

Über das Vorkommen von *Aspergillus*-Arten auf Weinbeeren

von

F. RADLER und W. THEIS

Obwohl die Bildung von Toxinen durch Pilze lange bekannt ist, löste die verheerende Wirkung von pilzinfiziertem Geflügelfutter eingehende Untersuchungen der als Mycotoxine bezeichneten Stoffgruppe aus. Hier sei nur auf wenige zusammenfassende Arbeiten hingewiesen (BORKER *et al.* 1966; WOGAN und MATELES 1968; REISS 1968 a, b). Sehr wichtige Mycotoxine sind die Aflatoxine, die im wesentlichen von *Aspergillus flavus*-Stämmen gebildet werden. Infolge der Giftigkeit dieser Stoffgruppe ist deren Gehalt in Nahrungs- und Futtermitteln intensiv untersucht worden. Auf Grund dünn-schichtchromatographischer Analysen haben SCHULLER *et al.* (1967) auf die Möglichkeit des Vorkommens geringer Mengen von Aflatoxin in Wein hingewiesen. FRANK und EYRICH (1968) haben in Wein kein Aflatoxin nachweisen können, aber bei der dünn-schichtchromatographischen Untersuchung wurden fluoreszierende Flecken beobachtet, die durch Aflatoxin vortäuschende Substanzen verursacht werden.

Da Aflatoxin fast ausschließlich durch Befall der Trauben mit Aflatoxin bildenden *Aspergillus flavus*-Stämmen in den Wein gelangen könnte (eine Entwicklung von Pilzen in Kellereigeräten ist normalerweise auszuschließen), sollte das Vorkommen von *Aspergillus*-Arten auf Weinbeeren in einem deutschen Weinbaug Gebiet untersucht werden. Durch die Bestimmung der sich auf Trauben entwickelnden *Aspergillus*-Arten sollten Vorstellungen über die Möglichkeit der Kontamination von Wein mit Aflatoxin gewonnen werden.

Material und Methoden

Während der Traubenlese konnten Trauben mehrerer Rebsorten von den Anlagen des Staatsweingutes Bad Kreuznach und der Staatlichen Weinbaudomäne Mainz gesammelt werden. Für die Überlassung der Proben sei verbindlichst gedankt.

Isolierung und Identifizierung der Pilze

Die Traubenbeeren, die Pilzbefall (außer Grauschimmel, *Botrytis cinerea*) erkennen ließen, wurden in sterile Petrischalen gelegt. Nach ein bis mehreren Tagen wurden Teile des Pilzbewuchses zur Gewinnung von Reinkulturen auf Malzextrakt-agar ausgestrichen und bei Zimmertemperatur inkubiert. Zur Bestimmung der Pilze wurde auf Czapek-Dox-Agar kultiviert. Verwendete Literatur: GILMAN (1945), RAPER und FENNEL (1965), RAPER und THOM (1959).

Nährmedien

a) Malzextraktagar: Biomalz 4,0%, Hefeextrakt 0,2%, Agar 2%, pH 4,5. b) Czapek-Dox-Agar.

Ergebnisse und Diskussion

Von insgesamt 215 Proben von Trauben der Rebsorten Silvaner, Riesling, Traminer und einigen anderen Sorten aus vier Weinbaugemeinden wurden hyphenbildende Pilze isoliert (Tab. 1). Es wurden nur Traubenbeeren gesammelt, die von Pilzen befallen (schimmelig) waren; Trauben, die einen offensichtlichen Bewuchs von *Botrytis cinerea* zeigten, wurden nicht berücksichtigt.

Wegen der geringen Anzahl der Proben, die in verschiedenen Orten gesammelt wurden, sind in Tab. 2 die isolierten Pilze nur unter Angabe der Rebsorte zusammenfassend dargestellt. In allen Fällen überwiegen Vertreter der Gattung *Penicillium*. Die 133 isolierten Stämme dieser Gattung wurden nicht genau untersucht; wahrscheinlich gehören sie mehr als zehn verschiedenen Spezies an. Etwa $\frac{1}{7}$ der weiteren Isolate ist der Gattung *Trichothecium* zuzuordnen, sehr wahrscheinlich *Trichothecium roseum*. Unter den 45 nicht in der Tabelle aufgeführten Isolaten befand sich eine größere Anzahl von Stämmen von *Botrytis cinerea*.

Tabelle 1

Herkunft und Sortenverteilung der Traubenproben, von denen Pilz-Stämme isoliert wurden

Ort	Bad Kreuznach	Bingen-Büdesheim	Nackenheim	Oppenheim
Lesetermin	3. 10. 68	15. 10. 68	14. 10. 68	9. 10. 68
Anzahl der Traubenproben				
insgesamt	40	70	60	45
davon Silvaner	2	50	40	36
Riesling	6	20	20	5
Traminer	12			4
sonstige	20			

Nur elf der von Trauben isolierten Pilze gehören zur Gattung *Aspergillus*. Unter den zehn Stämmen der Spezies *A. fumigatus* Fresenius zeigten drei Stämme durch Variation in der Aromabildung und Farbbildung (Stämme Nr. 490, 547 b) sowie infolge von Anomalien im Wachstum auf Malzagar (Stamm Nr. 486) Abweichungen von typischen Vertretern der Spezies. Die Gattung *Aspergillus* ist auf Trauben offensichtlich nur spärlich vertreten.

