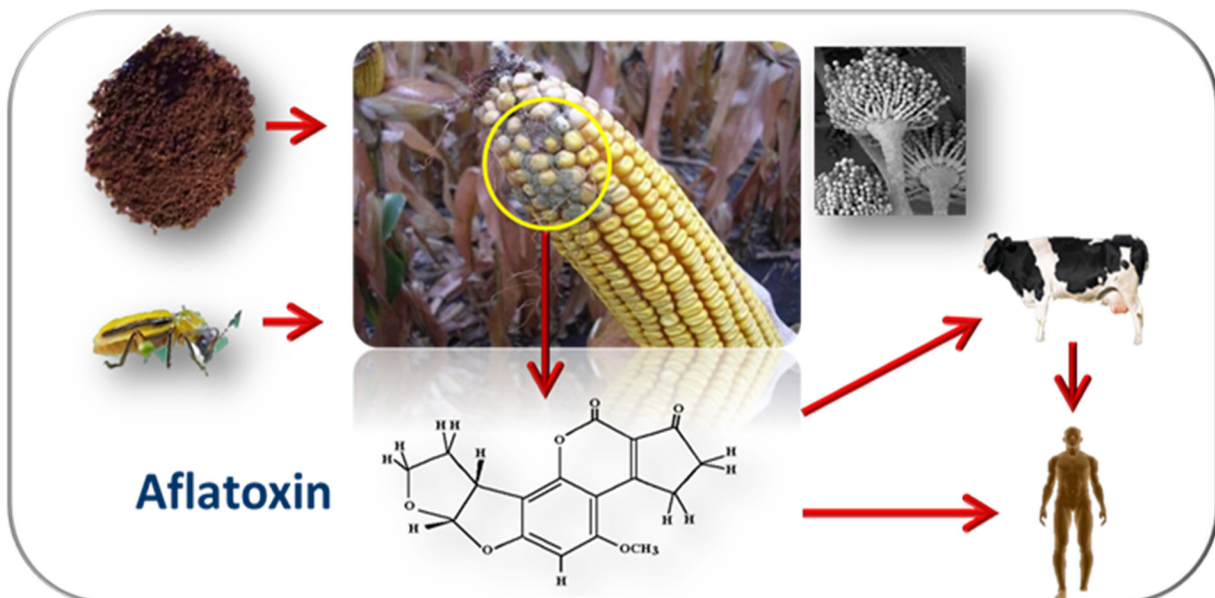


Projektupdate

Projekttitel:	Entwicklung und Implementierung nachhaltiger Strategien zur Verbesserung von Lebensmittelsicherheit bei Erhalt der Nährstoffe durch Reduktion von Pilzbefall und Aflatoxin-Kontamination in der Lebensmittelkette in Kenia als Modellregion für Sub-Sahara Afrika (AflaZ)
Land/Region/Stadt:	Kenia
Bekanntmachung:	Geschäftszeichen: 323-06.01-03-2816PROC11 Förderkennzeichen: 2816PROC11
Kooperierende Partner:	Max Rubner-Institut; Julius Kühn-Institut; Friedrich-Loeffler-Institut; Universität Koblenz-Landau; Kenya Agricultural & Livestock Research Organisation; East African Farmers Federation
Laufzeit:	1.10.2018 bis 31.12.2023
Budget:	1.674.559,79 €

Schema der Kernthemen die bei AflaZ im Fokus stehen:



Ziele des Vorhabens:

Durch den Konsum von stark mit Aflatoxinen kontaminierten Lebensmitteln (insbesondere der Grundnahrungsmittel Mais und Milch) ist die Bevölkerung Kenias und anderer afrikanischer Länder regelmäßig Toxingehalten ausgesetzt, die weit über den empfohlenen Grenzwerten liegen. Gerade Kinder und kranke Menschen, sind durch die gesundheitlichen Auswirkungen, die mit der Aufnahme von Mykotoxinen assoziiert sind, besonders gefährdet.

