Untersuchungen zu Kontaminationen mit *Fusarium* spp. und Fumonisinen an Steck- und Säzwiebeln von verschiedenen Herkünften in Deutschland

M. Goßmann[1], U. Gärber[2], R. Grosch[3], F. Ellner[4], C. Büttner[1]

[1]Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Department für Nutzpflanzen- und Tierforschung, Fachgebiet Phytomedizin, Sitz: Julius Kühn-Institut, Königin Luise Straße 19, D-14195 Berlin

[2]Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Stahnsdorfer Damm 81, D-14532 Kleinmachnow

[3]Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau, Theodor-Echtermeyer-Weg 1, D-14979 Großbeeren

[4]Julius Kühn-Institut, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin

Einleitung

Abb. 1: Zwiebelbasalfäule, verursacht durch *Fusarium oxysporum*

Die Zwiebelbasalfäule (Abb. 1), die durch *Fusarium oxysporum* verursacht wird, ist weltweit eine wichtige bodenbürtige Krankheit der Zwiebel [1].
Neben *F. oxysporum* (Abb. 2) ist mit *F. proliferatum* (Abb. 3) eine weitere *Fusarium*-Art an der Basalfäule beteiligt [2, 3]. Vor allem *F. proliferatum* ist in der Lage Fumonisine (Abb. 4) zu bilden, die für die Gesundheit der Verbraucher von gesundheitsrelevanter Bedeutung sein können. Bei Fumonisin-Untersuchungen in Serbien bildeten 6 von 11 *F. proliferatum*- Isolate, die aus Zwiebeln isoliert wurden, FB_1-Mengen von 25 - 3000 µg/g [3]. In Deutschland wurde in *F. proliferatum*- infizierten Knoblauchknollen FB_1 in Höhe von 26 - 95 ng/g nachgewiesen [4].
Zielstellung vorliegender Untersuchungen war, Infektionen mit *Fusarium* spp. bei Zwiebeln festzustellen und bei positiven Befunden die Werte der natürlichen Fumonisin-Kontaminationen zu erfassen. Hierzu wurden im Juli 2008 insgesamt 300 Steck- und Säzwiebeln von drei Herkünften aus Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg, der Sorten ´Marimba`, ´Red Baron`, ´Takstar`, ´Centurion` und ´Corraro` auf Befall mit *Fusarium* spp. untersucht.

Abb. 2: *F. oxysporum*, Mikro-, Makro- und Chlamydosporen, kurze Monophialiden

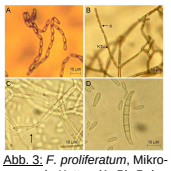

Abb. 3: *F. proliferatum*, Mikrosporen in Ketten (A, B), Polyphialiden (C), Makrospore (D)

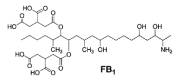

Abb. 4: Fumonisin FB_1

Material und Methoden

Die Probenahme erfolgte im Juli 2008. Bis zur Aufarbeitung im Labor wurden die Proben zwischen 3 und 28 d bei 4°C gelagert. Für die Untersuchungen auf Pilzbefall wurden die Zwiebeln zuerst grob gereinigt (Abb. 5a), das Laub, die äußere Schale und der Wurzelbart wurden entfernt und die Zwiebeln längsgeteilt (Abb. 5b). Eine Hälfte wurde für die Fumonisin-Untersuchungen bei -21°C eingelagert und aus dem Counterpart wurde aus dem basalen Teil das Zwiebelherz, ein Gewebestück mit Durchmesser von 2,0 cm, herausgeschnitten (Abb. 5c), das für 3 min mit 1% NaOCl oberflächendesinfiziert wurde. Daraus erfolgte die Heraustrennung wiederum von drei kleineren, ca. 0,5 cm großen Gewebestückchen und die Auslegung auf SNA (Abb. 6a, b). Es folgte eine zehntägige Inkubation bei Wechel- UV, d.h. 14 h UV- Beleuchtung und 10 h Dunkelheit. Mittels Lichtmikroskopie wurde die Befallshäufigkeit der ausgelegten Zwiebelstückchen mit *Fusarium* spp. festgestellt. Die Artendeterminierung erfolgte anhand morphologischer Eigenschaften. Der Fumonisin-Nachweis erfolgte in 30 Zwiebelhälften, in denen *Fusarium* spp. nachgewiesen worden ist, mittels HPLC.

