

# Schlussbericht

Forschungsprojekt

**„Verringerung der Mykotoxinbelastung in Getreide und Mais durch  
schnelleren Abbau der Erntereste im Feld“**

Förderkennzeichen 05HS049

**Projektlaufzeit 01.01.2007 – 31.03.2010**



**Universität Hohenheim  
Institut für Kulturpflanzenwissenschaften  
Prof. Dr. W. Claupein**

**Stuttgart, März 2010**

# Gliederung

Gliederung.....	2
Abkürzungsverzeichnis .....	4
Abbildungsverzeichnis .....	7
Tabellenverzeichnis .....	8
<b>1 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes .....</b>	<b>9</b>
<b>1.1 Planung und Ablauf des Projektes .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde .....</b>	<b>12</b>
<b>2 Material und Methoden.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 Arbeitspaket I - Screening verschiedener Weißfäulepilze im Hinblick auf ihr   Abbauvermögen von Mais und Weizenernteresten .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.1 Eingesetzte Weißfäulepilze.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.2 Versuchsdurchführung .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1.2.1 Screening auf Mais- und Weizenstroh.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1.2.2 Unterschiedliche Bestandteile Stängel, Blatt, Kolben.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1.3 Analysen.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.3.1 Bestimmung der Trockensubstanz (%).....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.3.2 Bestimmung des C/N Verhältnisses .....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Arbeitspaket II - Evaluierung der Konkurrenzkraft der ausgewählten Pilze unter   feldähnlichen Bedingungen einschließlich der Gewinnung von Informationen zur   möglichen praxishen Ausbringung des Pilzinokulums auf landwirtschaftliche Flächen...</b>	<b>20</b>
<b>2.2.1 Unter kontrollierten feldähnliche Bedingungen (Eingrabeversuch) .....</b>	<b>20</b>
<b>2.2.2 Unter Feldbedingungen (Teil des Feldversuches) .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3 Arbeitspaket III - Einfluss unterschiedlicher Maissorten auf die Abbaubarkeit bzw.   Abbaugeschwindigkeit der hinterlassenen Ernterückstände durch die saprophytischen   Pilze.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4 Arbeitspaket IV - Prüfung des Einflusses der Inokulation auf den Humusabbau und auf die   im Feld bereits etablierten Mikroorganismen .....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.1 Humusabbau im Gefäßversuch.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.2 Humusabbau auf dem Feld und Einfluss auf die im Feld vorhandenen Mikroorganismen</b>	<b>23</b>
<b>2.5 Arbeitspaket V - Prüfung der entwickelten Methodik in der Praxis im Rahmen eines   zweijährigen Feldversuchs .....</b>	<b>32</b>
<b>2.6 Ergänzende Untersuchungen verschiedener Einflussfaktoren auf das Wachstums- und   Abbauverhalten von Weißfäulepilzen.....</b>	<b>36</b>
<b>2.6.1 Inokulummenge .....</b>	<b>36</b>
<b>2.6.2 Ausbringungszeitpunkt / Temperatur.....</b>	<b>36</b>
<b>2.6.3 Mykotoxine .....</b>	<b>37</b>
<b>2.6.4 Wachstumssteigende Zusätze .....</b>	<b>38</b>
<b>2.7 Statistik.....</b>	<b>40</b>

<b>3</b>	<b>Darstellung der wichtigsten Ergebnisse</b>	<b>41</b>
<b>3.1</b>	<b>Ergebnisse von Arbeitspaket I - Screening verschiedener Weißfäulepilze im Hinblick auf ihr Abbauvermögen von Mais- und Weizenernerresten</b>	<b>41</b>
3.1.1	Screening auf Mais- und Weizenstroh	41
3.1.2	Unterschiedliche Bestandteile Stängel, Blatt, Kolben	46
<b>3.2</b>	<b>Ergebnisse von Arbeitspaket II - Evaluierung der Konkurrenzkraft der ausgewählten Pilze unter feldähnlichen Bedingungen einschließlich der Gewinnung von Informationen zur möglichen praxisnahen Ausbringung des Pilzinokulums auf landwirtschaftliche Flächen...</b>	<b>49</b>
3.2.1	Unter kontrollierten feldähnlichen Bedingungen (Eingrabeversuch)	49
3.2.2	Unter Feldbedingungen (Teil des Feldversuches)	51
<b>3.3</b>	<b>Ergebnisse von Arbeitspaket III - Einfluß unterschiedlicher Maissorten auf die Abbaubarkeit bzw. Abbaugeschwindigkeit der hinterlassenen Ernterückstände durch die saprophytischen Pilze</b>	<b>53</b>
3.3.1	Prüfung des Einflusses der Maissorte	53
<b>3.4</b>	<b>Ergebnisse aus Arbeitspaket IV - Prüfung des Einflusses der Inokulation auf den Humusabbau und auf die im Feld bereits etablierten Mikroorganismen</b>	<b>55</b>
3.4.1	Humusabbau im Gefäßversuch	55
3.4.1.1	Gasbildung vom 06.05 – 03.07	55
3.4.1.2	Humusgehalt (Corg ) bzw. Veränderung des C/N Verhältnisses des Bodens im Gefäßversuch	57
3.4.2	Humusabbau auf dem Feld und Einfluss auf die im Feld vorhandenen Mikroorganismen	58
3.4.2.1	Einfluss auf die Mikroorganismen	58
3.4.2.2	C/N Verhältnis des Bodens über die Vegetationszeit (Weizen)	62
<b>3.5</b>	<b>Ergebnisse zu Arbeitspaket V - Prüfung der entwickelten Methodik in der Praxis im Rahmen eines zweijährigen Feldversuchs</b>	<b>63</b>
3.5.1	Ertrag und Ertragsparameter	63
3.5.2	Qualitätsparameter	69
3.5.3	Bonituren	70
3.5.3.1	Bonitur auf Stängelfäule bei Mais	70
3.5.3.2	Ährenbonitur auf Ährenfusarium bei Weizen	71
3.5.4	Untersuchung des DON -Gehaltes (g/kg) im Korngut	73
3.5.6	Überblick über den Nutzen der angewandten Maßnahmen - Bodenbearbeitung und Inokulummenge und Bodenbearbeitung und Ausbringungszeitraum - auf die Reduktion von DON in Weizen	75
<b>3.6</b>	<b>Ergänzende Untersuchungen verschiedener Einflussfaktoren auf das Wachstums- und Abbauverhalten von Weißfäulepilzen</b>	<b>77</b>
3.6.1	Inokulummenge	77
3.6.2	Ausbringungszeitpunkt / Temperatur	80
3.6.3	Mykotoxine	82
3.6.4	Wachstumssteigende Zusätze	85
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>90</b>
<b>5</b>	<b>Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten und tatsächlich erreichten Ziele</b>	<b>93</b>
<b>6</b>	<b>Literatur</b>	<b>97</b>

## Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celcius
µg	Mikrogramm
Abb.	Abbildung
ADF	acid detergent fiber
AP	Arbeitspaket
BB	Bodenbearbeitung
BBCH	Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie
BSA	Bundessortenamt
bzw.	beziehungsweise
C	Kohlenstoff
CBS	Centraalbureau voor Schimmelcultures
cm <sup>2</sup>	Quadratcentimeter
Cmik.	mikrobieller Kohlenstoff
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
Corg.	organischer Kohlenstoff
cv.	Sorte
dest	destilliert
DON	Deoxynivalenol
dt	Dezitonne
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay
et al.	(et alii, et aliae, et alia) und andere
etc.	et cetera
EW	Einwaage
F.	Fusarium
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gramm
GC/FID	Gaschromatographie/Flammenionisationsdetektor
h	Stunde
H.c.	Hemicellulose

