

Thomas Nothnagel¹, Reiner Krämer¹, Lutz Schreyer^{1,3}, Frank Rabenstein²

Untersuchungen zum Auftreten von Braunverfärbungen bei Spargel (*Asparagus officinalis* L.) unter besonderer Berücksichtigung des Befalls mit *Fusarium* spp. und Viren in Spargelanlagen Sachsen-Anhalts

Investigation of brown asparagus spears with specific consideration of *Fusarium* and virus infections in asparagus plantations of Saxony-Anhalt

Zusammenfassung

Im Spargelanbau wird zunehmend von Braunverfärbungen berichtet, deren Ursache bisher nicht vollständig geklärt ist. Dagegen ist eine allgemein starke Belastung von Spargelanlagen mit *Fusarium* spp. und verschiedenen Viren, insbesondere dem *Asparagus virus* 1 (AV-1) bekannt. Ziel der Studie war es, aktuelle Informationen zum Auftreten von Braunverfärbungen sowie zur Befallssituation mit *Fusarium* spp. und Viren in kommerziell genutzten Spargelanlagen Sachsen-Anhalts zu erhalten. Insgesamt wurden 429 Spargelstangen aus 14 verschiedenen Betrieben, 27 Anlagen und 7 Sorten untersucht. 60,4% der Stangen zeigten Symptome von Braunverfärbung, bei 28,4% der Proben konnte nach In-vitro-Inkubation *Fusarium* spp. nachgewiesen werden. ELISA-Untersuchungen zeigten in 92,8% der Stangen AV-1, in 31,9% das *Asparagus virus* 2 (AV-2) und in 84,6% der Proben das *Cucumber mosaic virus* (CMV). Das *Arabidopsis mosaic virus* (ArMV) war lediglich in 3,5% der Proben nachweisbar, während das *Tobacco streak virus* (TSV) in keiner Probe gefunden wurde. Lediglich 2 Proben (0,5%) waren virusfrei. Befallsunterschiede waren zwischen den Spargelanlagen feststellbar, nicht aber zwischen den Sorten. Mögliche Zusammenhänge zwischen den verschiedenen untersuchten Krankheiten werden diskutiert.

Stichwörter: *Asparagus officinalis* L., *Fusarium* spp., Viren, AV-1, AV-2, CMV, ArMV, TSV, ELISA

Abstract

Asparagus producers report about increasing asparagus browning of spears in the field. The reason is unknown. Contrary, a general strong infestation of asparagus with *Fusarium* spp. and viruses, especially the *Asparagus virus* 1 (AV-1) is known. The recent study was carried out to investigate the status quo of asparagus browning, infestation with *Fusarium* spp. and viruses within asparagus plantation in Saxony-Anhalt.

A total of 429 spears obtained from 14 companies, 27 plantations and 7 asparagus cultivars were investigated. 60.4% of spears have been shown symptoms of browning and 28.4% *Fusarium* spp. after in vitro incubation. In 92.8% of spears AV-1 was observed via ELISA, in 31.9% the *Asparagus virus* 2 (AV-2) and in 84.6% the *Cucumber mosaic virus* CMV. The *Arabidopsis mosaic virus* (ArMV) was detected in 3.5% of spears only, the *Tobacco streak virus* (TSV) in none of spears. Merely 2 spears (0.5%) were free of virus. Differences in the level of infestation were observed between the plantations but not between culti-

Institut

Julius Kühn-Institut, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und Obst, Quedlinburg¹
 Julius Kühn-Institut, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Quedlinburg²
 Landesanstalt für Landwirtschaft Forsten und Gartenbau, Quedlinburg-Ditfurt³

Kontaktanschrift

Dr. Thomas Nothnagel, Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen und Obst, Quedlinburg, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, E-Mail: thomas.nothnagel@jki.bund.de; Dr. Frank Rabenstein, Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin Baur Str. 27, 06484 Quedlinburg

Zur Veröffentlichung angenommen

31. Mai 2012

vars. Possible relations between the different diseases investigated are discussed.

Key words: *Asparagus officinalis*, *Fusarium* spp., Virus diseases, AV-1, AV-2, CMV, ArMV, TSV, ELISA

Einleitung

In den letzten Jahren wurde verstärkt aus der Praxis von Braunverfärbungen („Berostung“) der Spargelstangen schon direkt bei der Ernte oder nach kurzer Lagerung berichtet. In Wissenschaft und Praxis werden mögliche Ursachen sehr kontrovers diskutiert. Neben biotischen Stressfaktoren wie Pilzinfektionen, favorisiert werden vor allem *Fusarium* spp., sind auch abiotische Stressfaktoren wie Ernteverletzungen, Bodenbedingungen, Wasser- und Nährstoffversorgung im Fokus der Forschung. Mögliche Zusammenhänge werden auch in der heute üblichen Folienabdeckung der Anlagen zur Ernteverfrühung und Temperaturregulierung im Damm gesehen. Aktuelle wissenschaftliche Untersuchungen an der Universität Hannover konnten neben *Fusarium* spp. auch *Phialocephala* sp. als mögliche Ursache aufzeigen (GRUNEWALDT-STÖCKER et al., 2011).

Fusarium spp. werden weltweit als komplexe Haupterreger der Wurzel- und Stängelfäule des Spargels verantwortlich gemacht, die wiederum als Hauptursache für wirtschaftlich bedeutende Abbauerscheinungen (*‘asparagus decline’*) in Spargelanlagen angesehen werden. Darüber hinaus sind *Fusarium* spp. für die Bildung von Mykotoxinen verantwortlich (KOCH et al., 2010a; WEBER et al., 2006, 2007; GOSSMANN et al., 2008). Mögliche Ertragsausfälle durch *Fusarium* spp. werden auf 50% und mehr geschätzt (WOLTERS DORFF, 1990; ELMER et al., 1996). Als dominanter Erreger wird *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) emend. SNYDER et HANSEN f. sp. *asparagi* angesehen, aber auch *F. moliforme* (Sheld.) emend. SNYDER et HANSEN, *F. proliferatum* (Matsushima) NIRENBERG, *F. culmorum* (W.G. Smith) Sacc., *F. solani* (Mart.) Sacc. u.a. wurden als pathogene Erreger auch in Koexistenz nachgewiesen (WOLTERS DORFF, 1990; SADOWSKI und KNAFLEWSKI, 1990; JOHNSTON et al., 1979; HARTUNG et al., 1990; GOSSMANN et al., 2001, 2011). *Fusarium*-resistente Sorten stehen trotz intensiver Forschung bisher nicht zur Verfügung, jedoch sind Sortenunterschiede und mehr oder weniger gut ausgeprägte Toleranzen beschrieben worden (STEPHENS et al., 1989; SONODA et al., 2002; FALAVIGNA et al., 2008; ELLISON et al., 1990; RAMEAU und BOTA, 1990; SADOWSKI und KNAFLEWSKI, 1990; PERKO et al., 1996).

