

Monika Goßmann¹, Frank Ellner², Ute Gärber³, Rita Grosch⁴, Carmen Büttner¹

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

²Julius Kühn-Institut, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin

³Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Stahnsdorfer Damm 81, D-14532 Kleinmachnow

⁴Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau, Theodor-Echtermeyer-Weg 1, D-14979 Großbeeren

Einleitung



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

Zwiebelbasalfäule (Abb. 1), hauptsächlich verursacht durch *Fusarium oxysporum* (Abb. 2), ist weltweit eine wichtige bodenbürtige Krankheit der Zwiebel [1]. Auch *F. proliferatum* (Abb. 3) kann die Basalplatte von Zwiebeln befallen [2, 3] und zählt zu den wichtigsten Produzenten von Fumonisinen in Nahrungs- und Futtermitteln. Diese Mykotoxine können für die Gesundheit der Verbraucher von relevanter Bedeutung sein. Bei Untersuchungen in Serbien waren 6 von 11 aus 25 Zwiebeln isolierte *F. proliferatum*-Isolate in der Lage Fumonisine in Konzentrationen von 25 - 3000 µg/g [3]. In Deutschland wurde in *F. proliferatum*-infizierten Knoblauchknollen FB₁ 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. Weiterhin stellte sich die Frage, ob diese *Fusarium*-Arten in der Lage sind auf Zwiebelgewebe zu wachsen und relevante Mengen an Toxinen zu produzieren.

