

Update zu Feld- und Lagerpilzflora in Heuproben aus Österreich

Update fungal flora afield resp. on storage of Austrian hay

Reinhard Resch^{1*}, Gerald Stögmüller², Andreas Adler³

Einleitung

Aktuell nehmen in Österreich ca. 7.000 Milchviehbetriebe an der ÖPUL-Maßnahme UBB-Topup „Heuwirtschaft“ (früher Silageverzicht) teil, d.h. diese LandwirtInnen haben als Grundfutterbasis ausschließlich Grünfütter bzw. Heu und Grummet zur Verfügung. Nach RESCH (2022) beträgt der Heuanteil an den gesamten Grundfutterkonserven ca. 20 %. Die traditionelle Bodentrocknung von Grünlandfütter nutzt ausschließlich die Sonnenenergie zur Futtertrocknung. Dieses Verfahren braucht die längste Feldphase für die Vortrocknung und trägt daher das größte Wetterisiko. Außerdem erhöhen Trockenmassegehalte von ca. 800 g/kg Frischmasse (FM) bei der Ernte die Wahrscheinlichkeit von Qualitätsverlusten durch Abbröckelung der Blattmasse (DULPHY 1987) und auch das Risiko einer massiven Vermehrung von verderbanzeigenden Schimmelpilzen im feuchten und warmen Substrat (KASPERSSON et al. 1984). Erhitzung von Heustock bzw. Heuballen und die Schimmelpilzvermehrung auf dem Lager stehen meist in Zusammenhang mit dem Wassergehalt des Ernteguts und einer unzureichenden Effizienz des angewendeten Trocknungsverfahrens (ADLER *et al.* 2014). Die Heubelüftungstrocknung brachte nach RESCH et al. (2014) im Durchschnitt eine tendenziell positive Wirkung hinsichtlich Senkung der Keimgehalte an verderbanzeigender Lagerpilzflora. Im bundesweiten LK-Heuprojekt 2022 wurden in Österreich von 456 Heuproben aus der Praxis das Management der Heukonservierung abgefragt sowie chemische und mikrobiologische Laboruntersuchungen durchgeführt (RESCH und STÖGMÜLLER 2023), um Beziehungen zwischen Management und qualitativen Parametern auszuwerten und die Ergebnisse jenen von RESCH et al. (2019) vergleichend gegenüberstellen zu können.

Material und Methoden

Die mikrobiologische Untersuchung der Heuproben der Feld- und Lagerpilzflora erfolgte nach Methode 28.1.2 (VDLUFA 2012a) im Futtermittellabor Rosenau der LK Niederösterreich. Bei der Probenvorbereitung wird die Heuprobe mit einer Schere zerkleinert. Mit einer gepufferten Peptonlösung werden eine Ausgangssuspension und danach eine Verdünnungsreihe hergestellt. Von geeigneten Verdünnungsstufen werden Keimzählplatten nach dem Oberflächenverfahren mit einem Nachweismedium für verschiedene Pilzspezies hergestellt. Die beimpften Keimplatten werden nach entsprechender Bebrütung auf kolonienbildende Einheiten (KBE/g FM) ausgezählt.

Die Einteilung der Pilze wurde nach Keimgruppen (KG) und die Qualitätsbewertung wurde anhand der Orientierungswerte (OW) nach VDLUFA (2012b) durchgeführt. VDLUFA-Bewertungsschema: Keimgruppe 4 (produkttypische Pilze = Feldpilze) – OW < 200.000 KBE/g FM; Keimgruppe 5 (verderbanzeigende Pilze = Lagerpilze) – OW < 100.000 KBE/g FM; Keimgruppe 6 (verderbanzeigende (Lager-)Pilze der Ordnung Mucorales) – OW < 5.000 KBE/g FM. Werden OW's in KG 5 bzw. 6 um mehr als das 10-fache überschritten, gelten Heuproben für Wiederkäuer als verdorben und dürfen laut Futtermittelrecht (VO (EG) 183/2005) nicht in Verkehr gebracht werden. Für empfindlichere Nutztierkategorien (Pferde, Kälber, Kleinwiederkäuer etc.) gelten strengere Kriterien.

