

**Aus dem Institut für Phytopathologie
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel**

**Einfluss von Anbausystemfaktoren auf die
Entwicklung von *Fusarium* spp. und hiermit
assoziierten Mykotoxinen in der Maiskultur**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
M.Sc. Kai Wolfgang Ragnar Pfeil
aus Kiel
Kiel, 2014

**Aus dem Institut für Phytopathologie
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel**

**Einfluss von Anbausystemfaktoren auf die
Entwicklung von *Fusarium* spp. und hiermit
assoziierten Mykotoxinen in der Maiskultur**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
M.Sc. Kai Wolfgang Ragnar Pfeil
aus Kiel
Kiel, 2014

Dekan: Prof. Dr. Eberhard Hartung
Erster Berichterstatter: Prof. Dr. Joseph-Alexander Verreet
Zweiter Berichterstatter: Prof. Dr. Henning Kage
Tag der mündlichen Prüfung: 23.01.2015

Gedruckt mit Genehmigung
der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-------------|
| ABBILDUNGSVERZEICHNIS..... | I |
| TABELLENVERZEICHNIS..... | X |
| ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | XIII |
| 1. EINLEITUNG | 1 |
| 2. LITERATURÜBERSICHT | 4 |
| 2.1 Biologie / Taxonomie der Gattung <i>Fusarium</i>..... | 4 |
| 2.1.1 Taxonomie..... | 4 |
| 2.1.2 Biologie..... | 6 |
| 2.2 Auftreten und Vorkommen | 7 |
| 2.2.1 Eintrittspforten..... | 8 |
| 2.3 Witterungseinfluss / Klima | 9 |
| 2.4 Mykotoxine / Mykotoxinbildung | 9 |
| 2.4.1 Deoxynivalenol (DON)..... | 11 |
| 2.4.2 Zearalenon (ZEA) | 12 |
| 2.4.3 Fumonisine (FB ₁ , FB ₂ , FB ₃)..... | 12 |
| 2.5 Anbausystemparameter..... | 13 |
| 2.5.1 Sorteneinfluss..... | 13 |
| 2.5.2 Stickstoffdüngung / Stickstoffversorgung..... | 14 |
| 2.5.2.1 Stickstoffversorgung – Catchcrops | 15 |
| 2.5.3 Fruchtfolgewirkung | 15 |
| 2.5.4 Bodenbearbeitung | 16 |

| | |
|---|-----------|
| 3. MATERIAL UND METHODEN | 18 |
| 3.1 Verwendete Materialien, Reagenzien und Geräte..... | 18 |
| 3.1.1 PCR und qPCR-Materialien/Kits..... | 18 |
| 3.1.2 Chemikalien für die PCR und qPCR..... | 18 |
| 3.1.3 Enzyme für die PCR-Analyse/DNA-Extraktion | 19 |
| 3.1.4 Medien für die PCR (qualitative)..... | 19 |
| 3.1.5 Materialien für die Mykotoxinanalyse..... | 19 |
| 3.1.6 Chemikalien für die Mykotoxinanalyse | 20 |
| 3.1.7 Labor und Geräte..... | 21 |
| 3.2 Versuchsaufbau..... | 23 |
| 3.2.1 Versuchsgut Hohenschulen – Standortbeschreibung..... | 23 |
| 3.2.2 Klima am Standort Hohenschulen | 24 |
| 3.2.3 Versuchsanlagen am Standort Hohenschulen | 25 |
| 3.2.3.1 Biomasseversuch: Versuchsfläche 112 (V112)..... | 25 |
| 3.2.3.2 Fruchtfolgeversuch: Versuchsfläche 98 (V98)..... | 27 |
| 3.3 Versuchsdurchführung / Bonitur / Beprobung..... | 29 |
| 3.3.1 Bonitur der Blattkrankheiten | 29 |
| 3.3.2 Bonitur der Fusariosen | 30 |
| 3.3.3 Beprobung für DNA- und Mykotoxin-Analyse | 32 |
| 3.3.3.1 Fraktionierung..... | 32 |
| 3.3.3.2 Probenaufbereitungen | 33 |
| 3.4 Analytik / Mykotoxine..... | 34 |
| 3.4.1 Probenaufbereitung zur Ermittlung der Mykotoxingehalte mittels LC/MS-Analytik | 34 |
| 3.4.2 LC/MS-Analyse (Liquid Chromatographie Massenspektroskopie) | 36 |
| 3.5 Molekularbiologie / DNA-Extraktion / qPCR und Primer..... | 36 |
| 3.5.1 DNA-Extraktion | 37 |
| 3.5.2 Quantitative Genanalyse (qPCR) | 38 |
| 3.5.3 Chronologischer Ablauf des Verfahrens | 42 |

| | |
|---|-----------|
| 3.6 Statistik..... | 46 |
| 4. ERGEBNISSE | 48 |
| 4.1 Witterung..... | 49 |
| 4.1.1 Witterung am Versuchsstandort | 49 |
| 4.1.2 Witterung der Vegetationsperioden in den Versuchsjahren | 52 |
| 4.2 Erregerentwicklung in 2010 und 2011 aller Fruchtfolgen und den vier Stickstoffintensitätsstufen | 56 |
| 4.2.1 Befallsverlauf im Zusammenhang zur Witterung des Jahres 2010 | 56 |
| 4.2.1.1 Bonituren der Maismonokultur 2010 (V112)..... | 57 |
| 4.2.1.2 Bonituren der zweigliedrigen Fruchtfolgen (V112) Mais – Weizen – ZF Welsches Weidelgras 2010 | 58 |
| 4.2.1.3 Bonituren der zweigliedrigen Fruchtfolgen (V112) Mais – Weizen – ZF Gelbsenf 2010 | 59 |
| 4.2.1.4 Bonituren der viergliedrigen Fruchtfolgen (V98) Erbsen – Raps – Mais – Weizen 1 x Pflug 2010..... | 64 |
| 4.2.1.5 Bonituren der viergliedrigen Fruchtfolgen (V98) Raps – Mais – Weizen – Gerste 2 x Pflug 2010 | 64 |
| 4.2.2 Befallsverläufe im Zusammenhang zur Witterung und den Anbausystemfaktoren 2011 | 68 |
| 4.2.2.1 Befallsverläufe in der Maismonokultur in 2011 (V112)..... | 68 |
| 4.2.2.2 Befallsverläufe der pfluglosen Maismonokultur vergleichend wendenden Maismonokultur (Pflug) in 2011 (V112) | 69 |
| 4.2.2.3 Befallsverläufe der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Weidelgras als Zwischenfrucht in 2011 (V112)..... | 70 |
| 4.2.2.4 Befallsverläufe der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als Zwischenfrucht in 2011 (V112)..... | 71 |
| 4.2.2.5 Befallsverläufe der viergliedrigen Fruchtfolge Erbsen – Raps – Mais – Weizen 1 x Pflug in 2011 (V98) | 76 |
| 4.2.2.6 Befallsverläufe der viergliedrigen Fruchtfolge Raps – Mais – Weizen – Gerste 2 x Pflug in 2011 (V98) | 77 |

| | |
|---|------------|
| 4.3 Analytischer Nachweis von Belastungen durch <i>Fusarium</i> spp. im Mais | 80 |
| 4.3.1 Ermittlung und Quantifizierung des Artenspektrums aus der Silomais-Monokultur 2009 - 2011 | 84 |
| 4.3.2 Einfluss der Anbausystemvarianten auf die Fusarien-Befallsstärke im Biomasseversuch (V112) 2009 bis 2011 | 94 |
| 4.3.2.1 Belastung des Silomaiserntegutes des Biomasseversuchs (V 112) in den Versuchsjahren 2009 bis 2011 | 96 |
| 4.3.2.2 Einfluss der Anbausysteme und Stickstoffdüngung auf das Auftreten von <i>Fusarium</i> spp. in den einzelnen Pflanzenteilen (Fraktionen) in den Varianten des Biomasseversuchs (V112)..... | 103 |
| 4.3.3 Einfluss der Anbausystemvarianten auf die Fusarien-Befallsstärke des Fruchtfolgeversuchs (V 98)..... | 114 |
| 4.3.3.1 Belastung des Silomaiserntegutes des Fruchtfolgeversuchs (V 98) .. | 114 |
| 4.3.3.2 Einfluss der Anbausysteme auf das Auftreten von <i>Fusarium</i> spp. in den einzelnen Pflanzenteilen (Fraktionen) in den Varianten des Fruchtfolgeversuchs (V98) | 116 |
| 4.3.4 Mykotoxingehalte im Silomais | 119 |
| 4.3.4.1 Mykotoxingehalte der Mais-Monokultur / Biomasseversuch (112) | 119 |
| 4.3.4.2 Korrelationen der Pathogen-DNA-Gehalte zu Mykotoxingehalten | 122 |
| 4.3.4.3 Korrelationen | 124 |
| 4.4 Erträge | 126 |
| 4.4.1 Erträge des Biomasseversuchs (V112) | 127 |
| 4.4.2 Erträge des Fruchtfolgeversuchs (V98) | 130 |
| 4.5 Statistische Einordnung der Ergebnisse | 133 |
| 5. DISKUSSION..... | 138 |
| 6. ZUSAMMENFASSUNG..... | 159 |
| 7. SUMMARY | 162 |

8. LITERATURVERZEICHNIS 165

9. ANHANG 173

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1: Anstieg der Anbaufläche (Silomais und Körnermais) seit 1960 in tausend Hektar (Quelle: Statistisches Bundesamt)..... | 1 |
| Abbildung 2: Deoxinivalenol (Strukturformel) | 12 |
| Abbildung 3: Lageplan des Versuchsgutes Hohenschulen (Quelle: Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der CAU zu Kiel)..... | 24 |
| Abbildung 4: Versuchsplan der Versuchsfläche 112 (Biomasseversuch) aus dem Versuchsjahr 2011; Bedeutung der Parzellenbeschriftung siehe Legende; jedes Fruchtfolgeglied erscheint jedes Jahr mit vier Wiederholungen (ausgenommen ist die pfluglose Variante der Maismonokultur (nur 2011))... | 26 |
| Abbildung 5: Biomasseversuch (V112)..... | 27 |
| Abbildung 6: Versuchsplan der Versuchsfläche 98 (Fruchtfolgeversuch); Die rot markierten Parzellen sind seit 2010 fungizidfrei bearbeitet; G/P stehen für Grubber/Pflug, Nummerierung bezeichnet die Fruchtfolge, wie in der Legende beschrieben; WW=Winterweizen, WR=Winterraps, WG=Wintergerste, Er=Erbsen, Ma=Mais; jedes Jahr erscheint jedes Fruchtfolgeglied in drei Wiederholungen; Die einzelnen Parzellen (Querbalken, Bsp.: G, 4, WW) sind in Randparzellen (rot) und die vier Stickstoffintensitätsstufen eingeteilt | 28 |
| Abbildung 7: <i>Kabatiella zea</i> Augenflecken mit deutlich nekrotisiertem Zentrum . | 30 |
| Abbildung 8: Stängel und Kolbenfäule <i>Fusarium</i> spp.; an zweitem unausgebildetem Kolben (a und b) und am Stängel in der Blattachse (c) | 31 |
| Abbildung 9: Fraktionierung der Versuchspflanzen aus den Beprobungsparzellen | 33 |
| Abbildung 10: Graphische Darstellung des Amplifizierungsvorganges der Standardreihe eines Primers zur Analyse von <i>F. graminearum</i> . (Darstellung aus dem Analyseprogramm des Biorad iCyclers) | 40 |
| Abbildung 11: Standardkurve mit Korrelationskoeffizient der in Abbildung 10 dargestellten Standardreihe des Primers für die Analyse von <i>F. graminearum</i> . (Graph aus dem Analyseprogramm des Biorad iCyclers) | 40 |
| Abbildung 12: Analyseprotokoll des BioRad iCyclers® mit Daten zur Probengröße, Probenart (Codierung) und dem Temperaturzyklus | 42 |

- Abbildung 13: Graphische Darstellung des Amplifizierungsvorganges von Maisernteproben (72 Proben auf einer Platte). Die extrahierte DNA der vier Fraktionen der Maispflanze (M1 bis M4) sind mit dem Maisprimer und dem Primer für *Fusarium culmorum* analysiert worden. (CT-Werte sind im Anschluss dargestellt) 43
- Abbildung 14: Datenblatt der qPCR; Links Nummer des Reaktionsgefäßes (Well); Mitte: Probencodierung; Rechts: Ct-Wert – markiert das Überschreiten des Schwellenwertes..... 44
- Abbildung 15: Langjähriges Mittel der Wetterdaten vom Versuchsgut Hohenschulen aus den Jahren 2005 - 2011..... 49
- Abbildung 16: Witterung der Versuchsjahre 2009 bis 2011; Temperatur (°C) und Niederschläge (mm), wöchentliches Mittel der Tagemitteltemperaturen bzw. der wöchentlichen Niederschlagssumme 52
- Abbildung 17: Temperaturverläufe während der Vegetationsperiode (Ø der Monate) der Untersuchungsjahre 2009, 2010 und 2011 vergleichend zum langjährigen Mittel 53
- Abbildung 18: Niederschlagssummen während der Vegetationsperiode (Ø der Monate) der Untersuchungsjahre 2009, 2010 und 2011 vergleichend zum langjährigen Mittel 54
- Abbildung 19: Witterung am Standort Hohenschulen der Jahre 2009 – 2011; blaue vertikale Säule dokumentiert die täglichen Niederschläge (mm), die rote Kurve den Temperaturverlauf (°C), die blaue, vertikale Säule die relative Luftfeuchtigkeit (%)..... 55
- Abbildung 20: Maismonokultur (V112 2010); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)..... 61
- Abbildung 21: Mais der zweigliedrigen Fruchtfolge: Mais – Weizen – ZF Weidelgras (V112 2010); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen

- sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm) 62
- Abbildung 22: Mais der zweigliedrigen Fruchtfolge: Mais – Weizen – ZF Gelbsenf (V112 2010); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm) 63
- Abbildung 23: Mais der viergliedrige Fruchtfolge: Erbsen – Raps – Mais – Weizen (V98 2010); 1 x Pflug in der Rotation; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm) 66
- Abbildung 24: Mais der viergliedrige Fruchtfolge (Raps – Mais – Weizen – Gerste); 2 x Pflug in der Rotation; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm) 67
- Abbildung 25: Maismonokultur (V112) 2011; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm) 72

- Abbildung 26: Mais-Monokultur langjährig gepflügt (oben) vs. Mais-Monokultur im ersten Jahr nicht wendender Bodenbearbeitung (V112 2011); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zeae* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm) 73
- Abbildung 27: Mais der zweigliedrigen Fruchtfolge: Mais – Weizen – ZF Weidelgras (V112 2011); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zeae* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm) 74
- Abbildung 28: Mais der zweigliedrigen Fruchtfolge: Mais – Weizen – ZF Gelbsenf (V112 2011); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zeae* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm) 75
- Abbildung 29: Mais der viergliedrige Fruchtfolge: Erbsen – Raps – Mais – Weizen (V98 2011); 1 x Pflug in der Rotation; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zeae* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm) 78
- Abbildung 30: Mais der viergliedrige Fruchtfolge: Raps – Mais – Weizen – Gerste (V98 2010); 2 x Pflug in der Rotation; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%),

| | |
|--|----|
| <i>Kabatiella zae</i> BSB (%), <i>Fusarium</i> spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)..... | 79 |
| Abbildung 31: Bonitierte Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) zur Abschlussbonitur (links) vergleichend zum analytischen Nachweis der unspezifischen <i>Fusarium</i> -DNA (rechts) im Erntegut der Maismonokultur/Biomasseversuch 112 (alle Stickstoffintensitäten 0-240 kg N/ha), 2010..... | 80 |
| Abbildung 32: Korrelation zwischen bonitierter Befallshäufigkeit im Bestand (BHB in %) und der analytischen Befallsstärke im Bestand (BSB in %) zum Erntetermin (EC 85); BSB durch qPCR aus dem Silomaiserntegut ermittelt; Mais-Monokultur Biomasseversuch (112), 2010..... | 82 |
| Abbildung 33: Bonitierte Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) zur Abschlussbonitur (22.09.) (links) vergleichend zum analytischen Nachweis der unspezifischen Fusarien-DNA (rechts) im Erntegut der Maismonokultur/Biomasseversuch 112 (alle Stickstoffintensitäten 0-240 kg N/ha), 2011..... | 83 |
| Abbildung 34: Korrelation zwischen bonitierter Befallshäufigkeit im Bestand (BHB in %) und der analytischen Befallsstärke im Bestand (BSB in %) zum Erntetermin (EC 85); BSB durch qPCR aus dem Silomaiserntegut ermittelt; Mais-Monokultur Biomasseversuch (112), 2011..... | 84 |
| Abbildung 35: <i>Fusarium</i> -DNA-Gehalte in % zur Pflanzen-DNA gemittelt aus den vier Stickstoffintensitätsstufen; Silomais-Ernteproben der Mais-Monokultur des Biomasseversuchs 2009..... | 85 |
| Abbildung 36: <i>Fusarium</i> -DNA-Gehalte in % zur Pflanzen-DNA gemittelt aus den vier Stickstoffintensitätsstufen; Silomais-Ernteproben der Mais-Monokultur des Biomasseversuchs 2010..... | 87 |
| Abbildung 37: <i>Fusarium</i> -DNA-Gehalte in % zur Pflanzen-DNA gemittelt aus den vier Stickstoffintensitätsstufen; Silomais-Ernteproben der Mais-Monokultur des Biomasseversuchs 2011..... | 88 |
| Abbildung 38: Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum in der Maismonokultur (Biomasseversuch V112) 2009; Stickstoffintensitätsvarianten: 0, 160, 240, 360 kg N/ha; Werte in den Kreisdiagrammen: BSB in % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA..... | 91 |

- Abbildung 39: Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum in der Maismonokultur (Biomasseversuch V112) 2010; Stickstoffintensitätsvarianten: 0, 160, 240, 360 kg N/ha; Werte in den Kreisdiagrammen: BSB in % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA 92
- Abbildung 40: Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum in der Maismonokultur (Biomasseversuch V112) 2011; Stickstoffintensitätsvarianten: 0, 160, 240, 360 kg N/ha; Werte in den Kreisdiagrammen: BSB in % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA 93
- Abbildung 41: *Fusarium*-Befallsstärke (BSB in %) im Silomais-Erntegut des Biomasseversuchs 2009; % Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA; Stickstoffintensitätsstufen: 0 bis 360 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt, von links nach recht ansteigend); Anbausysteme: Maismonokultur; Mais – Winterweizen – Weidelgras; Mais – Winterweizen – Gelbsef; Pflugbodenbearbeitung vor der Maiskultur in allen Varianten; nicht-parametrische faktorielle Analyse nach Wobbrock et al (2011) ($p \leq 0,05$)..... 96
- Abbildung 42: Kolbenfusarien-Befallsstärke (BSB in %) im Silomais-Erntegut des Biomasseversuchs 2010; % Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA; Stickstoffintensitätsstufen: 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt, von links nach recht ansteigend); Anbausysteme: Maismonokultur; Mais – Winterweizen – Weidelgras; Mais – Winterweizen – Gelbsef; Pflugbodenbearbeitung vor der Maiskultur in allen Varianten nicht-parametrische faktorielle Analyse nach Wobbrock et al (2011) ($p \leq 0,05$)..... 99
- Abbildung 43: Kolbenfusarien-Befallsstärke (BSB in %) im Silomais-Erntegut des Biomasseversuchs 2011; % Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA; Stickstoffintensitätsstufen: 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt, von links nach recht ansteigend); Anbausysteme: Maismonokultur; Mais – Winterweizen – Weidelgras; Mais – Winterweizen – Gelbsef; Pflugbodenbearbeitung vor der Maiskultur in allen Varianten nicht-parametrische faktorielle Analyse nach Wobbrock et al (2011) ($p \leq 0,05$)... 101
- Abbildung 44: Befallsstärke der vier Maispflanzen-Fraktionen in der Mais-Monokultur 2011; Darstellung der sechs *Fusarium* spp. in den vier Stickstoffintensitätsstufen (N1 – N4) von 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt – ansteigend von links nach rechts); Befallsstärke (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA); New Biomasseversuch (V112) 2011 105

- Abbildung 45: Befallsstärke der vier Maispflanzen-Fraktionen in der zweigliedrigen Fruchtfolge ZF Welsches Weidelgras; Darstellung der sechs *Fusarium* spp. in den vier Stickstoffintensitätsstufen (N1 – N4) von 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt – ansteigend von links nach rechts); Befallsstärke (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA); Biomasseversuch 2011 108
- Abbildung 46: Befallsstärke der vier Maispflanzen-Fraktionen in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit ZF Gelbsenf; Darstellung der sechs *Fusarium* spp. in den vier Stickstoffintensitätsstufen (N1 – N4) von 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt – ansteigend von links nach rechts); Befallsstärke (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA); Biomasseversuch 2011 110
- Abbildung 47: Befallsstärken der vier Maispflanzen-Fraktionen in der Mais-Monokultur (240 kg N/ha) – Vergleich reduzierter Bodenbearbeitung (G) vs. Pflugbodenbearbeitung (P); Darstellung der sechs *Fusarium* spp. in den vier Stickstoffintensitätsstufen (N1 – N4) von 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt – ansteigend von links nach rechts); Befallsstärke (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA); nicht-parametrische faktorielle Analyse nach Wobbrock et al (2011) ($p \leq 0,05$) blaue Buchstaben über den Säulen; Biomasseversuch 2011 112
- Abbildung 48: Fusarien-Befallsstärke BSB im Silomais (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides*; Anbausysteme: Erbsen – Raps – Mais – Weizen 1 x Pflug; Raps – Mais – Weizen – Gerste 2 x Pflug; Stickstoffintensität: 160 kg N/ha; Fruchtfolgeversuch 2011..... 115
- Abbildung 49: Befallsstärke BSB (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) der Fusarienspezies: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides*; vier Fraktionen der Maispflanze: Stoppel (1), Stängel (2), 2. Kolben (3), Hauptkolben und obere Blätter (4); viergliedrige Fruchtfolge (Mais – (P) WW – Raps – Erbsen) Fruchtfolgeversuch 2011.... 117
- Abbildung 50: Befallsstärke BSB (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) der Fusarienspezies: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides*; vier Fraktionen der Maispflanze: Stoppel (1), Stängel (2), 2. Kolben (3), Hauptkolben und obere Blätter (4); viergliedrige

| | |
|---|-----|
| Fruchtfolge (Mais – WW – (G) Raps – (G) Gerste) Fruchtfolgeversuch 2011 | 118 |
| Abbildung 51: Mykotoxingehalte des Silomais-Erntegutes der Maismonokultur; Effekt der Stickstoffintensitätsstufen (0, 80, 160, 240 kg N/ha); Deoxynivalenol (DON in µg/kg); Zearalenon (ZEA in µg/kg); Biomasseversuch 2011 | 120 |
| Abbildung 52: Mykotoxingehalte der vier Pflanzen-Teilfraktionen der Maismonokultur; jede Teilgraphik zeigt den Effekt der Stickstoffintensitätsstufen (0, 80, 160, 240 kg N/ha) in den Fraktionen: Stoppel, Stängel, 2. unausgebildeter Kolben und Hauptkolben mit der Restpflanze; Deoxynivalenol (DON in µg/kg); Zearalenon (ZEA in µg/kg); Biomasseversuch 2011 | 121 |
| Abbildung 53: Korrelation der Befallsstärke im Bestand der aufsummierten DNA- Gehalte der sechs <i>Fusarium</i> spp. (Σ BSB %) mit den Deoxynivalenol- Gehalten (DON µg/kg) im Silomais-Erntegut der Mais-Monokultur; Stickstoffintensitätsstufen 0-240 kg N/ha; Biomasseversuch (V112) 2011 .. | 123 |
| Abbildung 54: Korrelation der Befallsstärke im Bestand der aufsummierten DNA- Gehalte der sechs <i>Fusarium</i> spp. (Σ BSB %) mit den Zearalenon-Gehalten (ZEA µg/kg) im Silomais-Erntegut der Mais-Monokultur; Stickstoffintensitätsstufen 0-240 kg N/ha; Biomasseversuch (V112) 2011 Zearalenongehalten (ZEA µg/kg) im Silomais-Erntegut der Mais-Monokultur; Stickstoffintensitätsstufen 0-240 kg N/ha; Biomasseversuch (V112) 2011 .. | 124 |
| Abbildung 55: Korrelation der Stickstoffintensität zur Intensität der Deoxynivalenol- Belastung (DON) in der Trockenmasse des Silomais-Erntegutes; Stickstoffdüngung in kg N/ha, DON in µg/kg Trockenmasse (TM)..... | 125 |
| Abbildung 56: Korrelation der Stickstoffintensität zur Intensität der Zearalenon- Belastung (ZEA) in der Trockenmasse des Silomais-Erntegutes; Stickstoffdüngung in kg N/ha, ZEA in µg/kg Trockenmasse (TM)..... | 126 |
| Abbildung 57: Mais-Erträge (TM in t/ha) der drei Anbausystem-Varianten in den vier Stickstoffintensitätsstufen von 0-360 kg N/ha; Newman-Keuls-Test ($p \leq$ 0,05) a,b,c = Intensitäten; A,B,C = Anbausysteme; Biomasseversuch 2009/128 | |
| Abbildung 58: Mais-Erträge (TM in t/ha) der drei Anbausystem-Varianten in den vier Stickstoffintensitätsstufen von 0-240 kg N/ha; Newman-Keuls-Test ($p \leq$ 0,05) a,b,c = Intensitäten; A,B,C = Anbausysteme; Biomasseversuch 2010 und 2011..... | 129 |

| | |
|---|-----|
| Abbildung 59: Mais-Erträge der zwei Fruchtfolgen/Anbausystem-Varianten des Fruchtfolgeversuchs (V98) in den vier Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Fruchtfolgeversuch (V98) 2009 und 2011..... | 131 |
|---|-----|

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1: Taxonomische Einordnung der asexuellen Formen (<i>Fusarium</i> spp. anamorph; nach Dörfeld, 1989)..... | 5 |
| Tabelle 2: Taxonomische Einordnung der sexuellen Formen (<i>Gibberella</i> spp. teleomorph) | 5 |
| Tabelle 3: <i>Fusarium</i> spp. (anamorph) mit bekannten Sexualformen <i>Gibberella</i> spp. (teleomorph)..... | 6 |
| Tabelle 4: <i>Fusarium</i> spp. (anamorph) ohne bekannte Sexualformen <i>Gibberella</i> spp. (teleomorph) | 6 |
| Tabelle 5: Mykotoxinbildende <i>Fusarium</i> -Spezies mit assoziierten Mykotoxinen (AcDON = MONO-Acetyldeoxinivalenol; BEA = Beauvericin; DAS = Diacetoxyscripenol; DON = Deoxynivalenol; FB ₁ = Fumonisin B ₁ ; FUP = Fusaproliferin; FUS = Fusarenone-X; HT2 = HAT-2 Toxin; MON = Moniliformin; Neosolaniol; NIV = Nivalenol; T2 = T-2 Toxin, ZEA = Zearalenon) Fett gedruckte Spezies und Mykotoxine haben größere Bedeutung für die vorliegende Arbeit. (Tabelle verändert nach Logrieco et al., 2002) | 11 |
| Tabelle 6: Die am Versuchsstandort Hohenschulen auf dem Schlag „Backhaus“ etablierten Fruchtfolgen mit der erfolgten Bodenbearbeitung. (G) steht für Bodenbearbeitung mit dem Grubber, (P) steht für wendende Pflugbodenbearbeitung. Bei dem Weizen handelt es sich um Winterweizen. Die vierte hier dargestellte Fruchtfolge gab es so nur in 2011 es handelt sich hierbei um langjährig wendende Bodenbearbeitung, in 2011 wurde erstmals auf die wendende Bodenbearbeitung verzichtet. | 25 |
| Tabelle 7: Am Versuchsstandort Hohenschulen auf dem Schlag „Kleine Kronsoppel“ etablierten Fruchtfolgen mit der erfolgten Bodenbearbeitung. (G) steht für Bodenbearbeitung mit dem Grubber (P) steht für wendende Pflugbodenbearbeitung. Bei Raps, Weizen und Gerste handelt es sich um Winterungen. | 28 |
| Tabelle 8: Verlauf des Gradienten in der LCMS-Anlage (Acetonitril-Wasser)..... | 36 |
| Tabelle 9: Primer zur quantitativen Genanalyse (qPCR) im BioRad i Cycloer®; Quelle: Nicolaisen et al 2009..... | 39 |

| | |
|--|---|
| Tabelle 10: Excel-Datenblatt zur Berechnung der prozentualen Fusarienbelastung des Silomaiserntegutes – am Beispiel <i>F. graminearum</i> | 45 |
| Tabelle 11: Durchschnittstemperaturen (°C) in der Vegetationsperiode der Jahre 2005-2011 | 50 |
| Tabelle 12 Durchschnittliche Niederschlagswerte (mm) in der Vegetationsperiode der Jahre 2005 - 2011 | 51 |
| Tabelle 13: Akkumulierte Befallswerte der sechs <i>Fusarium</i> spp. in den vier Fraktionen; vier Stickstoffintensitäten 0-240 kg N/ha; Befallsstärke in % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA; Anbausystemvarianten: Mais-Monokultur, Mais-Weizen-Weidelgras (M-WW-(WG)), Mais Weizen-Gelbsenf (M-WW-(GS)) Biomasseversuch 2011 | 107 |
| Tabelle 14: Reduktion der Befallsstärken der vier Pflanzenteil-Fractionen mit sechs <i>Fusarium</i> spp. (DNA zum Gesamt-Fusarium-DNA-Gehalt in %) durch die wendende Bodenbearbeitung; Reduktion der Pflugbodenbearbeitung zu nichtwendender Bodenbearbeitung; Mais-Monokultur 2011 | 113 |
| Tabelle 15: Mehrfaktorielle ANOVA der Erträge des Biomasseversuchs 2009; FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen | Fehler! |
| | Textmarke nicht definiert. |
| Tabelle 16: Mehrfaktorielle ANOVA der Erträge des Biomasseversuchs 2010 und 2011 zusammengefasst; FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen..... | Fehler! Textmarke nicht definiert. |
| Tabelle 17 Mehrfaktorielle ANOVA der Erregerbelastung des Biomasseversuchs 2009; FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen (Erreger <i>F. graminearum</i> /exemplarisch)..... | 135 |
| Tabelle 18: Statistische Auswertung der Silomais-Ertragsdaten der Stickstoffintensitätsstufen in der Maismonokultur im Versuchsjahr 2009; SQ = Σ der Abweichungsquadrate, FG = Freiheitsgrade, MQ = Mittlerer Quartilsabstand, GD = Grenzdifferenz, STABW = Standardabweichung, N-Test = Newman-Keuls-Test ($p > 0,05$) | Fehler! Textmarke nicht definiert. |
| Tabelle 19: Statistische Auswertung der Silomais-Ertragsdaten der Stickstoffintensitätsstufen in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Weidelgras als Zwischenfrucht im Versuchsjahr 2009; SQ = Σ der Abweichungsquadrate, FG = Freiheitsgrade, MQ = Mittlerer Quartilsabstand, GD = Grenzdifferenz, | |

STABW = Standardabweichung, N-Test = Newman-Keuls-Test ($p > 0,05$)

..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Tabelle 20: Statistische Auswertung der Silomais-Ertragsdaten der Stickstoffintensitätsstufen in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als Zwischenfrucht im Versuchsjahr 2009; SQ = Σ der Abweichungsquadrate, FG = Freiheitsgrade, MQ = Mittlerer Quartilsabstand, GD = Grenzdifferenz, STABW = Standardabweichung, N-Test = Newman-Keuls-Test ($p > 0,05$)

..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Tabelle 21: Statistische Auswertung der Silomais-Ertragsdaten der drei Fruchtfolgen in der Stickstoffintensitätsstufe N1 = 0 kg N/ha im Versuchsjahr 2009; SQ = Σ der Abweichungsquadrate, FG = Freiheitsgrade, MQ = Mittlerer Quartilsabstand, GD = Grenzdifferenz GD, STABW = Standardabweichung, N-Test = Newman-Keuls-Test ($p > 0,05$)... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Tabelle 22: Statistische Auswertung der Silomais-Ertragsdaten der drei Fruchtfolgen in der Stickstoffintensitätsstufe N2 = 160 kg N/ha im Versuchsjahr 2009; SQ = Σ der Abweichungsquadrate, FG = Freiheitsgrade, MQ = Mittlerer Quartilsabstand, GD = Grenzdifferenz, STABW = Standardabweichung, N-Test = Newman-Keuls-Test ($p > 0,05$)..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------------|----------------------------|
| °C | Grad Celsius |
| < | kleiner als |
| > | größer als |
| % | Prozent |
| µg | Mikrogramm |
| µl | Mikroliter |
| Abb. | Abbildung |
| bp | Basenpaare |
| bzw. | beziehungsweise |
| ca. | circa |
| CoA | Coenzym A |
| Ct | Threshold-Cycle |
| DAD | Diode Array Detector |
| d.h. | das heißt |
| DON | Deoxynivalenol |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| et al. | et alii und andere |
| g | Gramm |
| GPS | Ganzpflanzensilage |
| kb | Kilobasen |
| M | Molar |
| MS/MS | Tandem-Massenspektrometrie |
| min | Minuten |
| mg | Milligramm |
| ml | Millimeter |
| nmol | Nanomol |
| PCR | Polymerase-Kettenreaktion |
| qPCR | quantitative PCR |
| rpm | revolutions per minute |
| R ² | Bestimmtheitsmaß |
| spp. | Spezies pluralis |
| Tab. | Tabelle |
| TM | Trockenmasse |
| vs. | versus (gegen) |
| z.B. | zum Beispiel |
| ZEA | Zearalenon |

1. Einleitung

Seit den sechziger Jahren des 20. Jahrhunderts erlebt der Maisanbau in Deutschland eine kontinuierliche Steigerung. Aufgrund der Intensivierung des Silomaisanbaus zur Energiegewinnung (Methangasproduktion) stieg die Anbaufläche für Silomais von 1.132.000 im Jahr 2000 auf 2.028.000 Hektar in 2011. Seit 2011 befindet sich der Maisanbau (Silomais und Körnermais) auf einem konstant hohen Niveau von ca. 2.500.000 Hektar. Der Körnermaisbau machte in den letzten Jahren etwa 20 % des Maisanbaus aus und nimmt seit 2011 jährlich ca. 500.000 Hektar in Anspruch.

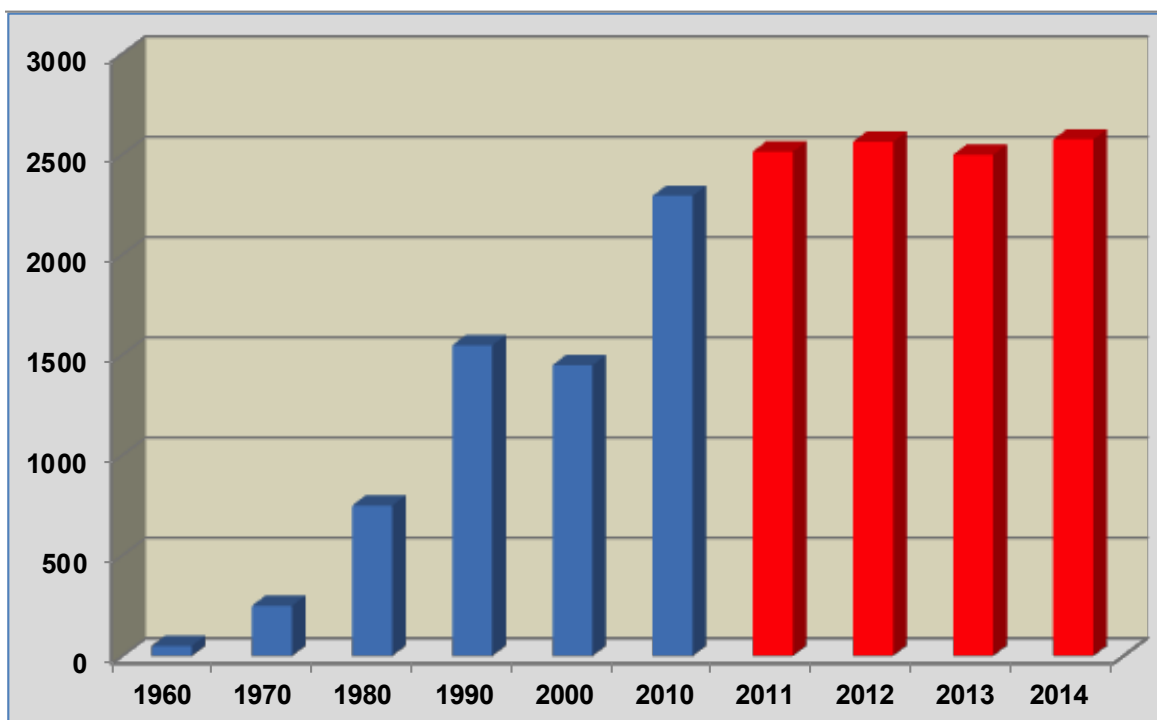


Abbildung 1: Anstieg der Anbaufläche (Silomais und Körnermais) seit 1960 in tausend Hektar (Quelle: Statistisches Bundesamt)

Stetige Anbauflächensteigerung und erhöhte Frequenz einer Kultur in der Fruchtfolgerotation verstärken den Infektionsdruck durch Schaderreger. Schädlinge wie Maiszünsler (*Ostrinia nubilalis*) und Maiswurzelbohrer (*Diabrotica virgifera virgifera*) halten deutschlandweit ebenso Einzug in die Maiskultur, wie Fusariosen (*Fusarium* spp.) und Blattkrankheiten (Augenflecken / *Kabatiella zeae* und HTR-Flecken / *Exerohilum turcicum*).

Abgesehen von Ertragseinbußen ist bei Fusariosen-Befall auch mit einer deutlichen Qualitätsminderung durch die Mykotoxinbelastungen zu rechnen. Ein breites Spektrum an Fusarien-Spezies (*Fusarium* spp.) ist in der Maiskultur nachzuweisen. Die regionalen übergeordneten Einflussgrößen Klima und Bodeneigenschaften bestimmen dabei die Artzusammensetzung und die Befallsstärke ebenso wie die Anbausystemfaktoren Fruchtfolge, Düngung und Bodenbearbeitung (Freyer, 2003). Die Beachtung und Einhaltung der „Guten fachlichen Praxis im Pflanzenschutz“ ist durch das ständig steigende und oft kritische Interesse der Bevölkerung nochmals gestiegen.

Seit Sommer 2014 stehen zwei zugelassene Fungizide für die Behandlung während der Vegetation zur Verfügung. Die Zulassungen sind jedoch mit bestimmten Auflagen gekoppelt, die unter anderem eine ausschließliche Indikation für den Blattflecken-Erreger *Exserohilum turzicum* (teleomorph: *Setosphaeria turcica*) beinhalten. Hierdurch kommt, gerade in Bezug auf die Fusariosen, der phytosanitären Anbausystemgestaltung weiterhin besondere Bedeutung zu.

Bei einem Seitenblick auf Resistenzbildungen und Sensitivitätsverluste, zum Beispiel von Blattdürre-Stämmen (*Septoria tritici*) im Weizen, dem Wirkungsverlust der Strobilurine, den Herbizidtoleranzen und -resistenzen des Ackerfuchsschwanzes (*Alopecurus myosuroides*) und anderer Unkräuter und Ungräser, liegt es nahe, vor der Einführung regelmäßiger Fungizidapplikationen die phytosanitären Möglichkeiten von Anbausystemfaktoren zu ergründen und vollständig auszuschöpfen. Das Wissen über und die Gestaltung von Anbausystemfaktoren hinsichtlich ihrer pflanzenhygienischen Wirkung (Fruchtfolge, Bodenbearbeitung, Stickstoffdüngung) ist von besonderer Bedeutung, um das Schadpotential präventiv zu reduzieren und im Falle der Notwendigkeit gezielte fungizide Gegenmaßnahmen vorzunehmen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Pathogene unterdrückende Potenzial verschiedener Fruchtfolgen, Stickstoffdüngungsintensitäten sowie Bodenbearbeitungssysteme zu untersuchen. Hierfür wurden in den Jahren 2009 bis 2011 die Mais-Fruchtfolgeglieder langjährig etablierter Biomasseversuche bzw. Fruchtfolgeversuche auf dem Versuchsgut Hohenschulen in Schleswig-Holstein hinsichtlich des Erregerspektrums, seiner Populations- und Schadensdynamik analysiert und ertraglich bewertet. Das Hauptaugenmerk der visuellen Bonitur und

Laboranalyse lag auf der Untersuchung der Erreger der Gattung *Fusarium*. Es wurden jedoch während der Vegetation alle unter den Bedingungen und Kulturführungen auftretenden Pathogene des Mais qualitativ (Erregerart) und quantitativ (Populationshöhe) erfasst.

Da sich eine mengenmäßige Einschätzung beziehungsweise Bonitur der *Fusarium*-Befallsstärken weder makroskopisch im Feld noch mikroskopisch oder mykologisch im Labor sicher und fehlerfrei realisieren lässt, ist eine quantitative Genanalyse unerlässlich. Mittels realtime Polymerase Chain Reaktion (qPCR) wurden die Ernteproben auf den Befall durch Fusariosen untersucht. Hierbei konnte der Befall eines relativ breiten Artenspektrums in variablen, von den Anbausystemen und den übergeordneten Einflussgrößen abhängigen Intensitäten, nachgewiesen werden. Die Unterteilung/Fraktionierung der geernteten Maispflanzen ermöglichte den Nachweis auch sehr kleiner Mengen von Erreger-DNA, die im gesamten Erntegut über Verdünnungseffekte unter die Nachweisgrenze fielen. Gleichzeitig wurde durch die Fraktionierung die vertikale Verteilung der verschiedenen Erregerspezies im Silomais-Erntegut nachweisbar.

2. Literaturübersicht

Fusariosen als plurivorer Erregerkomplex haben große Bedeutung in vielen Kulturarten weltweit. Fusarienarten treten in tropischen, subtropischen und gemäßigten Klimaten häufig an Kulturpflanzen auf und sind sogar in ariden oder alpinen Regionen anzutreffen (Nicolaisen et al., 2009; Flett et al., 1998; Nelson et al., 1994). In sehr seltenen Fällen können bestimmte Fusarienarten sogar lebendes menschliches Gewebe befallen (Missmer et al., 2006). Von großer Bedeutung ist, dass zahlreiche Arten des Erregerkomplexes in der Lage sind warmlüfter- und humantoxische Mykotoxine zu bilden (Nicolaisen et al., 2009; Blandino et al., 2009; Logrieco et al., 2002; Munkvold, 1997), was neben möglichen Ertragseinbußen ein Hauptmotiv zur Untersuchung der *Fusarium* spp. darstellt. Jouany (2007) beschreibt drei Schritte zur Mykotoxinvermeidung: 1. Prävention bevor Mykotoxine auftreten, 2. Intervention wenn Mykotoxinbildner aufgetreten sind und 3. Maßnahmen, wenn hohe Konzentrationen von Mykotoxinen im Erntegut nachgewiesen werden konnten. Vor dem Einsatz von Fungiziden kann die gezielte Wahl von Anbausystemparametern zur Reduktion des Fusarienbefalles beitragen, sie sind damit ein Hauptfaktor des ersten Schrittes zur Mykotoxinvermeidung (Blandino et al., 2009; Jouany, 2007; Dill-Macky, 2000). Der § 3 (1) des Pflanzenschutzgesetzes vom 06.02.2012 besagt, dass Pflanzenschutz nur nach guter fachlicher Praxis durchgeführt werden darf (PflSchG 2012). Die gute fachliche Praxis schließt die Grundsätze des Integrierten Pflanzenschutzes mit ein, das heißt, dass vorbeugende Maßnahmen wie die Wahl widerstandsfähiger Sorten und die Einhaltung phytosanitärer Fruchtfolgen und Bodenbearbeitungssysteme das Fundament eines jeden Pflanzenschutzes sind (Anonym 2010).

2.1 Biologie / Taxonomie der Gattung *Fusarium*

2.1.1 Taxonomie

Taxonomisch werden die verschiedenen *Fusarium* Spezies (spp.) den Deuteromycotina zugeordnet. Dieser Abteilung gehören Pilze an, die keine Sexualstadien besitzen, oder deren Sexualstadien nicht bekannt sind.

Systematische Darstellung (Asexuelles Stadium / anamorph) (Dörfelt, 1989)

Tabelle 1: Taxonomische Einordnung der asexuellen Formen (*Fusarium* spp. anamorph; nach Dörfelt, 1989)

| | |
|-----------|------------------------|
| Abteilung | <i>Deuteromycotina</i> |
| Klasse | <i>Hyphomycetes</i> |
| Ordnung | <i>Moniliales</i> |
| Familie | <i>Dematiaceae</i> |
| Gattung | <i>Fusarium</i> |

Dennoch gibt es sieben Fusarien-Spezies, deren Sexualstadium bekannt ist, ihre teleomorphen Formen werden wie folgt eingeordnet:

Systematische Darstellung (Sexualstadium / teleomorph)

Tabelle 2: Taxonomische Einordnung der sexuellen Formen (*Gibberella* spp. teleomorph)

| | |
|-------------|--------------------------|
| Abteilung | <i>Ascomycotina</i> |
| Klasse | <i>Sordariomycetes</i> |
| Unterklasse | <i>Hypocreomycetidae</i> |
| Ordnung | <i>Hypocreales</i> |
| Familie | <i>Nectriaceae</i> |
| Gattung | <i>Gibberella</i> |

Im Folgenden werden siebzehn Spezies der Gattung *Fusarium* aufgeführt, die von phytopathologischer Relevanz sind (Goerz, 2009; Glenn, 2007; Leslie & Summerell, 2006). Sie werden hier in Formen mit Sexualstadium und Formen ohne Sexualstadium unterteilt.

Mit bekanntem Sexualstadium:**Tabelle 3: *Fusarium* spp. (anamorph) mit bekannten Sexualformen *Gibberella* spp. (teleomorph)**

| anamorph | teleomorph |
|---------------------------------|---------------------------------|
| <i>Fusarium acuminatum</i> | <i>Gibberella acuminata</i> |
| <i>Fusarium avenaceum</i> | <i>Gibberella avenacea</i> |
| <i>Fusarium equiseti</i> | <i>Gibberella intricans</i> |
| <i>Fusarium graminearum</i> | <i>Gibberella zeae</i> |
| <i>Fusarium tricinctum</i> | <i>Gibberella tricincta</i> |
| <i>Fusarium subglutinans</i> | <i>Gibberella subglutinans</i> |
| <i>Fusarium verticillioides</i> | <i>Gibberella monilliformis</i> |

Ohne bekanntes Sexualstadium:**Tabelle 4: *Fusarium* spp. (anamorph) ohne bekannte Sexualformen *Gibberella* spp. (teleomorph)**

| anamorph | teleomorph |
|-----------------------------------|-------------------|
| <i>Fusarium crookvellense</i> | - |
| <i>Fusarium culmorum</i> | - |
| <i>Fusarium globosum</i> | - |
| <i>Fusarium langsethiae</i> | - |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | - |
| <i>Fusarium poae</i> | - |
| <i>Fusarium pseudoanthophilum</i> | - |
| <i>Fusarium proliferatum</i> | - |
| <i>Fusarium sporotrichioides</i> | - |
| <i>Fusarium semitectum</i> | - |

2.1.2 Biologie

Bei den meisten Fusariosen handelt es sich nicht um Infektionen mit einer einzelnen *Fusarium*-Spezies, vielmehr befallen gleich mehrere *Fusarium* spp. die Wirtspflanzen (Nicolaisen et al., 2003; Vogelsang et al., 2009). Die scheinbar

dominante *Fusarium*-Spezies weltweit ist *F. graminearum*, gefolgt von *F. culmorum*, *F. poae* und *F. avenaceum* (Dill-Macky et al., 2000; Rosewich Gale et al., 2002; Nicolaisen et al., 2003; Vogelsang et al., 2009). Welche Spezies zu welchen Anteilen parasitiert, ist von Jahr zu Jahr unterschiedlich und hängt intensiv mit der Witterung zusammen (Vogelsang et al., 2003). Je nach Studie und Region sind auch andere Spezies von Bedeutung. Dill-Macky et al., 2000, Rosewich Gale et al., 2002 und Vogelsang et al., 2009 nennen die Arten *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides*, als die hauptsächlich in Europa vorkommenden *Fusarium* spp.

Der Kreislauf der Infektionen läuft für Mais und Getreide-Wirtspflanzen ähnlich ab. Nach der Ernte einer befallenen Frucht, z.B. Mais, überdauern die *Fusarium* spp. an Ernterrückständen, aber vor allem an den noch stehengebliebenen Maisstoppeln (Papst et al., 2007). Werden die Stoppeln nicht restlos zersetzt, und das ist bis zur nächsten Kultur sehr unwahrscheinlich, werden von hier aus die Pflanzen der Folgefrucht infiziert (Trail et al., 2005; Gilbert und Fernando, 2004). *Fusarium* spp. mit einem Sexualstadium (Tabelle 3) infizieren zu Beginn der Vegetation mit Ascosporen und können später auch über Konidiosporen infizieren (Infektionen von überdauernden Konidiosporen ist nicht ausgeschlossen). *Fusarium* spp. mit fehlendem Sexualstadium infizieren ausschließlich über Konidiosporen (Trail et al., 2005; Gilbert und Fernando, 2004). Infiziert wird über Verletzungen, über die Narbenfäden der Blüte und in Sonderfällen (Schlüter et al., 2006) auch über die Wurzeln. Hierzu siehe auch 2.2.1 Eintrittspforten

2.2 Auftreten und Vorkommen

Laut Levitin (2001), Bottalico und Perrone (2002), Waalwijk et al. (2004) und Nicolaisen et al. (2009) kommen neben *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* auch noch die *Fusarium* spp. *F. langsethiae* und *F. tricinctum* in den Wirtskulturen in Nord und Mitteleuropa vor. *F. graminearum* und *F. culmorum* sind hierbei offenbar die weltweit am häufigsten auftretenden *Fusarium* spp. (Vogelsang et al., 2009; Nicolaisen et al., 2003; Rosewich Gale et al., 2002; Dill-Macky et al., 2000). Prinzipiell sind alle Getreidearten und der Mais potentielle Wirtspflanzen für die *Fusarium* spp., wobei

Weizen und Mais deutlich stärker befallen werden als Gerste oder Roggen (Vogelsang et al., 2009; Nicolaisen et al., 2009; Waalwijk et al., 2004)

2.2.1 Eintrittspforten

Die Infektionen der *Fusarium* spp. gehen vom befallenen Stoppelmateriale der Vorkultur aus (Papst et al., 2007; Mansfield et al., 2005; Edward, 2004; Obst, 2002, Dill-Macky und Jones, 2000). Auf den Ernterückständen einschließlich der Stoppeln findet die Bildung und Reifung der Sporen statt (Beyer et al., 2006; Schaafsma et al., 2005; Munkvold, 2003). Von hier aus können Ascosporen unter geeigneten Bedingungen aktiv ausgeschleudert und windbürtig über größere Distanzen transportiert werden (Trail et al., 2005). Konidiosporen und Ascosporen sind natürlich auch in der Lage nahestehende Wirtspflanzen zu befallen (Papst et al., 2007; Champeil et al., 2004; Munkvold, 2003; Parry et al., 1995). Die Konidiosporen können in der Luft, in Regentropfen (Wasserspritzern) und auch auf Insekten zu den Infektionsstellen an den Pflanzen getragen werden. Infektionen mit *Fusarium* spp. (und *Aspergillus*) sind signifikant mit durch Insekten und auch durch von Vögeln (Fraßschäden) verursachte Schäden korreliert (Abbas et al., 2006; Leilani et al., 2007). Viele Infektionen erfolgen also über kleine und größere Verletzungen, in denen Ascosporen und Konidiosporen keimen. Je jünger und empfindlicher das Pflanzengewebe ist, desto größer ist die Gefahr von Infektionen, ausgereiftes Gewebe ist nicht mehr so anfällig (Munkvold, 2003; Logrieco et al., 2002). Ein weiterer, häufiger Infektionsweg geht über die Narbenfäden zu Beginn der weiblichen Blüten (Munkvold, 2003; Logrieco et al., 2002). Schlüter et al. (2006) haben für *F. culmorum* auch bodenbürtige Infektionen in die Wurzeln der Maispflanze festgestellt. Von hier aus kann systemisches Wachstum erfolgen (Schlüter et al., 2011; Schlüter et al., 2006)

2.3 Witterungseinfluss / Klima

Von den vielen Einflüssen, die das Auftreten von Fusariosen beeinflussen können, ist die übergeordnete Umwelt-Einflussgröße Witterung der bestimmende Einflussfaktor für das Auftreten der verschiedenen *Fusarium*-Spezies (Mansfield et al., 2005; Bottalico und Perrone, 2002). Aufgrund der humiden, milden Klimate kommen laut Levitin (2001), Bottalico und Perrone (2002), Waalwijk et al. (2004) und Nicolaisen et al. (2009) neben den Spezies *F. graminearum* *F. culmorum* *F. poae* *F. avenaceum* *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* auch noch die *Fusarium* spp. *F. langsethiae* und *F. tricinctum* in den Wirtskulturen in Nord- und Mitteleuropa vor. *F. graminearum* und *F. colmorum* sind hierbei offenbar die am häufigsten auftretenden *Fusarium* spp. (Vogelsang et al., 2009; Nicolaisen et al., 2003; Rosewich Gale et al., 2002; Dill-Macky et al., 2000). *F. culmorum*, *F. poae* und *F. avenaceum* sind mit niedrigeren Temperaturansprüchen an kühle Klimate besser angepasst als *F. graminearum* (Brennan et al., 2005; Bottalico und Peerone, 1998; Cook und Christen, 1976). Die Temperaturoptima der *Fusarium* spp. variieren zum Teil erheblich. Die herrschenden Temperaturen zur Vegetation können das Auftreten verschiedener Arten fördern oder auch hemmen. (Brennan et al., 2005; Bottalico und Peerone, 1998; Cook und Christen, 1976).

Mansfield et al. (2005) wiesen hohe positive Korrelationen zwischen den Temperaturen zur Blüte und zur Abreife und den Deoxynivalenol-Gehalten (DON) im Erntegut nach. Die Witterung hat generell maßgeblichen Einfluss auf die Erregerentwicklung und auf die Entstehung von Epidemien (Papst et al., 2007; Mansfield et al., 2005; Doohan et al., 2003; Bottalico und Perrone, 2002). Daher können Kulturmaßnahmen nur einen Teil zu der Entwicklung bzw. zur Verringerung von Epidemien beitragen, die Witterung über das Jahr, aber vor allem während der Vegetationsphase bestimmt das Infektionsgeschehen.

2.4 Mykotoxine / Mykotoxinbildung

Mykotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen. Einige wenige Schimmelpilzgattungen produzieren die meisten bekannten Mykotoxine. Die wichtigsten hiervon sind *Fusarium*, *Penicillium* und *Aspergillus* (Schmidt, 2003).

Verschiedene, weltweit auftretende *Fusarium* Spezies, verursachen Halmbasiserkrankungen und partielle Taubährigkeit (Ährenfusariosen) bzw. Kolben- und Stängelfäule und die hiermit assoziierten Mykotoxinbelastungen in Getreide, Gräsern und Mais. Mykotoxine verursachen eine ganze Reihe von Gesundheitsproblemen in der Viehhaltung (Blandino et al., 2009). Yoshizawa et al. (1994) brachten Mykotoxine (Fumonisine) auch mit Speiseröhrenkrebs und Missmer et al. (2006) sogar mit Neuralrohrdefekten (Embryobiologie) in Verbindung.

Fusarium spp. sind in der Lage, warmlütertoxische und humantoxische Mykotoxine aus den Gruppen der Trichothecene, Zearalenon, Fumonisine und das Moniliformin zu bilden. Ebenso wurde Beauvericin und Fusaproliferin in von Fusarien infizierten Maiskolben gefunden (Logrieco et al., 2002).

Auch wenn die A-Trichothecene T-2 Toxin, Neosolaniol und Diacetoxyscripenol als die giftigsten Mykotoxine gelten (Torp und Langseth, 2000), sind aufgrund des starken Vorkommens von *F. graminearum* (Dill-Macky et al., 2000; Rosewich Gale et al., 2002; Vogelsang et al., 2009) die Mykotoxine Deoxynivalenol und Zearalenon die bedeutendsten Mykotoxine. Deoxynivalenol und Zearalenon werden häufig in den von der Kolbenfäule infizierten Pflanzenteilen gefunden. Hierbei handelt es sich dann insbesondere um Infektionen mit *F. graminearum* (Logrieco et al., 2002; Yoshizawa et al., 1994).

Beim Auftreten von *F. poae* und *F. sporotrichioides* wurde oft T-2 Toxin gefunden. Belastungen durch *F. avenaceum* und *F. subglutinans* führen gewöhnlicherweise zu Anreicherungen von Moniliformin, während das karzinogene Fumonisin B₁ von *F. verticillioides* gebildet wird. In Tabelle 5 sind wichtige Mykotoxinbildner und die entsprechend gebildeten Mykotoxine aufgeführt (Logrieco et al., 2002; Blandino et al., 2009). Anschließend werden einzelne, wichtige Mykotoxine genauer charakterisiert.

Tabelle 5: Mykotoxinbildende Fusarium-Spezies mit assoziierten Mykotoxinen (AcDON = MONO-Acetyldeoxynivalenol; BEA = Beauvericin; DAS = Diacetoxyscripenol; DON = Deoxynivalenol; FB₁ = Fumonisin B₁; FUP = Fusaproliferin; FUS = Fusarenone-X; HT2 = HAT-2 Toxin; MON = Moniliformin; Neosolaniol; NIV = Nivalenol; T2 = T-2 Toxin, ZEA = Zearalenon) Fett gedruckte Spezies und Mykotoxine haben größere Bedeutung für die vorliegende Arbeit. (Tabelle verändert nach Logrieco et al., 2002)

| <i>Fusarium</i> Spezies | Mykotoxine |
|---|---|
| <i>F. avenaceum</i> | MON, BEA |
| <i>F. cerealis</i> (Syn. <i>crookwellense</i>) | NIV, FUS, ZEA |
| <i>F. culmorum</i> | DON, ZEA, NIV, FUS, ZOH, AcDON |
| <i>F. equiseti</i> | ZEA, ZOH, u.a |
| <i>F. graminearum</i> | DON, ZEA, NIV, FUS, ZOH, AcDON u.a |
| <i>F. poae</i> | DAS, NIV, FUS, u.a |
| <i>F. proliferatum</i> | FB , BEA, MON, FUP u.a. |
| <i>F. sporotrichioides</i> | T2, HT2, NEO u.a. |
| <i>F. subglutinans</i> | BEA, MON, FUP |
| <i>F. tricinctum</i> | MON, BEA |
| <i>F. verticillioides</i> | FB u.a. |

2.4.1 Deoxynivalenol (DON)

Deoxynivalenol ist ein polares, in Wasser gut lösliches B-Trichothecen und kann zumindest von *F. graminearum* und *F. culmorum* gebildet werden. In verschiedenen Untersuchungen in Österreich (1996) und Italien (1989) konnte in 95% der mit *F. graminearum* infizierten Pflanzen DON nachgewiesen werden (Logrieco, et al., 2002). DON ist also unter anderem eng mit *F. graminearum* assoziiert. Wie andere Trichothecene auch, kann DON eine ganze Reihe von toxischen Reaktionen bei Labor- und Nutztieren hervorrufen. Genannt seien hier Verdauungsprobleme wie Erbrechen (Vomitoxin), Entzündungen der Haut, Blutungen der inneren Organe, Hämolyse (Auflösung der roten Blutkörperchen), Abbau des Knochenmarks und Beeinträchtigung der Antikörper- und Zellimmunabwehr. Über bestimmte Stoffwechselreaktionen wird bei Aufnahme von DON der Serotoninspiegel erhöht, was den Appetit anregt. Dies führt in der Fütterung zur Verstärkung der Problematik (Liesner, 2012; Horeváj et al., 2011; Logrieco et al., 2002). Verschiedene Spezies zeigen unterschiedliche starke Reaktionen gegenüber DON, wobei Schweine und

Pferde die höchste Sensibilität aufweisen. Auch für den Menschen wurden die toxischen Wirkungsweisen impliziert, weshalb das „Joint WHO/FAO Expert Committee on Food Additives“ provisorisch eine maximal tolerierbare tägliche Aufnahme von 1 µg/kg Körpergewicht festgesetzt hat. Im Körper wird DON zu DON-Glukoronid oder zu Deepoxy-DON umgewandelt und innerhalb von 24 Stunden zu 95% über den Urin ausgeschieden. DON scheint nicht kanzerogen zu sein (Liesner, 2012).

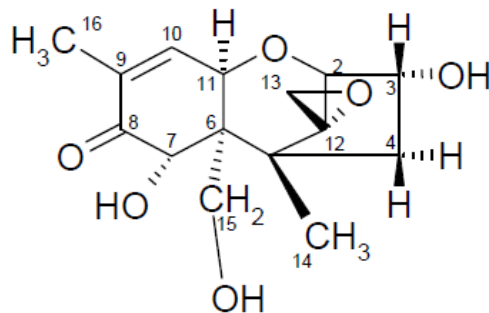


Abbildung 2: Deoxinivalenol (Strukturformel)

2.4.2 Zearalenon (ZEA)

Zearalenon wird wie DON von *F. graminearum* und *F. culmorum* gebildet, kann aber mindestens auch von *F. equiseti* und *F. cerealis* gebildet werden. ZEA ist das am weitesten verbreitete Mykotoxin in Agrarprodukten (Logrieco et al., 2002) und kann oft auch in sehr hohen Konzentrationen im Mais nachgewiesen werden (Nicolaisen et al., 2009; Logrieco et al., 2002; Logrieco et al., 2001). ZEA ist ein uterotropischer, östrogener Stoff, der für wiederkehrende Vergiftungserscheinungen bei Nutztieren verantwortlich ist. Hyperöstrogene Effekte bei Schweinen und Unfruchtbarkeit sowie Minderwuchs bei Rindern und Geflügel sind die Folge (Logrieco et al., 2002; Kuiper-Goodman et al., 1987).

2.4.3 Fumonisine (FB₁, FB₂, FB₃)

Fumonisine wurden zuerst aus *F. verticillioides* isoliert. *F. proliferatum*, *F. oxysporum* und eine Vielzahl von in der Maiskultur eher nicht vorkommenden *Fusarium* spp. sind ebenso Fumonisinbildner (IARC, 2002; Logrieco et al., 2002). Fumonisine, vor allem Fumonisin FB₁, treten in bedeutsamen Gehalten in der

Maiskultur und in einer großen Anzahl auf Mais basierenden Futter- und Lebensmitteln auf. Bei Kontamination von Futtermitteln durch FB₁ kommt es zu verschiedenen gesundheitlichen Problemen bei Nutztieren. FB₁ kann zu Erkrankungen des zentralen Nervensystems bei Pferden, bei Schweinen zu Lungenödemen und hepatischen Syndromen (Lebererkrankungen) sowie zu Minderwuchs des Geflügels und Leber- und Immunerkrankungen der Rinder führen. In den 90er Jahren des 20. Jahrhunderts konnte in unterschiedlichen Untersuchungen ein statistischer Zusammenhang von FB₁ kontaminierten Lebensmitteln und Speiseröhrenkrebs beim Menschen (HEC) nachgewiesen werden (Logrieco et al., 2002; IARC, 2002; Marasas, 1995).

Fumonisin B1, B2 und B3 haben hepatotoxische, also leberschädigende Wirkungen und sind zusätzlich krebserregend (Yoshizawa et al., 1994). In Südafrika, China und dem Südosten der USA konnte eine hohe Korrelation zwischen Fumonisininkonzentrationen und Speiseröhrenkrebs festgestellt werden (Logrieco et al., 2002; Marasas, 1995).

2.5 Anbausystemparameter

Anbausystemfaktoren wie Stickstoffdüngung, Fruchtfolgewirkung sowie die Bodenbearbeitung haben einen maßgeblichen Einfluss auf den Fusarien-Erreger-Druck auf dem Mais- bzw. Getreideschlag (Oldenburg et al., 2009; Obst, 1998). Unter den beeinflussbaren Faktoren wurden die Vorfrucht, die Art der Bodenbearbeitung, die Weizensorte und Fungizidanwendungen als die wichtigsten Einflussfaktoren für die Belastung von Weizen mit DON identifiziert (Bayer, 2006).

2.5.1 Sorteneinfluss

Studien des Institutes für Phytopathologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (Birr, 2013) zeigen, dass die Mykotoxingehalte von Silomaisproben durch die Sortenwahl beeinflusst werden können. Auch Oldenburg et al. (2009) konnten unterschiedliche Belastungen mit dem *Fusarium*-assoziierten Toxin DON bei unterschiedlichen Maissorten feststellen. Die Einschätzung der Anfälligkeit der Sorten wird durch die starke Abhängigkeit der Fusarieninfektionen von Umwelteinflüssen (Witterung) erschwert, weshalb mehrortige Feldversuche und

überregionale Untersuchungen nötig sind. Die Fusarienanfälligkeit der Maishybriden hängt von der Sensibilität der Eltern-Inzuchtlinien ab und wird nicht allein durch Heterosiseffekte bedingt (Melchinger et al., 2009). In einer Untersuchung der Universität Hohenheim wurden adaptierte europäische Maissorten und Testkreuzungen auf Resistenzen untersucht. Hierbei konnte festgestellt werden, dass das vorhandene, adaptierte Zuchtmaterial Resistenzen aufweist. Einkreuzung von Resistenzen aus nicht adaptierten Pflanzen scheint nicht nötig zu sein. Zur Resistenz-Zuchtmethodik wird hier erwähnt, dass aufwändige und teure Analyseverfahren erst in späteren Selektionsstufen nötig sind. Vorher reicht eine visuelle Bonitur der Kolben zur Ernte (Melchinger et al., 2009).

Abbas et al. (2006) zeigten die Wahrscheinlichkeit des Vorhandenseins von pleiotropen QTL's auf, welche multiple Resistenz gegen *Fusarium* spp. und *Aspergillus* spp. und die damit assoziierten Mykotoxine bewirken könnten.

2.5.2 Stickstoffdüngung / Stickstoffversorgung

Mit steigender Stickstoffdüngung im Mais und anderen Kulturen steigen zwar die Stickstoffaufnahme und der Protein- bzw. Stickstoffgehalt, gleichzeitig sinkt jedoch die Stickstoffnutzungseffizienz (Nitrogen Use Efficiency NUE) deutlich, wodurch es zu Auswaschungen und Grundwasserbelastungen kommt (Yi et al., 2006). Es besteht eine deutliche negative Korrelation zwischen der Stickstoffnutzungseffizienz und dem Anstieg der Stickstoffdüngung (Yi et al., 2006; Halvorson et al., 2004).

Auch der hohe Gehalt an Stickstoffverbindungen und vor allem löslichem Stickstoff in der Pflanze sind nicht nur positiv zu betrachten. Hierdurch steigt die Anfälligkeit gegenüber Schaderregern, wobei gerade pilzliche Erreger eine übergeordnete Rolle spielen. Bulluck und Ristaino (2001) beschreiben den pathogenfördernden Einfluss von rein synthetischer Düngung im Vergleich zur intensiv gestalteten organischen Düngung mit kompostiertem Tierdung, diese besitzt pathogenreduzierende Eigenschaften (Bulluck et al., 2002; Bulluck und Ristaino, 2001; Mutitu et al., 1988). Dem widersprechend konnten Lemmens et al. (2004) keine signifikanten Effekte der Art der Stickstoffdüngung auf die Entwicklung von *Fusarium* spp. im Weizen feststellen. Lemmens et al. (2004) konnten signifikanten *Fusarium*-Ährenbefallsanstieg (Taubährigkeit des Weizens/*Fusarium*-Head-Blight = FHB) bei steigenden Stickstoffintensitäten von 0 auf 80 kg N/ha nachweisen. Bei

höheren Stickstoffgaben bis 160 kg N/ha stagnierten die Befallsstärken und die gemessenen DON-Gehalte im Weizen (Lemmens et al., 2004). Veresoglou et al. (2013) arbeiteten heraus, dass für eine große Mehrheit der Kulturpflanzen und pilzlichen Pathogene mit gesteigerter Stickstoffdüngung auch ein Anstieg der Pathogenbelastung einherging. Sie konnten jedoch auch charakteristische Ausnahmen hiervon beobachten.

2.5.2.1 Stickstoffversorgung – Catchcrops

Stickstoffdüngung ist ein elementarer Baustein zur Ertragsgenerierung im Ackerbau in Deutschland. Intensive Hohertrags-Landwirtschaft ist abhängig von Düngergaben und dabei vor allem von industriell produziertem NH_4 und NO_3 (Tilman et al., 2002). Eine ausgewogene Stickstoffdüngung ist notwendig für die gesunde und schnelle Entwicklung von Kulturpflanzen. Bulluck und Ristaino (2001) beschreiben jedoch auch Befallsanstiege von Pathogenen (wie auch *Fusarium* spp.) bei rein synthetischer Düngung im Vergleich zur intensiv gestalteten organischen Düngung.

Lemmens et al. (2004) wiesen Befallsanstiege von *Fusarium* spp. in Weizen bei steigenden Stickstoffintensitäten bis 80 kg N/ha nach. Veresoglou et al. (2013) bestätigen positive Korrelationen zwischen Stickstoffdüngung und Pathogenbefallsintensität. Gestiegene Aktivitäten und Befallsstärken durch erhöhte Stickstoffgaben werden auch von Veresoglou et al. (2013), Bulluck et al. (2002), Bulluck und Ristaino (2001) und Mutitu et al. (1988) bestätigt. Lemmens et al. (2004) weisen jedoch auch auf charakteristische Kultur- bzw. pathogenspezifische Variabilität hin.

2.5.3 Fruchtfolgewirkung

„Die Fruchtfolge (Rotation) umfasst die geplante zeitliche Aufeinanderfolge von Fruchtarten auf einem Feld über mehrere Jahre“. (Freyer, 2003). Als Aufgaben einer als nachhaltig zu bezeichnenden Fruchtfolgegestaltung werden die Ertragsfunktion, die **phytosanitäre Funktion**, die Ressourcenschutzfunktion, die landeskulturelle Funktion und die betriebswirtschaftliche Funktion gesehen (Freyer, 2003). Eine variabel gestaltete Fruchtfolge kann die Nachhaltigkeit der

Landwirtschaft positiv beeinflussen, denn multiple Anbausysteme, die Fruchtfolgerotationen, Zwischenfrüchte und/oder Mischkulturen (Untersaaten) nutzen, können dem Pflanzenschutz dienen und die Nährstoff- und Wasserausnutzung steigern (Tilman et al., 2002). „Je häufiger eine Kultur oder verwandte Arten auf ein und demselben Schlag angebaut werden, umso höher ist im Allgemeinen das Risiko, dass Schaderreger im Boden oder an Pflanzenresten überdauern“ (Freyer, 2003).