Aus umfangreichen Untersuchungen ist bekannt, dass Spargel von mindestens 10 Virusarten befallen werden kann, wobei vor allem das *Asparagus virus 1* (AV-1), *Asparagus virus 2* (AV-2) und das *Cucumber mosaic virus* (CMV) dominieren (HEIN, 1960, 1963, 1969; WEISSENFELS, 1972, 1976a; FUJISAWA et al., 1983; FALLOON et al., 1986; BERTACCINI et al., 1990; KEGLER et al., 1991; EVANS et al., 1990; FIEDOROW, 2000; BANDTE et al., 2008; KNAFLEWSKI et al., 2008). Für Deutschland kann nach einigen Studien

von einem flächendeckenden Befall (70–100%) mit AV-1 ausgegangen werden, belastbare Daten zum Befall mit anderen Viren sind allerdings nur sehr wenig vorhanden (KEGLER und GOTTWALD, 1996; GRUBITS et al., 2007; BANDTE et al., 2008). Aussagen zum ökonomischen Schaden von Viruskrankheiten im Spargel sind schwierig, da nur selten sichere Symptome erkennbar sind und keine Vergleichsdaten aus gesichert virusfreien Beständen vorliegen. Aus den bisher verfügbaren Studien sind Ertragsdepressionen zwischen 20–70% bekannt geworden (HEIN, 1963; WEISSENFELS und SCHMELZER, 1976a; YANG, 1979; KEGLER et al., 1991; DE VRIES-PATERSON et al., 1992; JASPERS et al., 1999; FIEDOROW et al., 2001). Darüber hinaus deuten einige Untersuchungen darauf hin, dass multipler Virusbefall Ertragsdepressionen und das bereits genannte *‘asparagus decline’* verstärkt (EVANS und STEPHENS, 1984, 1989; JASPERS et al., 1999).

Ebenfalls kontrovers diskutiert werden kausale Zusammenhänge von *Fusarium*- und Virusinfektionen. Während GREINER (1980) experimentell keine Korrelation zwischen einem Virus (AV-1) und einem *Fusarium*-Befall feststellte, konnten EVANS und STEPHENS (1984, 1989) bei AV-1 und AV-2 sowie PAWLOWSKI et al. (2004) bei AV-2 interaktive Reaktionen von getesteten Spargelsämlingen beobachten, die auf eine Förderung des *Fusarium*-Befalls durch Präinokulation mit AV-1 und/oder AV-2 schließen lassen.

Ziel der vorliegenden Studie war es, aktuelle Daten zum Auftreten von Braunverfärbungen sowie zur Befallsituation mit *Fusarium* spp. und Viren in kommerziell genutzten Spargelanlagen Sachsen-Anhalts zu erhalten.

Material und Methoden

2009 und 2010 wurden durch 14 Spargelbaubetriebe in Sachsen-Anhalt Spargelproben für Untersuchungen zur Verfügung gestellt. Für die Probenahme wurden eine entsprechende Anleitung und ein begleitender Fragebogen an die Spargelbetriebe verschickt. Die Spargelproben wurden von Mitarbeitern der beteiligten Betriebe direkt auf dem Acker entnommen und in PE-Folienbeutel verpackt auf –20°C tiefgefroren. Die anonymisierten Herkunftsstandorte sind in Abb. 1 dargestellt, Sortenzusammensetzung sowie Materialumfang in Tab. 1.

Nachweis Braunverfärbung der Stangen

Die aufgetauten Spargelproben wurden zunächst visuell auf äußere Krankheitssymptome und Beschädigungen bonitiert. Die Braunverfärbung der Stangen wurde nach folgendem Boniturschema erfasst: BV1 – 0% Symptome, keine Verfärbung erkennbar; BV3 – minimale gelbliche oder bräunliche Verfärbungen an den Stangen (1–5% der Stangenoberfläche); BV5 – 6–20% der Oberfläche mit deutlichen Verbräunungen an der Stangenbasis, partiell längliche eingezogene und braun gefärbte Läsionen; BV7 – 21–50% der Stangenoberfläche deutlich braun verfärbt, teilweise bis in tiefere Gewebeschichten, Stangen sind nicht mehr vermarktungsfähig; BV9 – über 50% der

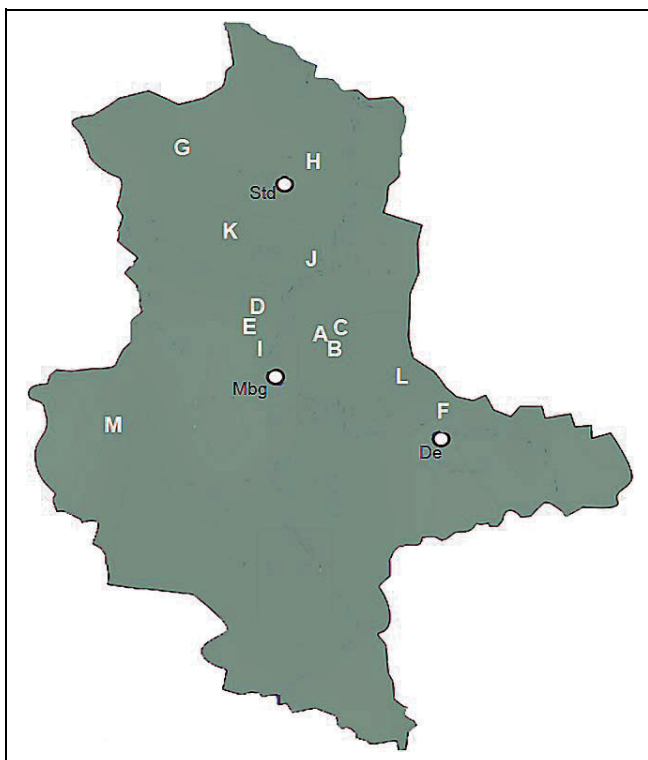


Abb. 1. Standortverteilung der 14 untersuchten Spargelbaubetriebe in Sachsen-Anhalt.



Abb. 2. Boniturschema zur Evaluierung der Braunverfärbung bei Spargel (*Asparagus officinalis* L.). BV1 – keine Verfärbungen; BV3 – minimale Verfärbungen (1–5%); BV5 – deutliche Verbräunungen an der Stangenbasis (6–20%); BV7 – Stangen deutlich braun verfärbt teilw. bis in tiefere Schichten (21–50%); BV9 – über 50% der Stange ist braun gefärbt, gelb-braune bis schwarze Läsionen oder Faulstellen.

Stange ist braun-gefärbt oder hat gelb-braune bis schwarze Läsionen oder Faulstellen (Abb. 2).

Untersuchung auf Befall mit *Fusarium*

Für den Nachweis von *Fusarium* spp. im Stangengewebe wurde jeweils 10 cm unterhalb der Sprossspitze eine 10 mm dicke Gewebescheibe mit einem Skalpell abgeschnitten und 20 Sek. mit 3% Natriumhypochloritlösung oberflächensterilisiert. Die Gewebestücke wurden anschließend in Aqua dest. gespült, in Petrischalen auf Potato Dextrose Agar (PDA, Sigma-Aldrich, Germany) platziert und bei 22°C im Brutschrank inkubiert. Nach 24 h und

48 h Inkubationszeit wurden die Proben mittels Stereomikroskop SV 6 sowie Mikroskop Imager A1 (Zeiss, Germany) ausgewertet.

Für weiterführende histologische Untersuchungen, wurde stichprobenartig von Spargelstangen eine 5 mm dicke Gewebescheibe mittels Histofix (Roth, Germany) fixiert, über eine aufsteigende Ethanolreihe entwässert und anschließend in Historesin (Leica, Germany) nach Vorschrift des Herstellers eingebettet. Mittels Rotationsmikrotom RM 2155 (Leica, Germany) wurden 5 µm Semidünnschnitte hergestellt und mit 0,1% Toluidinblaulösung gefärbt. Die mikroskopische Auswertung erfolgte

Tab. 1. Materialübersicht- Sorten, Züchter und Herkunftsverteilung

Sorte	Züchter	Anzahl Stangen	Betriebe	Anlagen
Backlim	Limseeds, NL	15	1	1
Eposs	Südwestdeutsche Saatzucht, D	25	2	3
Gijnlim	Limseeds, NL	155	5	10
Grolim	Limseeds, NL	30	2	2
Ramada	Südwestdeutsche Saatzucht, D	54	2	2
Rapsody	Südwestdeutsche Saatzucht, D	45	2	3
Ravel	Südwestdeutsche Saatzucht, D	70	4	4
Thielim	Limseeds, NL	35	2	2
		429		

mit einem Nikon90i Mikroskop (Nikon, Germany) im Hellfeld.

