

***Wallemia sebi* – ein wichtiger Verderbsanzeiger in Heu**

***Wallemia sebi* – an important spoilage indicator in hay**

Andreas Adler^{1*}, Peter Kiroje¹, Ulrike Hofer¹, Reinhard Resch² und Irmengard Strnad¹

Einleitung

Die Pilzgattung *Wallemia* der Ordnung Wallemiales (Wallemiomycotina, Basidiomycota) umfasst einige der am stärksten xerotoleranten und osmophilen Arten weltweit. *Wallemia sebi* (Fr.) von Arx ist die wohl am intensivsten untersuchte Art der Gattung und als Spezies auch anerkannt (ZAJC, 2018). Vor dieser Klassifizierung wurde für diese Pilzart eine große Anzahl von Synonymen verwendet, wie etwa *Sporendonema epizoum* Corda oder *Sporendonema sebi* Fr. Erst 1970, als von Arx *Sporendonema* mit *Wallemia* synonymisierte, wurde *W. sebi* mit *S. sebi* kombiniert (ZALAR, 2005). Die Fähigkeit, auch unter Umweltbedingungen mit äußerst geringer Wasseraktivität zu gedeihen, wurde bisher hauptsächlich bei Ascomycota gefunden, selten jedoch bei Basidiomycota. Als eine Grundlage der morphologischen und physiologischen Anpassung von *W. sebi* an verschiedene Umweltbedingungen und zum Überleben auch bei geringster Wasseraktivität wurden eine Reihe osmotischer Stressproteine identifiziert. Zudem wurden mehrere Genfamilienexpansionen und eine große Anzahl von Transportern nachgewiesen, die Hinweise auf die Fähigkeit von *W. sebi* liefern, raue Umgebungen zu besiedeln (PADAMSEE, 2012)

Als wichtige makro- und mikromorphologische Kennzeichen für *W. sebi* gelten: Kolonie dunkelbraun bis orange; Konidiophoren schlank, unverzweigt, am fertilen Ende Konidien in Tetraden abschnürend (ähnlich Arthronidien); aus zerfallenden Tetraden hervorgehende Einzelkonidien zunächst viereckig, später rundlich, glatt oder fein rauwandig (REISS, 1986; SAMSON, 2010). Als ein extrem xerotoleranter Pilz ist *W. sebi* weltweit verbreitet und stellt sehr geringe Ansprüche an die Wasseraktivität in seinem Lebensraum. Der Pilz wird als häufiger Kontaminant und Verderberregger namentlich bei Lebens- und Futtermitteln mit hohem osmotischen Druck beschrieben (ZALAR, 2005; DOMSCH, 1980).

Sporen von Lagerpilzen sind in geringer Zahl ubiquitär in Futtermitteln vorhanden. Ob und welche Lagerpilzflora sich dann entwickelt, hängt primär vom Feuchtigkeitsgehalt des Materials im Zusammenspiel mit anderen Faktoren, wie etwa der Temperatur oder im Falle von Heu einer Belüftungstrocknung ab (REISS, 1986; ADLER, 2014; RESCH, 2019). Eine Vermehrung dieser unerwünschten Keime über einen bestimmten Toleranzbereich hinaus birgt das Risiko der Bildung von Stoffwechselprodukten, die für Tiere unverträglich sind und zu Leistungsminderung führen können, und bedeutet für ein Futtermittel aber jedenfalls auch Verlust an wichtigen Inhalts- und Wirkstoffen (REISS, 1986).

Im vorliegenden Beitrag soll der Frage nach Vorkommen und Häufigkeit von *W. sebi* in Handels- und in verschiedenen trockenen wirtschaftseigenen Futtermitteln (vorwiegend Heu) nachgegangen werden.

Material und Methoden

Für den Beitrag wurden Proben aus der amtlichen Futtermittelkontrolle (Berichtsjahre 2016 bis 2018) ausgewertet. Im Rahmen der Kontrolle werden verschiedenste Futtermittel gemäß einem risikobasierten Kontrollplan nicht zuletzt auch hinsichtlich ihrer mikrobiologischen Qualität analysiert. Zur Qualitätsbeurteilung wird die Keimzahl an aeroben, mesophilen Bakterien, Hefen Schimmel- und Schwärzepilzen entsprechend VDLUFA-Methode 28.1.2 (VDLUFA-Methode 28.1.2, 2012) bestimmt. Die Identifizierung wichtiger Indikatorkeime – einschließlich *W. sebi* – wird nach VDLUFA-Methode 28.1.3 (VDLUFA-Methode 28.1.3, 2012) vorgenommen.

Ergebnisse und Diskussion

Bei verderbanzeigenden Pilzen zeigt die Überschreitung bestimmter Keimzahlen eine Vermehrung in einem nicht gewünschten Umfang an und damit Verderbvorgänge, die unter guten Produktions- und Lagerbedingungen verhindert werden (können) sollten. Liegen in einem Futtermittel die festgestellten Keimgehalte aller Keimgruppen (KG) im Rahmen der Orientierungswerte (VDLUFA-Methode 28.1.4, 2012), ist aus einer gegebenen Keimbelastung keine unmittelbare mikrobiologisch bedingte Qualitätsminderung erkennbar. Der Bereich oberhalb eines Zehnfachen der Orientierungswerte (OW) kann dabei

allerdings als jene Schnittstelle interpretiert werden, ab der die Normalität bezogen auf eine einzelne Keimgruppe signifikant verlassen wird.