Das BLE-finanzierte Projekt, **AflaZ**, fokussiert auf eine Verbesserung der Lebensmittelsicherheit und des Qualitätsstandards von Milch, Mais und daraus hergestellten Produkten. Kenia wurde als Modellregion gewählt, da es ein Hochrisikogebiet für Aflatoxin Kontaminationen durch Schimmelpilzbefall im Lebensmittelbereich ist. Im Rahmen des AflaZ-Projektes werden effektive und nachhaltige Methoden entwickelt, Pilzbefall und Aflatoxinkontamination sowohl auf dem Feld als auch im Lager zu analysieren und zu monitoren, um diese nachhaltig zu reduzieren. Darüber hinaus beinhaltet das AflaZ-Forschungsprogramm umfangreiche Strategien zur Kompetenzerweiterung (Capacity Building). Diese schließen Kooperationen mit lokalen Institutionen, Farmern, Studierenden und weiteren Beteiligten mit ein und ermöglichen so einen nachhaltigen Wissenstransfer (Dissemination), der eine kulturelle Akzeptanz der Empfehlungen und die nachhaltige Integration der neuen Methoden durch die lokale Bevölkerung sicherstellt.

Im Rahmen von AflaZ werden folgende Kernthemen bearbeitet:

- Isolierung und phylogenetische Identifizierung Aflatoxin-bildender Pilze auf Mais und assoziierten Bodenproben aus Kenia, sowie deren mikrobiologische und molekularbiologische Charakterisierung mit dem Ziel der Entwicklung von Monitoringsystemen, sowie wirksamer und nachhaltiger Nachweis- und Vermeidungsstrategien.
- Untersuchung der Übertragung von Aflatoxin aus dem Futter in die Kuhmilch, sogenanntes Carry Over, sowie Analyse einer möglichen Reduktion/Abbau von Aflatoxinen bei der anschließenden Verarbeitung der Milch zu Käse und Joghurt. Identifikation eines Aflatoxin-spezifischen Biomarkers im Blut von Milchkühen und Entwicklung einer passenden Analyseverfahren.
- Analyse von Aflatoxin-Derivaten, die durch den Pilz oder die Pflanze durch Metabolisierung gebildet werden und wesentlich zu einer „maskierten“ Aflatoxinbelastung beitragen können; Vergleich und Entwicklung einer standardisierten Methodik für die Anwendung von Fast-Screen-Tests auf Aflatoxin, sowie Etablierung einer APP für mobile Aflatoxin-Analysen auf dem Feld.
- Bestimmung von Aflatoxin Gehalten im Boden und physico-chemischen Bodenparametern als Vitalitätsfaktor für Bodenorganismen und für Maispflanzen, sowie von Feldinsekten als Schädlinge auf der Maispflanze und Vektoren der Verbreitung von Pilzsporen Aflatoxin-bildender Pilze.
- Schulung und Anleitung (Capacity Building) von kenianischen Doktoranden innerhalb des AflaZ-Projektes als Multiplikatoren zur Verbreitung (Dissemination) der AflaZ-Forschungsergebnisse an die Landwirt/innen, sowie deren Aufklärung und Schulung in den neuen Methoden. Stärken der Kommunikation und der Kooperation zwischen kenianischen Partnerinstitutionen und anderen lokalen Forschungsinstitutionen. Verbreitung der Projektergebnisse über die eGRANARY-Plattform und den PAEPARD-Blog-Spot, sowie als Empfehlung an Regierungs- und Nichtregierungsorganisationen in Kenia. Breitere Bevölkerungsschichten werden mit der Ausstrahlung einer TV-Dokumentation über das AflaZ-Projekt und themenspezifische Radioprogramme erreicht.

Seite 3 von 6

Ergebnisse des fünften Projektjahres (2022):

Nach den Einschränkungen durch die Corona Pandemie in den Jahren 2020 und 2021 hat sich die Lage in 2022 schon wieder etwas entspannt und Arbeiten innerhalb des AflaZ-Projektes konnten im Jahr 2022 wieder so gut wie uneingeschränkt stattfindenden. In Kenia sorgten im Jahr 2022 regionale Dürren, sowie lokale Überschwemmungen für Schwierigkeiten beim Maisanbau und Ernteauffälle, was die Arbeiten für bestimmte Work-Packages teilweise erschwerte, so dass einige Versuche im Jahr 2023 nachgeholt werden müssen. Die Projektziele haben sich im Laufe der Projektdurchführung jedoch nicht geändert.