Virusnachweis mittels ELISA

Von dem aufgetauten Probenmaterial wurden jeweils die oberen 10 cm jeder Spargelstange längs aufgeschnitten und mittels Homex (BIOREBA, Schweiz) Presssaft für den Virusnachweis gewonnen. Der Nachweis von AV-1, CMV, ArMV und TSV erfolgte mittels DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-Enzym Linked Immuno Sorbent Assay) in Anlehnung an CLARK und ADAMS (1977). Die verwendeten polyklonalen Antikörper stammten aus der Serumbank des Julius Kühn-Instituts (JKI) bzw. für das TSV von BIOREBA (Schweiz). Für den Nachweis von AV-2 wurde ein ACP-ELISA-Protokoll (Antigen-Coated Plate-ELISA) von Agdia genutzt (Linaris, Germany). In den Immunoassays zum Nachweis des AV-2 wurden Nunc PolySorp™- und für den Nachweis der anderen Viren Nunc MaxiSorp™-Testplatten (Fisher Scientific, Germany) eingesetzt. Die relative Viruskonzentration in den Proben wurde

durch photometrische Messung der Extinktion im Mikroplate-Reader (DYNEX Technologies MRX II) bei 405 nm ermittelt.

Datenanalyse und statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurde aus den Bonitur- und Messdaten (ELISA) eine 0/1 [nicht befallen/befallen] Matrix erstellt. Die Boniturdaten der Braunverfärbung wurden dabei zusammengefasst: BV1 = 0, BV3-BV9 = 1 (im weiteren Text 'BV'). Deskriptive Statistik und Grafikdesign wurden mit Microsoft-Excel® ausgeführt, Statistische Vergleiche der erfassten Befallsanteile über die Standorte und Sorten wurden mittels Kontingenztafel nach PEARSON mit dem Programm SYSTAT 13® (Chicago, IL: Systat Software, Inc., 2009) durchgeführt. Die Wahrscheinlichkeit P für Annahme von H_0 (Einzelstichproben unterscheiden sich nicht), ist in den Tab. 3, 4 und 5 angegeben. Korrelationen zwischen den untersuchten Pathogenen wurden mittels Kendall's Tau-b-Test im Programm SYSTAT13 untersucht.

Tab. 2. Ergebnisse der visuellen Erfassung von Braunverfärbung im Vergleich mit den Untersuchungen zum Befall mit *Fusarium*

Boniturklasse	N	%	Fus+	Fus-	Fus+ %
BV1	170	39,6	19	151	11,2
BV3	125	29,1	29	96	23,2
BV5	107	24,9	53	54	49,5
BV7	26	6,1	20	6	76,9
BV9	1	0,2	1	0	100,0
Σ	429		122	307	

(Fus+, *Fusarium* nachgewiesen; Fus-, kein Nachweis)

Tab. 3. Prozentualer Anteil von Stangen mit Braunverfärbung, *Fusarium* und Viren in Bezug zum Probestandort

Standort	n	BV %	Fus %	AV-1%	AV-2%	CMV %	ArMV %
A	40	65,0	7,5	100,0	80,0	92,5	0,0
B	15	53,3	6,7	100,0	33,3	80,0	0,0
C	20	95,0	85,0	100,0	45,0	85,0	35,0
D	30	60,0	76,7	100,0	40,0	96,7	0,0
E	55	49,1	30,9	94,5	25,5	90,9	0,0
F	35	94,3	57,1	97,1	31,4	97,1	20,0
G	70	41,4	21,4	88,6	35,7	65,7	0,0
H	30	40,0	6,7	80,0	23,3	80,0	0,0
I	15	100,0	20,0	93,3	33,3	86,7	0,0
J	20	65,0	10,0	95,0	0,0	100,0	5,0
K	10	0,0	60,0	100,0	80,0	10,0	0,0
L	15	73,3	33,3	100,0	13,3	40,0	0,0
M	35	37,1	0,0	74,3	0,0	100,0	0,0
N	39	89,7	20,5	94,9	17,9	100,0	0,0
Pearson (P)		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tab. 4. Prozentualer Anteil von Stangen mit Braunverfärbung, Fusarium und Viren in Bezug auf die Sorte

Sorte	n	BV %	Fus %	AV-1%	AV-2%	CMV %	ArMV %
Backlim	15	53,3	6,7	100,0	33,3	80,0	0,0
Eposs	25	60,0	36,0	96,0	52,0	56,0	0,0
Gijnlim	155	52,3	36,8	90,3	35,5	80,0	3,9
Grolim	30	73,3	26,7	100,0	63,3	86,7	23,3
Ramada	54	85,2	24,1	96,3	16,7	83,3	0,0
Rapsody	45	51,1	8,9	91,1	17,8	88,9	0,0
Ravel	70	54,3	27,1	88,6	35,7	97,1	0,0
Thielim	35	74,3	22,9	97,1	8,6	97,1	5,7
∑	429	60,4	28,4	92,8	31,9	84,6	3,5
Pearson (P)		0,000	0,109	0,351	0,000	0,000	n.v.

n.v. – nicht verrechnet aufgrund zu geringer Stichproben

Tab. 5. Prozentualer Anteil an Spargelproben mit Verbräunungen, Fusarium spp. und Viren bei der Sorte 'Gijnlim' aus 5 Spargelbaubetrieben und 10 verschiedenen Anlagen

Standort*	n	BV %	Fus %	AV-1%	AV-2%	CMV %	ArMV %
C	10	100,0	100,0	100,0	80,0	100,0	0,0
D	15	66,7	93,3	100,0	46,7	93,3	0,0
E	20	50,0	50,0	100,0	30,0	100,0	0,0
F	10	100,0	60,0	90,0	20,0	100,0	60,0
G1	20	45,0	0,0	90,0	0,0	15,0	0,0
G2	30	43,3	43,3	83,3	36,7	96,7	0,0
G3	10	40,0	10,0	90,0	80,0	40,0	0,0
G4	10	30,0	10,0	100,0	60,0	100,0	0,0
H1	10	10,0	0,0	100,0	70,0	50,0	0,0
H2	20	55,0	10,0	70,0	0,0	95,0	0,0
Pearson (P)		0,000	0,000	0,006	0,000	0,000	n.v.

* Nummern markieren verschiedene Anlagen eines Betriebes; n.v. – nicht verrechnet aufgrund zu geringer Stichproben

Ergebnisse

Von den 429 untersuchten Spargelproben zeigten 259 (60,4%) Symptome von Braunverfärbung, wobei 125 Stangen mit BV3, 107 Stangen mit BV5 und 26 Stangen mit BV7 eingestuft wurden. Lediglich eine Stange wurde mit BV9 klassifiziert (Tab. 1). Die histologischen Untersuchungen zeigten im Bereich der Braunverfärbungen eine zersetzte Epidermisschicht und deformiertes sub-epidermales Zellgewebe (Abb. 4).

Nach In-vitro-Inkubation wurden in 122 (28,4%) Stangen Mikro- und Makrokonidien von *Fusarium* spp. beobachtet. Der prozentuale Anteil von Stangen mit *Fusarium*-Nachweis nahm mit zunehmender Bonitur-

klasse für Verbräunung zu (Tab. 2). In histologischen Untersuchungen konnten entsprechende Pilzhyphen im sub-epidermalen Spargelgewebe nachgewiesen werden, teilweise auch im Leitgewebe (Abb. 5–7).