---

H <sub>2</sub> O	Wasser
ha	Hektar
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Dikaliumsulfat
kg	Kilogramm
Kö.	Körner
kPA	Kilopascal
L.	Löß
LöV	Löß; Verwitterungsboden
LSD	least square differences
LT	Löß-Ton
M	Mol
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MW	Mittelwert
N	Stickstoff
n	Anzahl an Wiederholungen
NaOH	Natriumhydroxid (Natronlauge)
NDF	neutral detergent fiber
nm	Nanometer
Nmik.	mikrobieller Stickstoff
Nmin.	mineralisierter Stickstoff
NN	Normalnull
ns.	nicht signifikant
Ø	Durchschnitt
PE	Polyethylen
Pfl.	Pflanzen
PLFA	Phospholipid fatty acids
PP	Polypropylen
R.c.	Rohcellulose
rev. min <sup>-1</sup>	Umdrehungen pro Minute
rpm	revolutions per minute, „Umdrehungen pro Minute“

---

S	Schwefel
SF	Standardfehler
spp.	nicht im Einzelnen zu nennende Spezies einer Gattung Subspecies
t	Tonne
Tab.	Tabelle
TKG	Tausendkorngewicht
TS	Trockensubstanz
UK	United Kingdom
USA	United States of America
UV	Ultraviolett
WDH	Wiederholung
ZEA	Zearalenon

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Versuchsplan.....	20
Abb. 2: Wetterdaten auf der Versuchsstation Ihinger Hof in den Versuchsjahren 2007/2008 und 2008/2009 (Lufttemperaturen (Monatsmittel); Niederschlag (Monatssumme)).....	34
Abb. 3: Trockensubstanzabbau [%] nach einer Inkubationszeit von 98 Tagen.....	42
Abb. 4: C/N Verhältnis nach einer Inkubationszeit von 98 Tagen.....	42
Abb. 5: Trockenmasseabbau [%] von Maisstängeln über einen Inkubationszeitraum von 98 Tagen.....	43
Abb. 6: Trockensubstanzabbau [%] von Weizenstroh über einen Inkubationszeitraum von 98 Tagen.....	44
Abb. 7: C/N Verhältnis von Maisstängeln über einen Inkubationszeitraum von 98 Tagen.....	45
Abb. 8: C/N Verhältnis von Weizenstroh über einen Inkubationszeitraum von 98 Tagen.....	45
Abb.: 9: Trockensubstanzabbau [%] von Stängel über einen Zeitraum von 12 Wochen.....	47
Abb. 10: Trockensubstanzabbau [%] von Blätter über einen Zeitraum von 12 Wochen.....	47
Abb. 11: Trockensubstanzabbau [%] von Korn/Spindel über einen Zeitraum von 12 Wochen..	48
Abb. 12: Abbau [%] von Rohcellulose (R.c.), Hemicellulose (H.c.) und Lignin nach 2, 4 und 12 Wochen durch die Weißfäulepilze.....	48
Abb. 13: Abbau der organischen Substanz [%] in den Eingrabetiefen 5 cm, 15 cm und 30 cm nach einer Vergrabezeit von 105 Tagen.....	50
Abb. 14: Abbau der organischen Substanz [%] in den Eingrabetiefen 5 cm, 15 cm und 30 cm nach einer Vergrabezeit von 140 Tagen.....	50
Abb. 15: Abbau der organischen Substanz [%] in den Eingrabetiefen 5 cm, 15 cm und 30 cm nach einer Vergrabezeit von 175 Tagen.....	51
Abb. 16: Abbau [g] von Maisernterückständen in Litterbags über die Vegetationsdauer des Weizens im Versuchsjahr 2007/2008.....	52
Abb. 17: Abbau [g] von Maisernterückständen in Litterbags über die Vegetationsdauer des Weizens im Versuchsjahr 2008/2009.....	52
Abb. 18: Trockensubstanzabbau [%] und C/N Verhältnis nach einer Inkubationszeit von 98 Tagen.....	54
Abb. 19: Titrimetrische Bestimmung der Gasbildung (Zeitkurve).....	56
Abb. 20: Titrimetrische Bestimmung der Gasbildung (Gesamtvolumen).....	56
Abb. 21 Humusgehalt (Corg[% in der Trockensubstanz]) im Boden.....	57
Abb. 22: Veränderung des C/N Verhältnisses.....	58
Abb. 23: Mikrobieller Kohlenstoff im Boden bei Direktsaat und reduzierter Bodenbearbeitung nach Herbstinokulation mit Weißfäulepilzen am 1. Probenahmetermin (a) und 4. Probenahmetermin (b).....	59
Abb. 24: Mikrobieller Stickstoff im Boden bei Direktsaat und reduzierter Bodenbearbeitung nach Herbstinokulation mit Weißfäulepilzen am 1. Probenahmetermin (a) und 4. Probenahmetermin (b).....	59
Abb. 25: Ergosterolgehalt im Boden bei Direktsaat und reduzierter Bodenbearbeitung nach Herbstinokulation mit Weißfäulepilzen am 1. Probenahmetermin (a) und 4. Probenahmetermin (b).....	60
Abb. 26: PLFA – Konzentration zum Zeitpunkt der Bestockung bei Mulchsaat.....	61
Abb. 27: Veränderung des C/N Verhältnisses im Boden bei Direktsaat und reduzierter Bodenbearbeitung nach Herbstinokulation mit Weißfäulepilzen an 4 Probenahmeterminen.....	62
Abb. 28: Bonitur auf Stängelfäule im Versuchsjahr 2007/2008 aufgeteilt nach der Anzahl befallener Parzellen (pro 30 je Parzelle).....	70
Abb. 29: Bonitur auf Stängelfäule in den Versuchsjahr 2008/2009 aufgeteilt nach der Anzahl befallener Parzellen (pro 30 je Parzelle).....	71
Abb. 30: Bestandesbonitur auf Ährenfusarium [%]im Versuchsjahr 2007/2008.....	72
Abb. 31: Bestandesbonitur auf Ährenfusarium [%] im Versuchsjahr 2008/2009.....	73
Abb. 32: Darstellung des Maßnahmenkataloges für Bodenbearbeitung und Inokulummenge basierend auf den Ergebnissen der DON Messungen.....	76
Abb. 33: Darstellung des Maßnahmenkataloges für Bodenbearbeitung und Ausbringungszeit basierend auf den Ergebnissen der DON Messungen.....	77
Abb. 34: Abbau von Maisernterückständen (Trockensubstanzabbau [%]) durch die Weißfäulepilze <i>Cyathus striatus</i> 1 (a) und <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (b) bei unterschiedlichen Inokulationsmengen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen.....	79

Abb. 35: Veränderung des C/N Verhältnisses durch die Weißfäulepilze <i>Cyathus striatus 1</i> (a) und <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (b) bei unterschiedlichen Inokulationsmengen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen.....	80
Abb. 36: Trockensubstanzabbau [%] (a) und C/N Verhältnis (b) von <i>Cyathus striatus 1</i> und <i>Phanerochaete chrysosporium</i> inokuliertem Maisstroh nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen bei unterschiedlichen Bebrütungstemperaturen .....	82
Abb. 37: Abbau der Trockensubstanz [%] durch die Weißfäulepilze <i>Cyathus striatus 1</i> (a) und <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (b) bei unterschiedlichen Mykotoxinbehandlungen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen.....	83
Abb. 38: Veränderung des C/N Verhältnisses durch die Weißfäulepilze <i>Cyathus striatus 1</i> (a) und <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (b) bei unterschiedlichen Mykotoxinbehandlungen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen .....	84
Abb. 39: Abbau der Trockensubstanz [%] durch die Weißfäulepilze <i>Cyathus striatus 1</i> (a) und <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (b) bei unterschiedlichen Zusätzen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen. ....	87
Abb. 40: Veränderung des C/N Verhältnisses durch die Weißfäulepilze <i>Cyathus striatus 1</i> (a) und <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (b) bei unterschiedlichen Mykotoxinbehandlungen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen .....	89