Am **Max Rubner-Institut (MRI)**, Standort Karlsruhe, hat Frau Alexandra Schamann, die als Doktorandin **WP1** und Teile von **WP2** bearbeitet hat, im Dezember 2022 erfolgreich ihre Doktorarbeit mit „Magna Cum Laude“ abgeschlossen. Im Rahmen ihrer Arbeit wurde die Diversität der Aflatoxinbildung auf genomischer und chemisch-analytischer Ebene in unterschiedlichen kenianischen Isolaten von *Aspergillus flavus* und *A. minisclerotigenes*, sowie *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus* Isolaten aus der MRI-Stammsammlung in Karlsruhe untersucht. Da *A. minisclerotigenes* eine wesentliche Rolle bei den regelmäßigen und häufig tödlich verlaufenden Aflatoxikoseausbrüchen in Kenia einnimmt, wurde dieser zusätzlich zu *A. flavus* und *A. parasiticus* Pilzstämmen mittels MiSeq Sequenzierer (short reads) und PacBio Technologie (long reads) sequenziert. Anhand von vergleichenden Genomanalysen unterschiedlicher Isolate von *A. flavus* und *A. minisclerotigenes* wurden dann Variationen in der Architektur der Aflatoxingencluster aufgeklärt und Unterschiede bezüglich der Prävalenzen der Aflatoxinbildung identifiziert. Bei einem umfassenden Monitoring der Aflatoxinbiosynthese von *Aspergillus flavus* wurden außerdem die Vorstufen von Aflatoxinen und damit der Aflatoxinbiosyntheseweg untersucht. Weiterhin wurde die Durchsetzungsfähigkeit zwischen Aflatoxin-bildenden und nicht Aflatoxin-bildenden *Aspergillus flavus* Stämmen mittels eines Droplet Digital PCR System (ddPCR) gemonitort/analysiert. Außerdem wurden die Bedingungen untersucht, bei denen Aflatoxin-bildende Aspergillen aktiv Aflatoxin bilden und unter welchen Bedingungen die Aflatoxinbildung bzw. das Wachstum dieser Pilze reduziert ist.

Die Wettbewerbsversuche mit dem MRI-Isolat des mykoparasitisch lebenden Pilzes, *Trichoderma afroharzianum*, sowie *Aspergillus flavus* im Rahmen von **WP3** wurden fortgesetzt und erweitert. Dabei konnte die Effektivität des MRI-Isolates *T. afroharzianum* MRI349 als Biocontrol Spezies zur Eindämmung von *A. flavus* und der damit einhergehenden Reduktion der gebildeten Aflatoxine erneut bestätigt werden. Der aus kenianischen Erd- und Maisproben isolierte pflanzenpathogene Pilz *Fusarium verticilloides* wurde ebenfalls in Wettbewerbsversuchen eingesetzt. Auch hier zeigte sich *T. afroharzianum* MRI349 als effektiver Kontrollorganismus. Im Jahr 2022 wurden zusätzlich 12 weitere *Trichoderma* Stämme und der in Kenia eingesetzte biocontrol-Stamm *Trichoderma harzianum* (Produktname: Trianum-P) mit in die Wettbewerbsversuche einbezogen. Einzelne interessante aus den Pilzproben isolierte Metaboliten werden mit Unterstützung des AflaZ-Partners MRI-Kiel aktuell massenspektrometrisch analysiert. Die Bedeutung dieser Metaboliten an dem Vorgang der Konkurrenz wird aktuell im Rahmen von Challenge-Tests am MRI-KA untersucht.