In den ELISA-Untersuchungen wurde in 398 (92,8%) Stangen AV-1, in 137 (31,9%) Stangen AV-2 und in 363 (84,6%) Stangen CMV nachgewiesen. ArMV war nur in 15 Proben (3,5%) nachweisbar, das TSV konnte bei keiner Probe ermittelt werden. In lediglich 2 Proben ließ sich kein Virus nachweisen (Abb. 3).

Bezugsbasis Probenherkunft

Bezogen auf die Probenherkunft war der Anteil von Stangen mit Braunverfärbung und/oder *Fusarium* spp. signi-

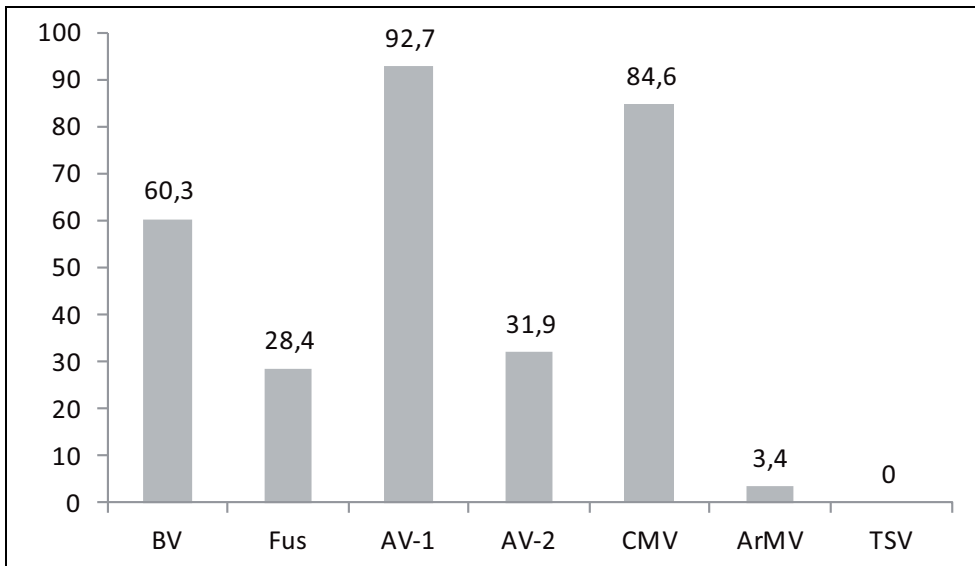


Abb. 3. Prozentualer Anteil der Spargelproben mit Braunverfärbung, *Fusarium* spp. und Viren (n = 429 Stangen).

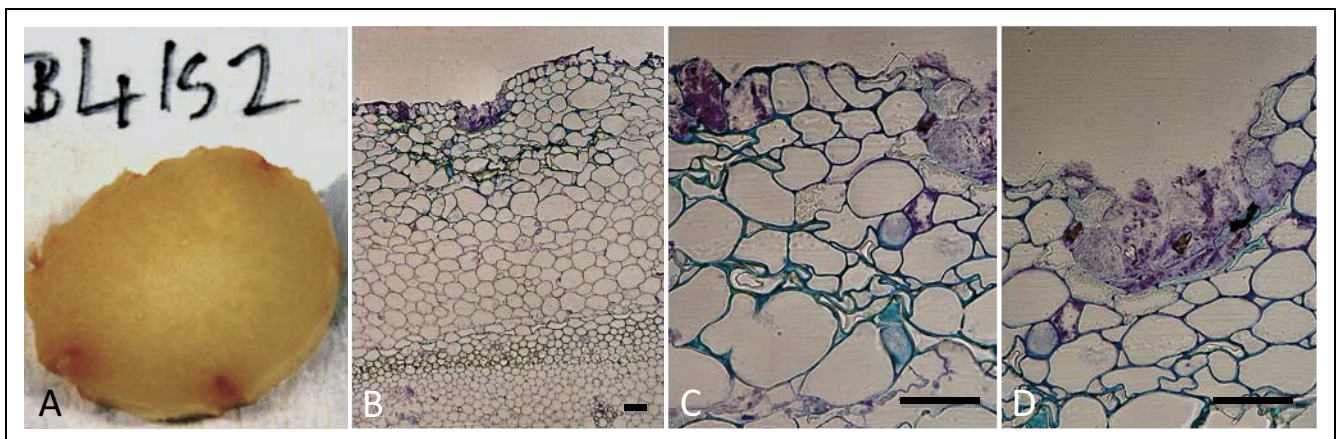


Abb. 4. A-Spargelscheibe mit Braunverfärbung; B-D – Histologischer Querschnitt durch Spargelgewebe mit Symptomen der Braunverfärbung; B- Querschnitt von Epidermis bis zum Leitbündelgewebe; C + D – Nekrotische Stellen im Epidermisbereich und deformierte Zellen im sub-epidermalen Stangengewebe mit *Fusarium*-Hyphen durchsetzt. (Balken = 100 µm).

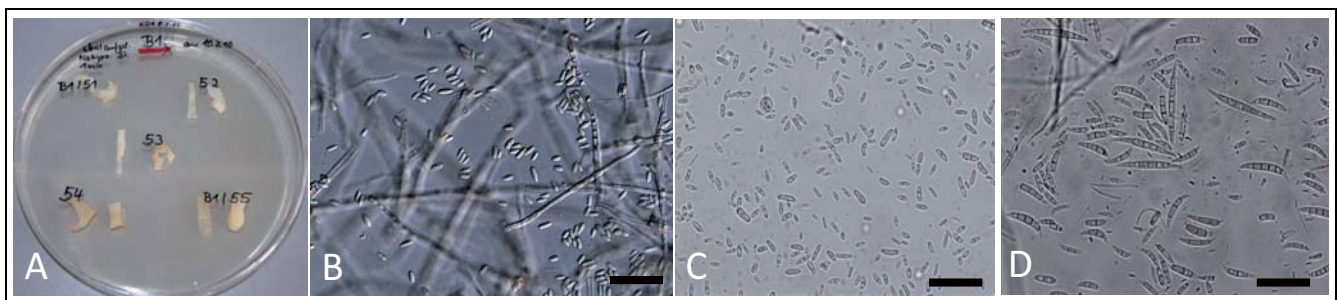


Abb. 5. Nachweis von *Fusarium* spp. im Spargelgewebe. A-Petrischale mit Spargelproben auf PDA; B-Hyphen und Mikrokonidien im Wasserpräparat; C + D – Mikro- und Makrokonidien von *Fusarium oxysporum*. (Balken = 100 µm).

fikant unterschiedlich. Bei 4 Betrieben waren an ~90–100% der Stangen Symptome von BV nachweisbar, bei 8 Betrieben an 40–65% der Stangen.

Fusarium konnte in 4 Betrieben bei 60–85% der Stangen und in 5 Betrieben zwischen 20–30% der Stangen diagnostiziert werden. In 4 Betrieben lag die Befallsrate unter

10%. Jeweils in einem Betrieb waren keine Symptome von BV (K) oder *Fusarium* (M) nachweisbar (Tab. 3).