Pilzliche Pathogene wie *Fusarium* spp. überdauern an Pflanzenresten und Stoppeln. Von hier aus infizieren sie die anfällige Folgefrucht über Ascosporen- und Konidiosporenflug (Papst et al., 2007; Mansfield et al., 2005; Edward, 2004; Obst, 2002; Dill-Macky und Jones, 2000).

2.5.4 Bodenbearbeitung

Die unterschiedlichen Bodenbearbeitungssysteme - Pflug-Bodenbearbeitung, reduzierte Bodenbearbeitung und Stoppelsaat (no till) - haben signifikante Effekte auf die Entwicklung von Pathogenen wie *Fusarium* spp. (Edwards, 2004; Dill-Macky und Jones, 2000; Obst, 1997). Zur Beeinflussung der Fusariosen im Weizen müssen Bodenbearbeitungssysteme in die Strategie einbezogen werden (Schlüter et al., 2011; Beyer et al., 2006; Edwards, 2004; Obst, 1997). Auch Wakelin et al. (2007) betonen den Einfluss von Stoppeln und Vorfruchtresten der Fusarien-Wirtspflanzen auf den Gehalt von Fusarien-DNA im Boden und sehen die Notwendigkeit der Integration eines sinnvollen Stoppelmanagements. Dill-Macky und Jones (2000) haben gezeigt, dass pfluglose Bodenbearbeitung nach Mais oder Weizen signifikant erhöhte DON-Werte in der Folgefrucht verursachen kann. Direkt gesäter Weizen (no till) nach Mais kann im Vergleich mit der Aussaat nach Pflugbodenbearbeitung sogar zehnfach erhöhte DON-Gehalte aufweisen (Obst et al., 1997). Wie Dill-Macky und Jones (2000) und Obst (1997) anhand der DON-Werte in den Folgefrüchten nach Mais gezeigt haben, konnte auch mit der vorliegenden Arbeit ein vergleichbarer Effekt über die gestiegenen Fusarien-DNA-Gehalte nachgewiesen werden.

Die Bodenbearbeitung kann auch auf die Artzusammensetzung der *Fusarium* spp. im Boden und damit potentiell auch auf das Spektrum in den folgenden Kulturen Einfluss nehmen (Wakelin et al., 2007). *F. graminearum* ist nicht so persistent im

Boden wie *F. culmorum*, weshalb *F. culmorum* durch konsequentes Pflügen nach jeder Wirtskultur (z.B. Weizen oder Mais) im Vergleich zu *F. graminearum* gefördert wird (Schlüter et al., 2011; Schlüter et al., 2006). Gelangen Maisstoppel nach der Ernte oder vor der erneuten Mais-Aussaat im Frühjahr mit dem Pflug in tiefere Bodenschichten, so wird die Rotte verlangsamt, beim nächsten Pflügen gelangt infiziertes Detritus der Vorkulturen mit einer Vielzahl aktiver Dauersporen in die aktuelle Aussaat und kann direkt über die Wurzel oder über Ascosporen die höher inserierten Pflanzenteile infizieren (Schlüter et al., 2011; Papst et al., 2007; Schlüter et al., 2016; Mansfield et al., 2005; Edwards, 2004).

3. Material und Methoden

In diesem Kapitel werden die in dieser Arbeit verwendeten Materialien und Methoden des Anbausystemversuchs im Feld und der anschließenden Untersuchungen sowie der molekularbiologischen Analysen im Labor erläutert.

3.1 Verwendete Materialien, Reagenzien und Geräte

3.1.1 PCR und qPCR-Materialien/Kits

Klebefolie (optisch klar) für 96 Multiply
PCR-Platte Sarstedt AG, Nümbrecht - GER

96 Multiply PCR-Platte Sarstedt AG, Nümbrecht - GER

DNA-Leiter GeneRuler™ 1 kB Fermentas Life Sciences, St. Leon-Rot
- GER

NucleoSpin® Plant II Macherey - Nagel GmbH & Co. KG,
Düren - GER

3.1.2 Chemikalien für die PCR und qPCR

Biozym LE Agarose Biozym Scientific GmbH, Hess,
Odendorf – GER

Bromphenolblau Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe -
GER

dNTP Mix (2 mM) Fermentas Life Sciences, St. Leon-Rot -
GER

DreamTaq™ Puffer (10 x) Fermentas Life Sciences, St. Leon-Rot -
GER

EDTA SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Tauf-
kirchen – GER

Ethidiumbromid (10 mg/ml) Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe -
GER

Stickstoff (flüssig) Linde, Höllriegelskreuth - GER

| | |
|--|--|
| SYBR-Green (Sso Advanced TMSYBR®-Green Super-mix) | BIO-RAD Laboratories, Hercules, Kalifornien – USA |
| Saccharose | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |

3.1.3 Enzyme für die PCR-Analyse/DNA-Extraktion

| | |
|--|---|
| Lyticase from <i>Arthrobacter luteus</i> (2387 units/mg TM) | SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Taufkirchen - GER |
| RNase A (lyophilized) | Macherey-Nagel GmbH & Co KG, Düren - GER |
| Dream Taq DNA-Polymerase (5 u/µl) | Fermentas Life Sciences, St. Leon-Rot - GER |

3.1.4 Medien für die PCR (qualitative)

| | |
|---------------------------------------|---|
| PDA (Potato Dextrose Agar) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| PDB (Potato Dextrose Bouillon) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| SNA (Synthetic Nutrient Poor Agar) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| SNB (Synthetic NutrientPoor Bouillon) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |

3.1.5 Materialien für die Mykotoxinanalyse

| | |
|--|--|
| Gewindeflasche 1,5 ml (vial) für LC/MS | VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| DONPREP® | R-Biopharm Rhone, Glasgow - UK |
| 15 ml Schraubgefäß | Sarstedt AG, Nümbrecht - GER |
| 50 ml Schraubgefäß | Sarstedt AG, Nümbrecht - GER |

| | |
|--|--|
| Faltenfilter MN 615 ¼ (Ø 125 mm) | Macherey - Nagel GmbH & Co. KG, Düren - GER |
| Mikroeinsatz (für Gewindeflasche) | VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| MycoSep® 226 AflaZon+ | Romer Labs®, Inc. Union, MO - USA |
| Schraubkappe 1,5 ml (für Gewindeflasche) | VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| Septum 8 mm (für Schraubkappe) | VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| Spritzen Injekt® 5 ml (Luer Solo) | Braun Melsungen AG, Melsungen - GER |
| 13 mm Syringe Filter (w/0,2 µm PTFE) | VWR, West Chester, Pennsylvania – USA |

3.1.6 Chemikalien für die Mykotoxinanalyse

| | |
|--|---|
| 37 % HCl (p.a.) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| Acetonitril (LC/MS-Grade) | VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| Acetonitril (HPLC-Grade) | VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| Acetonitril (p.a.) | VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| Ameisensäure (p.a.) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| Ammoniumformiat (p.a.) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| DON-3-Glucosid (D3G) solution in Acetonitril (50 µg/ml) | SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Tauf- kirchen - GER |
| Diacetoscirpenol (DAS) | SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Tauf- kirchen - GER |

| | |
|-------------------------|--|
| Dichloran (96 %) | SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Taufkirchen – GER |
| Deoxynivalenol (DON) | SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Taufkirchen – GER |
| Essigsäure (p.a.) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| Ethanol (p.a.) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| Methanol (HPLC-Grade) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| Natriumacetat (p.a.) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| Natriumchlorid (p.a.) | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| Stickstoff (flüssig) | Linde, Höllriegelskreuth - GER |
| Tris (p.a) | SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Taufkirchen - GER |
| Tween 80 | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe - GER |
| VE-Wasser (HPLC-Grade) | VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| VE-Wasser (LC/MS-Grade) | VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| Zearalenon (ZEA) | SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Taufkirchen – GER |

3.1.7 Labor und Geräte

| | |
|--------------------------------------|---|
| Messermühle La Mulinette 1000 | Tefal, Group SEB, Offenbach – GER |
| Polaris 5 C18-A-Säule (150 x 3,0 mm) | Varian Inc., Palo Alto, Kalifornien – USA |

| | |
|---|---|
| Rotormühle Pulverisette 14 Schüttler | Fritsch, Idar-Oberstein - GER Edmund Bühler GmbH, Hechingen – GER |
| Schwingmühle (Ball mill) TissueLyser Thermoblock Digital Heatblock | Qigan, Hilden - GER VWR, West Chester, Pennsylvania - USA |
| Transformator (für Gelkammer) POWER PAC 300 | BIO-RAD Laboratories, Hercules, Kalifornien - USA |
| Vakuumpumpe Vacuum Pump V700 (für Vakuumzentrifuge) | BÜCHI Labortechnik AG, Flavil - CH |
| Vakuumzentrifuge S Concentrator BA- VC-300H | H. Saur Laborbedarf, Reutlingen - GER |
| Vortexer VF 2 | IKA® Werke GmbH & Co. KG, Staufen - GER |
| Vortexer VORTEX-GENIE-MIXER 2 Wasserbad LAUDA E100 | EYDAM KG, Kiel - GER Lauda GmbH & Co KG, Königshofen - GER |
| Zentrifuge Biofuge pico Zentrifuge Centrifuge 5804R | Heraeus, Osterode – GER Eppendorf, Hamburg – GER |
| LC/MS 500-MS IT Mass Spectrometer Gelkammer SUB-CELL®GT | Varian Inc., Palo Alto, Kalifornien - USA BIO-RAD Laboratories, Hercules, Kalifornien - USA |
| qPCR iCycler™ RealTimePCR | BIO-RAD Laboratories, Hercules, Kalifornien - USA |

3.2 Versuchsaufbau

Im Rahmen des Maisprojektes des Instituts für Phytopathologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel wurden in den Jahren 2009 bis 2011 langjährig angelegte Ackerbausysteme des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der CAU zu Kiel bezüglich ihres Einflusses auf die Entwicklung unterschiedlicher Pathogene im Mais untersucht. Der Silomais zweier, seit 2004 bzw. 2006, etablierter Versuchsanlagen auf dem Versuchsgut Hohenschulen der CAU zu Kiel wurde während der Vegetationsphasen 2010 und 2011 auf Pathogene im Mais bonitiert. Die bonitierten Versuchspartzellen lieferten auch das Probenmaterial, welches in vier Fraktionen aufgeteilt wurde und analytischen sowie molekularbiologischen Tests unterzogen wurde (2009, 2010 und 2011). Diese Versuchsfelder wurden ausgewählt, da sich hier die Gelegenheit ergab, die hier etablierten Fruchtfolgen auch auf phytosanitären Eigenschaften zu untersuchen.

3.2.1 Versuchsgut Hohenschulen – Standortbeschreibung

Das Versuchsgut Hohenschulen liegt am Rande des östlichen Hügellandes im Kreis Rendsburg-Eckernförde. Bei den Schlägen, auf denen die Versuchsfelder etabliert sind, handelt es sich um den Schlag „Backhaus“ und den Schlag „Kleine Kronskoppel“, auf dem seit 2004 ein Fruchtfolgeversuch – V98 – etabliert ist (Abbildung 3). Auf den Schlägen kommt eine lessivierte Braunerde mit einer Ackerzahl von ca. 50-60 Bodenpunkten vor. Bodensystematisch lassen sich hier vor allem Teile von Braunerde, Parabraunerde und Pseudogley-Parabraunerde unterscheiden.

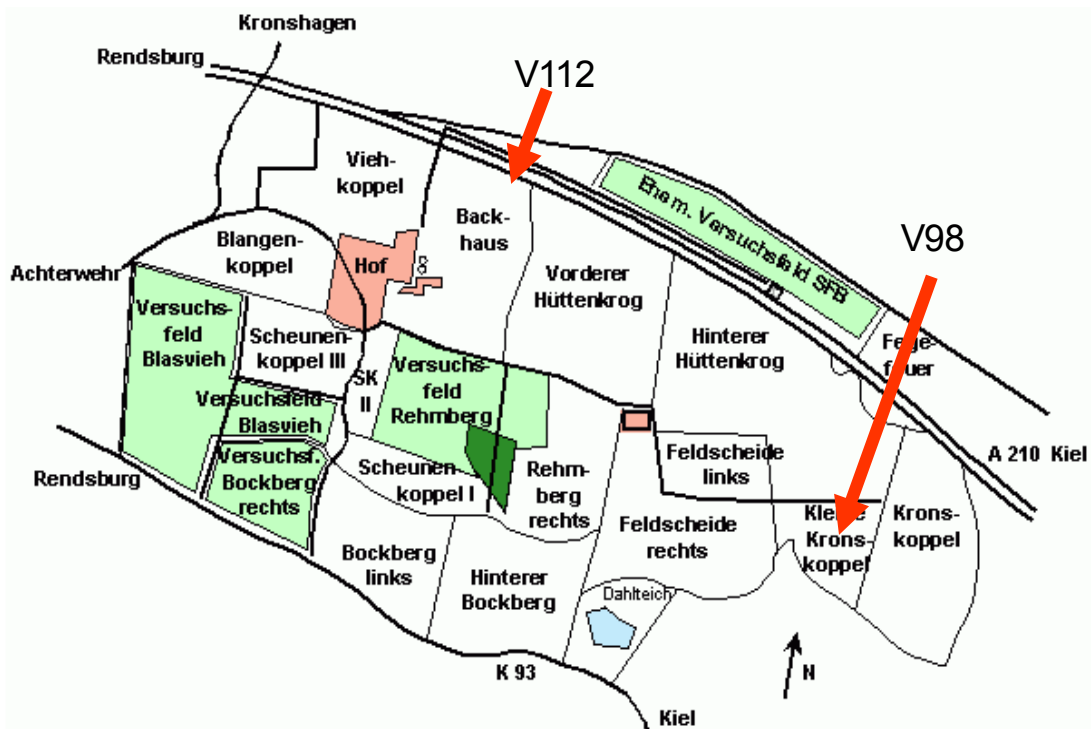


Abbildung 3: Lageplan des Versuchsgutes Hohenschulden (Quelle: Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der CAU zu Kiel)

3.2.2 Klima am Standort Hohenschulden

In Schleswig-Holstein herrscht maritimes, vom Meer beeinflusstes Wetter. Milde, humide Winter und kühle, niederschlagreiche Sommer sind charakteristisch für Schleswig-Holstein. Die - verglichen mit dem kontinentalen Klima - verhältnismäßig geringen jahreszeitlichen Temperaturschwankungen resultieren aus der Wärme-/Temperaturspeicherung des Meeres. Weiterhin haben häufig über Schleswig-Holstein und Norddeutschland hinwegziehende Tiefdruckgebiete, die atlantische Luftmassen heranführen, großen Einfluss auf das wechselhafte humide Klima Schleswig-Holsteins.

Auf dem Versuchsgut Hohenschulden sind die Niederschläge von ca. 700 mm jährlich verhältnismäßig ausgeglichen verteilt. Dennoch muss in acht von zehn Jahren von April bis Anfang/Mitte Juni mit Frühjahrestrockenheit und im Oktober mit vermehrten, die Ernte (Mais) und die Bestellung behindernden, Niederschlägen gerechnet werden.

3.2.3 Versuchsanlagen am Standort Hohenschulen

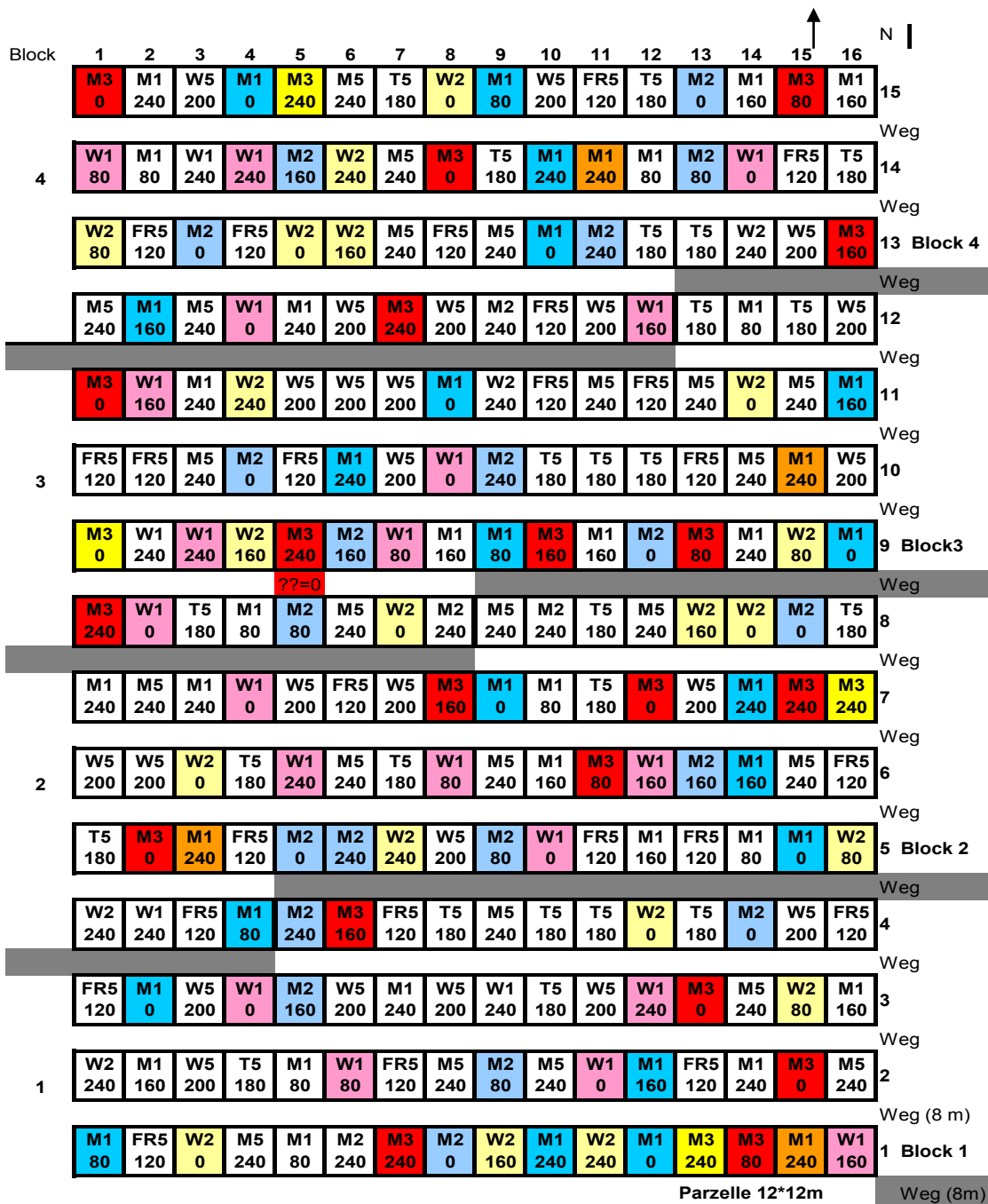
Bei den oben erwähnten Versuchsanlagen handelt es sich einerseits um den 2004 etablierten Fruchtfolgeversuch (Versuch V98 des Versuchsgutes Hohenschulen der CAU zu Kiel) bei dem auf dem Schlag „Kleine Kronskoppel“ (Abbildung 3) Fruchtfolgestrategien zur Verminderung der Stickstoffproblematik nach Raps erarbeitet werden sollten und um den 2006 im Rahmen des Biogas-Expert-Projektes angelegten Biomasseversuch (Versuch V112 des Versuchsgutes Hohenschulen der CAU zu Kiel). In diesem Biomasseversuch (V112) sollten Fruchtfolgen und Anbausysteme mit der besten Biogasausbeute und der höchsten Rentabilität ermittelt werden. Dieser Versuch lag auf dem Schlag „Backhaus“ siehe Abbildung 3.

3.2.3.1 Biomasseversuch: Versuchsfläche 112 (V112)

Von den in diesem Versuch enthaltenen Varianten wurden die Maismonokultur und zwei Mais– Winterweizenfruchtfolgen mit Zwischenfrüchten (Tabelle 6) bonitiert und beprobt. Die vierte, in Tabelle 6 und in Abbildung 4 dargestellte Fruchtfolge gab es so nur in 2011, es handelt sich hierbei um Parzellen mit langjährig wendender Bodenbearbeitung in der Maismonokultur und 240 kg N/ha.

Tabelle 6: Die am Versuchsstandort Hohenschulen auf dem Schlag „Backhaus“ etablierten Fruchtfolgen mit der erfolgten Bodenbearbeitung. (G) steht für Bodenbearbeitung mit dem Grubber, (P) steht für wendende Pflugbodenbearbeitung. Bei dem Weizen handelt es sich um Winterweizen. Die vierte hier dargestellte Fruchtfolge gab es so nur in 2011 es handelt sich hierbei um langjährig wendende Bodenbearbeitung, in 2011 wurde erstmals auf die wendende Bodenbearbeitung verzichtet.

| Fruchtfolge | Kultur | Kultur | Zwischenfrucht |
|-------------|----------|----------------|----------------|
| 1 | (P) Mais | (P) Mais | ----- |
| 2 | (P) Mais | (P) Weizen GPS | Weidelgras |
| 3 | (P) Mais | (P) Weizen | Gelbsenf |
| 4 | (P) Mais | (G) Mais | ----- |



- 31 -

pfluglos Mais Mono FF1
pfluglos Mais n. KW (und Senf)

| | | | | |
|----|--------------|-----|---------|-------------|
| M1 | Mais Mono | FF1 | Pflug | ‘Ronaldino’ |
| W1 | GPS-Weizen | FF2 | Grubber | ‘Biscay’ |
| M2 | Mais n. Gras | | Pflug | ‘Ronaldino’ |
| W2 | Körnerweizen | FF3 | Grubber | ‘Biscay’ |
| M3 | Mais n. Senf | | Pflug | ‘Ronaldino’ |

Parzelle schematisch

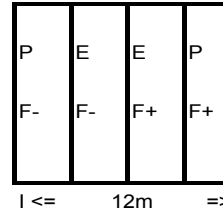


Abbildung 4: Versuchsplan der Versuchsfläche 112 (Biomasseversuch) aus dem Versuchsjahr 2011; Bedeutung der Parzellenbeschriftung siehe Legende; jedes Fruchtfolgeglied erscheint jedes Jahr mit vier Wiederholungen (ausgenommen ist die pfluglose Variante der Maismonokultur (nur 2011))



Abbildung 5: Biomasseversuch (V112)

Im Versuchsjahr 2011 wurde erstmals nur der Grubber eingesetzt, um den einmaligen Verzicht auf Pflugbodenbearbeitung zu dokumentieren. Alle Fruchtfolgen wurden in Parzellen mit vier Stickstoffintensitätsstufen zu 0 kg N/ha, 80 kg N/ha, 160 kg N/ha und 240 kg N/ha in jeweils vierfacher Wiederholung angelegt (Abbildung 4). Bis einschließlich 2009 wurden mit 0 kg N/ha, 160 kg N/ha, 240 kg N/ha und 360 kg N/ha höhere Stickstoffintensitäten gefahren. Ab 2010 gelten die oben angegebenen Intensitäten. Wie im Fruchtfolgeversuch (V98) erscheint jedes Versuchsglied jedes Jahr, in diesem Versuch allerdings mit vier Wiederholungen.

3.2.3.2 Fruchtfolgeversuch: Versuchsfläche 98 (V98)

Zum Versuchsbeginn des Instituts für Phytopathologie in 2009 wurde die Versuchsfläche im fünften Jahr mit zwei viergliedrigen und zwei dreigliedrigen Fruchtfolgen beziehungsweise Anbausystemen mit unterschiedlichen Bodenbearbeitungsregimen bewirtschaftet. Bei den dreigliedrigen Fruchtfolgen handelt es sich um die klassischen Winterraps – Winterweizen – Wintergerste-Fruchtfolgen mit unterschiedlichen Bodenbearbeitungsintensitäten. Die erste viergliedrige Fruchtfolge besteht aus Erbsen – Winterraps – Mais – Winterweizen, und die zweite viergliedrigen Fruchtfolge aus Mais – Winterweizen – Wintergerste – Winterraps (Tabelle 7). Die Mais enthaltenden Fruchtfolgen stehen im Fokus der Arbeit, die dreigliedrigen Fruchtfolgen werden erwähnt, da sie in der Versuchsanlage enthalten sind (Abbildung 6) und daher gegebenenfalls einen Einfluss auf die nebenstehenden Parzellen haben können. Alle Fruchtfolgen

wurden in Parzellen mit vier Stickstoffintensitätsstufen zu 0 kg N/ha, 80 kg N/ha, 160 kg N/ha und 240 kg N/ha in jeweils vierfacher Wiederholung angelegt (Abbildung 6). Jedes Fruchtfolgeglied erscheint in jedem Jahr mit drei Wiederholungen.

Tabelle 7: Am Versuchsstandort Hohenschulen auf dem Schlag „Kleine Kronsoppel“ etablierten Fruchtfolgen mit der erfolgten Bodenbearbeitung. (G) steht für Bodenbearbeitung mit dem Grubber (P) steht für wendende Pflugbodenbearbeitung. Bei Raps, Weizen und Gerste handelt es sich um Winterungen.

| Fruchtfolge | Kultur | Kultur | Kultur | Kultur |
|-------------|------------|------------|------------|------------|
| 1 | (G) Erbsen | (G) Raps | (G) Mais | (P) Weizen |
| 2 | (P) Raps | (P) Weizen | (P) Gerste | ----- |
| 3 | (G) Raps | (G) Weizen | (G) Gerste | ----- |
| 4 | (P) Raps | (G) Mais | (G) Weizen | (P) Gerste |

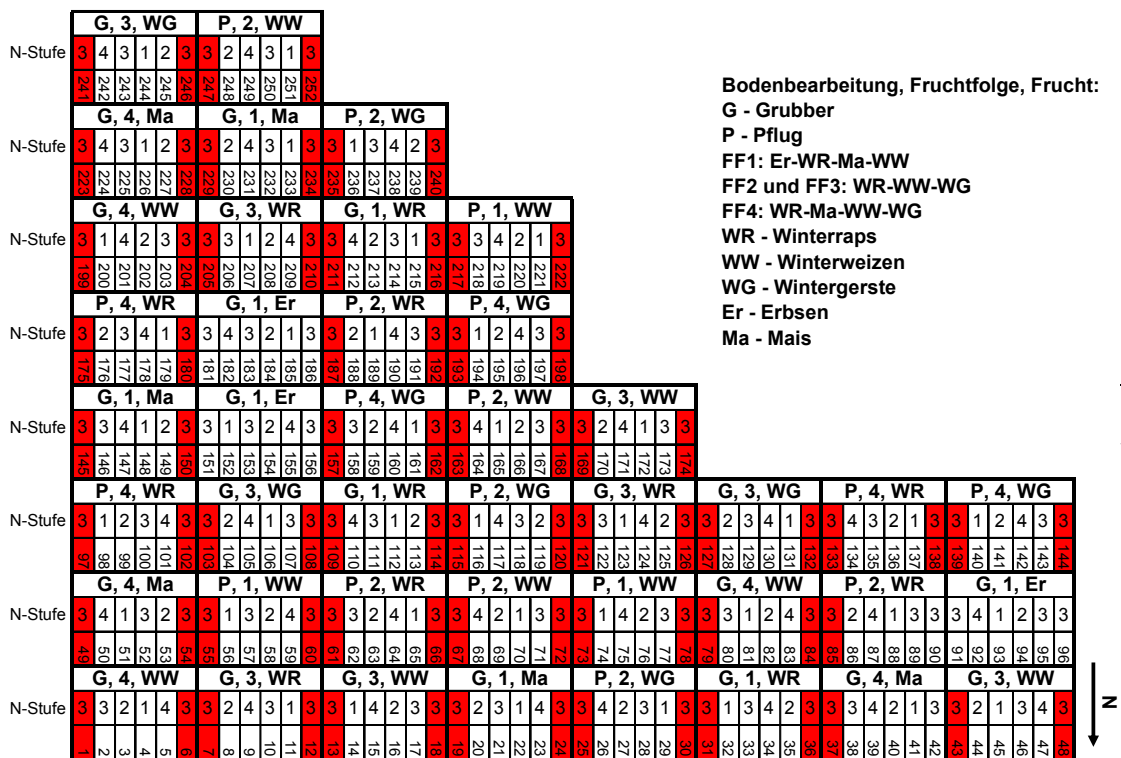


Abbildung 6: Versuchsplan der Versuchsfläche 98 (Fruchtfolgeversuch); Die rot markierten Parzellen sind seit 2010 fungizidfrei bearbeitet; G/P stehen für Grubber/Pflug, Nummerierung bezeichnet die Fruchtfolge, wie in der Legende beschrieben; WW=Winterweizen, WR=Winterraps, WG=Wintergerste, Er=Erbsen, Ma=Mais; jedes Jahr erscheint jedes Fruchtfolgeglied in drei Wiederholungen; Die einzelnen Parzellen (Querbalken, Bsp.: G, 4, WW) sind in Randparzellen (rot) und die vier Stickstoffintensitätsstufen eingeteilt

3.3 Versuchsdurchführung / Bonitur / Beprobung

In den Versuchsjahren 2010 und 2011 wurde eine über die Vegetationsphase begleitende Bonitur durchgeführt. Hierzu wurden 10 Pflanzen (Kolbenfusariosen 20 Pflanzen) der einzelnen Parzellen zur Bonitur über alle Blattetagen herangezogen. Zur Bonitur wurden die Pflanzen in die Fraktionen Unten, Mitte, Oben unterteilt. Hierbei wurde die Pflanze vom Grund bis zwei Blattetagen unter dem Hauptkolben als untere, der Hauptkolben mit den beiden darunter und darüber befindlichen Blattetagen als mittlere und der darüber folgende Pflanzenteil als obere Fraktion betrachtet. Die Pflanzen wurden nicht aus dem Bestand entnommen, sondern im Feld auf Blattkrankheiten und Fusariosen visuell (makroskopisch) untersucht.

3.3.1 Bonitur der Blattkrankheiten

Zunächst wurde der Grad der Nekrotisierung in Prozent der Blattfläche der oben beschriebenen Fraktionen erfasst. Der Befall mit Blattkrankheiten wie *Kabatiella zaeae*, *Exerohilum turcicum* und *Puccinia sorghi* (Syn. *P. maydis*) wurde ebenfalls in Prozent der befallenen Blattfläche der Fraktionen ermittelt. Da der Fokus der Arbeit auf der Wirkung unterschiedlicher Anbausysteme auf die Fusarienentwicklung lag und der Befall durch Blattkrankheiten in den Jahren 2010 und 2011 sehr gering ausfiel, wurden zur Vereinfachung die Befallsintensitäten der drei Fraktionen zusammengelegt. *Kabatiella*-Augenflecken war die einzige Blattkrankheit die nennenswert auftrat. Der Befall wird in Befallsstärke im Bestand (BSB), also der durchschnittlichen befallenen Blattfläche in Prozent dargestellt. Dies ermöglicht eine übersichtlichere Darstellung der Blattkrankheiten in Bezug zur Fusarienentwicklung in den Beständen und erfüllt den Zweck der Einordnung der Ertragswirksamkeit der unterschiedlichen Pathogene.



Abbildung 7: . *Kabatiella zeae* Augenflecken mit deutlich nekrotisiertem Zentrum

3.3.2 Bonitur der Fusariosen

Eine Bonitur der Fusariosen kann sich, an nicht den Beständen entnommenen Pflanzen, nur auf eine äußere Betrachtung stützen. So wurden die Pflanzen gleichzeitig mit der Blattfleckenbonitur auch auf Symptome von Stängel- und Kolbenfäule untersucht. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass die Symptome nicht den einzelnen Fusarienstämmen zugeordnet werden können. Gerade bei Stängelfäulesymptomen kann nicht mit Sicherheit von Fusarien gesprochen werden. Die Bonituren stellen subjektive Anhaltspunkte dar und müssen durch die späteren Laboranalysen bestätigt oder widerlegt werden. Braune, wässrige Flecken mit oder ohne weißem oder weiß-rosa Myzel im Stängelbereich wurden als Stängelfusariosen bonitiert. Hierbei wurden keine prozentualen Befallsstärken (BSB) ermittelt, die Bonitur beschränkte sich auf die Befallshäufigkeit im Bestand (BHB). Das heißt Symptome an einer der 20 bonitierten Pflanzen entsprachen 5 % BHB etc.

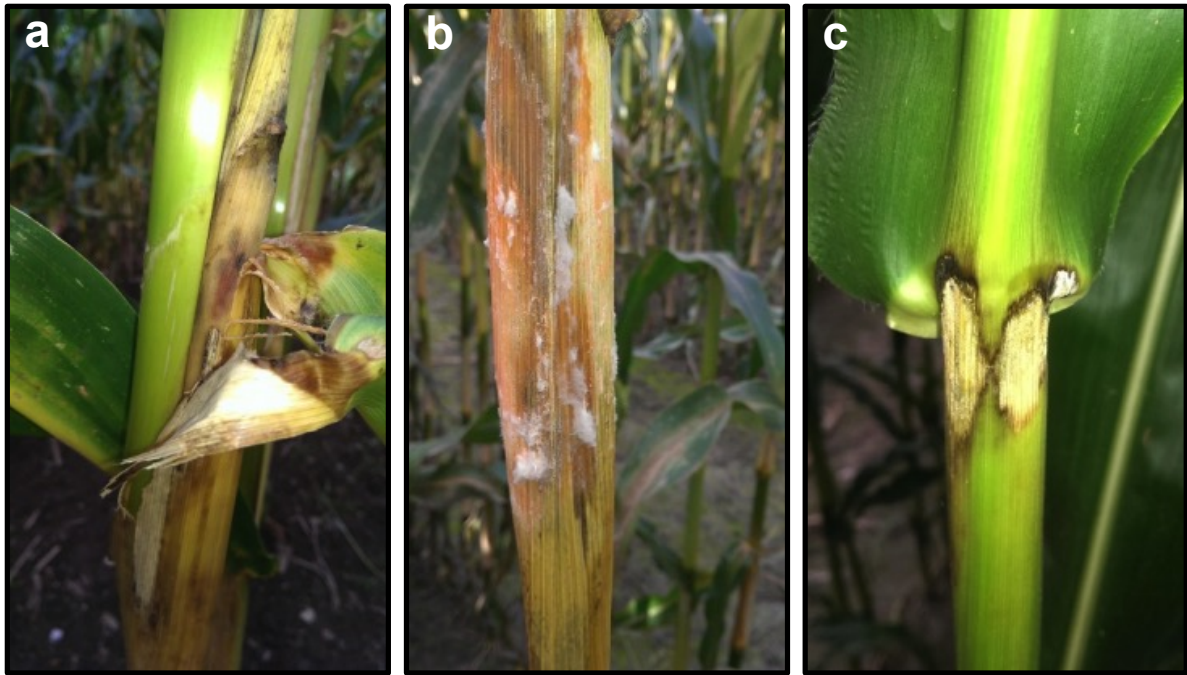


Abbildung 8: Stängel und Kolbenfäule *Fusarium* spp.; an zweitem unausgebildetem Kolben (a und b) und am Stängel in der Blattachse (c)

Kolbenfusariosen wurden ebenso als BHB bonitiert. Pflanzen mit deutlichen bräunlichen Verfärbungen mit und ohne Myzel wurden als befallen bonitiert. Auch hier konnten keine unterschiedlichen Stämme differenziert werden.

Im Bestand beschränkte sich die Bonitur des offensichtlichen Befalls mit Fusariosen während der Vegetation im Wesentlichen auf den Befall des zweiten, nicht vollständig entwickelten Kolbens. Deutlicher, visuell ermittelbarer Befall des Hauptkolbens konnte erst zum letzten Boniturtermin ermittelt werden, da vorher nicht die Möglichkeit zum Öffnen der Lieschblätter bestand (Eintrittspforten). Das heißt, dass 90 % der als befallen bonitierten Pflanzen lediglich bräunlich verfärbte, nichtentwickelte Kolben besaßen. Weiterhin konnten keine oder kaum Symptome während der Vegetation an den intakten Pflanzen festgestellt werden. Stängelfäule-Symptome oder rosa Myzel an den Hauptkolben konnten nur in seltenen Ausnahmefällen zu späteren Boniturterminen festgestellt werden. Aufgrund dieser Probleme bei der Differenzierung von unterschiedlichem Fusariosenbefall wurde in den Boniturdiagrammen der Befall von Stängel- und Kolbenfusariosen zusammengelegt. Die Differenzierung der Fusariosen (*Fusarium* spp.) und des Befalls der verschiedenen Pflanzenteile muss daher allein auf Basis der DNA-Analysen erfolgen. Zur Beprobung der Maisbestände zum

Silomaiserntetermin wurden die Lieschblätter der Hauptkolben abgezogen, damit nun auch hierunter verborgene Infektionen bonitiert werden konnten. Die Blätter blieben an den Pflanzen, damit sie später auch den richtigen Proben zugeordnet werden konnten und es nicht zu Verdünnungs- oder Konzentrationseffekten kommt.

3.3.3 Beprobung für DNA- und Mykotoxin-Analyse

Die Beprobung der Parzellen erfolgte zur Siloreife zu BBCH 83-85. Es wurden alle Parzellen innerhalb von 2 Tagen abgeerntet, auch wenn die verschiedenen Varianten aufgrund unterschiedlicher Stickstoffdüngung leichte Abweichungen im Abreifegrad aufwiesen. In 2009 wurde der Silomais mit dem Häcksler geerntet. Diese Proben enthalten also die gesamte Pflanze ab ca. 20 cm Schnitthöhe. Um auch lokale Akkumulationen von Fusarien und Mykotoxinen nachweisen zu können, die in der Ganzpflanze durch Verdünnungseffekte nicht mehr nachweisbar wären, sind in den Jahren 2010 und 2011 zehn Pflanzen je Parzelle in Bodenhöhe per Hand geerntet worden und in vier Fraktionen unterteilt worden.

3.3.3.1 Fraktionierung

Für die Fraktionierung wurden die Pflanzen zufällig aus dem Bestand entnommen. Aus der Mitte der Beprobungsparzellen wurden fünf Pflanzen einer Reihe und fünf Pflanzen einer nebenliegenden Reihe, ohne vorherige Bonitur oder Bewertung gewählt. Zur Ernte wurden die Pflanzen direkt über dem Boden geschnitten. Anschließend erfolgte eine Fraktionierung in vier Pflanzenbereiche. Die erste Fraktion stellten die Stoppel, also der Pflanzenteil, der bei der Ernte auf dem Feld verbliebe und im nächsten Jahr einen Großteil des Inokulums stellen würde. Die Schnitthöhe im Versuch betrug in etwa 25 cm. Bei der zweiten Fraktion handelte es sich um den Stängelteil von der Schnitthöhe bis direkt unter den zweiten nicht ausgebildeten, beziehungsweise ausgereiften Kolben. Die dritte Fraktion bildete der nicht ausgebildete und meist abgestorbene zweite Kolben inklusive des Stängelabschnittes an dem dieser inseriert war. Die vierte Fraktion umfasste den Kolben, zuzüglich der restlichen, oberhalb des Kolbens liegenden Pflanzenteile

und stellte damit die mit Abstand größte Fraktion dar. Zur Fraktionierung des Probenmaterials siehe auch Abbildung 9.

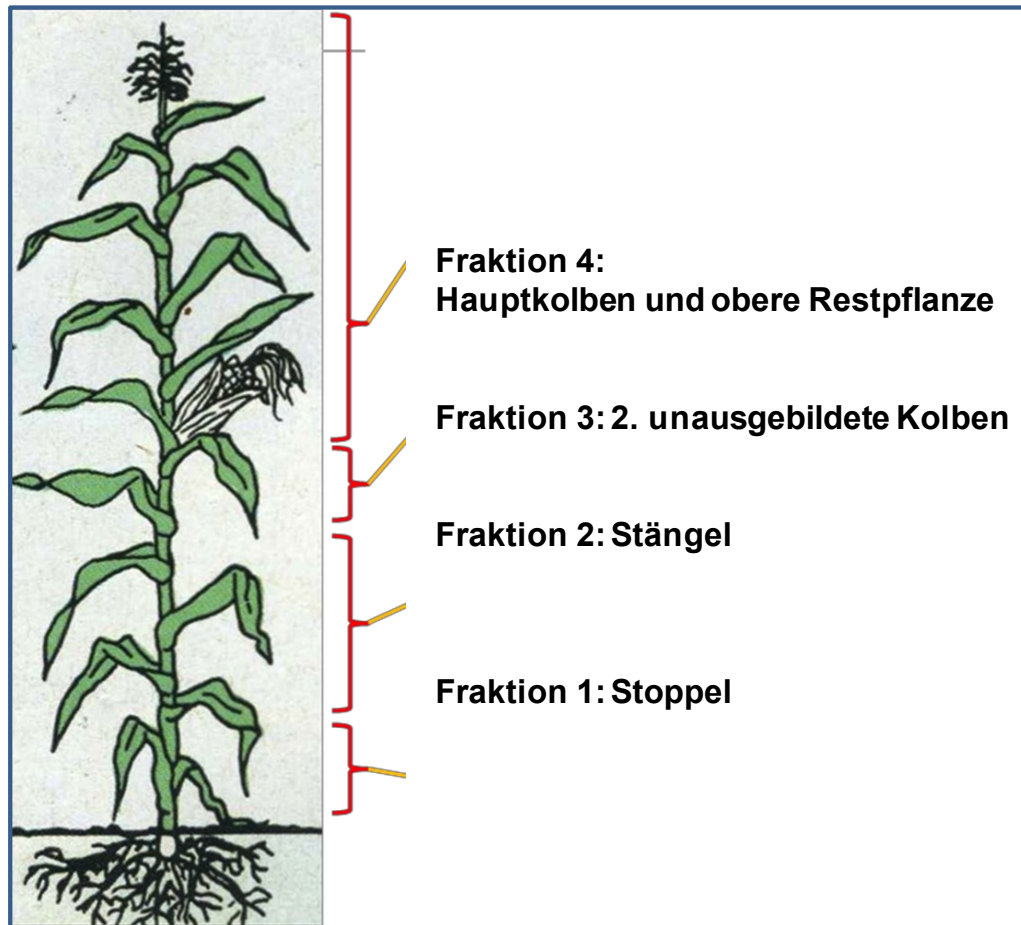


Abbildung 9: Fraktionierung der Versuchspflanzen aus den Beprobungspartellen

3.3.3.2 Probenaufbereitungen

Nach der Ernte wurden die Pflanzen im Labor in die vier beschriebenen Fraktionen aufgeteilt. Die zehn Pflanzen einer jeden Variante und der vier Wiederholungen wurden mit Hilfe von Rosen- und Astscheren in die Fraktionen unterteilt. Die Fraktionen wurden anschließend mit Rosen- und Astscheren auf eine einheitliche Größe von ca. 2-3 cm Stängellänge gebracht, dabei wurden Nodien und Kolben auch längs geteilt, da es sonst Probleme bei der weiteren Zerkleinerung gegeben hätte. Das Werkzeug wurde nach jeder Fraktion, Variante und Wiederholung gründlich mit Wasser gereinigt. Nach dem Abtrocknen wurde mit Natrium Hypochlorit (NaClO) nachgereinigt, um auch DNA-Spuren zu

beseitigen, welche die nächsten Proben hätten kontaminieren können. In der Mulinette® wurden die noch frischen Pflanzenteile auf ca. 0,5 cm Größe weiter zerkleinert. Ebenso wie das Werkzeug wurden die Mulinetten® nach jeder Fraktion/Variante/Wiederholung mit Wasser und NaClO gereinigt. Die zerkleinerten Fraktionen der jeweils zehn Pflanzen wurden in Natronbeutel (Papiertüten) abgefüllt und bei 58°C im Trockenschrank auf > 90 % TM getrocknet. Nach der Trocknung wurden alle Fraktionen eingewogen, um später den Anteil der Belastungen auf die gesamte Pflanze beziehungsweise den Silomais umrechnen zu können.

Vor dem Mahlvorgang erfolgte eine gründliche Durchmischung des Probenmaterials und eine anschließende Entnahme einer Teilprobe, welche etwa die Hälfte der jeweiligen Fraktion umfasste. Dieser Schritt war nötig, um die großen Probenmengen in angemessener Zeit praktikabel verarbeiten zu können. Nach der Trocknung konnten die Proben in der Pulverisette® in zwei Schritten, auf zuerst 1 mm und dann 0,2 mm Teilchengröße vermahlen werden. Die gemahlene Proben einer jeden Fraktion/Variante/Wiederholung wurden wieder gut durchmischt, um ein dem gesamten Probenmaterial einer Parzelle entsprechendes Gemenge zu erhalten. Diese Schritte dienen dazu, ein möglichst homogenes Gemisch der einzelnen Proben zu erzeugen, da für die Mykotoxinextraktion sowie der molekularbiologische Analyse zum Teil nur sehr geringe Mengen eingewogen wurden.

3.4 Analytik / Mykotoxine

Der Nachweis von Deoxynivalenol und Zearalenon sämtlicher Proben erfolgte mit Hilfe der LC/MS-Technik (Liquid-Chromatographie-Massenspektroskopie). Die notwendige Extraktionsmethode wird im Folgenden dargestellt.

3.4.1 Probenaufbereitung zur Ermittlung der Mykotoxingehalte mittels LC/MS-Analytik

Für die Extraktion der Mykotoxine (DON und ZEA) aus dem Pflanzenmaterial wurden drei Gramm des auf 0,2 mm vermahlene Probenmaterials in verschließbare Glaskolben eingewogen. Nach der Zugabe von 50 ml

Acetonitril/Wasser (Acetonitril, 99,5 %, (VWR, West Chester, PA - USA) 3:1 destilliertes Wasser) kamen die Proben zur Extraktion für eine Stunde auf einen Probenschüttler der Firma Edmund Bühler GmbH, Hechingen, Deutschland. Nach der Extraktion wurde das Extrakt mit Hilfe von Faltenfiltern mit einem Durchmesser von 12 mm, der Firma Macherey - Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland von dem festen Pflanzenmaterial getrennt. 20 ml des Extraktes wurden mit ca. 1 g NaCl (Kochsalz) in 50 ml Schraubgefäß (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland) gegeben und zur Phasentrennung auf dem Probenmischer der Firma Vortex gemischt. Hierbei wird dem Acetonitril-Wasser-Gemisch das Wasser entzogen. Die Mykotoxine verbleiben in der Acetonitril-Phase, welche über der wässrigen Phase steht. 8 ml der oberen Acetonitril-Phase wurden in ein Glasröhrchen gegeben. Zur Aufreinigung der mykotoxinhaltigen Lösung wurde die Probe durch eine Säule mit der Bezeichnung MycoSep® 226 AflaZon, der Firma Romer Labs, Union, MO – USA, gepresst (näheres Vorgehen siehe Gebrauchsanweisung). Nach der Säulen-Aufreinigung wurde das gereinigte Extrakt in eine 10 ml Spritze mit Aufsatzfilter (0,2 µl, VWR, West Chester, PA - USA) überführt und in ein Becherglas gespritzt. Der Aufsatzfilter entfernt eventuell bei der Säulen-Aufreinigung zurückgebliebene Schwebstoffe. Aus den Bechergläsern wurden exakt 4 ml filtrierte Lösung in 15 ml Schraubgefäße (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland) pipettiert und anschließend in einer Vakuumzentrifuge (H. Saur Laborbedarf, Reutlingen, Deutschland) bei 59 °C vollständig verdampft/eingeengt. Die konzentrierten Mykotoxine wurden mit reinem, für die LC/MS geeignetem, Acetonitril (LC/MS - Grade, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) in den Schraubgefäßen in zwei Schritten mit jeweils 0,2 ml gelöst und in 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt. Nochmals wurden die Proben in der Vakuumzentrifuge vollständig eingeengt und anschließend mit 50 µl Acetonitril (LC/MS – Grade) gelöst. Dies geschah bei 40 °C in einem Ultraschall-Wasserbad, welches alle Anhaftungen von der Gefäßinnenwand lösen sollte. Aus dem Eppendorf-Reaktionsgefäß wurden die 50 µl Konzentrat mit einer Feinpipette in spezielle Vials für die LC/MS-Analytik einpipettiert.

3.4.2 LC/MS-Analyse (Liquid Chromatographie Massenspektroskopie)

Nach der Mykotoxinextraktion (3.4.1.) wurde der Gehalte an DON und ZEA in einer LC/MS-Anlage (500 - MS LC/MS-System Ionenfalle Sub - Cell GT, Varian, South Taft CA - USA) erfasst. Die Anlage wurde für die Messungen beider Mykotoxine mit einer „reversed phase-Säule“ vom Typ: Polaris 5C18-A, 150 x 3,0 mm mit einer Partikelgröße von 5 µm betrieben. Als Laufmittel wurde ein Acetonitril - Wasser - Gemisch mit 0,1 % Ameisensäure, 98 % (Carl Roth GmbH & Co. KG) und 2 mM Ammoniumformiat, 95 % (Carl Roth GmbH & Co. KG) verwendet.

In der Tabelle 8 ist der Verlauf des Acetonitril-Wasser-Gradienten in der Säule der LC/MS-Anlage dargestellt.

Tabelle 8: Verlauf des Gradienten in der LCMS-Anlage (Acetonitril-Wasser)

| Laufzeit (min) | Acetonitril (%) | Wasser (%) |
|-----------------------|------------------------|-------------------|
| 0 | 3 | 97 |
| 8 | 97 | 3 |
| 13 | 97 | 3 |
| 15 | 3 | 97 |

Die Ionenerzeugung erfolgte mittels Elektrospray - Ionisation (ESI). Die Addukte wurden positiv ionisiert. Für die positive Ionisierung der Fragmente wurde Stickstoff als Trocknungsgas verwendet. Die ESI wurde mit einer Ionenfalle gekoppelt und im MS/MS - Modus gemessen. Die untere Nachweisgrenze der LC/MS-Anlage lag für DON bei 188 nmol/kg und für ZEA bei 3 nmol/kg. Es wurden ausschließlich externe Standards für eine Quantifizierung genutzt.

3.5 Molekularbiologie / DNA-Extraktion / qPCR und Primer

Für den Nachweis der Intensität der spezifischen Fusarienbefälle wurde eine quantitative Genanalyse, die realtime-PCR bzw. quantitativ Polymerase-Chain-Reaction (qPCR) durchgeführt. Hierfür musste zunächst aus dem vorbereiteten Material das Erbgut, die DNA extrahiert werden. Dies geschah mit dem Extraktionskitt NucleoSpin® Plant II, der Firma Machery und Nagel. Anschließend erfolgte die Messung der Proben im qPCR-Block iCycler® der Firma Biorad. Zur

Ermittlung der relevanten *Fusarium* spp. wurde zu Beginn der Laborarbeiten qualitative PCR durchgeführt. Da nach Erarbeitung eines funktionierenden (quantitativen und qualitativen) qPCR-Protokolls hierüber auch die qualitative Bestimmung unkomplizierter zu realisieren war, wurden die relevanten *Fusarium* spp. mit qPCR abschließend ermittelt. Daher wird hier nicht näher auf die herkömmliche qualitative PCR eingegangen.

3.5.1 DNA-Extraktion

Von dem auf 0,2 mm vermahlenden Probenmaterial wurde 0,07 - 0,1 g in ein 2 ml Reaktionsgefäß der Firma Eppendorf eingewogen. Zu dem Probenmaterial wurden 800 µl „Cell Lysis Buffer“ PL1 zur Auflösung der Zellwände pipettiert. Nun musste die Probe vollständig resuspendiert/rückbefeuchtet sein, so dass beim Mischen auf dem Vortex-Gerät eine vollständige Durchmischung erreicht werden konnte und kein Probenmaterial auf dem Boden anhaften blieb, was die Extraktion negativ beeinflusst hätte. In seltenen Fällen, abhängig von der Probenbeschaffenheit, mussten 200 µl PL1-Puffer zusätzlich hinzugefügt werden. In diesen Fällen mussten auch die später folgende RNase und der PC-Puffer (DNA binding conditions) im Verhältnis angeglichen werden (siehe auch NucleoSpin® Plant II user manual 03/2010, Rev.04). Bei einer guten Mischbarkeit konnten nun 20 µl RNase auf 800 µl PL1-Puffer und Probenmaterial gegeben werden. Anschließend wurde bei 65 °C für 30 Minuten im Wasserbad inkubiert. Hieran anschließend wurde für 45 Minuten mit 10 µl Lyticase bei 37 °C im Thermoblock inkubiert. Zwischen und während den Inkubationsschritten wurde die Probe regelmäßig vorsichtig durch Inversion gemischt. Zur Trennung der festen Bestandteile von den flüssigen wurde die Suspension bei 11x g zentrifugiert. Der Überstand wurde auf eine Aufreinigungssäule des NucleoSpin® Plant II Kits pipettiert und zentrifugiert. Dieser Schritt musste wiederholt werden, um den gesamten Überstand aufzureinigen zu können. Nach der Reinigung wurde das Extrakt mit 900 µl PC-Puffer (binding conditions) in einem 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß vermischt. Hiernach konnte die DNA per Zentrifugation auf eine Silicamembrane aufgetragen werden. Dieser Schritt musste ebenfalls zwei Mal durchgeführt werden um die DNA des gesamten Extraktes auf die Silicamembrane aufzutragen. Der nächste Schritt war die Reinigung und Trocknung der

Membrane. Hierzu wurden in drei Schritten die Reinigungs-Puffer PW1 und PW2 durch die Membrane zentrifugiert. Erster Schritt 400 µl PW1 (1min 11 x g), zweiter Schritt 700 µl PW2 und dritter Schritt 200 µl PW2 (2min 11 x g). Zum Eluieren der DNA von der Membrane wurden 45 µl des Elutions-Puffer PE auf die Silicamembrane aufgetragen und bei 70 °C für 5 Minuten inkubiert. Die gelöste DNA wurde für eine Minute bei 11 x g in ein 1,5 ml Eppendorf-Gefäß zentrifugiert. Dieser Schritt wurde mit 30 µl PE-Puffer wiederholt, um die DNA-Ausbeute zu erhöhen, wobei die DNA-Konzentration allerdings etwas sinkt. (Zusätzliche Informationen siehe im „user manual“ des Extraktions-Kits NucleoSpin® Plant II der Firma Machery und Nagel – 03/2010, Rev.04)

3.5.2 Quantitative Genanalyse (qPCR)

Zur quantitativen Befallsbewertung der Proben wurde das Verhältnis der Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA ermittelt. Im Gegensatz zur klassischen PCR, bei der nur die Anwesenheit der Ziel-DNA nachgewiesen werden kann, ist die qPCR in der Lage, die DNA-Menge zu bestimmen. Vereinfacht dargestellt, wird die PCR in viele Schritte aufgeteilt. Bei jedem einzelnen Schritt – eine saubere Reaktion vorausgesetzt – wird die DNA verdoppelt. Nach jedem Schritt oder auch Zyklus wird mit einer hochsensiblen Kamera ein Bild von dem qPCR-Ansatz (gelöste DNA + Nukleotide + Polymerase + Sybrgreen®) in den Reaktionskammern der Mikrotiterplatten erstellt. Der Farbstoff im Sybrgreen®-Mix setzt sich zwischen die neu gebildeten DNA-Stränge und wird unter UV-Licht zum Leuchten angeregt. Die DNA-Mengen sind zunächst so gering, dass kein Nachweis einer lumineszierenden Reaktion möglich ist. Erst nach mehreren Reaktionen ist dies möglich. Das Biorad-Programm ist automatisch in der Lage, einen sinnvollen Schwellenwert über eben dieser Nachweisgrenze festzusetzen. Das Überschreiten des Schwellenwertes bestimmt den sogenannten CT-Wert (Threshold Cycle), welcher für die Berechnungen gebraucht wird. Die Schwellenwerte können jedoch auch manuell festgesetzt werden, was für einen Vergleich unterschiedlicher PCR-Produkte und Analysen in zeitlicher Abfolge auch notwendig ist. Hier müssen die Schwellenwerte gleichgesetzt werden, um vergleichende Berechnungen zu ermöglichen. Es muss also ein Schwellenwert gefunden werden, welcher für alle in einer Analyse enthaltenen Proben einheitlich

funktioniert. Die zu vergleichenden Proben bestehen immer aus den qPCR Ansätzen mit den entsprechenden Pathogen- und des Pflanzen / Maisprimern. Die Analyse erfolgte mit Primern zur quantitativen Bestimmung (qPCR) von Fusarienstämmen nach Nicolaisen et al., 2009 (Tabelle 9).

Tabelle 9: Primer zur quantitativen Genanalyse (qPCR) im BioRad iCycler®; Quelle: Nicolaisen et al 2009

| <i>Fusarium</i> Spezies/Pflanze | Primer | Sequenz 5' => 3' |
|---------------------------------|----------------|------------------------------|
| <i>F. graminearum</i> | Fgram B379 fwd | CCATTCCCTGGGCGCT |
| | Fgram B411 rev | CCTATTGACAGGTGGTTAGTACTGG |
| <i>F. culmorum</i> | Fcul C561 fwd | CACCGTCATTGGTATGTTGTCACT |
| | Fcul C614 rev | CGGGAGCGTCTGATAGTCG |
| <i>F. poae</i> | Fpoae A51 fwd | ACCGAATCTCAACTCCGCTTT |
| | Fpoae A98 rev | GTCTGTCAAGCATGTTAGCACAAAGT |
| <i>F. avenaceum</i> | Fave 574 fwd | TATGTTGTCACTGTCTCACACCACC |
| | Fave 627 rev | AGAGGGATGTTAGCATGATGAAG |
| <i>F. equiseti</i> | Fequi B569 fwd | CACCGTCATTGGTATGTTGTCATC |
| | Fequi B598 rev | TGTTAGCATGAGAAGGTCATGAGTG |
| <i>F. sporotrichioides</i> | Fspo A18 fwd | GCAAGTCGACCACTGTGAGTACA |
| | Fspo A85 rev | CTGTCAAAGCATGTCAAGTAAAATGAT |
| <i>F. tricinctum</i> | Ftri 573 fwd | TTGGTATGTTGTCACTGTCTCACACTAT |
| | Ftri 630 rev | TGACAGAGATGTTAGCATGATGCA |
| Mais | Hor 1 fwd | TCTCTGGGTTTGAGGGTGAC |
| | Hor 2 rev | GGCCCTTGTACCAGTCAAGGT |

Zunächst wurden Standardreihen mit bekannter, sauber extrahierter Fusarien-DNA erstellt. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit der Nanovue. Es wurden DNA-Konzentrationen mit 0,1 ng; 1,0 ng; 10,0 ng und 100,0 ng in Microtiterplatten pipettiert, anschließend wurden die Standardreihen mit dem BioRad iCycler®, wie in Abbildung 10 zu sehen, erstellt. Die Standardreihen zeigen, wie sauber eine PCR-Reaktion abläuft (Abbildung 11). Im Idealfall wird der Schwellenwert für eine zehnfache Verdünnung ca. drei bis vier Zyklen nach der Ausgangskonzentration überschritten.

PCR Amp/Cycle Graph for SYBR-490 Step 2

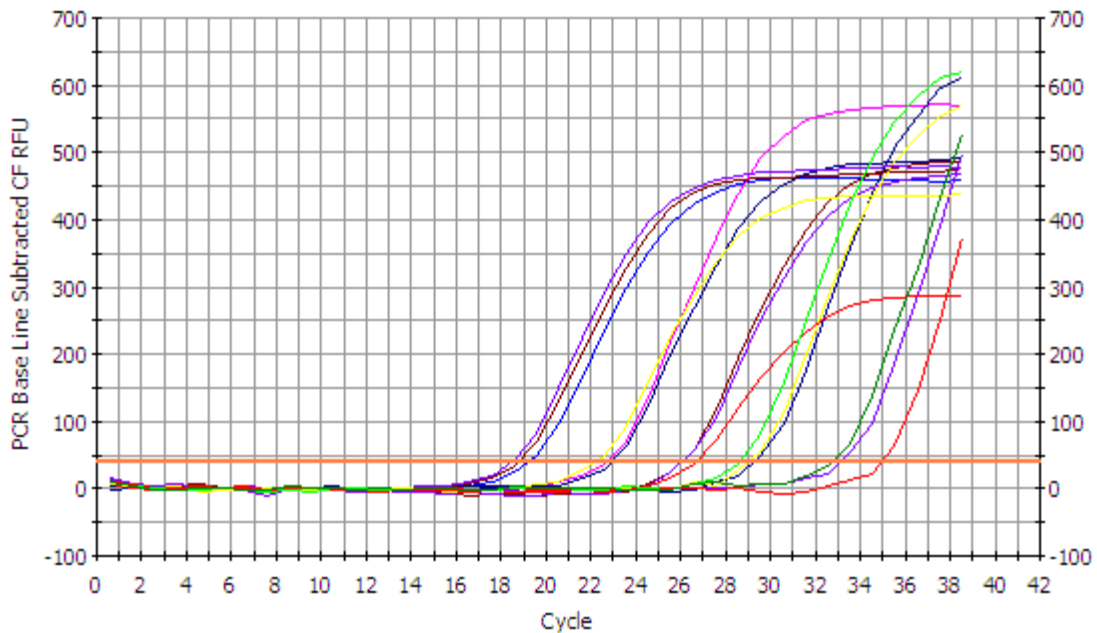


Abbildung 10: Graphische Darstellung des Amplifizierungsvorganges der Standardreihe eines Primers zur Analyse von *F. graminearum*. (Darstellung aus dem Analyseprogramm des Biorad iCyclers)

Standard Curve Graph for SYBR-490 Step 2

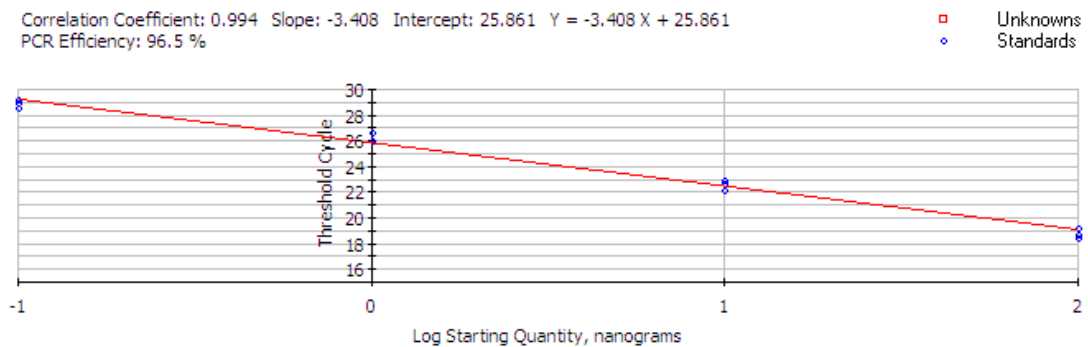


Abbildung 11: Standardkurve mit Korrelationskoeffizient der in Abbildung 10 dargestellten Standardreihe des Primers für die Analyse von *F. graminearum*. (Graph aus dem Analyseprogramm des Biorad iCyclers)

Für die Primer eines jeden getesteten Fusarienstammes wurden Standardreihen erstellt, um die Effizienz des jeweiligen Primers für die späteren Kalkulationen zu ermitteln (PCR Efficiency). Im oben abgebildeten Fall ist eine Effizienz des

Primers für *F. graminearum* mit 96,5 % ermittelt worden. Effizienz-Werte über 90 % können als ausreichend gut angesehen werden. Werte über 100 % weisen auf unspezifische DNA-Fragmente hin, die sich aus nicht in die eigentliche qPCR einbezogenen Nukleotiden bilden können. Primer, die über 100 % Effizienz aufweisen, können nur bedingt eingesetzt werden. Generell gibt es eine Vielfalt an Fehlerquellen bei der Erstellung einer quantitativen Genanalyse. Deshalb sollten bei der Erstellung eines Analyseprotokolls möglichst viele dieser Fehlerquellen vermieden werden. Umrechnungen von CT-Werten auf Nanogramm (ng) je Gramm (g) oder Kilogramm (kg) können zwar durchgeführt werden und könnten prinzipiell dem Vergleich verschiedener Arbeiten untereinander dienen, stellen jedoch eine erhebliche Fehlerquelle dar.

Daher wird in dieser Arbeit der Befall durch die verschiedenen Fusarien-Stämmen in % Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA dargestellt. Dies schließt natürlich nicht jegliche Fehler aus, schränkt ihre Zahl jedoch ein, da eine Umrechnung der gezählten DNA-Kopien in eine Gewichtseinheit für jeden Stamm erneut erfolgen muss. Ein kleiner Fehler in der Umrechnungsformel oder Messungenauigkeiten können sich bei der folgenden Berechnung potenzieren. Ein direkter Vergleich der DNA-Mengen ist am besten gewährleistet, wenn die Proben in ein und derselben Mikrotiterplatte analysiert werden können. Da mehr als 96 Proben miteinander verglichen werden sollen, und die Proben mindestens in drei Wiederholungen analysiert werden müssen, ist es notwendig einheitliche Schwellenwerte festzusetzen, um viele Analysen miteinander vergleichen zu können. Weiterhin muss das Verfahren exakt gleich für jede Analyse erfolgen. Im hier angewendeten Verfahren wird nicht in eine Gewichtseinheit umgerechnet. Es wird von den Kopien der qPCR-Produkte auf die DNA-Ausgangsmenge der zu vergleichenden Proben rückgeschlossen. Das heißt, dass bei 10 % Fusarien-DNA nicht 10 g Fusarien-DNA je 100 g Pflanzen-DNA in der Probe enthalten sind, sondern dass in der getesteten Probe 10 Genome Fusarien-DNA auf 100 Genomen Pflanzen-DNA kommen. Dieses Verfahren setzt voraus, dass die durch die Primer amplifizierten Sequenzen in etwa gleich lang sind. Unterschiedliche Fragmentlängen stellen eine Fehlerquelle auch in diesem System dar.

3.5.3 Chronologischer Ablauf des Verfahrens

Die extrahierte und in der Konzentration angepasste DNA wird mit dem Sybrgreen® zusammenpipettiert. Anschließend werden 18 µl des Reaktions-/qPCR-Ansatzes in die Reaktionsgefäße der Microtiterplatten für die Analyse im BioRad iCycler® pipettiert.



PCR Quantification with Melt Curve Report PCR Base Line Subtracted Curve Fit Data

Current Date: **22-Nov-11 04:45 PM**
Data generated on: **22-Nov-11 at 12:04 PM.**

Optical data file name: **22.11.11_gr-quant.pts.opd**
Plate Setup file used: **22.11.11_gr-quant.pts**
Protocol file used: **W P_Prot_1.tmo**

Sample volume: **18.00 ul**
Hot Start? **No**
Well factor collection: **Experimental Plate**

Comments

Protocol

| | | |
|--|--------|-----------|
| Cycle 1: (1X) | | |
| Step 1: | 50.0°C | for 02:00 |
| Cycle 2: (1X) | | |
| Step 1: | 95.0°C | for 10:00 |
| Cycle 3: (40X) | | |
| Step 1: | 95.0°C | for 00:30 |
| Data collection enabled. | | |
| Step 2: | 62.0°C | for 00:35 |
| Data collection enabled. | | |
| Step 3: | 72.0°C | for 00:35 |
| Data collection enabled. | | |
| Cycle 4: (60X) | | |
| Step 1: | 65.0°C | for 00:05 |
| Increase setpoint temperature after cycle 2 by 0.5°C | | |
| Melt curve data collection and analysis enabled. | | |

Abbildung 12: Analyseprotokoll des BioRad iCyclers® mit Daten zur Probengröße, Probenart (Codierung) und dem Temperaturzyklus

In Abbildung 12 ist das Analyseprotokoll des Thermocyclers im BioRad iCycler® wiedergegeben. Hierbei gibt es einen Anwärmeschritt mit zwei Minuten bei 50°C. Danach folgt ein Initiations-Schmelzschritt bei 95°C für 10 Minuten, der die gesamte doppelsträngige DNA in einsträngige DNA umwandeln soll. Nun erst folgen die eigentlichen 40 Zyklen, die die Amplifikation der DNA bewirken, bei denen die Polymerasen und Primer aktiv werden. Abschließend folgen 60 Zyklen mit ansteigender Temperatur (+0,5°C je Zyklus) zur Erstellung einer Schmelzkurve. Saubere PCR-Produkte geben einen einzigen sauberen Peak. Mehrere Peaks bedeuteten ungewünschte PCR-Fragmente mit einer anderen Fragmentlänge. Analysen mit solchen Mehrfachpeaks müssen verworfen werden.

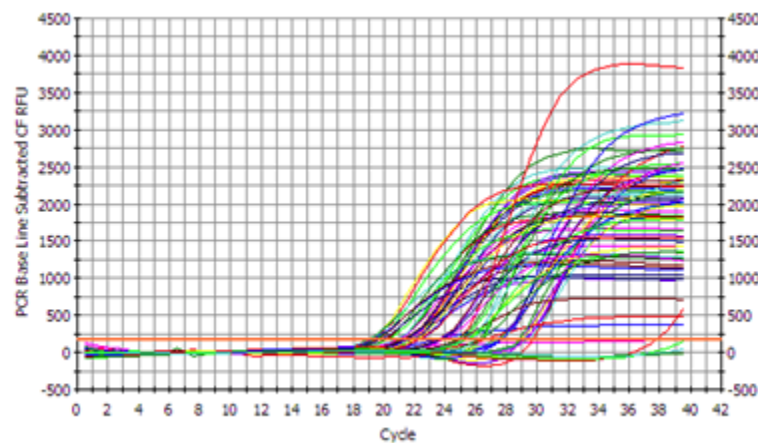


Abbildung 13: Graphische Darstellung des Amplifizierungsvorganges von Maisernteproben (72 Proben auf einer Platte). Die extrahierte DNA der vier Fraktionen der Maispflanze (M1 bis M4) sind mit dem Maisprimer und dem Primer für *Fusarium culmorum* analysiert worden. (CT-Werte sind im Anschluss dargestellt)

Auf der folgenden Seite (Abbildung 14) ist die Darstellung der CT-Werte aus der in Abbildung 13 zugrundeliegenden Analyse zu sehen. **M1, M2, M3, M4** stehen dabei für die Pflanzenfraktionen Stoppel, Stängelteil, unterer Kolbenteil und oberer Kolben + Restpflanze; **hor** steht für den Maispflanzenspezifischen Primer und **F198 10** ist die zu untersuchende Variante aus dem Fruchtfolgeversuch des Jahres 2010. Jede Probe eines jeden Versuchsgliedes wurde wie unter Abschnitt 3.3.3.1 dargestellt in die vier Fraktionen unterteilt (Ausnahme Silomais 2009). Jede extrahierte DNA einer jeden Fraktion (in den Excel-Datenblättern zur Berechnung als Biologische Wdh bezeichnet) wurde für die Analyse im BioRad iCyclers® in drei technische Wiederholungen aufgeteilt. Unter „Data Analysis

Parameters“ ist auch zu sehen, dass der Schwellenwert vom Bediener festgesetzt wurde.

Data Analysis Parameters

Calculated threshold has been replaced by the user selected threshold **160.0**.
Per-well baseline cycles have been determined automatically.
Data analysis window is set at **95.00%** of a cycle, centered at **end** of the cycle.
Weighted Mean digital filtering has been applied. Global filtering is **off**.