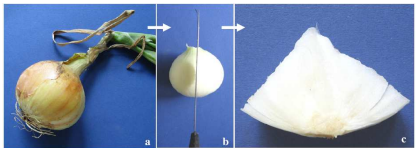

Abb. 5.: Zwiebelknolle (a), Halbierung durch Längsteilung der Zwiebel mit dem Messer (b) und Heraustrennung des Zwiebelherzens (c).

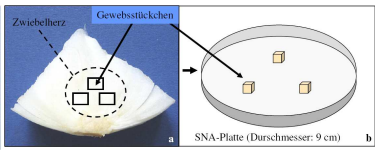

Abb. 6: Nach Oberflächendesinfektion mit 1% NaOCl, 3 min, Heraustrennung von drei kleineren Gewebestückchen aus dem Inneren des Zwiebelherzes (a) und Auslegung dieser auf SNA (b).

Ergebnisse

Von den insgesamt 300 untersuchten Zwiebelhälften waren ca. 10 % mit *Fusarium* spp. infiziert. Nur 3 % der Proben wiesen keinen Pilzbefall auf. *Penicillium* spp. war in 97 % der Proben nachweisbar (Tab. 1).

Tab. 1: Ergebnis der Untersuchungen der Zwiebelhälften (n= 300) dreier Herkünfte aus Rheinland-Pfalz und Baden Württemberg zur Probenahme im Juli 2008

Herk.	Sorte	Anzahl Zwiebeln [n]	**Zwiebeln mit Befall von *Fusarium* spp.* [%]**	Zwiebeln mit Befall von *Penicillium* spp. [%]	Zwiebeln ohne Pilzbefall [%]
1	´Marimba`	51	**12**	94	4
	´Red Baron`	2	**50**	0	50
	´Takstar`	20	**25**	100	0
2	´Marimba`	100	**3**	99	1
3	´Marimba`	28	**18**	96	4
	´Centurion`	50	**14**	98	2
	´Corraro`	49	**6**	94	6
	Summe	300	**10**	97	3

*Mischinfektionen mit *Penicillium* spp. möglich

Die Fumonisin-Untersuchungen der Zwiebelhälften (n= 30), die vor den Pilzuntersuchungen bei -21 °C eingelagert worden waren und deren andere Hälfte eine Kontamination mit *F. oxysporum, F. proliferatum, Penicillium* spp., entweder allein oder zusammen aufwiesen, ergaben überwiegend positive Nachweise, z.T. auch in Zwiebelhälften, aus deren Counterpart keine der nachgewiesenen *Fusarium* spp. festgestellt worden waren und als Negativkontrollen mit geprüft worden sind. Insgesamt war die Fumonisin-Kontamination aber sehr gering, mit Gehalten an FB_1 bis zu 2,3 µg/100g.

Das *Fusarium*- Spektrum setzt sich zusammen aus insgesamt 8 Arten, die in unterschiedlicher Häufigkeit vorkamen: *F. arthrosporioides* (Abb. 10), *F. avenaceum* (Abb. 12), *F. oxysporum* (Abb. 7), *F. proilferatum* (Abb. 8), *F. redolens* (Abb. 9), *F. solani* (Abb. 11), *F. sporotrichioides* (Abb. 13) und *F. tricinctum* (Abb. 14). Die dominierenden Arten waren *F. oxysporum* und *F. proliferatum*, die entweder allein oder gemeinsam mit den anderen *Fusarium*- Arten und/oder mit *Penicillium* spp. in den meist symtomlosen Zwiebelhälften nachgewiesen werden konnten.