Faktoreinflüsse auf die Keimzahlen an Feld- und Lagerpilzen in Heuproben wurden auf zwei Arten ermittelt. Einerseits wurden Keimzahlen der KG 4 bis 6 nach deren Häufigkeit im Zusammenhang mit VDLUFA-OW und Umwelt- bzw. Managementfaktoren dargestellt, um mögliche Tendenzen herauszuarbeiten. Andererseits sollten diese Tendenzen mit Hilfe einer mehrfaktoriellen Auswertung (GLM – General linear Model) überprüft werden. Der Eisengehalt wurde als Faktor für Erdverschmutzung herangezogen.

Ergebnisse und Diskussion

In den Heuproben aus 2018 konnten 16 und von den Proben aus 2022 konnten 13 verschiedene Vertreter der Feld- und Lagerpilze bestimmt werden. Gereiht nach der Häufigkeit des Vorkommens (erste Nennung als häufigste) und Zuordnung zur jeweiligen Keimgruppe: Feldpilze der Keimgruppe 4 (verschiedene Coleomyceten, Dematiaceae wie *Cladosporium* sp. und *Alternaria* sp., sowie *Fusarium* sp., *Aureobasidium* sp. und *Acremonium* sp.), Lagerpilze der Keimgruppe 5 (*Aspergillus glaucus*, *Wallemia sebi*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Aspergillus ochraceus* und *Aspergillus flavus*) sowie Lagerpilze / Mucorales der Keimgruppe 6 (*Mucor* sp. und *Rhizopus* sp.). Die Reihenfolge der Häufigkeiten aus 2018 konnte im Projektjahr 2022 bestätigt werden (RESCH und STÖGMÜLLER 2023). Außerdem konnte die Aussage in punkto mikrobieller Artenvielfalt gefestigt werden, dass bei zwei Drittel der untersuchten Proben meist nur vier Pilzgattungen auftraten. Die maximale Anzahl von Pilzen in einer Probe betrug acht verschiedene Spezies. In 80 % der Heuproben war eine Feldpilzart (KG 4) der dominierende Pilz. In 20 % der Heuproben konnte ein Vertreter der verderbanzeigenden Lagerpilze (KG 5) die Flora dominieren. *Mucorales* (KG 6) kamen nur in einem Fall als dominante Art zur Geltung. Das könnte nicht zuletzt daran liegen, dass diese Pilze auf dem Nährmedium unterrepräsentiert anwachsen und die festzustellenden Keimgehalte wesentlich geringer liegen als bei anderen Pilzen. Der Orientierungswert für *Mucorales* liegt deswegen bei 5.000 KBE/g FM, um diesem Umstand Rechnung zu tragen.

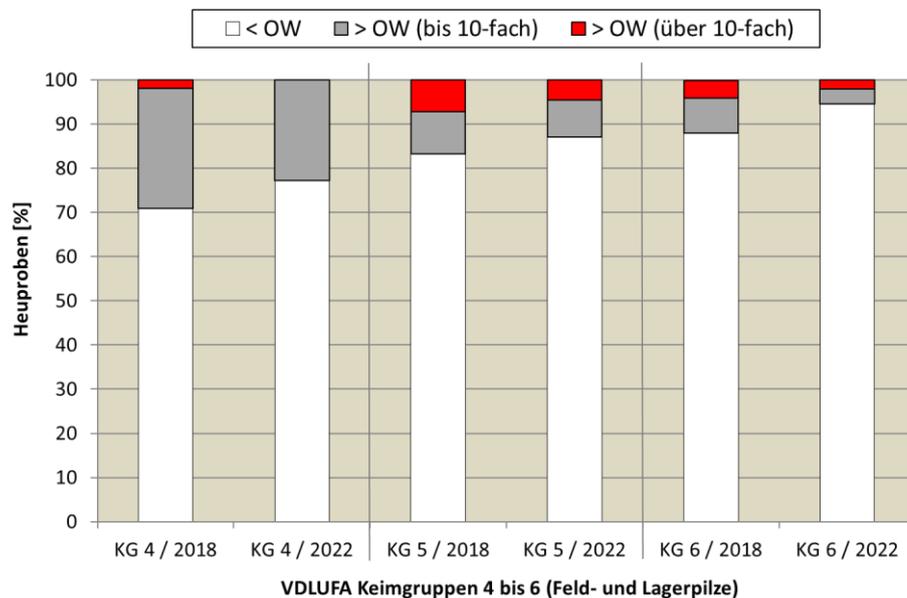


Abbildung 14: Anteile der Heuproben in den VDLUFA-Keimgruppen 4 bis 6 und in den VDLUFA-Keimzahlstufen I bis IV in Abhängigkeit vom Projektjahr 2018 bzw. 2022