Signifikante Standortunterschiede waren auch für den Virusbefall nachweisbar. AV-1 trat in 11 Betrieben bei 90–100% der Stangen auf, nur an zwei Standorten lag der Befall unter 80%. CMV konnte ebenfalls in allen

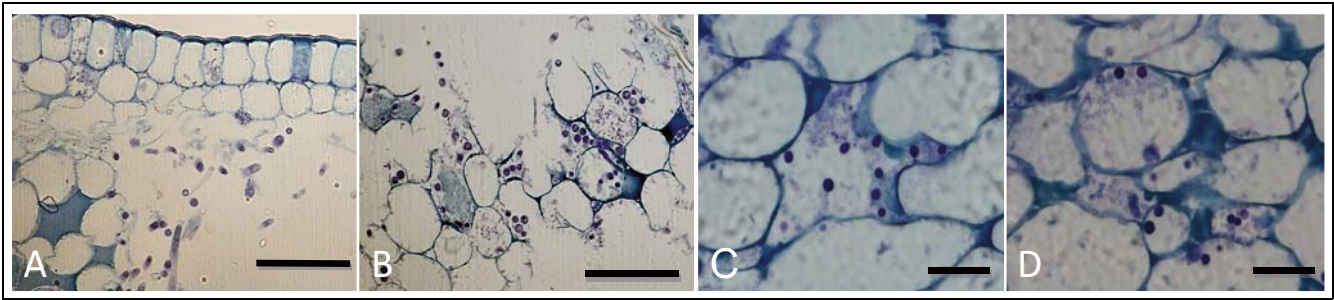


Abb. 6. Histologischer Nachweis von *Fusarium* spp.-Hyphen im Spargelgewebe (Horizontalschnitte, Toluidinblau-Färbung); A – *Fusarium*-Befall im Bereich der Epidermis; B-D *Fusarium*-Nachweis im sub-epidermalen Stangengewebe (ca. 0,5 cm tief). (Balken = 100 µm).

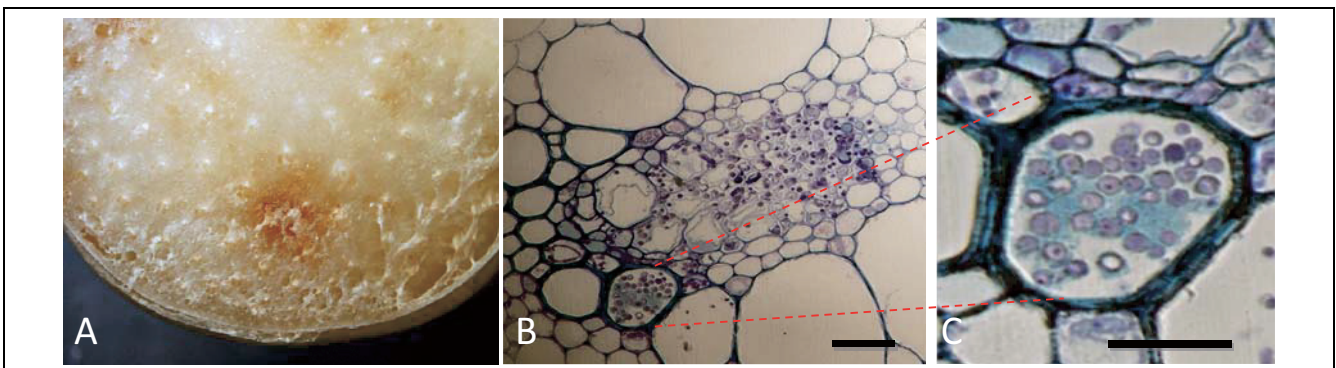


Abb. 7. A-Braunverfärbung innerhalb des Stangengewebes; B + C – Histologischer Querschnitt durch die Leitgefäße mit massivem *Fusarium*-Befall. (Balken = 100 µm).

Betrieben nachgewiesen werden, allerdings variierte der Befallsgrad. In je einem Betrieb waren 10% bzw. 40% der Stangen CMV positiv, bei einem Betrieb ~65% und bei 11 Betrieben 80–100%. Differenzierter war der Befall mit AV-2. In Proben von zwei Betrieben konnte kein AV-2 (J, M) nachgewiesen werden, 8 Betriebe wiesen einen Befallsgrad zwischen 13–35%, zwei zwischen 40 und 45% sowie zwei Betriebe über 80% auf. ArMV war lediglich in drei Betrieben nachweisbar (Tab. 3).

Bezugsbasis Sorte

Bezogen auf die Sorte variierte der Anteil der Stangen mit Symptomen der Braunverfärbung signifikant zwischen 51 und 85%. ‘Ramada’ war mit über 85% am stärksten befallen. *Fusarium* wurde bei allen Sorten in 6,7 bis 37% der Proben nachgewiesen, die Sortenunterschiede waren aber nicht signifikant (Tab. 4).

Ebenfalls keine Sortenunterschiede waren bezüglich dem Befall mit AV-1 (~90–100%) nachweisbar. Für AV-2 und CMV waren die Unterschiede signifikant. Mit CMV waren 80–100% der Stangen fast aller Sorten befallen, nur bei ‘Eposs’ war der Anteil mit 56% geringer. Die Befallsanteile bezüglich AV-2 und ArMV variieren zwar sehr stark, allerdings wurden beide Viren nicht an allen Standorten nachgewiesen und nicht alle Sorten waren auf allen Standorten vorhanden, so dass die Aussagen nur tendenziellen Charakter haben und weiter verifiziert werden müssen (vergl. Tab. 3 und Tab. 4). Andererseits wird am

Beispiel AV-2 und ArMV der maßgebliche Einfluss des Standortes deutlich. AV-2 wurde in allen Sorten gefunden, in Proben aus zwei Betrieben war jedoch kein AV-2 nachweisbar. Das ArMV wurde nur an drei Standorten nachgewiesen, von diesen Standorten stand jeweils eine Probe der Sorte ‘Grolim’, ‘Gijnlim’ und ‘Thielim’ zur Verfügung.

Repräsentativ ist die Datenlage für die Sorte ‘Gijnlim’ (n = 155), bei der die Proben aus 6 Betrieben und 10 Anlagen stammten. Braunverfärbung wurde in Proben von allen Anlagen nachgewiesen und variierte signifikant von 100% (2 Anl.), 30–67% (6 Anl.) und 10% (1 Anl.). Bei 4 Anlagen (C, D, E, G2) war bei allen Stangen mit Braunverfärbung auch *Fusarium* nachweisbar. In Proben von 2 Anlagen (G1, H1) konnte kein *Fusarium* nachgewiesen werden (Tab. 5). In den ‘Gijnlim’-Anlagen wurden alle untersuchten Viren, mit Ausnahme des TSV nachgewiesen. ArMV war allerdings nur an einem Standort (F) nachweisbar, das AV-2 war bei Proben jeweils einer Anlage in zwei Betrieben (G1, H2) nicht nachweisbar, was wiederum den Standorteinfluss deutlich macht (Tab. 5).

Multipler Befall

Von den 278 Stangen bei denen BV und/oder Fus diagnostiziert wurde, zeigten 101 Stangen (36,4%) ausschließlich Symptome der Braunverfärbung, ausschließlich *Fusarium* spp. wurde bei nur 12 (4,4%) Stangen festgestellt und 66 Stangen (24%) zeigten sowohl Symptome von BV als auch *Fusarium*. Tendenziell nahm der Anteil