PCR Quantification Spreadsheet Data for SYBR-490 Step

| Well | Identifier | Ct | Setpoint |
|------|-------------------|------|----------|
| B01 | M1 hor F1 98 10 | 21.9 | |
| B02 | M1 hor F1 98 10 | 21.8 | |
| B03 | M1 hor F1 98 10 | 22.1 | |
| B04 | M1 b | 21.7 | |
| B05 | M1 b | 21.7 | |
| B06 | M1 b | 21.4 | |
| B07 | M1 c | 21.5 | |
| B08 | M1 c | 21.6 | |
| B09 | M1 c | 21.6 | |
| B10 | M2 hor F1 98 10 | 20.8 | |
| B11 | M2 hor F1 98 10 | 20.9 | |
| B12 | M2 hor F1 98 10 | 20.7 | |
| C01 | M2 b | 21.2 | |
| C02 | M2 b | 21.5 | |
| C03 | M2 b | 21.3 | |
| C04 | M2 c | 21.8 | |
| C05 | M2 c | 21.4 | |
| C06 | M2 c | 21.6 | |
| C07 | M3 hor F1 98 10 | 19.9 | |
| C08 | M3 hor F1 98 10 | 20.1 | |
| C09 | M3 hor F1 98 10 | 19.9 | |
| C10 | M3 b | 21.6 | |
| C11 | M3 b | 23.3 | |
| C12 | M3 b | 20.8 | |
| D01 | M3 c | 21 | |
| D02 | M3 c | 21.2 | |
| D03 | M3 c | 21.7 | |
| D04 | M4 hor F1 98 10 a | 18.9 | |
| D05 | M4 hor F1 98 10 a | 19 | |
| D06 | M4 hor F1 98 10 a | 19.3 | |
| D07 | M4 b | 18.7 | |
| D08 | M4 b | 18.9 | |
| D09 | M4 b | 19.1 | |
| D10 | M4 c | 37.3 | |
| D11 | M4 c | 19.4 | |
| D12 | M4 c | 19.6 | |
| E01 | M1 cul F1 98 10 a | 28.9 | |
| E02 | M1 cul F1 98 10 a | 28.9 | |
| E03 | M1 cul F1 98 10 a | 29.7 | |
| E04 | M1 b | 26.2 | |
| E05 | M1 b | 26 | |
| E06 | M1 b | 25.8 | |
| E07 | M1 c | 27.6 | |
| E08 | M1 c | 27.3 | |
| E09 | M1 c | 27.5 | |
| E10 | M2 cul F1 98 10 a | 27.1 | |
| E11 | M2 cul F1 98 10 a | 27.4 | |
| E12 | M2 cul F1 98 10 a | 27.2 | |
| F01 | M2 b | 24.7 | |
| F02 | M2 b | 24.8 | |
| F03 | M2 b | 24.6 | |
| F04 | M2 c | 29.3 | |
| F05 | M2 c | 29 | |
| F06 | M2 c | 29.1 | |
| F07 | M3 cul F1 98 10 a | 23.4 | |
| F08 | M3 cul F1 98 10 a | 23.6 | |
| F09 | M3 cul F1 98 10 a | 23.4 | |
| F10 | M3 b | 25.1 | |
| F11 | M3 b | 26.3 | |
| F12 | M3 b | 25.2 | |
| G01 | M3 c | 28.7 | |
| G02 | M3 c | 27.4 | |
| G03 | M3 c | 27.5 | |
| G04 | M4 cul F1 98 10 a | 23.8 | |
| G05 | M4 cul F1 98 10 a | 24.8 | |
| G06 | M4 cul F1 98 10 a | 23.6 | |
| G07 | M4 b | 22.3 | |
| G08 | M4 b | 21.9 | |
| G09 | M4 b | 22.1 | |
| G10 | M4 c | 25.3 | |
| G11 | M4 c | 26.1 | |
| G12 | M4 c 25 | | |

Abbildung 14: Datenblatt der qPCR; Links Nummer des Reaktionsgefäßes (Well); Mitte: Probencodierung; Rechts: Ct-Wert – markiert das Überschreiten des Schwellenwertes.

Das Gerät setzt normalerweise einen Schwellenwert fest der optimal für die laufende Analyse ist. Wie oben erwähnt ist es jedoch notwendig, einen einheitlichen Schwellenwert für alle Primer zu finden. Da die Länge der amplifizierten Targets jedoch nahezu gleich lang ist, konnte der einheitliche Schwellenwert nach einigen Testanalysen festgesetzt werden.

Die Ct-Werte wurden über folgende Formel in DNA-Kopienzahlen und dann in Prozent Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA umgerechnet:

Formel 1: Berechnung der prozentualen Pathogen-Genom-Anteile im Silomaiserntegut zur in der Probe enthaltenen Pflanzen-DNA

$$Fusarium - DNA \text{ in } \% = \frac{\text{Effizienz des Maisprimers}^{\text{Ct-Wert für Mais}}}{\text{Effizienz des Fusarienprimers}^{\text{Ct-Wert für } Fusarium \text{ spp.}}} \times 100$$

Die Daten wurden in ein die Formel enthaltendes Excel-Datenblatt eingegeben. Mithilfe des Datenblattes wurde der prozentuale Anteil der Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA für jede einzelne Probe/Wiederholung ermittelt. Gleichzeitig wurden in dem Datenblatt die Mittelwerte der vier, bzw. drei Wiederholungen berechnet (Tabelle 10).

Tabelle 10: Excel-Datenblatt zur Berechnung der prozentualen Fusarienbelastung des Silomaiserntegutes – am Beispiel *F. graminearum*

| Veruch und Jahr (Mais) | Fraktion | Variante | Effiz Pflanze | Effi Pilz | Ct-Wert Pfl | Ct-Wert Pilz | Pilz zu Pflanze (%) | Mittelwerte | |
|------------------------|-------------|----------|---------------|-----------|-------------|--------------|---------------------|-------------|-------------|
| | | | | | | | | tech | Wdh |
| 98`11 | graminearum | M1 | F4N3_1_1 | 1,942 | 1,964 | 20 | 26,6 | 0,927728827 | 0,973407254 |
| 98`11 | graminearum | M1 | F4N3_1_2 | 1,942 | 1,964 | 20,3 | 26,6 | 1,13212875 | |
| 98`11 | graminearum | M1 | F4N3_1_3 | 1,942 | 1,964 | 20,7 | 27,4 | 0,860364184 | |
| 98`11 | graminearum | M1 | F4N3_2_1 | 1,942 | 1,964 | 20,2 | 27,6 | 0,539422942 | 0,899325327 |
| 98`11 | graminearum | M1 | F4N3_2_2 | 1,942 | 1,964 | 20,6 | 27,3 | 0,861333916 | |
| 98`11 | graminearum | M1 | F4N3_2_3 | 1,942 | 1,964 | 20,2 | 26,3 | 1,297219122 | |
| 98`11 | graminearum | M1 | F4N3_3_1 | 1,942 | 1,964 | 20,6 | 26,2 | 1,809785817 | 2,038732848 |
| 98`11 | graminearum | M1 | F4N3_3_2 | 1,942 | 1,964 | 20,5 | 26 | 1,938342662 | |
| 98`11 | graminearum | M1 | F4N3_3_3 | 1,942 | 1,964 | 20,7 | 25,9 | 2,368070065 | |

Weiterhin wurden in dem Datenblatt aus den Werten der einzelnen

Wiederholungen die Standardabweichung und der Standardfehler der technischen Wiederholungen ermittelt.

3.6 Statistik

Die statistischen Auswertungen wurden anhand der Datensätze für Erträge (t/ha) und der Erregerbelastung in Pathogen-DNA in Prozent zur Pflanzen-DNA der untersuchten Fruchtfolgen und Stickstoffintensitätsstufen durchgeführt.

Statistische Analyse

Die Erträge hinsichtlich Fruchtfolge und Stickstoffdüngung wurden für die drei Versuchsjahre miteinander verglichen. Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs innerhalb einer Faktorstufenkombination (N=4) wurden die Voraussetzungen zur Verwendung eines parametrischen Verfahrens (Varianzhomogenität, Normalverteilung) graphisch überprüft. Im Anschluss wurden die Daten mit Hilfe einer dreifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) verglichen. Dabei wurde ebenfalls eine mögliche Interaktion zwischen Fruchtfolge und Stickstoffdüngung berücksichtigt. Da sich die Stickstoffniveaus 2009 versuchsbedingt von 2010 und 2011 unterschieden, wurden diese zunächst als einzelne Faktorstufen betrachtet. Bei fehlenden Signifikanzen ($p > 0.05$) oder geringen Unterschieden in den Effekten wurde anschließend untersucht, ob verschiedene Faktorstufen zusammengefasst werden können (z.B. die Versuchsjahre, die Stickstoffintensitäten). Dazu wurde das vereinfachte Modell mit dem komplexen Modell mit Hilfe eines F-Tests verglichen. Bei nicht signifikanten Unterschieden zwischen den Modellen wurde das vereinfachte Modell beibehalten. Einzelvergleiche im Rahmen des finalen Modells wurden abschließend mit Hilfe eines Tukey Honest Significance Tests (Tukey HSD, Yandell, 1997) durchgeführt. Die Validität des finalen Modells wurde zudem mit Hilfe einer graphischen Residuenanalyse bestätigt.

Die Belastungen mit *Fusarium spp.* hinsichtlich Fruchtfolge und Stickstoffdüngung wurden anhand der Leitpathogene *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* und *F. poae* verglichen. Aufgrund erregerspezifischer Varianzhomogenität und der Abweichungen von der Normalverteilung der Datensätze der mit qPCR ermittelten

Erregerbelastungen wurde die *Aligned Rank Transformation* zur nicht-parametrischen faktoriellen Analyse mit ANOVA-Verfahren (F-Test) nach Wobbrock et al (2011) gewählt. Die *Aligned Rank Transformation* zur faktoriellen Analyse vermeidet Ungenauigkeiten bei der Abschätzung von Interaktionseffekten, wie sie bei üblichen Rangtransformationen bekannt sind, durch schrittweise Vergabe der Ränge. Zur statistischen Auswertung der Effekte der Anbausystemfaktoren wurden die Belastungen des Silomaises 2009 und die Belastungen der Hauptkolbenfraktion der Jahre 2010 und 2011 verrechnet. Für 2010 und 2011 sind die Belastungen mit Kolbenfusariosen in den Grafiken zur Belastung der Silomaisfraktion. Die Verrechnung ist hierdurch mit dem Versuchsjahr 2009 in Beziehung zu setzen, da die Kolbenfraktion 2010 und 2011 ca. 70- 80 % der Silomaisfraktion aus 2009 entspricht.

Die in den Graphiken des Ergebnisteils dargestellten arithmetischen Mittel, welche mit gleichen Buchstaben versehen sind, wichen bei einer Fehlerwahrscheinlichkeit von 5 % nicht signifikant voneinander ab ($p > 0,05$). Mit kleinen Buchstaben sind die Auswertungen zwischen den Stickstoffintensitäten, mit großen Buchstaben die entsprechenden Signifikanzen zwischen den Anbausystemen gekennzeichnet.

Die in den Graphiken des Ergebnisteils verwendeten Buchstaben zur *Fusarium*-Belastung in Bezug zur Stickstoffintensität beziehen sich auf die gruppierten Säulen innerhalb einer Erregerspezies, sie sind nicht in Bezug zu den anderen Erregerspezies gesetzt. Die dargestellten Werte ergeben sich jeweils aus dem arithmetischen Mittel von vier Wiederholungen. Die statistischen Kennzeichnungen (Buchstaben) entstammen den Einzelwertvergleichen der nicht-parametrischen faktoriellen Analyse.

4. Ergebnisse

Sämtliche in den Jahren 2009 bis 2011 gesammelten Daten, die zur Einordnung der Wirksamkeit von Fruchtfolgen und Anbausystem-Strukturen auf die Reduktion des *Fusarium*- Auftretens und die Mykotoxinreduktion beitragen können, sind in diesem Teil der Arbeit graphisch dargestellt und aufbereitet. Dies bezieht die Wetterdaten ebenso ein, wie die Daten der Bonituren und Gen- bzw. Mykotoxinanalysen.

Kern des Ergebnisteils ist die graphische Darstellung der Resultate quantitativer Gen-Analyse – der **quantitativen** oder auch **real time Polymerase-Chain-Reaction (qPCR)**. Ein Großteil des Maissilage-Erntegutes der im Versuchsaufbau erläuterten Versuchsanlagen wurde auf die verschiedenen Erreger der Gattung *Fusarium* analytisch untersucht. Zur Ermittlung der relevanten *Fusarium* spp. wurden die Proben der Maismonokultur des ersten und zweiten Versuchsjahres (2009 und 2010) detailliert mit den Primern aller in Frage kommenden Spezies untersucht. Die ermittelten Daten des gesamten Versuchs sind dem Versuchsaufbau entsprechend, nach Fruchtfolge-Varianten, Stickstoffintensitätsstufen und Fraktionen für die Jahre 2009 bis 2011 graphisch wiedergegeben. Das Maissilage-Erntegut wurde wie unter Material und Methoden beschrieben fraktioniert und anschließend für die molekularbiologische Analyse sowie die Mykotoxinanalyse verarbeitet und analysiert. Diese Daten sind in diesem Kapitel graphisch aufbereitet.

4.1 Witterung

Im Folgenden wird zunächst die Witterung am Standort betrachtet, da sie für die Einordnung und Bewertung aller pilzlichen Schaderreger von größter Bedeutung ist. Dazu werden die langjährigen Mittel der Temperatur- und Niederschlagsdaten wie auch die der einzelnen Jahre miteinander verglichen und in Bezug zueinander gesetzt (4.1.1). Die Witterung der drei Vegetationsperioden der Versuchsjahre 2009, 2010 und 2011 wird unter 4.1.2 detailliert dargestellt. Anschließend werden die in 2010 und 2011 durchgeführten Pathogen-Bonituren graphisch dargestellt und die Erregerentwicklungen mit den Niederschlägen sowie den Luftfeuchte- und Temperaturverläufen abgeglichen und in Bezug zueinander gesetzt.

4.1.1 Witterung am Versuchsstandort

Die übergeordnete Einflussgröße Witterung wirkt unabhängig von Anbausystemen, Sortenwahl und Bodenart maßgeblich auf das Auftreten und den Verlauf von Epidemien.

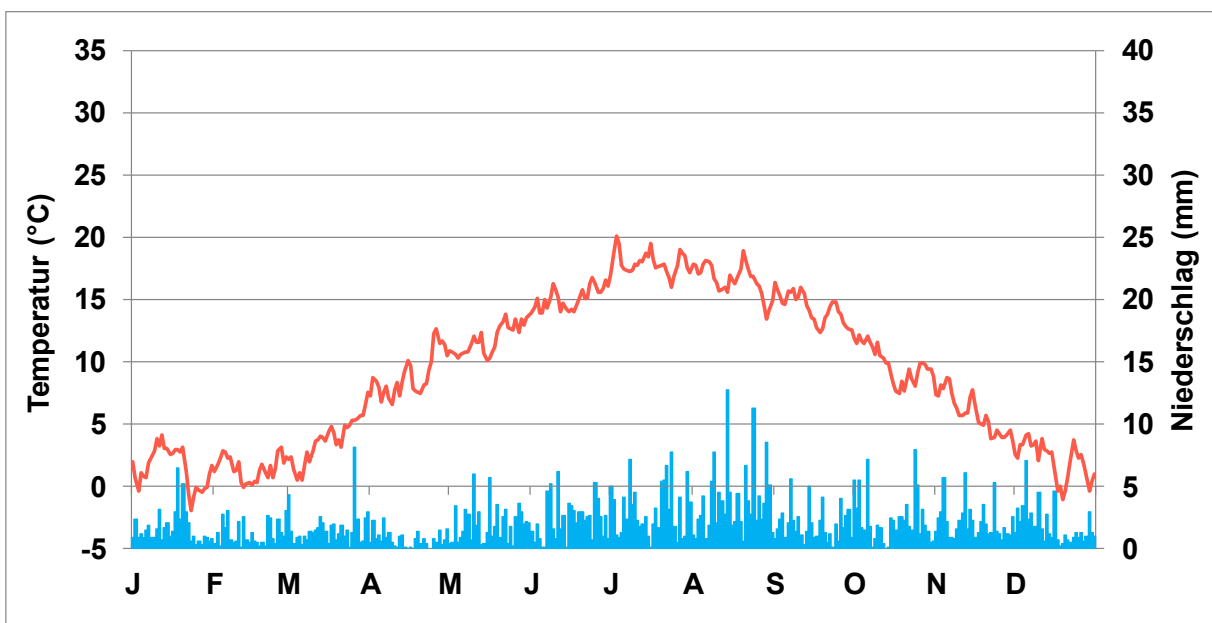


Abbildung 15: Langjähriges Mittel der Wetterdaten vom Versuchsgut Hohenschulden aus den Jahren 2005 - 2011

Entsprechend dem gemäßigten, maritimen Klima Schleswig-Holsteins traten im Mittel der Jahre 2005 bis 2011 (langjähriges Mittel) am Versuchsstandort Hohenschulen übers Jahr relativ gleichmäßig verteilte Niederschläge auf (Abb.15). Die Durchschnittstemperaturen stiegen im Sommer selten über 20°C und sanken im Winter meist nur leicht unter den Gefrierpunkt. Ab März stiegen die Temperaturen, ab April kam es oft zu einer, zum Teil vielwöchigen Frühjahrestrockenheit. Nach kontinuierlichem Temperaturanstieg bis Juli waren dann Juli und August die wärmsten Monate mit den stärksten Niederschlägen. Die hohen Niederschlagssummen sind auf häufige Gewitter und Starkregenereignisse in diesen Monaten zurückzuführen.

Tabelle 11: Durchschnittstemperaturen (°C) in der Vegetationsperiode der Jahre 2005-2011

| Jahr | April | Mai | Juni | Juli | August | September | Oktober |
|---------|-------|------|------|------|--------|-----------|---------|
| 2005 | 8,5 | 11,8 | 15,0 | 18,0 | 15,8 | 15,3 | 11,8 |
| 2006 | 7,1 | 12,0 | 15,9 | 21,2 | 16,6 | 17,0 | 12,5 |
| 2007 | 10,3 | 12,6 | 16,3 | 16,2 | 17,0 | 13,1 | 9,0 |
| 2008 | 7,6 | 13,7 | 15,4 | 17,6 | 16,6 | 13,2 | 9,5 |
| 2009 | 10,4 | 12,7 | 14,7 | 17,8 | 17,8 | 14,5 | 7,7 |
| 2010 | 7,6 | 9,4 | 14,9 | 20,4 | 17,2 | 13,2 | 8,8 |
| 2011 | 10,4 | 12,2 | 15,2 | 15,7 | 16,0 | 14,3 | 9,1 |
| Ø | 8,9 | 12,1 | 15,4 | 18,1 | 16,7 | 14,4 | 9,8 |
| STABW | 1,5 | 1,3 | 0,6 | 2,0 | 0,7 | 1,4 | 1,7 |
| % STABW | 16,7 | 11,1 | 3,7 | 11,1 | 4,1 | 10,0 | 17,8 |

In Tabelle 11 sind die Durchschnittstemperaturen der Vegetationsmonate April bis einschließlich Oktober aus den Jahren 2005 bis 2011 aufgeführt. Zusätzlich sind das langjährige Mittel, die Standardabweichung (STABW) sowie die prozentuale Standardabweichung (% STABW) vom langjährigen Mittel dargestellt. Hierdurch wird eine mäßige Variabilität der Durchschnittstemperaturen aller Monate zwischen den Jahren und eine größere Variabilität der für die Maisvegetation bedeutsamen Monate April, Mai, Juli und September deutlich.

Tabelle 12 Durchschnittliche Niederschlagswerte (mm) in der Vegetationsperiode der Jahre 2005 - 2011

| Jahr | April | Mai | Juni | Juli | August | Sept. | Oktober | Σ Vegetation |
|---------------------|-------|-----|------|------|--------|-------|---------|---------------------|
| 2005 | 22 | 102 | 44 | 92 | 49 | 20 | 67 | 395 |
| 2006 | 55 | 83 | 34 | 53 | 155 | 37 | 88 | 504 |
| 2007 | 3 | 94 | 120 | 189 | 59 | 71 | 25 | 560 |
| 2008 | 41 | 19 | 42 | 69 | 131 | 65 | 124 | 491 |
| 2009 | 7 | 44 | 64 | 62 | 38 | 34 | 53 | 303 |
| 2010 | 46 | 24 | 43 | 56 | 19 | 89 | 117 | 394 |
| 2011 | 3 | 36 | 93 | 145 | 274 | 94 | 56 | 702 |
| $\bar{}$ | 25 | 57 | 63 | 95 | 103 | 59 | 76 | 478 |
| STABW | 22 | 34 | 32 | 52 | 90 | 29 | 36 | 131 |
| % STABW | 87 | 60 | 51 | 55 | 87 | 49 | 47 | 27 |

Bei der Betrachtung der Niederschlagsverteilung des langjährigen Mittels aus den Jahren 2005 bis 2011 in Abbildung 15 kann trotz der gemittelten Werte über sechs Jahre schon ein Eindruck der heterogenen Niederschlagsverteilung gewonnen werden. Die Tabelle 12 hebt dies nochmal hervor. Die Niederschläge variierten von Jahr zu Jahr erheblich, dies wird an den hohen Standardabweichungen deutlich. Die Niederschlagssummen für die gesamte Vegetationsperiode von April bis Ende Oktober wiesen schwankende Werte von minimal 303 mm in 2009 bis maximal 702 mm im Jahr 2011 auf.

4.1.2 Witterung der Vegetationsperioden in den Versuchsjahren

Die Witterung der drei Versuchsjahre unterschied sich maßgeblich. Schon im Temperaturverlauf kann man die Jahre in die Kategorien unterdurchschnittlich (2011), durchschnittlich (2009) und überdurchschnittlich (2010) warm unterteilen (Abb. 16 und 17).

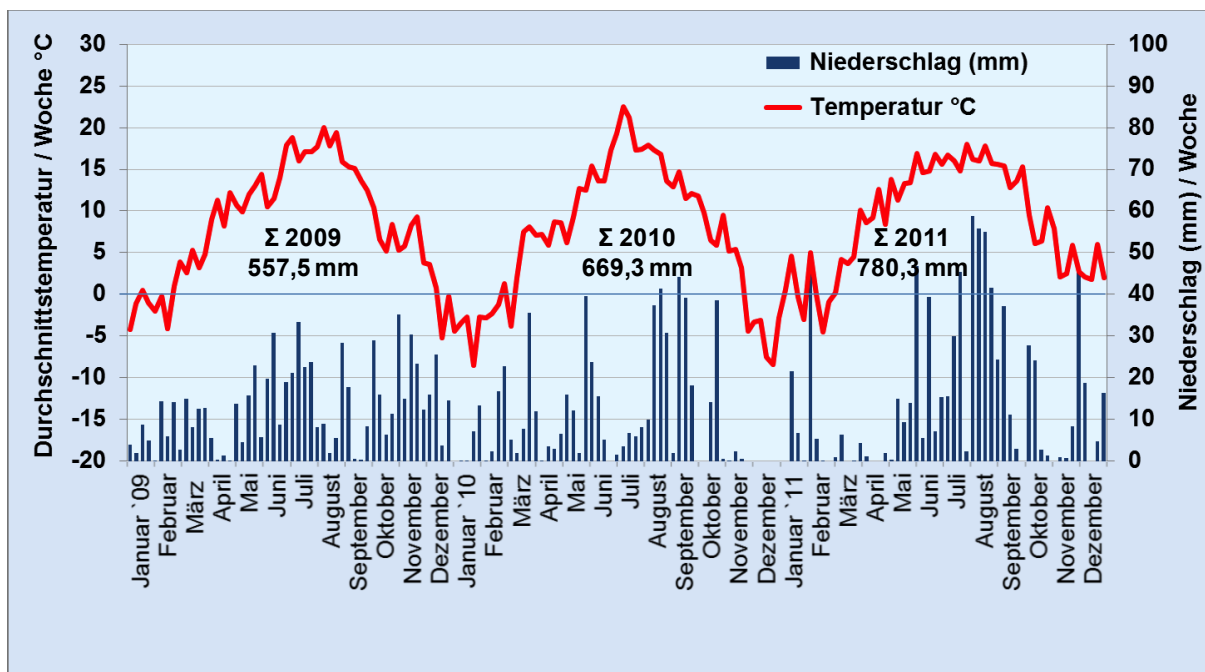


Abbildung 16: Witterung der Versuchsjahre 2009 bis 2011; Temperatur (°C) und Niederschläge (mm), wöchentliches Mittel der Tagemitteltemperaturen bzw. der wöchentlichen Niederschlagssumme

In Tabelle 12 wie auch in Abbildung 18 ist die unter 4.1.1 bereits erwähnte Frühjahrestrockenheit vor allem 2011 aber auch in 2009 gut zu erkennen. In beiden Jahren kommen schnell steigende Temperaturen in diesem Zeitraum hinzu (Abb. 17). Die Durchschnittstemperaturen während der Hauptwachstumszeit des Maises sind im Versuchsjahr 2010 am höchsten. Die Niederschlagssummen der Monate Juni, Juli und August – also der Hauptwachstums- und Blütezeit des Maises – lagen in 2011 deutlich über dem langjährigen Mittel und über den Niederschlagssummen der Vergleichsjahre 2009 und 2010. Die Monate der Maisabreife September und Oktober wiesen zwar Unterschiede innerhalb der Versuchsjahre auf, wichen jedoch nicht so extrem vom langjährigen Mittel ab (Abb 17 und 18). Zur Abreife wies das Versuchsjahr 2010 die höchsten

Niederschlagssummen innerhalb der Versuchsjahre auf. Zusammengefasst kann 2009 als Jahr mit konstant unterdurchschnittlich schwachen Niederschlägen bezeichnet werden. Ebenso gab es bis Ende August in 2010 unterdurchschnittliche Niederschlagssummen, jedoch wurden im September und Oktober erhöhte Niederschläge gemessen. 2011 kam es nach anfänglicher Frühjahrestrockenheit vor allem in den Hochsommermonaten Juli und August (Blüte und Abreife des Mais) häufig zu extremen Niederschlägen und damit zu sehr hohen Niederschlagssummen.

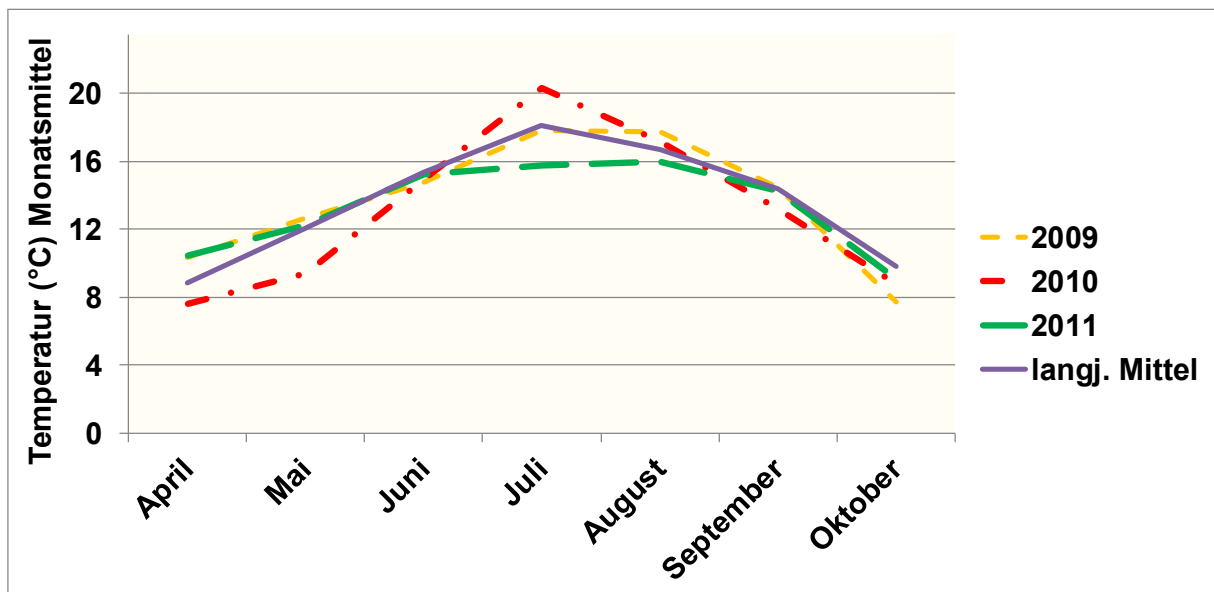


Abbildung 17: Temperaturverläufe während der Vegetationsperiode (Ø der Monate) der Untersuchungsjahre 2009, 2010 und 2011 vergleichend zum langjährigen Mittel

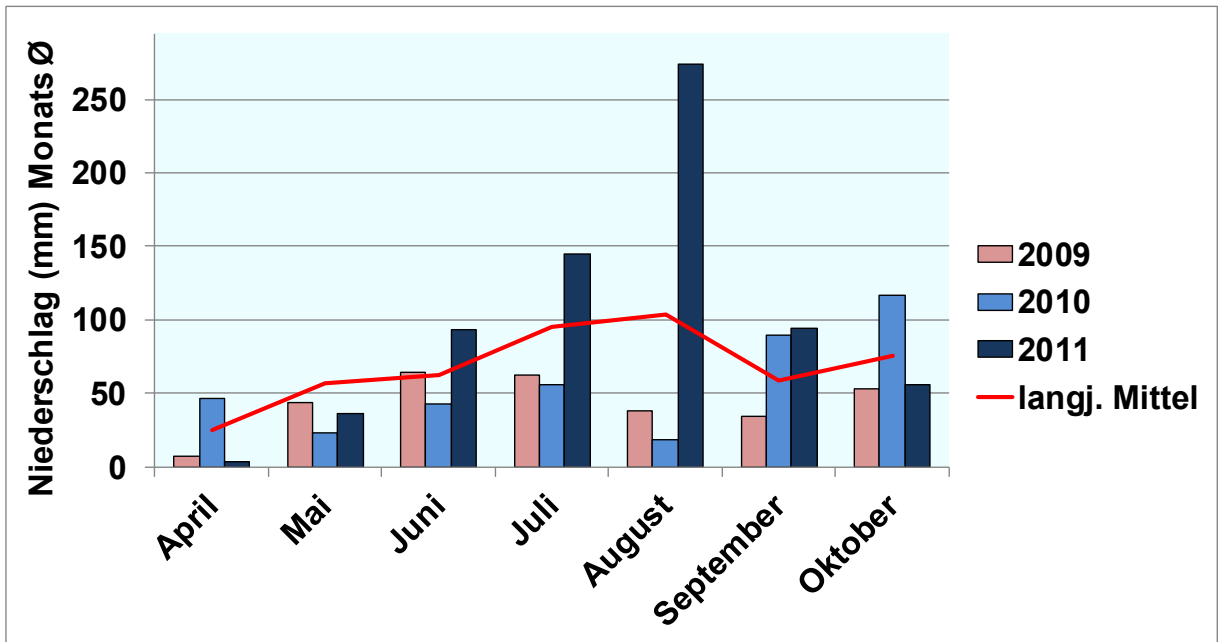


Abbildung 18: Niederschlagssummen während der Vegetationsperiode (Ø der Monate) der Untersuchungsjahre 2009, 2010 und 2011 vergleichend zum langjährigen Mittel

Die Witterungsverläufe, wie sie unter den graphischen Darstellungen der Bonituren zu sehen sind, sind in Abbildung 19 für alle Versuchsjahre untereinander dargestellt. Das Versuchsjahr 2009 ist nachfolgend zur Vergleichbarkeit der Jahre untereinander dargestellt, um entsprechende qPCR-Daten des Maissilage-Erntegutes im Zusammenhang mit der Witterung zu dokumentieren. Es liegen keine Boniturdaten für 2009 vor. Für die Jahre 2010 und 2011 liegen sowohl Bonitur- (1. Bonituren ab 2010) als auch qPCR-Daten vor.

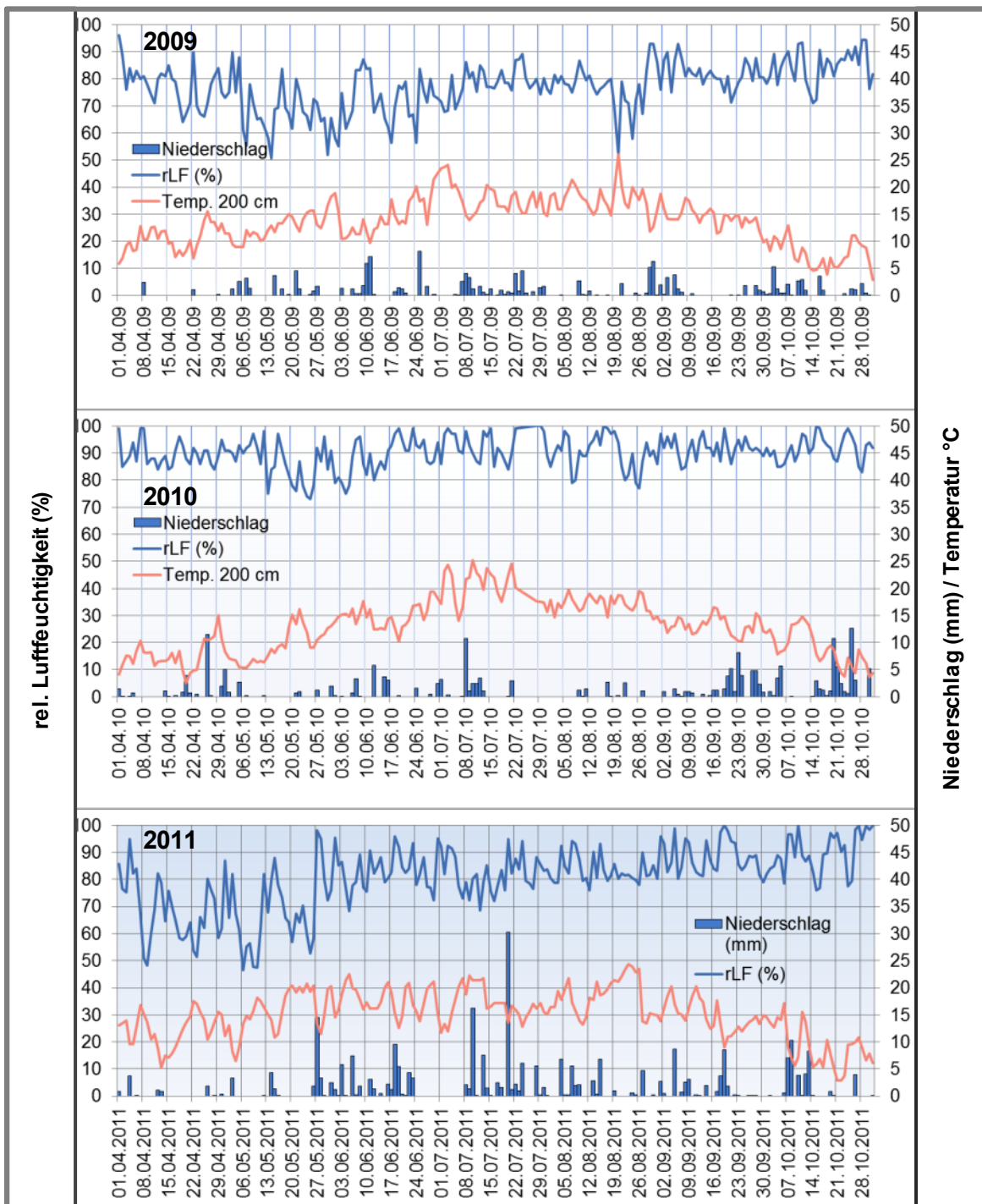


Abbildung 19: Witterung am Standort Hohenschulen der Jahre 2009 – 2011; blaue vertikale Säule dokumentiert die täglichen Niederschläge (mm), die rote Kurve den Temperaturverlauf (°C), die blaue, vertikale Säule die relative Luftfeuchtigkeit (%)

Wie in den vorangegangenen Graphiken ist die unterschiedliche Niederschlagsverteilung und -intensität (Abb. 19) der Jahre dargestellt. Vergleichend über die Jahre sind insbesondere im Sommer 2011 die hohen Niederschlagsintensitäten erkennbar. Die für die Entwicklung des Maises wichtige

Wasserversorgung in frühen Stadien pflanzlicher Entwicklung ist im April 2010 besonders ausgeprägt gewährleistet, auch wenn die Temperaturen um den 20. April kurzzeitig auf unter 10°C abfallen. In den Versuchsjahren 2009 und 2011 sind die Apriltemperaturen höher, es fehlt jedoch an Niederschlag.

4.2 Erregerentwicklung in 2010 und 2011 aller Fruchtfolgen und den vier Stickstoffintensitätsstufen

Die Erregerentwicklung wurde für Blattflecken- und *Fusarium*-Pathogene während der Vegetation durch Bonituren ermittelt. Die Varianten der beiden Versuchsflächen (Biomasseversuch 112 und Fruchtfolgeversuch 98) werden zunächst für das Jahr 2010 und anschließend für das Jahr 2011 graphisch dargestellt und beschrieben. Es werden für jedes Versuchsjahr zunächst die Daten des Biomasseversuchs (V112) und anschließend die Daten des Fruchtfolgeversuchs (V98) graphisch dokumentiert und interpretiert.

Für jede Fruchtfolgevariante sind die Krankheitsverläufe – gemäß den Bonituren – für alle vier Stickstoffintensitätsstufen übereinander dargestellt. Unter den Krankheitsverläufen ist der Witterungsverlauf mit dem entsprechenden Datum abgetragen. In den Teilgraphiken der Krankheitsverläufe ist jeweils das entsprechende Entwicklungsstadium (EC) eingetragen.

4.2.1 Befallsverlauf im Zusammenhang zur Witterung des Jahres 2010

Wie in der Abbildung 19 dargestellt, war die Vegetationsperiode 2010 im Vergleich zu den Versuchsjahren 2009 und 2011 relativ warm und überdurchschnittlich trocken. Dennoch war es das Jahr mit der besten Wasserversorgung zur Aussaat und Jugendentwicklung. Bis zum Anfang der dritten Julidekade kam es regelmäßig zu Niederschlägen in geringen Mengen. Bis zum 21.07.2010 gab es 173 mm Niederschlag. Bis zur Vollblüte des Maises Anfang August dauerte eine Trockenperiode, der sich eine Periode mit weiterhin sehr geringen Niederschlagsmengen anschloss (09.08. bis 14.09.2010 ca. 30 mm). Erst zur Abreife des Maises Mitte September kommt es wieder zu nennenswerten Niederschlagssummen (15.09. bis 31.10. = 194 mm). Während der gesamten

Vegetationsperiode wurde jedoch eine hohe relative Luftfeuchte im Vergleich zu den anderen Versuchsjahren gemessen.

4.2.1.1 Bonituren der Maismonokultur 2010 (V112)

Im Folgenden werden die Bonituren der vier Stickstoffintensitätsstufen der Maismonokultur (V112) graphisch dargestellt (Abb. 20). Aufgrund der gesunden Entwicklung der Maiskultur in 2010 wurde die erste detaillierte Pathogenbonitur am 06.08. zu EC 65 durchgeführt. Es folgten drei weitere Bonituren am 26.08., 22.09. und 12.10. zu EC 75, EC 81 und EC 85.

Am 06.08. zeigte selbst die 0 kg N Variante erst sehr wenig Nekrose, wenngleich diese Variante im Wachstum sehr zurückgeblieben und chlorotisch war. *Kabatiella*-Augenflecken (*K. zeae*) konnten in allen Varianten eher latent nachgewiesen werden und überschritten in keiner Variante den Wert von 1 % befallener Blattfläche. Andere Blattkrankheiten traten nicht auf und *Fusarium*symptome an Stängel oder Kolben waren nicht zu beobachten.

Am 26.08. konnte in der 0 kg N – Variante ein Anstieg der nekrotisierten Blattfläche auf ca. 20 % und bei der 80 kg N – Variante auf ca. 10 % festgestellt werden. Außer bei der 0 kg N – Variante stieg der Befall mit *K. zeae* auf ca. 1 %. Erstmals konnten an ca. 10 % der Pflanzen im Bestand Kolbenfusariosen in der 240 kg N – Variante festgestellt werden. Die niedrigeren Stickstoffvarianten blieben noch frei von offensichtlichen Fusarien-Symptomen.

Zur Bonitur am 22.09. zum Entwicklungsstadium 81 war die Nekrose der 0 kg N- und der 80 kg N – Variante jeweils um 10 % auf 30 % bzw. 20 % der Blattfläche angestiegen. In den beiden anderen Stickstoffvarianten war nur ein leichter Anstieg festzustellen. In den drei Stickstoff-gedüngten Parzellen war ein Anstieg der mit *K. zeae* befallenen Blattfläche auf Werte von 1,5 % zu verzeichnen. Die 0 kg N – Variante zeigte keinen weiteren Anstieg des Blattfleckenbefalls. In allen Varianten konnten nun Symptome von Kolbenfusariosen bonitiert werden. Hierbei handelte es sich jedoch oft um Befall am zweiten nicht ausgereiften Kolben. Mit steigender Stickstoffintensität stieg die visuell bonitierbare Befallshäufigkeit mit Fusariosen im Bestand (BHB) deutlich an. Während in der 0 kg N/ha – Variante im Mittel über die vier Wiederholungen nur 10 % der Pflanzen einen offensichtlichen

Befall aufwies, lag die Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) bei der 240 kg N/ha – Variante bei über 55 % zu Beginn der Fruchtabreife (EC 81).

Zum Silomais-Erntetermin (EC 85 = Teigreife) war in allen Varianten ein deutlicher Anstieg der nekrotisierten Blattfläche aufgetreten. Der Anteil nekrotisierter Blattfläche der Stickstoff ungedüngten Variante lag erwartungsgemäß mit 44,25 % in etwa doppelt so hoch wie bei den stickstoffversorgten 160 und 240 kg N/ha Varianten. Bei einer Düngung von 80 kg N/ha lag der Wert für die nekrotisierten Blattflächen bei 31,625 %. Die nekrotisierte Blattfläche variierte in den beiden intensiv stickstoffversorgten Varianten nur wenig und lag leicht über 20 %. Mit Ausnahme der 0 kg N – Variante stiegen die mit *Kabatiella* Blattflecken befallenen Blattflächen auf ca. 2 % respektive leicht über 2 % an und erreichten bei 240 kg N/ha den Maximalwert von 2,65 % befallener Blattfläche. Vor allem die stark mit Stickstoff versorgte vierte Variante wies noch einmal einen Anstieg der Fusarien-BHB auf. Zur Abschlussbonitur am 12.10.2010 waren, trotz der niedrigen Niederschlagsmengen zur Vollblüte, über 70 % der Pflanzen mit Fusarien-Spezies am ersten oder zweiten Kolben befallen (Abb. 20).

4.2.1.2 Bonituren der zweigliedrigen Fruchtfolgen (V112) Mais – Weizen – ZF Welsches Weidelgras 2010

In Abbildung 21 ist die zweite Variante des Biomasseversuchs (V112) dargestellt, eine zweigliedrige Mais – Winterweizen - GPS-Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras als Zwischenfrucht in den genannten vier Stickstoffintensitätsstufen. Der Verlauf der Nekrose-Entwicklung im Blattapparat der Maiskultur in der Vegetation unterschied sich bei dieser zweigliedrigen Fruchtfolge nicht wesentlich von den Nekrotisierungsgraden der Mais-Monokultur. Allerdings begann die Nekrose etwas später und zur Abschlussbonitur war im Durchschnitt über die vier Wiederholungen und den vier Stickstoffvarianten geringfügig weniger Blattfläche nekrotisiert. Vor allem die mit 80 kg N/ha gedüngte Variante zeigte mit 20,38 % ca. 10 % weniger Nekrose als die vergleichbare Monokulturvariante.

Die Befallsintensität von *Kabatiella*-Augenflecken lag zum ersten Boniturtermin bei oder leicht unter 1 % Blattflächenanteil. Während der *Kabatiella*-Befall zum zweiten Boniturtermin am 26.08. in den gedüngten Varianten leicht anstieg, blieb

er in der Null-Stickstoffvariante bis zum vorletzten Boniturtermin konstant niedrig und stieg auch bis zum 12.10. nur auf 1,3 % an. Die mit 80 kg N/ha gedüngte Variante wies zuletzt 1,83 % befallene Blattfläche auf. In den intensiv stickstoffversorgten Varianten wurde zum 12.10. eine Befallsstärke von 2,45 % (160 kg N/ha) bzw. 2,25 % (240 kg N) bonitiert.

Die Ergebnisse der Fusariosen-Bonitur wiesen allerdings deutliche Unterschiede der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Zwischenfrucht im Vergleich zur Maismonokultur auf. Bis zum Entwicklungsstadium 81 (frühe Teigreife) waren keine äußerlich visuell bonitierbaren Symptome feststellbar. Während die Parzellen mit 0 kg N/ha auch jetzt noch keine Symptome aufwiesen, erreichte die Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) auf den mit 80 bzw. 160 kg N/ha gedüngten Parzellen Mittelwerte von 11,25 % bzw. 20 %. Bei einer Düngung von 240 kg N/ha stieg die BHB auf 40 % am 22. 09. an, erreichte aber auch zur Abschlussbonitur am 12.10 mit unter 60 % nicht die hohen Werte der Mais-Monokultur.

4.2.1.3 Bonituren der zweigliedrigen Fruchtfolgen (V112) Mais – Weizen – ZF Gelbsenf 2010

Die Entwicklung der Nekrose in den Maisparzellen (Abb. 22) verlief insgesamt ähnlich wie in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Weidelgras. In der 80 kg N/ha-Variante setzte die Nekrotisierung zu EC 75 früher ein und erreichte bald 10 % der Blattfläche, überstieg jedoch auch zu EC 85 nicht 20 % der Blattfläche.

Der Entwicklungsverlauf der *Kabatiella*-Augenfleckenkrankheit, vor allem in der intensiv mit Stickstoff versorgten Variante (240 kg N/ha), zeigte einen frühzeitigen Anstieg. Werte deutlich über 2 % der Blattfläche wurden jedoch auch später in der Vegetation nicht bonitiert.

Insgesamt wurden in der 240 kg N/ha-Variante dieser Fruchtfolge leicht gesteigerte Befallsstärken (BSB) bzw. Befallshäufigkeiten (BHB) bonitiert, so wurden schon zu EC 75 Fusariosen mit einer Befallshäufigkeit von 5 % BHB festgestellt. Die Null-Stickstoff-Variante hingegen ist die Variante des Biomasseversuchs mit den niedrigsten Krankheitsboniturwerten in 2010. Bis zur Abschlussbonitur am 12.10. zu EC 85 konnten keine *Fusarium*symptome festgestellt werden. Die 80 kg N/ha-Variante lag mit ca. 23 % BHB zur

Abschlussbonitur leicht über den Befallswerten der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Weidelgras als Zwischenfrucht. Das Niveau der Fusarien BHB zu den beiden letzten Boniturterminen lag in den Stickstoff-Varianten von 160 kg N/ha und 240 kg N/ha deutlich unter den Werten der Mais – Weizen – Weidelgras-Variante. Auch in der maximal stickstoffversorgten Variante (240 kg N/ha) waren an weniger als jeder zweiten Pflanze Symptome von *Fusarium* spp. festzustellen.

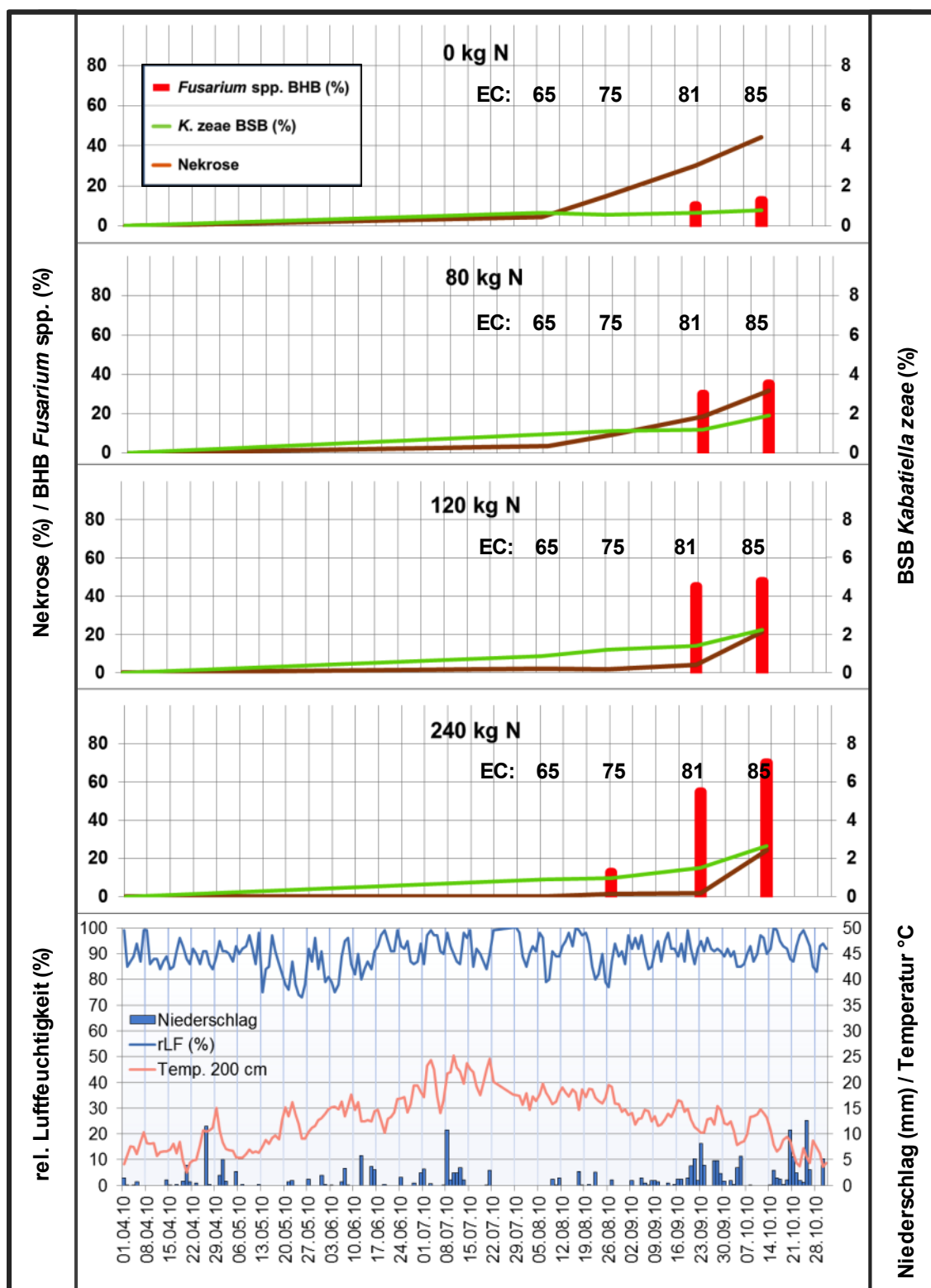


Abbildung 20: Maismonokultur (V112 2010); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

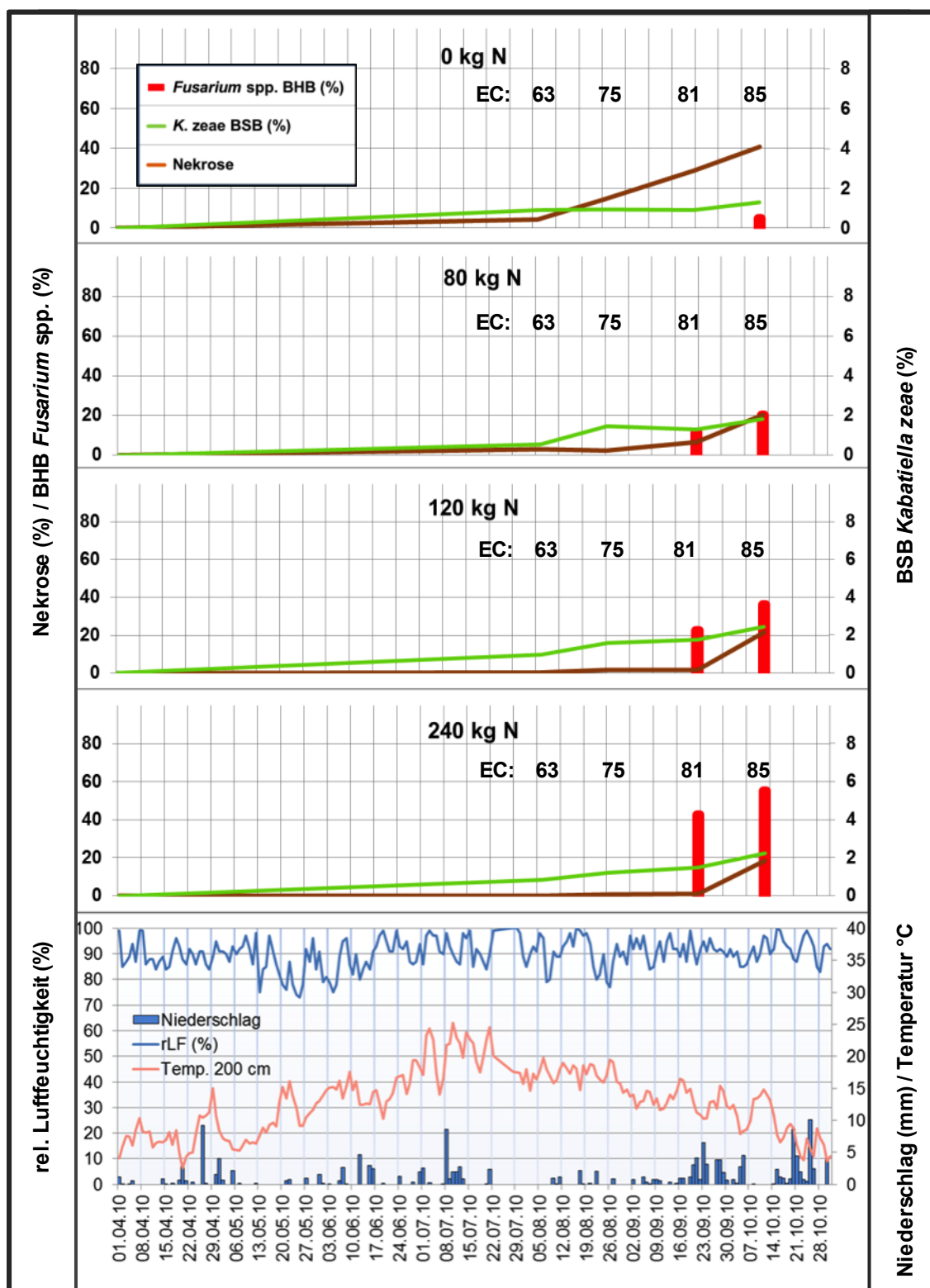


Abbildung 21: Mais der zweigliedrigen Fruchtfolge: Mais – Weizen – ZF Weidelgras (V112 2010); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

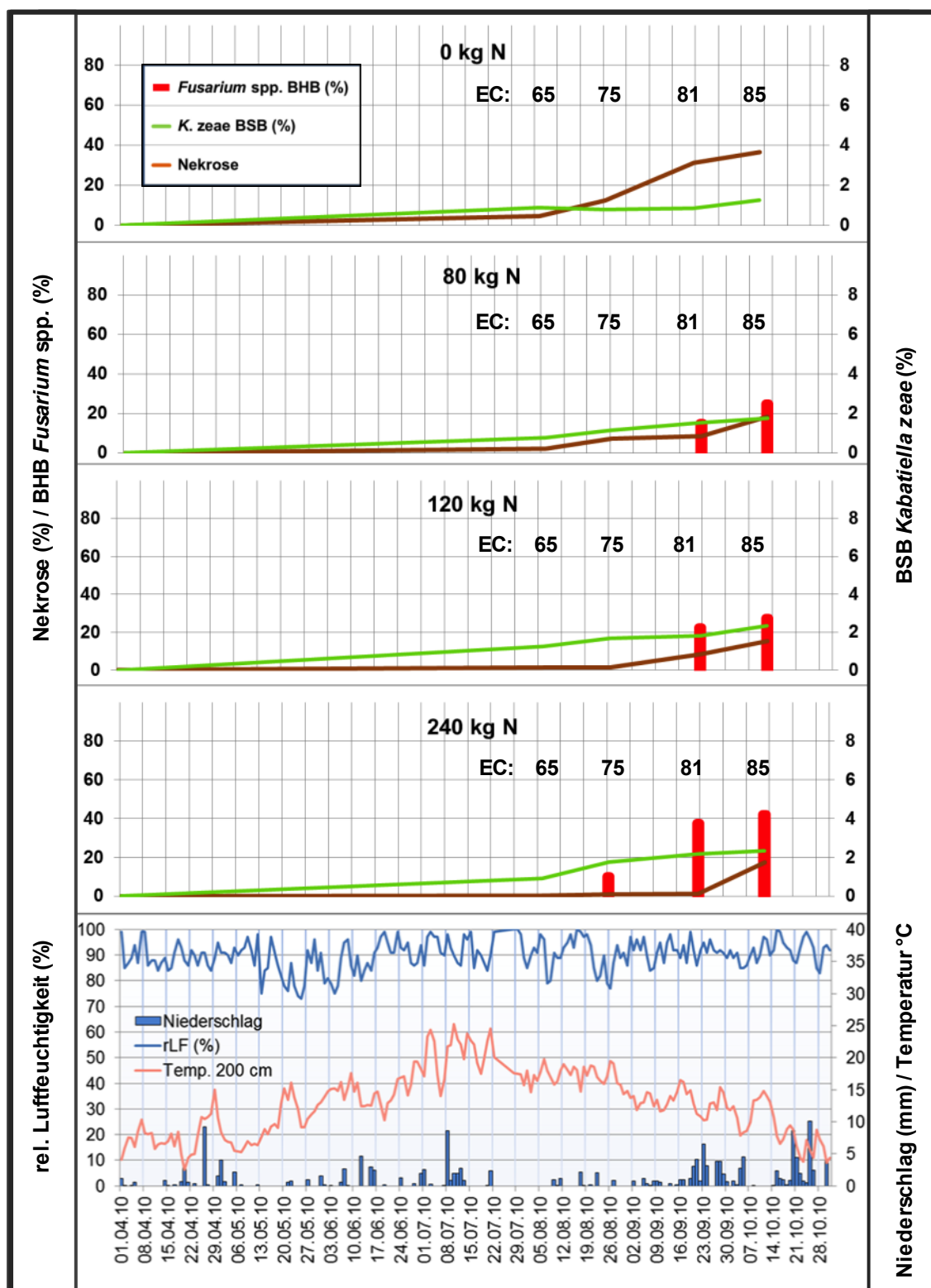


Abbildung 22: Mais der zweigliedrigen Fruchtfolge: Mais – Weizen – ZF Gelbsenf (V112 2010); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

4.2.1.4 Bonituren der viergliedrigen Fruchtfolgen (V98) Erbsen – Raps – Mais – Weizen 1 x Pflug 2010

In Abbildung 23 sind die Boniturdaten der viergliedrigen Fruchtfolge des Fruchtfolgeversuchs (V98) im gleichen Schema wie für die Bonituren des Biomasseversuchs (V112) dargestellt. In der viergliedrigen Fruchtfolge mit Erbsen und Raps vor dem Mais war erst sehr spät in der Vegetation ein deutlicher Anstieg der Nekrose im Mais festzustellen. Dies galt auch für die Null-Stickstoff-Variante (ganz oben in der Graphik). Zum letzten Boniturtermin zu EC 85 erreichte die Nekrose in dieser Variante 25 %, in der 80 kg N/ha-Variante 9,5 %. In den beiden intensiv gedüngten Varianten blieb sie deutlich unter 5 %.

Der Befall mit *Kabatiella*-Blattflecken stieg in allen Varianten über die Vegetation langsam auf ca. 2 % Blattflächenbedeckung. Den geringsten Befall wies hierbei die 80 kg N/ha-Variante mit 1,43 % der Blattfläche auf.

Das erste Auftreten von sicher bonitierbaren Fusariosen konnte in der 80 kg N/ha-Variante zu EC 75 festgestellt werden. Weitere Neuinfektionen wurden bis Ende der Bonituren zu EC 85 in diese Variante kaum noch festgestellt. In den anderen Varianten konnte von EC 81 bis EC 85 ein deutlicher Anstieg der mit Fusariosen befallenen Pflanzen im Bestand festgestellt werden. Mit ca. 55 % BHB (240 kg N) und 50 % BHB (160 kg N) wiesen die intensiver mit Stickstoff versorgten Varianten deutlich mehr Fusarienbefall auf, als die Null- bzw. 80 kg N/ha-Varianten.

4.2.1.5 Bonituren der viergliedrigen Fruchtfolgen (V98) Raps – Mais – Weizen – Gerste 2 x Pflug 2010

Bei später einsetzender Nekrotisierung der Maiskultur in der viergliedrigen Fruchtfolge mit zweimaliger, wendender Bodenbearbeitung (Abb. 24) ist über alle Stickstoffvarianten ein etwas früherer Anstieg der *Kabatiella*-Blattflecken von ca. zwei Prozent festzustellen. Lediglich die Null-Stickstoffvariante weist zu EC 75 nur 1 % Blattflecken auf. Im Stadium EC 81 ist die Summe der Blattflecken auf dem verbliebenen vitalen Blattgewebe der drei bonitierten Pflanzenabschnitte etwas rückläufig. Mit Ausnahme der 80 kg N/ha-Variante stiegen die *Kabatiella*-Befallswerte bis zum Erntetermin noch einmal an. Mit gut 3 % liegen die Befallswerte in der 160 kg N/ha-Variante am höchsten, gefolgt von der 240 kg

N/ha-Variante. Die Null-Variante liegt bei 2 %, die 80 kg N/ha-Variante leicht unter 1 %.

Die bonitierte Befallshäufigkeit (BHB) mit Fusariosen unterscheidet sich zunächst nur wenig von der der viergliedrigen Fruchtfolge mit einmaliger Bodenbearbeitung in der gesamten Rotation. Insgesamt ist das Befallsniveau der Bestände jedoch etwas niedriger und tritt auch in allen Varianten erstmals zu EC 81 auf.

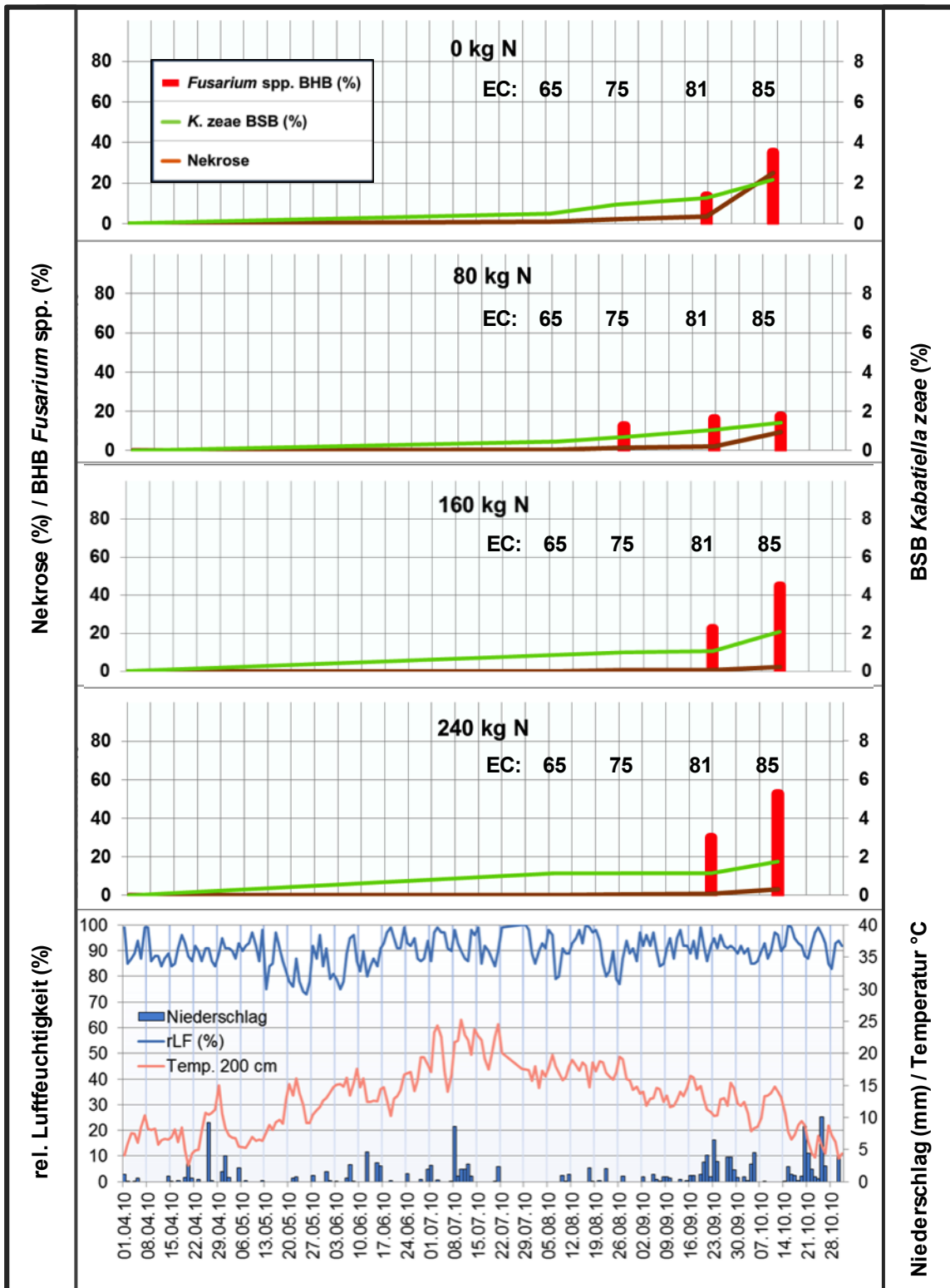


Abbildung 23: Mais der viergliedrige Fruchtfolge: Erbsen – Raps – Mais – Weizen (V98 2010); 1 x Pflug in der Rotation; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

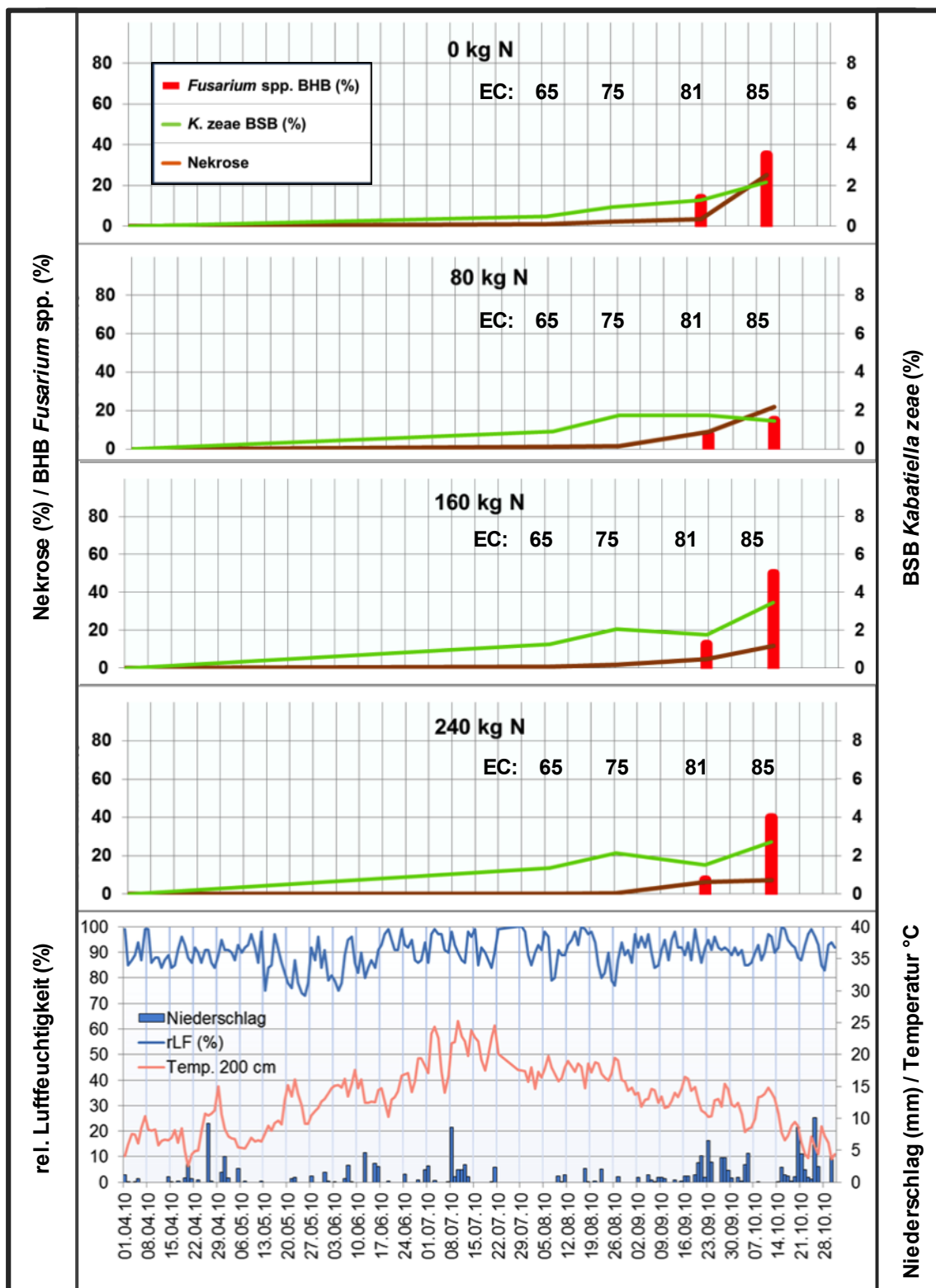


Abbildung 24: Mais der viergliedrige Fruchtfolge (Raps – Mais – Weizen – Gerste); 2 x Pflug in der Rotation; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

4.2.2 Befallsverläufe im Zusammenhang zur Witterung und den Anbausystemfaktoren 2011

Die Befallsstärken und Nekrotisierungswerte für alle Bonituren des Versuchsjahres 2011 (Abb. 25) lagen auf einem deutlich erhöhten Niveau im Vergleich zu 2010. Dies galt insbesondere für die Befallshäufigkeit mit *Fusarium* spp.. Die Witterungsbedingungen in der Vegetationsperiode 2011 wiesen deutlich mehr Niederschläge auf als 2010. Zum Zeitpunkt der Blüte fielen fast täglich Niederschläge und es herrschte eine hohe Luftfeuchtigkeit.

Im Versuchszeitraum war 2011 das Jahr mit den größten Niederschlagsmengen, parallel mit insgesamt kühleren Temperaturen. Vor und zur Blüte der Maisbestände herrschte milde, feuchte bis regnerische Witterung.