In Abhängigkeit der Keimgruppen 4 bis 6 und der Keimzahlstufen (KZS) I bis IV nach VDLUFA (2012b), zeigte sich im Jahr 2022 ein ähnliches Bild wie 2018, allerdings auf einem etwas geringeren mittleren Keimzahlniveau (Abbildung 1). Der überwiegende Anteil der Heuproben wies Keimgehalte unterhalb der OW auf, daher fielen diese Parteien in KZS I und wurden hinsichtlich Pilzkeimzahlen als 1. Qualität klassifiziert. Das gilt insbesondere für die Lagerflora, wo mehr als 80 % in KG 5 und noch mehr in KG 6 als einwandfrei galten. Der Anteil an verkehrsfähigen Heuproben (bis 10-fache Überschreitung des VDLUFA-OW) lag bei 91 % (2018) bzw. bei 94 % (2022). Bei einer Dominanz von Spezies der KG 4 traten Lagerpilze nur unwesentlich in Erscheinung. Andererseits reduzierten sich die Keimzahlen der Feldflora tendenziell stark, wenn sich die Pilze der KG 5 aufgrund von günstigen Bedingungen (Feuchte, Temperatur und Sauerstoffgehalt) stark vermehrten.

Die mehrfaktorielle Auswertung der Daten aus 2022 mittels GLM bestätigte teilweise signifikante Wirkungen von Einflussfaktoren auf die logarithmierten Keimzahlen der Keimgruppen 4 bis 6 aus dem Projektjahr 2018 (Tabelle 1 vs. 2). Beispielsweise hatte der Aufwuchs in beiden Jahren einen hoch signifikanten Effekt auf KG 4 und KG 5, ebenso die Seehöhe auf KG 4. Die Ergebnisse zeigen, dass der erste Aufwuchs eine Tendenz zu höheren Keimzahlen bei Lagerpilzen der KG 5 hatte, bei gleichzeitig

geringerer Feldflora. Die Ursachen für vermehrte Lagerverpilzung im 1. Aufwuchs können aus den erhobenen Daten nicht eindeutig geklärt werden. Mögliche Erklärungen dafür könnten das Wetter (Temperatur, Luftfeuchte), Erntemassen und Lagerungsdichte bzw. Trocknerkapazitäten liefern.

Auf größerer Seehöhe nahm die Feldflora tendenziell zu. Der Eisengehalt als Indikator für die erdige Futtermittelverschmutzung hatte für KG 4 und 6 im Jahr 2022 nur einen tendenziell erhöhenden Effekt, während dieser im Jahr 2018 für KG 5 und 6 hoch signifikant war. Die Heubelüftungstrocknung zeigte ähnlich wie 2018, auch im Jahr 2022 keine signifikante Wirkung auf die Keimgruppen zum Zeitpunkt der Probenahme. Bei der zusammenfassenden GLM-Analyse der gesamten Daten aus 2018 und 2022 war, mit Ausnahme von KG 6, kein signifikanter Jahreseinfluss gegeben.

Tabelle 1: Effekte von Umwelt- und Managementfaktoren auf Feld- und Lagerpilzflora von Heuproben (LK-Heuprojekt 2018, n = 469)

Faktor	Keimzahl	Statistik	Seehöhe	Zellwände (NDF)	Rohprotein (XP)	Eisen (Fe)	Aufwuchs			Trocknungsverfahren		
Einheit	KBE ^{log} /g FM		m über N.N.	g/kg TM	g/kg TM	mg/kg TM	1.	2.	3. +	Bodentrocknung	Kaltbelüftung	Warmbelüftung
Mittelwerte			834	489	135	564	P-Werte			P-Werte		
KG 4	4,95	P-Werte	< 0,01	0,11	< 0,01	0,18	< 0,01			0,19		
KG 5	2,70		0,20	0,89	0,59	< 0,01	< 0,01			0,38		
KG 6	1,36		0,05	0,65	0,62	0,02	0,24			0,03		
		Erhöhung um:	100 m	10 g	10 g	1.000 mg	KBE ^{log} /g FM			KBE ^{log} /g FM		
KG 4		Regressionskoeffizienten	0,074	-0,021	-0,099	0,133	4,3	5,1	5,5	5,1	4,8	4,9
KG 5			0,047	0,004	0,027	0,708	3,4	2,5	2,2	2,9	2,6	2,5
KG 6			0,045	-0,007	0,015	0,284	1,5	1,3	1,3	1,0	1,5	1,5