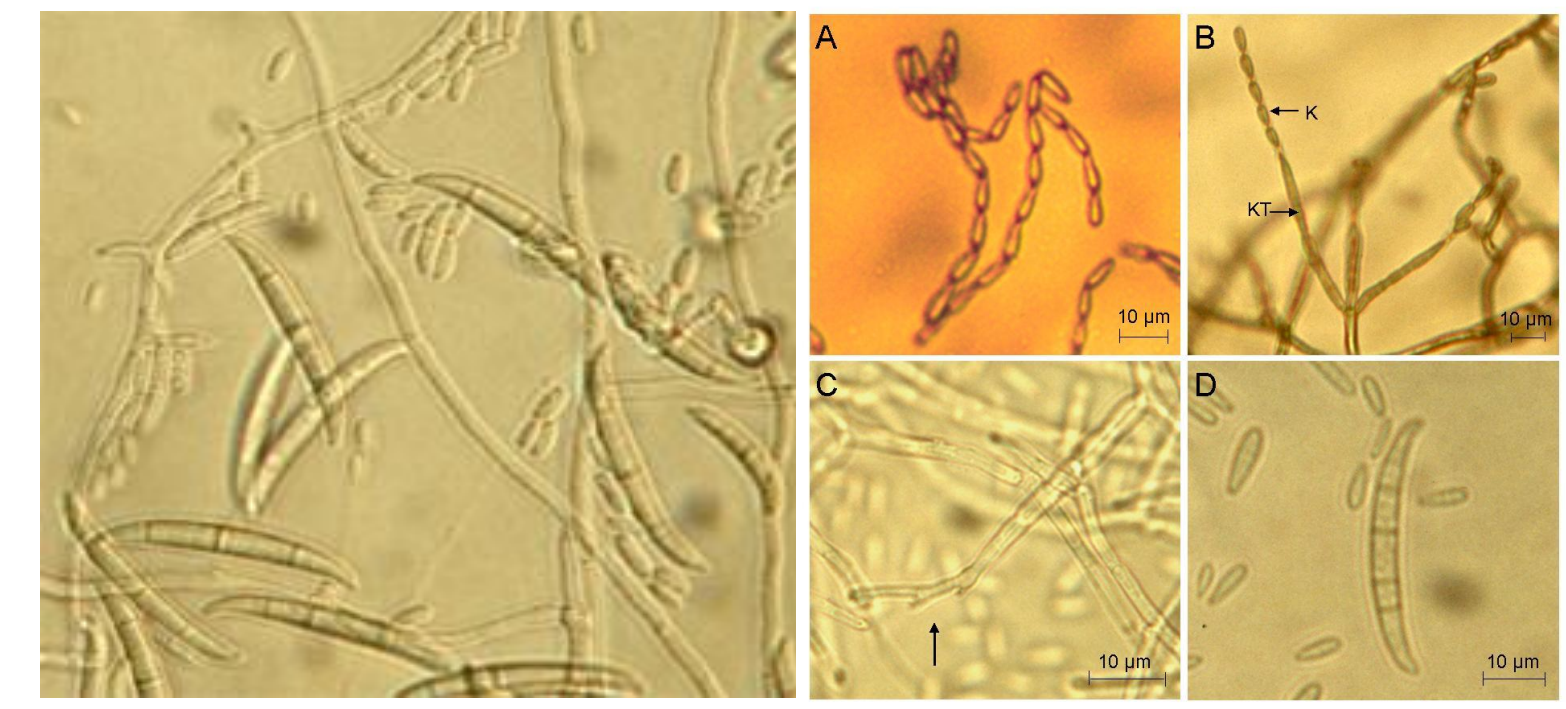


Abb. 2: *F. oxysporum*, Mikro-, Makro- und Chlamydosporen, Monophialiden

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

Material und Methoden

Die Probenahme von 300 Zwiebeln der Sorten 'Marimba', 'Red Baron', 'Takstar', 'Centurion' und 'Corrado' von drei Herkunftsorten aus Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg, erfolgte im Juli 2008. Für die Untersuchungen auf Pilzbefall wurden die Zwiebeln zuerst grob gereinigt (Abb. 4a), das Laub, die äußere Schale und der Wurzelbart wurden entfernt und die Zwiebeln längsgesteilt (Abb. 4b). 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. 4c), 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. 5a, b). Es folgte eine zehntägige Inkubation bei Wechsel-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. Die Fumonisine wurden aus den Zwiebelhälften extrahiert, derivatisiert und mittels HPLC nachgewiesen.

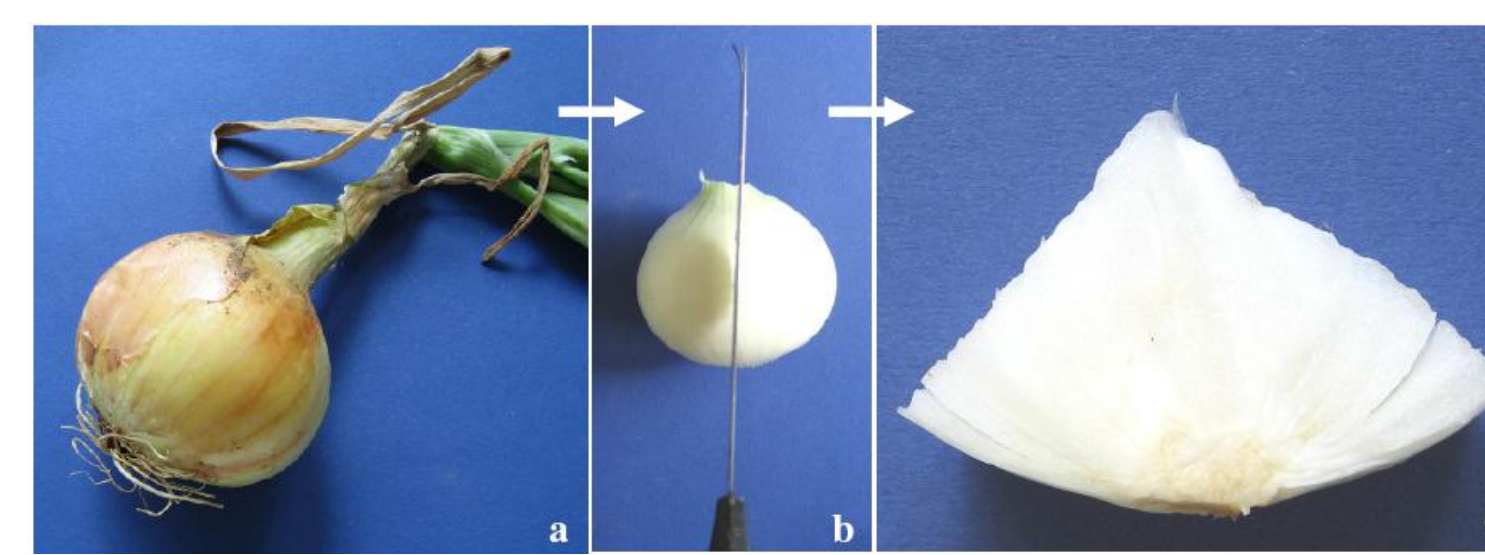


Abb. 4: Zwiebelknolle (a), Halbierung durch Längsteilung der Zwiebel (b) und Heraustrennung des Zwiebelherzens (c).