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Liste der verwendeten Weißfäulepilze.....	17
Tabelle 2: Ligningehalt (%) der eingesetzten Maissorten .....	22
Tabelle 3: Versuchsplan mit den jeweiligen Prüffaktoren.....	35
Tabelle 4: Verwendete Mykotoxine .....	37
Tabelle 5: Auswahl an Nährstoffzusätzen.....	40
Tabelle 6: Vergleich der Abbaufähigkeit von verschiedenen Kulturarten (Mais und Weizen) durch die eingesetzten Weißfäulepilze.....	44
Tabelle 7: Vergleich der Abbaufähigkeit von verschiedenen Maissorten durch die eingesetzten Weißfäulepilze .....	54
Tabelle 8: Übersicht der PLFA für die untersuchten Organismen .....	61
Tabelle 9: Weizenkornenertrag (dt/ha) in 2007/2008 und 2008/2009 .....	65
Tabelle 10: Ährentragende Halme pro m <sup>2</sup> in 2007/2008 und 2008/2009 .....	66
Tabelle 11: Körner/Ähre 2007/2008 und 2008/2009 .....	67
Tabelle 12: Tausendkorngewicht (g) 2007/2008 und 2008/2009 .....	68
Tabelle 13: Rohproteingehalt (%) 2007/2008 und 2008/2009.....	69
Tabelle 14: Noten nach BSA – Richtlinie, 2000 .....	71
Tabelle 15: DON Gehalt (g/kg).....	74



## 1 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

Gesunde, qualitativ hochwertige Nahrungsmittel sind wichtige Voraussetzungen für einen vorbeugenden Verbraucherschutz und eine hohe Lebensmittelsicherheit. Die Belastung der Nahrung mit Rückständen jeglicher Art steht daher zunehmend im Mittelpunkt öffentlicher Diskussionen. Ährenfusariosen, verursacht durch einen Komplex unterschiedlicher *Fusarium*-Arten vor allem durch *Fusarium culmorum* und *Fusarium graminearum*, sind als Krankheiten bei Getreide schon seit Ende des 19. Jahrhunderts bekannt. Sie verursachen Ertragsausfälle, Qualitätseinbußen und erhöhte Mykotoxingehalte im Erntegut. Die gebildeten Mykotoxine führen zu einer Kontamination von Futter- und Brotgetreide und stellen eine potentielle Gefährdung von Tier und Mensch dar. Schätzungen der FAO zeigen, dass weltweit ca. 25 % der Weltproduktion von Nahrungsmitteln bzw. Futtermitteln mit Mykotoxinen kontaminiert sind (Bartels und Rodemann, 2003). Zur Minimierung einer Kontamination des Getreides mit Fusarientoxinen stehen pflanzenbauliche Maßnahmen, wie Fruchtfolge, Bodenbearbeitung, Fungizidbehandlung und Sortenwahl an oberster Stelle (Beck et al., 1997). Hohe Mykotoxingehalte werden besonders bei Weizen häufig nach Mais- und Getreidevorfrüchten, insbesondere nach Körnermais, und bei Minimalbodenbearbeitung statt Pflugeinsatz (Dill-Macky und Jones, 2000; Krebs et al., 2000) gefunden. Hierfür sind in erster Linie die auf der Bodenoberfläche liegenden, oftmals nur langsam verrottenden Maisstoppel verantwortlich. Sie stellen eine dauerhafte Infektionsquelle dar (Garbe et al., 2000). Ein Ansatzpunkt zu einer Verringerung des Infektionsrisikos und damit einer Sicherung von Kornertrag und Kornqualität ist daher im Rückstandsmanagement der mit *Fusarium* infizierten Ernterückstände zu suchen.

Entscheidend für die *Fusarium*infektion ist, neben obenauf liegenden Maisresten, die Witterung während der Weizenblüte. Aufgrund des nicht beeinflussbaren Witterungsrisikos und der Tatsache, dass Ährenfusariosen gegenwärtig auch durch Fungizide nicht sicher bekämpfbar sind, ist eine umfassende acker- und pflanzenbauliche Vorsorge unerlässlich. Der Anbau von Winterweizen nach Mais bietet jedoch oftmals zu wenig Zeit, um rottefördernde Stoppelbearbeitungsgänge sinnvoll durchzuführen. Da andere Bekämpfungsmaßnahmen für Fusarien in einigen Anbausystemen nur eingeschränkt zur Verfügung stehen (Fruchtfolgewechsel nicht immer praktikabel,

fehlende Sortenresistenzen etc.), stellt die Förderung des Abbaus von Ernteresten mittels ligninabbauender saprophytärer Pilzstämmen einen aussichtsreichen Ansatz dar, dem Fusariumbefall in der Folgefrucht auf biologische Art und Weise zu begegnen.

Übergeordnetes **Gesamtziel** des Projektes war daher die Entwicklung innovativer Vorsorgestrategien zur Einhaltung der Fusarium-Mykotoxingrenzwerte in Getreide, zur Unterstützung erosionsmindernder Mulchsaatenverfahren, zur Reduktion des Einsatzes von Fungiziden und zur Weiterentwicklung der guten fachlichen Praxis.

Zur Schließung von Wissenslücken in diesen Bereichen wurde im Rahmen dieses Forschungsprojektes der **systematische Einsatz von Pilzen** der Spezies *Cyathus* und anderer Saprophyten vornehmlich aus der Gruppe der Weißfäulepilze im Hinblick auf einen beschleunigten Abbau von Mais- und Weizenernteresten untersucht. Hierbei wurde gleichzeitig überprüft, ob durch einen beschleunigten Abbau der Erntereste der Infektionsdruck mit Ährenfusarium in der Folgefrucht Winterweizen minimiert und damit die Belastung des Erntegutes mit Mykotoxinen reduziert werden kann.

Konkret wurden im Projekt folgende **Fragestellungen** bearbeitet:

- Kann durch den Einsatz von Pilzen der Spezies *Cyathus* oder anderer Pilze die Anlaufphase bei der Zersetzung der Erntereste beschleunigt und somit ein schnellerer Abbau erzielt werden?
- Welche Rolle spielen der Ligningehalt der Maissorten, die Witterungs- und Ausbringungsbedingungen, die Intensität der Bodenbearbeitung sowie die ausgebrachten Inokulummengen?
- Welchen Einfluss haben die ausgebrachten Pilzstämmen auf den Humusgehalt im Boden?
- Kann durch die Förderung des Abbaus der Erntereste der Vorfrucht Mais der Infektionsdruck und die Belastung des Erntegutes durch mykotoxinbildende Fusarien in der Folgefrucht Winterweizen verringert werden?

## 1.1 Planung und Ablauf des Projektes

Zur Beantwortung der Fragen wurde das Projekt in fünf Arbeitspakete gegliedert. Der zeitliche Rahmen zur Bearbeitung der einzelnen Pakete wurde in einem Zeitplan festgehalten.

### Arbeitspaket I

Ziel von Arbeitspaket I war die Identifikation von zwei geeigneten Weißfäulepilzen bzw. effizienten Cyathusarten, die in der Lage sind, unter kontrollierten Bedingungen *in vitro* den Abbau von Mais- und Weizenstroh signifikant zu beschleunigen.

### Arbeitspaket II

In einem weiteren Schritt sollten in Arbeitspaket II die Grundlagen zum Verhalten der selektierten Pilze unter den Konkurrenzbedingungen eines nichtsterilen Bodenmilieus bei Einarbeitung in unterschiedliche Bodentiefen erarbeitet werden. Hintergrund war die Evaluierung der Konkurrenzkraft der ausgewählten Pilze unter feldähnlichen Bedingungen einschließlich der Gewinnung von Informationen zur möglichen praxisnahen Ausbringung des Pilzinokulums auf landwirtschaftliche Flächen.