P-Werte bei 95 % Konfidenzniveau: < 0,01 = hoch signifikant, < 0,05 signifikant

Tabelle 2: Effekte von Umwelt- und Managementfaktoren auf Feld- und Lagerpilzflora von Heuproben (LK-Heuprojekt 2022, n = 337)

Faktor	Keimzahl	Statistik	Seehöhe	Zellwände (NDF)	Rohprotein (XP)	Eisen (Fe)	Aufwuchs			Trocknungsverfahren		
Einheit	KBE ^{log} /g FM		m über N.N.	g/kg TM	g/kg TM	mg/kg TM	1.	2.	3. +	Bodentrocknung	Kaltbelüftung	Warmbelüftung
Mittelwerte			768	472	135	542	P-Werte			P-Werte		
KG 4	4,77	P-Werte	0,02	0,22	0,94	0,06	< 0,01			0,66		
KG 5	2,75		< 0,01	0,02	0,61	0,92	0,02			0,24		
KG 6	1,20		0,25	0,17	0,12	0,10	0,29			0,77		
		Erhöhung um:	100 m	10 g	10 g	1.000 mg	KBE ^{log} /g FM			KBE ^{log} /g FM		
KG 4		Regressionskoeffizienten	0,054	0,021	-0,002	0,161	4,1	4,8	5,4	4,9	4,7	4,8
KG 5			0,145	0,071	0,030	-0,017	3,2	2,5	2,6	3,1	2,4	2,7
KG 6			0,021	0,019	0,040	0,117	1,3	1,2	1,1	1,3	1,2	1,2

P-Werte bei 95 % Konfidenzniveau: < 0,01 = hoch signifikant, < 0,05 signifikant

Erfahrungsberichten aus der Praxis zufolge sind kompakte, verdichtete Stellen im Heustock/Heuballen bzw. in der Trocknungsbox häufig Auslöser für Temperaturerhöhungen mit anschließender Schimmelpilzvermehrung im Heu, beginnend kurz nach der Einlagerung. Das bestätigt auch die Arbeit von STRAUSS und SCHOCH (2003). Besonders dramatisch sind Situationen, wenn der Heustock mit zu hoher Restfeuchte „zusammensitzt“, d.h. die ursprüngliche Füllhöhe deutlich verringert wird. Prinzipiell könnte sich der Effekt einer höheren Lagerungsdichte auch bei Heupressballen ähnlich kritisch auswirken. Im Managementfragebogen wurde die Pressdichte bei den Heuballenbetrieben erhoben: 1 = locker gepresst, 2 = mittelfest, 3 = fest. Von Kategorie 3, fest gepresst, lagen zu wenig Daten für eine statistische Auswertung vor, daher wurde in der Auswertung nur zwischen locker und mittelfest gepresst verglichen und die Ergebnisse dem losen Heu gegenübergestellt (Abbildung 1).

Anhand der Häufigkeiten der Heuproben für die Keimgruppe 5, der verderbanzeigenden Schimmelpilze in den VDLUFA-Keimzahlstufen (KZS I = weiß, II und III = grau, IV = rot), können tendenzielle Effekte herausgelesen werden. Es stellte sich heraus, dass eine mittelfeste Pressung bei Ballen zu deutlich mehr Fällen mit erhöhten Keimzahlen führte als bei lockerer Pressung. Der zusätzliche Effekt der Heubelüftungstrocknung mit angewärmter Luft brachte jeweils eine deutlich sichtbare Reduktion des Anteils an OW-Überschreitungen. Interessant war der Umstand, dass mittelfest gepresste Heuballen trotz Warmbelüftung noch immer einen relativ hohen Anteil in KZS IV aufwiesen. So gesehen tragen mittelfest gepresste Heuballen trotz Belüftung ein höheres Risiko am Lager zu verpilzen/verderben. Der Vergleich zwischen Pressballen und losem Heu zeigt, dass die Häufigkeiten bei der Bodentrocknung ähnlich sind. Das härtet den Verdacht, dass loses bodengetrocknetes Heu am Heustock auch eine gewisse Lagerungsdichte durch Sitzung aufweist, die wahrscheinlich ähnlich hoch war als jene von mittelfest gepressten Ballen (Abbildung 2). Die Empfehlung Heuballen locker zu pressen stellte sich nach Auswertung der Keimgehalte als völlig richtig heraus, weil hier die Zahl an Proben mit überhöhten Keimgehalten im Rahmen blieb und die Heubelüftungstrocknung auch sehr gut im Hinblick auf die Futterhygiene funktionierte.