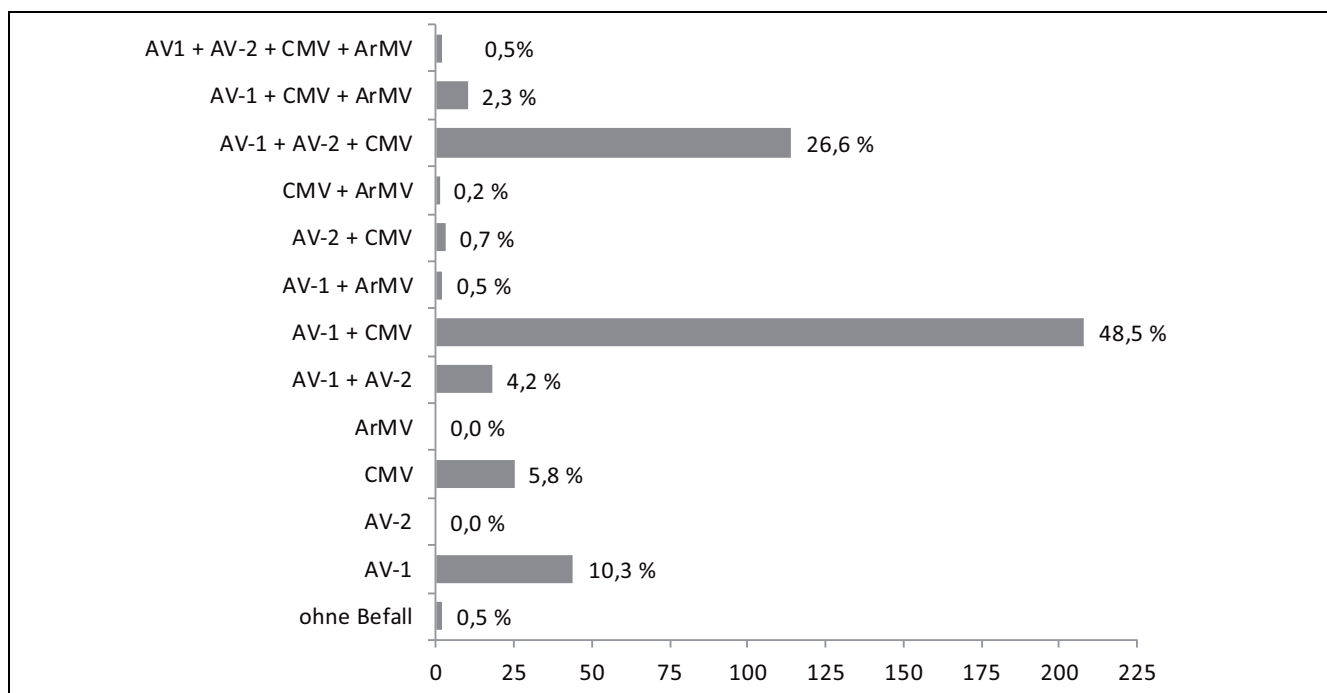


Abb. 8. Prozentualer Anteil von Spargelproben mit Einfach- und Mehrfachnachweis von Viren (n = 429 Einzelproben, x-Achse = Stangenzahl).

von Stangen mit *Fusarium*-Nachweis mit der Stärke der Braunverfärbung zu (Tab. 2).

Während in 44 Stangen (10,3%) ausschließlich AV-1 und in 25 Stangen (5,8%) ausschließlich CMV nachgewiesen wurde, konnte im überwiegenden Teil der Proben ein Befall mit mehreren Viren diagnostiziert werden. Besonders auffällig war die Viruskombination [AV-1 + CMV] in 48,5% (n = 208) der Proben sowie die Kombination [AV-1 + AV-2 + CMV] in 26,6% (n = 114) der Proben. In zwei Proben (0,5%) waren alle vier Viren nachweisbar (Abb. 8). Von den 114 Stangen mit dreifachem Virusbefall [AV-1 + AV-2 + CMV] zeigten 65% auch BV und 35% waren mit *Fusarium* belastet. Sehr ähnlich war es bei den 208 Stangen mit [AV-1 + CMV] Befall, wo gleichzeitig bei 63% der Stangen BV und bei ~30% *Fusarium* nachgewiesen wurde. Dagegen lag in Proben bei denen nur ein Virus nachgewiesen wurde, der Anteil von Stangen mit BV bei ~40% und *Fusarium* bei 13% (Tab. 6). Bei Betrachtung der Gesamtstichprobe korrelieren BV schwach

mit Fus, AV-1 und CMV. Ebenfalls schwach korrelieren AV-2 mit Fus und AV-1 (Tab. 7).

Diskussion

Durch die territoriale Verteilung der beteiligten Spargelbaubetriebe, lassen die Untersuchungen eine weitgehend repräsentative Aussage zum Auftreten von Braunverfärbung sowie zur Befallssituation mit *Fusarium* spp. und Spargelviren in Sachsen-Anhalt zu.

Da bisher keine Daten zum Auftreten von Braunverfärbungen publiziert wurden, sind Vergleiche nicht möglich. Die Untersuchungsergebnisse sprechen allerdings für ein flächendeckendes Problem, wobei die Standortunterschiede grösser waren als die Sortenunterschiede. Weiterführende Untersuchungen zum kausalen Ursprung der Braunverfärbungen scheinen dringend angebracht. Erste Ansätze hierzu gibt es inzwischen in Niedersachsen (Leib-

Tab. 6. Spargelproben mit einfachem und multiplem Virusnachweis in Bezug zur Braunverfärbung und *Fusarium*-Befall

Virus spp.	n	BV1	BV3	BV5	BV7	BV9	\sum BV3-9	(%)	Fus+	(%)
Ohne	2	1		1			1	50,0	0	0,0
1x	69	42	17	6	4		27	39,1	9	13,0
2x	232	85	69	63	14	1	147	63,4	69	29,7
3x	124	42	38	35	8		81	65,3	43	34,7
4x	2			2			2	100,0	1	50,0
\sum	429						258		122	

Tab. 7. Kendall's Tau-b-Korrelationskoeffizienten kalkuliert über die Gesamtstichprobe (n = 429) für ausgewählter Pathogene

	BV	FUS	AV-1	AV-2
FUS	0,310**			
AV-1	0,105*	0,076		
AV-2	-0,038	0,111*	0,133*	
CMV	0,209*	0,068	-0,069	0,043

Signifikanzschwelle: ** P < 0,001; * P < 0,05

niz Uni Hannover) mit einem Projekt zur „Analyse von Stängelängeln, insbesondere von Braunverfärbungen, an Spargel“ (BRADATSCH et al., 2010). Aufgrund verschiedener Publikationen war zwar von einem hohen Befallspotential durch *Fusarium* spp. ausgegangen worden, die hohe Nachweisrate in den Stangen (~30%) war dennoch überraschend. Auch hier waren die Standortunterschiede größer als die Sortenunterschiede. Standortunterschiede könnten auch aus einer unterschiedlichen Verbreitung der Spargelfliege (*Platyparea poeciloptera*) resultieren, die als möglicher Verbreiter von *Fusarium* spp. angesehen wird (KOCH et al., 2010b). Zwar deutet die Korrelationsanalyse einen gewissen Zusammenhang zwischen Braunverfärbung und *Fusarium* an, jedoch sind weiterführende Untersuchungen nötig, um einen kausalen Zusammenhang verifizieren zu können. Die ebenfalls schwache Korrelation zwischen BV und AV-1 sowie CMV, könnte auch auf einen komplexeren Zusammenhang z.B. mehrerer Pathogene hindeuten.

Analog zu publizierten Untersuchungen für Deutschland (HEIN, 1963, 1969; WEISSENFELS und SCHMELZER, 1976b; KEGLER et al., 1991; BANDTE et al., 2008), kann für Sachsen-Anhalt von 80–100%iger Durchseuchung der Spargelanlagen mit dem AV-1 ausgegangen werden. Ebenfalls massiv ist der Befall mit CMV einzustufen. Für eine schnelle Verbreitung ist offensichtlich die leichte mechanische Übertragbarkeit verantwortlich. So wurde bislang zumindest für das AV-1 die Übertragung durch das Spargelstechen nachgewiesen (KEGLER et al., 1991). Darüber hinaus werden beide Viren durch Blattläuse, insbesondere durch die weit verbreitete Pfirsichblattlaus (*Myzus persicae*), übertragen und können daher in dicht strukturierten Anbaugeländen schnell verbreitet werden (HEIN, 1969; FALLOON et al., 1986). Als Reservoir für eine schnelle Verbreitung des AV-1 kommen neben Spargelaltanlagen auch Unkräuter aus der Familie Chenopodiaceae in Frage (HEIN, 1969; FUJISAWA et al., 1983; KEGLER et al., 1991). Das CMV besitzt demgegenüber einen außerordentlich großen Wirtspflanzenkreis, zu dem neben verschiedenen Unkräutern häufig angebaute Kulturpflanzen wie Bohne, Gurke, Kartoffel u.a. zählen. Bei AV-2 scheint es gegenwärtig noch regionale Unterschiede zu geben. Phytosanitäre Maßnahmen und optimales Anbaumanagement könnten zumindest das Ausbreitungsrisiko deutlich reduzie-

ren. In erster Linie wäre hier die Erzeugung und Verwendung von virusfreiem Saatgut zu nennen, da AV-2 Pollen und Saatgut übertragbar ist (KEGLER et al., 1999).