Als häufigste Lagerpilze (KG 5) wurden in den verschiedenen Futtermittelproben Gattungen wie *Aspergillus* und *Wallemia* nachgewiesen. Im Berichtszeitraum wurden 311 Heuproben analysiert. In 46 der untersuchten Heuproben wurden mehr als 1 Mio. KBE Lagerpilze je Gramm Frischmasse festgestellt, entsprechend einer mehr als 10fachen Überschreitung des Orientierungswertes für verderbanzeigende Pilze. In 13 Fällen wurden Aspergillen und in 33 Fällen wurde *W. sebi* als dominierende Pilzart identifiziert (vergl. Tabelle 1). Der große Anteil an Heuproben mit überhöhten Keimgehalten könnte auf den Umstand zurückzuführen sein, dass im Rahmen der amtlichen Kontrolle auch Verdachtsproben zur Analyse übermittelt wurden. Dabei ist allerdings selbst ein starker Besatz von Heu mit *W. sebi* makroskopisch kaum wahrzunehmen.

Tabelle 1: Inzidenz von *W. sebi* in verschiedenen Futtermitteln aus der amtlichen Kontrolle 2016 bis 2018, dazu die Anzahl an Überschreitungen des Orientierungswertes für verderbanzeigende Pilze bezogen auf die jeweilige Futtermittelkategorie samt ermittelten Keimgehalten an *W. sebi*

Futtermittel 2016 bis 2018	Proben (n)	Inzidenz <i>W. sebi</i>	%	Überschreitung OW mehr als 10fach	%	KBE/g von	KBE/g bis
Soja (Schrote, Mehle)	64	22	34,4	6	27,3	0,4 Mio.	9,1 Mio.
Heu, Grummet	311	85	27,3	33	38,8	1,1 Mio.	160 Mio.
Luzerne inkl. -pellets	12	3	25,0	0	0,0		
Raps/Sonne/Lein/etc.	53	4	7,5	0	0,0		
Mischfutter diverse	556	26	4,7	1	3,8	0,5 Mio.	
Getreide/Mais/Kleie	387	10	2,6	0	0,0		

Wallemia wurde, wie in Tabelle 1 gezeigt, vor allem in Heu- und Sojaproben identifiziert. Der Pilz wurde dabei wiederholt mit Keimzahlen nachgewiesen, welche den Orientierungswert für Verderbanzeigende Pilze bezogen auf die betreffende Futtermittelkategorie um mehr als das 10fache überschritten. Bei Proben von Raps-, Sonnenblumen- oder Leinsamen-Schroten oder -Kuchen wurde *W. sebi* – anders als bei Sojaprodukten – mit auffallend geringerer Häufigkeit festgestellt. In getrockneten Luzerneproben war *W. sebi* mit ähnlicher Häufigkeit wie in Heuproben zu identifizieren. Allerdings wurden vor allem Luzerne-Grünmehl und -Pellets untersucht und die ermittelten Keimzahlen lagen für diese Produkte daher nicht unerwartet unter jenen von Heu. Bei Heu waren primär Proben vom ersten und zweiten Schnitt von hohen Keimgehalten betroffen. Bei keiner Heuprobe waren spezifische Trocknungsverfahren deklariert.

In einem Vergleich von verschiedenen Heutrocknungsverfahren (ADLER, 2014) wurde gezeigt, dass *Wallemia* sp. in relativ höheren Keimzahlen vor allem in Heuchargen aus Bodentrocknung ohne Heubelüftungstrocknung auftrat. In kalt belüftetem Heu war dieser Pilz von geringerer Bedeutung, in der Heuvariante mit Entfeuchertrocknung wurde *Wallemia* sp. ebenfalls nicht in relevanten Keimzahlen nachgewiesen. Vertreter der *Aspergillus glaucus*-Gruppe waren in dieser Studie die frühesten Indikatoren für einen beginnenden Verderbsprozess. Als wichtigste Ursache für den mikrobiellen Verderb von Heu wurde ein zu hoher Wassergehalt des Erntegutes in Kombination mit unzureichender Wasserabfuhr am Lager festgestellt [7]. In einer anderen Studie wurden in Heu höhere Keimgehalten an Lagerpilzen, insbesondere

A. glaucus und *W. sebi*, in Zusammenhang mit Futter vom ersten Aufwuchs, bei Bodentrocknung und bei Futtermittelverschmutzung mit Erde, beobachtet. Bezüglich Lagerung bestanden positive Korrelationen zu einer längeren effektiven Belüftungsdauer und einer größeren Schütthöhe am Heustock (VDLUFAMethode 28.1.2, 2012).