Die geringe Häufigkeit von *Aspergillus*-Arten im Vergleich zu *Penicillium*-Arten ist nicht überraschend. *Penicillium*-Arten sollen häufiger in kühlen Klimaten vorkommen als in warmen, während *Aspergillus*-Arten als „wärmeliebend“ gelten. Die wichtigste Aflatoxin bildende Art *A. flavus* wäre mit der angewandten Kulturtechnik mit großer Wahrscheinlichkeit gefunden worden, zumal Vergleichsstämme auf den verwendeten Medien ein gutes Wachstum zeigten. Obwohl *A. flavus* bei der Untersuchung der Traubenfäule in Californien nicht erwähnt wird (HEWITT *et al.* 1962), vermag diese Art auf Trauben zu wachsen (NELSON und OUGH 1966).

Tabelle 2

Die Häufigkeit der Isolierung verschiedener Pilz-Stämme von Trauben verschiedener Rebsorten

Rebsorte	Silvaner	Riesling	Traminer	sonstige	insges.
Anzahl der Traubenproben	128	51	16	20	215
Anzahl der isolierten Pilzstämme					
<i>Penicillium spec.</i>	84	30	10	9	133
<i>Trichothecium cf. roseum</i>	18	7	3	5	33
<i>Aspergillus fumigatus</i>	6	1	0	3	10
<i>A. amstelodami</i>	0	0	0	1	1

Unsere Untersuchungen, die allerdings nur in einem Jahr durchgeführt wurden, ergeben keine Anzeichen für das Vorkommen von *A. flavus* auf pilzbefallenen Trauben. Mit einer Aflatoxinausscheidung in den Traubenmost ist daher normalerweise unter entsprechenden ökologischen Bedingungen nicht zu rechnen. Dennoch sollten pilzbefallene Trauben, sofern es sich bei dem Pilz nicht eindeutig um den Grauschimmel (*Botrytis cinerea*) handelt, keinesfalls zur Weinbereitung verwendet werden. Wenn auch die vorliegenden Untersuchungen keinen Hinweis auf *Aspergillus flavus* geben, so muß angenommen werden, daß von anderen *Aspergillus*-Arten toxische Stoffe produziert werden können. Toxinbildner sind auch unter *A. fumigatus*-Stämmen gefunden worden, worauf von REISS (1968 a) hingewiesen wird. Selbst *Botrytis cinerea* vermag stoffwechselaktive Substanzen zu bilden (FLESCH, persönliche Mitteilung). Während ein Grauschimmelbefall als Edelfäule der Trauben zu einer Qualitätssteigerung des Traubenmostes führen kann, müssen Trauben, die von anderen Pilzen befallen sind, unbedingt als verdorben angesehen werden. Dies ist unerläßlich, nicht nur wegen der Möglichkeit der Bildung von toxischen Stoffen durch den Pilz, sondern weil Schimmelpilze häufig unangenehme und schwer zu beseitigende Geschmacksveränderungen im Wein bewirken können.

Zusammenfassung

Aus 215 von Schimmelpilzen sichtbar befallenen Traubenproben wurden 222 Pilzstämme isoliert. Mit 133 Stämmen überwogen die Vertreter der Gattung *Penicillium*, die wahrscheinlich zu mehr als zehn verschiedenen Arten gehörten. Nur elf Stämme konnten der Gattung *Aspergillus* zugeordnet werden, davon zehn zur Spezies *A. fumigatus* und ein Stamm zu *A. amstelodami*. Obwohl die Untersuchungen keinen Hinweis auf das Vorkommen der Aflatoxin bildenden Art *A. flavus* geben, wird vor der Verwendung von pilzbefallenen Trauben zur Weinbereitung gewarnt, sofern es sich nicht um den Erreger der Edelfäule der Trauben *Botrytis cinerea* handelt.

Herrn Dr. F. SENSER, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, München, sind wir für die Überprüfung der elf *Aspergillus*-Stämme zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

- BORKER, E., INSALATA, N. F., LEVI, C. P. and WITZEMAN, J. S., 1966: Mycotoxins in feeds and foods. Adv. Appl. Microbiol. 8, 315—346.
- FRANK, H. K. und EYRICH, W., 1968: Über den Nachweis von Aflatoxinen und das Vorkommen Aflatoxin-vortäuschender Substanzen in Lebensmitteln. Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch. 138, 1—11.

- GILMAN, J. C., 1945: A manual of soil fungi. Ames, Iowa.
- HEWITT, W. B., GOODING, G. V., CHIARAPPA, L. and BUTLER, E. E., 1962: Etiology of summer bunch rot of grapes in California. *Phytopathology* 52, 13.
- NELSON, K. E. and OUGH, C. S., 1966: Chemical and sensory effects of microorganisms on grape must and wine. *Amer. J. Enol. Viticult.* 17, 38—47.
- RAPER, K. B. and FENNEL, D. I., 1965: The genus *Aspergillus*. Baltimore.
- — and THOM, C., 1959: A manual of the *Penicillia*. Baltimore
- REISS, J., 1968 a: Mycotoxine. Mycotoxine von *Aspergillus*-Arten. *Z. Allgem. Mikrobiol.* 8, 303—330.
- — , 1968 b: Mycotoxine. Mycotoxine von *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Stachybotrys atra*, *Pithomyces chartarum* und anderen Pilzen. *Z. Allgem. Mikrobiol.* 8, 459—474.
- SCHULLER, P. L., OCKHUIZEN, TH., WERRINGLOER, J. und MARQUARDT, P., 1967: Aflatoxin B₁ und Histamin in Wein. *Arzneim.-Forsch.* 17, 888—890.
- WOGAN, G. N. and MATELES, R. J., 1968: Mycotoxins. *Progr. Industr. Microbiol.* 7, 149—175.

Eingegangen am 7. 1. 1972

Prof. Dr. F. RADLER
Inst. f. Mikrobiologie und
Weinforschung
Johannes Gutenberg-Univ.
65 Mainz