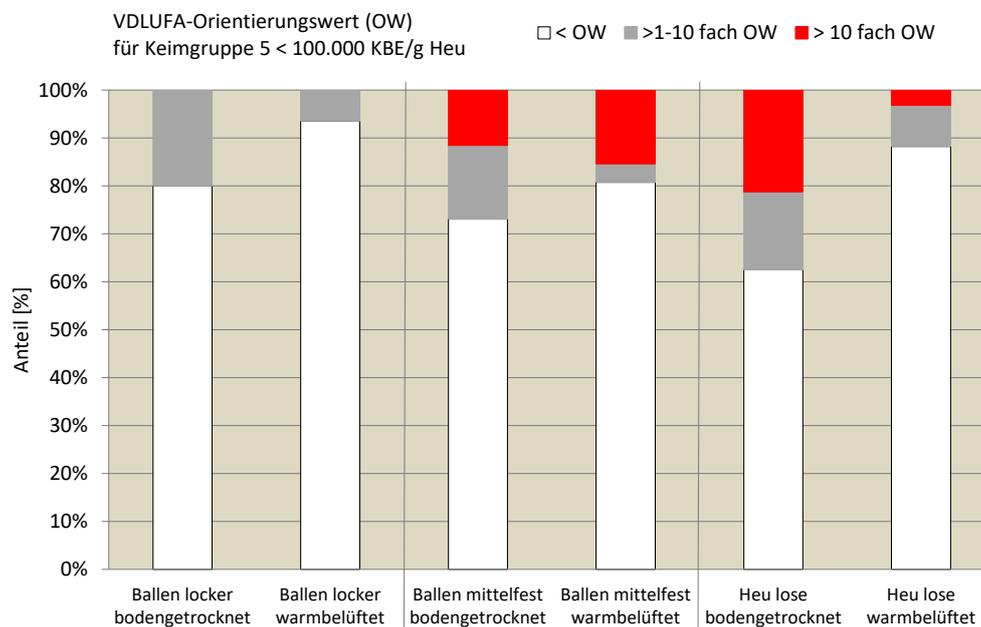


Abbildung 15: Auswirkung von Pressdichte und Trocknungsverfahren auf die Lagerverpilzung (VDLUFA-Keimgruppe 5) von Pressballen im Vergleich zum losen Heu (Anzahl Heuproben: Ballen locker = 28, Ballen mittelfest = 48, Heu lose = 639)

Zusammenfassung

Eine breit angelegte mikrobiologische Untersuchung des Feld- und Lagerpilzbefalls von 1.056 Heuproben aus der österreichischen Praxis über die LK-Heuprojekte 2018 und 2022 zeigte, dass in den meisten Proben Pilze der Feldflora, primär Hyphomyceten (*Coleomyceten*, *Cladosporien*, *Fusarien*, *Aureobasidium*) dominierten. In 20 % der Heuproben dominierten verderbanzeigende Lagerpilze (insbesondere *Aspergillus glaucus*, *Walleimia sebi*). Das Auftreten der grundsätzlich unerwünschten Lagerpilze (VDLUFA-Keimgruppe 5 bzw. 6) war tendenziell stärker zu beobachten: im 1. Aufwuchs, bei höheren NDF-Gehalten und bei Bodentrocknung ohne Belüftung, sowie infolge Erdverschmutzung und bei stärkerer Verdichtung. Nach Heubelüftungstrocknung wurde tendenziell eine geringere Häufigkeit von Überschreitungen der VDLUFA-Orientierungswerte bei Lagerpilzen festgestellt, wenn der Wassergehalt im Heu in weniger als etwa 72 Stunden unter 14 % Wasser gebracht werden konnte und der Heustock weniger als 6 Meter hoch war bzw. die Ballen locker gepresst wurden.