### Arbeitspaket III

Ziel von Arbeitspaket III war die Prüfung eines möglichen Einflusses unterschiedlicher Maissorten auf die Abbaubarkeit bzw. Abbaugeschwindigkeit der hinterlassenen Ernterückstände durch die saprophytischen Pilze. Hierbei sollte besonderes Augenmerk darauf gelegt werden, ob der unterschiedliche Ligningehalt der eingesetzten Maissorten eine Rolle spielt.

### Arbeitspaket IV

In diesem Arbeitspaket wurde der Einfluss der selektierten saprophytischen Pilze auf den Humusgehalt des Bodens unter kontrollierten Bedingungen und im Feld geprüft. Es sollte dadurch ausgeschlossen werden, dass ein möglicher Abbau von Kohlenstoffgerüsten durch die Pilze gleichzeitig den Humusgehalt im Boden negativ beeinträchtigen und sich damit ein Einsatz saprophytärer Pilze langfristig auf die Bodenfruchtbarkeit auswirken könnte.

### **Arbeitspaket V**

Die Zusammenführung der Ergebnisse aus den ersten drei Arbeitspaketen sollte in der Entwicklung einer praxisnahen Methodik münden, die den Landwirten Anhaltspunkte und Richtlinien für eine Getreideproduktion mit reduzierten Fusarium- und Mykotoxingehalten, bei gleichzeitiger Unterstützung erosionsmindernder Mulchsaatverfahren liefert. Arbeitspaket V zielte daher auf die Überprüfung der Übertragbarkeit der Ergebnisse aus den Gefäßversuchen in die landwirtschaftliche Praxis. In einem zweijährigen Feldversuch wurden die in den Gefäßversuchen selektierten Pilzstämme auf eine mögliche Beschleunigung des Abbaus von Maisernterückständen untersucht. Gleichzeitig wurde geprüft, wann und in welcher Konzentration das Inokulum eingesetzt werden muss und ob der Befall mit Ährenfusarien bzw. die Mykotoxingehalte in der Folgekultur Weizen signifikant vermindert werden können.

Die Arbeitspakete konnten alle, mit kleinen versuchsbedingten Verzögerungen in der Projektlaufzeit bearbeitet werden. Eine Ergänzung der einzelnen Arbeitspakete um Detailuntersuchungen, deren Fragestellungen erst im Laufe der Untersuchungen auftraten, fand in Form von Bachelor- und Masterarbeiten statt. Die ergänzenden Untersuchungen sind im Detail unter Punkt 6 des Schlussberichtes aufgeführt.

## **1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde**

Gesunde, qualitativ hochwertige Nahrungsmittel sind wichtige Voraussetzungen für einen vorbeugenden Verbraucherschutz und eine hohe Lebensmittelsicherheit. Zahlreiche Hinweise und Untersuchungen haben gezeigt, dass unter bestimmten Bedingungen durch Pilze gebildete Giftstoffe, so genannte Mykotoxine, die Ernteprodukte belasten können und es bei deren Verzehr zu Vergiftungen bei Mensch und Tier kommen kann. Schätzungen der FAO zeigen, dass weltweit ca. 25 % der Weltproduktion von Nahrungsmitteln bzw. Futtermitteln mit Mykotoxinen kontaminiert sind (Bartels und Rodemann, 2003). In dieser Situation ist es besonders wichtig, mittels vorbeugender Maßnahmen gesundes Getreide zu produzieren und damit einen aktiven Verbraucherschutz zu praktizieren.

Ährenfusariosen können bei Getreide zu teilweise erheblichen Ertragsausfällen sowie zur Kontamination des Erntegutes mit gesundheitsschädlichen Mykotoxinen führen (Chelkowski, 1991; Snijders, 1990). Insbesondere die Fähigkeit der Fusariumarten zur Mykotoxinbildung spielt dabei eine besondere Rolle (Bottalico 1982). Aus einer Auswertung von Publikationen über das Vorkommen dieser Mykotoxine in Nord- und Mitteleuropa (Pettersson 1997) geht hervor, dass Deoxynivalenol (DON) das am häufigsten nachgewiesene Mykotoxin in ca. 50 % der untersuchten Weizen-, Gersten-, Roggen- und Haferproben ist. In Deutschland wurden mit der am 04.02.2004 verkündeten Verordnung zur Änderung der Mykotoxin-Höchstmengenverordnung und der Diätverordnung Höchstmengen für DON in Lebensmitteln festgelegt: für Speisegetreide und Getreideerzeugnisse liegen diese bei 500 µg/kg und für Brot, Kleingebäck und feine Backwaren bei 350 µg/kg.

Ährenfusariosen kommen in nahezu allen Anbaugebieten der Erde vor und besiedeln als potenzielle Saprophyten vom Boden oder von abgestorbenen Pflanzenresten aus die oberirdischen Pflanzenteile derjenigen Kulturpflanzenarten, die für sie als Wirt in Frage kommen (Cook, 1981). Zur Vermeidung einer Kontamination des Getreides mit Fusarientoxinen stehen pflanzenbauliche Maßnahmen, wie Fruchtfolge, Bodenbearbeitung, Fungizidbehandlung und Sortenwahl an oberster Stelle (Beck et al., 1997). Das Problem von Epidemien, besonders im Weizen, wird häufig nach Mais- und Getreidevorfrüchten, insbesondere nach Körnermais, und bei Minimalbodenbearbeitung statt Pflugeinsatz (Dill-Macky und Jones, 2000; Krebs et al., 2000) gefunden. Hierfür sind in erster Linie die auf der Bodenoberfläche liegenden, oftmals nur langsam verrottenden Maisstoppel verantwortlich. Sie stellen eine dauerhafte Infektionsquelle dar (Garbe et al., 2000). Ein Ansatzpunkt zu einer Verringerung des Infektionsrisikos und damit einer Sicherung von Kornertag und Kornqualität ist möglicherweise im Rückstandsmanagement der mit Fusarium infizierten Ernterückstände zu suchen.

### **Einflussfaktoren**

Eine Vielzahl von Faktoren nimmt Einfluss auf den Befall des Weizens mit Fusarien und beeinflusst damit den Mykotoxingehalt direkt oder indirekt.

### Einfluss der Fruchtfolge

Für einen Befall ist zunächst das Infektionspotential oder Ausgangsinokulum ausschlaggebend. Dieses Ausgangsinokulum wird vorwiegend von der Vorfrucht und indirekt durch die Art der Bodenbearbeitung beeinflusst. So können insbesondere Vorfrüchte wie Weizen oder Mais Ernterückstände hinterlassen, auf denen Fusarien angesiedelt sind. Verbleiben derartige, mit den Erregern kontaminierte, Ernterückstände auf der Bodenoberfläche, stellen sie günstige Infektionsquellen für den Befall des Weizens im nächsten Jahr dar.

Bezüglich der Fusarium-„Risikofaktoren“ ließ sich in Studien von Krauthausen et al. (2003) der fördernde Einfluss der Vorfrucht Mais belegen. Dabei lagen sowohl die Mittelwerte für die Fusariumgehalte, als auch die für das Mykotoxin Deoxynivalenol (DON), in Winterweizen nach Mais-Vorfrucht deutlich höher als in Winterweizen nach Nicht-Mais-Vorfrucht. Die besondere Bedeutung der Vorfrucht Mais wurde auch schon von zahlreichen anderen Autoren beschrieben (Tischner und Obst, 2002).