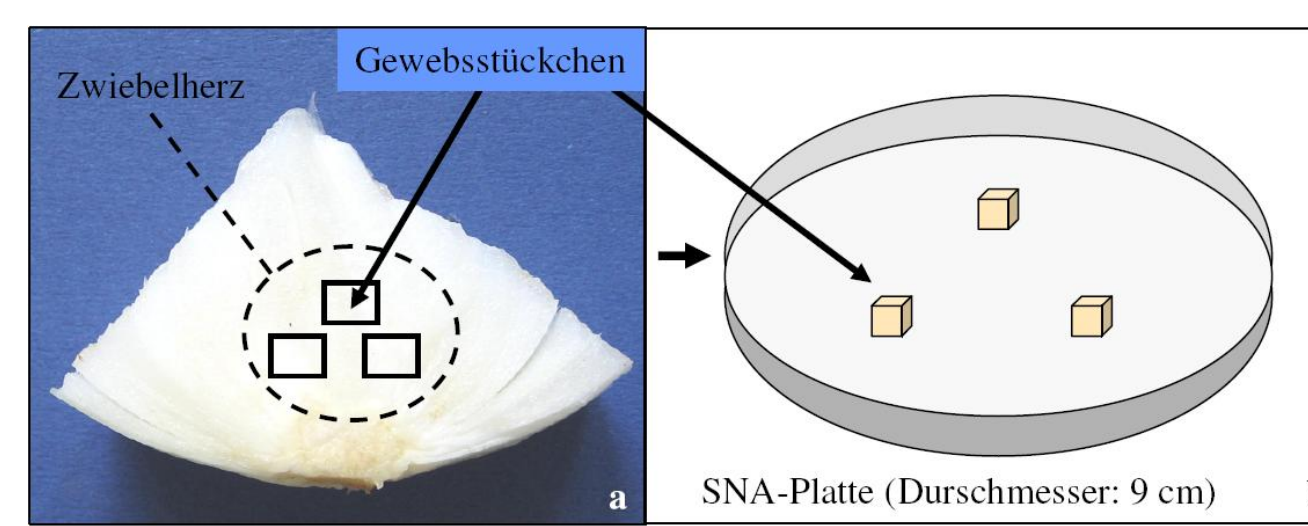


Abb. 5: Nach Oberflächendesinfektion Heraustrennung von drei kleineren Gewebestückchen aus dem Inneren des Zwiebelherzes (a) und Auslegung dieser auf SNA (b).

In weiterführenden Experimenten wurden Zwiebelhälften der Sorten 'Galatea' und 'Hykeeper' an der Basalplatte mit einer Sporensuspension von aus den Feldproben gewonnenen zwei *F. oxysporum*- und vier *F. proliferatum*-Isolaten inokuliert (Abb. 6). Die Inkubation erfolgte 14 Tage bei 15 °C und hoher Luftfeuchtigkeit. Danach wurden die Fumonisine B₁ und B₂ durch HPLC bestimmt.



Abb. 6: Feuchte Kammer mit Zwiebelhälften nach Inokulation mit einer Sporensuspension

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 Herkunftsorten aus Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg

Herk.	Sorte	Anzahl Zwiebeln [n]	Zwiebeln mit Befall von <i>Fusarium</i> spp.* [%]	Zwiebeln mit Befall von <i>Penicillium</i> 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
	'Corrado'	49	6	94	6
	Summe	300	10	97	3

*Mischinfektionen mit *Penicillium* spp. möglich

Das *Fusarium*-Spektrum setzt sich zusammen aus insgesamt 8 Arten, die in unterschiedlicher Häufigkeit vorkamen: *F. arthrosporioides*, *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. redolens*, *F. solani*, *F. sporotrichioides* und *F. tricinctum*. 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 symptomlosen Zwiebelhälften nachgewiesen werden konnten.