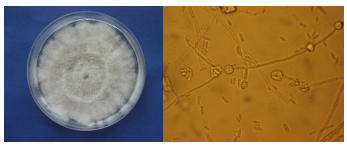

Abb. 7: Myzel von ***F. oxysporum*** auf PDA (a), Mikrosporen an kurzen Monophialiden in Köpfchen, Chlamydosporen (b) auf SNA

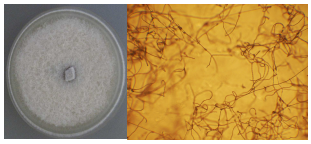

Abb. 8: Myzel von ***F. proliferatum*** auf PDA (a), Mikrosporen in Ketten an Polyphialiden (b) auf SNA

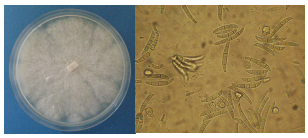

Abb. 9: Myzel von ***F. redolens*** auf PDA (a), Mikro-, Makro- und Chlamydosporen (b) auf SNA

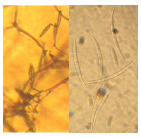

Abb. 10: Sporenträger und Makrosporen von ***F. arthrosporioides***

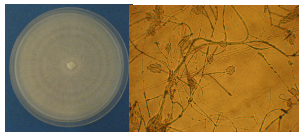

Abb. 11: Myzel von ***F. solani*** au PDA (a), Mikrosporen an langen Monophialiden (b) auf SNA

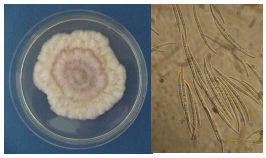

Abb. 12: Myzel von ***F. avenaceum*** auf PDA (a), Makrosporen (b) auf SNA

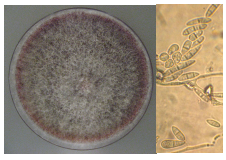

Abb. 13: Myzel von ***F. sporotrichioides*** auf PDA (a), Mikro- und Makrosporen (b) auf SNA

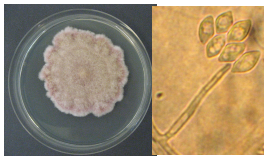

Abb. 14: Myzel von ***F. tricinctum*** auf PDA (a), Mikrosporen an Monophialiden (b) auf SNA

Fazit

Zum Zeitpunkt der Probenahme im Juli 2008 waren ca. 10 % der untersuchten Zwiebeln (n= 300) der Sorten ´Marimba`, ´Red Baron`, ´Takstar`, ´Centurion` und ´Corraro` von drei Herkünfte aus Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg mit *Fusarium* spp. belastet. *F. oxysporum* und *F. proliferatum* waren die dominierenden *Fusarium*-Arten, die meist in Mischkontamination mit *Penicillium* spp. vorlagen. Der Nachhweis dieser potentiellen basalen Wurzelfäuleerregern erwies sich weitestgehend als latent systemisch, da die untersuchten Zwiebeln zu diesem Zeitpunkt keinerlei Schadsymptome aufwiesen. Insgesamt war die Fumonisin-Kontamination in den untersuchten Counterparts mit Gehalten an FB_1 bis zu 2,3 µg/100g sehr gering. Die Untersuchungen zur Pathogenität und Toxizität der *Fusarium* spp.-Isolate an Zwiebeln werden weitergeführt.

Danksagung:
Finanziell gefördert und unterstützt wurden die Untersuchungen durch den Fachverband Deutsche Speisezwiebel e.V. Für die Probennahme danken wir allen beteiligten Landwirten, Frau Andrea Schneider und Frau Andrea Voos. Für die Probenaufbereitung und technische Unterstützung danken wir Frau Juliane Würdig und Frau Karin Zinn.

Literatur:

[1] Brayford D (1996): *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. Mycopathologia 133: 39-40
[2] Du Toit LJ, Inglis DA, Pelter GQ (2003): *Fusarium proliferatum* Pathogenic on Onion Bulbs in Washington. Plant Disease 87, 750
[3] Stankovic S, Levic J, Petrovic T, Moretti A (2007): Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. Eur J Plant Pathol 118: 165-172
[4] Seefelder W, Goßmann M, Humpf HU (2002): Analysis of Fumonisin B1 in *Fusarium proliferatum*–infected asparagus spears and garlic bulbs from Germany by liquid chromatography–Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Journal of Agric. and Food Chem. 50: 2778-2781