Aufgrund der Bedeutung des Inokulumpotentials des Schaderregers für die Infektion, kommt der Fruchtfolgegestaltung und hier insbesondere der Vorfrucht eine zentrale Stellung für das Befallsgeschehen zu. Gerade Mais übt als Vorfrucht vor Weizen einen stark infektionsfördernden Einfluss aus, in dessen Folge der Mykotoxingehalt im Weizen ansteigt. So hat Mais als Vorfrucht zu Weizen ein mehrfach höheres Gefährdungsrisiko als beispielsweise Gerste oder Zuckerrüben (Beck und Lepschy, 2000). Die Forderung, den Anteil der problematischen Kulturen in der Fruchtfolge zu reduzieren, ist aus phytopathologischer und Pflanzenschutzsicht verständlich. Allerdings werden heute Fruchtfolgen stärker aus ökonomischen Sachzwängen als aus pflanzenbaulichen und Pflanzenschutzgesichtspunkten begründet. Da in diesen Fällen Pflanzenrückstände auf der Bodenoberfläche das eigentliche Problem sind, müssen Kriterien der vorbeugenden Bekämpfung Berücksichtigung finden.

### Einfluss der Bodenbearbeitung

Pfluglose Bodenbearbeitungssysteme finden aus ökonomischen und arbeitswirtschaftlichen Gründen sowie aus Aspekten des Bodenschutzes zunehmend Anwendung in der landwirtschaftlichen Praxis. Die pfluglose Bodenbearbeitung nach der Vorfrucht Mais hat sich jedoch als Hauptrisikofaktor in Bezug auf den Ährenfusariumbefall und damit die Mykotoxinkontamination des nachfolgenden Weizens herausgestellt (Obst et al., 2000 Sturz und Johnston 1985; Summerell et al.

1990; Dill-Macky, 1996; Miller et al. 1998; Dill-Macky und Jones, 2000). Diese Untersuchungen haben gezeigt, dass das Risiko einer Kontamination mit DON bei Weizen nach Körnermaisvorfrucht und nichtwendender Bodenbearbeitung im Vergleich zu einer Pflugfurche im Minimum um das Vier- bis Fünffache erhöht ist. Ursache ist der Verbleib fusariumbefallener Maisrückstände als Inokulum auf der Bodenoberfläche und die nachfolgende durch UV-Licht induzierte Perithezien- und Ascosporenbildung von *Fusarium graminearum* (McMullen und Stack 1983; Sturz und Bernier 1987). Im Wesentlichen folgt der Ährenbefall und der Deoxynivalenolgehalt des Weizens nach Vorfrucht Mais der Inokulummenge, die zur Blüte des Weizens auf der Bodenoberfläche vorhanden ist (Krebs et al., 2000; Obst et al., 2000). Je weniger Pflanzenmaterial auf der Oberfläche verbleibt, umso geringer ist die Infektionsgefahr. Daraus ergibt sich zwangsläufig aus Sicht des Pflanzenschutzes die unabdingbare Forderung nach Einsatz des Pfluges insbesondere nach risikoreicher Vorfrucht wie z. B. Mais. Durch den Pflug werden Ernterückstände in den Boden eingearbeitet und führen schnell zur Rotte.

Nach pflugloser Bodenbearbeitung liegen bedeutend mehr Erntereste der Vorkultur auf der Bodenoberfläche, an denen Fusariumpilze zur Sporulation kommen und möglicherweise Ähreninfektionen hervorrufen können. Nach Mais-Vorfrucht lagen in Studien von Krauthausen et al. (2003) die Fusarium- bzw. Deoxynivalenol-Werte der Weizenproben bei pflugloser Bodenbearbeitung in allen Jahren grundsätzlich auf einem deutlich höheren Niveau als nach pflugloser Bodenbearbeitung anderer Vorfrüchte, unabhängig von einer besonders befallsfördernden Witterung. Die Ergebnisse von Krauthausen et al. (2003) zeigten darüber hinaus, dass in Winterweizen-Proben nach pflugloser Einarbeitung eine Erhöhung der Belastung dann auftrat, wenn günstige Infektionsbedingungen herrschten. Nach Mais-Vorfrucht konnten unter günstigen Infektionsbedingungen deutlich erhöhte DON-Werte in Winterweizenproben bei pflugloser Einsaat nach Silomais beobachtet werden.

Aus der geschilderten Problematik ergibt sich daher vorrangig die Forderung, dass kein Weizen nach Mais angebaut werden sollte. Sollte sich dennoch, aus welchen Gründen auch immer, der Zwang des Weizenanbaus nach Mais ergeben und eine Pflugarbeit nicht möglich sein, so müssen alle Maßnahmen ergriffen werden, die den Rotteprozess der Ernterückstände auf der Bodenoberfläche beschleunigen. Hierzu kann das Häckseln der Maisstoppeln und die gleichmäßige Verteilung und Einbringung der Ernterückstände in die Bodenoberfläche gehören, bzw. nach

neueren Erkenntnissen auch der Einsatz saprophytärer Pilze zur Förderung und Beschleunigung der Strohrotte. Unter Mulchsaatbedingungen kommt daher dem Management der Ernterückstände auf der Bodenoberfläche entscheidende Bedeutung zu, um den Stroh- und Stoppelabbau zu beschleunigen, bzw. das Erregerwachstum auf den Ernterückständen einzuschränken.

### **Saprophytäre Pilze – *Cyathus spp.***

Der Abbau von Lignocellulose durch *Cyathus spp.* wurde von Wicklow et al. (1984) in Weizenstroh und anderen ligninhaltigen Substraten nachgewiesen. Shinners-Carnelley und Tewari (2000) wiesen unter *in vitro* Bedingungen nach, dass durch Inokulation von Rapsstoppeln mit *Cyathus olla* im Vergleich zu nicht inokulierten Rapsstoppeln durch Lignin- und Hemizelluloseabbau Substrattrockenmasse abgebaut wurde. Gleichzeitig wurde ein ligninabbauendes Enzymsystem nachgewiesen (Shinners-Carnelley et al., 2002). Die genannten Studien lassen somit eine Eignung dieser Pilzgattung zur Beschleunigung des Abbaus der Ernterückstände nach Mais erwarten. Insbesondere die Interaktionen mit der natürlichen Mikroflora auf Ernterückständen bedürfen der Untersuchung, da die Studien unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt wurden.



## 2 Material und Methoden

### 2.1 Arbeitspaket I - Screening verschiedener Weißfäulepilze im Hinblick auf ihr Abbauvermögen von Mais und Weizenernteresten

#### 2.1.1 Eingesetzte Weißfäulepilze

Mittels einer Literaturstudie wurde nach verschiedenen Arten von Weißfäulepilzen recherchiert, die als besonders erfolgversprechend im Hinblick auf ihr Abbauvermögen von Mais- und Weizenernterückständen erschienen. *Cyathus olla* wurde hierbei als Standardpilz entsprechend den Versuchsvorgaben in die Untersuchungen einbezogen. Aus dem vorhandenen Spektrum wurden 13 Weißfäulepilze für die Durchführung von Arbeitspaket I selektiert (Tabelle 1).

**Tabelle 1: Liste der verwendeten Weißfäulepilze**

	Weißfäulepilz	Referenznummer	Herkunftsland
1	<i>Cyathus olla</i>	CBS 375.80	Argentinien
2	<i>Cyathus stercoreus</i>	CBS 534.97	UK
3	<i>Cyathus striatus</i>	CBS 379.80	Canada
4	<i>Cyathus berkeleyanus</i>	CBS 369.80	USA
5	<i>Cyathus limbatus</i>	CBS 335.81	Taiwan
6	<i>Cyathus helenae</i>	CBS 315.75	Canada
7	<i>Coprinus comatus</i>	CBS 552.97	Niederlande
8	<i>Phlebiopsis gigantea</i>	CBS 429.72	Niederlande
9	<i>Trametes versicolor</i>	CBS 114372	Spanien
10	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	CBS 481.73	Kazakhstan
11	<i>Bondarzewia berkeleyi</i>	CBS 312.36	USA
12	<i>Phellinus torulosus</i>	CBS 182.34	USA
13	<i>Cyathus striatus 1</i>		Deutschland (Ihinger Hof)

Die Stammkulturen dieser Pilze wurden vom Centraalbureau voor Schimmelcultures in Utrecht bezogen. *Cyathus striatus 1*, hier mit der Ziffer 13 gelistet, wurde auf der Versuchsstation Ihinger Hof der Universität gefunden und isoliert. Aus den Kulturen wurden Glycerin- und Erdedauerkulturen angelegt.