Abstract

A microbiological investigation of fungal flora afield and on storage was carried out on 1,056 hay samples from Austrian farms over the LK hay projects 2018 and 2022. We observed that fungi of the field

flora (Hyphomycetes like *Cladosporium*, *Fusarium* and *Aureobasidium* species as well as *Coleomyces*) dominated in most hay samples. Spoilage storage fungi (especially *Aspergillus glaucus*, *Wallemia sebi*) dominated in 20% of hay samples. Undesirable storage fungi with representatives of VDLUFA germ groups 5 or 6 tended to be more prevalent: in the 1st growth, at higher NDF contents, ground drying without ventilation, as well as due to soil contamination and stronger compaction. Ventilation drying tended to reduce the frequency of exceedances of VDLUFA orientation values for storage fungi when the water content in the hay could be brought below 14% water in less than about 72 hours and the haystack was less 6 meters high or round bales were pressed with lower compaction.

Literatur

- ADLER A, KIROJE P, REITER EV, RESCH R (2014): Einfluss unterschiedlicher Trocknungsverfahren auf die Futterhygiene von Raufutter. 19. Alpenländisches Expertenforum zum Thema "Futterkonservierung - Aktuelle Entwicklungen in der Silage- und Heuproduktion", Gumpenstein, HBLFA Raumberg-Gumpenstein, April 3, 2014, 57-69.
- DULPHY JP (1987): Fenaison: pertes en cours de recolte et de conservation. 16. Journées du Grenier de Theix. Les fourrages secs: recolte, traitement, utilisation, Ceyrat (France), Institut National de la Recherche Agronomique, May 21-23, 1985, 103-124.
- KASPERSSON A, HLÖDVERSSON R, PALMGREN U, LINDGREN S (1984): Microbial and biochemical changes occurring during deterioration of hay and preservative effect of urea. Swedish Journal of Agricultural Research 14, 127-132.
- RESCH R (2022): Grundfutterbilanz Österreich für das Wirtschaftsjahr 2021/2022. Zusammenstellung von Flächen-, Ertrags- und Qualitätsdaten zur Grundfuttersituation 2021 für die Statistik Austria, HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Irnding-Donnersbachtal.
- RESCH R, ADLER A, PÖTSCH EM (2014): Impact of different drying techniques on hay quality. 16th International Symposium Forage Conservation, Brno, Mendel University Brno, June 3-6, 2014, 27-38.
- RESCH R, STÖGMÜLLER G, ADLER A (2019): Feld- und Lagerpilzflora in Heuproben aus Österreich, ALVA-Jahrestagung 2019 zum Thema "Weinbau und Klima", Arbeitsgemeinschaft für Lebensmittel-, Veterinär- und Agrarwesen (ALVA), HBLAuBA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg, 147-149.
- RESCH R, STÖGMÜLLER G (2023): LK-Grundfutterprojekte als Basis für die Qualitätsentwicklung von Gärfutter und Heu in Österreich. 50. Viehwirtschaftliche Fachtagung, HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Irnding-Donnersbachtal, 29. und 30. März 2023, 123-155.
- STRAUSS G, SCHOCH M (2003): Veränderung der mikrobiologischen Heu- und Strohqualität in Rheinland-Pfalz. Kurzfassungen der Referate, 115. VDLUFA-Kongress, Saarbrücken, 152-153.
- VDLUFA (2012a): Methode 28.1.2 Futtermitteluntersuchung - Bestimmung der Keimgehalte an aeroben, mesophilen Bakterien, Schimmel- und Schwärzepilzen und Hefen. Methodenbuch III, 8. Ergänzung 2012, *VDLUFA-Verlag*, Darmstadt.
- VDLUFA (2012b): Methode 28.1.4 Futtermitteluntersuchung - Verfahrensanweisung zur mikrobiologischen Qualitätsbeurteilung: Methodenbuch III, 8. Ergänzung 2012, *VDLUFA-Verlag*, Darmstadt.
- VO (EG) 183/2005: VERORDNUNG (EG) Nr. 183/2005 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 12. Januar 2005 mit Vorschriften für die Futtermittelhygiene, 33 S.

Adressen der Autoren

¹ HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Institut Pflanzenbau und Kulturlandschaft, Raumberg 38, A-8952 Irnding-Donnersbachtal

² Landwirtschaftskammer Niederösterreich, Futtermittellabor Rosenau, A-3100 St. Pölten

³ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Institut für Tierernährung und Futtermittel, Wieningerstraße 8, A-4020 Linz

*Ansprechpartner: Ing. Reinhard RESCH, reinhard.resch@raumberg-gumpenstein.at