4.2.2.1 Befallsverläufe in der Maismonokultur in 2011 (V112)

Die Nekrotisierung des Blattapparates der ungedüngten Maismonokultur setzte in 2011 schon in der Blüte ein (Abb. 25) und stieg nach der Blüte stärker an als im Versuchsjahr 2010. Von EC 69 bis EC 85 war ein nahezu linearer Anstieg der nekrotisierten Blattfläche zu verzeichnen. Waren im Versuchsjahr 2010 zum Erntetermin gerade 45 % nekrotisiert, wurden in 2011 zur Silomaisernte gut 65 % nekrotisierte Blattfläche festgestellt. Mit der angestiegenen Stickstoffintensität verringerten sich die bonitierten Nekrosen. Dennoch war für alle Varianten eine vergleichsweise frühe und stark auftretende Nekrose festzustellen.

Kabatiella zeae trat unabhängig von der Stickstoffintensität ab EC 61 auf und stieg kontinuierlich, aber geringfügig bis EC 79/81. Zur Abreife und dem letzten Boniturtermin konnte nochmals ein etwas stärkerer Anstieg in allen Varianten festgestellt werden. Die maximalen Befallswerte lagen mit ca. 3 % in der Null-Variante und ca. 4 % in der Maximalvariante verhältnismäßig dicht beieinander.

Fusariosen konnten in der Maximalvariante im Versuchsjahr 2011 schon zu EC 73 festgestellt werden. In allen anderen Varianten wurden beim nächsten Boniturtermin zu EC 79 zum Teil hohe Befallshäufigkeiten im Bestand bonitiert. Mit gestiegenen Stickstoffintensitäten konnten vermehrt befallene Pflanzen im Bestand visuell ermittelt werden. Bei den meisten, als befallen bonitierten Pflanzen konnte ein eindeutiger Fusarienbefall an dem zweiten unausgebildeten Kolben

festgestellt werden. In der Null-Variante und der 80 kg N/ha-Variante waren die zweiten Kolben oft gar nicht angesetzt.

Vom ersten Auftreten an konnten bei jedem weiteren Boniturtermin erneut befallene Pflanzen registriert werden. In der Null-Variante wiesen knapp über 40 % der Pflanzen eindeutige Fusarien-Symptome auf. Bei 80 kg N/ha waren es schon über 50 % der Pflanzen, bei 160 kg N/ha 80 % und in der Maximalvariante wies jede der bonitierten 20 Pflanzen mindestens an dem zweiten verkümmerten Kolben Symptome auf.

4.2.2.2 Befallsverläufe der pfluglosen Maismonokultur vergleichend wendenden Maismonokultur (Pflug) in 2011 (V112)

In Abbildung 26 ist der Befall der Maismonokultur bei maximaler Stickstoffdüngung (240 kg N/ha) mit wendender Bodenbearbeitung der Maismonokultur (240 kg N/ha) bei reduzierter Bodenbearbeitung (Grubber) gegenübergestellt.

Der Verlauf der Nekroseentwicklung begann in etwa gleichzeitig, in der reduziert bearbeiteten Variante stieg der Anteil nekrotisierter Blattfläche jedoch schneller an und erreichte zu EC 79 knapp 20 % der Blattfläche. Im Vergleich hierzu wies die Pflug-Variante erst 5 % zu EC 79 auf. Bis zur Abschlussbonitur zu EC 85 waren bei der Grubber-Variante ca. 45 % der Blattfläche nekrotisiert. In der Pflug-Variante schloss die Bonitur bei EC 85 mit 25 % nekrotisierter Blattfläche ab. Der starke Anstieg der nekrotisierten Blattfläche in der Grubber-Variante vollzog sich innerhalb der letzten zwei Wochen. Zu EC 81 waren noch etwa 80 % der Blattfläche vital. Auffällig waren die vergleichsweise hohen Befallswerte mit *K. zeae*. Ab EC 61 konnte ein starker Anstieg der befallenen Blattfläche auf 4 % zu EC 73 verzeichnet werden. Bis EC 85 konnte ein kontinuierlicher Anstieg der Befallswerte auf 6 % der Blattfläche bonitiert werden. Dies lag deutlich über den Befallswerten der Vergleichsvarianten und stellt für alle Versuchsjahre und Versuchsvarianten den höchsten Befallswert dar.

Die ersten, sicher bonitierbaren Fusarien-Symptome wurden zu EC 69, also zum Ende der Blüte der Maispflanzen festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt konnte in keiner der anderen Varianten ein visueller Befall ermittelt werden. Zu EC 73 und 79 lag der Fusarien-Befall der Grubber-Variante nur leicht über dem der Pflug-Variante. Der Gesamtzustand der Pflanzen war jedoch schlechter, was über die Summe der

Parameter Nekrose, Blattflecken und Fusariosen in der Abbildung 26 deutlich wird. Während in der Pflug-Variante zu EC 81 noch 15 % der bonitierten Pflanzen frei von jeglichen Fusarien-Symptomen waren, waren zu diesem Termin schon 100 % der Pflanzen der Grubber-Variante befallen. Zum Abschlussboniturtermin bei EC 85 wiesen beide Varianten 100 % Befallshäufigkeit (BHB) auf, wobei die Infektionen der Grubber-Variante über die längere Befallszeit ein höheres Maß angenommen hatten. Die Befallsstärke wurde am Erntegut analytische erfasst und ist in Abschnitt 4.3 dargestellt.

4.2.2.3 Befallsverläufe der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Weidelgras als Zwischenfrucht in 2011 (V112)

In Abbildung 27 ist zu sehen, dass der Mais in der zweigliedrigen Fruchtfolge (Mais – Winterweizen) mit Zwischenfrucht Welsches Weidelgras wie auch im Versuchsjahr 2010 im gesamten Befallsniveau deutlich hinter dem der Maismonokultur zurückblieb. Die Nekrosen erreichten zu EC 73 bonitierbare Werte, wobei die Null-Variante mit 5 % nekrotisierter Blattfläche deutlich über den stickstoffgedüngten Varianten lag. Für alle Varianten war ein kontinuierlicher, zur Abreife in EC 85 stärker steigender, Anstieg der Nekrosen zu verzeichnen. Je höher die Stickstoffversorgung, desto geringer die Nekrotisierung. In der Null-Variante waren zur Silomaisernt gute 50 % der Blattfläche nekrotisiert, wogegen die Maximal-Variante noch über 80 % vitale Blattmasse besaß.

Der Befall durch *Kabatiella*-Blattflecken war über alle Varianten hinweg niedrig, die Maximal-Variante erreichte mit knapp über 2 % die höchsten Befallswerte.

Der erste Befall mit *Fusarium* spp. konnte in der 160 kg N/ha und 240 kg N/ha-Varianten zu EC 79 bonitiert werden. In den 0 kg N/ha bzw. 80 kg N/ha-Varianten wurde erst zu EC 81 ein Befall registriert.

Insgesamt blieben die Befallshäufigkeiten im Bestand (BHB) auf einem geringeren Niveau als dies für diese Fruchtfolge im Versuchsjahr 2010 der Fall war. Gesundeste Variante nach der visuellen Bonitur zur Silomaisreife war die 80 kg N/ha-Variante mit lediglich ca. 10 % befallenen Pflanzen. In der Maximal-Variante mit 240 kg N/ha waren 40 % der Pflanzen mit *Fusarium* spp. befallen.

4.2.2.4 Befallsverläufe der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als Zwischenfrucht in 2011 (V112)

Der Befall der Maiskultur durch die bonitierten Pathogene in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als „Cathcrop“ zur Verminderung von Stickstoffauswaschungen lag auf einem ähnlichen Niveau wie der Befall in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras, welches im Herbst und im Frühjahr durch Schnitt genutzt wurde, bevor nach Umbruch der Mais gedreht wurde. Im Bereich der Fusariosen lagen die Befallswerte dieser Fruchtfolge deutlich unter denen der Monokultur, jedoch etwas über der zweigliedrigen Vergleichsfruchtfolge in 2011. Der Verlauf der Nekrose begann je nach Stickstoffversorgung zwischen EC 61 und 73 und stieg stetig bis zur Silomaisenernte (Abbildung 28). Wie in der zweigliedrigen Vergleichsfruchtfolge wies die Nullvariante die höchsten und die Maximalvariante die geringsten Nekrosewerte auf. In der Maximalvariante war mit etwas mehr als 20 % eine geringfügig größere Blattfläche zu EC 85 nekrotisiert. Im Gegensatz zur Fruchtfolge mit Weidelgras traten bonitierbare Fusariosen nur in der Maximalvariante mit 240 kg N/ha schon zu EC 79 auf, die anderen Varianten zeigten erst im EC-Stadium 81 Symptome von *Fusarium* spp.-Infektionen. Das Niveau der Infektionen lag zur Abschlussbonitur (EC 85) im Durchschnitt um 10 % BHB höher als in der zweigliedrigen Vergleichsfruchtfolge. Der niedrigste Wert wurde ebenso in der 80 kg N/ha-Variante ermittelt und lag bei 20 % BHB. Etwa. 60 % Befallshäufigkeit wurden bei der Maximalvariante bonitiert, was 20 % über der zweigliedrigen Vergleichsfruchtfolge lag.

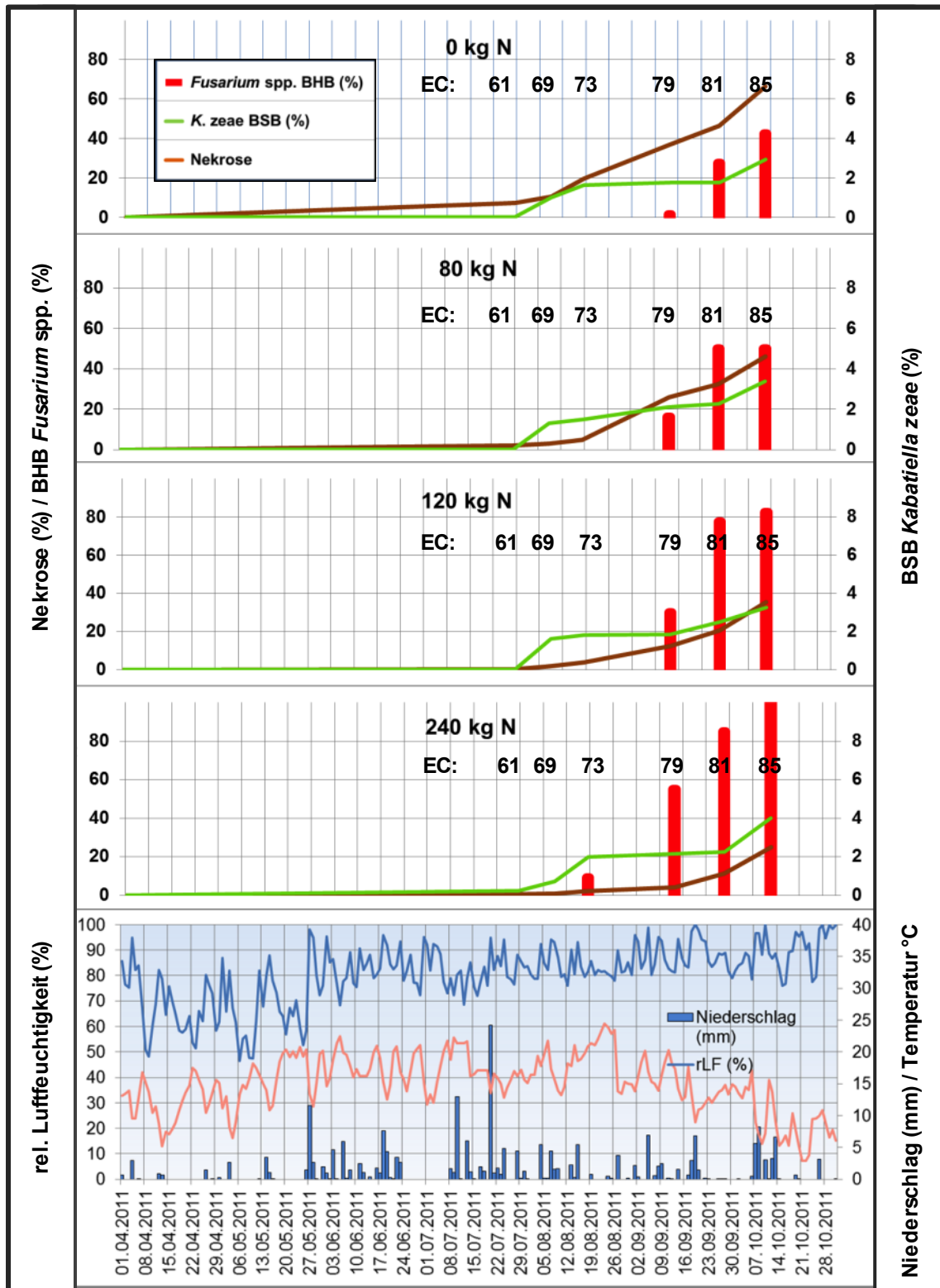


Abbildung 25: Maismonokultur (V112) 2011; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zae* BSB (%), *Fusarium spp.* BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

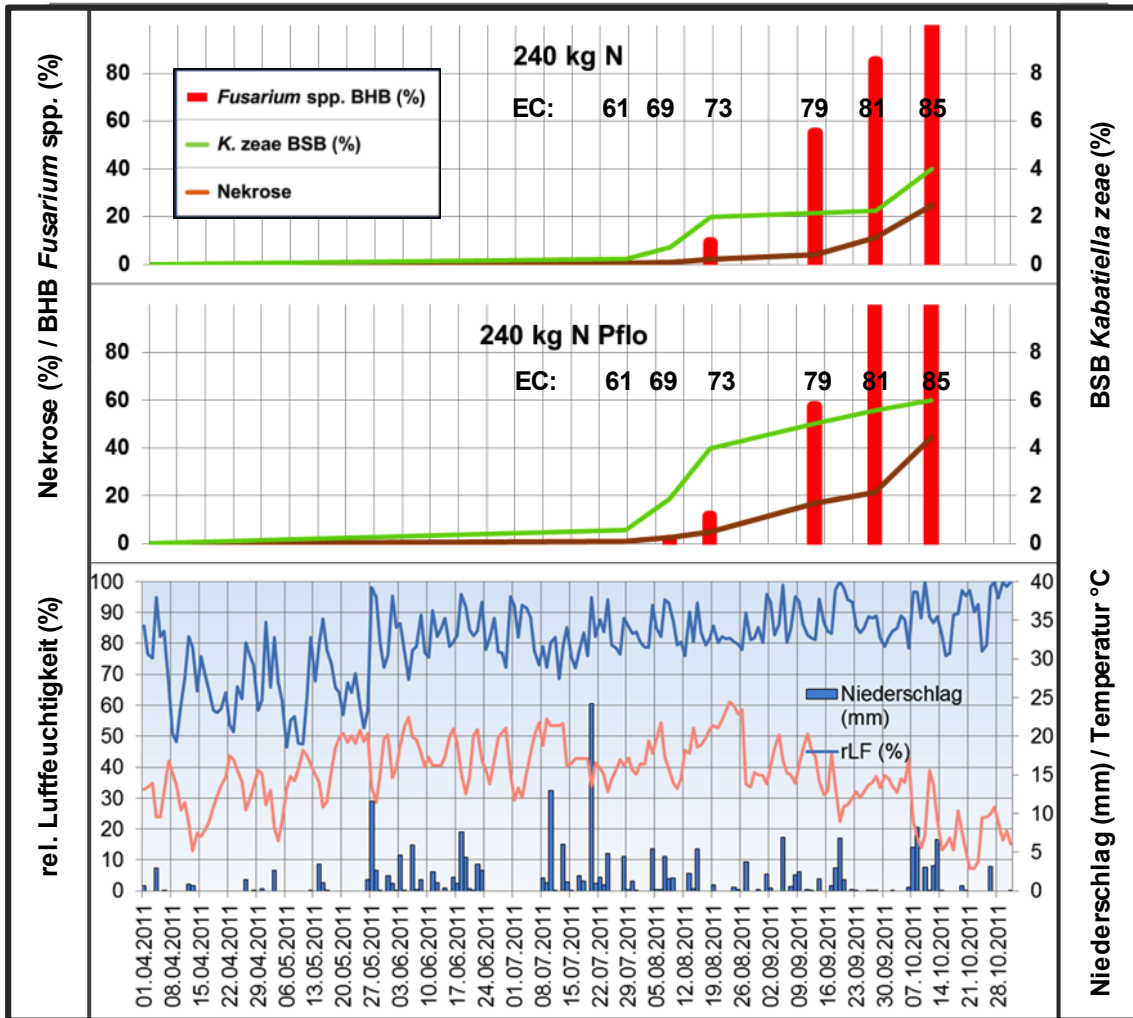


Abbildung 26: Mais-Monokultur langjährig gepflügt (oben) vs. Mais-Monokultur im ersten Jahr nicht wendender Bodenbearbeitung (V112 2011); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zeae* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

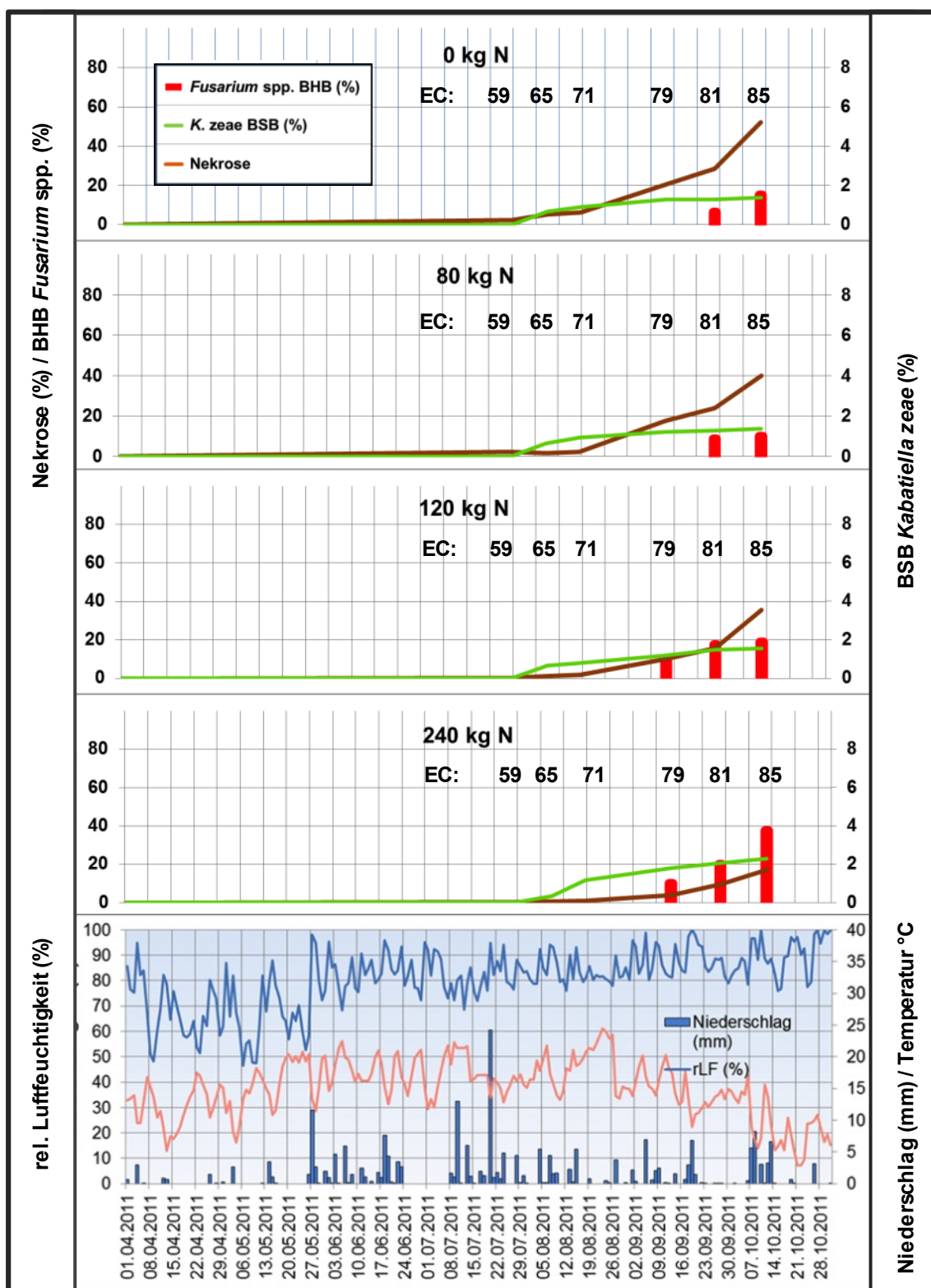


Abbildung 27: Mais der zweigliedrigen Fruchtfolge: Mais – Weizen – ZF Weidelgras (V112 2011); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zeae* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

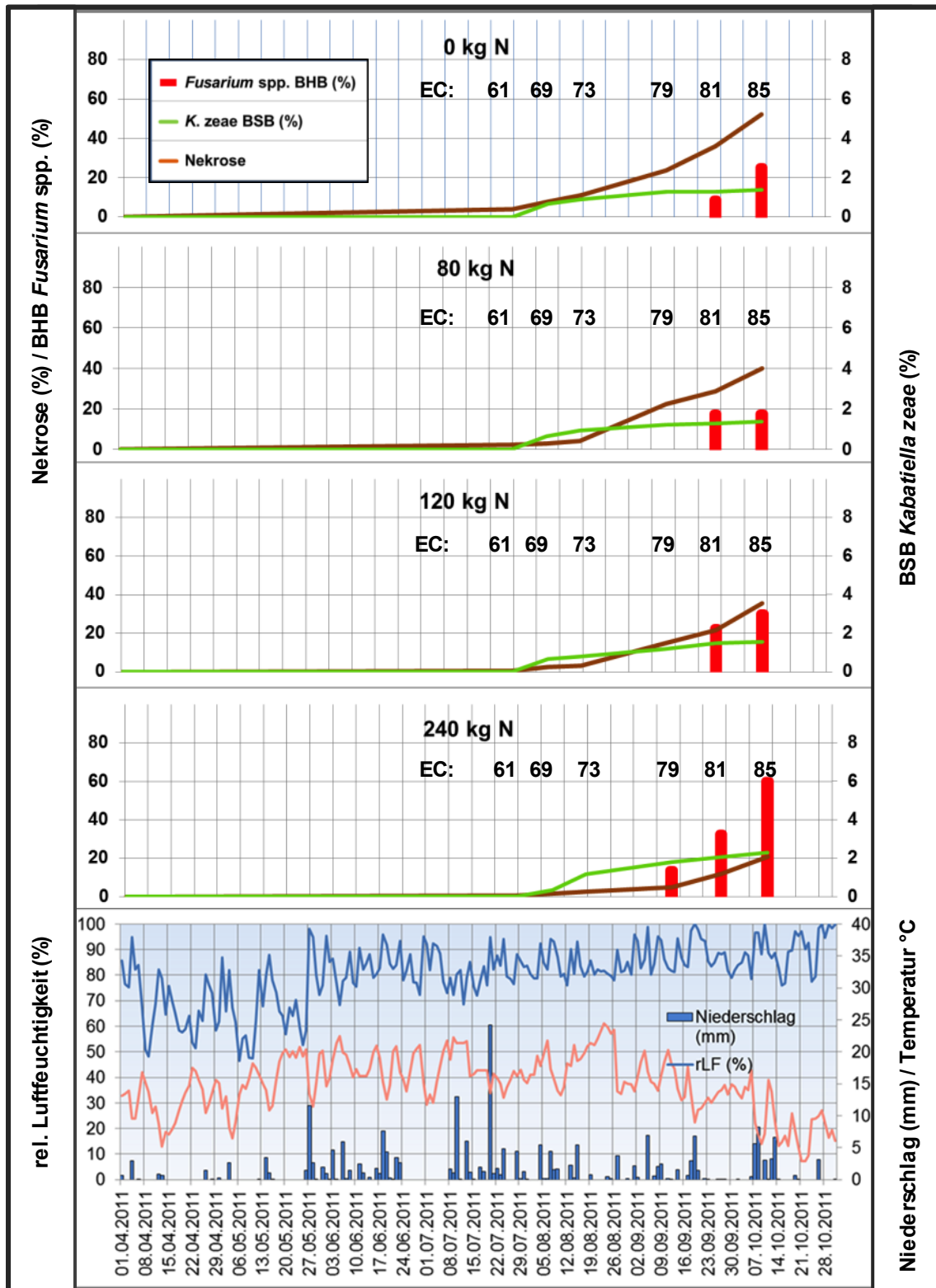


Abbildung 28: Mais der zweigliedrigen Fruchtfolge: Mais – Weizen – ZF Gelbsenf (V112 2011); Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zeae* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

4.2.2.5 Befallsverläufe der viergliedrigen Fruchtfolge Erbsen – Raps – Mais – Weizen 1 x Pflug in 2011 (V98)

In Abbildung 29 ist die Mais-Bonitur der viergliedrigen Fruchtfolge mit einmalig wendender Bodenbearbeitung in der vierjährigen Rotation graphisch mit den Wetterdaten der Vegetation 2011 dargestellt. Die einmalig wendende Bodenbearbeitung wurde in dieser Fruchtfolge nach der Maiskultur und damit vor dem Weizen durchgeführt. Die Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) mit *Fusarium* spp. lag deutlich über dem Befallsniveau des Vorjahres und auch über dem der zweigliedrigen Fruchtfolgen mit Zwischenfrüchten aus dem Biomasseversuch (V112). Ein direkter Vergleich dieser Fruchtfolgen kann jedoch aufgrund der unterschiedlichen Versuchsanordnung nicht gezogen werden. Nekrosen und der Befall mit *K. zeae* unterschieden sich nicht stark von den Varianten des Biomasseversuchs. Wie in den anderen Varianten auch stieg die nekrotisierte Blattfläche in der Null- bzw. 80 kg N/ha-Variante früher und auch schneller an als in den intensiver versorgten Varianten. Zur Silomaisernte waren in der Nullvariante gut 60 % der Blattfläche nekrotisiert. Die Maximalvariante wies mit ca. 25 % nekrotisierter Blattfläche den geringsten Wert für die Nekrose auf.

Für *K. zeae* wurde in der Maximalvariante mit 2 % Befallsstärke zu EC 73 der höchste Wert bonitiert. In den anderen Varianten lag der Befall zu diesem Termin bei etwa 1 % der Blattfläche. In allen Varianten gab es bis EC 81 nur einen leichten Anstieg. Bis zum letzten Boniturtermin zu EC 85 stiegen die Werte dann nochmal stärker an. Der niedrigste Befall wurde für die 80 kg N/ha-Variante mit knapp unter 3 % bonitiert. Die Maximalvariante wies mit 4,1 % BSB den stärksten Befall auf.

Fusariosen konnten in allen Varianten schon zu EC 73 bonitiert werden. Zu diesem frühen Zeitpunkt lag die Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) jedoch in jeder Variante unter 20 %. Dieser frühe Befall konnte sich in den Parzellen bis zur Silomaisreife gut weiterentwickeln. Auch in der sonst schwächer befallenen 80 kg N/ha-Variante und in der Null-Variante stieg die BHB bis EC 85 auf 50 %, bzw. leicht über 50 % an. In der Maximalvariante waren zur Silomaisreife 100 % der Pflanzen mit *Fusarium* spp. befallen.

4.2.2.6 Befallsverläufe der viergliedrigen Fruchtfolge Raps – Mais – Weizen – Gerste 2 x Pflug in 2011 (V98)

Auch in der viergliedrigen Fruchtfolge mit zweimalig wendender Bodenbearbeitung in der vierjährigen Rotation ist im Versuchsjahr 2011 ein starkes Auftreten von *Fusarium* spp. bonitiert worden (Abbildung 30). Die Bodenbearbeitung mit dem Pflug wurde vor den Fruchtfolgegliedern Raps und Gerste durchgeführt.

Die über die Maisbonitur ermittelten Verläufe der Nekrotisierung und des Befalles mit *K. zeae* unterschieden sich nur wenig von der Bonitur der viergliedrigen Vergleichsfruchtfolge im Fruchtfolgeversuch (V98). In dieser Fruchtfolge konnten schon zu EC 73 erste Symptome von *Fusarium* spp. bonitiert werden. Lediglich in den 80 kg N/ha, bzw. 160/160 kg N/ha-Varianten konnten zu EC 81 und EC 85 geringfügig niedrigere Befallshäufigkeiten im Bestand (BHB) ermittelt werden.

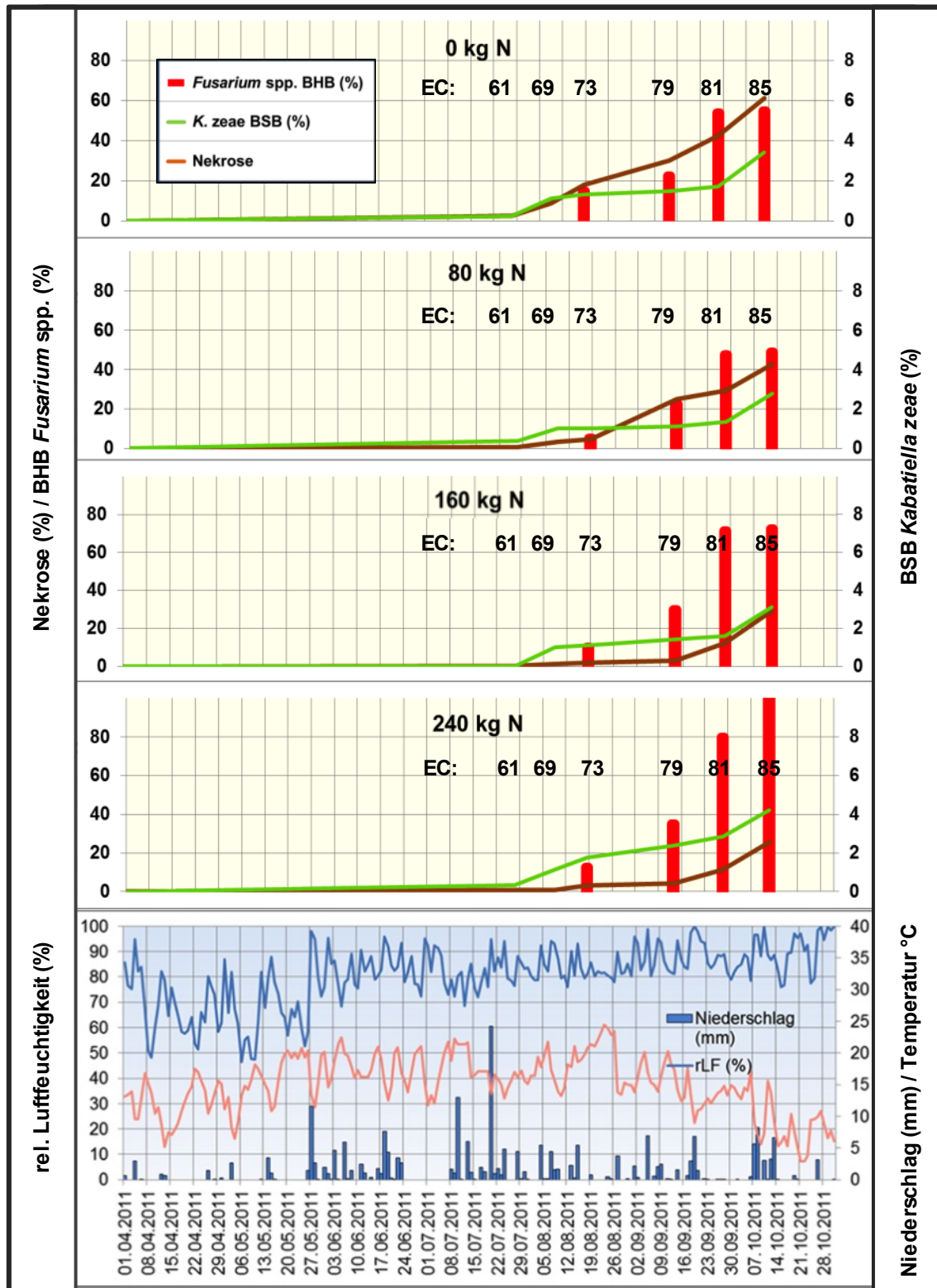


Abbildung 29: Mais der viergliedrige Fruchtfolge: Erbsen – Raps – Mais – Weizen (V98 2011); 1 x Pflug in der Rotation; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zeae* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

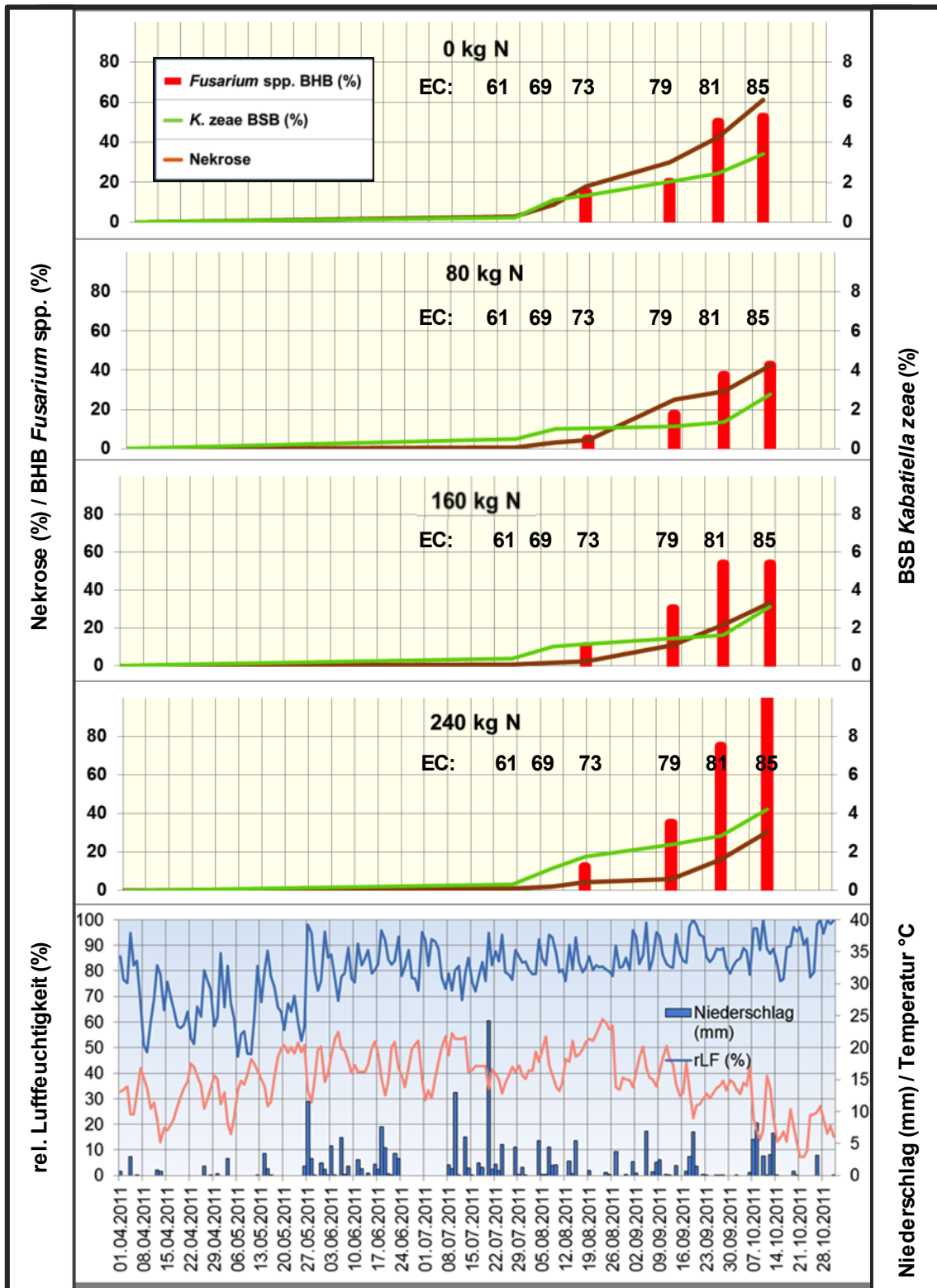


Abbildung 30: Mais der viergliedrige Fruchtfolge: Raps – Mais – Weizen – Gerste (V98 2010); 2 x Pflug in der Rotation; Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Boniturwerte: Nekrose (%), *Kabatiella zea* BSB (%), *Fusarium* spp. BHB (%); die Befallsverläufe der Stickstoffintensitätsstufen sind zur Witterung während der Vegetationsperiode in Bezug gesetzt – Datenerhebung der Wetterdaten im Maisbestand: blaue Linie = relative Luftfeuchtigkeit (%), rote Linie = Temperatur (°C), blaue Balken = Niederschlag (mm)

4.3 Analytischer Nachweis von Belastungen durch *Fusarium* spp. im Mais

Wie im Teil Material und Methoden beschrieben ist die Bewertung der Befallshäufigkeit und vor allem der Befallsstärke über einfache Sichtbonituren nur bedingt möglich. Die folgenden Kapitel geben die Ergebnisse der Laboranalysen des Silomaiserntegutes wieder. Zunächst wird die unter 4.2 wiedergegebene Fusarien-Bonitur (BHB) über die Analytik der unspezifischen Anteile von Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA validiert.

Zur Validierung der Boniturwerte wurden alle über qPCR ermittelten spezifischen Befallswerte der unterschiedlichen *Fusarium* spp. des Silomaises (Maismonokultur (V112)) aus dem Versuchsjahr 2010 akkumuliert und als unspezifischer Fusarienbefall der bonitierten Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) gegenübergestellt. Dies wurde beispielhaft für alle Stickstoffintensitäts-Varianten der Maismonokultur (Biomasseversuch V112) in den Jahren 2010 (Abbildungen 31 und 32) und 2011 (Abbildungen 33 und 34) durchgeführt. Ausgenommen war hiervon die Maismonokultur unter pflugloser Bodenbearbeitung.

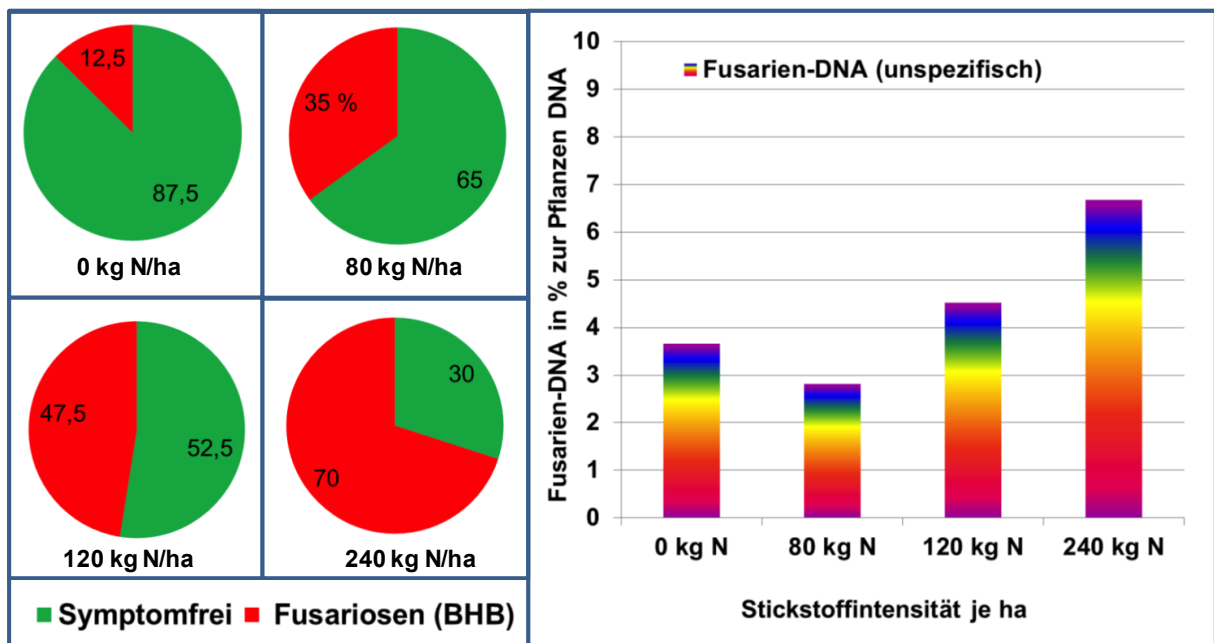


Abbildung 31: Bonitierte Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) zur Abschlussbonitur (links) vergleichend zum analytischen Nachweis der unspezifischen *Fusarium*-DNA (rechts) im Erntegut der Maismonokultur/Biomasseversuch 112 (alle Stickstoffintensitäten 0-240 kg N/ha), 2010

In Abbildung 31 sind auf der linken Seite in den Kreisdiagrammen die bonitierten Befallshäufigkeiten (BHB) der Mais-Monokulturbestände 2010 zum Zeitpunkt der Siloreife (EC 85) abgebildet. Oben links ist die BHB der 0-Stickstoff-Variante, oben rechts die 80 kg N/ha-, unten links die 160 kg N/ha- und unten rechts die 240 kg N/ha-Variante zu sehen. Auf der rechten Seite sind die aus dem Erntegut der Mais-Monokulturbestände 2010 ermittelten, unspezifischen *Fusarium* spp.-DNA-Gehalte im Balkendiagramm dargestellt. Die unspezifischen Befallsstärken im Bestand (BSB) für *Fusarium* spp. ergaben sich aus den akkumulierten spezifischen Befallsstärken (BSB). Die Befallsstärken im Bestand wurden für jeden einzelnen Erregerstamm mittels der quantitativen Genanalyse (qPCR) ermittelt. Die bonitierte BHB der Null-Stickstoff-Variante ist mit 12 % sehr niedrig eingeschätzt worden, wie der Vergleich mit den qPCR-Daten zeigt. Dort wurde eine Gesamtbefallsstärke von 3,653 % Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA ermittelt. Der Befall der 80 kg N/ha-Variante wurde mit 35 % BHB deutlich stärker eingeschätzt. Die analytisch ermittelte Befallsstärke im Bestand blieb jedoch mit 2,807 % hinter der ersten Variante. Ab 160 kg N/ha und ansteigend ist für die Bonitur sowie im Fall der analytischen Ergebnisse ein deutlicher Aufwärtstrend bei steigenden Stickstoffintensitäten beobachtet, bzw. analytisch ermittelt worden. In der maximalen Stickstoffvariante wurde eine BHB von 70 % bonitiert, die sich in einer analysierten BSB von 6,773 % Pathogen-DNA (unspezifisch) zur Pflanzen-DNA bestätigt.

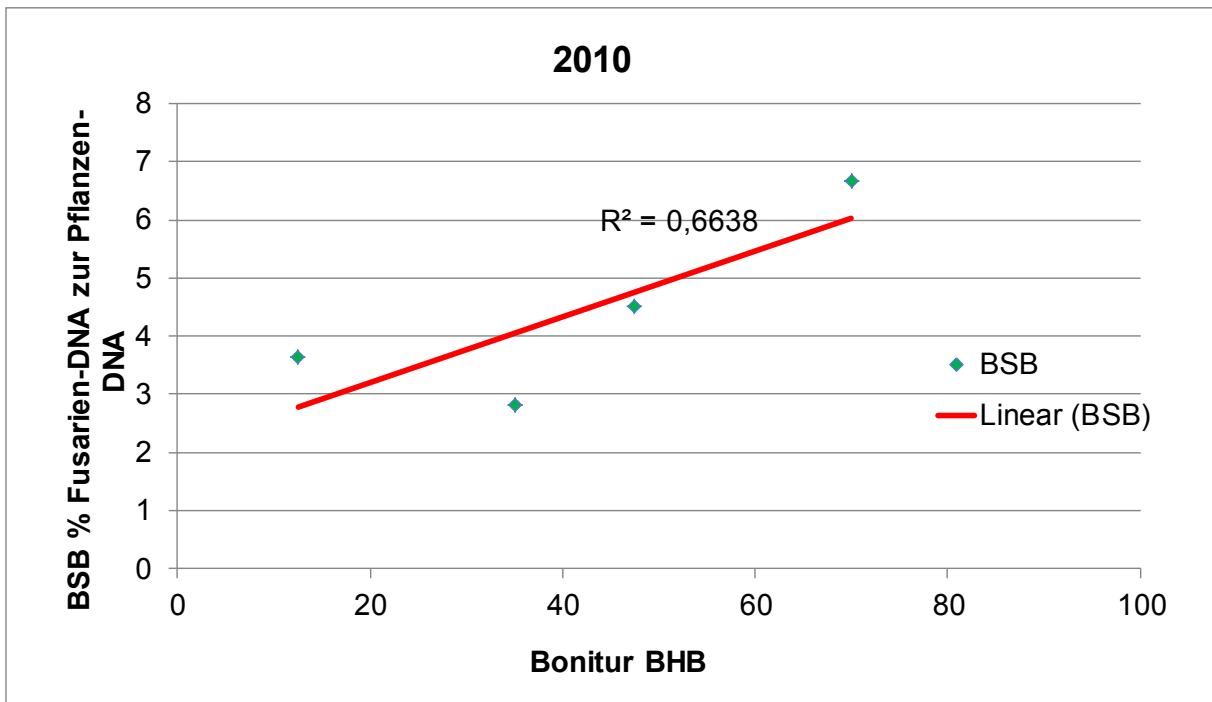


Abbildung 32: Korrelation zwischen bonitierter Befallshäufigkeit im Bestand (BHB in %) und der analytischen Befallsstärke im Bestand (BSB in %) zum Erntetermin (EC 85); BSB durch qPCR aus dem Silomaiserntegut ermittelt; Mais-Monokultur Biomasseversuch (112), 2010

Die Abbildung 32 zeigt die Korrelation zwischen bonitierter Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) zum Erntetermin (EC 85) und der durch quantitative Genanalyse (qPCR) aus dem Silomaiserntegut ermittelten Befallsstärke im Bestand (BSB) für das Versuchsjahr 2010. Wie die Betrachtung der Abbildung 31 schon zeigte, gab es vor allem in der 0- kg N/ha -Variante nur eine sehr geringe Übereinstimmung der bonitierten Befallshäufigkeit und der analytischen Befallsstärke. Das R^2 der Trendlinie ist mit 0,6638 dementsprechend niedrig. Beim Verlauf der drei folgenden Werte kann eine höhere Korrelation angenommen werden.

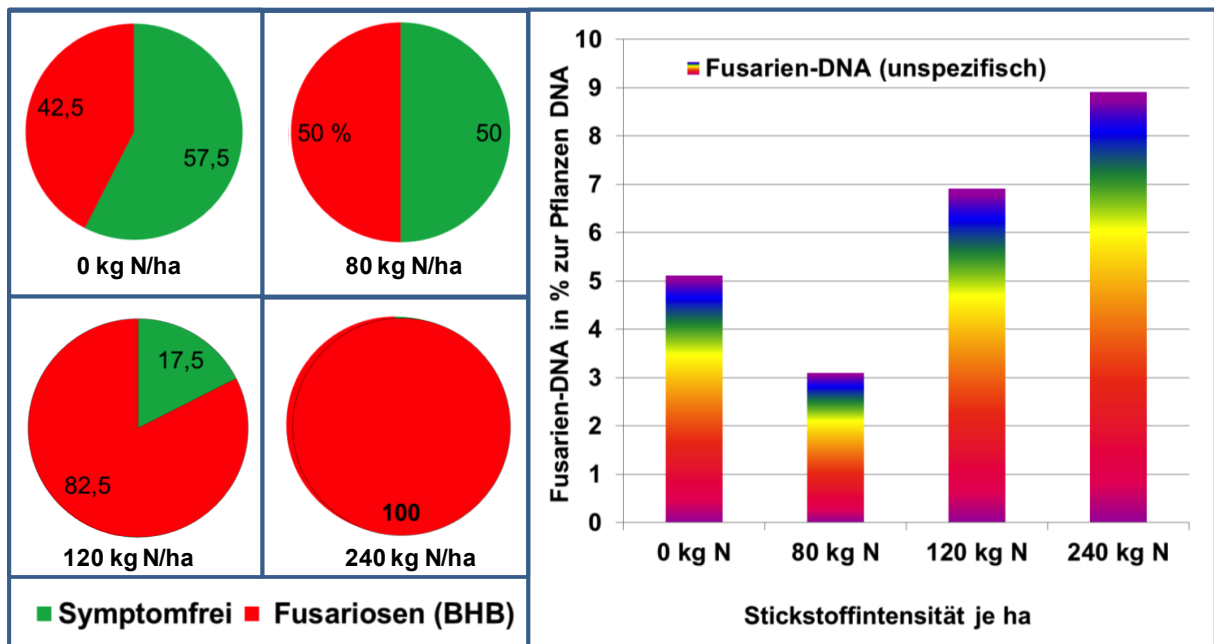


Abbildung 33: Bonitierte Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) zur Abschlussbonitur (22.09.) (links) vergleichend zum analytischen Nachweis der unspezifischen Fusarien-DNA (rechts) im Erntegut der Maismonokultur/Biomasseversuch 112 (alle Stickstoffintensitäten 0-240 kg N/ha), 2011

Abbildung 33 zeigt nach dem gleichen Schema wie Abbildung 31 die BHB sowie die BSB durch *Fusarium* spp. in der erntereifen Maismonokultur bzw. im Maiserntegut der Monokultur (Biomasseversuch) für das Versuchsjahr 2011.

Die bonitierte Befallseinschätzung der 0- kg N/ha -Variante lag in 2011 mit 42,5 % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA nur leicht unter der 80 kg N/ha-Variante mit 50 % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA. Die unspezifischen Fusarien-DNA-Gehalte zeigten hier mit 5,114 % (0 kg N/ha) und 3,106 % (80 kg N/ha) ein ähnliches Bild wie 2010, jedoch auf einem höheren Befallsniveau. Während die BHB für die 160 kg N/ha-Variante nur noch 17,5 % Pflanzen ohne offensichtlichen Befall aufwiesen, wurden in der 240 kg N/ha-Variante an jeder der 20 untersuchten Pflanzen je Parzelle eindeutig *Fusarium* spp.-Symptome festgestellt. Dies spiegelte sich auch in den, im Verhältnis zu 2010, deutlich gestiegenen Analysewerten von 6,922 % (160 kg N/ha) und 8,923 % (240 kg N/ha) Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA wider.

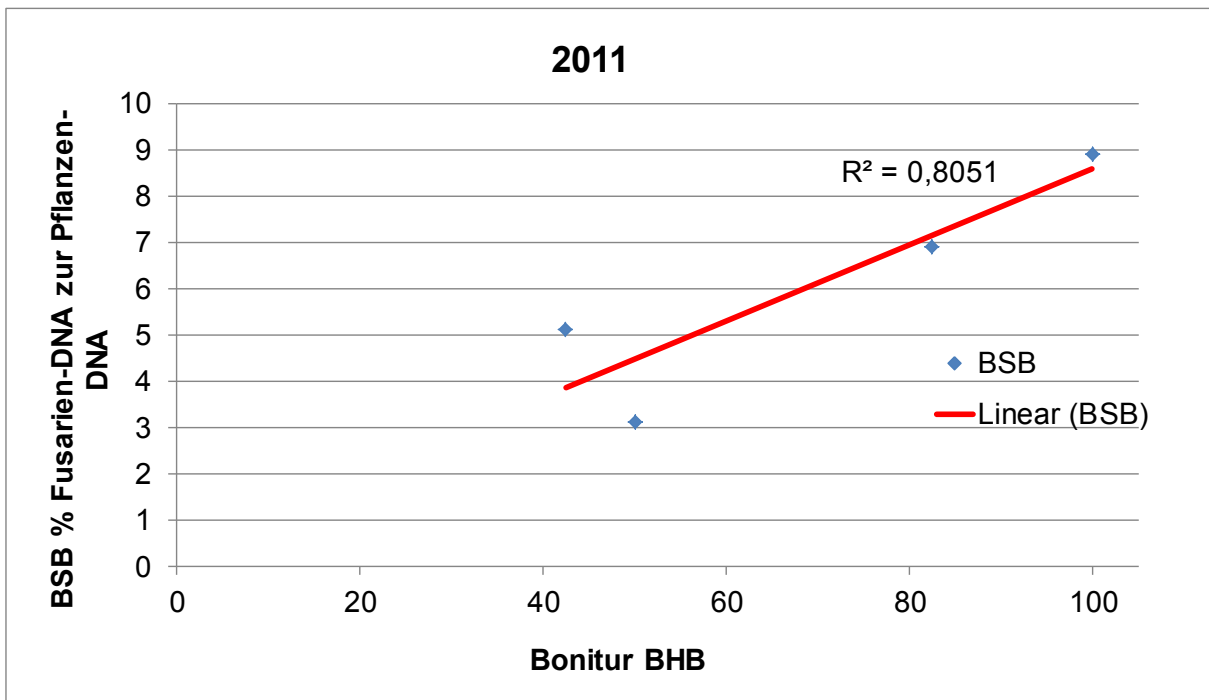


Abbildung 34: Korrelation zwischen bonitierter Befallshäufigkeit im Bestand (BHB in %) und der analytischen Befallsstärke im Bestand (BSB in %) zum Erntetermin (EC 85); BSB durch qPCR aus dem Silomaiserntegut ermittelt; Mais-Monokultur Biomasseversuch (112), 2011

Der Wert für die 0 kg N/ha-Variante fällt wie in 2010 aus dem klar ansteigenden Befallstrend bei steigender Stickstoffdüngung heraus. Dennoch zeigt der Korrelationskoeffizient hier mit einem Wert von 0,8051 für die Maismonokultur unter wendender Bodenbearbeitung in der Saison 2011 eine hohe Übereinstimmung der beiden Bewertungsmethoden (Abbildung 34).

4.3.1 Ermittlung und Quantifizierung des Artenspektrums aus der Silomais-Monokultur 2009 - 2011

Zur Ermittlung der relevanten *Fusarium* spp. wurde die Mais-Monokultur in allen Stickstoffintensitäts-Varianten auf *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae* und *F. tricinctum* untersucht. Auswahl dieser Spezies erfolgte aufgrund von Literaturnachweisen für den nordeuropäisch klimatisch ähnlichen Raum (Nicolaisen et al., 2007). Alle Stickstoffvarianten wurden exemplarisch auf die oben genannten *Fusarium* spp. untersucht, um auch Spezies zu erfassen, geschwächte Wirtspflanzen spezialisiert sind. Spezies, die vermehrt unterversorgte Pflanzen besiedeln, würden bei

ausschließlicher Betrachtung der maximal versorgten, meist stärker belasteten 240 kg N/ha-Variante, nicht entsprechend berücksichtigt.

Im Folgenden werden zur Einordnung des Fusarienarten-Spektrums in den Versuchsjahren 2009 bis 2011 die ermittelten Befallsstärken (BSB) aller Stickstoffintensitäts-Varianten der Maismonokultur (Biomasseversuch V 112) zusammengefasst dargestellt (Abbildungen 35 - 37). Die Darstellung soll eine übersichtliche Information über jährliche Schwankungen der Artzusammensetzung ermöglichen.

Artenspektrum in der Mais-Monokultur 2009

Im Versuchsjahr 2009 war im Mittel über alle Stickstoffvarianten *F. culmorum* mit 1,783 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA die dominierende Art in der Mais-Monokultur 2009 (Abbildung 35).

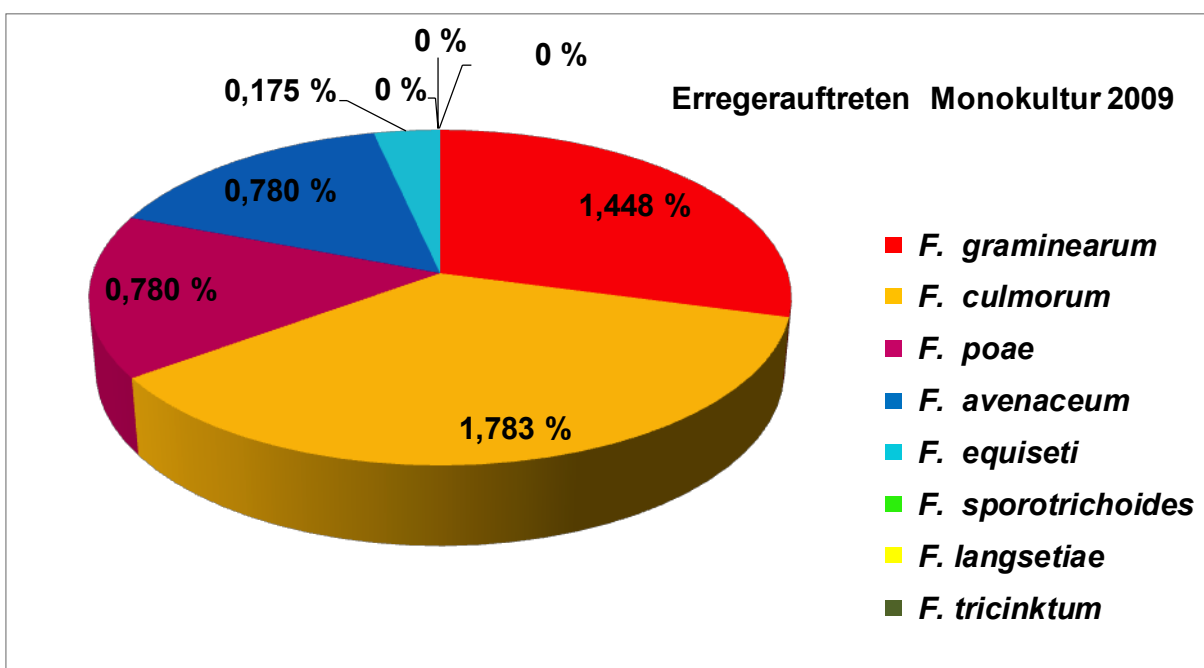


Abbildung 35: Fusarium-DNA-Gehalte in % zur Pflanzen-DNA gemittelt aus den vier Stickstoffintensitätsstufen; Silomais-Ernteproben der Mais-Monokultur des Biomasseversuchs 2009

Die im Laborversuch in stark belasteten Einzelpflanzen-, bzw. Pflanzenteilproben aus dem Versuchsjahr 2010 nachgewiesenen Fusarien-Spezies *F. sporotrichoides*, *F. langsethiae* und *F. tricinctum* konnten in den Silomais-

Ganzpflanzenproben der maschinellen Beerntung 2009 nicht nachgewiesen werden (für 2009 liegen nur Silageproben vor – Projektstart Nov. 2009).

Dennoch konnten für die gut nachweisbaren, weil stärker vertretenen Spezies, eindeutige Ergebnisse generiert werden. Im Versuchsjahr 2009 war *F. graminearum* mit 1,448 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA nach *F. culmorum* das zweitstärkste Pathogen der *Fusarium* spp. in der Maismonokultur 2009. *F. poae* und *F. avenaceum* waren mit 0,780 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA gleichstark vertreten. Mit 0,175 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA konnte *F. equiseti* nur noch schwach nachgewiesen werden.

Artenspektrum in der Mais-Monokultur 2010

Über die im Versuchsjahr 2010 durchgeführte Fraktionierung der Maispflanzen wurde auch die Akkumulation der Erreger in einzelnen Pflanzenteilen, wie dem zweiten unterentwickelten Kolben genutzt, um auch geringste Mengen der Erreger analysieren zu können. In Abbildung 36 ist zu sehen, dass *F. sporotrichioides* im Versuchsjahr 2010 mit 0,033 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA nachgewiesen werden konnte. Die Fraktionierung ermöglichte eine Pathogenanalyse mit deutlich höherer Auflösung. Im Versuchsjahr 2010 war nicht mehr *F. culmorum* die meistvertretene Spezies in der Maismonokultur sondern *F. poae* mit 1,979 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA. *F. graminearum* war mit 1,307 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA in 2010 stärker vertreten als *F. culmorum*, das mit nur 0,732 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA deutlich schwächer vertreten war als in 2009.

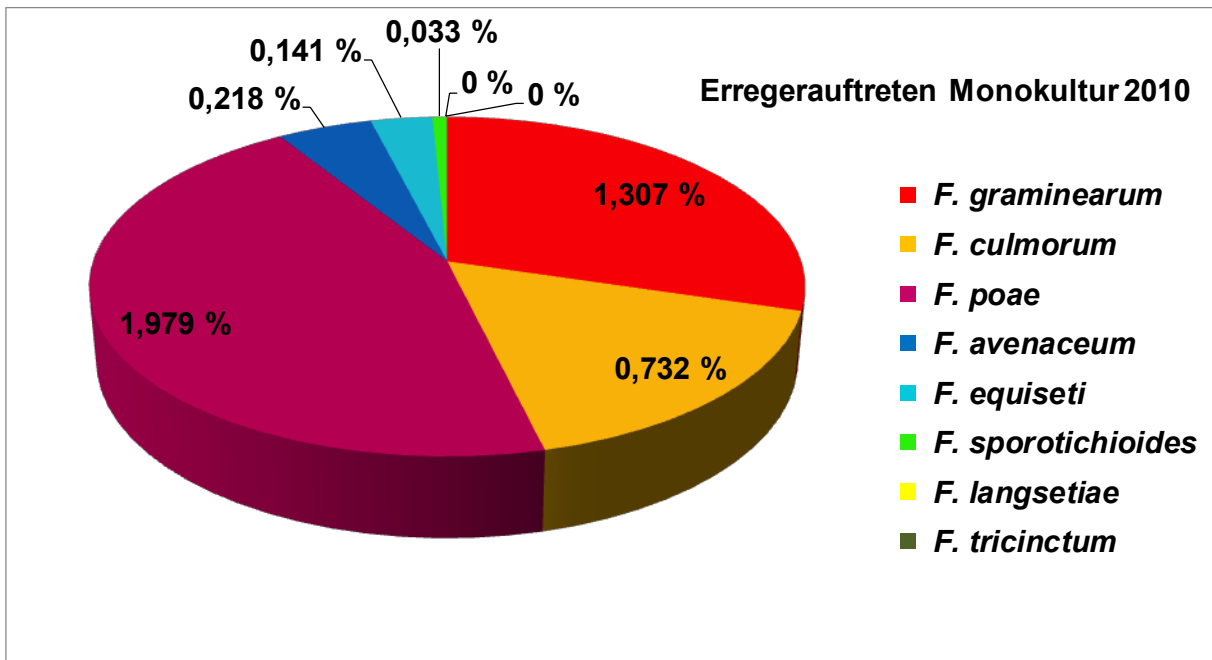


Abbildung 36: Fusarium-DNA-Gehalte in % zur Pflanzen-DNA gemittelt aus den vier Stickstoffintensitätsstufen; Silomais-Ernteproben der Mais-Monokultur des Biomasseversuchs 2010

Der Anteil von *F. avenaceum* lag mit 0,218 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA deutlich unter dem des Vorjahres. Für *F. equiseti* wurde ein leicht verminderter Befallswert von 0,141 % Pathogen-DNA (Vorjahr 0,175 %) ermittelt.

Artenspektrum in der Mais-Monokultur 2011

Die starke Dominanz von *F. poae* konnte für das Versuchsjahr 2011 nicht erneut festgestellt werden (Abbildung 37). Mit 2,215 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA war *F. culmorum* wie in 2009 die am stärksten vertretene Art in der Maismonokultur. Mit 1,851 % lag der Wert für *F. poae* deutlich über dem Befallswert für *F. graminearum* (1,210 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA). Im Verhältnis aller *Fusarium* spp. untereinander gab es für die Spezies *F. avenaceum* und *F. equiseti* zum Vorjahr kaum Veränderungen. Der absolute Befall in % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA hatte sich mit 0,409 % (*F. avenaceum*) und 0,264 % (*F. equiseti*) jedoch für beide *Fusarium* spp. nahezu verdoppelt.

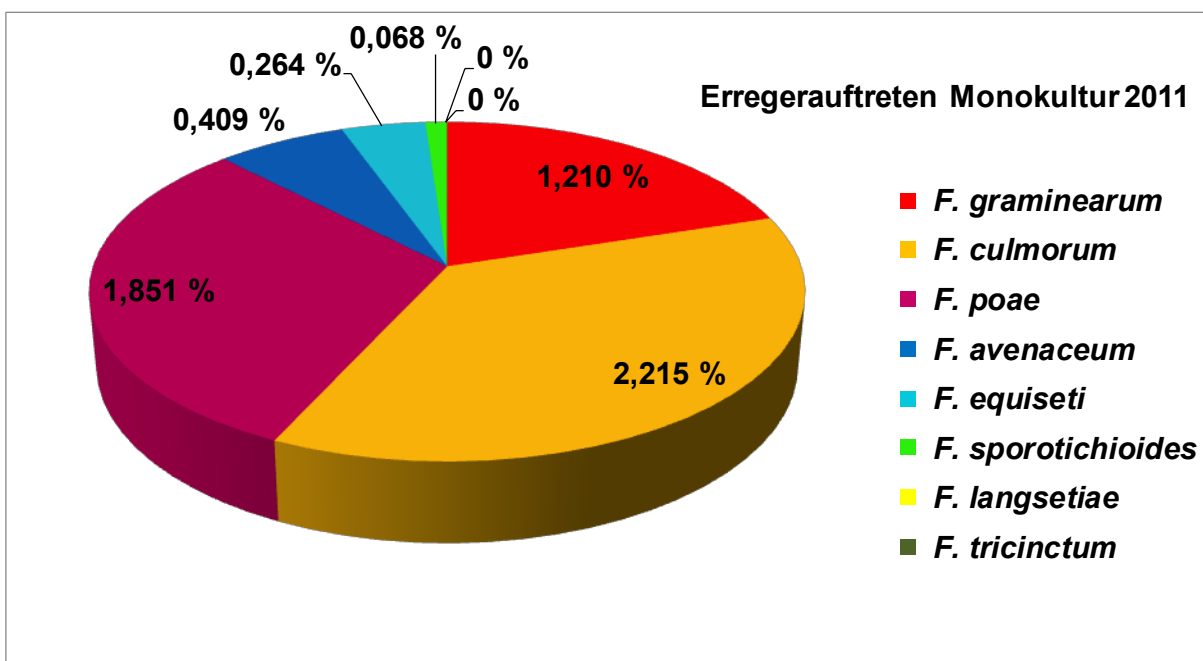


Abbildung 37: Fusarium-DNA-Gehalte in % zur Pflanzen-DNA gemittelt aus den vier Stickstoffintensitätsstufen; Silomais-Ernteproben der Mais-Monokultur des Biomasseversuchs 2011

In den Abbildungen 35 bis 37 ist die jährliche Variabilität des Auftretens der unterschiedlichen Fusarienarten im Bestand der gepflügten Maismonokultur ersichtlich. Andere Anbausysteme können einen erheblichen Einfluss auf die Artzusammensetzung haben.

4.3.1.1 Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum im Silomais (Monokultur) in den drei Versuchsjahren (2009- 2011)

Am Beispiel der Mais-Monokultur (Biomasseversuch V112) wird der Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Arten-Spektrum dargestellt.

In den Abbildungen 38 bis 40 ist exemplarisch für den Mais allgemein, der Einfluss der Stickstoffdüngung auf die Entwicklung der einzelnen *Fusarium* spp., respektive auf das Artenspektrum der Pathogene im Maismonokultur-Bestand dargestellt. Die einzelnen Teilgraphiken sind aufgebaut wie aus Abbildung 35 - 37 bekannt. Von oben nach unten steigt dabei die Stickstoffintensität an.

Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum 2009

In Abbildung 38 ist in der oberen Teilgraphik für die 0 kg N/ha -Variante eine weniger einseitige Verteilung der mengenmäßigen Befallswerte zu erkennen. Wie in den mit Stickstoff gedüngten Varianten war auch in der Nullvariante *F. culmorum* die dominante Art, sie wies jedoch nur 0,11 % mehr *F. culmorum*-DNA zur Pflanzen-DNA auf, als *F. graminearum*- DNA zur Pflanzen-DNA in den Silomaisproben enthalten war. Prozentual gesehen, nach Anteilen des Kreisdiagramms, unterschieden sich die Varianten mit 120-, 240-, 360 kg N/ha nur wenig. Bei 120 kg N war *F. culmorum* am dominantesten, bei 240 kg N/ha und 360 kg N/ha ist der prozentuale Anteil an der Gesamt-Pathogen-DNA in etwa gleich. *F. avenaceum* und *F. equiseti* sind in der 360 kg N-Variante stärker vertreten als in den beiden anderen mit Stickstoff gedüngten Varianten. Anhand der absoluten Befallsstärken (BSB) in % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA (Abbildungen 35 - 37) kann der von der Stickstoffdüngung abhängige Befallsanstieg erkannt werden.

Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum 2010

Ab dem Versuchsjahr 2010 wurden die vier Stickstoffintensitätsvarianten des Biomasseversuchs (V112) von 0 kg - 360 kg N/ha auf 0 kg – 240 kg N/ha reduziert (0; 80; 160; 240 kg N/ha).

F. equiseti und *F. sporotrichioides* wiesen in der 160 kg N/ha-Variante Werte < 0,001 auf und erscheinen deshalb nicht in der Graphik. Werte < 0,001 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA werden nicht dargestellt, da es sich auch um Messungenauigkeiten oder Verunreinigungen handeln kann.

Für die Nullvariante in 2010 wurde zwar eine starke Dominanz der Fusarienart *F. poae* analysiert, dafür wies diese Variante jedoch auch die größte Artenvielfalt auf (Abbildung 39). Mit Ausnahme von *F. langsethiae* und *F. tricinctum* wurden alle *Fusarium* spp. auf welche die Proben untersucht wurden in dieser Variante gefunden. *F. langsethiae* wurde außer in einer Extrembefalls-Probe zu Versuchsbeginn/Laboranalysebeginn 2010 in keiner der Varianten der Feldproben erneut gemessen. Mit 57,89 % Anteil an der Gesamt-Pathogen-DNA wiesen die Wiederholungen der 80 kg N/ha-Variante im Versuchsjahr 2010 eine einseitige Belastung mit *F. poae* auf. *F. graminearum* war durch die starke Besiedelung von

F. poae auf 27,20 % des Gesamtbefalls zurückgedrängt. *F. culmorum* stellte noch gerade 10,40 % des Befalls. *F. avenaceum* wies mit 0,125 % DNA zu Pflanzen-DNA, was 4,47 % der Gesamt-Pathogen-DNA entspricht, den geringsten Anteil am Befall auf. In der 160 kg N/ha-Variante konnte auch wieder *F. equiseti* mit 7,42 % der Gesamtpathogen-DNA nachgewiesen werden, während *F. avenaceum* auf demselben niedrigen Niveau wie in der 80 kg N/ha-Variante blieb. Vor allem *F. culmorum* konnte sich in dieser Variante besser gegen *F. poae* durchsetzen und stellte wieder 19,332 % der Gesamtpathogen-DNA. In der 240 kg N/ha-Variante betrug der Anteil der *F. graminearum*-DNA mit 37,082 % wieder fast gleiche Anteile wie *F. poae* mit 39,692 %.

Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum 2011

Im Versuchsjahr 2011 (Abbildung 40) war *F. culmorum* in der Maismonokultur am Standort Hohenschulen die dominante Art. Nur in der Null-Variante lagen die Infektionen von *F. culmorum* mit 29,296 % und *F. poae* mit 30,870 % Anteil an der Gesamt-Pathogen-DNA ungefähr auf gleichem Niveau. Den höchsten Anteil an der Gesamt-Pathogen-DNA hatte *F. culmorum* in der 160 kg N/ha Variante mit über 42 %. Auch in den beiden intensiv mit Stickstoff versorgten Varianten lagen die Anteile um die 40 %. *F. equiseti* trat nur in der Null-Variante und in der 160 kg N/ha-Variante auf. *F. sporotrichioides* nur in der Null-Variante.