Zusammenfassung

W. sebi ist ein weltweit verbreiteter xerotoleranter Pilz und ein häufiger Kontaminant und Verderberreger bei Lebens- und Futtermitteln mit hohem osmotischen Druck. Im Rahmen der vorliegenden Studie erfolgte eine Auswertung der Inzidenz von *W. sebi* in Proben aus der amtlichen Futtermittelkontrolle (2016 bis 2018). *W. sebi* wurde dabei neben Heu vor allem in Sojaproben (Schrote und Presskuchen) identifiziert. Bei Proben von Raps-, Sonnenblumen- oder Leinsamen-Schroten oder -Kuchen wurde *W. sebi* dagegen mit auffallend geringerer Häufigkeit festgestellt.

Bei Heu waren überhöhte Keimgehalte von *Wallemia* sp. primär in Zusammenhang mit Futter vom ersten und zweiten Aufwuchs und bei Bodentrocknung festgestellt. Als wichtigste Ursache für den mikrobiellen Verderb von Heu gilt ein zu hoher Wassergehalt des Erntegutes in Kombination mit unzureichender Wasserabfuhr am Lager.

Abstract

W. sebi is a xerotolerant fungus and a common contaminant of food and feed with high osmotic pressure. In the present study, the incidence of *W. sebi* was evaluated in samples from the official feed control (2016 to 2018). In addition to hay, *W. sebi* was identified mainly in soy samples (meal and press cake). In samples of rapeseed-, sunflower- or linseed-meal or -cake *W. sebi* was found in a remarkably lower frequency.

In hay, excessive counts of *Wallemia* sp. primarily were detected in connection with feed from the first and second growth and in ground dried hay. The most important cause of microbial spoilage of hay is high moisture content of forage at beginning of storage in combination with inadequate water removal during storage.

Literatur

ZAJC J, GUNDE-CIMERMAN N, 2018: The Genus *Wallemia* - From Contamination of Food to Health Threat. *Microorg.* 2018, 6(2), 46; <https://doi.org/10.3390/microorganisms6020046>.

ZALAR P, SYBREN DE HOOG G, SCHROERS HJ, FRANK JM, GUNDE-CIMERMAN N, 2005: Taxonomy and phylogeny of the xerophilic genus *Wallemia* (Wallemiomycetes and Wallemiales, cl. et ord. nov.). *Antonie van Leeuwenhoek.* 87 (4): 311–28. doi:10.1007/s10482-004-6783-x. PMID.

PADAMSEE M et mult., 2012: The genome of the xerotolerant mold *Wallemia sebi* reveals adaptations to osmotic stress and suggests cryptic sexual reproduction. *Fungal Genet Biol.* 49 (3): 217–226. doi:10.1016/j.fgb.2012.01.007. PMID 22326418.

REISS J, 1986: *Schimmelpilze - Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung.* Springer-Verl.; Berlin.

SAMSON RA, HOUBRAKEN J, THRANE U, FRISVAD LC, ANDERSEN B, 2010: *Food and indoor fungi.* Utrecht, The Netherlands. 390 p. (CBS Laboratory Manual Series; No. 2).

DOMSCH KH, GAMS W, ANDERSEN T-H, 1980: *Compendium of soil fungi* (2nd ed.). London, UK: Academic Press. ISBN 9780122204029.

ADLER A, KIROJE P, REITER EV, RESCH R, 2014: Einfluss unterschiedlicher Trocknungs-verfahren 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.

RESCH R, STÖGMÜLLER G, ADLER A, 2019: Feld- und Lagerpilzflora in Heuproben aus Österreich. In: Bericht ALVA-Jahrestagung 2019, 27.-28. Mai, Klosterneuburg, Arbeits-gemeinschaft für Lebensmittel-, Veterinär- und Agrarwesen, Wien, in Druck.

VDLUFA-Methode 28.1.2: Futtermitteluntersuchung - Bestimmung der Keimgehalte an aeroben, mesophilen Bakterien, Schimmel- und Schwärzepilzen und Hefen. VDLUFA-Verlag, Darmstadt. Methodenbuch III, 8. Erg. 2012.

VDLUFA-Methode 28.1.3: Futtermitteluntersuchung - Verfahrensanweisung zur Identifizierung von Bakterien, Hefen, Schimmel- und Schwärzepilzen als produkttypische oder Verderb-anzeigende Indikatorkeime. VDLUFA-Verlag, Darmstadt. Methodenbuch III, 8. Erg. 2012.

VDLUFA-Methode 28.1.4: Futtermitteluntersuchung - Verfahrensanweisung zur mikrobiolog. Qualitätsbeurteilung. VDLUFA-Verlag, Darmstadt. Methodenbuch III, 8. Erg. 2012.

Adressen der Autoren

¹ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Institut für Tierernährung und Futtermittel, Wieningerstraße 8, A-4020 Linz

² HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Institut für Pflanzenbau und Kulturlandschaft, Raumberg 38, A-8952 Irdning-Donnersbachtal

* Ansprechpartner: Dr. Andreas ADLER, andreas.adler@ages.at