Das **Julius Kühn-Institut (JKI)** hat in **WP3.2** den Antifungal assay für den Hochdurchsatz von Extrakten, der 2021 für *A. flavus* etabliert wurde, verbessert und für die Identifikation der Extraktionsbedingungen, der antifungalen Aktivität und der Verbindungen einiger afrikanischer Pflanzen (*Ocimum gratissimum*, *Lippia adoensis*, *Xylopiya aethiopica*, *Melia volkensii*) genutzt (Siehe Veröffentlichung Karimi et al. 2022). Darüber hinaus wurde weiteres Pflanzenmaterial (*Plectranthus barbatus*, *Psidium guajava*, *Zanthoxylum chalybeum*) aus Kenia auf antifungale Wirkung getestet. Im Rahmen der Arbeiten unter WP3.2 konnte eine Formulierung aus ätherischem Öl mit Stärke hergestellt werden, die gegen *A. flavus* auf Agar und Blättern wirkt. Erste Tests mit ganzen Pflanzen unter Semifreilandbedingungen zur Haltbarkeit und Wirksamkeit der antifungalen Verbindungen und Extrakte unter Freilandbedingungen erwiesen sich als schwierig.

Im Jahr 2022 konnte die kenianische Doktorandin Beatrice Tenge am **MRI Detmold** einen zweimonatigen Forschungsaufenthalt durchführen und während dessen weiter an den Methoden zur Bestimmung von Aflatoxinen arbeiten (**WP4**).

Seite 4 von 6

An der **Universität Koblenz-Landau** (UKL) wurden 2022 im Rahmen von **WP5** die Versuche zu Aflatoxin und Bodenqualität (Probenahme und Analyse von Mykotoxinen in Böden, Bestimmung der Rolle der Bodeneigenschaften beim Abbau von Aflatoxinen, Auswirkungen von Aflatoxin B₁ auf das Bodenmikrobiom) abgeschlossen, womit auch die Laboraktivitäten des Arbeitspakets Bodenanalyse abgeschlossen sind. Die Daten wurden statistisch ausgewertet und dazu insgesamt drei Veröffentlichungen verfasst. Eine Demoversion einer open source Web-App zur Unterstützung der Datenerfassung in Kenia für das AflaZ-Projekt wurde entwickelt, die 2023 finalisiert und zur Anwendungsreife gebracht werden soll.

Durch den kenianischen Doktoranden Ginson Riungu (**WP6**) wurden in Kenia die Vielfalt der Insekten, die Schwere der Schäden durch die Insekten und ihre Fähigkeit, *Aspergillus*-Sporen zu übertragen weiter untersucht, wobei sich insgesamt eine große Vielfalt an Insekten zeigte, die von Region zu Region variierte. Felder mit Zwischenfruchtanbau wiesen dabei eine höhere Artenzahl und eine höhere Anzahl pro Taxa auf und es konnte hier ein Anstieg der Zahl der Räuber und Parasitoiden beobachtet werden. Es wurde festgestellt, dass alleine stehender Mais als Monokultur den höchsten Schaden durch Herbstheerwürmer aufweist. Die Regenfälle in den zwei Regenperioden in Kenia waren in 2022 nicht an allen Standorten ausreichend für ein für die Versuche angemessenes Wachstum der Maispflanzen. In Kilifi war die Trockenheit besonders ausgeprägt, so dass es zu Ernteausfällen kam. Versuche im Rahmen des WP6 werden daher im März 2023 teilweise wiederholt.