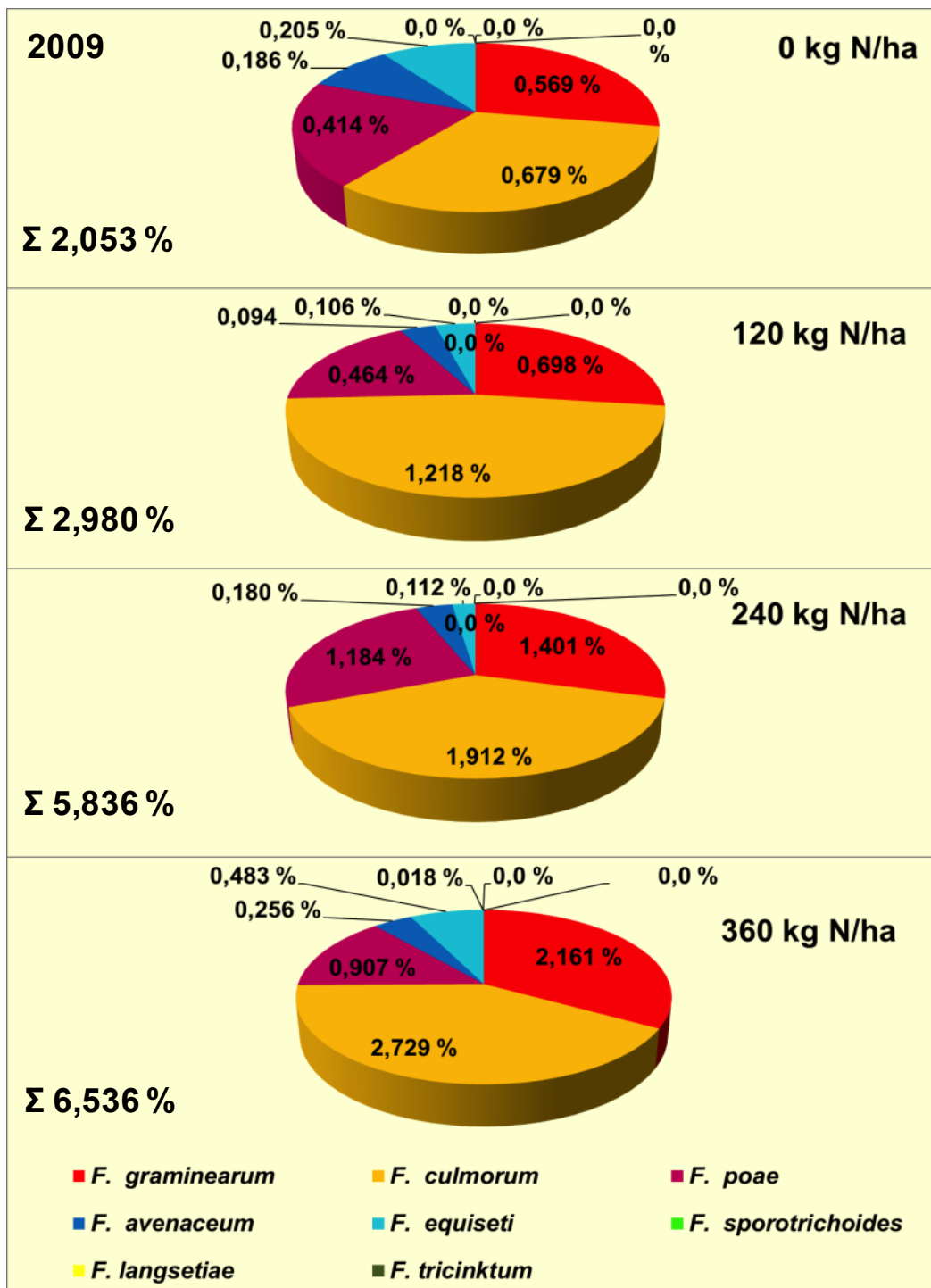


Abbildung 38: Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum in der Maismonokultur (Biomasseversuch V112) 2009; Stickstoffintensitätsvarianten: 0, 120, 240, 360 kg N/ha; Werte in den Kreisdiagrammen: BSB in % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA

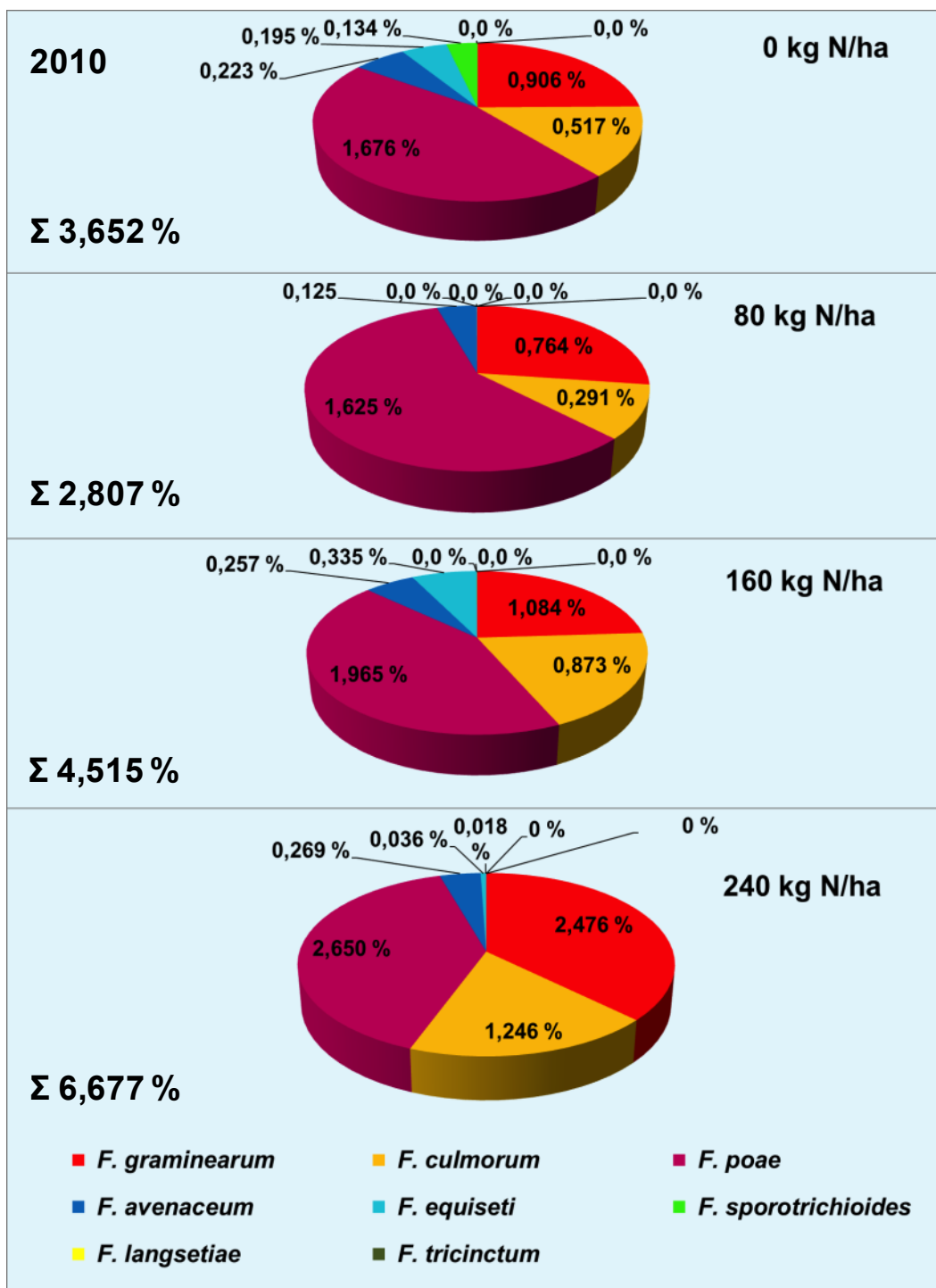


Abbildung 39: Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum in der Maismonokultur (Biomasseversuch V112) 2010; Stickstoffintensitätsvarianten: 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Werte in den Kreisdiagrammen: BSB in % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA

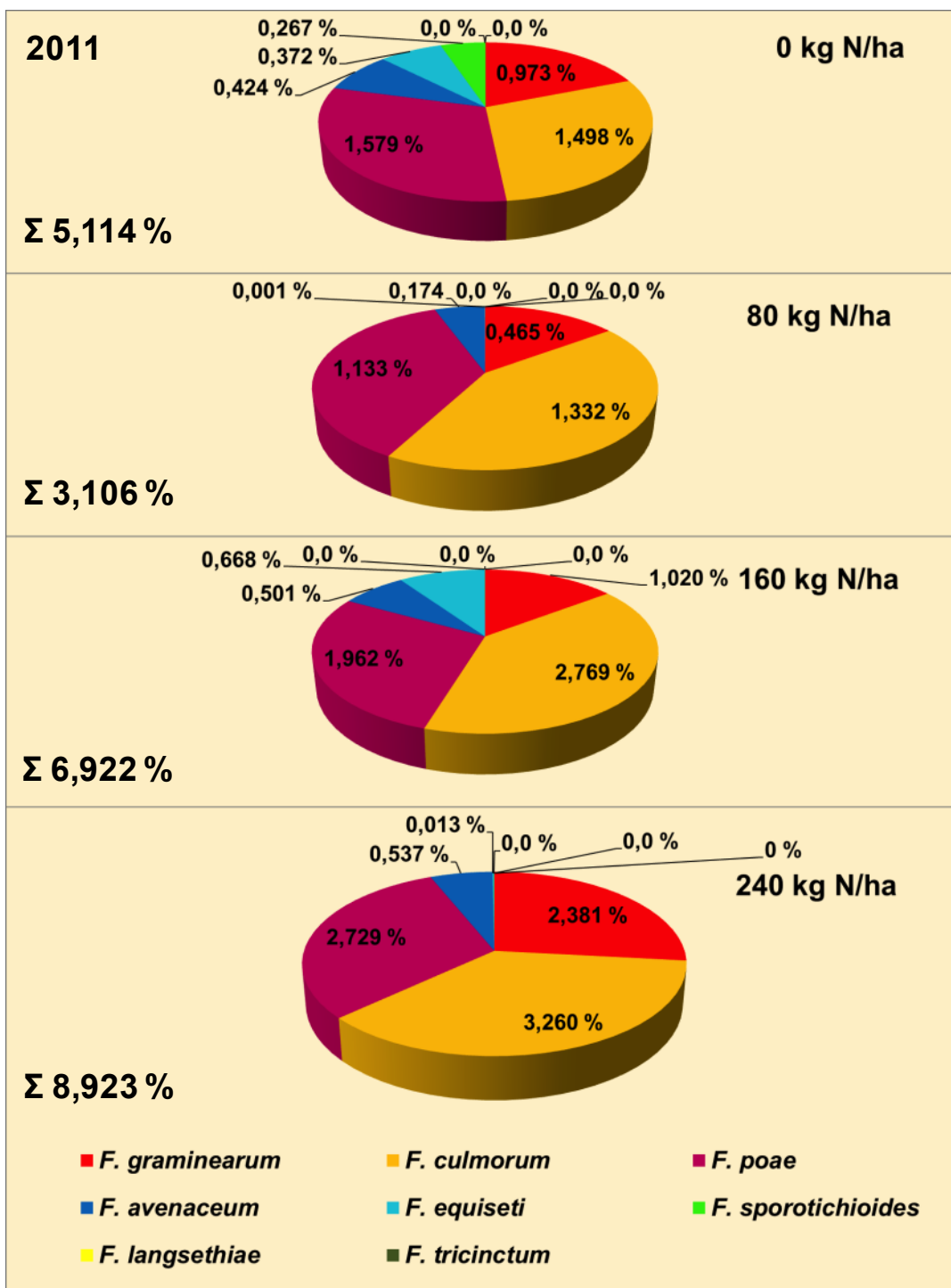


Abbildung 40: Einfluss der Stickstoffdüngung auf das Artenspektrum in der Maismonokultur (Biomasseversuch V112) 2011; Stickstoffintensitätsvarianten: 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Werte in den Kreisdiagrammen: BSB in % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA

4.3.2 Einfluss der Anbausystemvarianten auf die Fusarien-Befallsstärke im Biomasseversuch (V112) 2009 bis 2011

In diesem Kapitel werden die Befallsstärken im Bestand (BSB % *Fusarium* spp.) der unterschiedlichen Anbausystemvarianten des Biomasseversuches V112 dargestellt. Nach der Betrachtung des gesamten Silomais-Erntegutes folgt die detaillierte Darstellung der einzelnen Fraktionen der Versuchsglieder. Die Werte sind in Balkendiagrammen wiedergegeben. Auf der Ordinate sind die DNA-Gehalte in % zur Pflanzen-DNA abzulesen. Auf der Abszisse die *Fusarium* spp. *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides*. Gruppierte Balken der gleichen Farbe (unterschiedliche Abstufungen) beschreiben von links nach rechts vier Stickstoffintensitätsstufen von 0-360 kg N/ha im Versuchsjahr 2009 und von 0-240 kg N/ha in den Versuchsjahren 2010 und 2011. Der Vergleich der reduzierten Bodenbearbeitung vs. Pflugbodenbearbeitung unter 4.3.2.2 zeigt keine gruppierten Balkendiagramme, da hier nur die Stickstoffintensitätsstufe 240 kg N/ha untersucht wurde. Mittelwertvergleiche sind anhand von Buchstaben in den Graphiken dargestellt. Kleine Buchstaben stehen für Vergleiche der Stickstoffintensitäten (horizontal), große Buchstaben stehen für Vergleiche der Fruchtfolgen (vertikal).

Bei den untersuchten Varianten des Biomasseversuchs handelt es sich um die Maismonokultur, die zweigliedrige Fruchtfolge mit Mais, Winterweizen und Welschem Weidelgras (mit Herbstschnitt) als Zwischenfrucht und die zweigliedrige Fruchtfolge mit Gelbsenf als „Catchcrop“. Zunächst werden die genannten Anbausystemvarianten des Biomasseversuchs (Versuchsfläche V112) und hieraus die Silomaisfraktionen in den vier Stickstoffintensitäten für die Jahre 2009, 2010 und 2011 dargestellt. Die Abbildung des Befalles mit Fusarien-Spezies in Abhängigkeit von Anbausystemen und Stickstoffdüngung wird in Prozent Fusarien-DNA im Verhältnis zur Mais-DNA dargestellt. Auf der Abszisse des Koordinatensystems sind die Fusarien-Spezies *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* mit den vier steigenden Stickstoffintensitätsstufen von 0 bis 240 kg N/ha, bzw. für 2009 von 0 bis 360 kg N/ha (0, 160, 240, 360 kg N/ha) abgetragen. Auf der Ordinate ist der Grad des

Fusarienbefalles in Prozent zur Pflanzen-DNA dargestellt. Die Fusarien-Spezies *F. langsethiae* und *F. tricinctum* treten nur in sehr wenigen Varianten und nur in äußerst niedrigen Gehalten auf, sie werden daher nicht in allen Abbildungen dargestellt. Die Werte für 2009 sind direkt aus Ganzpflanzen, bzw. aus dem Häckselgut des mit dem Mais-Häcksler geernteten Silomaises analytisch ermittelt worden. Die Werte für 2010 und 2011 sind über anteilige Berechnung der Massenanteile der drei oberen Maisfraktionen (Stängel; zweiter Kolben; Hauptkolben + obere Blätter) ermittelt worden. Die Gewichtsanteile der einzelnen Fraktionen sind sehr unterschiedlich, ca. 80 % macht die obere Fraktion mit dem Hauptkolben aus und bestimmt hierdurch auch die Werte für den Silomais maßgeblich. In den folgenden drei Abbildungen für 2009, 2010 und 2011 sind die drei Anbausysteme übereinander zusammen für jedes einzelne Versuchsjahr dargestellt. Die Stickstoffintensitäten sind in den gruppierten Balken von links nach rechts ansteigend aufgeführt. Jede Fusarium-Spezies ist mit einer eigenen Farbe dargestellt.

4.3.2.1 Belastung des Silomaiserntegutes des Biomasseversuchs (V 112) in den Versuchsjahren 2009 bis 2011

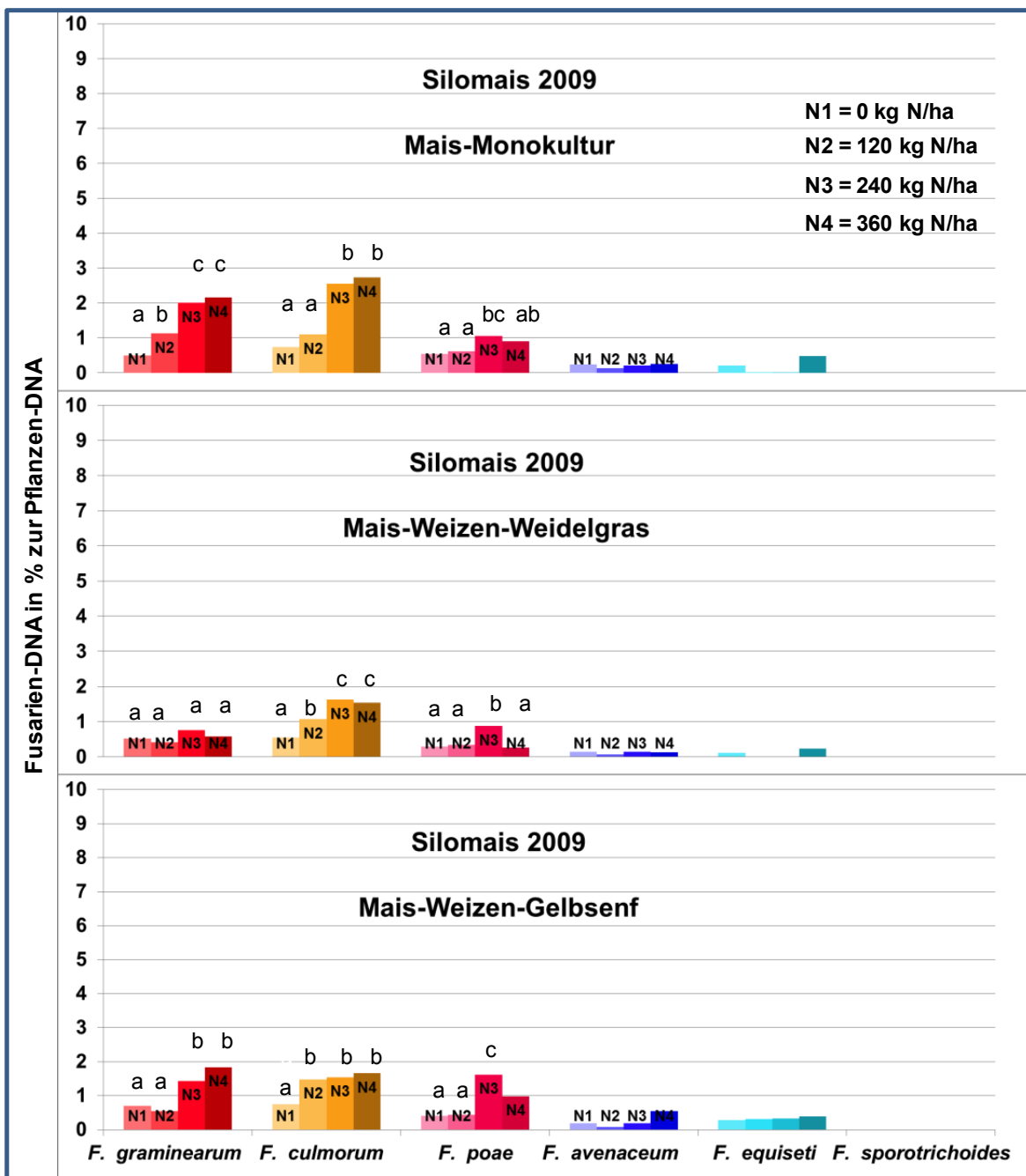


Abbildung 41: *Fusarium*-Befallsstärke (BSB in %) im Silomais-Erntegut des Biomasseversuchs 2009; % Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA; Stickstoffintensitätsstufen: 0 bis 360 kg N/ha (in den gruppierten Balken dargestellt, von links nach recht ansteigend); Anbausysteme: Maismonokultur; Mais – Winterweizen – Weidelgras; Mais – Winterweizen – Gelbsenf; Pflugbodenbearbeitung vor der Maiskultur in allen Varianten; nicht-parametrische faktorielle Analyse nach Wobbrock et al (2011) ($p \leq 0,05$)

In Abbildung 41 ist für die Mais-Monokultur des **Versuchsjahres 2009**, ein signifikanter Anstieg der Befallsstärke mit *F. graminearum* in der Mais-Monokultur (oben) mit steigendem Stickstoffeinsatz zu erkennen. Während in der 0 kg N/ha - Stickstoff-Variante nur 0,490 % Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA gemessen wurden, konnten bei einer Düngung mit 160 kg N/ha schon 1,129 % und bei 240 kg N/ha 2,009 % und bei 360 kg N 2,161 % *F. graminearum*-DNA ermittelt werden. Für *F. culmorum* zeigte sich ein ähnliches Bild. Blieben die Befallswerte bei 0 kg N/ha deutlich unter 1 %, so stiegen sie signifikant bei 240 kg N/ha und 360 kg N/ha auf über 2,5 % bis auf 2,729 % an. Signifikanzen waren insgesamt nur für *F. graminearum* und *F. culmorum* und *F. poae* zu ermitteln. Die Befallswerte von *F. poae* erreichten bei 240 kg N/ha ihr vergleichsweise niedrigeres Maximum von 1,058 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA. Bei 360 kg N/ha ist ein geringer Abfall auf 0,907 % zu verzeichnen, der jedoch nicht statistisch abzusichern ist. Die geringste Befallsintensität mit *F. avenaceum* wies die mit 160 kg N/ha gedüngte Variante mit 0,130 % Pathogen-DNA auf, während die 0 kg N/ha -Stickstoffvariante 0,238 % enthielt und damit sogar leicht über der 240 kg N/ha – Variante mit 0,213 % lag. *F. equiseti* trat 2009 in der Mais-Monokultur nur in der 360 kg N/ha – Variante mit 0,48 % und in der 0 kg N/ha - Stickstoff-Variante mit 0,216 % nennenswert auf. *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* traten oft nur in einer Wiederholung auf oder die Streuung war so hoch, dass eine statistische Auswertung nicht zulässig war. Im Vergleich der Fusarienstämme erreichte *F. culmorum* bei maximaler Stickstoffversorgung die höchsten Befallswerte.

In der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras als Zwischenfrucht blieb der Befall der meisten Varianten und Stickstoffintensitätsstufen weit hinter der der Monokultur zurück. Auch ist hier die Variation der Stickstoffvarianten nicht so deutlich ausgeprägt. Die höchsten DNA-Gehalte in dieser zweigliedrigen Fruchtfolge wies *F. culmorum* in der 240 kg N/ha – Variante mit 1,631 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA auf. Der Befall der anderen *Fusarium* spp., auch mit *F. graminearum* blieb deutlich unter 1 %. Ein Anstieg mit zunehmender Stickstoffintensität von 0 kg N/ha bis 240 kg N/ha ist für den Erreger *F. culmorum* statistisch abzusichern. Von 240 auf 360 kg N/ha ist kein Anstieg mehr zu verzeichnen.

In der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als Zwischenfrucht erreichten und überstiegen auch *F. graminearum* und *F. poae* zumindest in den höheren Stickstoffintensitätsstufen wieder den Wert von 1 % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA. Die maximal stickstoffversorgten Varianten zeigten den intensivsten Befall durch *F. graminearum* mit 1,837 % und *F. culmorum* mit 1,659 % Pathogen-DNA. Der Befall durch die am stärksten auftretenden Pathogene *F. graminearum*, *F. culmorum* und *F. poae* blieb in dieser Fruchtfolgevariante bzw. diesem Anbausystem jedoch klar hinter dem Befall der Monokultur. Die Belastung durch *F. avenaceum* wies in dieser Variante im Versuchsjahr 2009 mit 0,552 % Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA den höchsten Wert auf. *F. equiseti* erreicht zwar mit 0,3997 % in der 360 kg N/ha-Variante nicht den höchsten Wert des Versuchsjahres, dafür ist diese Variante in jeder Stickstoffintensitätsstufe mit diesem Pathogen belastet. Die Daten waren aufgrund sehr hoher Streuung der q-PCR-Analysedaten nicht statistisch zu verrechnen (t-Test und Newman-Keuls-Test nicht zulässig). *F. sporotrichioides* konnte im Versuchsjahr 2009 in keiner Probe verlässlich nachgewiesen werden. Befallswerte von < 0,001 % *F. sporotrichioides*-DNA zur Pflanzen-DNA konnten teilweise ermittelt werden. Dies ist graphisch kaum darstellbar. Bei diesen minimalen Werten kann es sich auch um Verunreinigungen der Proben oder Messungenauigkeiten handeln.

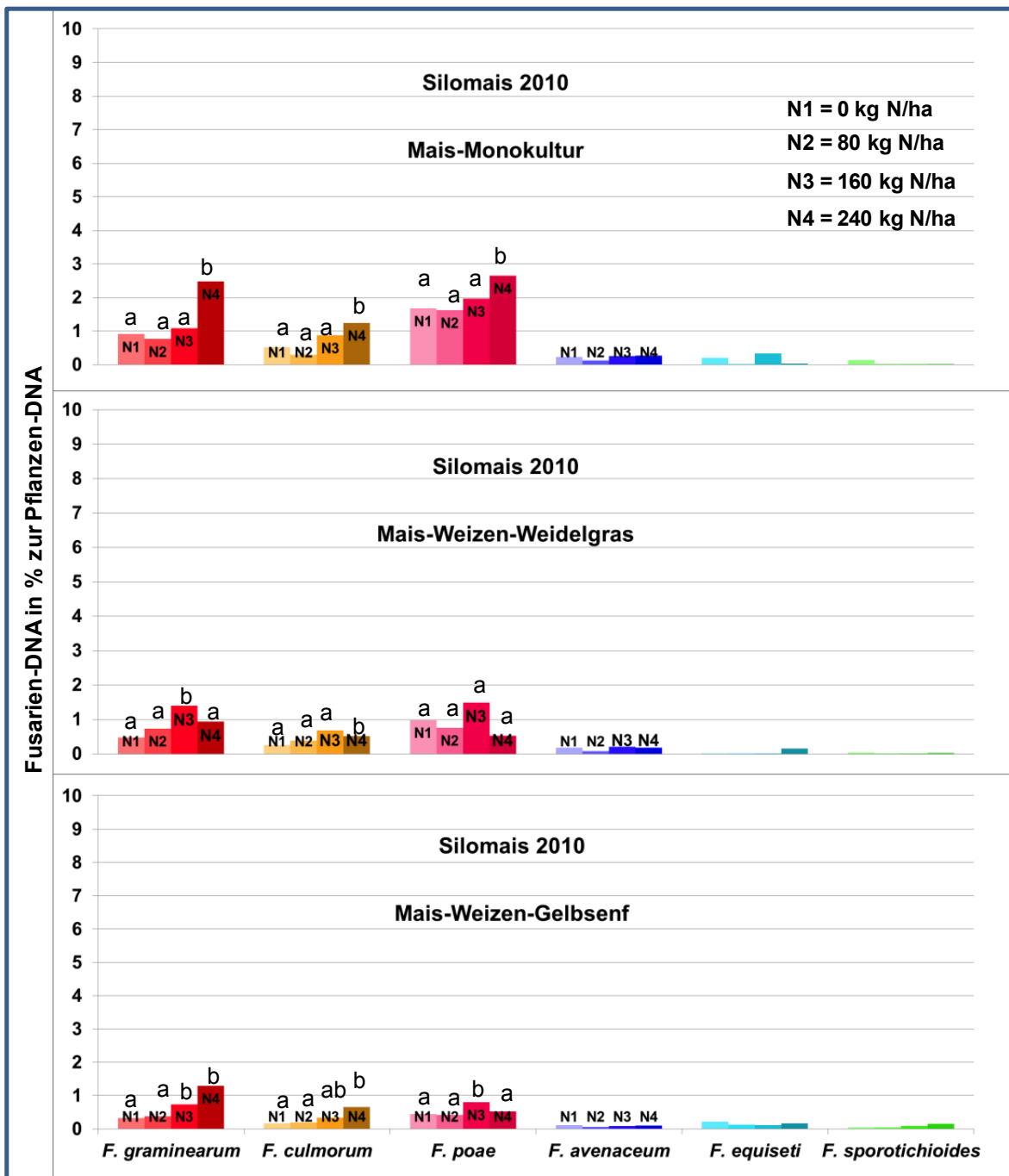


Abbildung 42: *Kolbenfusarium*-Befallsstärke (BSB in %) im Silomais-Erntegut des Biomasseversuchs 2010; % Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA; Stickstoffintensitätsstufen: 0 bis 240 kg N/ha (in den gruppierten Balken dargestellt, von links nach recht ansteigend); Anbausysteme: Maismonokultur; Mais – Winterweizen – Weidelgras; Mais – Winterweizen – Gelbsenf; Pflugbodenbearbeitung vor der Maiskultur in allen Varianten; nicht-parametrische faktorielle Analyse nach Wobbrock et al (2011) ($p \leq 0,05$)

Die Befallsstärken im Bestand (BSB %) des Silomaises zum Erntetermin der drei Anbausystemvarianten des **Biomasseversuchs 2010** sind in der Abbildung 42 dargestellt. Auch in dieser Abbildung wird das veränderte *Fusarium* spp.-Spektrum im Vergleich zum Vorjahr 2009 deutlich. Dominierende Art war *F. poae*, vor allem in der Monokultur, aber auch in den zweigliedrigen Fruchtfolgen mit Zwischenfrüchten waren die BSB (%) vergleichsweise hoch und lagen je nach Stickstoffvariante mit den BSB (%) von *F. graminearum* auf gleichem oder ähnlichem Niveau. Die maximale Befallsstärke (BSB %) für *F. graminearum* wurde mit 2,476 % in der 240 kg N/ha-Variante der Mais-Monokultur gemessen. In der Mais-Monokultur wurde für *F. poae* mit 2,650 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA der maximale Befallswert in der 240 kg N/ha-Variante erfasst. Die Befallswerte von *F. culmorum* lagen selbst in der Monokultur mit 0,292 % (80 kg N) bis 1,246 % *Fusarium*-DNA zur Pflanzen-DNA (240 kg N) deutlich unter denen von *F. graminearum* und *F. poae*. Die Befallsstärken (BSB) lagen auch deutlich unter denen des Vorjahres.

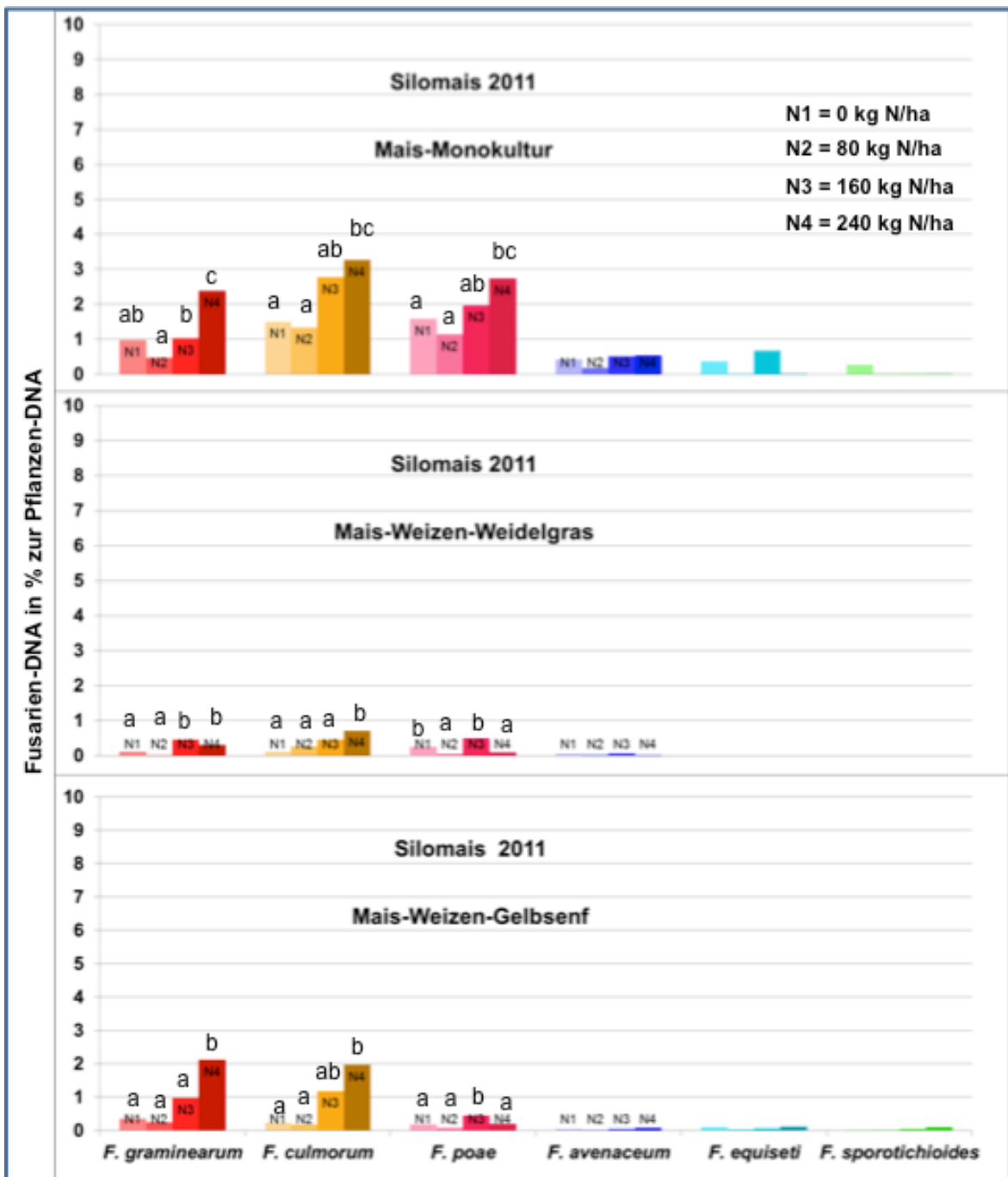


Abbildung 43: *Kolbenfusarium*-Befallsstärke (BSB in %) im Silomais-Erntegut des Biomasseversuchs 2011; % Fusarien-DNA im Verhältnis zur Pflanzen-DNA; Stickstoffintensitätsstufen: 0 bis 240 kg N/ha (in den gruppierten Balken dargestellt, von links nach recht ansteigend); Anbausysteme: Maismonokultur; Mais – Winterweizen – Weidelgras; Mais – Winterweizen – Gelbsenf; Pflugbodenbearbeitung vor der Maiskultur in allen Varianten; nicht-parametrische faktorielle Analyse nach Wobbrock et al (2011) ($p \leq 0,05$)

In der - im Vergleich zu den Vorjahren - kühleren **Vegetationsperiode 2011** (Abb. 43) waren *F. culmorum*, *F. graminearum* und *F. poae* die am stärksten auftretenden *Fusarium*-Pathogene im Versuch. In der Monokultur traten die drei Hauptpathogene relativ gleichmäßig mit hohen Befallsstärken auf. Die Monokultur der Maximalvariante (240 kg N/ha) wies mit 3,260 % BSB (% Pathogen-DNA) die höchsten Belastungen im Silomais Erntegut über alle drei Versuchsjahre auf. In der 80 kg N/ha-Variante wurden im Vergleich mit den Stickstoffintensitätsstufen derselben Fruchtfolgevariante regelmäßig die niedrigsten Belastungen gemessen, wobei es zu pathogenspezifischen Unterschieden kam. *F. graminearum* wies hier die deutlichsten Reduktionen in der Monokultur auf (< 0,5 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA).

Die zweigliedrige Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras als Zwischenfrucht wies mit Abstand die niedrigsten Befallsstärken im Bestand (BSB %) auf. Dies gilt sowohl für die Stickstoff-Varianten als auch für den Vergleich mit den anderen Versuchsjahren. *F. culmorum* wies in der 240 kg N/ha-Variante mit 0,712 % BSB den höchsten Befallswert in dieser Fruchtfolge-Variante auf. Die anderen *Fusarium* spp. blieben unter diesem Befallswert.

Die zweigliedrige Fruchtfolge mit Gelbsenf als Zwischenfrucht zeigte ebenfalls ein reduziertes Erregerauftreten, nur die Spezies *F. graminearum* und *F. culmorum* wurden mit BSB von 2 % bzw. knapp über 2 % BSB in den Maximalvarianten nachgewiesen.

F. avenaceum konnte in allen Fruchtfolgen/Anbausystemvarianten für jedes der drei Versuchsjahre eindeutig nachgewiesen werden. Die Schwankungen dieser *Fusarium*-Art fielen geringer aus als die der drei Haupt-*Fusarium*-Pathogene *F. graminearum*, *F. culmorum* und *F. poae*. Befallsänderungen bei unterschiedlicher Stickstoffversorgung konnten in den drei Versuchsjahre gezeigt werden, die Befallsstärken im Bestand (BSB in %) erreichten jedoch mit Werten von minimal 0,012 % in der 80 kg N/ha-Variante 2011 bis maximal 0,424 % Pathogen-DNA zur Pflanzen DNA, ebenfalls im Versuchsjahr 2011, nur geringe Anteile der Gesamt-Pathogen-DNA im Silomais-Erntegut. *F. equiseti* trat in den Versuchsjahren 2009 bis 2011 regelmäßig auf, war jedoch nicht immer in allen Stickstoffvarianten enthalten. In den Varianten in denen es nachgewiesen werden

konnte, erreichte es Befallsstärken (BSB %) in vergleichbarer Intensität wie *F. avenaceum*. Die am schwächsten vertretene *Fusarium*-Art am Versuchsstandort war *F. sporotrichioides*. Für das Versuchsjahr 2009 konnte kein Nachweis erbracht werden. In 2009 wurden die Proben aus dem Gesamtmaterial des Silomaishäckselgutes gewonnen. *F. sporotrichioides* konnte in den Versuchsjahren 2010 und 2011 nur in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras nicht im Mais-Erntegut nachgewiesen werden. Diese geringen DNA-Gehalte können nur mit Hilfe der Fraktionierung ermittelt werden (hierzu siehe Kapitel 4.3.2.2). Die nachweisbaren Befallsstärken im Bestand (BSB) lagen zwischen 0,008 % in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als Zwischenfrucht in 2011 (80 kg N/ha) und 0,267 % in der Mais-Monokultur ebenfalls im Versuchsjahr 2011.

4.3.2.2 Einfluss der Anbausysteme und Stickstoffdüngung auf das Auftreten von *Fusarium* spp. in den einzelnen Pflanzenteilen (Fraktionen) in den Varianten des Biomasseversuchs (V112)

Wie unter 4.3.2.1 zu sehen, konnte im Versuchsjahr 2009 keine Belastung mit *F. sporotrichioides* nachgewiesen werden. Für die Versuchsjahre 2010 und 2011 wurden jedoch leichte Belastungen festgestellt. In der Retrospektive kann nicht erwiesen werden, ob es sich in 2009 um von *F. sporotrichioides* freie Bestände handelte. Denkbar ist jedoch, dass der Verdünnungseffekt im gesamten Silomais-Erntegut – für 2009 lagen keine fraktionierten Pflanzen vor – den Nachweis unmöglich gemacht hat. Daher ist durch die Fraktionierung, die wie im Teil Material und Methoden beschrieben, für die Versuchsjahre 2010 und 2011 durchgeführt wurde, mit einer deutlich niedrigeren Nachweisgrenze für die Gesamtpflanze zu rechnen. Wie im Folgenden zu sehen beschränken sich die Belastungen einzelner Arten (*F. equiseti* und *F. sporotrichioides*) auf bestimmte Pflanzenfraktionen.

Die Effekte der Anbausysteme und Stickstoffintensitätsstufen auf das Auftreten von *Fusarium* spp. werden anhand der Daten des Versuchsjahres 2011 dargestellt. Die Daten des Versuchsjahres 2010 sind im Anhang einzusehen.

In den Abbildungen 44 - 46 sind die Befallsstärken für die einzelnen Pflanzenteile (Fraktionen) der Versuchsvarianten des Biomasseversuchs (V112) im

Versuchsjahr 2011 dargestellt. Zunächst sind die Monokultur und die zweigliedrigen Fruchtfolgen in den vier Stickstoffintensitätsstufen von 0-240 kg N/ha abgebildet. Die Stickstoffintensitäten sind in den gruppierten Balken von links nach rechts ansteigend aufgeführt. Wie in den Graphiken für die Silomais-Pflanzen in Kapitel 4.3.2.1 gezeigt, wird jede *Fusarium*-Spezies mit einer eigenen Farbe dargestellt.

Anschließend an fünf Jahre Mais-Monokultur mit wendender Bodenbearbeitung und intensiver Stickstoffversorgung (240 kg N/ha), erfolgte erstmals nichtwendende Bodenbearbeitung. Dies wird in Abbildung 47 gezeigt.

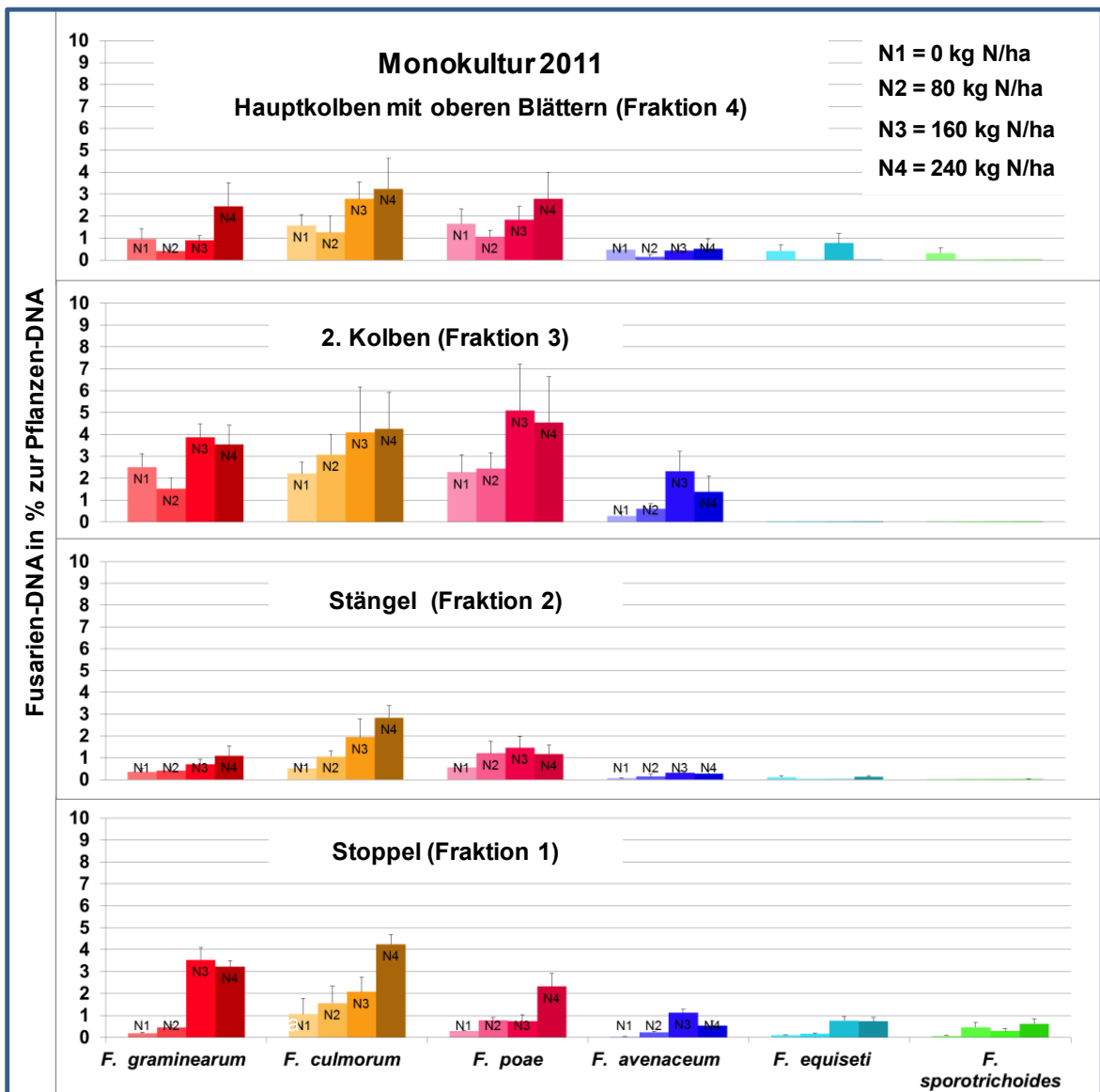


Abbildung 44: Befallsstärke der vier Maispflanzen-Fractionen in der Mais-Monokultur 2011; Darstellung der sechs *Fusarium* spp. in den vier Stickstoffintensitätsstufen (N1 – N4) von 0 bis 240 kg N/ha (in den gruppierten Balken dargestellt – ansteigend von links nach rechts); Befallsstärke (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA); Biomasseversuch 2011

Abbildung 44 zeigt die Belastungen der vier Maispflanzen-Fractionen der Mais-Monokultur im Biomasseversuch (V112) für alle Stickstoffintensitäten. Die einzelnen Fractionen wiesen unterschiedlich starke Anteile Gesamtpathogen-DNA zur Pflanzen-DNA auf. Im arithmetischen Mittel der Werte für die vier Stickstoffintensitätsstufen war die Fraktion 3 – der zweite unausgebildete Kolben – die mit durchschnittlich 10,997 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA am stärksten belastete Fraktion in der Maismonokultur. Die Summe der vier Fractionen wies mit

39,907 % die höchsten akkumulierten Befallswerte in der 240 kg N/ha-Variante auf (die Summe entspricht nicht dem Wert für die Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA, da hier die Gewichtsanteile der einzelnen Fraktionen nicht berücksichtigt werden). Auch die 160 kg N/ha-Variante zeigte in Summe der Fraktionen mit 35 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA deutlich höhere Befallswerte auf als die 0 kg N/ha- und 80 kg N/ha-Varianten.

Die drei Hauptpathogene *F. graminearum*, *F. culmorum* und *F. poae* sowie *F. avenaceum* waren in der Monokultur in allen Fraktionen enthalten. Für *F. equiseti* fand in der Hauptkolben Fraktion 4 und in der Stoppel-Fraktion 1 ein deutlicher Nachweis statt. In den beiden mittleren Pflanzen-Fraktionen (2 und 3) konnten keine, bzw. kaum eindeutige Nachweise erbracht werden. Ähnliches gilt für *F. sporotrichioides*. Die quantitative stärkste Belastung durch *Fusarium* spp. konnte in der Fraktion 3, dem zweiten unausgebildeten Kolben, nachgewiesen werden; so enthielt diese Fraktion auch in der Mais-Monokultur die höchsten Befallswerte mit 5,088 % *F. poae*-DNA zur Pflanzen-DNA (160 kg N/ha-Variante). Für *F. culmorum* sowie *F. graminearum* wurden hier die Maximalwerte mit 4,250 % (*F. culmorum*) und 3,877 % (*F. graminearum*) Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA ermittelt. In dieser Variante trat neben den drei Haupt-Fusarien-Pathogenen nur noch *F. avenaceum* auf. Auch diese Spezies erreichte die höchsten DNA-Konzentrationen in der Pflanze mit 2,313 % DNA zur Pflanzen-DNA. Die Fraktion 2, das Pflanzenmaterial der Stängelabschnitte, enthielt mit 3,571 % die geringsten Gesamtpathogen-DNA-Gehalte zur Pflanzen-DNA; dies konnte für alle Stickstoffvarianten der Mais-Monokultur nachgewiesen werden. Die den Hauptkolben enthaltene Fraktion 4 war insgesamt mit 6,004 % stärker belastet als die Fraktion 2 mit 3,571 % Gesamtpathogen-DNA-Gehalt zur Pflanzen-DNA, wies jedoch, zumindest in den Stickstoffvarianten mit 80-240 kg N/ha geringere Pathogen-DNA-Gehalte auf als die Stoppelfraktion 1. Die Fraktion 4 stellt mit - je nach Variante 60 % bis > 80 % - die größten Gewichtsanteile und hat den mit Abstand größten Effekt auf die Silomaisfraktionen 2 - 4 und somit auf das Silomais-Erntegut. Insgesamt ist ein befallfördernder Effekt der Stickstoffintensitätsstufen, zumindest auf die Leitpathogene *F. graminearum* und *F. culmorum*, auch über die Mittelwertvergleiche (Abb. 44) abgesichert.

Tabelle 13: Akkumulierte Befallswerte der sechs *Fusarium* spp. in den vier Fraktionen; vier Stickstoffintensitäten 0-240 kg N/ha; Befallsstärke in % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA; Anbausystemvarianten: Mais-Monokultur, Mais-Weizen-Weidelgras (M-WW-(WG)), Mais Weizen-Gelbsenf (M-WW-(GS)) Biomasseversuch 2011

| | kg N/ha | Summe Fraktion 4 | Summe Fraktion 3 | Summe Fraktion 2 | Summe Fraktion 1 | Summe Fraktionen |
|----------------------|------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Monokultur | 0 | 5,375 | 7,257 | 1,577 | 1,718 | 15,927 |
| | 80 | 2,888 | 7,635 | 2,812 | 3,639 | 16,973 |
| | 120 | 6,726 | 15,375 | 4,396 | 8,504 | 35,002 |
| | 240 | 9,025 | 13,720 | 5,498 | 11,664 | 39,907 |
| Ø N-Varianten | | 6,004 | 10,997 | 3,571 | 6,381 | 26,952 |
| Fruchtfolge | 0 | 0,509 | 0,153 | 0,379 | 0,617 | 1,658 |
| M-WW-(WG) | 80 | 0,970 | 0,332 | 0,599 | 1,153 | 3,055 |
| | 120 | 1,458 | 0,412 | 1,092 | 1,744 | 4,706 |
| | 240 | 1,473 | 0,775 | 1,296 | 2,206 | 5,751 |
| Ø N-Varianten | | 1,103 | 0,418 | 0,842 | 1,430 | 3,792 |
| Fruchtfolge | 0 | 0,984 | 1,168 | 0,005 | 1,611 | 3,768 |
| M-WW-(GS) | 80 | 0,503 | 1,834 | 0,117 | 2,260 | 4,715 |
| | 120 | 2,865 | 5,740 | 0,233 | 4,081 | 12,918 |
| | 240 | 4,965 | 5,521 | 0,478 | 3,821 | 14,784 |
| Ø N-Varianten | | 2,329 | 3,566 | 0,208 | 2,943 | 9,046 |

Die zweigliedrige Fruchtfolge mit Mais – Winterweizen – Welschem Weidelgras als Zwischenfrucht wies im gesamten Versuch und auch im Versuchsjahr 2011 die geringsten Belastungen mit *Fusarium* spp.-DNA auf.

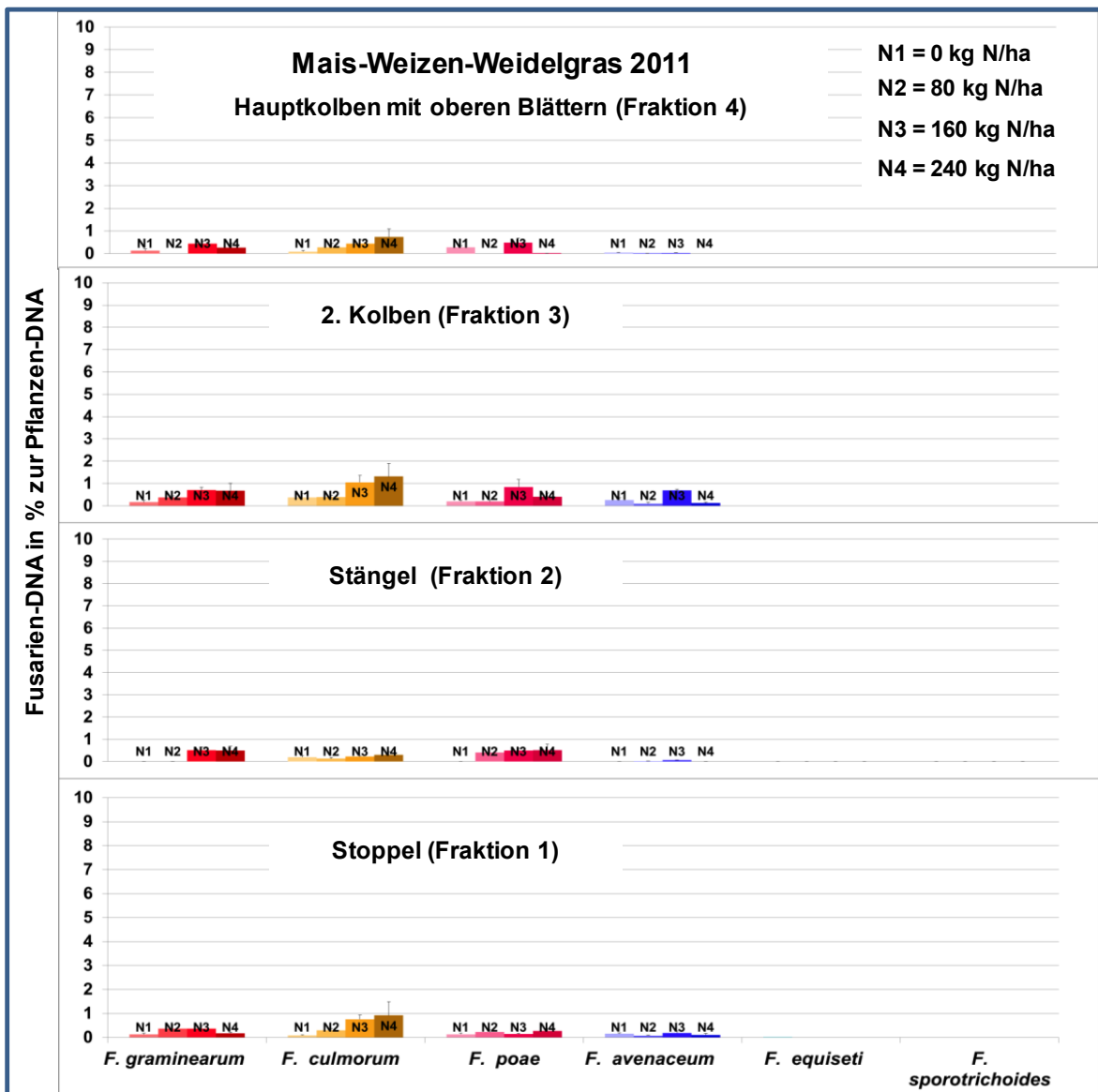


Abbildung 45: Befallsstärke der vier Maispflanzen-Fractionen in der zweigliedrigen Fruchtfolge ZF Welsches Weidelgras; Darstellung der sechs *Fusarium* spp. in den vier Stickstoffintensitätsstufen (N1 – N4) von 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt – ansteigend von links nach rechts); Befallsstärke (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA); Biomasseversuch 2011

Wie in Abbildung 45 zu sehen, überstieg die Belastung einzelner Pathogen-Spezies nur im Fall von *F. culmorum* 1 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA. Der Befall war in diesen Varianten dicht an der Nachweisgrenze, so dass oft nur ein Befallswert in vier Wiederholungen ermittelt werden konnte. In Tabelle 14 sind die arithmetischen Mittel der vier Stickstoffintensitätsstufen für alle drei Anbausystemvarianten des Biomasseversuches (V112) miteinander zu vergleichen. Es wird deutlich, dass diese Variante für jede Fraktion die niedrigsten

Befallswerte aufweist. Auch im Vergleich der Stickstoffintensitätsstufen weist die zweigliedrige Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras die geringsten Summen der Befallswerte auf. Insgesamt waren *F. culmorum* und *F. graminearum* die am stärksten vertretenen *Fusarium*-Spezies – jedoch auf sehr niedrigem Niveau. Die *Fusarium* spp *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* konnten in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras in keiner Fraktion analytisch nachgewiesen werden.

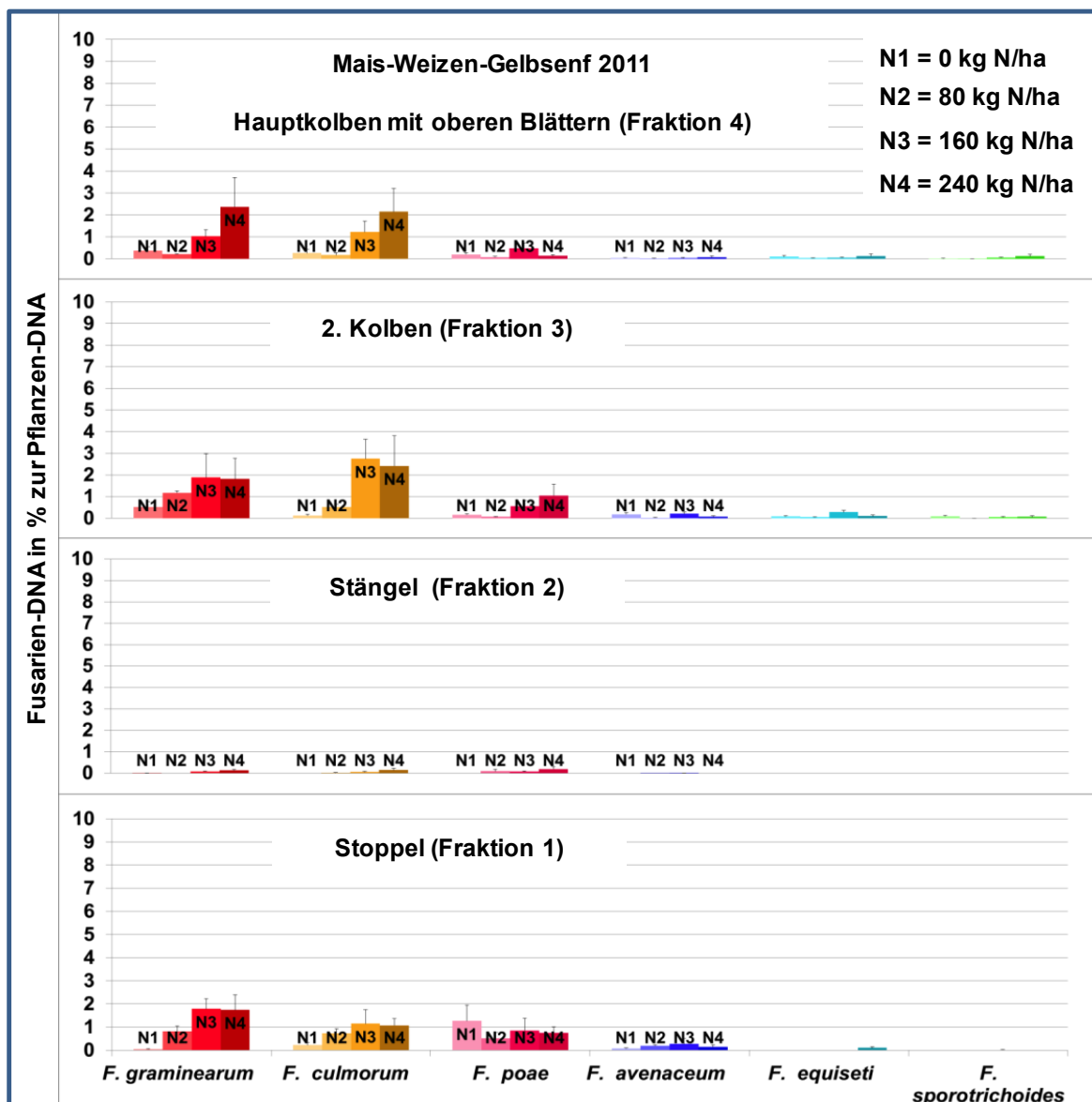


Abbildung 46: Befallsstärke der vier Maispflanzen-Fraktionen in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit ZF Gelbsenf; Darstellung der sechs *Fusarium* spp. in den vier Stickstoffintensitätsstufen (N1 – N4) von 0 bis 240 kg N/ha (in den gruppierten Balken dargestellt – ansteigend von links nach rechts); Befallsstärke (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA); Biomasseversuch 2011

Die Abbildung 46 stellt die Befallsstärke der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Mais – Weizen und Gelbsenf als Zwischenfrucht aus dem Biomasseversuch (112) 2011 dar. Für die Leitpathogene *F. graminearum* und *F. culmorum* konnten in den Fraktionen 1, 3 und 4 deutliche Anstiege der Befallswerte in den Stickstoffintensitätsstufen N3 und N4 (160 und 240 kg N/ha) nachgewiesen werden. Wie in Tabelle 12 zu sehen ist, lagen die Befallswerte einer jeden

Fraktion deutlich über den Werten der zu vergleichenden zweigliedrigen Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras. Verglichen mit der Mais-Monokultur 2011 lagen hier, mit maximalen Befallsstärken von 2,367 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA für *F. graminearum* in der Fraktion 4 (Hauptkolben) bei 240 kg N/ha und 2,753 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA für *F. culmorum* in der Fraktion 3 (2. Kolben) bei 160 kg N/ha, moderate bis geringe Befallsstärken vor. Wie in Tabelle 13 zu sehen ist, reduzierten sich die durchschnittlichen akkumulierten Befallsstärken (\emptyset kg N/ha-Varianten) der einzelnen Fraktionen gegenüber der Monokultur um mehr als 50 %. Waren *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* in der Monokultur schwach vertreten, so konnten sie in dieser Anbausystemvariante nur noch latent nachgewiesen werden. Der Gehalt von *F. equiseti* wurde maximal mit 0,101 % (Fraktion 3 bei 160 kg N/ha) und *F. sporotrichioides* (Fraktion 4 bei 240 kg N/ha) mit 0,060 % DNA zur Pflanzen-DNA bestimmt.

Für das Versuchsjahr 2011 wurden nicht benötigte Parzellen mit Mais-Monokultur unter 240 kg N/ha-Regime der Biomasseversuchsfläche (V112), die bis dahin jährlich gepflügt wurden, erstmals (seit Versuchsbeginn 2006) reduzierter Bodenbearbeitung mit dem Pflug unterzogen. In Abbildung 47 (grubber vs. Pflug) sind die Effekte graphisch dargestellt. Es ist die erstmalige, nichtwendende Bodenbearbeitung der, wie in den Vorjahren üblichen wendenden Pflug-Bodenbearbeitung gegenübergestellt. Die Pathogen-DNA-Gehalte in den Grubbervarianten liegen für die meisten *Fusarium* spp. deutlich über denen der Pflugvariante. Vor allem für die Fraktionen 1 und 4 sind signifikante Werte ermittelt worden. In der Tabelle 12 ist eine Übersicht der prozentualen Reduktion der Fusarien in den vier Pflanzen-Fraktionen für die sechs *Fusarium* spp. und für die Gesamt-*Fusarium*-DNA-Reduktion (\emptyset *Fusarium* spp.) abgebildet, die durch den weiteren Einsatz des Pfluges erreicht wurde.

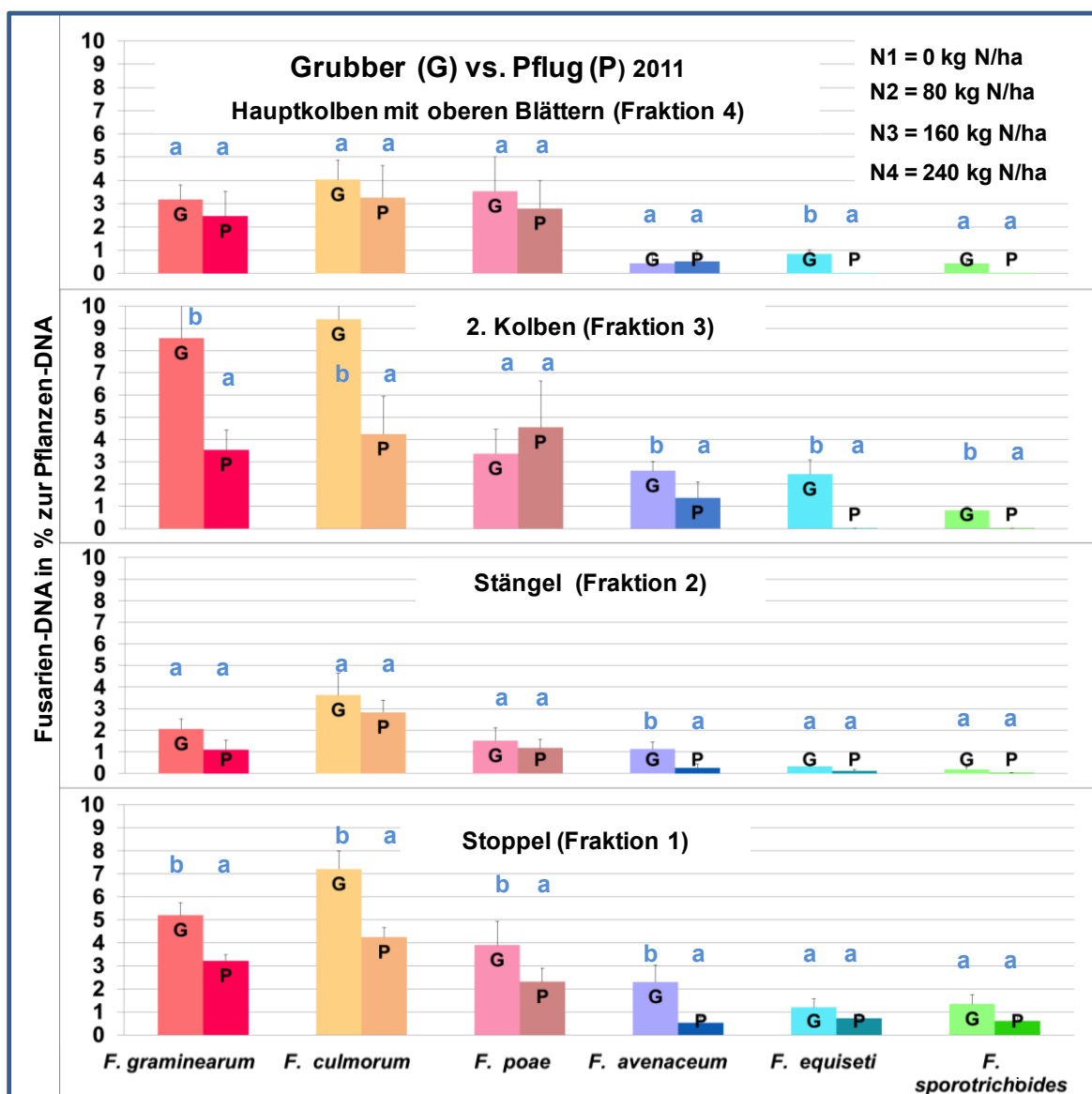


Abbildung 47: Befallsstärken der vier Maispflanzen-Fractionen in der Mais-Monokultur (240 kg N/ha) – Vergleich reduzierter Bodenbearbeitung (G) vs. Pflugbodenbearbeitung (P); Darstellung der sechs *Fusarium* spp. in den vier Stickstoffintensitätsstufen (N1 – N4) von 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt – ansteigend von links nach rechts); Befallsstärke (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA); nicht-parametrische faktorielle Analyse nach Wobbrock et al (2011) ($p \leq 0,05$) (blaue Buchstaben über den Säulen; Biomasseversuch 2011)

Die Tabelle 14 zeigt, dass die Belastungen von Fusariosen durch den Pflug in allen Fraktionen gesenkt werden konnte (Σ *Fusarium* spp.). Mit zwei Ausnahmen (*F. avenaceum* in der Fraktion 4 und *F. poae* in Fraktion 3) konnte auch der Gehalt jeder einzelnen *Fusarium*-Spezies vermindert werden. Bei einem Blick in die Graphiken der Abbildung 38 ist zu sehen, dass die 99,7% - 99,95% Fusarien-

DNA-Reduktion für *F. equiseti* und *F. poae* in den Fraktionen 3 und 4 für den Gesamt-DNA-Gehalt der Pflanzenfraktionen nur marginalen Einfluss haben. Die Pflugbodenbearbeitung hatte auf jede der vier Pflanzen-Teilfraktionen pathogenreduzierende Wirkung. In der Stoppelfraktion war die stärkste reduzierende Wirkung mit 45,7 % weniger Gesamt-Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA. Die geringste Reduktion konnte für den Bereich des Stängels (Fraktion 2) mit 36,8 % ermittelt werden.

Tabelle 14: Reduktion der Befallsstärken der vier Pflanzenteil-Fraktionen mit sechs *Fusarium* spp. (DNA zum Gesamt-Fusarium-DNA-Gehalt in %) durch die wendende Bodenbearbeitung; Reduktion der Pflugbodenbearbeitung zu nichtwendender Bodenbearbeitung; Mais-Monokultur 2011

| % Reduktion Pathogen-DNA | Fraktion 4 | Fraktion 3 | Fraktion 2 | Fraktion 1 |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <i>F. graminearum</i> | 22,8 | 58,7 | 1,3 | 38,0 |
| <i>F. culmorum</i> | 19,4 | 54,8 | 44,3 | 41,1 |
| <i>F. poae</i> | 21,0 | -34,9 | 32,6 | 40,8 |
| <i>F. avenaceum</i> | -20,7 | 46,7 | 47,0 | 77,3 |
| <i>F. equiseti</i> | 99,7 | 99,9 | 28,3 | 39,2 |
| <i>F. sporotrichioides</i> | 99,8 | 99,95 | 84,9 | 54,1 |
| % Reduktion Σ <i>Fusarium</i> spp. | 43,2 | 42,4 | 36,8 | 45,7 |

In den oberen Pflanzenfraktionen, in denen die Infektion auch über die Narbenfäden der Kolben geschieht, lagen die Belastungsreduktionen mit 42,4 % (Fraktion 3) und 43,2 % (Fraktion 4) auf hohem Niveau. In der Abbildung 38 ist ersichtlich, dass gerade für die Fraktion 3, die in der Regel die höchsten Belastungen aufwies, auch die stärksten Reduktionen erreicht werden konnten. Im Fall von *F. graminearum* konnten über 5 % weniger Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA nachgewiesen werden. Auch für *F. culmorum* wurden ca. 4 % weniger Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA analysiert. Die Reduktionen in der Fraktion 4 fielen für die drei Hauptpathogene *F. graminearum* (22,8 %), *F. culmorum* (19,4 %) und *F. poae* (21 %) im Vergleich zur Grubber-Variante jedoch am geringsten aus. Die Fraktion 4 stellt den gewichtsmäßig größten Teil der Pflanze dar. Die Reduktion der Pathogene in dieser Fraktion beeinflusst somit die Belastung im

Silomais-Erntegut am stärksten. Reduktionen in der Stoppelfraktion haben keinen Einfluss auf das Erntegut, jedoch auf das Inokulum, welches auf dem Feld verbleibt.

