ionen-Mobilitäts-Spektrometern (IMS), Starkfeld Ionenmobilitäts-Spektrometern mit asymmetrischer Wellenform (FAIMS, high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry), elektrochemischen Sensoren, elektrochemischen Sensor-Arrays, kolorimetrischen Sensoren, und elektrischen Nasen.

5. Verfahren gemäß einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei das Testen durch Ansaugen von Luft aus der Umgebung (Headspace) der Maispflan-

zen, Maiskolben und/oder Maiskörner in das Messgerät erfolgt und diese Luft auf volatile organische Stoffe getestet wird.

6. Verfahren gemäß einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei

die Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern in Schritt (i) in Chargen oder in einem kontinuierlichen Verfahren bereitgestellt werden, wobei die Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern in Schritt (ii) chargenweise oder in einem kontinuierlichen Verfahren getestet werden; und wobei der Verfahrensschritt in (iii) das Trennen der befallenen und nicht befallenen Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern in Chargen umfasst, bei denen die jeweiligen volatilen organischen Stoffe detektiert/nicht detektiert werden; oder der Verfahrensschritt in (iii) das kontinuierliche Trennen von pilzbefallenen und nicht befallenen Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern umfasst.

7. Verfahren gemäß einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei das Trennen von pilzbefallenen und nicht befallenen Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mittels einer landwirtschaftlichen Maschine, bevorzugt mittels einer Erntemaschine, erfolgt.

8. Verfahren zum Nachweis von Pilzbefall bei Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern, umfassend das Testen der Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner auf mindestens zwei volatile organische Stoffe (VOCs) aus der Gruppe bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpen, wobei das Vorliegen der volatilen organischen Stoffe einen Pilzbefall anzeigt, wobei die Maispflanzen mindestens das Wachstumsstadium BBCH (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundessortenamt und Chemische Industrie) Codierung 65 erreicht haben, wobei BBCH-65 durch eine Blüte der oberen und unteren Rispenäste und vollständig geschobene Narbenfäden charakterisiert ist; bevorzugt erfolgt das Testen der Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner gemäß Schritt (ii) wie in einem der Ansprüche 1–5 definiert.

9. System zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe (VOCs), wobei das System ein Messgerät umfasst, das auf mindestens zwei volatile organische Stoffe aus der Gruppe, bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpene, kalibriert ist.

10. System gemäß Anspruch 9, wobei

(i) das System auf einem landwirtschaftlichen Nutzfahrzeug, oder auf einer fahrbaren Drohne angebracht ist, wobei bevorzugterweise das System derart ausgestaltet ist, dass die Probennahme in der Nähe der Maiskolben erfolgt, oder

(ii) das System in einer Sortieranlage angebracht ist, wobei die Sortieranlage Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörner sortiert, und wobei das Messgerät Messsignale an ein Steuerungselement übermittelt, welches die Sortieranlage steuert, sodass die Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern mit Pilzbefall von denen ohne Pilzbefall getrennt werden.

unteren Rispenäste und vollständig geschobene Narbenfäden charakterisiert ist.

Es folgen 7 Blatt Zeichnungen

11. System gemäß Anspruch 9 oder 10, umfassend eine Kalibrierungseinheit, die eine Kalibrierlösung enthält, wobei die Kalibrierlösung eine erfindungsgemäße Mischung aus VOCs enthält und das System automatisch auf diese Kalibrierlösung zugreifen kann, um automatisch Kalibrierungsprozesse in geeigneten Abständen durchzuführen.

12. System gemäß einem der Ansprüche 9–11, wobei das Messgerät ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Gaschromatographen (GC), Gaschromatographen, gekoppelt mit Massenspektrometer (GC-MS), Ionen-Mobilitäts-Spektrometern (IMS), Starkfeld Ionenmobilitäts-Spektrometern mit asymmetrischer Wellenform (FAIMS, high-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry), elektrochemischen Sensoren, elektrochemischen Sensor-Arrays, kolorimetrischen Sensoren, und elektrischen Nasen.

13. Verwendung des System nach einem der Ansprüche 9–12 zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe (VOCs) zum Nachweis von Pilzbefall, wobei die Maispflanzen mindestens das Wachstumsstadium BBCH (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundessortenamt und Chemische Industrie) Codierung 65 erreicht haben, wobei BBCH-65 durch eine Blüte der oberen und unteren Rispenäste und vollständig geschobene Narbenfäden charakterisiert ist.