In Voruntersuchungen wurde das Wachstum der Pilze auf verschiedenen Kulturmedien (Malzextrakt-Fleischpepton Agar, Malzextrakt-Gemüseagar, Kartoffel – Dextrose Agar) getestet und Malzextrakt – Gemüseagar als ideales Nährmedium für die weitere Anzucht und Kultivierung der Pilze ausgewählt.

## 2.1.2 Versuchsdurchführung

### 2.1.2.1 Screening auf Mais- und Weizenstroh

Als Substrat für den Screeningversuch wurde im Jahr 2006 auf der Versuchsstation Ihinger Hof Maisstroh der Sorte Silas (36 % Stängel, 58 % Blätter, 6 % Kolben) und nach der Ernte 2007 Weizenstroh der Sorte Tommi gesammelt, getrocknet und mittels einer Wiley – Mühle (Trabender) auf eine Partikellänge von 1 mm gemahlen. Das gemahlene Stroh wurde anschließend in einem Laborversuch mit den 13 Weißfäulepilzen (siehe Tabelle 1) bzw. den vier ausgewählten Weißfäulepilzen *Cyathus olla*, *Cyathus helenae*, *Phanerochaete chrysosporium* und *Cyathus striatus* 1, in jeweils 3 Wiederholungen bei 25 °C im Keimschrank im Dunkeln 98 Tage lang inkubiert. Hierzu wurden jeweils 40 g Maisstroh (20 g Weizenstroh bzw. Maisstängel) und 150 (75) ml H<sub>2</sub>O dest. in 850 ml Weithalsgläsern eingefüllt und mit sechs 0,5 cm<sup>2</sup> großen mit Pilzmycel bewachsenen Agarstückchen beimpft. Das Maisstroh wurde zuvor durch zweimaliges Autoklavieren (121°C; 20 min) im Abstand von 24 h sterilisiert.

### 2.1.2.2 Unterschiedliche Bestandteile Stängel, Blatt, Kolben

In einer zusätzlichen Arbeit wurde das Abbauverhalten der Weißfäulepilze *Cyathus striatus* 1 und *Phanerochaete chrysosporium* getrennt nach Kolben, Blätter und Stängel geprüft. Ziel war, mögliche Unterschiede im Abbau durch die Pilze und Unterschiede zwischen den verschiedenen Maisbestandteilen aufzudecken.

Es wurde Körnermais der Sorte „Shorty“ verwendet. Zur Vorbereitung der Anlage des Versuchs wurde das Maismaterial getrennt nach Kolben, Blätter und Stängel zunächst auf 1 mm zerkleinert. Der Versuch wurde wie oben beschrieben durchgeführt. Die Inkubationsdauer des Versuches betrug 12 Wochen.

## 2.1.3 Analysen

### 2.1.3.1 Bestimmung der Trockensubstanz (%)

Zur Bestimmung des Trockensubstanzverlustes (%) durch die unterschiedlichen Pilze wurden die fermentierten Mais- bzw. Weizenstrohproben bei 60 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der Abbau durch die Pilze errechnete sich aus der Gewichts Differenz zwischen TS vor Versuchsbeginn und TS nach Versuchsende.

### 2.1.3.2 Bestimmung des C/N Verhältnisses

Aufgrund zahlreicher Schwankungen in ADF, NDF und Ligninwerten in den Proben und der Problematik, dass von den Weißfäulepilzen bevorzugt leichter verfügbare Substanzen im Abbausubstrat abgebaut wurden, wurde in Anlehnung an WIEDOW (2008) die Ligninanalyse durch C/N Analysen ersetzt.

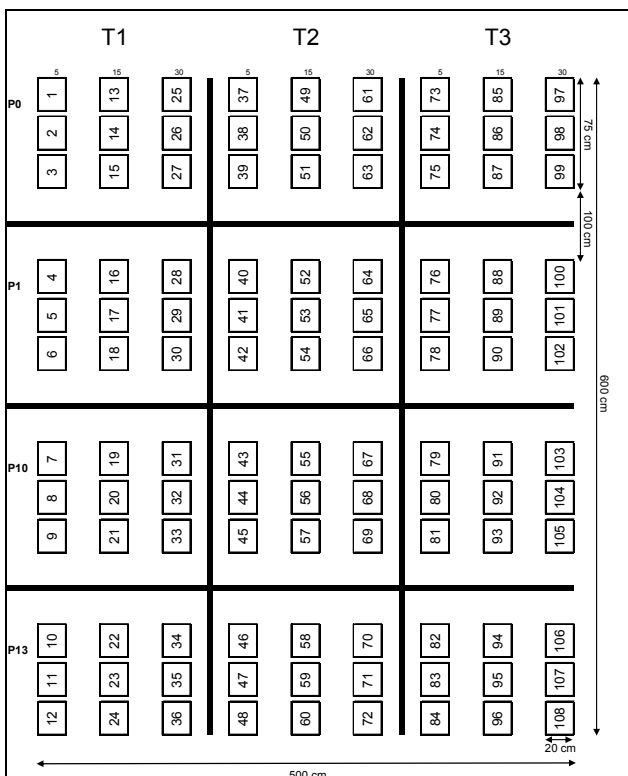
Über die Veränderung des C/N-Verhältnisses kann auf die Fähigkeit der Pilze geschlossen werden, Pflanzenmaterial abzubauen. Bei der Zersetzung wird CO<sub>2</sub> freigesetzt und N zum großen Teil in mikrobielle Biomasse eingebaut.

Zur Bestimmung der Veränderung des C/N Verhältnisses wurden die Proben zur besseren Homogenisierung nochmals auf 1 mm gemahlen, anschließend bei 60 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und in einer Einwaage von ca. 0.5 g in doppelter Bestimmung in einem Vario Max CNS Analyzer (Elementar, Hanau, Deutschland) analysiert. Dieser arbeitet nach dem Messprinzip der katalytischen Verbrennung unter Sauerstoffzufuhr und hohen Temperaturen (Dumas, 1962).

## 2.2 Arbeitspaket II - Evaluierung der Konkurrenzkraft der ausgewählten Pilze unter feldähnlichen Bedingungen einschließlich der Gewinnung von Informationen zur möglichen praxisnahen Ausbringung des Pilzinokulums auf landwirtschaftliche Flächen

### 2.2.1 Unter kontrollierten feldähnliche Bedingungen (Eingrabeversuch)

Der Versuch wurde im Freiland unter feldähnlichen Bedingungen (Abb. 1) im Lehrgarten der Universität Hohenheim angelegt. Es wurden die im Screeningversuch (Arbeitspaket I) selektierten Pilzstämme *Cyathus striatus 1*, *Phanerochaete chrysosporium* und als Referenz *Cyathus olla* eingesetzt. In rottebeständigen Jutesäckchen wurden 20 g getrocknete, auf 4 mm gemahlene Maisstängel eingewogen und mit 2 g inokulierten Roggenkörnern beimpft. Die Probesäckchen wurden in den ausgewählten Tiefen (5 cm, 10 cm, 15 cm) vergraben. Über einen Versuchszeitraum von 175 Tagen wurden in regelmäßigen Abständen Bodentemperatur und Bodenfeuchte in 5 und 15 cm Tiefe gemessen.