Am **MRI in Kiel** erfolgte in 2022 im Rahmen von **WP7** die Gefriertrocknung und Analyse des Grundfutters aus dem Transferversuch. Die Proben wurde anschließend erfolgreich auf den Mykotoxingehalt analysiert. Die Analysen der aus der Versuchsmilch hergestellten Joghurts sowie des Käse „Typ-Edamer“ sind erfolgt und die Daten ausgewertet. In den Milchproben konnte lediglich in der Aflatoxin exponierten Gruppe das entsprechende Mykotoxin Aflatoxin M₁ nachgewiesen werden. In allen anderen Milchproben waren keine *Aspergillus* Toxine nachweisbar. Die Hypothese, dass es während der Joghurtherstellung zu einem Abbau von Aflatoxin M₁ aus der Milch kommen kann, muss verworfen werden, da das Mykotoxin im Joghurt vollumfänglich wiedergefunden wird. Das Mykotoxin Cyclopiazonsäure, das zum Beispiel von einigen @aflasafe Isolaten gebildet wird (Anmerkung MSH) wird aus Milch, falls diese mit CPA kontaminiert ist, ebenfalls zu wesentlichen Anteilen in Käse Edamer-Typ transferiert. Mit diesen Versuchen sind die praktischen Arbeiten des WP7 abgeschlossen. Die Vorbereitung der Publikation der wesentlichen Ergebnisse wird sich noch bis in das Jahr 2023 erstrecken.

Am **Friedrich-Loeffler-Institut** (FLI) wurden die praktischen Arbeiten an **WP7** im Laufe des Jahres 2022 abgeschlossen. Um toxikologisch negative Auswirkungen der Toxin-bildenden *A. flavus* Stämme, als auch der *A. flavus*-Biocontrol-Stämme auf die Tiergesundheit zu untersuchen, wurden umfangreiche Fütterungsversuche mit anschließenden Analysen von Blut und Urin der Tiere durchgeführt. Es wurde ein Panel an klinisch-chemischen sowie hämatologischen Parametern im Blut bestimmt, welche es erlauben, neben den hepatotoxischen Effekten auch mögliche Wirkungen auf den Energie-, Fett- und Proteinstoffwechsel, sowie auf das differenzierte rote und weiße Blutbild zu erfassen. Dabei zeigte sich, dass weder Leber-assoziierte Enzyme, noch Metabolite des Energiestoffwechsels, oder des Protein- und Lipidstoffwechsels durch die Fütterung beeinflusst wurden. Ebenfalls waren Calcium und Phosphor sowie die Elektrolyte Chlorid und Natrium durch die Fütterung unbeeinflusst. Die Auswirkungen der Biocontrol-Stämme auf Gesundheitsparameter der Tiere wurde zum einen über Blutuntersuchungen geprüft und zum anderen über eine direkte histopathologische Beurteilung der Leber. Diese gilt als Hauptzielorgan der Aflatoxine und wird als zentraler Wirkort beschrieben. In allen Proben traten nur geringgradige Veränderungen auf, die hauptsächlich lymphohistiozytäre portale Infiltrate und fokale hepatozelluläre Vakuolisierungen betrafen, denen jedoch keine pathologische Bedeutung beizumessen ist. Des Weiteren wurden innerhalb des WP7 verschiedene Aflatoxin Biomarker, die für die Bewertung der

Seite 5 von 6

Exposition herangezogen werden können, etabliert. Hierfür wurden geeignete enzymatische bzw. chromatographische Methoden entwickelt und die Anwendbarkeit der Biomarker mit Hilfe des Fütterungsversuches untersucht.

Die **Kenya Agricultural & Livestock Research Organisation (KALRO)**, **WP8**, betreute in 2022 die AflaZ-Versuchsfelder in den drei Bezirken Kisumu, Makueni und Kilifi, die als Hotspots für die Aflatoxin-Kontamination von Mais gelten. Getreideproben aus diesen Regionen und von Versuchsfeldern mit unterschiedlichen Behandlungen (konservative Bodenbearbeitung, *Trichoderma* Anwendung, Push Pull und konventionelle Bodenbearbeitung) wurden zum Nachweis und zur Quantifizierung von Aflatoxinen (Bestimmung des Gesamt-Aflatoxin-Gehaltes) per ELISA-Verfahren herangezogen.

Die Vertragsdokumente nach Vorgabe des **Nagoya-Protokolls** (Prior Informel Content (PIC) und Mutually Agreed Terms (MAT)) wurden im August 2022 den Bezirksvertretern des Landwirtschaftsministeriums in Makueni, Kisumu und Kilifi vorgelegt und schließlich in den Folgemonaten von den Bezirksvertretern, KALRO, und dem Kenya Wildlife Services (KWS) unterzeichnet.