14. Verwendung einer Kalibrierlösung umfassend mindestens zwei volatile organische Stoffe (VOCs) aus der Gruppe, bestehend aus: Longifolen, α -Selinen, β -Selinen, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1442, einem Sesquiterpen mit einem Kovatsindex von 1445, β -Bisabolen und β -Macrocarpene, zur Kalibrierung eines Messgeräts zum Testen von Maispflanzen, Maiskolben und/oder Maiskörnern auf volatile organische Stoffe zum Nachweis von Pilzbefall, wobei die Maispflanzen mindestens das Wachstumsstadium BBCH (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundessortenamt und Chemische Industrie) Codierung 65 erreicht haben, wobei BBCH-65 durch eine Blüte der oberen und

Figur 1

Molekulare Massen	Identifikation/ VOC	CAS	KI (ber.)
42 (100), 41 (76), 55 (67), 70 (36), 43 (27)	1-Pentanol ²	000071-41-0	753
43 (100), 58 (39), 41 (18), 57 (14), 100 (1)	2-Hexanon ²	000591-78-6	777
44 (100), 41 (96), 56 (71), 43 (65), 57 (48)	Hexanal ¹²	000066-25-1	787
41 (100), 67 (71), 55 (30), 42 (25), 82 (22)	3-Hexen-1-ol ²	000928-96-1	856
56 (100), 43 (74), 41 (67), 55 (55), 42 (52), 69 (26)	1-Hexanol ²	000111-27-3	871
45 (100), 55 (55), 70 (43), 104 (32), 41 (29)	keine ID		889
43 (100), 58 (46), 41 (13), 71 (11), 42 (1)	2-Heptanon ¹²	000110-43-0	891
45 (100), 43 (18), 41 (18), 55 (17), 44 (1)	2-Heptanol ²	000543-49-7	904
57 (100), 43 (28), 41 (24), 55 (15), 72 (12)	1-Octen-3-ol ²	003391-86-4	978
57 (100), 43 (83), 72 (53), 71 (47), 99 (40)	3-Octanon ²	000106-68-3	985
81 (100), 53 (24), 82 (23), 41 (14), 138 (13)	Furan, 2-pentyl- ¹²	003777-69-3	987
59 (100), 55 (58), 41 (45), 83 (42), 43 (21)	3-Octanol ²	000589-98-0	993
67 (100), 41 (39), 95 (39), 65 (20), 124 (20)	keine ID		1017
105 (100), 41 (96), 91 (87), 94 (69), 161 (59), 119 (58), 204 (53), 77 (48), 93 (47), 79 (47)	(+)-Cycloisosativen ²	000000-00-0	1375
105 (100), 119 (83), 93 (74), 91 (71), 120 (55), 161 (53), 92 (42), 77 (41), 79 (28), 107 (26)	α-Ylängen ²	014912-44-8	1380
41 (100), 91 (65), 55 (60), 93 (45), 79 (45), 77 (40), 105 (37), 43 (34), 67 (30), 53 (29)	(+)-Aromadendren ²	000489-39-4	1410
41 (100), 91 (99), 161 (65), 105 (62), 79 (60), 93 (53), 55 (49), 94 (48), 77 (47), 107 (46)	Longifolen ²	000475-20-7	1412
93 (100), 41 (63), 108 (61), 95 (49), 91 (47), 107 (40), 43 (38), 55 (37), 94 (34), 57 (33)	SQT unbekannt	053060-59-6	1418
161 (100), 91 (99), 41 (98), 120 (96), 105 (75), 77 (55), 79 (51), 93 (47), 43 (44), 119 (41)	Germacren D ²	023986-74-5	1431
161 (100), 91 (68), 41 (68), 105 (60), 119 (41), 77 (41), 79 (37), 93 (32), 55 (29), 81 (27)	SQT unbekannt		1442