	Beschreibung
<b>T1 – T3</b>	Inokulationsdauer: T1=105 Tage, T2=140 Tage, T3=175 Tage
<b>P<sub>x</sub></b>	Inokulation: P0=Kontrolle, P1= <i>Cyathus olla</i> , P10= <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , P13= <i>Cyathus striatus 1</i>
<b>5, 15, 30</b>	Eingrabetiefen (cm)
<b>n</b>	laufende Nummer (Nummern in einem Block (z.B. 1-3) sind Wiederholungen)

Abb. 1: Versuchsplan

Die Säckchen wurden nach 105, 140 und 175 Tagen ausgegraben. Anschließend wurden sie grob vom Erdanhang gereinigt, im Trockenschrank bei 50 °C auf Gewichtskonstanz getrocknet und zur Bestimmung des Trockensubstanzverlustes gewogen. Aus der Differenz zur Einwaage von 20 g errechnete sich der Abbau an

Trockensubstanz. Zur Korrektur von möglichen Bodenverunreinigungen in der Probe wurde der Aschegehalt bestimmt und mit der Trockensubstanz verrechnet. Zusätzlich wurde das C/N Verhältnis bestimmt.

## **2.2.2 Unter Feldbedingungen (Teil des Feldversuches)**

In Ergänzung zum Eingrabeversuch (siehe 2.2.1) wurden im Rahmen des angelegten Feldversuches (siehe Punkt 2.5) in den Varianten Direktsaat+Kontrolle, Direktsaat+*Cyathus striatus* 1+Herbst doppelt und Pflug+*Cyathus striatus* 1+Frühjahr&Herbst einfach (siehe Tab. 3) Jutesäckchen (Litterbags) mit 80 g gehäckselten Maisstängeln in einem Metallgitter zum Schutz vor Nagern vergraben. Die Varianten mit Pilzbehandlung wurden zuvor mit 8 g Roggenkörnerinokulum des Pilzstammes *Cyathus striatus* 1 beimpft. Der Kontrollvariante wurden entsprechend sterile Roggenkörner zugesetzt.

Ziel des Versuchs war, die Gewinnung von Informationen im Hinblick auf die Ausbringungsmethodik für das Pilzinokulum. Der Versuch sollte die Fragestellung beantworten, ob das Inokulum auf die Bodenoberfläche, flach oder tief eingearbeitet werden sollte. Die Jutesäckchen wurden an 4 verschiedenen Terminen mit 3 Wiederholungen, Mitte Dezember, Mitte März, Ende April, und Mitte Juni entnommen, bei 60 °C getrocknet, auf 1 mm gemahlen und auf Trockensubstanzabbau (%) und Änderung des C/N – Verhältnisses analysiert.

## **2.3 Arbeitspaket III - Einfluss unterschiedlicher Maissorten auf die Abbaubarkeit bzw. Abbaugeschwindigkeit der hinterlassenen Ernterückstände durch die saprophytischen Pilze**

Der Versuch wurde (wie unter 2.1.2.1) als Gefäßversuch über einen Zeitraum von 98 Tagen unter kontrollierten Bedingung mit den aus dem Screeningversuch (AP I) selektierten Pilzstämmen *Cyathus olla*, *Cyathus helenae*, *Phanerochaete chrysosporium* und *Cyathus striatus* 1 durchgeführt. Als Substrat wurden Maissorten mit unterschiedlichen Ligningehalten (siehe Tab. 2) gewählt. Um eine bessere Homogenisierung des Ausgangssubstrates zu erreichen, wurde als Substrat nur Stängelmateriale eingesetzt. Hierzu wurden die Maispflanzen in die Maisbestandteile

Stängel, Blätter und Kolben getrennt, getrocknet und mittels einer Wiley – Mühle (Brabender) auf eine Partikellänge von 1 mm gemahlen. Jeweils 20 g Maisstroh und 75 ml H<sub>2</sub>O dest. wurden in 850 ml Weithalsgläsern eingefüllt und mit sechs 0,5 cm<sup>2</sup> großen mit Pilzmycel bewachsenen Agarstückchen beimpft. Das Maisstroh wurde zuvor durch zweimaliges Autoklavieren (121°; 20 min) im Abstand von 24 h sterilisiert.

**Tabelle 2: Ligningehalt (%) der eingesetzten Maissorten**

Sorte	Anfangsligningehalt (%)
Silas	3,7
Shorty	5,7
DK 315	7,0

Die Proben wurden nach 98 Tagen aus dem Keimschrank entnommen und auf Trockensubstanzabbau (%) und C/N (siehe 2.1.3) untersucht.

## **2.4 Arbeitspaket IV - Prüfung des Einflusses der Inokulation auf den Humusabbau und auf die im Feld bereits etablierten Mikroorganismen**

### **2.4.1 Humusabbau im Gefäßversuch**

In einem Gefäßversuch wurde der mögliche Einfluss der selektierten Pilzstämme *Cyathus olla*, *Cyathus helenae*, *Phanerochaete chrysosporium* und *Cyathus striatus* 1 über eine Zeitdauer von 3 Monaten auf eine mögliche Beeinflussung des Humusgehaltes im Boden geprüft. Als Substrat wurde feldfeuchter, unsteriler Oberboden von einem Feld der Versuchsstation Ihinger Hof in Jutesäckchen gefüllt und mit 0,5 cm<sup>2</sup> großen mit Pilzmycel bewachsenen Agarstückchen beimpft. Diese wurden in gasdichte Schottflaschen (250 ml) gehängt in welche zuvor 20 ml NaOH pipettiert wurden (siehe Bild 1). Die Flaschen wurden in vierfacher Wiederholung bei 25 °C und konstanter Feuchte im Keimschrank im Dunkeln inkubiert. Das im Boden freigesetzte CO<sub>2</sub> wurde an die Lauge absorbiert. Die Menge an gebundenem CO<sub>2</sub> wurde direkt nach Inokulation bis zu Versuchsende dreimal wöchentlich durch Titration nach der Methode von Isermeyer bestimmt (Fiedler, 1997). Nach

Versuchsende wurde der Säckcheninhalt auf die Menge an organischem Kohlenstoff (Corg.) sowie das C/N Verhältnis analysiert.



**Bild 1: eingehängtes Bodenprobensäckchen**

#### **2.4.2 Humusabbau auf dem Feld und Einfluss auf die im Feld vorhandenen Mikroorganismen**

In Ergänzung zum Gefäßversuch wurden im Rahmen des angelegten Winterweizenfeldversuches von 2007 – 2008 (siehe Tab. 3) Bodenproben in den Varianten (1 = Direktsaat+Kontrolle, 6 = Direktsaat+*Cyathus striatus* 1+Herbst doppelt, 7 = reduzierte Bodenbearbeitung+Kontrolle, 12 = reduzierte Bodenbearbeitung+*Cyathus striatus* 1+Herbst doppelt, 18 = Direktsaat+*Phanerochaete chrysosporium*+Herbst doppelt und 24 = reduzierte Bodenbearbeitung +*Phanerochaete chrysosporium*+Herbst doppelt) in 0 – 10 cm Einstichtiefe an 4 Terminen

- Versuchsbeginn (Oktober)
- Ende April (vor N-Düngung Schossen)
- Ährenschieben (Ende Mai vor N-Spätdüngergabe)
- Ernte im August
- Anfang Oktober vor Etablierung der Folgekultur

entnommen. Somit konnte zusätzlich zum Laborversuch der Humusabbau durch die auf das Feld ausgebrachten Pilze *Cyathus striatus* 1 und *Phanerochaete chrysosporium* unter Praxisbedingungen über einen längeren Zeitraum unter Freilandbedingungen untersucht werden. Erfasst wurden die Parameter

Humusgehalt (C<sub>org</sub>) durch faktorielle Umrechnung des Kohlenstoffs im Boden und das C/N Verhältnis.