ArMV und TSV spielen derzeit noch keine Rolle, ihre epidemiologische Entwicklung sollte aber weiter beobachtet werden. Da TSV ebenfalls durch Blattläuse übertragen wird, kann hier bei Vorhandensein entsprechender Wirtspflanzen (z.B. Tabak) ein Eintrag in Spargelanlagen Sachsen-Anhalts erfolgen.

Allarmierend ist der hohe Grad festgestellter multipler Virusinfektionen (~83%) mit zwei oder drei Viren, in zwei Fällen wurden sogar vier Viren nachgewiesen. Aus Ergebnissen früherer Untersuchungen vermutet man gerade bei Pflanzen mit Mehrfachinfektionen einen massiven Leistungsabfall und frühzeitiges Absterben. BANDTE et al. (2008) konnten in einem Drittel der untersuchten Proben ebenfalls multiplen Befall zeigen, allerdings immer nur Befall mit zwei Viren. Analog wurde auch in der vorliegenden Studie keine Probe mit AV-2 Einzelinfektion gefunden, sondern immer in Kombination mit anderen Viren. Die Korrelation zwischen AV-2 und AV-1 unterstützt diese Aussage.

Eine generelle Aussage zum Befallsgrad innerhalb einzelner Betriebe mit Bezug auf die Anlagen war nicht möglich, da nur von einigen Betrieben Proben von mehreren Anlagen vorlagen (Tab. 1). Unter letzteren gab es sowohl Fälle wo alle Proben unabhängig von Sorte und Schlag stark befallen waren, als auch Fälle wo Einzelanlagen deutlich stärkeren oder schwächeren Befall aufwiesen. Das dargestellte Beispiel der Sorte 'Gijnlim' aus 6 Betrieben und 10 Anlagen (Tab. 5) unterstützt diese Aussage.

Die festgestellten Sortenunterschiede waren für BV, AV-2 und CMV zwar signifikant, unter Berücksichtigung der nachgewiesenen Befallsunterschiede an den verschiedenen Standorten, müssen diese aber mit Vorsicht betrachtet werden und können wahrscheinlich nicht im Sinne einer möglichen Resistenz oder Toleranz interpretiert werden.

Tendenziell zeigten Stangen mit dem stärkeren Verbräunungsgrad oft einen multiplen Befall mit Viren und meist auch mit *Fusarium*. Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse unterstützen partiell die Hypothese.

Der insgesamt dramatische Befall mit verschiedenen Pathogenen macht die Forderung nach verstärkter Aktivität in Richtung Resistenzzüchtung deutlich, um zukünftig, unter dem zunehmenden ökonomischen Druck in Deutschland, konkurrenzfähig Spargel produzieren zu können.

Bei allen getroffenen Aussagen musste die Altersstruktur der Spargelanlagen unberücksichtigt bleiben, da keine vollständigen Daten vorlagen. Ebenso konnten mögliche Wechselwirkungen zu klimatischen Verhältnissen oder Bodenverhältnissen der jeweiligen Standorte sowie Ernteterminen nicht betrachtet werden.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei den Spargelbaubetrieben, die an der Studie teilgenommen haben sowie bei Frau Anja MEYER vom Amt für Landwirtschaft, Flurneuord-

nung und Forsten Stendal (Altmark) für die Unterstützung bei der Probensammlung. Für die hervorragende technische Assistenz wird ferner Frau Rosemarie DIPPE, Elke ZJABA und Martina MALORNY sowie Herrn Felix LANGER gedankt.