Anhängende Zeichnungen

DE 10 2012 204 237 A1 2013.09.19

161 (100), 105 (37), 41 (28), 91 (25), 119 (24), 93 (18), 77 (15), 81 (14), 162 (14), 43 (11)	<i>SQT unbekannt</i>		1445
41 (100), 69 (81), 93 (41), 40 (32), 79 (28), 67 (25), 55 (23), 53 (22), 44 (18), 91 (18)	(E)- β -Farnesene ²	028973-97-9	1477
119 (100), 121 (54), 41 (54), 79 (49), 105 (38), 91 (38), 93 (37), 77 (36), 55 (32), 81 (27)	<i>SQT unbekannt</i>		1485
121 (100), 41 (84), 95 (78), 93 (66), 40 (59), 91 (58), 79 (58), 136 (57), 77 (45), 67 (45)	<i>SQT unbekannt</i>		1488
105 (100), 41 (60), 94 (54), 91 (48), 93 (48), 161 (41), 77 (34), 79 (30), 43 (27), 119 (27)	α -Muurolen ²	031983-22-9	1496
41 (100), 79 (69), 67 (60), 93 (60), 105 (59), 91 (57), 107 (51), 55 (48), 81 (46), 53 (44)	β -Selinene ³	017066-67-0	1499
41 (100), 93 (64), 91 (63), 189 (63), 79 (59), 107 (58), 81 (55), 77 (48), 105 (48), 55 (47)	α -Selinene ³	000473-13-2	1509
93 (100), 79 (79), 41 (76), 121 (58), 107 (49), 91 (46), 80 (45), 136 (45), 77 (41), 92 (40)	β -Macrocarpen ³		1517
41 (100), 69 (76), 93 (54), 67 (35), 79 (31), 91 (26), 53 (22), 77 (21), 94 (21), 55 (17)	β -Bisabolen ³	000495-61-4	1525
109 (100), 108 (539), 67 (53), 41 (33), 93 (30), 79 (23), 81 (22), 55 (22), 77 (20), 91 (19)	Trichodien ²		1533
41 (100), 93 (86), 107 (73), 91 (50), 55 (37), 79 (36), 119 (34), 43 (33), 77 (32), 105 (30)	<i>SQT unbekannt</i>		1547
55 (100), 173 (81), 99 (40), 42 (34), 41 (33), 45 (30), 56 (29), 84 (29), 43 (28), 44 (15)	<i>keine ID</i>		1603

Figur 2

VOC	KI (ber.)	nicht infizierter Mais (Kontrolle)	Fuss gr. (Stamm 1)	Fus. gr. (Stamm 2)	Fus.sub.	Fus. vert. (Stamm 1)	Fus. vert. (Stamm 2)	Gemischte Inokulation (FG1 – FV1)	Gemischte Inokulation (FG2 – FV2)	VOCs von gesunden Maiskolben	Geschätzte Menge (µg in 24 h Open Loop Probenahme)	4 dpi	8 dpi	12 dpi	16 dpi	20 dpi	24 dpi
1-Pentanol	753	0,5	0,52	0,44		1	0,44	0,54	0,39		0.1 – 4.0						
2-Hexanon	777	0	0,18	0,28	0,09	1	0,22	0,17	0		0.1 – 4.0						
<i>Hexanal</i>	787	0,46	0,65		1	0,33	0,29	0,22	0,18								
3-Hexen-1-ol	856		0	0	0,3	1	0,11	0	0		0.1 – 4.0						
1-Hexanol	871	0,18	0,18	0,15	0,39	1	0,62	0,41	0,2		0.1 – 4.0						
<i>keine ID</i>	889	0,08	0,03	0,01	0,36	0,09	0,14	1	0,07		0.1 – 4.0						
<i>2-Heptanon</i>	891	0,24	0,28	0,12	0,3	1	0,4	0,48	0,13								
2-Heptanol	904	1	0,18	0,02	0,21	0,44	0,2	0,15	0,02		0.1 – 4.0						
1-Octen-3-ol	978	0,18	0,52	1	0,17	0,18	0,1	0,03	0,33		0.1 – 4.0						
3-Octanon	985	0	0,27	0,19	0,08	0,68	0,46	0,54	1		0.1 – 4.0						
<i>Furan, 2-pentyl-</i>	987	0,39	0,45	0,18	0,74	1	0,49	0,23	0,21								
3-Octanol	993	0	0,16	0	0	0,63	0,16	0,55	1		0.1 – 4.0						
<i>keine ID</i>	1017	0,46	0,59	0,53	1	0,17	0,05	0,05	0,02		0.1 – 4.0						
(+)-Cycloisotriene	1375	1	0,18	0,06	0,55		0,21	0,16	0,06		0.1 – 3.0						

20/24

DE 10 2012 204 237 A1 2013.09.19

α -Ylanger	1380		0,08	0	0,56	1	0,18	0,08	0		0.1 – 3.0						
(+)- Aromadendr en	1410	0	1	0,22	0	0	0	0	0,29		0.1 – 3.0						
Longifolen	1412	0	0,37	0,57	0	0	0	0	1		0.1 – 3.0						
<i>SQT</i> <i>unbekannt</i>	1418	0,16	1	0,56	0,18	0,16	0,16	0,11	0,38		0.1 – 3.0						
Germacrene D	1431	0,12	1	0,3	0,11	0,14	0,04	0	0,39		0.1 – 3.0						
<i>SQT</i> <i>unbekannt</i>	1442	0	1	0,29	0	0	0	0	0,33		0.1 – 3.0						
<i>SQT</i> <i>unbekannt</i>	1445	0	1	0,16	0	0	0	0	0,39		0.1 – 3.0						
(E)- β - Farnesene	1477	0	1	0,45	0,45	0	0	0,06	0,06		0.1 – 3.0						
<i>SQT</i> <i>unbekannt</i>	1485	0	1	0,19	0	0	0	0	0,27		0.1 – 3.0						