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 FB₁ bis zu 23 µg/kg.

Die mit einer Sporensuspension von *F. oxysporum*- und *F. proliferatum*-Isolaten inokulierten Zwiebeln der Sorten 'Galatea' und 'Hykeeper' bildeten nach einer 14-tägigen Inkubation bei 15 °C und hoher Luftfeuchtigkeit, auf den inokulierten Gewebeflächen (Zwiebelhälfte mit Basalplatte) ein Myzel aus, ohne das zunächst Symptome sichtbar waren.

Die zwei *F. oxysporum*-Isolate produzierten nur geringe Mengen an Fumonisinen (Tab. 2). Der Mittelwert unterschied sich mit 28,0 und 14,2 µg FB₁ µg/kg in 'Galatea' und 'Hykeeper' nicht signifikant von den Kontrollen (13,7 und 8,6 µg FB₁ µg/kg). Wesentlich anders war die Situation bei vier *F. proliferatum*-Isolaten (Tab. 2). In allen damit infizierten Zwiebelhälften waren signifikant höhere Konzentrationen an FB₁ und FB₂ nachweisbar, mit deutlichen Unterschieden zwischen den einzelnen Isolaten und der verwendeten Zwiebelsorte. In 'Galatea' produzierten alle *F. proliferatum*-Isolate höhere Mykotoxinkonzentrationen mit Maximalwerten von 700,6 und 79,5 µg/kg für FB₁ und FB₂ während in 'Hykeeper' nur Konzentrationen von 142,0 bzw. 19,9 µg/kg für FB₁ und FB₂ nachweisbar waren.

Tab. 2: Produktion von Fumonisin B₁ und B₂ in mit *F. oxysporum*- und *F. proliferatum*-infizierten Zwiebelhälften von 'Galatea' und 'Hykeeper'

Zwiebelprobe	'Galatea' FB ₁ [µg/kg]	'Galatea' FB ₂ [µg/kg]	'Hykeeper' FB ₁ [µg/kg]	'Hykeeper' FB ₂ [µg/kg]
UK t ₀	0	0	2,3	0,3
UK	13,7	2,9	8,6	3,5
<i>F. proliferatum</i> , Isolat 1	700,6	79,5	39,9	6,6
<i>F. proliferatum</i> , Isolat 2	400,3	45,0	50,9	7,6
<i>F. proliferatum</i> , Isolat 3	437,5	44,0	72,4	12,5
<i>F. proliferatum</i> , Isolat 4	685,6	87,0	142,0	19,9
<i>F. oxysporum</i> , Isolat 1	28,0	5,0	14,2	4,4
<i>F. oxysporum</i> , Isolat 2	7,0	23,0	9,9	2,8

Zusammenfassung

Zum Zeitpunkt der Probenahme im Juli 2008 waren ca. 10 % der untersuchten Zwiebeln (n= 300) der Sorten 'Marimba', 'Red Baron', 'Takstar', 'Centurion' und 'Corrado' von drei Herkunftsorten 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 Nachweis dieser potentiellen basalen Wurzelfäuleerreger 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 FB₁ bis zu 23 µg/kg sehr gering. Die mit zwei Isolaten von *F. oxysporum* und vier Isolaten von *F. proliferatum* ermittelten Infektionsergebnisse auf Zwiebelhälften zeigten, dass diese Pilze auf der Zwiebel zunächst sich etablieren, ohne dass sichtbare Symptome innerhalb der Untersuchungszeitraumes von 14 Tagen ausgebildet wurden. Vor allem Isolate von *F. proliferatum* waren in der Lage hohe Konzentrationen an FB₁ mit bis zu 700 µg/kg zu bilden.

Danksagung:

Finanziell gefördert und unterstützt wurden die Untersuchungen durch den Fachverband Deutsche Speisezwiebel e.V. Für die Probenahme 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 L.J., Inglis D.A., Pelter G.Q. (2003): *Fusarium proliferatum* Pathogenic on Onion Bulbs in Washington. Plant Disease 87: 2750

[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 H.U. (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