4.3.3 Einfluss der Anbausystemvarianten auf die Fusarien-Befallsstärke des Fruchtfolgeversuchs (V 98)

In diesem Kapitel werden die Befallsstärken im Bestand (BSB in % *Fusarium* spp.-DNA zur Pflanzen-DNA) der unterschiedlichen Anbausystemvarianten des Fruchtfolgeversuches (V 98) dargestellt. Die Werte sind in Balkendiagrammen wiedergegeben. Auf der Ordinate sind die DNA-Gehalte in % zur Pflanzen-DNA abzulesen. Auf der Abszisse die *Fusarium* spp. *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides*. Nach der Betrachtung des gesamten Silomaiserntegutes folgt die detaillierte Darstellung der einzelnen Fraktionen der beiden Versuchsglieder. Für den Fruchtfolgeversuch wurden die qPCR-Analysen nur in Stickstoffintensitätsstufe 3 (160 kg N/ha) durchgeführt.

4.3.3.1 Belastung des Silomaiserntegutes des Fruchtfolgeversuchs (V 98)

Die Belastung des Silomais-Erntegutes des Fruchtfolgeversuches wird anhand der Graphiken für das **Versuchsjahr 2011** beschrieben (Abbildung 48). Die Graphiken für die Versuchsjahre 2009 und 2010 können im Anhang eingesehen werden. Die quantitativen Genanalysen (qPCR) im Fruchtfolgeversuch (V98) wurden mit dem Ziel durchgeführt, die Wirkung der beiden viergliedrigen Fruchtfolgen mit Mais auf die Fusarium-Befallsstärke zu untersuchen. Es wurde daher eine einheitliche Stickstoffintensität von 160 kg N/ha für beide Fruchtfolgen, bzw. beide Anbausysteme gewählt. Wie im Biomasseversuch (V112) wurden die Silomais-Erntegut-Proben auf die *Fusarium* spp. *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* mittels der qPCR analysiert. Neben der Anordnung der vier Fruchtfolgeglieder unterschieden sich die beiden Mais enthaltenden Fruchtfolgen durch eine unterschiedliche Intensität der Bodenbearbeitung. Die Erbsen – Raps – Mais – Weizen enthaltende Fruchtfolge wird in der vierjährigen Rotation lediglich einmal nach dem Mais mit dem Pflug

bearbeitet. Danach folgt der Winterweizen, der ebenfalls potentieller Wirt für Fusariosen ist. In der viergliedrigen Fruchtfolge mit Raps – Mais – Weizen – Gerste wurde zweimal in der vierjährigen Rotation gepflügt. Es wurde jeweils nach den potentiellen *Fusarium*-Wirten Winterweizen und Wintergerste gepflügt.

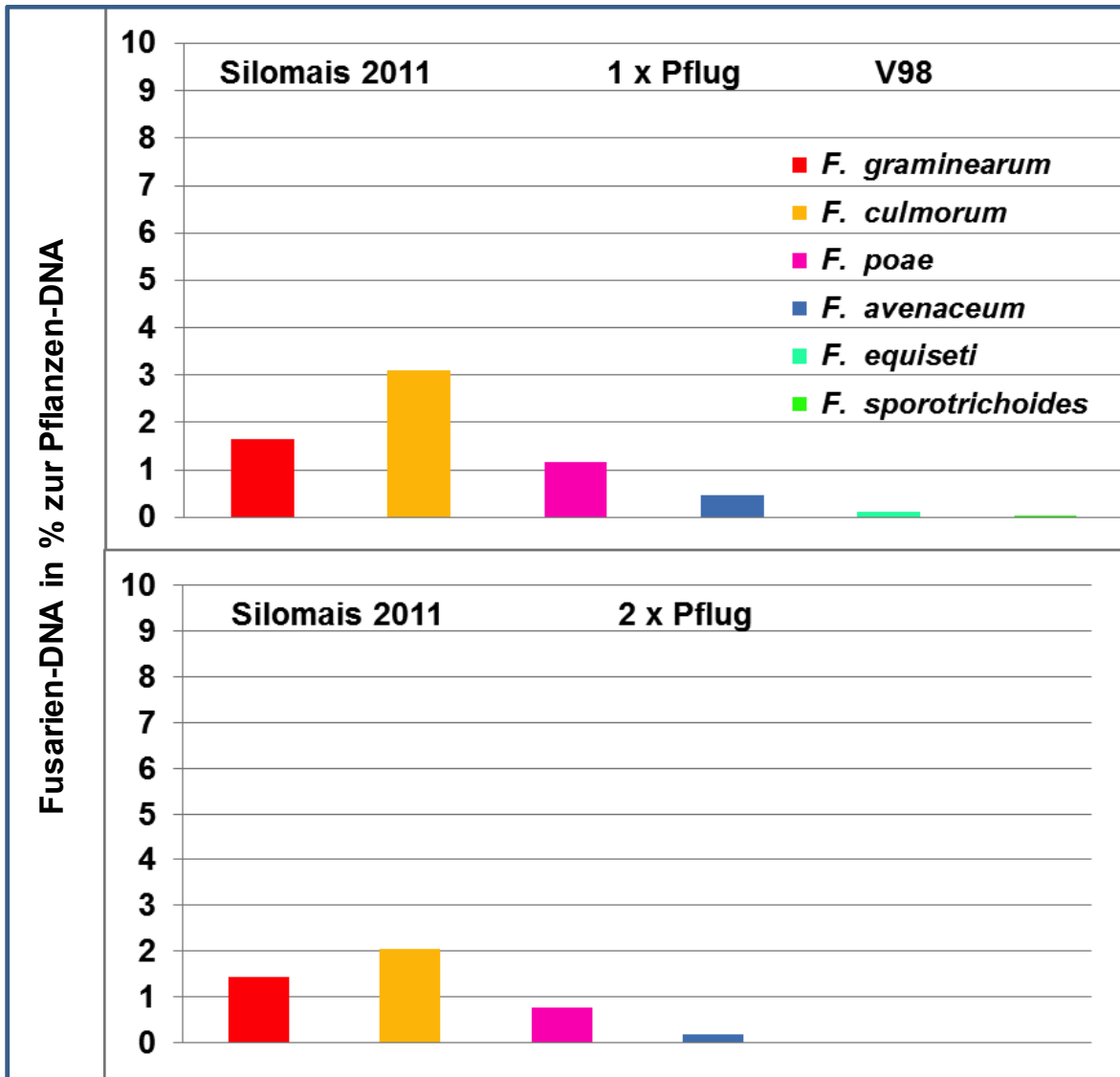


Abbildung 48: Fusarien-Befallsstärke BSB im Silomais (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichoides*; Anbausysteme: Erbsen – Raps – Mais – Weizen 1 x Pflug; Raps – Mais – Weizen – Gerste 2 x Pflug; Stickstoffintensität: 160 kg N/ha; Fruchtfolgeversuch 2011

Das Arten-Spektrum der beiden viergliedrigen Fruchtfolgen war ähnlich. In der Variante mit zwei Pflugfurchen in der Rotation konnte jedoch kein *F. equiseti* und kein *F. sporotrichoides* nachgewiesen werden. *F. culmorum* war in beiden

Fruchtfolgen die dominierende Art. Im Vergleich mit den mehrgliedrigen Fruchtfolgen/Anbausystemen des Biomasseversuchs (V112) lagen die *F. culmorum* Gehalte mit über 3 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA sehr hoch. Die Belastung des Silomais-Erntegutes von über 3 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA erreichte nur noch die Monokultur des Biomasseversuchs in hohen Stickstoffintensitäten. Auch die Befallsstärken von *F. graminearum* lagen im Silomais-Erntegut des Fruchtfolgeversuches (V98) mit ca. 1,5 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA in beiden Anbausystemvarianten vergleichsweise hoch. Die Befallsstärken von *F. poae* und *F. avenaceum* waren in der viergliedrigen Fruchtfolge mit einmalig wendender Bodenbearbeitung deutlich erhöht. Wie eingangs erwähnt, lagen die Belastungen der *Fusarium* spp. *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* unterhalb der Nachweisgrenze.

4.3.3.2 Einfluss der Anbausysteme auf das Auftreten von *Fusarium* spp. in den einzelnen Pflanzenteilen (Fraktionen) in den Varianten des Fruchtfolgeversuch (V98)

Die Belastung des fraktionierten Silomais-Erntegutes des Fruchtfolgeversuches wird anhand der Graphiken für das Versuchsjahr 2011 beschrieben. Die Graphiken für das Versuchsjahr 2010 können im Anhang eingesehen werden. Für das Versuchsjahr 2009 lag, wie im Material- und Methodenteil beschrieben, nur das gehäckselte Erntegut (Fraktion 2-4) vor. Wie unter 4.3.3.1 angemerkt, können diese Daten/Graphiken im Anhang eingesehen werden. In Abbildung 48 sowie in den Abbildungen 49 und 50 ist zu sehen, dass der Befall der Maispflanzen der viergliedrigen Fruchtfolge mit zweimalig wendender Bodenbearbeitung geringer ausfällt, als in der Variante mit nur einer wendenden Bodenbearbeitung in der vierjährigen Rotation – dies gilt nahezu für jede der analysierten Pflanzen-Fraktionen. Ausnahmen bilden einzelne Erreger-Spezies in den Fraktionen 1 und 3. So sind im zweiten unausgebildeten Kolben (Fraktion 3) der viergliedrigen Fruchtfolge mit zweimalig wendender Bodenbearbeitung leicht erhöhte Werte für die *Fusarium* spp. *F. poae* und *F. avenaceum* gegenüber der viergliedrigen Vergleichsvariante nachgewiesen worden. Die Belastung der Stoppel-Fraktion (Fraktion 1) mit *F. culmorum* lag mit 2,906 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA in

der viergliedrigen Fruchtfolge mit zweimalig wendender Bodenbearbeitung um 0,221 % niedriger als in der Vergleichsvariante des Fruchtfolgeversuchs (V98).

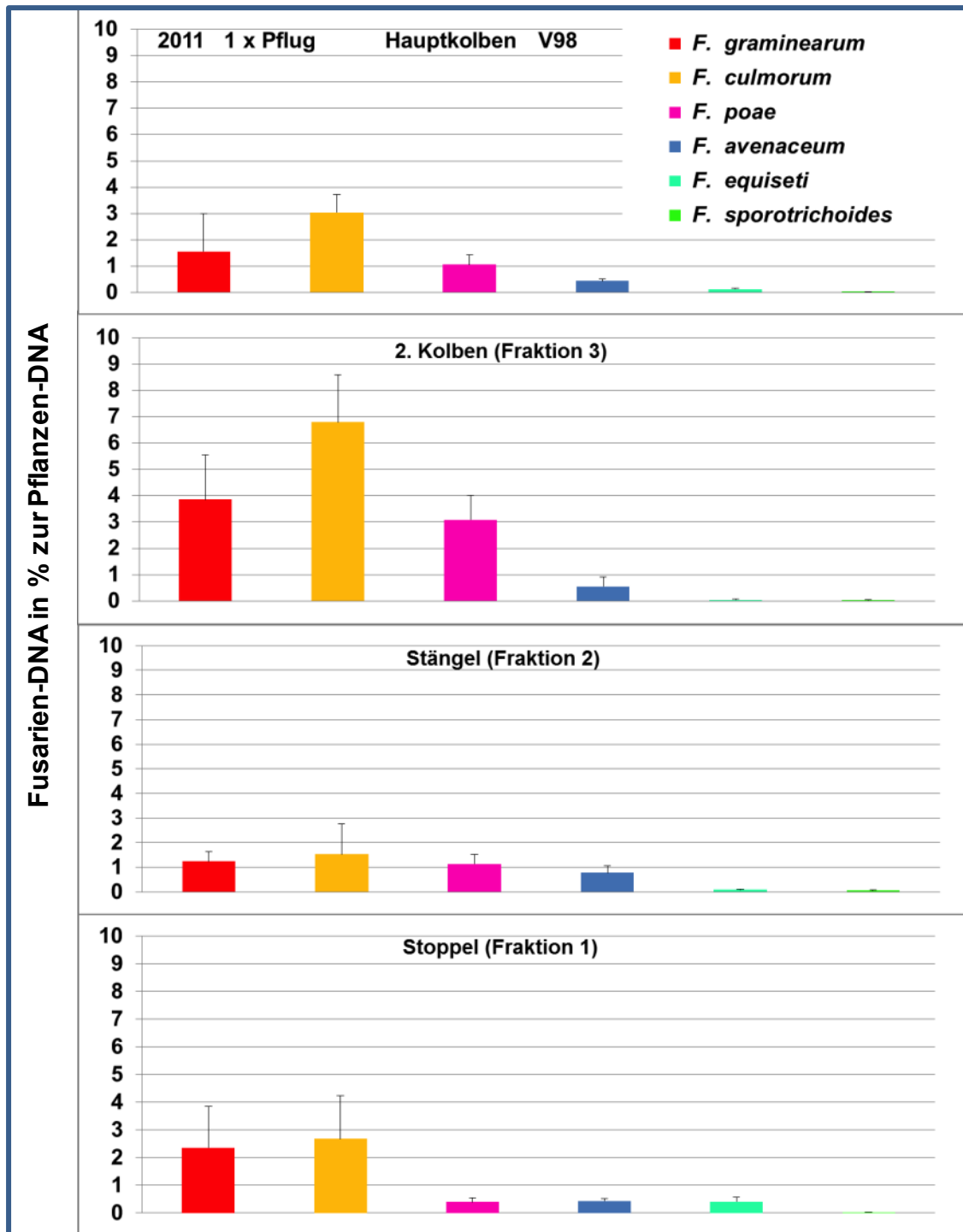


Abbildung 49: Befallsstärke BSB (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) der Fusarienspezies: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichoides*; vier Fraktionen der Maispflanze: Stoppel (1), Stängel (2), 2. Kolben (3), Hauptkolben und obere Blätter (4); viergliedrige Fruchtfolge (Mais – WW – Raps – Erbsen) Fruchtfolgeversuch 2011

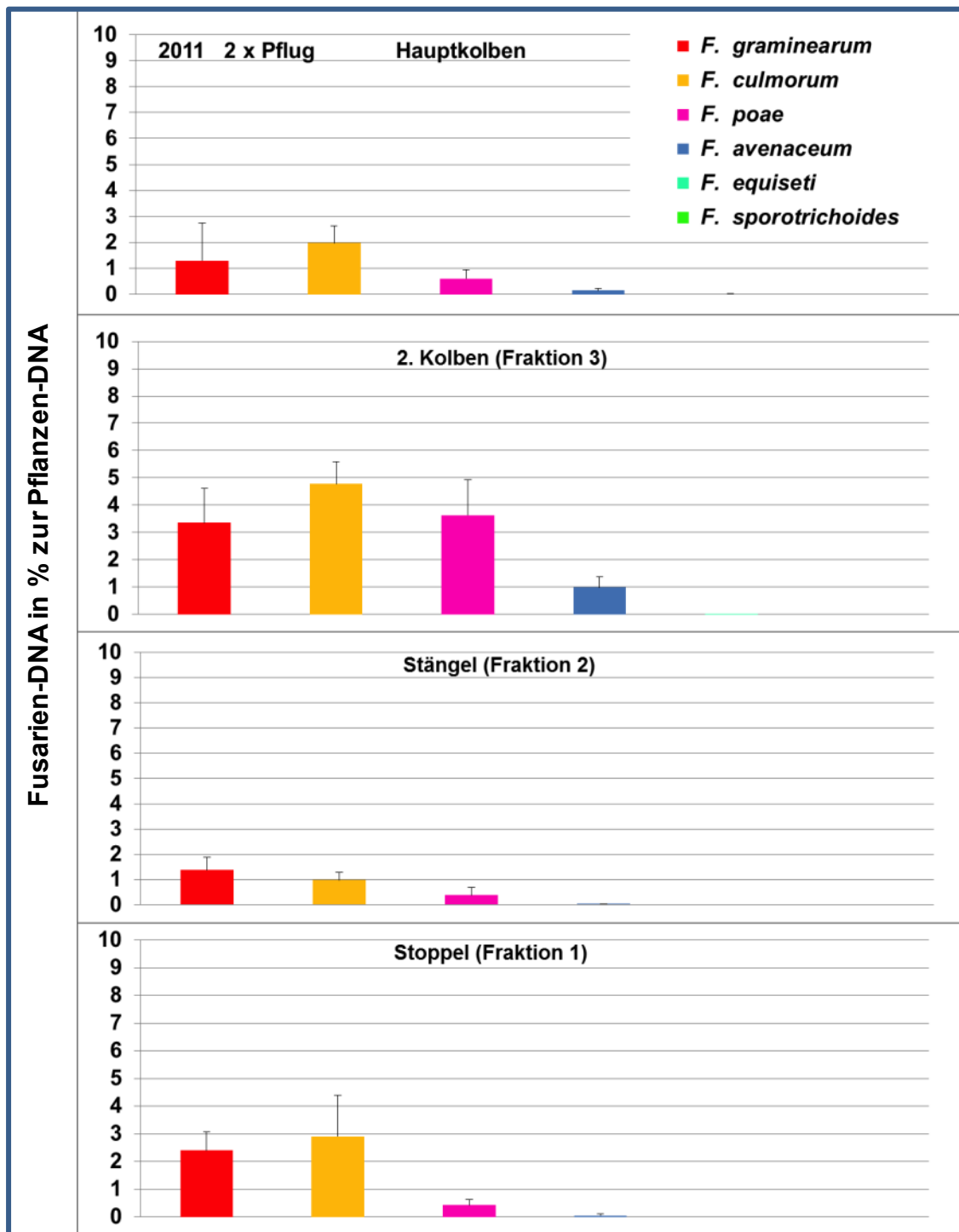


Abbildung 50: Befallsstärke BSB (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) der Fusarienspezies: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichoides*; vier Fraktionen der Maispflanze: Stoppel (1), Stängel (2), 2. Kolben (3), Hauptkolben und obere Blätter (4); viergliedrige Fruchtfolge (Mais – WW – Raps – Gerste) Fruchtfolgeversuch 2011

Die Summe aller, eine Pflanzenfraktion belastenden *Fusarium* spp (in % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA), war jedoch für jede der Fraktionen in der

viergliedrigen Fruchtfolge mit zweimalig wendender Bodenbearbeitung niedriger, als in der viergliedrigen Vergleichsvariante mit einmaliger Bodenbearbeitung.

Das heißt, die Gesamt-Fusarien-DNA sank mit erhöhter Pflugbodenbearbeitungsfrequenz. Vor allem in der Fraktion 4 wurden geringere Gehalte nachgewiesen. Diese Fraktion wirkt sich, aufgrund der ca. 60% - 80% Anteil am Gesamt-Pflanzengewicht, am stärksten auf die Belastung des Silomais-Erntegutes aus.

4.3.4 Mykotoxingehalte im Silomais

In diesem Kapitel werden die Mykotoxingehalte ausgewählter Varianten wiedergegeben. Die Mykotoxinbelastungen der Maismonokultur des Biomasseversuchs (V112) im befallsstarken Jahr 2011 werden für den Silomais und alle Pflanzenteilfraktionen anhand von Liniendiagrammen gezeigt. In allen Graphiken sind die Effekte der vier Stickstoffintensitätsstufen ersichtlich. Auf der Primärachse (Ordinate/links) sind die Deoxynivalenolwerte (DON) in $\mu\text{g}/\text{kg}$ Pflanzen-Trockenmasse (TM) bis 7000 μg abgetragen. Auf der Abszisse sind die Stickstoffintensitätsstufen von 0- bis 240 kg N/ha und auf der Sekundärachse (vertikal/rechts) die Werte für Zearalenon (ZEA) in $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM bis 1400 μg abgetragen (Abbildungen 51 und 52).

An die Liniendiagramme der Mykotoxingehalte schließen sich Betrachtungen zur Korrelation zwischen Mykotoxingehalten einerseits und Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA andererseits an (Abbildungen 53 und 54).

4.3.4.1 Mykotoxingehalte der Mais-Monokultur / Biomasseversuch (112)

In Abbildung 51 und 52 sind die Mykotoxingehalte der Monokultur in den vier Stickstoffintensitätsstufen gezeigt. In der Graphik (Abb.51) wird die Deoxynivalenol- (DON) und die Zearalenonbelastung (ZEA) des Silomais-Erntegutes der Monokultur gezeigt. Daran schließt sich die Betrachtung der einzelnen Fraktionen an. Die Werte für die Belastungen im Silomais errechnen sich aus den Fraktionen 2 – 4 (Stängel, 2. unausgebildeter Kolben und Hauptkolben mit den oberhalb liegenden Pflanzenteilen).

Die geringsten Belastungen des Probenmaterials wurden in den Pflanzen der Stickstoffintensitätsstufen 1 und 2 mit 0- bzw. 80 kg N/ha ermittelt (Abbildung 51). Dies galt sowohl für DON als auch für ZEA. Die Kurve der DON-Belastungen für die ansteigenden Stickstoffintensitäten sinkt von der Null-Stickstoff-Variante zunächst von 441,18 µg/kg auf 5,38 µg/kg TM.

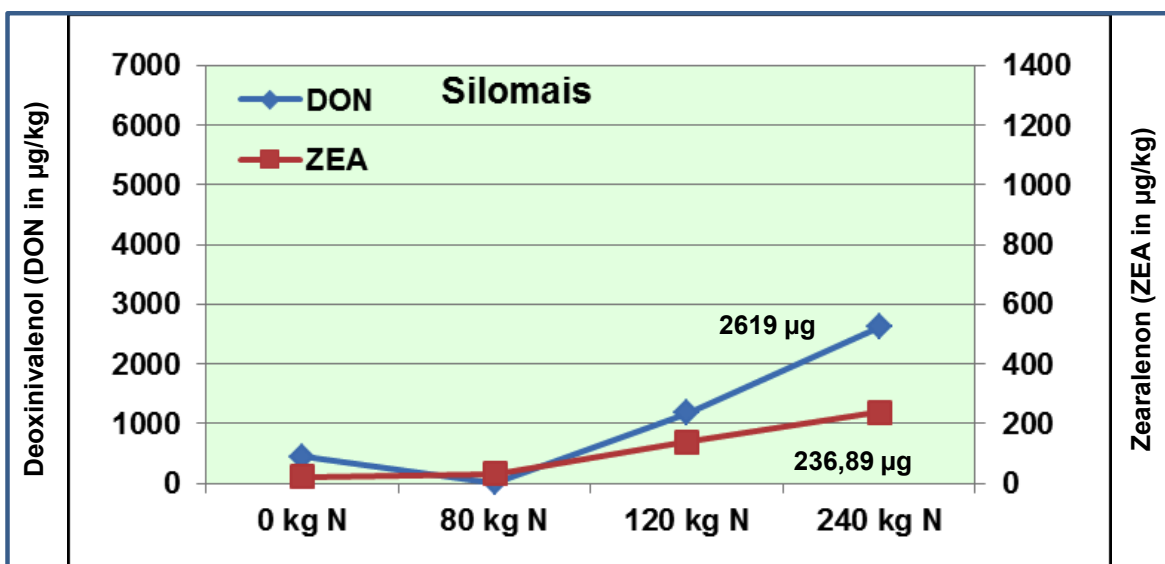


Abbildung 51: Mykotoxingehalte des Silomais-Erntegutes der Maismonokultur; Effekt der Stickstoffintensitätsstufen (0, 80, 160, 240 kg N/ha); Deoxynivalenol (DON in µg/kg); Zearalenon (ZEA in µg/kg); Biomasseversuch 2011

Dieser Wert liegt sehr nahe an der Nachweisgrenze. DON stieg zunächst auf 1169,67 µg/kg TM und dann in der Maximal-Variante auf 2619,90 µg/kg TM. Die Werte für ZEA lagen generell deutlich niedriger als die DON-Werte, daher auch die niedrigere Skalierung bis 1400 µg/kg TM. Mit 21,85 µg/kg TM liegt die Belastung der Null-Variante auch für das Mykotoxin Zearalenon nicht über der Belastung der 80 kg N/ha-Variante, die mit 31,05 µg/kg TM etwas mehr ZEA enthält als DON. In den beiden ansteigenden Stickstoffvarianten mit 160- und 240 kg N/ha steigen auch die ZEA-Werte nahezu linear an. Der höchste Wert wurde in der 240 kg N/ha-Variante mit 236,89 µg/kg TM gemessen.

In Abbildung 52 sind die Mykotoxinbelastungen der vier Pflanzen-Teilfraktionen graphisch im selben Schema dargestellt. Die vier Teilgraphiken sind zur besseren Vergleichbarkeit zusammengelegt. Aufgrund der sehr hohen Gewichtsanteile an der Gesamttrockenmasse der Fraktion 4 verläuft der Graph für diese Fraktion nahezu identisch mit dem der Silomais-Belastungskurve. Die restlichen Fraktionen

zeigen jedoch unterschiedliche Belastungsintensitäten. Der Stängel wies die geringsten Gehalte an Mykotoxinen auf. Mit maximal 106,2 µg/kg TM enthielt die 160 kg N/ha-Variante in dieser Fraktion (Fraktion 2) den höchsten Gehalt an ZEA. Mit 513,8 µg/kg DON in der TM wies der Stängel in der 240 kg N/ha-Variante zwar die stärkste Belastung auf, verglichen mit den anderen Fraktionen der Maximalvariante (240 kg N) war dies jedoch der niedrigste Gehalt. Die Stoppel enthielten vor allem in den Varianten mit 160 und 240 kg N/ha erhöhte Mykotoxinwerte.

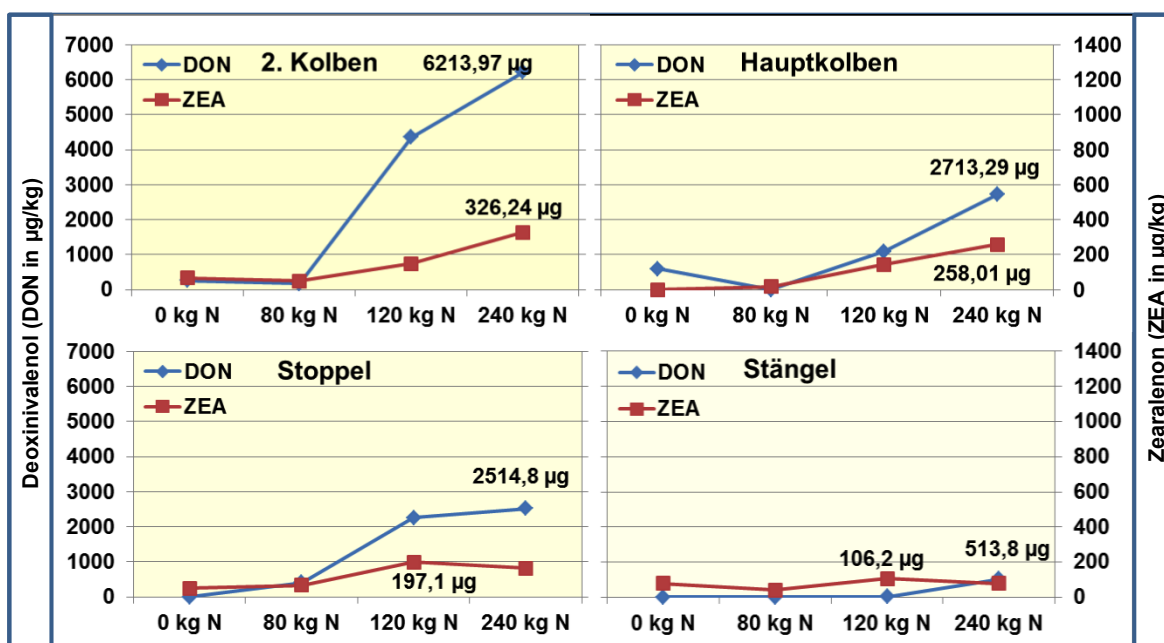


Abbildung 52: Mykotoxingehalte der vier Pflanzen-Teilfraktionen der Maismonokultur; jede Teilgraphik zeigt den Effekt der Stickstoffintensitätsstufen (0, 80, 160, 240 kg N/ha) in den Fraktionen: Stoppel, Stängel, 2. unausgebildeter Kolben und Hauptkolben mit der Restpflanze; Deoxynivalenol (DON in µg/kg); Zearalenon (ZEA in µg/kg); Biomasseversuch 2011

Die Fraktion 3 ist die Fraktion mit dem geringsten Gewichtsanteil an der Trockenmasse der gesamten Maispflanze, daher fallen die zum Teil extrem erhöhten Mykotoxin-Gehalte nicht maßgeblich ins Gewicht. Die Richtwerte für unverarbeitete Rohprodukte von 5000 µg/kg DON in der TM wurden somit nur in einer sehr kleinen Teilfraktion der Maispflanze mit 6213,97 µg/kg überschritten. Der Verdünnungseffekt durch die weniger stark belasteten Pflanzenfraktionen brachte den Gesamtbelastungsgrad der Pflanze auf ein Maß deutlich unter dem Richtwert für DON. Die Messwerte für ZEA überschritten den Richtwert von

500 µg/kg in keiner Fraktion. Das Maximum der Belastung wurde ebenfalls in der Fraktion 3, dem unausgebildeten Kolben in der 240 N kg N/ha-Variante analysiert.

4.3.4.2 Korrelationen der Pathogen-DNA-Gehalte zu den Mykotoxingehalten

In den Graphiken der Abbildungen 53 und 54 ist die Korrelation zwischen Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA und dem Mykotoxingehalt zu sehen. Auf der Abszisse ist der Wert für die Belastung mit Fusariosen wie gewohnt in Fusarien-DNA in % zur Pflanzen-DNA gezeigt, auf der Ordinate ist der Mykotoxingehalt in µg/kg Trockenmasse angegeben. Die Skalierung für Deoxynivalenol (DON) geht von 0- bis 7000 µg/kg, die Skalierung für die Belastung des Pflanzenmaterials mit Zearalenon (ZEA) geht aufgrund der generell niedrigeren Werte für ZEA nur bis 1400 µg/kg Trockenmasse. Die verwendeten Daten entsprechen denen der Abbildungen 43 aus dem Kapitel 4.3.2.1 Belastung des Silomaiserntegutes des Biomasseversuchs (V 112) und aus der Abbildung 51 des vorangegangenen Kapitels 4.3.4.1.

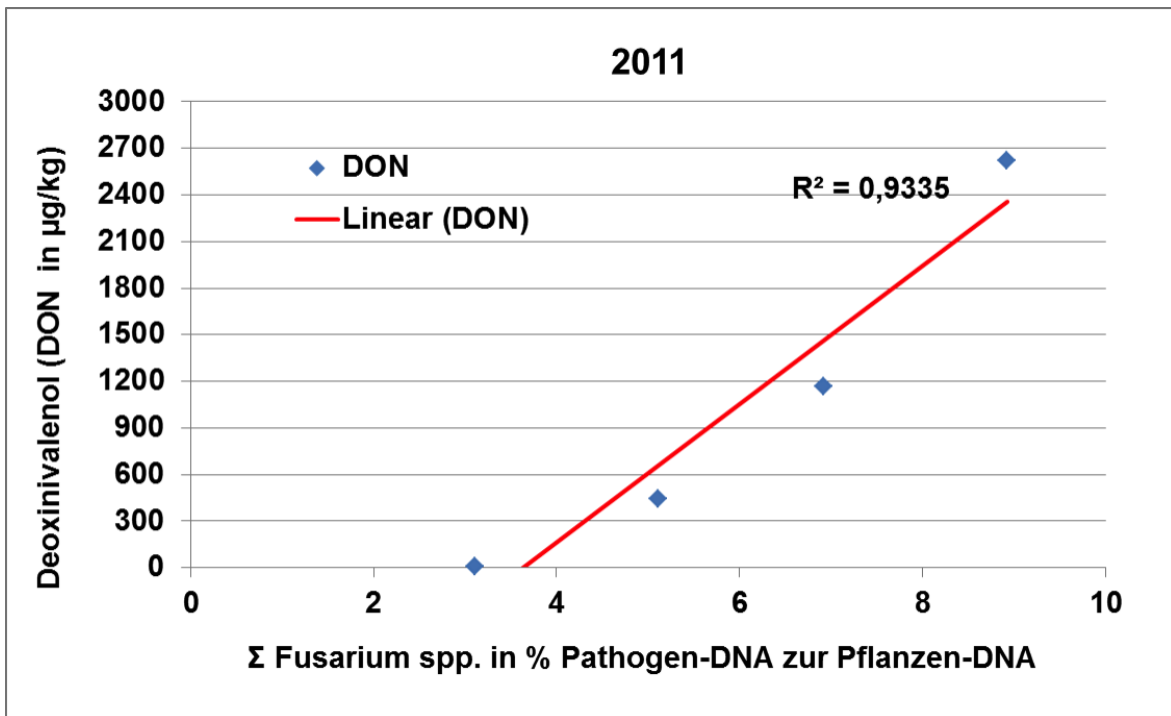


Abbildung 53: Korrelation der Befallsstärke im Bestand der aufsummierten DNA-Gehalte der sechs *Fusarium* spp. (Σ BSB %) mit den Deoxynivalenol-Gehalten (DON $\mu\text{g}/\text{kg}$) im Silomais-Erntegut der Mais-Monokultur; Stickstoffintensitätsstufen 0-240 kg N/ha; Biomasseversuch 2011

In Abbildung 53 wurden die Befallswerte des Silomais-Erntegutes (Fraktion 2 – 4) der Maismonokultur der vier Stickstoffintensitätsstufen für einen Korrelations-Test (DON – Pathogen-DNA) genutzt. Die Daten waren geeignet, da in den beiden schwach versorgten Varianten niedrige und in den intensiv versorgten Varianten hohe DNA-Gehalte ermittelt wurden. Wie in der Graphik zu sehen, stiegen sowohl die DNA-Gehalte als auch die DON-Gehalte. Wie in Graphik 43 und 51 zu sehen, stiegen die Werte nicht von 0 kg N/ha bis 240 kg N/ha gleichförmig an, sondern im schwach mit Stickstoff versorgten Niveau gab es hier Variationen. Dennoch lag insgesamt eine ansteigende Befallstendenz vor. In Abbildung 52 ist eine klare Beziehung zu sehen zwischen Befallsstärke im Bestand (BSB %) und der Belastung mit dem Mykotoxin Deoxynivalenol (DON). Mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,934$ kann von einer deutlichen Korrelation ausgegangen werden.

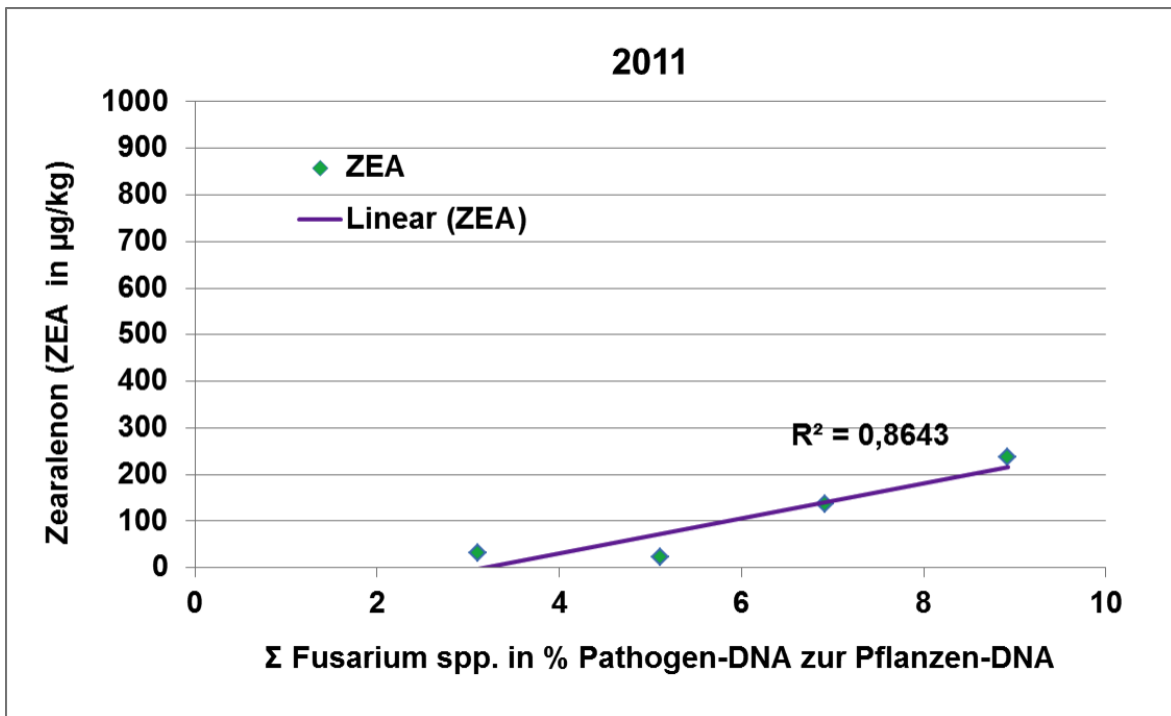


Abbildung 54: Korrelation der Befallsstärke im Bestand der aufsummierten DNA-Gehalte der sechs *Fusarium* spp. (Σ BSB %) mit den Zearalenon-Gehalten (ZEA $\mu\text{g}/\text{kg}$) im Silomais-Erntegut der Mais-Monokultur; Stickstoffintensitätsstufen 0-240 kg N/ha; Biomasseversuch (V112) 2011 Zearalenongehalten (ZEA $\mu\text{g}/\text{kg}$) im Silomais-Erntegut der Mais-Monokultur; Stickstoffintensitätsstufen 0-240 kg N/ha; Biomasseversuch 2011

Die Beziehung zwischen Belastung des Probenmaterials mit *Fusarium* spp.-DNA in % zur Pflanzen-DNA und dem Zearalenon-Gehalt in $\mu\text{g}/\text{kg}$ ist in Abbildung 54 zu sehen. Die Skalierung der Abszisse mit den DNA-Gehalten, ist wie in der Graphik 53, bis 10 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA gewählt. Den deutlich niedrigeren Werten für das Mykotoxin ZEA entsprechend ist die Skalierung der Ordinate nur bis 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ gewählt. Die ZEA-Gehalte werden mit steigender Belastung durch Fusariosen entsprechend höher. Der absolute Anstieg der Werte gleicht nicht dem starken Anstieg der DON-Werte, das Bestimmtheitsmaß von $R = 0,864$ weist jedoch ebenfalls auf eine deutliche Beziehung zwischen dem Grad der Belastung durch Fusariosen und dem ZEA-Gehalt hin.

4.3.4.3 Korrelationen der Stickstoffintensität zu den Mykotoxingehalten

In den Graphiken unter 4.3.4.1 ist zu sehen, dass mit steigender Stickstoffintensität meist auch steigende Mykotoxingehalte verbunden sind. In den

Abbildungen 55 und 56 ist nach ähnlichem Schema wie in Abbildung 53 und 54 die Korrelation der Stickstoffintensitätsstufen zu den Mykotoxingehalten dargestellt. Die Stickstoffdüngung und die Belastung des Silomais-Erntegutes unterlagen nicht einer so engen Beziehung wie der Pathogen-DNA-Gehalt und die Mykotoxinbelastung. Wie in der Abbildung 51 zu sehen, war die Belastung mit *Fusarium*-DNA in der ungedüngten Variante ebenso wie die Mykotoxinbelastung in dieser Variante höher als in der 80 kg N/ha-Variante. Daher läuft der Graph für die DON-Belastung nicht gleichförmig steigend, sondern fällt von 0 auf 80 kg N/ha leicht ab. Dementsprechend liegt das Bestimmtheitsmaß für die Stickstoffintensität und den DON-Gehalt unter dem der Beziehung zwischen DNA-Gehalt und DON-Belastung.

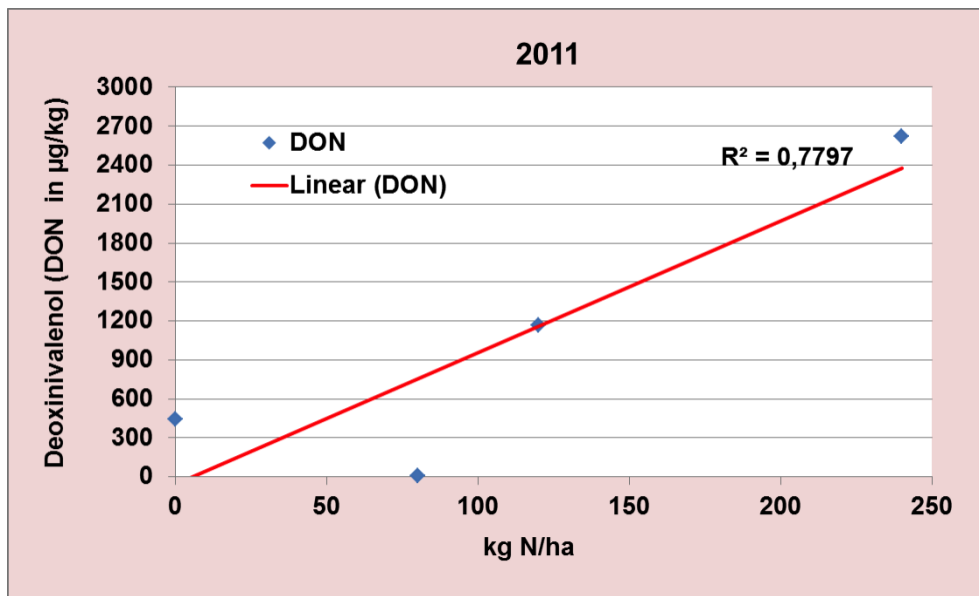


Abbildung 55: Korrelation der Stickstoffintensität zur Intensität der Deoxynivalenol-Belastung (DON) in der Trockenmasse des Silomais-Erntegutes; Stickstoffdüngung in kg N/ha, DON in µg/kg Trockenmasse (TM) Biomasseversuch 2011

Die Korrelation für Pathogen-DNA-Gehalt und ZEA-Belastung war wie in Abbildung 54 zu sehen, geringer als die für DON. Die Beziehung zwischen Stickstoffdüngung und ZEA-Gehalt verlief für den Silomais im Versuchsjahr 2011, wie in Abbildung 51 zu sehen, gleichförmig mit dem Anstieg der Stickstoffdüngung. Daraus resultiert ein Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,8993$ welches deutlich über dem Bestimmtheitsmaß von DON und Stickstoffintensität mit $R^2 = 0,7797$ liegt.

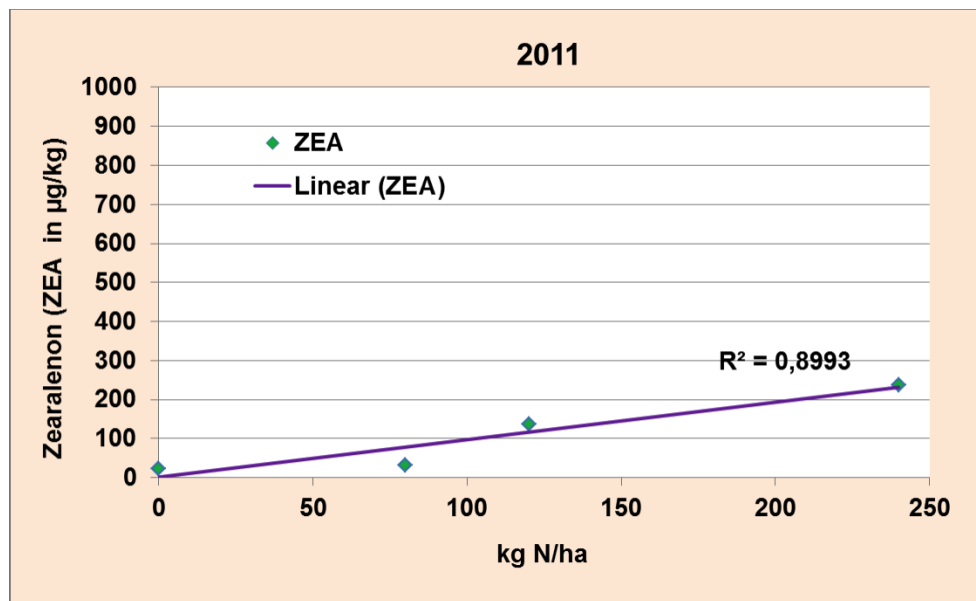


Abbildung 56: Korrelation der Stickstoffintensität zur Intensität der Zearalenon-Belastung (ZEA) in der Trockenmasse des Silomais-Erntegutes; Stickstoffdüngung in kg N/ha, ZEA in µg/kg Trockenmasse (TM) Biomasseversuch 2011

4.4 Erträge

Die Erträge der Versuchsjahre 2009 bis 2011 sind in den Abbildungen 57 bis 58 zusammengefasst. In den Säulendiagrammen sind die Mais-Ertragsdaten in Tonnen Trockenmasse je Hektar (TM in t/ha) wiedergegeben. Die Teilgraphiken zeigen die Maiserträge der Fruchtfolgen bzw. Anbausystemvarianten der beiden Versuchsanlagen (V112 und V98). Die Frischmasse-Erträge wurden durch das Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung mit dem Parzellen-Häcksler ermittelt, über die Trockenmassebestimmung wurden die Trockenmasse-Erträge ermittelt. Es handelt sich also nicht um die aus den Beprobungspflanzen hochgerechneten Parzellenerträge.

4.4.1 Erträge des Biomasseversuchs (V112)

Die vier Säulen einer jeden Teilgraphik stehen für die vier Stickstoffintensitätsstufen 0-360 kg N/ha (Versuchsjahr 2009) und 0-240 kg N/ha (Versuchsjahre 2010 und 2011). Kleine Buchstaben kennzeichnen statistische Unterschiede der Stickstoffintensitäten innerhalb der Fruchtfolgen (Monokultur; Mais-WW-Weidelgras; Mais WW-Gelbsenf). Große Buchstaben kennzeichnen statistische Unterschiede der einzelnen Stickstoffintensitätsstufen zwischen den Fruchtfolgen. Verschiedene Buchstaben stehen für signifikante ($p < 0,05$) Abweichungen der Mittelwerte, bei gleichen Buchstaben kann nicht von signifikanten Abweichungen ausgegangen werden.

Im Versuchsjahr 2009 (Abb. 57) wurden in den Intensitätsstufen von 0 – 360 kg N/ha Erträge von 8,45 bis 18,75 t/ha geerntet. Die Maximalerträge, die für alle drei Anbausystemvarianten in den 240 kg N/ha-Varianten ermittelt wurden, variierten nur sehr gering von 18,66 t/ha bis 18,75 t/ha. In den drei Anbausystemvarianten lagen die Erträge der 360 kg N/ha-Varianten mit 0,05 t/ha in der Monokultur bis zu 1,99 t/ha in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras niedriger als in den 240 kg N/ha-Varianten. Die Ertragsreduzierungen von 240 auf 360 kg N/ha waren jedoch für keine der drei Fruchtfolgen statistisch abgesichert.

In der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als Zwischenfrucht (Catchcrop zur Stickstoffbindung) ist mit 14,04 t/ha der höchste Ertrag für die Null-Variante ermittelt worden. Diese ungedüngte Variante erreicht damit ein deutlich höheres Ertragsniveau als die ungedüngten Varianten der Vergleichsfruchtfolgen rund 3 – 5 t/ha. Der Mehrertrag ist statistisch abgesichert. Zu den Stickstoffintensitätsvarianten in derselben Fruchtfolge war ein signifikanter jedoch geringerer Unterschied festzustellen

. Auch in der Stickstoffstufe N2 = 120 kg N/ha ist ein abgesicherter Mehrertrag zu den Vergleichsfruchtfolgen nachgewiesen. In der Stickstoffintensität N4 = 360 kg N/ha ist ein abgesicherter Mehrertrag für die Maismonokultur ermittelt worden. Das Ertragsniveau des Versuchsjahres 2009 liegt für alle Fruchtfolgen und Stickstoffintensitätsstufen höher als in den folgenden Versuchsjahren.

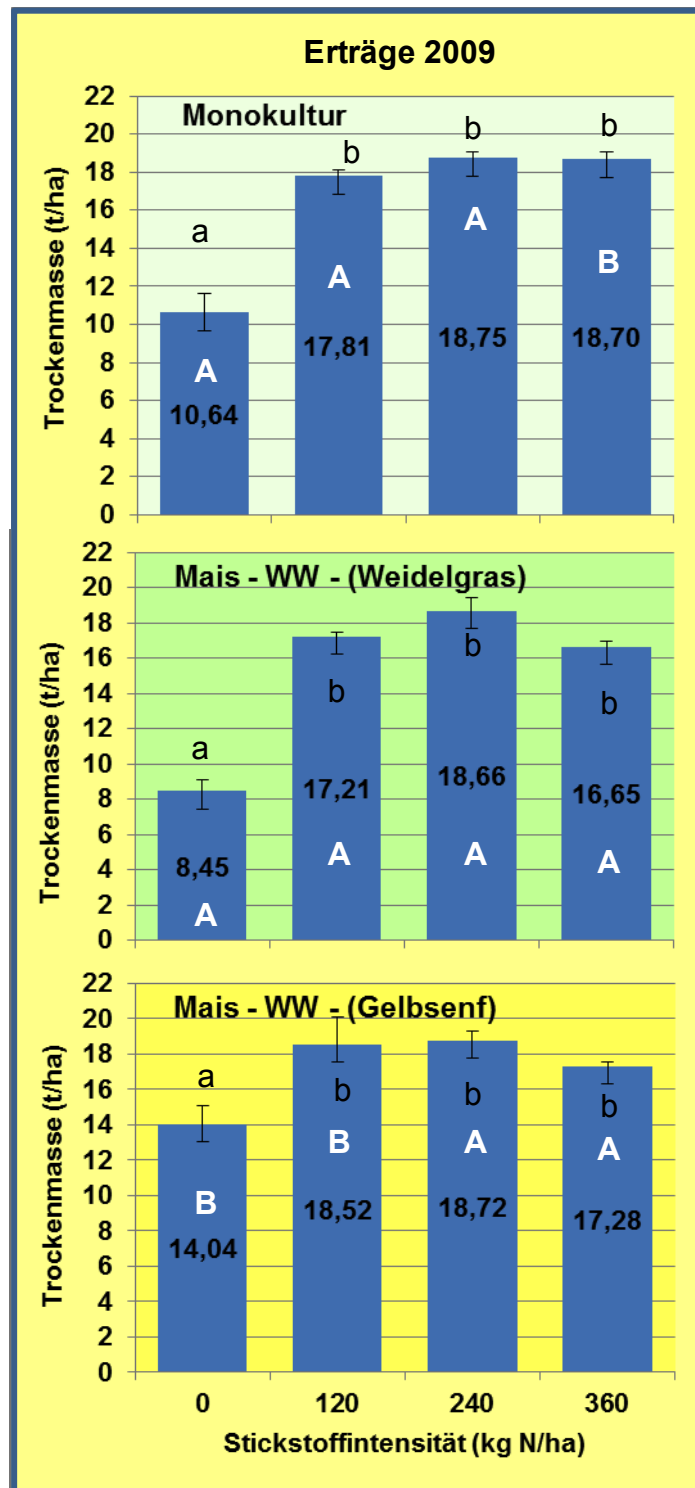


Abbildung 57: Mais-Erträge (TM in t/ha) der drei Anbausystem-Varianten in den vier Stickstoffintensitätsstufen von 0-360 kg N/ha; ($p \leq 0,05$) a,b,c = Intensitäten; A,B,C = Anbausysteme; Biomasseversuch 2009

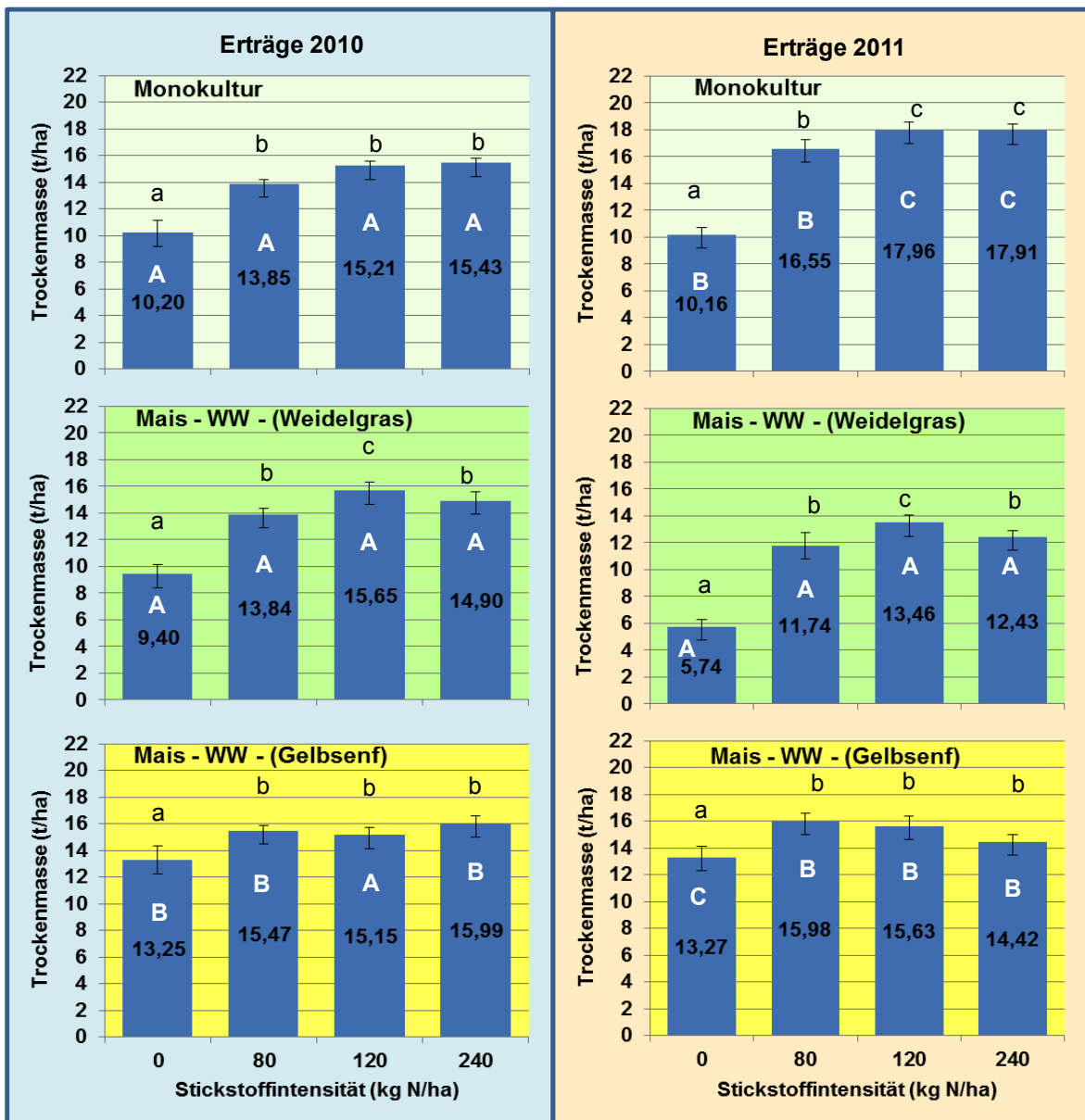


Abbildung 58: Mais-Erträge (TM in t/ha) der drei Anbausystem-Varianten in den vier Stickstoffintensitätsstufen von 0-240 kg N/ha; ($p \leq 0,05$) a,b,c = Intensitäten; A,B,C = Anbausysteme; Biomasseversuch 2010 und 2011

In Abbildung 58 sind die Ertragsdaten der Versuchsjahre 2010 und 2011 nebeneinander dargestellt. Die graphische Widergabe der Daten entspricht der Darstellung für das Versuchsjahr 2009. Die maximale Stickstoffintensität lag in diesen Versuchsjahren bei 240 kg N/ha. Das Ertragsmaximum des Versuchsjahres 2009 lag bei allen Fruchtfolge-Varianten in der 240 kg N/ha-Variante. Dennoch konnten die Maximalerträge der Versuchsjahre 2010 und 2011 die des Versuchsjahres 2009 nicht erreichen. Die Tendenz eines abnehmenden Ertrages in der Maximal-Variante (240 kg N/ha) konnte für die zweigliedrigen

Fruchtfolgen jedoch weiterhin beobachtet werden. Die Ausnahme bildete hier die zweigliedrige Fruchtfolge mit Senf als Zwischenfrucht, hier wurde bei 240 kg N/ha mit 15,99 t/ha der höchste Ertrag erzielt.

Über den gesamten Versuchszeitraum von 2009 bis 2011 wurden für die Maismonokultur bei einer Stickstoffdüngung > 160 kg N/ha die höchsten Erträge festgestellt. In den 0- bzw. 80 kg N/ha-Varianten lagen die Erträge der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als stickstoffbindende „Catchcrop“ nach dem GPS-Winterweizen deutlich höher als die Erträge der Vergleichsvarianten. Eine Ausnahme bildete hier das Jahr 2011, in dem die Erträge der 80 kg N/ha-Variante in etwa mit der Maismonokultur gleichauf lagen.

4.4.2 Erträge des Fruchtfolgeversuchs (V98)

Für den gesamten Versuchszeitraum von 2009 bis 2011 sind die Mais-Erträge/Ertragsdaten der Fruchtfolge-Versuchsanlage (V98) ermittelt worden. Im Versuchsjahr 2010 hat es in den Ernteparzellen einen größeren Wildschaden gegeben. Die nach dem Häckseln ermittelten Daten für das Versuchsjahr 2010 konnten leider nicht mehr als glaubwürdig angesehen werden. Daher werden in Abbildung 58 die Mais-Ertragsdaten (TM in kg/ha) der Versuchsjahre 2009 und 2011 zusammengefasst in Säulendiagrammen wiedergegeben. Die vier Balken einer jeden Teilgraphik stehen für die vier Stickstoffintensitätsstufen 0-, 80-, 120- und 240 kg N/ha.

Die Ertragsdaten für die Null-Stickstoff-Variante liegen im Versuchsjahr 2009 mit 14,20 t/ha und 14,81 t/ha für beide Fruchtfolgen sehr hoch. Für die viergliedrige Fruchtfolge mit Erbsen und einmalig wendender Bodenbearbeitung in der vierjährigen Rotation konnte für den Mais in der 120 kg N/ha-Variante nur ein marginaler Ertragsanstieg im Vergleich mit der 0 kg N/ha-Variante von 0,34 t/ha ermittelt werden.

In der zweimalig gepflügten Fruchtfolge mit Gerste anstelle von Erbsen in der Rotation stieg der Maisertrag um 1,20 t/ha in 120 kg N/ha – Variante. In der Regel wurden die Maximalerträge in beiden Versuchsjahren in der 160 kg N/ha-Variante

gemessen, die Ausnahme bildete hier das Versuchsjahr 2011, hier lagen die Erträge der 160 kg N/ha sowie der 240 kg N/ha-Variante dicht beieinander. Mit 18,36 t/ha Ertrag brachte die 240 kg N/ha-Variante 0,22 t/ha über der 160 kg N/ha-Variante.

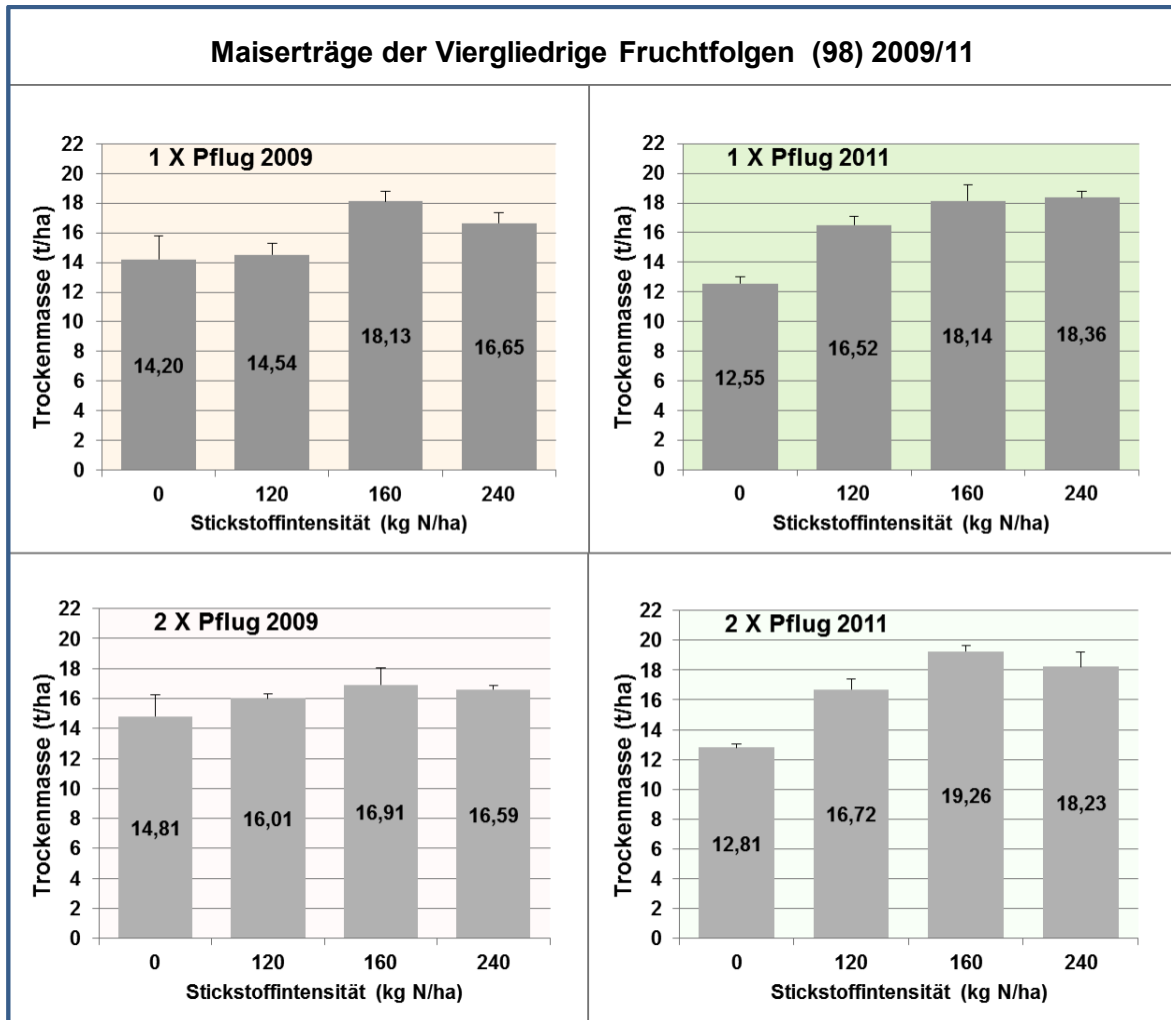


Abbildung 59: Mais-Erträge der zwei Fruchtfolgen/Anbausystem-Varianten des Fruchtfolgersuch (V98) in den vier Stickstoffintensitätsstufen 0, 80, 160, 240 kg N/ha; Fruchtfolgersuche (V98) 2009 und 2011

Insgesamt variierten die Mais-Ertragsdaten im Fruchtfolgersuch (V98) nicht so stark wie im Biomasseversuch (V112). Auffällig sind die hohen Erträge der Varianten mit 0 kg N/ha von 14,20 t/ha TM (1xPflug) und 14,81 t/ha TM (2xPflug) im Versuchsjahr 2009 und 12,55 t/ha TM (1xPflug) 12,81 t/ha TM (2xPflug) im Versuchsjahr 2011 und der verhältnismäßig geringe Ertragseffekt, der für die

Varianten mit den höchsten Erträgen nur zwischen 2,2 t/ha TM und 6,45 t/ha TM Mehrertrag als in den Null-Varianten ergab. Zudem lagen die höchsten Erträge oft nicht in den Maximalvarianten, sondern in den 160 kg N/ha-Varianten vor.

4.5 Statistische Einordnung der Ergebnisse

Analyse aller Einflussfaktoren auf den Ertrag

Die dreifaktorielle Analyse der Ertragsdaten hinsichtlich der Effekte des Anbaujahres, der Stickstoffdüngung und der Fruchtfolge ergaben signifikante Effekte für jeden der drei Faktoren und der Interaktion zwischen Stickstoffdüngung und Fruchtfolge. Es zeigte sich aber, dass die Unterschiede zwischen den Versuchsjahren 2010 und 2011 nur gering waren. Ein Modellvergleich ergab, dass diese beiden Jahre gemeinsam betrachtet werden konnten. Es wurden daher zwei separate zweifaktorielle ANOVAs für das Versuchsjahr 2009 und die Jahre 2010 und 2011 durchgeführt

Analyse für 2009

Für 2009 ist dabei weiterhin eine schwache Interaktion zwischen Fruchtfolge und Stickstoffdüngung erkennbar, so dass das Modell nicht weiter vereinfacht werden konnte. Vor allem die zweigliedrige Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras als Zwischenfrucht zeigte sich dabei als weniger ertragreich im Vergleich zur Maismonokultur oder der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als Catchcrop. Bei den Stickstoffintensitäten gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Stickstoffintensitäten, aber eine signifikante Ertragssteigerung gegenüber der 0 kg N/ha-Variante. Signifikante Interaktionen waren vor allem im Vergleich zwischen den ungedüngten Versuchsfeldern und den gedüngten zu erkennen, nicht aber innerhalb der verschiedenen Stickstoffintensitäten.

Tabelle 15: Mehrfaktorielle ANOVA der Erträge des Biomasseversuchs 2009; FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) | Sig |
|------------------|----|--------|---------|---------|----------|-----|
| FF | 2 | 32,1 | 16,03 | 5,445 | 0,00859 | ** |
| N | 3 | 452 | 150,67 | 51,178 | 4,58E-13 | *** |
| FF:N | 6 | 48,9 | 8,16 | 2,771 | 0,02557 | * |
| Residuals | 36 | 106 | 2,94 | | | |

Analyse für 2010 und 2011

Die Analyse der Versuchsjahre 2010 und 2011 ergaben ein ähnliches Bild, in dem ebenfalls sowohl die Fruchtfolge, das Düngenniveau als auch die Interaktion zwischen beiden Faktoren signifikant waren ($p < 0.05$). Signifikante Unterschiede zwischen 2010 und 2011 bestanden dagegen nicht.

Tabelle 16: Mehrfaktorielle ANOVA der Erträge des Biomasseversuchs 2010 und 2011 zusammengefasst; FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) | Sig |
|-----------|----|--------|---------|---------|----------|-----|
| Year | 1 | 2,6 | 2,57 | 0,79 | 0,37657 | |
| FF | 2 | 152,5 | 76,25 | 23,439 | 8,51E-09 | *** |
| N | 3 | 403 | 134,32 | 41,293 | < 2e-16 | *** |
| FF:N | 6 | 85,8 | 14,29 | 4,394 | 0,000665 | *** |
| Residuals | 83 | 270 | 3,25 | | | |

Bei den Einzelwertvergleichen (Tabellen im Anhang) zeigte sich wiederum ein signifikant niedrigerer Ertrag in der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras als genutzte Zwischenfrucht. Auch die Effekte der Stickstoffdüngung sind vergleichbar zu den Beobachtungen in 2009, in dem nur die nicht gedüngten Parzellen einen signifikant niedrigeren Ertrag aufwiesen, das Niveau der Stickstoffdüngung aber keinen signifikanten Effekt auf den Ertrag hatte. Signifikante Interaktionen waren wiederum im Vergleich zwischen den ungedüngten Versuchsflächen und den gedüngten zu erkennen. Die Interaktionseffekte waren aber stärker ausgeprägt als in 2009.

Nichtparametrische mehrfaktorielle Analyse der Erregerbelastung

Die statistischen Auswertungen der Erregerbelastungen in Bezug zu den Anbausystemfaktoren wurden aufgrund der erregerspezifischen Varianzinhomogenität und den nicht normalverteilten Datensätzen mit der *Aligned Rank Transformation* zur nicht-parametrischen faktoriellen Analyse nach Wobbrock et al (2011) durchgeführt. Wie bei den Ertragsdaten konnten auch hier signifikante Einflüsse und Interaktionen der Anbausystemparameter nachgewiesen werden.

Analyse der Erregerbelastung 2009

Die Daten des Versuchsjahres 2009 wurden aufgrund der in 2010 und 2011 abweichenden Stickstoffintensitäten der Versuchsvarianten separat betrachtet. Es wurden die Erregerbelastungen des Silomaiserntegutes für die Erreger *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* und *F. poae* verrechnet. Hierbei konnten sowohl für den Einfluss der Stickstoffintensität als auch für den Einfluss der Fruchtfolge und die Interaktionen von Stickstoffintensität und Fruchtfolge auf die Erreger *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum* hochsignifikante Effekte nachgewiesen werden. Für die stärker streuenden und insgesamt niedrigeren Messwerte (zum Teil nahe der Nachweisgrenze) des Erregers *Fusarium poae* konnten für den Stickstoffeinfluss und für den Einfluss der Fruchtfolge Signifikanzen nachgewiesen werden. Wechselwirkungen von Stickstoffdüngung und Fruchtfolgen waren für den Erreger *Fusarium poae* nicht mehr durch die Statistik abzusichern.

Tabelle 17: Aligned Rank Transformation zur nicht-parametrischen faktoriellen Analyse der Erregerbelastung des Biomasseversuchs 2009; FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen (Erreger *F. graminearum*)

F. graminearum 2009

| | Df | Sum Sq | Df.res | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|--------|--------|---------|--------------|
| N | 3 | 7441.3 | 36 | 50.722 | 5,22E-10 *** |
| FF | 2 | 7487.4 | 36 | 79.653 | 6,03E-11 *** |
| N:FF | 6 | 6959.1 | 36 | 18.691 | 9,84E-07 *** |

Tabelle 18: Aligned Rank Transformation zur nicht-parametrischen faktoriellen Analyse der Erregerbelastung des Biomasseversuchs 2009; FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen (Erreger *F. culmorum*)

F. culmorum 2009

| | Df | Sum Sq | Df.res | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|--------|--------|---------|--------------|
| N | 3 | 7334.5 | 36 | 471.672 | 1,48E-09 *** |
| FF | 2 | 4936.6 | 36 | 208.982 | 9,47E-04 *** |
| N:FF | 6 | 5139.7 | 36 | 76.654 | 2,39E-02 *** |

Tabelle 19: Aligned Rank Transformation zur nicht-parametrischen faktoriellen Analyse der Erregerbelastung des Biomasseversuchs 2009; FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen (Erreger *F. poae*)

F. poae 2009

| | Df | Sum Sq | Df.res | F value | Pr(>F) |
|-------------|----|--------|--------|---------|-------------|
| N | 3 | 2649.2 | 36 | 51.019 | 0.004804 ** |
| FF | 2 | 1965.1 | 36 | 49.444 | 0.012668 * |
| N:FF | 6 | 1511.3 | 36 | 11.870 | 0.335176 |

Analyse der Erregerbelastung 2010 und 2011

Die Daten beider Versuchsjahre 2010 und 2011 wurden mit der *Aligned Rank Transformation* zur nicht-parametrischen faktoriellen Analyse nach Wobbrock et al (2011) verrechnet. Exemplarisch wurden hier die Daten der Erregerbelastungen der Hauptkolbenfraktion mit den Leitpathogenen *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* und *F. poae* berücksichtigt.