VOC	KI (ber.)	nicht infizierter Mais (Kontrolle)	Fuss gr. (Stamm 1)	Fus. gr. (Stamm 2)	Fus.sub.	Fus. vert. (Stamm 1)	Fus. vert. (Stamm 2)	Gemischte Inokulation (FG1 – FV1)	Gemischte Inokulation (FG2 – FV2)	VOCs von gesunden Maiskolben	Geschätzte Menge (μg in 24 h Open Loop Probenahme)	4 dpi	8 dpi	12 dpi	16 dpi	20 dpi	24 dpi
SQT unbekannt	1488	0	1	0,44	0,04	0	0	0	0,3		0.1 – 3.0						
α -Muurolen	1496	0,06	1	0,07	0	0,08	0	0	0,15		0.1 – 3.0						
β -Selenin	1499	0	0,71	0,39	1	0,57	0,13	0,2	0,21		0.1 – 3.0						
α -Selenin	1509	0	1	0,14	0,45	0,27	0,08	0,08	0,08		0.1 – 3.0						
β -Macrocarpen	1517	0	1	0,46	0,06	0,04	0	0,03	0,38		0.1 – 3.0						
β -Bisabolen	1525	0	1	0,58	0,2	0,14	0,02	0,17	0,2		0.1 – 3.0						
Trichodien	1533	0	1	0,53	0	0	0	0	0,34		0.1 – 3.0						
SQT unbekannt	1547	0	0,64	1	0,11	0	0	0,07	0,3		0.1 – 3.0						
keine ID	1603	0,12	0,05	0,5	1	0,61	0,5	0,55	0,6		0.1 – 4.0						

Figur 3

VOC	KI (ber.)	FG1	FG2	FSUB	FV1	FV2	MIX1	MIX2	Geschätzte Menge (µg in 24 h Open Loop Probenahme)	4 dpi	8 dpi	12 dpi	16 dpi	20 dpi	24 dpi
1-Pentanol	753				↗				0.1 – 4.0						
2-Hexanon	777				↗↗				0.1 – 4.0						
3-Hexen-1-ol	856	↘↘	↘↘				↘↘	↘↘	0.1 – 4.0						
1-Hexanol	871				↗				0.1 – 4.0						
keine ID	889		↘						0.1 – 4.0						
2-Heptanol	904	↘	↘						0.1 – 4.0						
1-Octen-3-ol	978		↗						0.1 – 4.0						
3-Octanon	985				↗↗	↗↗	↗↗	↗↗	0.1 – 4.0						
3-Octanol	993							↗↗	0.1 – 4.0						
keine ID	1017					↘	↘	↘	0.1 – 4.0						
(+)-Cycloisosativen	1375	↘	↘			↘	↘	↘	0.1 – 3.0						
α-Ylanger	1380	↘	↘↘				↘	↘↘	0.1 – 3.0						
(+)-Aromadendren	1410	↗↗							0.1 – 3.0						
Longifolen	1412		↗↗					↗↗	0.1 – 3.0						
SQT unbekannt	1418	↗	↗						0.1 – 3.0						
Germacren D	1431	↗							0.1 – 3.0						
SQT unbekannt	1442	↗↗	↗↗					↗↗	0.1 – 3.0						

VOC	KI (ber.)	FG1	FG2	FSUB	FV1	FV2	MIX1	MIX2	Geschätzte Menge (μg in 24 h Open Loop Pro- benahme)	4 dpi	8 dpi	12 dpi	16 dpi	20 dpi	24 dpi
		↗↗	↗↗					↗↗							
<i>SQT unbekannt</i>	1445	↗↗	↗↗					↗↗	0.1 – 3.0						
(E)- β -Farnesene	1477	↗↗							0.1 – 3.0						
<i>SQT unbekannt</i>	1485	↗↗							0.1 – 3.0						
<i>SQT unbekannt</i>	1488	↗↗	↗↗						0.1 – 3.0						
α -Muurolen	1496	↗							0.1 – 3.0						
β -Selinen	1499	↗↗	↗↗	↗↗	↗↗		↗↗	↗↗	0.1 – 3.0						
α -Selinen	1509	↗↗			↗↗				0.1 – 3.0						
β -Macrocarpen	1517	↗↗	↗↗			↗↗		↗↗	0.1 – 3.0						
β -Bisabolen	1525	↗↗	↗↗					↗↗	0.1 – 3.0						
Trichodien	1533	↗↗	↗↗						0.1 – 3.0						
<i>SQT unbekannt</i>	1547		↗↗						0.1 – 3.0						
<i>keine ID</i>	1603			↗	↗			↗	0.1 – 4.0						