Die praktischen Arbeiten der **East African Farmers Federation (EAFF)**, **WP9**, wurden mit Ende 2021 abgeschlossen. Die Aktivitäten zur Wissensvermittlung im Jahr 2022 finden jedoch weiterhin statt und waren vor allem darauf fokussiert, über die von EAFF genutzten Kanäle wie die e-GRANARY-Plattform, weiterhin über die Funktionsweise, die Anwendung und die Vorteile der verschiedenen landwirtschaftlichen Technologien und Anwendungen zur Bekämpfung von Aflatoxinen aufzuklären. Im Dezember 2022 wurde die unter Federführung der EAFF entstandene AflaZ-TV-Dokumentation über die Aflatoxin-Problematik in Kenia, die Aktivitäten des AflaZ Projektes und Ergebnisse zu Vermeidungsstrategien fertiggestellt. Alle Projektpartner stellten die eigenen Informationen inkl. Filmaufnahmen zur Verfügung, um eine umfassende Berichterstattung über das gesamte Projekt zu gewährleisten. Die AflaZ-Dokumentation wurde zudem mit der AflaZ-Seite auf der Homepage des Max Rubner-Institut verlinkt.

Im Oktober 2022 wurde durch die Koordination (**WPX**) des AflaZ Projektes mit Unterstützung der Kenianischen Partner KALRO und EAFF ein **AflaZ-Partnermeeting** in Nairobi/Kenia durchgeführt. Nach umfangreicher Vorbereitung wurde das Meeting unter Beteiligung fast aller Deutscher und aller Kenianischer Projektpartner vom 10.10.2022 bis 14.10.2022 erfolgreich ausgerichtet. Dabei fanden mehrere Meetings mit intensivem Austausch zwischen den AflaZ-Partnerorganisationen, sowie Teilnehmenden in Nairobi und Kisumu und Begehungen der AflaZ-Versuchsfelder und AflaZ-Partnerinstitutionen statt.

Kernaussagen und Policy Advice:

- 1) Das Projekt AflaZ legt seinen Fokus auf die Problematik des Befalls von Mais durch Aflatoxin-bildende Pilze, wie *A. flavus* und *A. parasiticus*. Im Laufe der Untersuchungen, sowie in aktuellen Studien hat sich gezeigt, dass auch *A. minisclerotigenes* eine wesentliche Rolle bei der Aflatoxinkontamination von Mais in Kenia einnimmt. Diese Spezies ist vermutlich auch ursächlich für die meist tödlich verlaufenden Aflatoxikoseausbrüche in Kenia. Bei Untersuchungen von sowohl Mais- als auch Bodenproben von kenianischen Versuchsfeldern wurden darüber hinaus auch verschiedene Pilze der Spezies *Fusarium* identifiziert. Daher wurde entschieden, ausgewählte *Fusarium*-Isolate in bspw. die Kompetitions-Untersuchungen mit *Trichoderma* Biocontrol Pilzen mit einzubeziehen, da es auch gerade bei *Fusarien* häufig stark pflanzenpathogene Stämme gibt, die Mais, Getreide und andere Nutzpflanzen wie Obst und Gemüse infizieren, dort Mykotoxine bilden und häufig wegbeireitend sind für weniger pathogene Arten wie Penicillien oder Aspergillen.