Tabelle 20 *Aligned Rank Transformation* zur nicht-parametrischen faktoriellen Analyse der Erregerbelastung des Biomasseversuchs 2010 und 2011; Year = Jahr, FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen (Erreger *F. graminearum*)

F. graminearum 2010/11

| | Df | Sum Sq | Df.res | F value | Pr(>F) | |
|-----------|----|--------|--------|---------|-----------|-----|
| Year | 1 | 16695 | 72 | 21.746 | 1,40E-02 | *** |
| N | 3 | 66148 | 72 | 212.000 | < 2.2e-16 | *** |
| FF | 2 | 61028 | 72 | 179.091 | < 2.2e-16 | *** |
| Year:N | 3 | 32958 | 72 | 20.439 | 1,10E-06 | *** |
| Year:FF | 2 | 54339 | 72 | 105.769 | < 2.2e-16 | *** |
| N:FF | 6 | 61407 | 72 | 80.071 | < 2.2e-16 | *** |
| Year:N:FF | 6 | 32819 | 72 | 10.434 | 2,67E-05 | *** |

Tabelle 21: *Aligned Rank Transformation* zur nicht-parametrischen faktoriellen Analyse der Erregerbelastung des Biomasseversuchs 2010 und 2011; Year = Jahr, FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen (Erreger *F. culmorum*)

F. culmorum 2010/11

| | Df | Sum Sq | Df.res | F value | Pr(>F) | |
|-----------|----|--------|--------|-----------|-----------|-----|
| Year | 1 | 49959 | 72 | 1.572.389 | < 2.2e-16 | *** |
| N | 3 | 51448 | 72 | 597.997 | < 2.2e-16 | *** |
| FF | 2 | 58569 | 72 | 1.457.890 | < 2.2e-16 | *** |
| Year:N | 3 | 44847 | 72 | 400.334 | 2,48E-12 | *** |
| Year:FF | 2 | 52897 | 72 | 1.043.046 | < 2.2e-16 | *** |
| N:FF | 6 | 43885 | 72 | 186.131 | 6,13E-10 | *** |
| Year:N:FF | 6 | 30801 | 72 | 91.781 | 1,86E-04 | *** |

Tabelle 22: Aligned Rank Transformation zur nicht-parametrischen faktoriellen Analyse der Erregerbelastung des Biomasseversuchs 2010 und 2011; Year = Jahr, FF = Fruchtfolge, N = Stickstoffintensitäten, FF:N = Interaktionen (Erreger *F. poae*)
F. poae 2010/11

| | Df | Sum Sq | Df.res | F value | Pr(>F) | |
|------------------|----|--------|--------|-----------|-----------|-----|
| Year | 1 | 32634 | 72 | 606.086 | 3,86E-08 | *** |
| N | 3 | 27774 | 72 | 153.274 | 8,28E-05 | *** |
| FF | 2 | 58761 | 72 | 1.475.485 | < 2.2e-16 | *** |
| Year:N | 3 | 10469 | 72 | 41.636 | 0.008900 | ** |
| Year:FF | 2 | 23309 | 72 | 172.727 | 7,46E-04 | *** |
| N:FF | 6 | 42363 | 72 | 174.784 | 2,28E-09 | *** |
| Year:N:FF | 6 | 15377 | 72 | 33.011 | 0.006309 | ** |

Wie in den Tabellen zu sehen, konnten auch für 2010 und 2011 signifikante Einflüsse und Interaktionen aller Anbausystemparameter nachgewiesen werden. Ein signifikanter Einfluss der Jahre auf den Erreger konnte im Gegensatz zur Auswertung der Erträge ebenfalls festgestellt werden. Auch die Interaktionen zwischen Anbausystemparametern und den Anbaujahren ist hoch signifikant.

Auswertung der Fruchtfolgen des Versuches 98

Wegen der in diesem Versuch zum Teil erheblichen Streuung innerhalb der Wiederholungen wurde auf eine statistische Auswertung der qPCR – Daten verzichtet. Die Befallswerte können daher nur als Tendenzen gewertet werden.

5. Diskussion

Durch den in den letzten Jahrzehnten stetig angestiegenen Flächenanteil der Maiskultur haben sich eine Reihe vormals nicht bekannter insbesondere phytopathologischer Probleme für den Maisanbau ergeben. Der Mais, der auch auf leichten Standorten wie den Regionen der Schleswig-Holsteinischen Geest, gute Anbaubedingungen vorfindet, verursacht inzwischen durch extreme Anbaudichten, nicht nur auf leichten Böden Probleme durch hohe Nitrat-Einträge in das Grundwasser. Auch Belastungen der Bodenstruktur durch späte Erntetermine bereiten Probleme. Pathogene Belastungen durch mykotoxinbildende Pilze bedrohen den Ertrag und vor allem die Qualität nicht nur der Futtermittel, sondern auch indirekt die der Weizen- und anderer Getreidebestände. Dies wird unter anderem durch die Ergebnisse zur Belastung des Silomais-Erntegutes mit *Fusarium*-DNA und Mykotoxinen unter 4.3.1 und 4.3.4 und ebenso durch die Arbeiten von Edwards, 2004, Bottalico und Perrone, 2002, und Logrieco et al., 2002 bestätigt. Die intensive Förderung der Biogas-Erzeugung gab dem Anstieg des Maisanbaus den letzten Anstoß zum „Biogas-Maisboom“ in Schleswig-Holstein und der gesamten Bundesrepublik.

Phytosanitäre Aspekte – in Form von Pathogenen wie *Kabatella zaeae*, *Exerohilum turcicum* und *Puccinia sorghi* (Syn. *P. maydis*) sowie des gesamten Komplexes der *Fusarium* spp. – spielen mehr und mehr eine Ertrag und Qualität bestimmende Rolle im Maisanbau, was die Vorliegende Arbeit und die Arbeiten von Jørgensen et al., 2012; Parry et al., 1995 und Logrieco et al., 2003 nachweislich belegen. Eine Vielzahl von Arbeiten zum Thema Fusarien- und Mykotoxinvermeidung und -verminderung auf Basis von Fungiziden sind in den letzten Jahren erarbeitet worden (Birr, 2013; Dietrichs, 2012; Urban, 2012; Beyer et al., 2006). Der Nationale Aktionsplan (NAP), die gemeinsame europäische Agrarpolitik (GAP) und nicht zuletzt das Pflanzenschutzgesetz (PflSchG 2012) fordern die Einhaltung der Grundsätze des Integrierten Pflanzenschutzes (Petzold, 2012; BMELV, 2010). Fungizide Wirkstoffe wie Prochloraz, Tebuconazol, Metconazol und Prothioconazol versprechen aus Erfahrungen im Weizen Erfolg in der Bekämpfung von *Fusarium*-pilzen und der Mykotoxinreduktion (Bartels und Rodemann, 2003; Beyer et al., 2006). Können angepasste, weitergestellte Anbausysteme mit und ohne

Zwischenfrüchten hierzu einen Beitrag leisten oder sogar den Einsatz von Fungiziden im Mais, wie in der Vergangenheit, gar nicht erst notwendig werden lassen? Die Notwendigkeit des Handelns gegen das Voranschreiten der Fusarienbelastungen im Mais, wie sie in dieser Arbeit nachgewiesen werden, ist nicht zuletzt wegen der höheren Gefahr stärkere Mykotoxingehalte auch im Weizen unumstritten. Zahlreiche *Fusarium* spp., die im Mais parasitieren, sind direkt oder indirekt auf den Weizen übertragbar (Birr, 2013; Edwards, 2004; Bottalico und Perrone, 2002; Logrieco et al., 2002). Die steigenden Belastungen im Silomais betreffen die Humanernährung also nicht nur indirekt über Viehfutter, sondern auch direkt über den Effekt auf die Weizenkulturen. Mykotoxinbelastungen unserer Nahrung können gravierende gesundheitliche Folgen haben (Blandino et al., 2009; Missmer et al., 2006; Logrieco et al., 2002; Dill-Macky et al., 2000).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, anhand von langjährig etablierten Fruchtfolge- respektive Anbausystemversuchen den Effekt von Anbausystemen mit Fruchtrotationen und Zwischenfrüchten gegenüber der Maismonokultur zu ergründen. Zudem sollten Effekte von ansteigenden Stickstoffintensitätsstufen sowie unterschiedlichen Bodenbearbeitungsregimen in den verschiedenen Anbausystemen (Fruchtfolgen und Monokulturregimen) auf die Maiskultur ermittelt werden. In den Bonituren der hier beschriebenen Arbeit wurde der gesamte am Versuchsstandort ermittelte Erregerkomplex qualitativ und quantitativ erfasst. Das Ziel der Arbeit war die mikrobiologische Erfassung des *Fusarium*-Erregerkomplexes und der hierdurch ermöglichten Auswertung der Versuchsvarianten in Bezug auf die phytosanitären Wirkungen von Anbausystemfaktoren speziell gegen Erreger der Gattung *Fusarium*. Die erfassten Daten sollen helfen, mögliche Vermeidungs- und Verminderungs-Strategien im Bereich der Fusariosen und den hiermit assoziierten Belastungen mit Mykotoxinen in der Maiskultur zu erarbeiten. Hierbei wurde ganz bewusst der Einsatz von Fungiziden nicht mit einbezogen, um die reinen Effekte von Rotationen, Zwischenfrüchten, Bodenbearbeitungen und Stickstoffintensitätsstufen zu interpretieren.

Im Folgenden werden die Ergebnisse zu den Fruchtfolge- und Anbausystemen des Biomasse- und des Fruchtfolgeversuches diskutiert. Aufgrund

unterschiedlicher Versuchsanlagen können Beziehungen und Effekte der beiden Versuchsanlagen (V112 und V98) nur bedingt miteinander verglichen und in Bezug zueinander gesetzt werden.

Witterung

Wie eingangs unter 4.1.1 aufgezeigt, wiesen die Versuchsjahre sehr unterschiedliche Witterungsverläufe auf. Schon bei den durchschnittlichen Temperaturen können die Jahre in drei Kategorien eingeteilt werden. Während das Versuchsjahr 2009 über die Saison in etwa durchschnittliche Temperaturen im Vergleich mit dem langjährigen Mittel aufwies, kann 2010 als überdurchschnittlich warm angesehen werden. Mit durchschnittlichen Temperaturen im Juli von 20,4°C lagen die Durchschnittstemperaturen zur, bzw. kurz vor der Maisblüte 2,3°C höher als für das langjährige Mittel bestimmt wurde. Für das Versuchsjahr 2011 schließlich, wurden einerseits gegenüber dem langjährigen Mittel sehr kühle Temperaturen gemessen, andererseits war es auch das Jahr mit den höchsten Niederschlägen, vor allem in der sensiblen Phase der Maisblüte. Die Temperaturoptima der *Fusarium* spp. variieren zum Teil erheblich. Die zur Vegetation herrschenden Temperaturen können das Auftreten verschiedener Arten fördern oder auch hemmen. (Brennan et al., 2005; Bottalico und Perrone, 1998; Cook und Christen, 1976). In Tabelle 11 und 12 ist über die prozentuale Standardabweichung ersichtlich, dass für die Monate Juli und August generell sehr große Unterschiede in den Niederschlagsmengen und den Temperaturen zu erwarten sind. Mansfield et al. (2005) wiesen hohe positive Korrelationen zwischen den Temperaturen zur Blüte und zur Abreife und den Deoxynivalenol-Gehalten (DON) im Erntegut nach. Die Witterung hat generell maßgeblichen Einfluss auf die Erregerentwicklung und auf die Entstehung von Epidemien (Papst et al., 2007; Mansfield et al., 2005; Doohan et al., 2003; Bottalico und Perrone, 2002). Wie unter 4.3.1 zu sehen, variierte das Artenspektrum über die drei Versuchsjahre zum Teil sehr stark, was auf die unterschiedlichen Witterungsbedingungen zurückzuführen ist und im Folgenden noch intensiv diskutiert wird.

Befalls-Bonituren

Die Bonituren während der Vegetationsphasen 2010 und 2011 wurden für alle im Mais bonitierbaren Pathogene durchgeführt, um eventuelle Effekte/Ertragseffekte im Kontext aller möglichen Einflussfaktoren zu betrachten. Mit 1 % bis maximal 6 % im Ausnahmefall, blieb der Befall mit Blattpathogenen in den Versuchsjahren auf den beiden Versuchsfeldern (V112 und V98) auf niedrigem Niveau, was nur sehr geringen und nicht signifikanten Einfluss auf die Ertragsentwicklung, aber auch auf den Befall von Fusariosen gehabt haben dürfte. Nistrup et al. (2012) wiesen signifikante Ertragseffekte ab 5 %-10 % befallener Blattfläche nach.

BSB > 5 % mit *K. zeae* wurden lediglich in der ungepflügten Mais-Monokultur bei 240 kg N/ha mit 6 % BSB bonitiert. In allen anderen Varianten variierte der Befall mit *K. zeae* zwischen 1 % und 4 % BSB. *Kabatiella zeae* war das einzige Blattpathogen, das im Versuch regelmäßig nachgewiesen werden konnte. Der Infektionskreislauf von *K. zeae* läuft ebenso wie der der *Fusarium* spp. über infiziertes Pflanzenmaterial aus den vorangegangenen Anbaujahren, welches auf der Fläche verbleibt (Nistrup Jørgensen, 2012; Papst et al., 2007; Arny et al., 1970). Daher können die Maßnahmen, die gegen *Fusarium* spp. wirksam sind, auch als wirksam gegenüber dieser Blattkrankheit angesehen werden. Hierfür spricht auch der Anstieg der *K. zeae* BSB in der ungepflügten Variante im Versuchsjahr 2011.

Für die Befallsstärke im Bestand (BSB %) wird die Blattflächenbedeckung mit nekrotisiertem, dem Pathogen zuzuordnenden, Gewebe in Prozent angegeben. Sobald eine Infektion mit *K. zeae* auftrat, war diese auf mindestens einem Blatt einer jeden Pflanze mit einigen wenigen Läsionen bonitierbar. Das heißt, die Befallshäufigkeit im Bestand (BHB %) erreichte sehr schnell 100 %, es blieb jedoch bei latentem Befall. Daher wurde für die Boniturgraphiken auf die BHB verzichtet und nur die BSB dargestellt.

Zu frühen Boniturterminen war ein eindeutiger Nachweis nur auf Fusariosen der zweiten unausgebildeten Kolben möglich. Auch Papst et al. (2007) bestätigen die schwierige visuelle Einstufung und Erkennung von Befall mit Kolbenfusariosen. Befallsstärken zu unterscheiden war hier nicht zielführend. Ohne Laboranalysen ist eine Differenzierung der *Fusarium*-Spezies nicht möglich (Nicolaisen et al., 2009). Für die Fusariosen wurde daher die Befallshäufigkeit im Bestand (BHB in %) für alle *Fusarium* spp. angegeben. Der teilweise starke

Anstieg zur letzten Bonitur ist auf die genauere Untersuchung der Hauptkolben zurückzuführen. Am letzten Termin zur Silomaisernte konnten die Lieschblätter der Pflanzen, die zur Beprobung vorgesehen waren, entfernt werden. Dadurch wurde vorher verdecktes Myzel erkannt. Eine Unterteilung in die *Fusarium* spp. war auch dadurch jedoch nicht möglich. Hierfür wird die Genanalyse – PCR/qPCR – benötigt (Nicolaisen et al., 2009). Die Bonituren konnten das allgemeine Erregerauftreten, und im Speziellen die Befallshäufigkeit im Bestand (BHB) wiedergeben. Hierdurch konnte eine Bewertung des gesamten Pathogenbefalls inklusive der Blattfleckenerreger erfolgen. Die unspezifisch bonitierten Befallshäufigkeiten im Bestand (BHB) konnten über die qPCR für eine große Mehrheit der Varianten bestätigt werden. Die Beziehung zwischen unspezifischer Bonitur (BHB in % befallener Pflanzen) zur Ernte und der durch qPCR ermittelten Daten werden mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,6638$ als relativ eng dokumentiert. Die bonitierten BHB können dennoch nur als Anhaltspunkt gesehen werden, da sie nicht spezifiziert werden können.

Fusarium spp. Artenspektrum

Es gibt viele Einflüsse, die das Auftreten von Fusariosen beeinflussen können. Die Intensität, aber auch das Auftreten der verschiedenen *Fusarium*-Spezies, also das Artenspektrum, wird, wie auch im Vergleich der Jahre 2009 bis 2011 unter 4.3.1 dargestellt, maßgeblich von der übergeordneten Umwelt-Einflussgröße Witterung bestimmt (Mansfield et al., 2005; Bottalico und Perrone, 2002). Für jedes Versuchsjahr ist eine deutliche Varianz der Anteile der einzelnen *Fusarium* spp. nachgewiesen worden. In den Versuchsjahren wurden hauptsächlich *F. graminearum* *F. culmorum* *F. poae* *F. avenaceum* *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* detektiert. Laut Levitin (2001), Bottalico und Perrone (2002), Waalwijk et al. (2004) und Nicolaisen et al. (2009) kommen auch noch die *Fusarium* spp. *F. langsethiae* und *F. tricinctum* in den Wirtskulturen in Nord- und Mitteleuropa vor. *F. graminearum* und *F. colmorum* sind offenbar die weltweit am häufigsten auftretenden *Fusarium* spp. (Boutigny et al., 2011; Vogelsang et al., 2009; Nicolaisen et al., 2003; Rosewich Gale et al., 2002; Dill-Macky et al., 2000). Im Versuchsjahr 2009, mit in etwa durchschnittlichen Temperaturen in der Vegetationsphase, dominierte *F. culmorum*, das, wie *F. poae* und *F. avenaceum*, an kühle Klimate besser angepasst ist als *F. graminearum* (Brennan et al., 2005;

Bottalico und Perrone, 1998; Cook und Christen, 1976). Die Monate Juni und Juli lagen ca. 0,5°C unter dem langjährige Mittel. Der August war mit durchschnittlich 17,8°C wärmer als das langjährige Mittel. Der Ausgangsbefall entwickelt sich auf den Stoppeln und Ernteresten der Vorjahre (Schlüter et al., 2011; Beyer et al., 2006; Edwards, 2004; Obst, 1997). Die maßgebliche Infektion der Kolben erfolgte hauptsächlich zur Blüte (Edwards, 2004, Reid et al, 1996), doch die infizierenden *Fusarium* spp. entwickelten sich auch in den Wochen vor der Blüte. Somit liegt der Schluss nahe, dass die Temperaturen auch im Zeitraum vor der Blüte einen Einfluss auf das Artenspektrum haben. Den Analysen folgend, haben die kühleren Temperaturen in den Monaten Juni und Juli die Dominanz von *F. culmorum* mitbestimmt.

Im Versuchsjahr 2010 ist, obwohl Juli und August überdurchschnittlich warme Monate waren, *F. poae* dominierend. *F. culmorum* stellt in dieser überdurchschnittlich warmen Versuchsperiode einen deutlich geringeren Anteil an der Gesamtpathogen-DNA zur Pflanzen-DNA als *F. graminearum*. Die Dominanz von *F. poae* über *F. graminearum* und *F. culmorum* steht im Kontrast zu den Aussagen von Brennan et al. (2005) und Kosiak et al. (2003), wonach *F. culmorum* und *F. poae* gleiche Temperaturansprüche haben. Kosiak et al. (2003) erwähnen jedoch auch eine weite Verbreitung von *F. poae* in den kontinentaleren Regionen Frankreichs. Die geringeren Temperaturansprüche von *F. poae* (Brennan et al., 2005) könnten auch zur Abreife im September 2010, mit etwas unter dem Durchschnitt liegenden Temperaturen ($\bar{\varnothing}$ 13,2°C), die hohen Befallsstärken im Bestand (BSB in % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA) begünstigt haben. *F. graminearum*, das vermehrt in wärmeren, kontinentalen Klimaten (Büttner, 2006; Shah et al., 2005), aber auch in den milderen Klimaten Mittel- und Nordeuropas vorkommen kann, profitierte im Versuchsjahr 2010 im Vergleich zu 2009 von durchschnittlichen Temperaturen von 20,4°C im Juli und weiterhin hohen durchschnittlichen Temperaturen von 17,2°C im August, auch wenn das Optimum von 25-30°C im Durchschnitt nicht erreicht wurde (Bottalico und Perrone, 1998; Cook und Christen, 1976). Die vorliegenden Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass das *Fusarium*-Artenspektrum nicht allein durch die Witterung zur Blüte maßgeblich beeinflusst wurde und wird, sondern dass komplexe Witterungseinflüsse während der gesamten Vegetation epidemiebestimmend sein können. Neben der Witterung haben ackerbauliche

Management-Systeme einen Einfluss auf das Inokulum und dabei nicht nur auf die Menge, sondern auch auf die Artzusammensetzung (Schlüter et al., 2011; Schlüter et al., 2006).

Edwards (2004) stellte heraus, dass auch die Anbausysteme, wie Fruchtfolge, Sortenwahl, Bodenbearbeitung und Stickstoffdüngung die Fusariosen beeinflussen, auch die vorliegende Arbeit stützt diese Theorie. Die Befallsstärken der Stickstoffintensitätsstufen und der unterschiedlichen Anbausysteme zeigten starken Einfluss auf das Artenspektrum. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Schweyda (1996) und Dohan et al. (2003). Wakelin et al. (2008) konnten eindeutige Zusammenhänge von in Stoppeln enthaltenen *Fusarium* spp. und im Boden nachgewiesenen Fusarien-Gesellschaften nachweisen. Die konsequent wendende Bodenbearbeitung kann den Anteil am Inokulum von *Fusarium* spp. wie *F. graminearum* vermindern, da diese im Boden nicht so gute Überlebenschancen haben, wie *F. culmorum*, das auch im Boden Perithetien bilden kann (Schlüter et al., 2006). Schlüter et al. (2006) haben für *F. culmorum* auch bodenbürtige Infektionen in die Wurzeln der Maispflanze festgestellt. Von hier aus kann systemisches Wachstum erfolgen (Schlüter et al., 2011; Schlüter et al., 2006). Dies kann ein Grund für die Dominanz von *F. culmorum* in den Versuchsjahren 2009 und 2011 sein.

Die Stickstoffdüngung jedoch hatte in den von Wakeling et al. (2008) durchgeführten Versuchen keinen Einfluss auf vermehrtes oder vermindertes Auftreten von *Fusarium*-Spezies. Dem entgegen stehen die im Pflanzen-Material des Silomaises der Versuchsflächen (V112 und V98) ermittelten, unter verschiedenen Stickstoff-Düngeregimen variierenden Gehalte an Gesamt-Pathogen-DNA und die in den Stickstoffintensitätsstufen veränderlichen Artenspektren. Bei veränderter Nährstoffverfügbarkeit können einzelne Spezies begünstigt werden, oder verlieren an Konkurrenzkraft. Dohan et al. (2003) kamen auch zu dem Schluss, dass die unterschiedlichen Konkurrenzigenschaften der *Fusarium* spp. das Artenspektrum mitbestimmen. So konnten auch im Silomais der Maismonokultur in den Versuchsjahren 2010 und 2011 (4.3.1 ff) in den Varianten mit 0 kg N/ha sechs verschiedene *Fusarium* spp. nachgewiesen werden. Hierbei handelte es sich um die Spezies *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum* und *F. equiseti*, *F. sporotrichioides*. In den Varianten mit 80-240 kg N/ha konnten meistens nur die vier *Fusarium* spp. *F. graminearum*,

F. culmorum, *F. poae* und *F. avenaceum* sicher ermittelt werden. Hieraus ergibt sich, dass bei höherer Stickstoffversorgung das Artenspektrum eingeschränkt wird. Ein eingeschränktes Artenspektrum könnte sich steigend auf die Pathogen-DNA-Summe der noch verbliebenen *Fusarium* spp. auswirken.

Jedes der Versuchsjahre wies charakteristische Artenspektren auf. Die Anbausystemfaktoren wie Stickstoffdüngung und Fruchtfolge hatten zum Teil Gesamt-Pathogen-DNA reduzierende oder auch einzelne Arten unterdrückende Wirkungen. Wie in den Arbeiten von Mansfield et al. (2005) und Bottalico und Perrone (2002) herausgestellt, bedingte die Witterung das Artenspektrum am Versuchsstandort Hohenschulen ebenfalls mit deutlicher Dominanz. Das Artenspektrum zeigt in den einzelnen Pflanzenteilen von den Werten der Ganzpflanze, bzw. denen des Silomaiserntegutes, variierende Anteile.

Anbausystemvarianten

Durch Kulturmaßnahmen wie sie in den vorliegenden Anbausystemversuchen untersucht wurden, können die Umweltbedingungen der Kulturpflanzen erregereförderlich oder erregerehemmend beeinflusst werden, da die Infektionen der Fusariosen eben auch vom befallenen Stoppelmateriale der Vorkultur ausgehen (Papst et al., 2007; Mansfield et al., 2005; Edward, 2004; Obst, 2002, Dill-Macky und Jones, 2000).

Aufgrund der unterschiedlichen Art des Versuchsaufbaus war die Biomasse-Versuchsanlage (V112) deutlich besser geeignet, Fruchtfolgewirkungen auf die Pflanzengesundheit zu ermitteln. Die sehr kleinen und dicht beieinander gelegenen Teilparzellen des Fruchtfolgeversuches (V98) ermöglichten es den potentiellen Erregern, nahegelegene Parzellen zu infizieren. Zahlreiche *Fusarium* spp. sind in der Lage durch Ascosporen-Zuflug weite Distanzen zu überbrücken (Schlüter et al., 2011; Papst et al., 2007; Trail et al., 2005; Gilbert und Fernando, 2004). Der Infektionsdruck einer maximal mit Stickstoff versorgten Parzelle kann die zum Teil direkt benachbarte Null-Parzelle stark beeinflussen. Papst et al. (2007) sprechen von Sekundärinfektionen zum Zeitpunkt der Maisblüte aus bestehenden Infektionen im nahen Bestand.

In der Biomasse-Versuchsanlage realisierten die Parzellen mit 10 m x 12 m einen deutlich größeren Abstand der Pflanzen, die zur Bonitur und zur Beprobung herangezogen werden sollten, zu den Pflanzen der nächsten Variante (Parzelle).

Daher liegt der Fokus der Diskussion auf den Ergebnissen der Biomasseversuchsanlage (V112). In diesem Versuch konnten signifikante Effekte für die Fruchtfolgewirkung sowie Stickstoffintensitäten nachgewiesen werden.

Einfluss der Anbausysteme auf den Silomais

In Kapitel 4.3.3.1 sind die Befallsstärken der Silomaisfraktionen der drei Versuchsjahre dargestellt. Der Einfluss der zweigliedrigen Fruchtfolgen mit unterschiedlichem Zwischenfruchtanbau konnte in jedem Jahr für deutlich geringere Befallsstärken im Silomais-Erntegut dokumentiert werden.

Im Durchschnitt der Stickstoffvarianten von 0 kg N/ha - 240 kg N/ha und der aufsummierten Belastungen aller Fraktionen (Tab.14) konnte, vergleichend zur Mais-Monokultur, für die zweigliedrige Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras als Zwischenfrucht eine Reduktion von 85,9 % und für die zweigliedrige Fruchtfolge mit Senf als Zwischenfrucht eine Reduktionen von durchschnittlich 65,9 % der unspezifischen Befallswerte ermittelt werden. Für die Fraktion 4, welche 60 % bis 80 % der Gewichtsanteile der Gesamtpflanze stellt, wurden Reduktionen für die zweigliedrige Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras von 81,6 % und für die mit Zwischenfrucht Gelbsenf von 61 % ermittelt. Die Befallsminderungen sind aber auch in Bezug zu den geringeren Ertragspotentialen der zweigliedrigen Fruchtfolgen zu setzen. Das unter phytosanitären Gesichtspunkten beste Anbausystem muss nicht zwangsläufig die besten Erträge bringen. Kommt es jedoch zu massiven Ertragsdepressionen aufgrund von langjähriger Monokultur so können phytosanitäre Anbausysteme helfen, die Erträge wieder zu sichern. Es bleibt jedoch auch die Möglichkeit, erweiterte Fruchtfolgen und nachhaltige Anbausysteme einzusetzen, bevor die Bodenfruchtbarkeit ermüdet und massive Ertrags- und Qualitätsverluste drohen.

Auch wenn die *Fusarium* spp. als plurivore Erreger sowohl den Mais als auch den Weizen potentiell parasitieren können (Birrr, 2013; Nicolaisen et al. 2009; Flett et al. 1998), konnten diese zweigliedrigen Fruchtfolgen die mittels qPCR-ermittelten Befallswerte (BSB in %) deutlich reduzieren. Freyer (2003) schreibt, dass der Anbau von Zwischenfrüchten durch Förderung von Antagonisten den Sporenvorrat unmittelbar reduzieren kann. Die Förderung des Bodenlebens kann den Abbau

von *Fusarium* Inokulum beschleunigen (Wolfrat, et al., 2011; Schrader et al., 2010; Oldenburg, 2002). Die häufigere Bodenbearbeitung für den Zwischenfruchtanbau kombiniert mit der Belebung des Bodenlebens durch die Zwischenfrüchte, scheint zu einem schnelleren Abbau des *Fusarium*-Inokulums geführt zu haben. Einfache konsequente Pflugbodenbearbeitung – wie in den Maismonokultur-Parzellen des Biomasseversuchs (V112) – vergräbt das belastete Stoppelmateriale, ermöglicht dadurch Infektionen über die Wurzel und wird bei der nächsten wendenden Bodenbearbeitung wieder an die Oberfläche gebracht, von wo neue Infektionen ausgehen können (Schlüter et al., 2011; Dill-Macky und Jones, 2000). Schlüter (2011) beschreibt den die Rotte fördernden und damit das Inokulum verringern Einfluss von Stickstoffgaben nach Winterweizen. In der zweigliedrigen Fruchtfolge mit Gelbsenf als Zwischenfrucht steht nach dem Abfrieren des Senfes im Frühjahr der Stickstoff aus dem Gelbsenf zur Förderung der Rotte zur Verfügung. Auch regt das vorhandene organische Material das Bodenleben und damit auch die Tätigkeit von Regenwürmern an. Regenwürmer sind maßgeblich an der Umsetzung der Organischen Substanz und damit auch an der Zersetzung von Inokulum beteiligt (Wolfrath et al., 2011; Freyer, 2003). In Laborversuchen wurde nachgewiesen, dass Regenwürmer bevorzugt mit *Fusarium*-DNA belastete Stoppelreste in ihre Gänge ziehen, und dadurch zum beschleunigten Abbau des infektiösen Stoppelmaterials beitragen (Wolfrat, et al., 2011; Schrader et al., 2010). Ein ähnlicher die Rotte fördernder Einfluss kann für die zweigliedrige Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras angenommen werden. In der Zwischenfrucht Welsches Weidelgras wird eine zusätzliche Stickstoffdüngung, die den Entzug über die Nutzung des Welschen Weidelgrases kompensieren soll, ebenso einen günstigen Effekt auf die Rotte und das Bodenleben haben, wie der aus dem Gelbsenf frei werdende Stickstoff.

Auf Kulturpflanzen kann der Einsatz von Stickstoff jedoch auch einen pathogenfördernden Effekt haben (Edwards, 2004). Stickstoffdüngung steigert den Befall von Pathogenen wie *Fusarium* spp.. Hierbei haben auch die Stickstoffformen unterschiedlich starken, pathogenfördernden Einfluss (Edwards, 2004; Riem, 1981). Ammonium-Nitrat-Dünger beeinflussen die Pathogenentwicklung stärker als andere Darreichungsformen (Edwards, 2004). Im Versuch wurden alle Parzellen einheitlich und ausschließlich mit Kalk-Ammonsalpeter (KAS) gedüngt. Der Einsatz von organischem Dünger kombiniert mit

synthetischen Düngern führt zu verbesserter Bodenqualität und aktivem Bodenleben und kann die Pathogenabwehr der Kulturpflanzen stärken (Edwards, 2004; Bulluck et al., 2002; Bulluck und Ristaino, 2001). Es kann davon ausgegangen werden, dass durch den Zwischenfruchtanbau ein vergleichbarer Effekt auf die Bodenaktivität erreicht werden konnte, wie ihn Edwards (2004) und Bullock et al. (2002) durch organische Düngung beschrieben haben.

Einfluss der Stickstoffdüngung

Bulluck und Ristaino (2001) beschreiben Befallsanstiege von Pathogenen (wie auch *Fusarium* spp.) durch Pflugbodenbearbeitung und rein synthetischer Düngung im Vergleich zur intensiv gestalteten organischen Düngung. Organische Düngung mit kompostierter Tierdung kann unterdrückende Effekte auf eine Vielzahl bodenbürtiger Pathogene (inklusive *Fusarium* spp.) besitzen, während synthetischer Stickstoffdünger einen befallssteigernden Effekt aufweisen kann (Bulluck et al., 2002; Bulluck und Ristaino, 2001; Mutitu et al., 1988). Dem widersprechend konnten Lemmens et al. (2004) keine signifikanten Effekte der Art der Stickstoffdüngung auf die Entwicklung von *Fusarium* spp. im Weizen feststellen. Sie konnten jedoch signifikant mehr befallene Ähren (Taubährigkeit / *Fusarium*-Head-Blight / FHB) bei steigenden Stickstoffintensitäten von 0 kg N/ha auf 80 kg N/ha nachweisen. Veresoglou et al. (2013) und Lemmens et al. (2004) bestätigen positive Korrelationen zwischen Stickstoffdüngung und Pathogenbefallsintensität. Sie wiesen jedoch auch auf charakteristische und Kultur bzw. pathogenspezifische Variabilität hin.

Über alle Fruchtfolgevarianten der beiden Versuchsanlagen (Biomasse V112 und Fruchtfolge V98) ließ sich zumindest für die drei Hauptpathogene am Standort *F. graminearum*, *F. culmorum* und *F. poae* eine eindeutig mit der Stickstoffintensität ansteigende Belastung mit *Fusarium* spp.- DNA nachweisen. Dies galt sowohl für die Ganzpflanze, bzw. für die zusammengefassten Silomaisfraktionen, als auch für die einzelnen Pflanzen-Teilfraktionen. Diesem in der vorliegenden Arbeit nachgewiesenen signifikanten Einfluss der Stickstoffdüngung auf den Befall mit *Fusarium* spp. in der Maiskultur steht die Aussage von Lemmens et al. (2004) gegenüber, dass die Stickstoffdüngung zwar einen Einfluss auf den Grad des *Fusarium*-Befalls hat, im Weizen jedoch kein geeignetes Mittel zur Bekämpfung der Taubährigkeit (*Fusarium*-Head-Blight =

FHB) darstellt. Dies ist vor dem Hintergrund zu sehen, dass die Anstiege des Befalles in den Versuchen von Lemmens et al. (2004) in den niedrigen Stickstoffintensitätsstufen nachgewiesen wurden. Ab 80 kg N/ha stagnierten Befallswerte und DON-Kontamination auf festem Niveau (Lemmens et al. 2004). Das Versuchsergebnis von Lemmens et al. (2004) muss, bei Betrachtung der Fusariosen-Entwicklung in den 80 kg N/ha - 360 kg N/ha-Varianten des Mais aus der vorliegenden Arbeit, kritisch bewertet werden. Für den Mais scheinen vom Weizen differierende Pathogenentwicklungen im Pflanzengewebe vorzuliegen. Veresoglou et al. (2013) arbeiteten heraus, dass für eine große Mehrheit der Kulturpflanzen und pilzlichen Pathogene mit gesteigerter Stickstoffdüngung auch ein Anstieg der Pathogenbelastung einherging. Sie konnten jedoch auch charakteristische Ausnahmen hiervon beobachten. Somit ist nicht starr von einer Kulturart auf die andere der Einfluss der Stickstoffdüngung übertragbar. In den Varianten der vorliegenden Arbeit korrelierte der Pathogenanstieg gerade in den intensiven Stickstoffvarianten von 160-240 kg N/ha, bzw. 360 kg N/ha.

Hohe Stickstoffgaben führen unter anderem zu einer längeren Vitalität der Maispflanzen. Dies ist auch in den Bonituren der Versuchsjahre 2010 und 2011 anhand der Verläufe der Nekrosen für diesen Versuch dokumentiert. Der Effekt von Azoxystrobin, einem Fungizid der Gruppe der Strobilurine, welche neben der fungiziden Wirkung für den sogenannten „Greeningseffekt“ bekannt sind, verzögert ebenfalls die Abreife der Pflanzen (Greening). Simpson et al. (2001) und Jennings et al. (2000) wiesen in einer Reihe von Feldversuchen Steigerungen der DON-Gehalte in den Proben nach der Behandlung mit Azoxystrobin nach. Ob diese Steigerungen aufgrund von Stresseinwirkung auf die Fusarien (Jennings et al., 2000), die Reduzierung von konkurrierenden Pathogenen (Edwards, 2004) oder auf die verzögerte Abreife und die dadurch verlängerte Zeitspanne der Mykotoxinbildung im Pflanzengewebe zurückzuführen ist, bleibt noch in zukünftigen Versuchen zu klären. Denkbar ist jedoch, und das ist für die vorliegende Arbeit von Bedeutung, dass die verlängerte Vegetation zur Vermehrung von Pathogen-DNA, also der Befallsstärke im Bestand (BSB), und letztlich auch zur Anreicherung von Mykotoxinen führen kann. Auch kann ein genereller, fördernder Einfluss der Stickstoffdüngung auf die Pathogenentwicklung auf der Grundlage der Arbeiten von Veresoglou et al. (2013), Lemmens et al.

(2004), Bulluck et al. (2002), Bulluck und Ristiano (2001) und Mutitu et al. (1988) als anwendbar gelten. Ob die verzögerte Seneszenz der intensiv mit Stickstoff versorgten Pflanzen allein, oder überhaupt einen Einfluss auf die zum Teil erheblich gesteigerten Befallsstärken (BSB) hatte, muss in weiteren Arbeiten noch geklärt werden. Vor dem Hintergrund phytosanitärer Aspekte und der Berücksichtigung von N-min-Gehalten, sollte eine ausgewogene Stickstoffdüngung im Bereich 80 kg N/ha - 120 kg N/ha gewählt werden. Mit dieser Menge wurde am Standort Hohenschulen das genetisch fixierte Optimum der Pflanzen erreicht, und gleichzeitig eine signifikante Reduzierung der Erregerbelastungen bewirkt.

Zwischenfrüchte

Der Anbau von Zwischenfrüchten hat eine Reihe von pflanzenbaulichen Hintergründen. Neben diesen haben Zwischenfrüchte jedoch auch unterschiedliche phytosanitäre Effekte.

Freyer (2003) schreibt, dass der Anbau von Zwischenfrüchten durch Förderung von Antagonisten den Sporenvorrat unmittelbar reduzieren kann. Auch in den Varianten der zweigliedrigen Fruchtfolgen mit Zwischenfrüchten (V112) konnte durch die Förderung des Bodenlebens der Abbau von *Fusarium* Inokulum beschleunigt werden, wie Wolfrat, et al. (2011), Schrader et al. (2010), und Oldenburg, (2002) es beschreiben. Die häufigere Bodenbearbeitung für den Zwischenfruchtanbau, kombiniert mit der Belebung des Bodenlebens durch die Zwischenfrüchte, scheint zu einem schnelleren Abbau des *Fusarium*-Inokulums geführt zu haben.

Fruchtfolge / Fruchtfolgeversuch (V98)

Die räumliche und/oder zeitliche Trennung von ein und derselben Kulturpflanze, bzw. von verwandten Arten, die von den gleichen Erregern parasitiert werden, ist die Grundlage der phytosanitären Fruchtfolgewirkung (Freyer, 2003). Dies stellt den Wert der phytosanitären Fruchtfolgewirkung der Versuchsanlage V98 in Frage. Die Fruchtfolgewirkung ist unter Einfluss von Anbausystemen bereits diskutiert worden. Hier soll jedoch noch einmal auf den Fruchtfolgeversuch (V98) eingegangen werden. Die Einhaltung mehrgliedriger Fruchtfolgen bewirkt pflanzenstärkenden und pathogenmindernden Einfluss über die mehrjährige

Abwesenheit bestimmter Kulturpflanzen und der mit ihnen verwandten Arten. Mehrgliedrige und mehrjährige Fruchtfolgen können den Erregerdruck auf einzelne Kulturen maßgeblich senken (Freyer, 2003). In den beiden viergliedrigen Versuchsvarianten (V98) konnte auch ein Effekt auf den Befall der Frequenz der wendenden Bodenbearbeitung zugeschrieben werden. Die stärker belasteten Parzellen der Fruchtfolge mit Erbsen und einmaliger wendender Bodenbearbeitung nach dem Mais, kann durch die, bis dahin nicht restlos zersetzten, Weizenstoppel erklärt werden (Papst et al., 2007; Mansfield et al., 2005; Edward, 2004; Obst, 2002, Dill-Macky und Jones, 2000).

Es können jedoch auch Effekte höherer Stickstoffverfügbarkeit über die Erbsen und die direkte Vorfrucht Raps einen Anteil an der Befallsentwicklung gehabt haben. Die Freisetzung des gebundenen Luftstickstoffes aus Leguminosen kann mehr als drei Folgefrüchte beeinflussen (Freyer, 2003).

Die Versuchsanlage des Fruchtfolgeversuches (V98) war wegen der kleinräumigen Parzellen-Anlage nicht gut geeignet, Fruchtfolgewirkungen auf Fusariosen zu zeigen. Auch Freier (2003) beschreibt den pathogenfördernden Einfluss angrenzender Flächen. Aufgrund der deutlich höheren Belastungen der Maispflanzen in diesem Versuch, kann eine Infektion auch durch benachbarte, maximal mit Stickstoff versorgte, Parzellen nicht ausgeschlossen werden. Ebenfalls problematisch muss die direkte Nachbarschaft zu Weizen- und Gerstenparzellen gesehen werden (Freyer, 2003). Von Beeinflussung anderer Parzellen gänzlich freie Versuchsanlagen sind für den Bereich Fruchtfolgewirkung auf Pathogene wahrscheinlich nicht realisierbar, jedoch gewährleistet eine großräumige Versuchsanlage wie der Biomasseversuch (V112) eine wesentlich größere Ergebnissicherheit.

Verteilung der *Fusarium* spp. in der Pflanze

Die Befallsstärke (BHB) des Hauptkolbens hat den mit Abstand größten Einfluss auf die Belastung des gesamten Maiserntegutes. Dies liegt an dem Gewichtsanteil dieser Fraktion von 60 % - 80 % der Gesamtpflanze. Der zweite, unausgebildete Kolben wies zwar in einer großen Mehrheit der Proben die höchsten Pathogen-DNA-Gehalte auf, hat aber, aufgrund des sehr geringen Gewichtsanteils, auf das Erntegut keinen oder nur marginalen Einfluss. Da dieser Kolben als erstes

Pflanzenteil sichtbare Symptome zeigt, kann davon ausgegangen werden, dass – wie in den Versuchen beobachtet – von hier Sekundärinfektionen auf benachbarte Pflanzen oder höher inserierte Pflanzenteile möglich sind (Papst et al., 2007).

Die Infektion der Folgekultur geht von den auf dem Feld verbleibenden Stoppeln und den Ernterückständen aus (Schlüter et al., 2011; Wakelin et al., 2007; Beyer et al., 2006; Edwards, 2004; Mansfield et al., 2005; Obst, 1997). Die Belastung der unteren 20 cm - 30 cm der Maispflanzen beeinflusst zwar nicht das Erntematerial und damit auch nicht die Qualität des Futtermittels oder des Gärsubstrates, es ist jedoch das Ausgangsmaterial/Inokulum für die folgenden Kulturen. Wie die Abbildungen unter 4.3.2.2 zeigen, haben sowohl die Anbausysteme als auch die Stickstoffintensitätsstufen bedeutenden Einfluss auf die Infektion der Stoppel mit *Fusarium* spp.. Das gesamte Artenspektrum der Fusariosen am Standort Hohenschulen findet sich in den Stoppeln. Von hier stellt es die Grundlage neuer Epidemien (Wakelin et al., 2007; Mansfield et al., 2005; Edwards, 2004; Obst, 1997).

Bodenbearbeitung

Zur Beeinflussung der Fusariosen müssen Bodenbearbeitungssysteme, wie sie im Versuchsjahr 2011 untersucht wurden (4.3.2.2 – Bodenbearbeitung in der Maismonokultur; Abb. 47), in die Strategie mit einbezogen werden (Schlüter et al., 2011; Beyer et al., 2006; Edwards, 2004; Obst, 1997). Auch Wakelin et al. (2007) betonen den Einfluss von Stoppeln und Vorfruchtresten der Fusarien-Wirtspflanzen für den Gehalt von Fusarien-DNA im Boden und sehen die Notwendigkeit der Integration eines sinnvollen Stoppelmanagements, da gerade Kulturen wie der Mais starken Einfluss auf Quantität und Qualität der Besiedelung des Bodens mit *Fusarium* spp. haben. Dill-Macky und Jones (2000) haben gezeigt, dass pfluglose Bodenbearbeitung nach Mais oder Weizen signifikant erhöhte DON-Werte in der Folgefrucht verursachen kann, was für den Mais auch in dieser Arbeit bewiesen wurde. Direkt gesäter Weizen (no till) nach Mais kann im Vergleich mit der Saat nach Pflugbodenbearbeitung sogar zehnfach erhöhte DON-Gehalte aufweisen (Obst et al., 1997). Dem gegenüber steht die Aussage von Flett und Wehner (1991), wonach in den von den Autoren durchgeführten Versuchen zwar Einfluss der Pflugbodenbearbeitung auf *Stenocarpella* spp. im

Mais nachgewiesen werden konnte, *Fusarium* spp. sich jedoch unabhängig von der Bodenbearbeitung in der Mais-Monokultur entwickeln konnten. Dieses Ergebnis kann eventuell mit dem Fehlen von notwendiger Versuchstechnik (qPCR) erklärt werden. Im Versuchsjahr 2011 wurden verfügbare Maismonokultur-Parzellen, die in den Vorjahren wendender Bodenbearbeitung unterzogen wurden, erstmals reduzierter Bodenbearbeitung ausgesetzt. Das heißt, dass die Maisstoppeln des Vorjahres zwar leicht mit dem Grubber eingearbeitet wurden, jedoch nicht wie in den Vorjahren gänzlich mit Boden bedeckt waren (Abb. 47 unter 4.3.2.2). Die Effekte auf die Befallsstärke in % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA waren deutlich. Wie Dill-Macky und Jones (2000) und Obst (1997) anhand der DON-Werte in den Folgefrüchten nach Mais gezeigt haben, konnte auch mit der vorliegenden Arbeit ein vergleichbarer Effekt über die gestiegenen Fusarien-DNA-Gehalte nachgewiesen werden.

Die Bodenbearbeitung kann auch auf die Artenzusammensetzung der *Fusarium* spp. im Boden und damit potentiell auch auf das Spektrum in den folgenden Kulturen Einfluss nehmen (Wakelin et al. 2007). *F. graminearum* überdauert nicht so persistent im Boden wie *F. culmorum*, weshalb *F. culmorum* durch konsequentes Pflügen nach jeder Wirtskultur (z.B. Weizen oder Mais) im Vergleich zu *F. graminearum* gefördert wird (Schlüter et al., 2011). Gelangen Maisstoppel nach der Ernte oder vor der erneuten Mais-Aussaat im Frühjahr mit dem Pflug in tiefere Bodenschichten, so wird die Rotte verlangsamt. Beim nächsten Pflügen gelangt infiziertes Detritus der Vorkulturen mit einer Vielzahl aktiver Dauersporen in die aktuelle Aussaat und kann direkt über die Wurzel oder über Ascosporen die höher inserierten Pflanzenteile infizieren (Schlüter et al., 2011; Papst et al., 2007; Schlüter et al., 2016; Mansfield et al., 2005; Edwards, 2004). Dies, kombiniert mit der Wirkung der Zwischenfrüchte und der geringeren Persistenz von Weizenstoppeln im Vergleich zu Maisstoppeln, kann auch die deutlich höheren Belastungen der Mais-Monokultur im Biomasseversuch (V112) im Vergleich zu den zweigliedrigen Fruchtfolgen mit Zwischenfruchtanbau erklären.

Mykotoxingehalte

Fusarium Spezies, die im Mais Kolben- und Stängelfäule und die hiermit assoziierten Mykotoxinbelastungen im Mais verursachen, tragen nicht nur zu Gesundheitsproblemen in der Viehhaltung (Blandino et al., 2009) bei, sondern

können auch zu Belastungen der Humanernährung führen (Missmer et al., 2006; Yoshizawa et al., 1994)

Fusarium spp. sind in der Lage, eine Vielzahl von warmblütertoxischen Mykotoxinen zu bilden (Logrieco et al., 2002). Auch wenn die A-Trichothecene T-2 Toxin, Neosolaniol und Diacetoxyscripenol als die giftigsten Mykotoxine gelten, (Torp und Langseth, 2000) sind aufgrund des starken Vorkommens von *F. graminearum* (Dill-Macky et al., 2000; Rosewich Gale et al., 2002; Vogelsang et al., 2009) die Mykotoxine Deoxynivalenol und Zearalenon die bedeutendsten Mykotoxine. Die in den Silomaispflanzen gefundenen Mykotoxine Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZEA) stammen meist von *F. graminearum* (Logrieco et al., 2002; Yoshizawa et al., 1994). Auch *F. culmorum* ist in der Lage DON und ZEA zu produzieren. Mit den Daten des Versuchs ist eine Korrelation der Pathogen-DNA-Gehalte aller *Fusarium* spp. zu den DON- und ZEA-Gehalten nachgewiesen worden, obwohl nicht alle Spezies in der Lage sind, DON und ZEA zu bilden. Da Mykotoxine wie das Deoxynivalenol als Virulenzfaktoren in der Pathogenese fungieren (Poppenberger et al., 2003), ist nicht auszuschließen, dass die Anwesenheit anderer *Fusarium* spp. die DON und ZEA bildenden Spezies *F. graminearum* und *F. culmorum* zu vermehrter Mykotoxinbildung anregt.

Beim Auftreten von *F. poae* und *F. sporotrichioides* wurde oft T-2 Toxin gefunden. Belastungen durch *F. avenaceum* und *F. subglutinans* führen gewöhnlicherweise zu Anreicherungen von Moniliformin (Logrieco et al., 2002; Blandino et al., 2009). Diese Mykotoxine wurden für den Versuch nicht analysiert und daher auch nicht nachgewiesen. Aufgrund der Ergebnisse der genannten Autoren, ist jedoch mit einer weiteren Belastung des Probenmaterials zu rechnen. Auch Vogelsang et al., 2009 gehen davon aus, dass die Belastung von Probenmaterial mit *F. poae* und *F. avenaceum* mit Mykotoxinen wie Moniliformin und/oder mit Nivalenol kontaminiert sein können. Die Belastung der Proben des Versuches muss anhand der Mykotoxine DON und ZEA erfolgen. ZEA ist das am weitesten verbreitete Mykotoxin in Agrarprodukten allgemein und kann oft auch in sehr hohen Konzentrationen im Mais nachgewiesen werden (Nicolaisen et al., 2009; Logrieco et al., 2002; Logrieco et al., 2001). Für DON ist eine tolerierbare tägliche Aufnahme von maximal 1 µg/kg Körpergewicht festgesetzt worden (WHO/FAO), für unverarbeitete Rohstoffe wie Maissilage gilt ein Richtwert von 1750 µg/kg DON und 350 µg/kg ZEA. Ebenso wie die Autoren berichteten, konnte auch in diesem

Versuch in einer großen Mehrheit der Proben ZEA, aber auch DON nachgewiesen werden, wobei die Werte für ZEA weniger stark schwankten, und wie die Grenzwerte vermuten lassen, auch meist niedriger lagen als die Analysewerte für DON. Veresouglou et al. (2013) und Lemmens et al. (2004) bestätigen positive Korrelationen zwischen Stickstoffdüngung und Pathogenbefallsintensität. In den Abbildungen 53 und 54 sind zunächst die Beziehungen zwischen der Befallsintensität in Pathogen-DNA in % zur Pflanzen-DNA und den Mykotoxinbelastungen dargestellt. Für DON in der Mais-Monokultur konnte im Versuchsjahr 2011 eine etwas höhere Korrelation mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,9335$ bestimmt werden als für die ZEA-Werte, für die ein Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,8643$ ermittelt werden konnte. Diese hohen Übereinstimmungen von Befallsstärke im Bestand und damit assoziierter Mykotoxinbelastung werden auch durch die Ergebnisse von Papst et al. (2007) und Reid et al. (1996) bestätigt. Die Autoren konnten positive Korrelationen für die Befallsstärke im Bestand (BSB hier durch Bonitur ermittelt) mit der DON-Belastung des Erntegutes mit Bestimmtheitsmaßen von $R^2 = 0,8$ bis $R^2 = 0,92$ berechnen. Die Werte von Papst et al. (2007) und Reid et al. (1996) ergaben sich allerdings aus Bonituren im Bestand und mit HPLC gemessenen DON-Gehalten. Die positiven Korrelationen zwischen BSB in % *Fusarium*-DNA zur Pflanzen-DNA und der Mykotoxinbelastung in $\mu\text{g}/\text{kg}$ DON und ZEA, vor dem Hintergrund der ansteigenden Stickstoffintensitätsstufen, zeigen, dass die Mykotoxingehalte stark mit den Anbausystemen beeinflusst werden können. In den Abbildungen 55 und 56 zeigen auch die Korrelationen von Stickstoffintensität und Mykotoxinbelastung mit $R^2 = 0,7797$ (DON zu $\text{kg N}/\text{ha}$) und $R^2 = 0,8993$ (ZEA zu $\text{kg N}/\text{ha}$) den großen Einfluss der Stickstoffdüngung auf die Mykotoxinbelastung, den Veresouglou et al. (2013) und Lemmens et al. (2004) indirekt über die Beziehung von Düngung und von Befall aufgezeigt haben. Anhand der Mykotoxinbelastungen des Silomaiserntegutes der Mais-Monokultur (2011), die über alle Versuchsjahre kontinuierlich die höchsten Befallswerte aufwiesen (Abb. 51, 52), ist eine Steigerung der Mykotoxinbelastungen von $160 \text{ kg N}/\text{ha}$ auf $240 \text{ kg N}/\text{ha}$ für DON und ZEA nachgewiesen worden. Für ZEA bleiben die Befallswerte auch in der Maximalvariante mit ca. $250 \mu\text{g}/\text{kg}$ ZEA unter den Grenzwerten von $350 \mu\text{g}/\text{kg}$ TM unverarbeitetem Erntegutes, nur die ZEA-Gehalte des zweiten, unbehandelten Kolbens erreichen den Grenzwert von $350 \mu\text{g}/\text{kg}$ TM (Abb. 52). Die DON-

Belastungen, die bei 160 kg N/ha mit ca. 1100 µg/kg noch unter dem Grenzwert lagen, überstiegen diesen in der Maximalvariante (240 kg N/ha) um über 1000 µg/kg. Die hohen Mykotoxinbelastungen in intensiven Mais-Monokulturen verdeutlichen die Notwendigkeit nachhaltiger aber auch praktikabler, ertragssicherer und qualitätssicherer Anbausysteme.

Erträge

Phytopathogene Pilze der Gattung *Fusarium*, wie sie in den Proben der beiden Versuchsanlagen nachgewiesen werden konnten, sind in der Lage, hohe Ertragsverluste zu verursachen (Bauriegel et al., 2009; Osborne et al. 2007). Im Weizen können Verluste bis zu 30 % in Jahren mit entsprechenden epidemiefördernden Witterungsbedingungen entstehen (Beyer et al., 2006). Neben den Ertragsverlusten sind die Belastungen durch Mykotoxine von großer Bedeutung. Bestände ohne größere Ertragsverluste können dennoch hohe Mykotoxingehalte aufweisen (Bauriegel, 2009; Osborne 2007; Schlüter 2006). In den vorliegenden Ertragsergebnissen (4.4; Abb. 57-59) liegt für einige Varianten der Schluss nahe, dass es sich bei den Ertragsdepressionen der 240 kg N/ha-, bzw. 360 kg N/ha-Varianten um pathogeninduzierte Ertragsverluste handeln könnte. Fruchtfolgewirkungen, gerade mehrjährige Fruchtfolgen (mit Leguminosen) oder Fruchtfolgen mit Zwischenfrüchten, unterliegen jedoch komplexen Stickstoffkreisläufen (Freyer, 2003). Die Ertragseffekte sind einer Vielzahl von Einflussfaktoren zuzuschreiben. Sie können und müssen nicht als Indikator für mit *Fusarium* spp. assoziierten Problemen dienen. Bevor es zu Ertragsdepressionen kommt, ist mit Belastungen durch Mykotoxinen wie DON und ZEA zu rechnen. In den 80 kg N/ha – Varianten, die nur wenig visuelle Symptome zeigten (4.3; Abb. 31 und 33) wurden dennoch Fusarien-DNA und auch Mykotoxine in zum Teil erhöhter Menge nachgewiesen. Auch Schlüter et al. (2011, 2006) konnten gerade für *Fusarium* spp. tolerierende Sorten, die keine Ertragsdepressionen durch Fusariosen zeigten, Mykotoxingehalte an Beständen ohne Symptomatik feststellen. Mit den Versuchen der vorliegenden Arbeit konnten Mykotoxin-Gehalte auch an Beständen festgestellt werden, die weitgehend als gesund gelten konnten. Daher kann angenommen werden, dass Ertragsverluste bei Mais erst auftreten, wenn es zu massiven Befällen von *Fusarium* spp.

gekommen ist. Qualitätsminderungen in Form von Mykotoxinbelastungen treten deutlich früher auf (Schlüter et al, 2011; Bauriegel et al, 2009).

Von einer Schadenswirkung durch Blattfleckenerreger ist in den Versuchsjahren nicht auszugehen. Befallsstärken von < 5 % befallener Blattfläche werden, den Ergebnissen von Papst et al. 2007 folgend, keinen signifikanten Ertragseinfluss haben. Der prozentuale Deckungsgrad von pathogenen Blattflecken (*K. zeae*) ist negativ mit dem Ertrag korreliert (Papst et al., 2007). Reifschneider und Arny (1983) konnten 17 % Kornertragsminderung bei einer Befallsstärke (BSB) von ca. 10 % befallener Blattfläche zur Vollblüte und 44 % Ertragsminderung bei > 20 % BSB zur Vollblüte in einem Inokulationsversuch nachweisen. Im Überblick über die Bonituren der Versuchsjahre 2010 und 2011 wird deutlich, dass ein Befallsanstieg auf Werte über 1 % BSB erst deutlich nach der Vollblüte auftrat. Zu EC 73 wurden meist BSB um 1 % - 2 % bonitiert. Die maximal befallenen Varianten Mais-Monokultur (2011) gepflügt und die Mais-Monokultur ungepflügt (2011) wiesen zu EC 61 beide < 0,5 % zu EC 73 2 % bzw. 4 % und zu EC 85 (Siloreife) 4 % bzw. 6 % auf, und lagen somit deutlich über den Varianten der zweigliedrigen Fruchtfolgen. Verglichen mit den Befallsstärken, welche Reifschneider und Arny (1983) beschrieben haben, ist das nachgewiesene Befallsniveau als gering einzustufen. Auch auf Grundlage dieser Ergebnisse und Vergleiche mit anderen Arbeiten liegt die Vermutung nahe, dass die Ertragseffekte in den Versuchsjahren nur eingeschränkt durch Pathogene beeinflusst wurden. Der größte Teil ist auf die für die einzelnen Anbausystemvarianten charakteristischen Nährstoffverfügbarkeiten zurückzuführen. Auch Niestrup (2012) bestätigt, dass Befallsintensitäten mit *K. zeae* von < 5 % nicht zu signifikanten Ertragsverlusten führen. Die Daten des Versuchs zeigen jedoch deutlich, dass eine ausgewogene Stickstoffdüngung zur Bildung eines optimalen Ertrages und guter Pflanzengesundheit nicht zu hoch liegen sollte (optimale Stickstoffmengen hängen von Standort, Boden, Sorten etc. ab). Übermäßige Stickstoffversorgung korrelierte in diesem Versuch mit erhöhter *Fusarium*-Belastungen und erhöhten Mykotoxingehalten (Abb. 54, 55).

Die moderne Landwirtschaft hat sich in den letzten Jahrzehnten zu einem hoch technologischen Wirtschaftssektor entwickelt. Dies ist in Bezug auf Ertragsleistung, Qualitätssicherheit und Arbeitseffektivität mit Sicherheit als großer

Fortschritt zu begreifen. Bei dem Streben nach immer produktiveren Verfahren und der Minimierung von Arbeitszeiten und Energiekosten wurden jedoch manche wertvolle traditionelle Techniken im Bereich der Anbausysteme vernachlässigt. Vielfach ist der Druck durch ökonomische Zwänge so groß, dass nachhaltige Anbausysteme zunächst als ertragsmindernd erscheinen. Nicht überall müssen weitgestellte Fruchtfolgen das Resultat oder die Grundlage nachhaltigen Wirtschaftens sein. Doch gerade in den sehr intensiven Maisanbauregionen, in denen das, auch durch die Politik geförderte, System der Biogasproduktion vielfach in die Entscheidungen eingreift, müssen wieder vermehrt traditionelle acker- und pflanzenbauliche Verfahren in die Techniken miteinbezogen werden. Die Einhaltung praktikabler, nachhaltiger Anbausysteme unter Berücksichtigung phytosanitärer Aspekte wird bei der Gesunderhaltung der Maisbestände und damit bei der Qualitäts- und Ertragssicherung der wichtigste Baustein bleiben.

6. Zusammenfassung

Mais-Monokulturen und enge, Mais dominierte Fruchtfolgen (Rotationen) haben sich, vor allem durch den Einfluss der Biogasproduktion, stark ausgedehnt. Der räumliche und zeitliche Abstand der für *Fusarium* spp. sensiblen Kulturen in den Rotationen hat hierdurch abgenommen, was zu einem erheblichen Anstieg und der Intensivierung von epidemiologischen Ereignissen führt. Treffen hohe Stickstoffintensitäten und reduzierte Bodenbearbeitung auf Epidemien fördernde Witterungsverhältnisse, so ist mit gravierenden Qualitätseinbußen in Form von Mykotoxinbelastungen und auch mit Ertragsverlusten, vor allem in der Mais-Monokultur, zu rechnen.

In den Versuchsjahren 2009 bis 2011 wurden verschiedene Mais enthaltende Fruchtfolgen und Anbausysteme innerhalb langjährig etablierter Versuchsanlagen auf dem Versuchsgut Hohenschulen der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel auf ihre phytosanitäre Wirkung im Allgemeinen und insbesondere auf die vermindernde Wirkung auf Erreger der Gattung *Fusarium* untersucht. Die übergeordnete Einflussgröße Witterung bestimmt unabhängig von Anbausystemen über den Beginn, Verlauf und die Intensität einer möglichen Epidemie. Während der Vegetation durchlaufen die Maisbestände anfällige und weniger anfällige Entwicklungsstadien. Die weibliche Maisblüte gilt als besonders empfindliches Stadium, da die Sporen der *Fusarium* spp. über die Narbenfäden ins Innere des Kolbens einwachsen und hier parasitieren, so dass die Witterung zur Maisblüte einen maßgeblichen Einfluss auf die Infektionen und den Verlauf der Epidemie hat. Aber auch die Witterung zur Abreife der Pflanzen im August/September kann die Befallsstärke (BSB % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA) beeinflussen.

Neben der Beeinflussung der Befallsstärke hat die Witterung zur Vegetation auch einen großen Einfluss auf die Entwicklung und Zusammensetzung des Artenspektrums. In den Versuchsjahren wurden hauptsächlich Befälle mit *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* und *F. avenaceum* ermittelt, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* waren im Artenspektrum vertreten, wobei *F. equiseti* noch Anteile an der Gesamtpathogen-Belastung von 5 % bis 10 %, *F. sporotrichioides* jedoch nur ca. 1 % und < 1 % der Gesamt-DNA ausmachte. Das Artenspektrum

im Silomais der Mais-Monokultur variierte innerhalb der Versuchsjahre erheblich. Im Versuchsjahr 2009, mit für den Standort durchschnittlichen Temperaturen, dominierte *F. culmorum*, gefolgt von *F. graminearum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides*.

Für 2010 wurden in der Mais-Monokultur mit ca. 45 % der Gesamtpathogen-DNA extrem hohe Werte für *F. poae* (1,979 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA) ermittelt. Mit ca. 20 % Gesamtpathogen-DNA (1,307 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA) war in diesem überdurchschnittlich warmen Jahr *F. graminearum* stärker vertreten als *F. culmorum* mit 0,732 % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA. Im Versuchsjahr 2011, mit überdurchschnittlich hohen Niederschlagssummen und kühlen Temperaturen dominierte wieder die Art *F. culmorum*. Auch aus den Daten zur Artzusammensetzung unter dem Einfluss der Stickstoffdüngung wird sowohl der Witterungseinfluss über die Versuchsjahre als auch der Einfluss der Düngung ersichtlich. In den Varianten mit 80 kg N/ha - 240 kg N/ha konnten meist nur die vier *Fusarium* spp. *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* und *F. avenaceum* ermittelt werden. Die Null-Variante wies das gesamte am Standort vertretene Artenspektrum auf. Höheres Nährstoffniveau führte zur Unterdrückung von weniger konkurrenzkräftigen Arten.

Die Validierung der *Fusarium*-Bonituren ergab, mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,6638$, eine verhältnismäßig gute Verlässlichkeit der bonitierten, unspezifischen Befallshäufigkeiten im Bestand (BHB in % befallener Pflanzen) in den Parzellen der Mais-Monokultur. Die Bonituren sind jedoch nur unspezifisch, sie können nur einer groben Einschätzung des Befalles dienen. Eine sichere Bestimmung der Arten und ein Rückschluss auf die Belastung mit Mykotoxinen sind nur mittels qPCR durchzuführen.

Für die Anbausystemfaktoren Fruchtfolge (incl. Zwischenfrucht), Stickstoffdüngung und Bodenbearbeitung konnten eindeutige, *Fusarium* spp. mindernde Effekte aufgezeigt werden. Die Fruchtfolge ohne entsprechend intensive phytosanitäre Bodenbearbeitung, wie im Fruchtfolgeversuch (V98), konnte auch aufgrund der kleinräumigen Parzellenstruktur nur bedingt gute Ergebnisse erzielen. Die zweigliedrigen Fruchtfolgen mit Zwischenfrüchten des Biomasseversuchs konnten im direkten Vergleich mit der Maismonokultur des Biomasseversuchs deutliche Befallsreduzierungen bewirken. Im Versuchsjahr 2011 konnte im Mittel über alle Stickstoffvarianten für die zweigliedrige Fruchtfolge mit Welschem Weidelgras eine

Reduzierung der Befallsstärke im Bestand (BSB in % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA) zum Erntetermin von 81,6 % vergleichend zur Mais-Monokultur ermittelt werden. Für die zweigliedrige Fruchtfolge mit Gelbsenf ergaben sich Reduzierungen der BSB von 65,9 % zur Mais-Monokultur. Die erzielten phytosanitären Effekte stehen allerdings vor dem Hintergrund eines niedrigeren Ertragsniveaus.

Für Deoxynivalenol (DON) in der Mais-Monokultur konnte im Versuchsjahr 2011 eine hohe Korrelation mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,9335$ bestimmt werden. Das Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,8643$ für ZEA weist jedoch ebenso auf eine enge Beziehung der durch qPCR ermittelten Befallsstärke (BSB in % Pathogen-DNA zur Pflanzen-DNA) mit Mykotoxinen wie Zearalenon (ZEA) und Deoxynivalenol (DON) hin. Die DON-Gehalte stiegen bei 240 kg N/ha bis auf 2619,90 µg/kg TM an und lagen damit deutlich über dem Grenzwert (1750 µg/kg TM für DON; 350 µg/kg TM für ZEA). Die 160 kg N/ha-Variante verblieb deutlich unter dem Grenzwert mit ca. 1600 µg/kg TM. Aufgrund der hohen Korrelation der Fusarium-DNA-Gehalte und der Mykotoxingehalte kann bei Anwesenheit von Fusarien-DNA auch von mehr oder weniger starken Belastungen mit Mykotoxinen ausgegangen werden.

Ertragsreduktionen sind bei Belastungen mit Fusariosen zu erwarten, wie auch in diesem Versuch in einigen Varianten gezeigt. Ertragseinflüsse sind gerade in Fruchtfolgevarianten vielfältig. Daher ist eine eindeutige Zuweisung der Ertragsreduktionen der 240 kg N/ha- und 360 kg N/ha-Varianten zu den gesteigerten Belastungen mit *Fusarium* spp. nicht möglich. Nicht die Ertragswirksamkeit bestimmt die Notwendigkeit eines nachhaltig gestalteten Anbausystems mit Mais, sondern vorrangig die Qualitätssicherheit.

7. Summary

Maize monocultures and narrow maize dominated crop rotations have, greatly expanded mainly through the influence of biogas production. Spatial and temporal distance for the *Fusarium* spp. sensitive crops in the rotations has decreased thereby leading to a significant increase and intensification of epidemiological events. If high nitrogen intensities and reduced tillage clash on epidemics promotional weather conditions, it has to be expected to have serious quality losses in the form of mycotoxin contamination and also with yield losses, especially in the maize monoculture.

Between 2009 and 2011 several maize-containing crop rotations and cropping systems within many years of established experimental facilities at the experimental farm Hohen Schulen of the Christian-Albrechts-University of Kiel have been studied on their phytosanitary action in general and in particular on the reducing effect for pathogens of the genus *Fusarium*. Superior factor weather determines independently of cropping systems the beginning, course and intensity of possible epidemics.

During growing period maize plant is passing through vulnerable and less vulnerable stages of development. The female maize flower is considered to be an especially sensitive stage as the spores of *Fusarium* spp. grow into the interior of the pistil through the stigma and parasitize here. So the weather during flowering has a significant influence on the infection and the course of the epidemic. But also the weather during ripening of the plants in August / September can affect disease severity.

In addition to the influence on disease severity weathering during vegetation also has a large influence on the development and composition of the species spectrum. In the experimental years the most important infestations were with *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* and *F. avenaceum*. *F. equiseti* and *F. sporotrichioides* were identified as the less important species with 5-10 % respectively less than 1 % of the whole pathogen-DNA. The species composition in silage maize monoculture varied considerably within the experimental years. In 2009 with average temperatures typical for the site *F. culmorum*, dominated

followed by *F. graminearum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides* and *F. equiseti*.

In 2010, extremely high values of *F. poae* (1.979 % pathogen DNA to plant DNA) were determined in the maize monoculture with about 45 % of the whole pathogen-DNA amount. With approximately 20 % of the whole pathogen-DNA amount (1.307 % pathogen DNA to plant DNA) was *F. graminearum* more strongly represented in this exceptionally warm year then *F. culmorum* with 0.732 % pathogen DNA to plant DNA. In the experiment of 2011, with above-average rainfall totals and cool temperatures again dominated the type *F. culmorum*. From data on species composition under the influence of nitrogen fertilization is seen in both the weathering influence over the test year, as well as the influence of fertilization.

Variants with 80 kg nitrogen per hectare up to 240 kg nitrogen per hectare were usually infected with only four *Fusarium* spp. like *F. graminearum* and *F. culmorum*, *F. poae* and *F. avenaceum*. The zero-variant pointed to the entire spectrum of species represented at the site. Higher nutrient levels resulted in the suppression of less competitive species.