Literatur

- BANDTE, M., E. GRUBITS, S. VON BARGEN, F. RABENSTEIN, D. WEBER, F. UWIHS, C. BÜTTNER, 2008: Eine Feldstudie zum Auftreten von Virusinfektionen in Spargel (*Asparagus officinalis* L.) in norddeutschen Ertragsanlagen. Raumberg-Gumpenstein, Bericht 63. ALVA-Tagung, 97-99.
- BERTACCINI, A., L. GIUNCHEDI, C. POGGI POLLINI, 1990: Survey on asparagus virus diseases in Italy. *Acta Hort.* **271**, 279-284.
- BRADATSCH, C., G. GRUNEWALDT-STÖCKER, H. VON ALTEN, 2010: Analyse der Ursache von Stangelmängeln, insbesondere von Braunverfärbungen, an Spargel (*Asparagus officinalis* L.). *Julius-Kühn-Archiv* **428**, 353.
- CLARK, M.F., A.N. ADAMS, 1977: Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Plant Viruses. *J. gen. Virol.* **34**, 475-483.
- CRÜGER, G., G.F. BACKHAUS, M. HOMMES, S. SMOLKA, H.J. VETTEN, 2002: Pflanzenschutz im Gemüsebau. Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer, ISBN 3-8001-3191-9.
- DE VRIES-PATERSON, R.M., T.A. EVANS, C.T. STEPHENS, 1992: The effect of asparagus virus-infection on asparagus tissue-culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **31**, 31-35.
- ELLISON, H.J., S.A. GARRISON, J.J. KINELSKI, 1990: Male asparagus hybrids: 'Jersey Gem', 'Jersey General', 'Jersey King', 'Jersey Knight', and 'Jersey Titan'. *HortScience* **25**, 816-817.
- ELMER, W.H., D.A. JOHNSON, G.I. MINK, 1996: Epidemiology and management of the diseases causal to asparagus decline. *Plant Dis.* **80**, 117-125.
- EVANS, T.A., R.M. DeVRIES, T.L. WACKER, C.T. STEPHENS, 1990: Epidemiology of asparagus viruses in Michigan asparagus. *Acta Hort.* **271**, 285-290.
- EVANS, T.A., C.T. STEPHENS, 1984: Virus-fungus inter-relationships in a *Fusarium* root and crown rot complex in asparagus. *Phytopathology* **74**, 860-861.
- EVANS, T.A., C.T. STEPHENS, 1989: Increased susceptibility to *Fusarium* crown and root-rot in virus-infected asparagus. *Phytopathology* **79**, 253-258.
- FALAVIGNA, A., P.E. CASALI, P. ALBERTI, 2008: Performance of asparagus genotypes in *Fusarium*-infested and uninfested soils. *Acta Hort.* **776**, 161-166.
- FALLOON, P.G., L.M. FALLOON, R.G. GROGAN, 1986: Survey of California asparagus for Asparagus Virus I, Asparagus Virus II and Tobacco Streak Virus. *Plant Dis.* **70**, 103-105.
- FIEDOROW, Z., 2000: The incidence of virus diseases of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) in Poland. *Phytopathology Pol.* **20**, 33-44.
- FIEDOROW, Z., A. SZELKA, A. GASIOROWSKA, 2001: Effect of Asparagus virus 2 on yield of asparagus (*Asparagus officinalis* L.). *J. Plant Prot. Res.* **41**, 57-60.
- FUJISAWA, I., T. GOTO, T. TSUCHIZAKI, N. IIZUKA, 1983: Host Range and Some Properties of Asparagus Virus 1 Isolated from *Asparagus officinalis* in Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* **49**, 299-307.
- GREINER, H.D., 1980: Untersuchungen über Virus und *Fusarium* an Spargel (*Asparagus officinalis* L.) im nordbadischen Anbaugesbiet unter besonderer Berücksichtigung einer Virus-Pilz-Wechselwirkung. Dissertation Universität Hohenheim.
- GOSSMANN, M., C. BÜTTNER, G. BEDLAN, 2001: Untersuchungen zum Spargel (*Asparagus officinalis* L.) aus Jung- und Ertragsanlagen in Deutschland und Österreich auf Infektionen mit *Fusarium*-Arten. *Pflanzenschutzberichte* **59**, 45-54.
- GOSSMANN, M., A. SCHOLZ, F. HENNIG, S. VON BARGEN, C. BÜTTNER, 2008: *Fusarium oxysporum*- und *F. proliferatum*-Isolate aus Spargel und deren Pathogenitätsüberprüfung in einer modifizierten in vitro-Schnellmethode. *Gesunde Pflanzen* **63**, 175-182.
- GOSSMANN, M., F. BERAN, G. BEDLAN, A. PLENK, S. HAMEDINGER, R. ÖHLINGER, H.-U. HUMPF, C. BÜTTNER, 2011: Spargelstangenuntersuchungen zur Haupterntezeit auf Infektionen mit *Fusarium* spp. und Kontaminationen mit Fumonisin B1. *Mycotoxin Res.* **24**, 88-97.
- GRUBITS, E., M. BANDTE, C. BÜTTNER, 2007: Verbreitung von Virusinfektionen an Spargelpflanzen in Norddeutschland. *BHGL - Tagungsband* **25**, 160.
- GRUNEWALDT-STÖCKER, G., C. BRADATSCH, H. VON ALTEN, 2011: Untersuchungen zum Ursachenkomplex von Berostung an Spargelstangen. *BHGL-Tagungsband* **28**, 140.
- HARTUNG, A.C., C.T. STEPHENS, W.H. ELMER, 1990: Survey of *Fusarium* populations in Michigan's asparagus fields. *Acta Hort.* **271**, 395-401.
- HEIN, A., 1960: Über das Vorkommen einer Virose an Spargel. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* **67**, 217-219.
- HEIN, A., 1963: Virosen an Spargel. *Mitt. Biol. Bundesanstalt Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem* **108**, 70-74.
- HEIN, A., 1969: Über Viruserkrankungen des Spargels (*Asparagus officinalis* L.): Spargelvirus 1. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* **76**, 395-406.
- JASPERS, M.V., G.G. FALLOON, M.N. PEARSON, 1999: Long-term effects of asparagus virus 2 infection on growth and productivity in asparagus. *Annals of Applied Biology* **135**, 379-384.
- JOHNSTON, S.A., J.K. SPRINGER, G.D. LEWIS, 1979: *Fusarium moniliforme* as a causal of stem and crown rot of asparagus and its association with asparagus decline. *Phytopathology* **69**, 778-780.
- KEGLER, H., J. GOTTWALD, 1996: Spargelviren - Schadwirkung und Bekämpfung. *Gemüse* **12**, 729-730.
- KEGLER, H., H.B. SCHMIDT, B. WOLTERSdorff, I. REINHARDT, I. WEBER, E. PROLL, 1991: Zur Ausbreitung von Viren in Spargelanlagen. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* **27**, 251-258.
- KEGLER, H., S. SCHWARZ, S. KECKE, J. GOTTWALD, H. ARNDT, L., SCHUBERT, 1999: Ein Beitrag zur Virustestung von Spargelpflanzen. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* **32**, 193-203.
- KNAFLEWSKI, M., Z. FIEDOROW, A. PAWLOWSKI, 2008: Viral diseases and Their Impact on Asparagus Performance and Yield. *Acta Hort.* **776**, 191-197.
- KOCH, T., H.-M. POEHLING, K. WYDRA, 2010a: *Fusarium* und Fumosine an Spargel - eine Modelluntersuchung in Niedersachsen. *Julius-Kühn-Archiv* **428**, 195-196.
- KOCH, T., H.-M. POEHLING, K. WYDRA, 2010b: *Platyedra poeciloptera* als möglicher Verursacher von *Fusarium* spp. an Spargel (*Asparagus officinalis* L.). *Julius-Kühn-Archiv* **428**, 354.
- PAWLOWSKI, A., Z. FIEDOROW, B. GOLEBNIAK, Z. WEBER, 2004: The influence of exudates and sap from asparagus (*Asparagus officinalis*) roots infected by Asparagus virus 2 (AV2) on the growth of soil fungi pathogenic to the plants. *Phytopathol. Pol.* **33**, 31-40.
- PERKO, J., G. COPPEY, F. BERTHOUSOZ, 1996: White asparagus: Yields and quality of new F₁ male hybrids over 12 years. *Reviews Suisse Viticulture d'Arboriculture et d'Horticulture* **28**, 385-387.
- RAMEAU, C., A. BOTA, 1990: Early screening of asparagus hybrids for tolerance to *Fusarium*, comparison with decline diseases study in field. *Acta Hort.* **271**, 337-342.
- SADOWSKI, C.Z., M. KNAFLEWSKI, 1990: Susceptibility of selected asparagus cultivars to *Fusarium* spp. under field conditions. *Acta Hort.* **271**, 343-351.
- SONODA, T., K. TAIRAKO, A. URAGAMI, 2002: Comparative evaluation of resistance of *Asparagus officinalis* L. cultivars and breeding lines to *Fusarium* stem and crown rot. *Acta Hort.* **589**, 387-390.
- STEPHENS, S.B., R.M. DEVRIES, K.C. SINK, 1989: Evaluation of asparagus species for resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagi* and *F. moniliforme*. *HortScience* **24**, 365-368.
- WEBER, Z., M. KOSTECKI, S. VON BARGEN, M. GOSSMANN, A. WASKIEWICZ, J. BOCIANOWSKI, M. KNAFLEWSKI, C. BÜTTNER, P. GOLINSKI, 2006: Occurrence of *Fusarium* species in spears of asparagus (*Asparagus officinalis*). *Phytopathol. Pol.* **45**, 9-15.
- WEBER, Z., L. KAROLEWSKI, L. IRZYKOWSKA, M. KNAFLEWSKI, T. KOSIDA, 2007: Occurrence of *Fusarium* species in spears of asparagus (*Asparagus officinalis*). *J. Phytopathol.* **154**, 209-216.
- WEISE, R., 1939: Über die durch *Fusarium culmorum* (W.G.Sm.) Sacc. hervorgerufene Spargelfusskrankheit. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **49**, 15-40.
- WEISSENFELS, M., 1972: Virusbefall am Spargel (*Asparagus officinalis* L.) *Archiv Gartenbau* **21**, 235-243.
- WEISSENFELS, M., K. SCHMELZER, 1976a: Untersuchungen über das Schadausmaß durch Viren am Spargel (*Asparagus officinalis* L.). *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz, Berlin* **12**, 67-73.
- WEISSENFELS, M., K. SCHMELZER, 1976b: Art, Häufigkeit sowie geographische und standörtliche Verteilung der in der Deutschen Demokratischen Republik an Spargel vorkommenden Viren. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz, Berlin* **12**, 145-159.
- WOLTERSdorff, B., 1990: Befall mit *Fusarium* gefährdet den Spargelanbau. *Gartenbau* **37**, 169-171.
- YANG, H.J., 1979: Early effects of viruses on the growth and productivity of asparagus plants. *HortScience* **14**, 734-735.