- 2) Es ist möglich Mykotoxin-bildende Pilze mit einer Kombination aus hemmenden Einflüssen im Lager (bspw. mit Licht bestimmter Wellenlänge und niedrigen Korn-Feuchtegehalten) und zum Teil bereits auch auf dem Feld, durch den Einsatz natürlicher antagonistischer Pilze effektiv zu hemmen. Dabei ist der Einsatz von kommerziell eingesetzten Biokontroll-Stämmen (*A. flavus*) aus verschiedenen Gründen weiterhin kritisch zu hinterfragen. Der im Rahmen von AflaZ untersuchte alternative Einsatz eines kommerziellen Produkts mit *Trichoderma harzianum* zeigt zum Teil gute, zum Teil jedoch auch ambivalente Ergebnisse bezüglich des Befalls von Maispflanzen durch bspw. *A. flavus* auf dem Feld. Der Einsatz eines MRI-Isolates von *T. afroharzianum* als Biokontroll-Stamm zeigt sich als vielversprechend.
- 3) Antifungale Pflanzeninhaltsstoffe aus lokalen kenianischen Begleitpflanzen, sowie die Aminosäure Arginin, die einfach auf die Pflanze aufgesprüht werden könnte, zeigten sich als weitere vielversprechende Ansätze zur Hemmung Aflatoxin-bildender Pilze.
- 4) Befall und Effektivität der Präventionsmethoden (bspw. Durchsetzungsfähigkeit von Biocontrol-Spezies gegenüber Toxin bildenden Spezies) können mittels molekularer ddPCR Technologie im Labor überprüft und gemonitored werden.
- 5) Aflatoxin-Schnellnachweismethoden werden weiterhin in Feldversuchen in Kenia angewendet und weiterentwickelt. Eine Befragung der Landwirt/innen und Vorführung der Schnelltests zeigte, dass ein Test mit Smartphone App Auswertung bevorzugt wird. Jedoch zeigte sich auch, dass auf Grund der hohen Kosten der benötigten Teststreifen zu diesem Zeitpunkt eine App Entwicklung nicht ausreichend realisierbar ist. Gespräche mit einzelnen Firmenvertretern bzgl. einer Kooperation, um die Kosten zu senken, verliefen bis jetzt nicht erfolversprechend, so dass weitere Überlegungen dazu projektergänzend durchgeführt werden sollten, z.B. eine Organisation und Realisierung von Mais-Tests auf Aflatoxine über die EAFF. Im Verlauf dieser Entwicklung wurde die Entwicklung der APP einem anderen Partner innerhalb des AflaZ-Projektes mit zusätzlichen Finanzmitteln übertragen (UKL). Die App befindet sich in der finalen Entwicklungsphase mit Unterstützung durch MRI-KA und KALRO.
- 6) Es wurde eine Methode zur Bestimmung der Aflatoxin Konzentration in Boden/Pflanze entwickelt und diese erfolgreich validiert. Die Methode wurde darüber hinaus für die Analyse von pflanzlichen Matrices (Lebensmittel) optimiert, um bei der Untersuchung des Systems Boden/Pflanze eingesetzt zu werden. Die Übertragungsrate (Carry Over) von Aflatoxin in Kuhmilch wird im Rahmen einer Fütterungsstudie untersucht, sowie eine mögliche Aflatoxinreduktion in den Milchfolgeprodukten Joghurt und Käse. Diese erfolgt nicht. Zudem wurde ein spezifischer Biomarker zur Messung der Aflatoxinbelastung der Milchkuh entwickelt.
- 7) Maisfelder werden unter konventionellen Methoden, sowie mit den im AflaZ entwickelten Methoden angebaut, der Befall mit Aflatoxin wird verglichen und die Landwirt/innen in den neuen Methoden, sowie Fachwissen über die gesundheitliche Problematik einer Aflatoxin Intoxikation geschult. Auf diese Weise ist eine nachhaltige Aflatoxinreduktion möglich und realisierbar. Durch die Ausbildung kenianischer Doktoranden, teilweise auch zusätzlich von Erasmus Doktoranden aus Kenia, teilweise auch in Tandem mit deutschen Doktoranden, innerhalb des AflaZ Projektes, aber auch von Landwirt/innen, ist die Multiplikation der Erkenntnisse aus AflaZ vor Ort gewährleistet. Das AflaZ Konsortium konnte im Oktober 2022 anlässlich der Besuche von AflaZ-Feldern direkt mit Farmern und Farmervertretern sprechen und in intensiven Austausch über die Projektergebnisse, Vermeidungsstrategien und gesundheitliche Relevanz von Mykotoxinen in Mais treten.