The validation of the *Fusarium* assessments showed a coefficient of determination of $R^2 = 0.6638$, a proportionate good reliability of the evaluated non-specific infection frequencies in plant population (BHB in % of infected plants) belonging to the plots of maize monoculture. However visual assessments are nonspecific they can serve only a rough estimate of the infestation. A reliable determination of the species and a conclusion on the exposure to mycotoxins is to carry out only by qPCR.

For cropping system factors as crop rotation (incl. Catch crop), nitrogen fertilization and tillage *Fusarium* spp. reducing effects could be presented. Crop rotation without corresponding phytosanitary intensive tillage, crop rotation as in the experiment (V98) could achieve good results only particularly also due to the small-scale plot structure. The two-tier crop rotation with intercropping lead to significant reductions of infestations in direct comparison with the maize monoculture. In 2011 a reduction of disease severity in stock (disease severity in % pathogen DNA to plant DNA) at harvesting date was determined with 81.6 % comparing to corn monoculture on average over all nitrogen variants for the two-tier crop rotation with

ryegrass. For the two-tier crop rotation with yellow mustard reductions of 65.9 % were realized in comparison to maize monoculture.

High correlation with a coefficient of determination of $R^2 = 0.9335$ was determined for DON in maize monokulture. However, the coefficient of determination of $R^2 = 0.8643$ for ZEA also points to a close relationship of the determined by qPCR disease severity with mycotoxin (ZEA). Deoxynivalenol levels increased at 240 kg nitrogen per hectare up to 2619.90 $\mu\text{g} / \text{kg}$ dry matter and were well above the limit (1750 $\mu\text{g} / \text{kg}$ dry matter for DON; 350 $\mu\text{g} / \text{kg}$ dry matter for ZEA). The 160 kg nitrogen per hectare variant remained well below the limit of 1600 micrograms / kg DM. Due to the high correlation of *Fusarium* DNA levels and the levels of mycotoxins can also be expected with more or less heavy loads with mycotoxins in the presence of *Fusarium* DNA.

In case of infection with *Fusarium* yield reductions can be expected, as shown in in some variants of this experiment. Influences are varied especially in crop rotation variants. Therefore a clear allocation of yield reductions in variants with 240 kg nitrogen and 360 kg nitrogen per hectare to the increased loads with *Fusarium* spp. is not possible. Not yield efficacy determines the need for a sustainable farming systems designed with maize, but mainly the security of quality.

8. Literaturverzeichnis

ABBAS, H. K., CARTWRIGHT, R. D., XIE, W., SHIER, W. T. (2006): Aflatoxin and fumonisin contamination of corn (*Maiz, Zea mays*) hybrids in Arkansas. *Crop Protection* 25: 1 – 9

ARNY, D. C.; SMALLEY, E. B.; ULLSTRUPP; A. J., WOLF, G. L.; AHRENS, R. W. (1971): Eyespot of Maize, a Disease New to North America. *Phytopathologie* 61: 54-57

BAURIEGEL, E.; GIEBEL, A.; HERPPICH, W. B. (2010): Rapid Fusarium head blight detection on winter wheat ears using chlorophyll fluorescence imaging. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 83: 196-203

BEYER, M.; KLIX, M. B.; KLINK, H.; VERREET, J. -A. (2006): Quantifying the effects of previous crop, tillage, cultivar and triazole fungicides on the deoxynivalenol content of wheat grain - a review. *Journal of Plant Disease and Protection* 113: 241 - 246

BOTTALICO, A. (1998): Fusarium diseases of cereals: Species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *Journal of Plant Pathology* 80: 85 – 103

BOTTALICO, A.; PERRONE, G. (2002): Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108: 611 – 624

BULLUCK, L. R. UND RISTAINO, J. B. (2002): Effect of Synthetic and Organic Soil Fertility Amendmentson Southern Blight, Soil Microbial Communities, and Yield of Processing Tomatoes *Phytopathologie* 92: 181 – 189

BULLUCK, L. R.; BROSIUS, M.; EVANYLO, G. K.; RISTAINO, J. B. (2002): Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology* 19: 147 – 160

BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHTZ; REFERAT 512 (2010): Gute fachliche Praxis im Pflanzenschutz – Grundsätze für die Durchführung

- BUOTIGNY, A.- L.; WARD, T. J.; VAN COLLER, G. J.; FLETT, B.; LAMPRECHT, S. C., O'DONNELL, K.; VILJOEN, A. (2011): Analysis of the *Fusarium graminearum* species complex from wheat, barley and maize in South Africa provides evidence of species-specific differences in host preference. *Fungal Genetics and Biology* 48: 914–920
- BUSHNELL, W. R., HAZEN, B. H., PRITSCH, H. (2003): Histology and Physiology of *Fusarium* head blight. In: *Fusarium head blight of wheat and barley*. Eds. Leonard, K., Bushnell, W. R., APS Press, St. Paul, ta, USA: 44 – 83
- BÜTTNER, P. (2006): Das Artenspektrum der Gattung *Fusarium* an Weizen und Roggen in Bayern in den Jahren 2003 und 2004. *Gesunde Pflanzen* (58): 28 – 33
- Cook R. J., Christen, A. A. (1976): Growth of cereal root rot fungi as affected by temperature-water potential interactions. *Phytopathology* (66): 193 - 197
- DILL-MACKY, R.; JONES, R. K. (2000): The Effect of previous Crop Residues and Tillage on *Fusarium* Headblight of Wheat. *Plant Disease* 84:71-76
- DOOHAN, F. M.; BERNAN, J.; COOKE, B. M. (2003): Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. *European Journal of Plant Pathology* 109: 755–768
- EDWARDS, S. G. (2004): Influence of agricultural practices on *fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. *Toxicology Letters* 153: 29–35
- FERNANDEZ, M. R., C H E N, Y. (2005): Pathogenicity of *Fusarium* species on different plant parts of spring wheat under controlled conditions. *Plant Disease* 89: 164 – 169
- FLETT, B. C. UND WEHNER, F. C. (1991): Incidence of *Stenocarpella* and *Fusarium* Cop Rots in Monokulture Maiz under different Tiillage Systems. *Phytopathologie*: 133, 327-333
- FLETT, B. C.; MCLAREN, N. W.; WEHNER, F. (1998): Incidence of Ear Rots Pathogens Under Alterning Corn Tillage Practies. *Plant Diseases* 82: 781-784

FREYER, B. (2003): Fruchtfolgen / Konventionell – Integriert – Biologisch. *Eugen Ulmer, Hohenheim*

GILBERT, J.; FERNANDO, W.G.D. (2004): Epidemiology and biological control of *Gibberella zeae* / *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 26: 464 – 472

GÖDECKE, R. (2010): Einflussfaktoren der Mykotoxinbildung durch Ährenbefall mit *Fusarium* spp. in verschiedenen Winterweizenfruchtfolgen. Dissertation. Georg-August-Universität Göttingen

HALVORSON, A. D.; NIELSEN, D. C.; REULE, C. A. (2004): Nitrogen Fertilization and Rotation Effects on No-Till Dryland Wheat Production. *Agronomy Journal* 96: 1196 – 1601

HOREVAJ, P.; MILUS, E.A.; BLUHM, B.H. (2011): A real-time qPCR assay to quantify *Fusarium graminearum* biomass in wheat kernels. *Journal of Applied Microbiology* 111: 396 – 406

<http://www.fh-kiel.de/fileadmin/data/landbau/Projektberichte/Untersuchungen.pdf>

JENNINGS, P., TURNER, J.A., NICHOLSON, P.(2000): Overview of *Fusarium* ear blight in the UK – effect of fungicide treatment on disease control and mycotoxin production. In: Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases. *British Crop Protection Council*, Farnham, 2: 707 – 712.

JØRGENSEN; NIESTRUP, L (2012): Significant Yield Increases from Control of Leaf Diseases in Maize - An Overlooked Problem? *Outlooks on Pest Management*, Volume 23, Number 4, 162-165

JOUANY, J. P. (2007): Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Science and Technology* 137:

KRAMER, S.; SCHRADER, S.; OLDENBURG, E. (2010): Abbau von *Fusarium*-infiziertem und Deoxynivalenol-haltigem Weizenstroh durch den Regenwurm. *Journal für Kulturpflanzen*, Band: 62(6): 225

- KRAMER, S.; SCHRADER, S.; OLDENBURG, E.; WEINERT, J. (2011): Abbau von *Fusarium*-infiziertem und Deoxynivalenol-haltigem Weizenstroh durch den Regenwurm *Lumbricus terrestris*. *Landwirtschaft ohne Pflug* : LOP Heft: 5, 11-15
- LEILANI, A.; ROBERTSON-HOYT, G.; BETRÁN, J.; PAYNE, A. G.; WHITE, G. D.; ISAKEIT, T.; MARAGOS, M. C.; MOLNÁR, L. T.; HOLLAND, B. J. (2007): Relationship among Resistance to *Fusarium* and *Aspergillus* Ear Rots and Contamination by Fumonisin and Aflatoxin in Maize. *Phytopathologie* 97: 311 – 317
- LEMMENS, N.; HAIM, K.; LEW, H.; PUCKENBAUER, P. (2004): The Effect of Nitrogen Fertilization on *Fusarium* Head Blight Development and Deoxynivalenol Contamination in Wheat. *Journal of Phytopathology* 152(1): 1 – 64
- LIESNER, K. (2012): Untersuchungen zum Nachweis und zum Vorkommen von Mykotoxinen in Futtermitteln für Pferde. *Dissertation im Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen*
- LOGRIECO, A.; MULÈ, G.; MORETTI, A.; BOTTALICO, A. (2002): Toxigeneic *Fusarium* species and mykotoxines associated with maze ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathologie* 108: 597 – 609
- MANSFIELD, M. A.; DE WOLF, E. D.; KULDAU, G. A. (2005): Relationships Between Weather Conditions, Agronomic Practices, and Fermentation Characteristics with Deoxynivalenol Content in Fresh and Ensiled Maize. *Plant Disease* 89: 1151 – 1157
- MARASAS, W.F.O. (1995): Fumonisin: Their implications for human and animal health. *Natural Toxins* 3: 193 – 198
- MELCHINGER, A. E.; MIEDANER, T.; BOLDAN, C. (2009). Vorbeugung gegen Fusariumbefall und Toxinbelastung bei Mais durch Resistenzzüchtung. *Abschlussbericht MLR-Projekt Nr.: 2005F03*
- MISSMER, S.A.; SUAREZ, L.; FELKNER, M.; WANG, E.; MERRILL, JR A.H.; ROTHMAN, K.J.; HENDRCKS, K.A. (2006): Exposure to Fumonisin and the

Occurrence of Neural Tube Defects along the Texas–Mexico Border. *Environ Health Perspect* 114(2): 237 – 241

MUTITU, E. W., MUKUNYA, D. M., AND KEYA, S. O. (1988): Biological control of Fusarium yellows by *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder using organic amendments locally available in Kenya. *Acta Hort.* 218: 267-274

NICOLAISEN, M.; SUPRONIENÉ, S.; KAERGARD NIELSEN L.; LAZZARO, I.; SPLIID, N. H.; FEJER JUSTENSEN, A. (2009): Real-Time PCR for quantification of eleven Individual *Fusarium* spezies in cereals. *Journal of Microbiological Methods* 76: 234 – 240

NORDIC COUNCIL OF MINISTERS, COPENHAGEN (1998): Fusarium Toxins in cereals – a risk assessment. *Tema Nord* 502: 0908 – 6692

OBST, A.; GEHRING, K.; (2002): Getreide – Krankheiten, Schädlinge, Unkräuter. *Thomas Mann Verlag, Gelsenkirchen*

OLDENBURG, E.; BUNROTTE, J.; WEINERT, J. (2007): Mit Mulchsaat mehr Fusarium bei Silomais? Wahl der Maissorte kann Einfluss der Bodenbearbeitung überdecken. *Mais* 36(1): 32 – 34

OSBORNE, L. E.; STEIN, J. M. (2007): Epidemiology of *Fusarium* head blight on small-grain cereals. *International Journal of Food Microbiology* 119: 103 – 108

PAPST, C.; ZELLNER, J.; VENKATARATNAM, S.; EDER, J. (2007): *Fusarium* – Problematik bei Körnermais (*Zea Mays* L.). *Gesunde Pflanzen* 59: 7 – 16

PESTKA, J.P.; SMOLINSKI, A.T. (2005): Deoxinivalenol: Toxikologiy and Potintial Effects on Humans. *Journal of Toxicologiy and Environmental Health, Part B: Critical reviews* 8(1): 39 – 69

PETZOLD, R. (2012): Pflanzenschutzgesetz – Gesetz zum Schutz der Kulturpflasznen (Pflanzenschutz – PflSchG). *Bundesverband der Agrargewerblichen Wirtschaft E.V.*

POPPEBERGER, B.; BERTHILLER, F.; LUCYSHYN,D.; SIEBERER, T.; SCHUMACHER, R.; KRSKA, R.; KUCHLER, K.; GLÖSSEL, J.; LUSCHING, C.;

- ADAM, G. (2003): Detoxifikation off the *Fusarium* Mycotoxin Deoxinivalenol by a UDP-glucosyltransferase from *Arabidopsis thaliana*. *The Journal of Biological Chemistry* 278(48): 47907 – 47914
- REID, L. M.; HAMILTON, R. E.; MATHER, D. E. (1996): Screening maize for resistance to Gibberella ear rot. *Agri-Food Can*
- RIEM, F. (1981): Fusarium-Befall in Beziehung zur Stickstoffdüngung. *Zeitschrift für Vegetationstechnik*
- ROSEWICH GALE, L.; CHEN, L.-F.; HENRICK, C. A.; TAKAMURA, K.; KISTLER, H. C. (2002): Population Analysis of *Fusarium graminearum* from Wheat Fields in Eastern China. *Phytopathology* 92: 1315 – 1322
- R CORE TEAM (2013): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- SCHAAFSMA, A. W.; TABURIC-LINCIC, L.; L. HOOKER, D. C. (2005): Effect of previous crop, tillage, field size, adjacent crop, and sampling direction on airborne propagules of *Gibberella zeae*/*Fusarium graminearum*, fusarium head blight severity, and deoxynivalenol accumulation in winter wheat. *J. Plant Pathol.* 27: 217 – 224
- SCHLÜTER, K., KROPF, U., KARLOVSKY, P. (2006): Untersuchungen zur systemischen Infektion von *Fusarium culmorum* an Winterweizen in Schleswig-Holstein. *Gesunde Pflanzen*. DOI 10.1007/s10343-006-0119-x.
- SCHMIDT, H. (2003): Classification, Identification and Detection of Toxigenic Moulds. *Dissertation am Lehrstuhl für Technische Microbiologie*
- SCHRADER, S.; WOLFARTH, F.; OLDENBURG, E. (2011): Fusarien im Strohmulch bei konservierender Bodenbearbeitung – Regenwürmer als natürliche Gegenspieler. *Landwirtschaft ohne Pflug* : LOP Heft: 5, 11-15
- SCHLÜTER, K.; KROPF, U. (2011): Infektion auch über die Wurzel. *DLG-Mitteilungen* 3/2011

- SIMPSON, D.R., WESTON, G.E., TURNER, J.A., JENNINGS, P., NICHOLSON, P., (2001): Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *Eur. J. Plant Pathol.* 107, 421 – 431
- TILMAN, D.; CASSMAN, K. G.; MATSON, P. A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. (2002): Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418: 671 – 677
- TORP, M.; LANGSETH, W. (2000): Produktion of T-2 toxin by a *Fusarium* resembling *Fusarium poae*. *Mycopathologia* 147: 89 – 96
- TRAIL, F.; GAFFOOR, I.; VOGEL, S. (2005): Ejection mechanics and trajectory of the ascospores of *Gibberella zeae* (anamorph *Fusarium graminearum*). *Fungal Genetics and Biology* (42): 528 – 533
- VOGELSANG, S.; JENNY, E.; HECKER, A.; BÄNZIGER, I.; FORRER, H.-R. (2009): Fusarien und Mykotoxine bei Weizen aus Praxis-Ernteproben. *Agrar Forschung* 16 (7): 238 – 243
- WAALWIJK, C., KASTELEIN, P., DE VRIES, I., KERÉNYI, Z., VAN DER LEE, T., HESSELINK, T., KÖHL, J., KEMA, G. (2003): Major changes in *Fusarium* spp. in wheat in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology* (109): 743 – 754
- WAALWIJK, C., VAN DER HEIDE, R., DE VRIES, I., VAN DER LEE, T., SCHOEN, C., COSTREL-DE CORAINVILLE, G., HÄUSER-HAHN, I., KASTELEIN, P., KÖHL, J., LONNET, P., DEMARQUET, T., KEMA G. H. J. (2004). Quantitative detection of *Fusarium* species in wheat using TaqMan. *European Journal of Plant Pathology* 110: 481 – 494
- WAKELING, S. A.; WARREN, R. A.; KONG, L.; HARVEY, P. R. (2008): Management factors affecting size and structure of soil *Fusarium* communities under irrigated maize in Australia. *applied soil ecology* 39: 201 – 209
- WOLFBARTH, F.; SCHRADER, S.; OLDENBURG, E.; WEINERT, J. (2011): Contribution of the endogeic earthworm species *Aporrectodea caliginosa* on the

degradation of deoxynivalenol and *Fusarium*-biomass in wheat straw. *Mycotoxin Research* 27: 215 – 220

YI, Z.; WANG, P.; SHEN, L.; ZHANG, H.; LIU, M.; DAI, M.; (2006): Effects of different types of nitrogen fertilizer on nitrogen accumulation, translocation and nitrogen fertilizer utilization in summer maize. *Zuo wu xue pao* 32(5): 772 – 778

YOSHIZAWA, T.; YAMASHITA, A.; LUO, Y. (1994): Fumonisin Occurrence in Corn from High- and Low-Risk Areas for Human Esophageal Cancer in China. *Applied and Environmental Microbiology* 60(5): 1626 – 1629

YANDELL, B. S.(1997) Practical Data Analysis for Designed Experiments. Chapman & Hall.

9. Anhang

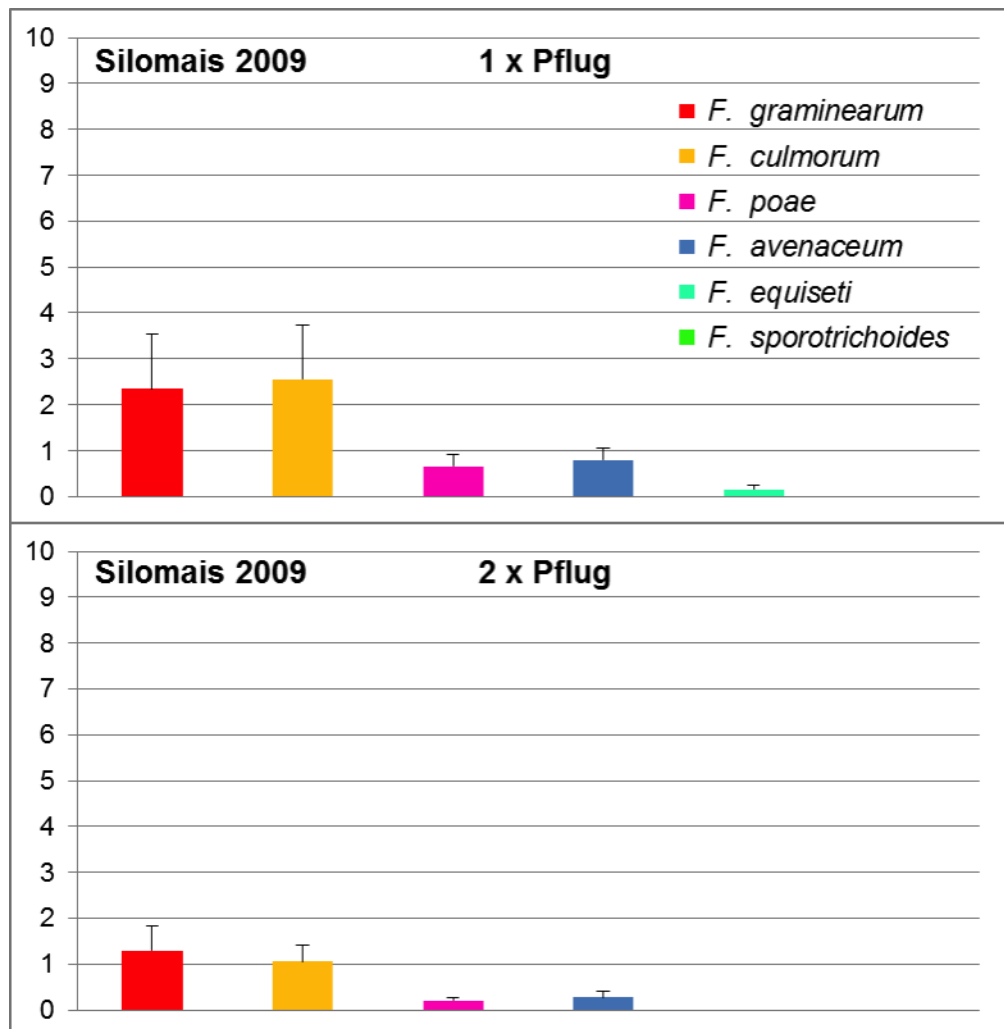


Abbildung 1: Fusarien-Befallsstärke BSB im Silomais (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichoide*; Anbausysteme: Erbsen – Raps – Mais – Weizen 1 x Pflug; Raps – Mais – Weizen – Gerste 2 x Pflug; Fruchtfolgeversuch 2009

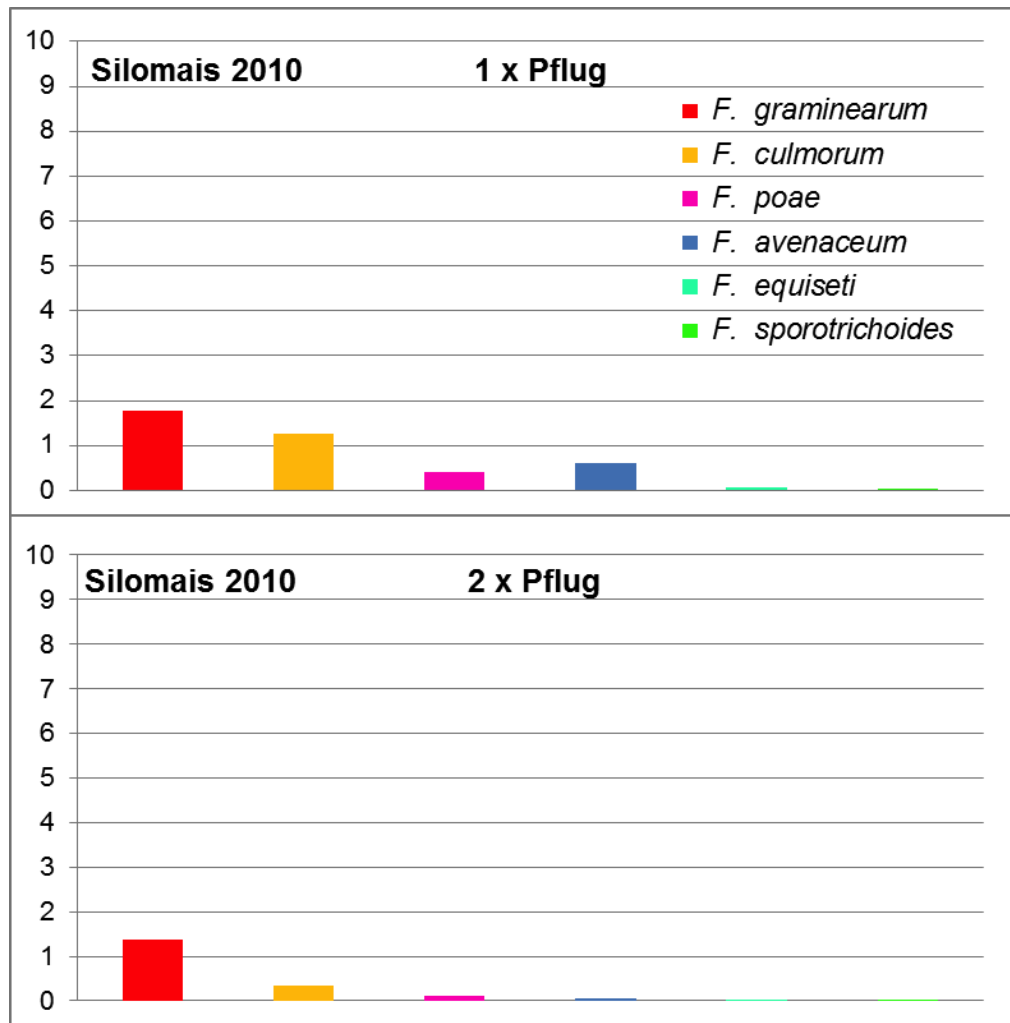


Abbildung 2: Fusarien-Befallsstärke BSB im Silomais (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichoides*; Anbausysteme: Erbsen – Raps – Mais – Weizen 1 x Pflug; Raps – Mais – Weizen – Gerste 2 x Pflug; Fruchtfolgeversuch 2010

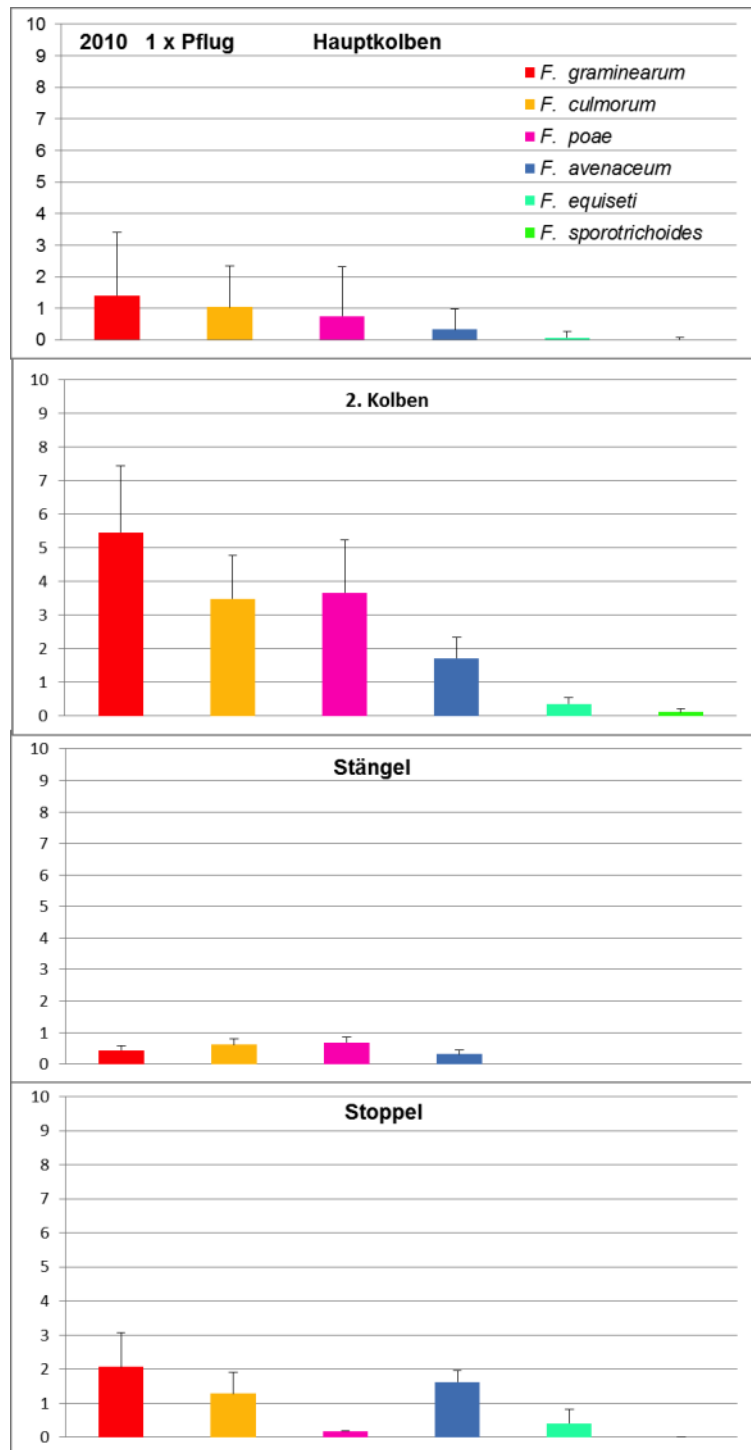


Abbildung 3: Befallsstärke BSB (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) der Fusarienspezies: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichoides*; Vier Fraktionen der Maispflanze: Stoppel (1), Stängel (2), 2. Kolben (3), Hauptkolben und obere Blätter (4); viergliedrige Fruchtfolge (Mais – (P) WW – Raps – Erbsen; 160 kg N/ha) Fruchtfolgeversuch 2010

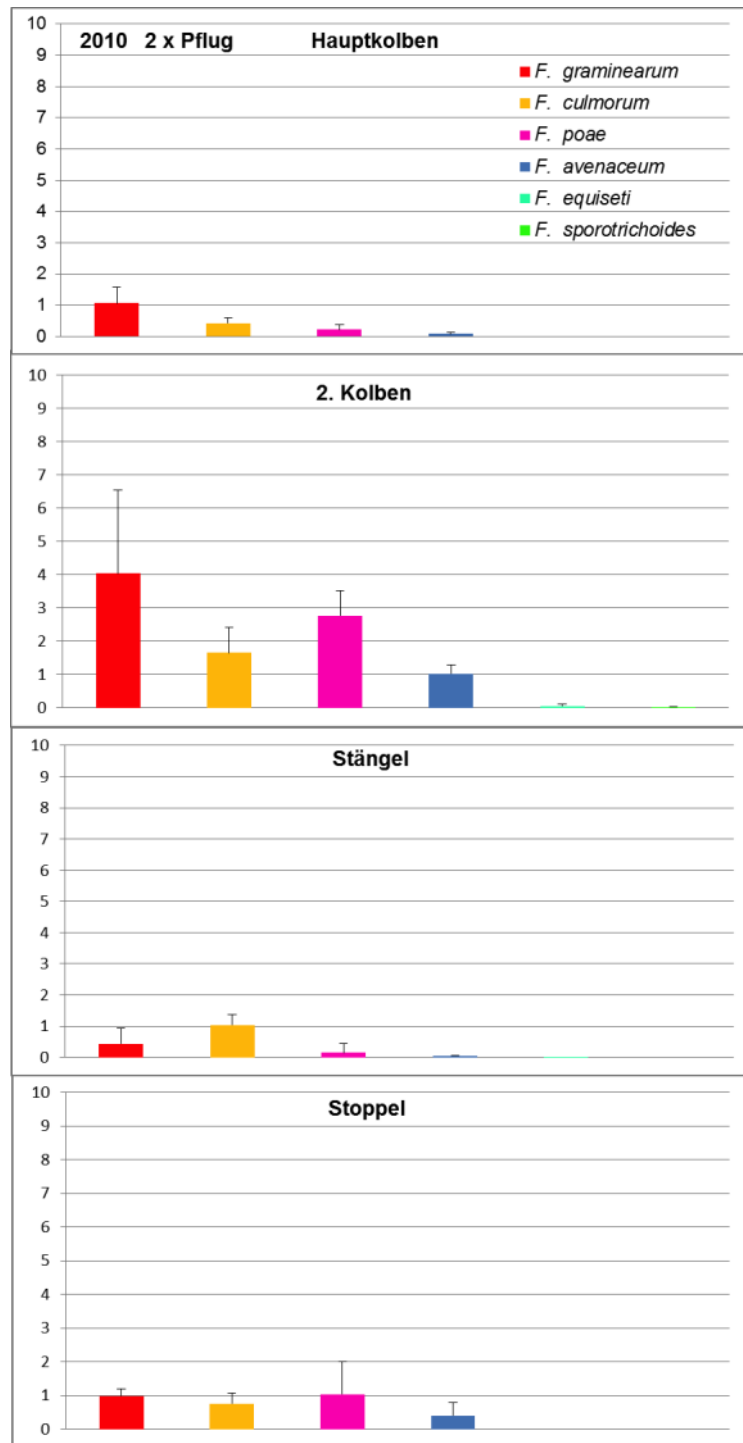


Abbildung 4: Befallsstärke BSB (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) der Fusarienspezies: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichoides*; Vier Fraktionen der Maispflanze: Stoppel (1), Stängel (2), 2. Kolben (3), Hauptkolben und obere Blätter (4); viergliedrige Fruchtfolge (Mais – WW – (G) Raps – (G) Gerste; 160 kg N/ha) Fruchtfolgeversuch 2010

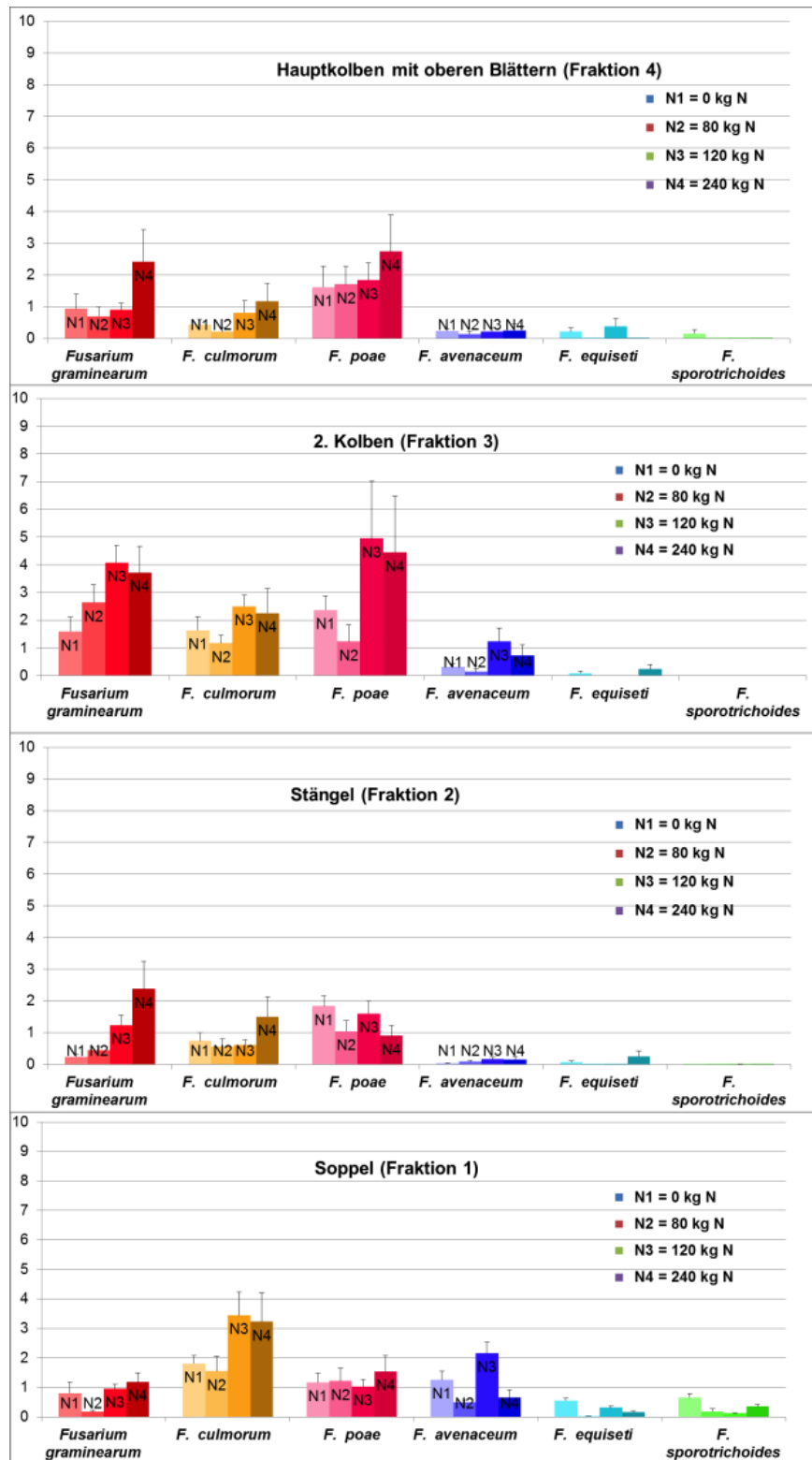


Abbildung 5: Befallsstärke BSB (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) der Fusarienspezies: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichoides* in den vier Stickstoffintensitätsstufen von 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt); Vier Fraktionen der Maispflanze: Stoppel (1), Stängel (2), 2. Kolben (3), Hauptkolben und obere Blätter (4); Maismonokultur Biomasseversuch 2010

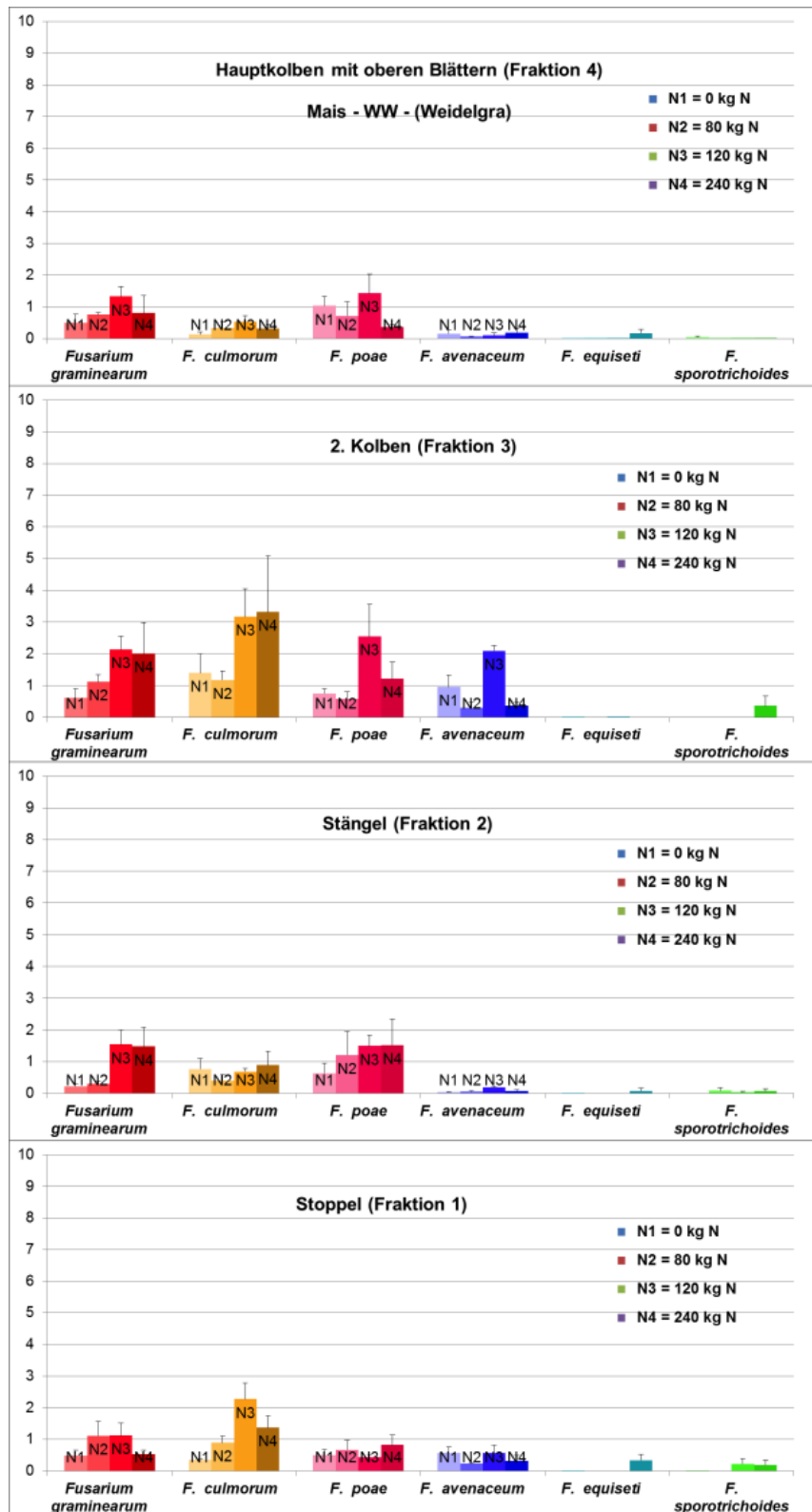


Abbildung 6: Befallsstärke BSB (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) der Fusarienspezies: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichioides* in den vier Stickstoffintensitätsstufen von 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt); Vier Fraktionen der Maispflanze: Stoppel (1), Stängel (2), 2. Kolben (3), Hauptkolben und obere Blätter (4); Zweigliedrige Fruchtfolge mit Zwischenfrucht (Mais – Winterweizen (GPS) – Weidelgras) Biomasseversuch 2

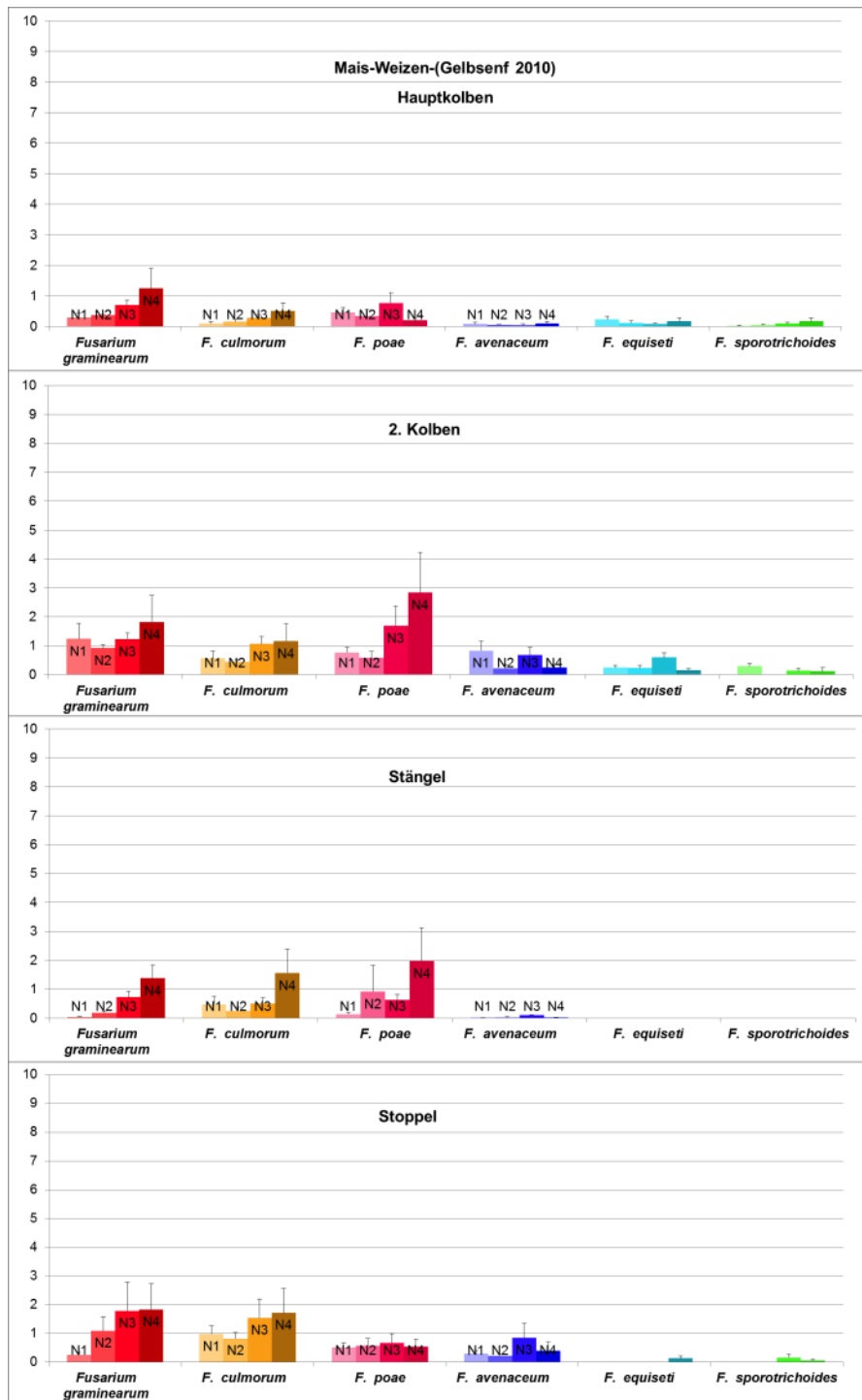


Abbildung 7: Befallsstärke BSB (% Fusarien-DNA zur Pflanzen-DNA) der Fusarienspezies: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* und *F. sporotrichoides* in den vier Stickstoffintensitätsstufen von 0 bis 240 kg N (in den gruppierten Balken dargestellt); Vier Fraktionen der Maispflanze: Stoppel (1), Stängel (2), 2. Kolben (3), Hauptkolben und obere Blätter (4); Zweigliedrige

Vergleich der Erträge in den drei Fruchtfolgen 2009

| FF | diff | lwr | upr | p adj |
|-----|-----------|------------|-----------|-----------|
| 2-1 | -2,515313 | -3,5897882 | -1,440837 | 0,0000008 |
| 3-1 | 0,2925 | -0,7819757 | 1,366976 | 0,7931511 |
| 3-2 | 2,807812 | 1,7333368 | 3,882288 | 0,0000001 |

Vergleich der Erträge in den Stickstoffintensitäten 2009

| N | diff | lwr | upr | p adj |
|-----|-----------|------------|-----------|-----------|
| 2-1 | 3,99375 | 2,6307192 | 5,3567808 | 0 |
| 3-1 | 5,1545833 | 3,7915525 | 6,5176142 | 0 |
| 4-1 | 4,7495833 | 3,3865525 | 6,1126142 | 0 |
| 3-2 | 1,1608333 | -0,2021975 | 2,5238642 | 0,1229273 |
| 4-2 | 0,7558333 | -0,6071975 | 2,1188642 | 0,4700448 |
| 4-3 | -0,405 | -1,7680308 | 0,9580308 | 0,8638288 |

Vergleich der Befallsgrade in den drei FF 2009

| FF | diff | lwr | upr | p adj |
|-----|------------|------------|------------|----------|
| 2-1 | -0,8827885 | -1,0325322 | -0,7330448 | 0,00E+00 |
| 3-1 | -0,3217356 | -0,4714793 | -0,1719919 | 2,04E-05 |
| 3-2 | 0,5610529 | 0,4113092 | 0,7107967 | 0,00E+00 |

Vergleich der Befallsgrade in den vier Stickstoffintensitäten 2009

| N | diff | lwr | upr | p | adj |
|-----|-----------|------------|-----------|-----------|-----|
| 2-1 | 0,1385639 | 0,05195456 | 0,3290823 | 0,2224637 | |
| 3-1 | 0,8390664 | 0,64854801 | 1,0295848 | 0 | |
| 4-1 | 0,9643129 | 0,7737945 | 1,1548313 | 0 | |
| 3-2 | 0,7005026 | 0,50998415 | 0,891021 | 0 | |
| 4-2 | 0,8257491 | 0,63523064 | 1,0162675 | 0 | |
| 4-3 | 0,1252465 | 0,06527193 | 0,3157649 | 0,3038203 | |

Vergleich der Befallsgrade/ Interaktionen FF:N 2009

| FF:N | diff | lwr | upr | p | adj | FF:N | diff | lwr | upr | p |
|---------|-------------|-------------|-------------|-----------|-----|---------|-------------|-------------|-------------|-----------|
| 2:1-1:1 | 0,0253081 | -0,40234344 | 0,45295965 | 1 | | 2:3-1:2 | -0,37435363 | -0,80200518 | 0,05329792 | 0,1339057 |
| 3:1-1:1 | 0,18752799 | -0,24012355 | 0,61517954 | 0,9217822 | | 3:3-1:2 | 0,3051156 | -0,12253595 | 0,73276715 | 0,3773728 |
| 1:2-1:1 | 0,63959993 | 0,21194838 | 1,06725147 | 0,00042 | | 1:4-1:2 | 1,03248337 | 0,60483182 | 1,46013491 | 0 |
| 2:2-1:1 | -0,07646193 | -0,50411348 | 0,35118962 | 0,9999604 | | 2:4-1:2 | -0,55308967 | -0,98074122 | -0,12543812 | 0,0032903 |
| 3:2-1:1 | 0,06538967 | -0,36226187 | 0,49304122 | 0,9999919 | | 3:4-1:2 | 0,70758137 | 0,27992982 | 1,13523292 | 0,0000797 |
| 1:3-1:1 | 1,52007356 | 1,09242202 | 1,94772511 | 0 | | 3:2-2:2 | 0,1418516 | -0,28579995 | 0,56950315 | 0,9891007 |
| 2:3-1:1 | 0,2652463 | -0,16240525 | 0,69289785 | 0,5832142 | | 1:3-2:2 | 1,59653549 | 1,16888394 | 2,02418704 | 0 |
| 3:3-1:1 | 0,94471553 | 0,51706398 | 1,37236707 | 0,0000002 | | 2:3-2:2 | 0,34170823 | -0,08594332 | 0,76935977 | 0,2270668 |
| 1:4-1:1 | 1,67208329 | 1,24443174 | 2,09973484 | 0 | | 3:3-2:2 | 1,02117746 | 0,59352591 | 1,448829 | 0 |
| 2:4-1:1 | 0,08651025 | -0,34114129 | 0,5141618 | 0,9998667 | | 1:4-2:2 | 1,74854522 | 1,32089367 | 2,17619677 | 0 |
| 3:4-1:1 | 1,3471813 | 0,91952975 | 1,77483284 | 0 | | 2:4-2:2 | 0,16297218 | -0,26467936 | 0,59062373 | 0,9691644 |
| 3:1-2:1 | 0,16221989 | -0,26543166 | 0,58987144 | 0,9701611 | | 3:4-2:2 | 1,42364323 | 0,99599168 | 1,85129477 | 0 |
| 1:2-2:1 | 0,61429182 | 0,18664028 | 1,04194337 | 0,0007737 | | 1:3-3:2 | 1,45468389 | 1,02703234 | 1,88233544 | 0 |
| 2:2-2:1 | -0,10177003 | -0,52942158 | 0,32588152 | 0,9993772 | | 2:3-3:2 | 0,19985662 | -0,22779492 | 0,62750817 | 0,8859338 |
| 3:2-2:1 | 0,04008157 | -0,38756998 | 0,46773312 | 1 | | 3:3-3:2 | 0,87932585 | 0,4516743 | 1,3069774 | 0,0000012 |
| 1:3-2:1 | 1,49476546 | 1,06711391 | 1,92241701 | 0 | | 1:4-3:2 | 1,60669362 | 1,17904207 | 2,03434517 | 0 |
| 2:3-2:1 | 0,23993819 | -0,18771335 | 0,66758974 | 0,716432 | | 2:4-3:2 | 0,02112058 | -0,40653097 | 0,44877213 | 1 |
| 3:3-2:1 | 0,91940742 | 0,49175587 | 1,34705897 | 0,0000004 | | 3:4-3:2 | 1,28179162 | 0,85414007 | 1,70944317 | 0 |
| 1:4-2:1 | 1,64677519 | 1,21912364 | 2,07442674 | 0 | | 2:3-1:3 | -1,25482727 | -1,68247881 | -0,82717572 | 0 |
| 2:4-2:1 | 0,06120215 | -0,3664494 | 0,4888537 | 0,9999959 | | 3:3-1:3 | -0,57535804 | -1,00300959 | -0,14770649 | 0,0019548 |
| 3:4-2:1 | 1,32187319 | 0,89422164 | 1,74952474 | 0 | | 1:4-1:3 | 0,15200973 | -0,27564182 | 0,57966128 | 0,9814477 |
| 1:2-3:1 | 0,45207193 | 0,02442039 | 0,87972348 | 0,0305523 | | 2:4-1:3 | -1,43356331 | -1,86121486 | -1,00591176 | 0 |
| 2:2-3:1 | -0,26398992 | -0,69164147 | 0,16366163 | 0,589983 | | 3:4-1:3 | -0,17289227 | -0,60054382 | 0,25475928 | 0,9536394 |
| 3:2-3:1 | -0,12213832 | -0,54978987 | 0,30551323 | 0,9968235 | | 3:3-2:3 | 0,67946923 | 0,25181768 | 1,10712078 | 0,0001589 |
| 1:3-3:1 | 1,33254557 | 0,90489402 | 1,76019712 | 0 | | 1:4-2:3 | 1,406837 | 0,97918545 | 1,83448854 | 0 |
| 2:3-3:1 | 0,0777183 | -0,34993324 | 0,50536985 | 0,9999535 | | 2:4-2:3 | -0,17873604 | -0,60638759 | 0,2489155 | 0,9422651 |
| 3:3-3:1 | 0,75718753 | 0,32953598 | 1,18483908 | 0,0000235 | | 3:4-2:3 | 1,081935 | 0,65428345 | 1,50958655 | 0 |
| 1:4-3:1 | 1,4845553 | 1,05690375 | 1,91220685 | 0 | | 1:4-3:3 | 0,72736777 | 0,29971622 | 1,15501932 | 0,000049 |
| 2:4-3:1 | -0,10101774 | -0,52866929 | 0,32663381 | 0,9994186 | | 2:4-3:3 | -0,85820527 | -1,28585682 | -0,43055372 | 0,000002 |
| 3:4-3:1 | 1,1596533 | 0,73200175 | 1,58730485 | 0 | | 3:4-3:3 | 0,40246577 | -0,02518578 | 0,83011732 | 0,0809999 |
| 2:2-1:2 | -0,71606186 | -1,1437134 | -0,28841031 | 0,0000647 | | 2:4-1:4 | -1,58557304 | -2,01322459 | -1,15792149 | 0 |
| 3:2-1:2 | -0,57421025 | -1,0018618 | -0,1465587 | 0,0020084 | | 3:4-1:4 | -0,324902 | -0,75255354 | 0,10274955 | 0,2901661 |
| 1:3-1:2 | 0,88047364 | 0,45282209 | 1,30812519 | 0,0000011 | | 3:4-2:4 | 1,26067104 | 0,83301949 | 1,68832259 | 0 |

Vergleich der Erträge/ Interaktionen FF:N 2009

| FF:N | diff | lwr | upr | p adj |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|
| 2:1-1:1 | -2,57125 | -5,599267 | 0,4567672 | 0,1769205 |
| 3:1-1:1 | 3,30875 | 0,2807328 | 6,3367672 | 0,0201495 |
| 1:2-1:1 | 4,82 | 1,7919828 | 7,8480172 | 0,0000461 |
| 2:2-1:1 | 2,32625 | -0,701767 | 5,3542672 | 0,3061272 |
| 3:2-1:1 | 5,5725 | 2,5444828 | 8,6005172 | 0,0000014 |
| 1:3-1:1 | 6,445 | 3,4169828 | 9,4730172 | 0 |
| 2:3-1:1 | 4,52375 | 1,4957328 | 7,5517672 | 0,0001713 |
| 3:3-1:1 | 5,2325 | 2,2044828 | 8,2605172 | 0,0000069 |
| 1:4-1:1 | 6,58 | 3,5519828 | 9,6080172 | 0 |
| 2:4-1:1 | 3,505 | 0,4769828 | 6,5330172 | 0,0101471 |
| 3:4-1:1 | 4,90125 | 1,8732328 | 7,9292672 | 0,0000319 |
| 3:1-2:1 | 5,88 | 2,8519828 | 8,9080172 | 0,0000003 |
| 1:2-2:1 | 7,39125 | 4,3632328 | 10,419267 | 0 |
| 2:2-2:1 | 4,8975 | 1,8694828 | 7,9255172 | 0,0000325 |
| 3:2-2:1 | 8,14375 | 5,1157328 | 11,171767 | 0 |
| 1:3-2:1 | 9,01625 | 5,9882328 | 12,044267 | 0 |
| 2:3-2:1 | 7,095 | 4,0669828 | 10,123017 | 0 |
| 3:3-2:1 | 7,80375 | 4,7757328 | 10,831767 | 0 |
| 1:4-2:1 | 9,15125 | 6,1232328 | 12,179267 | 0 |
| 2:4-2:1 | 6,07625 | 3,0482328 | 9,1042672 | 0,0000001 |
| 3:4-2:1 | 7,4725 | 4,4444828 | 10,500517 | 0 |
| 1:2-3:1 | 1,51125 | -1,516767 | 4,5392672 | 0,8730231 |
| 2:2-3:1 | -0,9825 | -4,010517 | 2,0455172 | 0,994329 |
| 3:2-3:1 | 2,26375 | -0,764267 | 5,2917672 | 0,3464108 |
| 1:3-3:1 | 3,13625 | 0,1082328 | 6,1642672 | 0,035602 |
| 2:3-3:1 | 1,215 | -1,813017 | 4,2430172 | 0,9696705 |
| 3:3-3:1 | 1,92375 | -1,104267 | 4,9517672 | 0,5991823 |
| 1:4-3:1 | 3,27125 | 0,2432328 | 6,2992672 | 0,0228676 |
| 2:4-3:1 | 0,19625 | -2,831767 | 3,2242672 | 1 |
| 3:4-3:1 | 1,5925 | -1,435517 | 4,6205172 | 0,8301323 |
| 2:2-1:2 | -2,49375 | -5,521767 | 0,5342672 | 0,212675 |
| 3:2-1:2 | 0,7525 | -2,275517 | 3,7805172 | 0,9994807 |
| 1:3-1:2 | 1,625 | -1,403017 | 4,6530172 | 0,8110769 |
| 2:3-1:2 | -0,29625 | -3,324267 | 2,7317672 | 1 |
| 3:3-1:2 | 0,4125 | -2,615517 | 3,4405172 | 0,9999988 |
| 1:4-1:2 | 1,76 | -1,268017 | 4,7880172 | 0,7219519 |
| 2:4-1:2 | -1,315 | -4,343017 | 1,7130172 | 0,9470474 |
| 3:4-1:2 | 0,08125 | -2,946767 | 3,1092672 | 1 |
| 3:2-2:2 | 3,24625 | 0,2182328 | 6,2742672 | 0,0248594 |
| 1:3-2:2 | 4,11875 | 1,0907328 | 7,1467672 | 0,0009502 |
| 2:3-2:2 | 2,1975 | -0,830517 | 5,2255172 | 0,3919371 |
| 3:3-2:2 | 2,90625 | -0,121767 | 5,9342672 | 0,072008 |
| 1:4-2:2 | 4,25375 | 1,2257328 | 7,2817672 | 0,0005431 |
| 2:4-2:2 | 1,17875 | -1,849267 | 4,2067672 | 0,9757534 |
| 3:4-2:2 | 2,575 | -0,453017 | 5,6030172 | 0,1753097 |
| 1:3-3:2 | 0,8725 | -2,155517 | 3,9005172 | 0,9979787 |

Vergleich der Erträge in den drei Fruchtfolgen / vier Stickstoffintensitäten / Interaktionen 2009

Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = Yield ~ FF * N, data = Y1011)

\$FF

| | diff | lwr | upr | p adj |
|-----|-----------|------------|-----------|-----------|
| 2-1 | -2.515313 | -3.5897882 | -1.440837 | 0.0000008 |
| 3-1 | 0.292500 | -0.7819757 | 1.366976 | 0.7931511 |
| 3-2 | 2.807812 | 1.7333368 | 3.882288 | 0.0000001 |

\$N

| | diff | lwr | upr | p adj |
|-----|------------|------------|-----------|-----------|
| 2-1 | 3.9937500 | 2.6307192 | 5.3567808 | 0.0000000 |
| 3-1 | 5.1545833 | 3.7915525 | 6.5176142 | 0.0000000 |
| 4-1 | 4.7495833 | 3.3865525 | 6.1126142 | 0.0000000 |
| 3-2 | 1.1608333 | -0.2021975 | 2.5238642 | 0.1229273 |
| 4-2 | 0.7558333 | -0.6071975 | 2.1188642 | 0.4700448 |
| 4-3 | -0.4050000 | -1.7680308 | 0.9580308 | 0.8638288 |

\$`FF:N`

| | diff | lwr | upr | p adj |
|---------|----------|------------|-------------|-----------|
| 2:1-1:1 | -2.57125 | -5.5992672 | 0.45676716 | 0.1769205 |
| 3:1-1:1 | 3.30875 | 0.2807328 | 6.33676716 | 0.0201495 |
| 1:2-1:1 | 4.82000 | 1.7919828 | 7.84801716 | 0.0000461 |
| 2:2-1:1 | 2.32625 | -0.7017672 | 5.35426716 | 0.3061272 |
| 3:2-1:1 | 5.57250 | 2.5444828 | 8.60051716 | 0.0000014 |
| 1:3-1:1 | 6.44500 | 3.4169828 | 9.47301716 | 0.0000000 |
| 2:3-1:1 | 4.52375 | 1.4957328 | 7.55176716 | 0.0001713 |
| 3:3-1:1 | 5.23250 | 2.2044828 | 8.26051716 | 0.0000069 |
| 1:4-1:1 | 6.58000 | 3.5519828 | 9.60801716 | 0.0000000 |
| 2:4-1:1 | 3.50500 | 0.4769828 | 6.53301716 | 0.0101471 |
| 3:4-1:1 | 4.90125 | 1.8732328 | 7.92926716 | 0.0000319 |
| 3:1-2:1 | 5.88000 | 2.8519828 | 8.90801716 | 0.0000003 |
| 1:2-2:1 | 7.39125 | 4.3632328 | 10.41926716 | 0.0000000 |
| 2:2-2:1 | 4.89750 | 1.8694828 | 7.92551716 | 0.0000325 |
| 3:2-2:1 | 8.14375 | 5.1157328 | 11.17176716 | 0.0000000 |
| 1:3-2:1 | 9.01625 | 5.9882328 | 12.04426716 | 0.0000000 |
| 2:3-2:1 | 7.09500 | 4.0669828 | 10.12301716 | 0.0000000 |
| 3:3-2:1 | 7.80375 | 4.7757328 | 10.83176716 | 0.0000000 |
| 1:4-2:1 | 9.15125 | 6.1232328 | 12.17926716 | 0.0000000 |
| 2:4-2:1 | 6.07625 | 3.0482328 | 9.10426716 | 0.0000001 |
| 3:4-2:1 | 7.47250 | 4.4444828 | 10.50051716 | 0.0000000 |
| 1:2-3:1 | 1.51125 | -1.5167672 | 4.53926716 | 0.8730231 |
| 2:2-3:1 | -0.98250 | -4.0105172 | 2.04551716 | 0.9943290 |
| 3:2-3:1 | 2.26375 | -0.7642672 | 5.29176716 | 0.3464108 |
| 1:3-3:1 | 3.13625 | 0.1082328 | 6.16426716 | 0.0356020 |
| 2:3-3:1 | 1.21500 | -1.8130172 | 4.24301716 | 0.9696705 |
| 3:3-3:1 | 1.92375 | -1.1042672 | 4.95176716 | 0.5991823 |
| 1:4-3:1 | 3.27125 | 0.2432328 | 6.29926716 | 0.0228676 |
| 2:4-3:1 | 0.19625 | -2.8317672 | 3.22426716 | 1.0000000 |
| 3:4-3:1 | 1.59250 | -1.4355172 | 4.62051716 | 0.8301323 |
| 2:2-1:2 | -2.49375 | -5.5217672 | 0.53426716 | 0.2126750 |
| 3:2-1:2 | 0.75250 | -2.2755172 | 3.78051716 | 0.9994807 |
| 1:3-1:2 | 1.62500 | -1.4030172 | 4.65301716 | 0.8110769 |
| 2:3-1:2 | -0.29625 | -3.3242672 | 2.73176716 | 1.0000000 |
| 3:3-1:2 | 0.41250 | -2.6155172 | 3.44051716 | 0.9999988 |
| 1:4-1:2 | 1.76000 | -1.2680172 | 4.78801716 | 0.7219519 |
| 2:4-1:2 | -1.31500 | -4.3430172 | 1.71301716 | 0.9470474 |
| 3:4-1:2 | 0.08125 | -2.9467672 | 3.10926716 | 1.0000000 |
| 3:2-2:2 | 3.24625 | 0.2182328 | 6.27426716 | 0.0248594 |
| 1:3-2:2 | 4.11875 | 1.0907328 | 7.14676716 | 0.0009502 |
| 2:3-2:2 | 2.19750 | -0.8305172 | 5.22551716 | 0.3919371 |

| | | | | |
|---------|----------|------------|-------------|-----------|
| 3:3-2:2 | 2.90625 | -0.1217672 | 5.93426716 | 0.0720080 |
| 1:4-2:2 | 4.25375 | 1.2257328 | 7.28176716 | 0.0005431 |
| 2:4-2:2 | 1.17875 | -1.8492672 | 4.20676716 | 0.9757534 |
| 3:4-2:2 | 2.57500 | -0.4530172 | 5.60301716 | 0.1753097 |
| 1:3-3:2 | 0.87250 | -2.1555172 | 3.90051716 | 0.9979787 |
| 2:3-3:2 | -1.04875 | -4.0767672 | 1.97926716 | 0.9902657 |
| 3:3-3:2 | -0.34000 | -3.3680172 | 2.68801716 | 0.9999998 |
| 1:4-3:2 | 1.00750 | -2.0205172 | 4.03551716 | 0.9930006 |
| 2:4-3:2 | -2.06750 | -5.0955172 | 0.96051716 | 0.4879166 |
| 3:4-3:2 | -0.67125 | -3.6992672 | 2.35676716 | 0.9998262 |
| 2:3-1:3 | -1.92125 | -4.9492672 | 1.10676716 | 0.6011187 |
| 3:3-1:3 | -1.21250 | -4.2405172 | 1.81551716 | 0.9701234 |
| 1:4-1:3 | 0.13500 | -2.8930172 | 3.16301716 | 1.0000000 |
| 2:4-1:3 | -2.94000 | -5.9680172 | 0.08801716 | 0.0652079 |
| 3:4-1:3 | -1.54375 | -4.5717672 | 1.48426716 | 0.8567066 |
| 3:3-2:3 | 0.70875 | -2.3192672 | 3.73676716 | 0.9997062 |
| 1:4-2:3 | 2.05625 | -0.9717672 | 5.08426716 | 0.4965211 |
| 2:4-2:3 | -1.01875 | -4.0467672 | 2.00926716 | 0.9923256 |
| 3:4-2:3 | 0.37750 | -2.6505172 | 3.40551716 | 0.9999995 |
| 1:4-3:3 | 1.34750 | -1.6805172 | 4.37551716 | 0.9376345 |
| 2:4-3:3 | -1.72750 | -4.7555172 | 1.30051716 | 0.7447085 |
| 3:4-3:3 | -0.33125 | -3.3592672 | 2.69676716 | 0.9999999 |
| 2:4-1:4 | -3.07500 | -6.1030172 | -0.04698284 | 0.0432209 |
| 3:4-1:4 | -1.67875 | -4.7067672 | 1.34926716 | 0.7773830 |
| 3:4-2:4 | 1.39625 | -1.6317672 | 4.42426716 | 0.9214525 |

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt:

Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Joseph-Alexander Verreet, für seine stets wohlwollende, anregende und diskussionsfreudige Hilfe während der Durchführung und Vollendung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Henning Kage für seine konstruktiven Anregungen.

Frau Dr. Silvia Wein für die erhellende Einführung in die Welt der quantitativen Polymerase-Ketten-Reaktion und für die Nutzung der dafür nötigen qPCR-Geräte.

Christiane Wiese für die vielen fachlichen Diskussionen und Anregungen, die ich mit ihr teilen konnte und auch für die mentale Unterstützung über einen Großteil meiner Promotionszeit.

Alice für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Probennahme und der Probenaufbereitung.

Den Mitarbeitern des Versuchsgutes Hohenschulen und des Institutes für Acker- und Pflanzenbau.

Meinen Kollegen bei der Landwirtschaftskammer, die manchmal unter meiner Doppelbelastung gelitten haben.

Meiner Tochter Leonie, für ihre enorme Geduld mit mir und ihr Verständnis für mich und meine Arbeit und natürlich meiner gesamten Familie für die Unterstützung und Hilfestellung, die sie mir immer gegeben hat und für ihre Nachsichtigkeit mit mir.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Kai Wolfgang Ragnar Pfeil
Adresse: HansasträÙe 60, 24118 Kiel
Telefon: 0173 6982369
E-Mail-Adresse: wpfeil@lksh.de
Familienstand ledig
Tochter Leonie Sophie, geboren am 13.04.2006
Staatsangehörigkeit deutsch
Geburtsdaten: 14.06.1977 in Kiel

Berufliche Qualifikationen

2007 - 2009 Studium: Master of Science
Studiengang Agrarwissenschaften

Thema der Masterarbeit: „Wurzelentwicklung des Deutschen Weidelgrases (*Lolium perenne* L.) nach der Schnittnutzung - Ein Feldversuch“

2009 Erwerb von berufs- und arbeitspädagogischen Kenntnissen durch erfolgreiche Teilnahme an einem Seminar der Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein

2002 - 2007 Studium: Bachelor of Science
Studiengang Agrarwissenschaften

Thema der Bachelorarbeit: „Beschreibung von Epidemien von *Septoria tritici* – Vergleich von zwei Boniturmethoden in Weizen“

1995 - 1998 Ausbildung zum Gärtner am Botanischen Garten der Christian-Albrecht-Universität zu Kiel

Schulische Ausbildung/Studium

| | |
|-------------|--|
| 2004 - 2009 | Studium der Agrarwissenschaften an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel |
| 2002 - 2004 | Studium der Gartenbauwissenschaften an der Universität Hannover |
| 1999 - 2002 | Allgemeine Hochschulreife an den Beruflichen Schulen am Ravensberg in Kiel |
| 1988 - 1994 | Integrierte Gesamtschule Friedrichsort |

Berufliche Erfahrungen

| | |
|-------------------------|---|
| 01.10.2012 - heute | Referent im Fachbereich Pflanzenschutz bei der Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein |
| 16.11.2009 – 30.09.2012 | <p>Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter mit der Möglichkeit zur Promotion am Institut für Phytopathologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, betreut von Prof. Dr. J.-A. Verreet</p> <p>Thema der Doktorarbeit: „Erarbeitung eines Konzeptes zur Erforschung der Wirkung von Fruchtfolgen und Anbausystemen auf die Belastung der Maiskultur durch Fusarien und hiermit assoziierte Mykotoxine“</p> |
| 2004 - 2009 | Studentische Hilfskraft am Institut für Grünland und Futterbau / Ökologischer Landbau der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (Versuchswesen) |

15.12.1998 - 31.03.1999
Mitarbeit in der Produktion, der
Versuchsabteilung und der Qualitätskontrolle
des Gartenbaubetriebes „Selecta Canarias“ auf
Teneriffa

01.08.1998 - 30.11.1998
Anstellung als Gärtner zur Unterstützung der
Reviergärtner am Botanischen Garten der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel nach der
Ausbildung

Sprachkenntnisse
Englisch
Spanisch

Softwarekenntnisse
Microsoft Office-Paket
SigmaPlot (Graphiksoftware)

Freizeit
Regattasegeln, Wassersport

