

***Fusarium* spp.- Befall an Zwiebeln (*Allium cepa* L.) und Nachweis entsprechender Fumonisin-Kontaminationen**

Occurrence of Fusarium spp. in onion bulbs (Allium cepae L.) and determination of the corresponding fumonisin contamination

MONIKA GOßMANN, UTE GÄRBER, RITA GROSCH, FRANK ELLNER, CARMEN BÜTTNER

Zusammenfassung

Untersuchungen von 300 Zwiebeln aus Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg ergaben, dass ca. 10 % mit *Fusarium* spp. latent infiziert waren. *F. oxysporum* und *F. proliferatum* waren die dominierenden *Fusarium*-Arten, die meist in Mischkontamination mit *Penicillium* spp. vorlagen. Insgesamt war die natürliche Fumonisin-Kontamination in den untersuchten Counterparts mit Gehalten an FB₁ bis zu 23 µg/kg sehr gering. Die mit Isolaten von *F. oxysporum* und *F. proliferatum* ermittelten Infektionsergebnisse auf Zwiebelhälften zeigten, dass diese Pilze auf der Zwiebel zunächst sich etablieren, ohne dass sichtbare Symptome innerhalb des Untersuchungszeitraumes von 14 Tagen ausgebildet wurden. Vor allem die Isolate von *F. proliferatum* waren in der Lage hohe Konzentrationen an FB₁ mit bis zu 700 µg/kg zu bilden.

Schlüsselwörter

Allium cepa, Wurzel- und Basaldfäule, *Fusarium* spp., Fumonisine

Summary

300 onion bulbs were collected in Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg during the growing season in 2008 and analysed for *Fusarium* contamination. 10% of the bulb halves used for *Fusarium* determination were *Fusarium* positive with *F. oxysporum* and *F. proliferatum* being the dominant species. Infestation by *Penicillium* spp. was much higher with almost 97 % positive samples.

Fumonisins could be detected in the majority of the *Fusarium* infested bulbs but in relative low concentrations with 23 µg/kg bulb tissue for FB₁ as the maximum. Two varieties of *Allium cepa* were inoculated with different isolates of *F. oxysporum* and *F. proliferatum* selected from the field samples. Onion tissue served as a very good growth substrate for the fungi tested without any visible disease symptoms within the cultivation period of two weeks. In contrast to *F. oxysporum*, isolates of *F. proliferatum* produced high amounts of Fumonisins in both onion varieties with 701 µg/kg tissue for FB₁ as the maximum.

Keywords

Allium cepa, root and basal rot, *Fusarium* spp., fumonisins

Einführung

Zwiebelbasalfäule, hauptsächlich verursacht durch *Fusarium oxysporum*, ist weltweit eine wichtige bodenbürtige Krankheit der Zwiebel [1]. Auch *F. proliferatum* 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 Zwiebeln isolierte *F. proliferatum*- Isolate in der Lage Fumonisine in Konzentrationen von 25 - 3000 µg/g Substrat zu bilden [3]. In Deutschland wurde in *F. proliferatum*- infizierten Knoblauchknollen FB₁ in Höhe von 26 - 95 ng/g nachgewiesen [4].

Zielstellung vorliegender Untersuchungen war, natürliche Infektionen mit *Fusarium* spp. bei Zwiebeln festzustellen und bei positiven Befunden die Werte der natürlichen Fumonisinkontaminationen 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.

Material und Methoden

Die Probenahme von 300 Zwiebeln der Sorten 'Marimba', 'Red Baron', 'Takstar', 'Centurion' und 'Corrado' von Herkünften aus Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg, erfolgte im Juli 2008. Für die Untersuchungen auf Pilzbefall wurden die Zwiebeln zuerst grob gereinigt, das Laub, die äußere Schale und der Wurzelbart wurden entfernt und die Zwiebeln längsgeteilt. 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, 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 (Speziellen Nährstoffarmen Agar). 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.

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

Ergebnisse und Diskussion

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).

Tabelle 1: Ergebnis der Untersuchungen der Zwiebelhälften (n= 300) dreier Herkünfte aus Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg

Herkunft	Sorte	Anzahl Zwiebeln [n]	Befallshäufigkeit [%]		
			<i>Fusarium</i> spp.*	<i>Penicillium</i> spp.	Befallsfrei
1	Marimba	51	12	94	4
	Red Baron	2	50	0	50
	Takstar	20	25	100	0
2	Marimba	100	3	99	4
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 aus insgesamt 8 Arten zusammen, 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, 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. Aber auch Zwiebelhälften, in deren Counterpart keine der nachgewiesenen *Fusarium* spp. festgestellt worden waren enthielten mitunter Fumonisine. 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 oder Basalplatte) ein Myzel aus, ohne dass zunächst Symptome sichtbar waren. Die zwei Isolate von *F. oxysporum* produzierten nur geringe Mengen an Fumonisinen (Tab. 2). Der Mittelwert unterschied sich mit 28,0 und 14,2 µg FB₁/kg in 'Galatea' und 'Hykeeper' nicht signifikant von den Kontrollen (13,7 und 8,6 µg FB₁/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.

Tabelle 2: Produktion von Fumonisin B₁ und B₂ in mit *F. oxysporum*- und *F. proliferatum*-infizierten Zwiebelhälften von 'Galatea' und 'Hykeeper' 14dpi

Zwiebelprobe	'Galatea'		'Hykeeper'	
	FB ₁ [mg/kg]	FB ₂ [µg/kg]	FB ₁ [µg/kg]	FB ₂ [µg/kg]
UK t ₀	0	0	2,3	0,3
UK	13,7	2,9	8,6	3,5
<i>F. prol.</i> , Isolat 1	700,6	79,5	39,9	6,6
<i>F. prol.</i> , Isolat 2	403,6	45,0	50,9	7,6
<i>F. prol.</i> , Isolat 3	437,5	44,0	72,4	12,5
<i>F. prol.</i> , Isolat 4	685,6	87,0	142,0	19,9
<i>F. oxy.</i> , Isolat 1	28,0	5,0	14,2	4,4
<i>F. oxy.</i> , Isolat 2	7,0	23,0	9,9	2,8

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

Autoren

Dr. MONIKA GOßMANN, Prof. Dr. CARMEN BÜTTNER, Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerischer Fakultät, Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Julius Kühn-Institut, Königin-Luise-Str. 19, D-14195 Berlin.

Dr. UTE GÄRBER, Julius Kühn- Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Stahnsdorfer Damm 81, D-14532 Kleinmachnow.

Dr. RITA GROSCH, Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren, Theodor-Echtermeyer-Weg 1, D-14979 Großbeeren.

Dr. F. M. ELLNER, Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Str. 19, D-14195 Berlin.