Um kritischen Stimmen in der Literatur im Hinblick auf eine unkontrollierte Vermehrung der Weißfäulepilze bzw. einer nachhaltigen Störung des Bodenmilieus begegnen zu können, wurden in Ergänzung zur Untersuchung des Humusgehaltes die Beurteilung möglicher Änderungen in der Population der Bodenmikroorganismen durch folgende weitere Analysen durchgeführt:

- **Bestimmung der mikrobiellen Biomasse (C<sub>mik</sub> und N<sub>mik</sub>) mittels Fumigation – Extraktion**

Die mikrobiellen Kohlenstoff- (C<sub>mik</sub>) und Stickstoffgehalte (N<sub>mik</sub>) wurden mittels Chloroform-Fumigation-Extraktions-Methode (CFE) gemessen. 10 g feldfeuchter Boden wurde mit 40 ml 0,5 M Kaliumsulfatlösung versetzt, 30 min mit 250 U/min geschüttelt und bei 4560g 30 min zentrifugiert. Der Überstand wurde mit einer Pipette mit Filter (2 µm) abgenommen und mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:4 verdünnt. Je Probe wurden nochmals 10 g eingewogen, diese dann 24 h mit alkoholfreiem Chloroform im Exsikkator fumigiert, damit die Zellen lysieren und den mikrobiellen Kohlenstoff und Stickstoff frei geben. Anschließend wurden die Proben ebenfalls mit Kaliumsulfatlösung extrahiert und mit Wasser verdünnt.

Mit einem Wasseranalysator „Dimatoc 100“ (Dimatec Analysetechnik GmbH, Essen) wurden der organische Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt sowohl der fumigierten als auch der nichtfumigierten Proben gemessen.

### Berechnungen

Aus der Differenz der fumigierten und nichtfumigierten Probe lässt sich nach folgender Formel C<sub>mik</sub> und N<sub>mik</sub> berechnen:

$$C_{\text{mik}} [\mu\text{g} / \text{g TS}] = \frac{(\text{Vollprobe} \times 4 - \text{Leerprobe} \times 4) \times 40 \text{ ml} \times 100}{10 \text{ g} \times \text{TS} [\%] \times 0,45}$$

$$N_{\text{mik}} [\mu\text{g} / \text{g TS}] = \frac{(\text{Vollprobe} \times 4 - \text{Leerprobe} \times 4) \times 40 \text{ ml} \times 100}{10 \text{ g} \times \text{TS} [\%] \times 0,54}$$



Vollprobe = C-, bzw. N-Gehalt fumigierte Probe [ $\mu\text{g/g}$ ]

Leerprobe = C-, bzw. N-Gehalt nicht-fumigierte Probe [ $\mu\text{g/g}$ ]

4 = Verdünnungsfaktor

40 ml = Extraktionsvolumen

100/TS = Umrechnung auf TS

10 g = Einwaage

0,45 bzw. 0,54 = extrahierbarer Teil des in der mikrobiellen Biomasse gebundenen C bzw. N

- **Bestimmung des Ergosterolgehaltes mit HPLC als Maß für die Pilzbiomasse**

Ergosterol ist ein wichtiger Bestandteil von pilzlichen Zellmembranen und wird daher als Biomarker der Biomasse von Pilzen eingesetzt. Sterole machen bis zu 1 % der TS der Pilze aus, wobei Ergosterol bei der Mehrzahl der Pilze einen Anteil von 90 % und mehr einnehmen kann. Ergosterol ist empfindlich gegenüber Trockenheit und insbesondere gegenüber UV-Licht.

Die Bestimmung des Ergosterolgehaltes erfolgte nach einer Methode von JÖRGENSEN et al. (1996). Es wurden 2 g feuchter Boden mit 50 ml Ethanol versetzt und geschüttelt (30 min, 250 U/min). Anschließend wurden die Proben 30 min lang bei 4560g zentrifugiert. Vom Überstand wurden 10 ml im Rotations-Vakuum-Konzentrator bei 50°C und 1 bar Unterdruck eingengt. Der Extrakt wurde in 1 ml Methanol gelöst und über einen Spritzenfilter (Cellulose-Acetat-Filter, 0,45  $\mu\text{m}$ ) in 2 ml Braunglas-HPLC-Vials überführt. Die Messung erfolgte durch einen Flüssigkeitschromatographen (HPLC System Gold 125 Solvent Module, Beckman Coulter) mit folgenden Konditionen:

Säule:	250 mm × 4,6 mm, Spherisorb ODS II, 5 $\mu\text{m}$ diameter = solid phase
Vorsäule:	MetaGuard 4,6 mm Pursuit 5u C18, Varian
Detektor:	UV-Detektor (System Gold 166 Detector, Beckman Coulter)
Wellenlänge:	282 nm
Laufmittel:	100% Methanol

Flussrate: 1,0 ml/min

Injektionsvolumen: 20µl

Zusätzlich zu den Proben wurden für die Erstellung einer Eichgeraden Standardlösungen mit Ergosterolkonzentrationen von 0,10 µl, 0,20 µl, 0,50 µl, 1,00 µl und 2,00 µl gemessen.

## Berechnungen

Durch folgende Formel wurden die Ergosterolwerte berechnet:

$$\text{Ergosterol } [\mu\text{g/g TS}] = \frac{c \times 1 \text{ ml} \times 50 \text{ ml} \times 100}{10 \text{ ml} \times 2 \text{ g} \times \text{TS}}$$

c = Konzentration Probe [µg/ml] = Fläche Probe/Steigung der Standardgeraden

1 ml = Volumen des Methanols

50 ml = Extraktionsvolumen

100/TS = Umrechnung auf TS

10 ml = Eingedampftes Volumen der Extraktionslösung

2 g = Einwaage

- **Bestimmung der Phospholipidfettsäuren (PLFA)**

Die Bestimmung der Phospholipidfettsäuren (PLFA) erfolgte nach der Methode nach Frostegård (1996). Bei dieser Methode werden die Fettsäuren mit einer Einphasenmischung aus Chloroform, Methanol und wässrigen Citratpuffer (Bligh and Dyer-Reagenz) aus dem Boden extrahiert, durch eine darauffolgende Phasentrennung isoliert und über Festphasenextraktion in neutrale, Glyco-, und Phospholipide aufgetrennt. Die Phospholipide werden dann durch eine alkalische Methanolyse in Fettsäuremethylester überführt, die mittels GC/ FID bestimmt werden können.

Alle Glaswaren wurden vor Gebrauch zweimal mit jeweils 2 ml Chloroform gespült. Pro Durchgang wurden zwei Bildproben angelegt. Zur Lipidextraktion wurden 2 g feuchter Boden mit 9,2 ml Bligh and Dyer (Chloroform:Methanol:Citrat

Puffer = 1:2:0,8) versetzt, 2 h bei 125 U/min auf einem Horizontalschüttler geschüttelt und anschließend zentrifugiert (10 min, 2500 rpm). Der Überstand wurde abgenommen, dann wurde der Bodenrückstand mit 2,5 ml Blich and Deyer gewaschen, erneut zentrifugiert und der Überstand wieder überführt. Zum Überstand wurden je 3,1 ml Chloroform und Citratpuffer hinzugegeben, 10 min bei 250 U/min geschüttelt und 10 min bei 2500 rpm zentrifugiert. Aus der unteren organischen Phase wurden 4 ml entnommen, in 10-ml-Zentrifugengläser überführt, im Stickstoffstrom bei 40°C eingedampft und danach sofort verschlossen, da die Proben sauerstoffempfindlich sind.

Für die Lipidfraktionierung in einem Bakersystem mussten zuerst die Extraktionssäulen zweimal mit je 1 ml Chloroform aktiviert werden. Der eingedampfte Extrakt wurde in 300 µl Chloroform gelöst und mit einer Pipette auf die Extraktionssäule gegeben. Die Zentrifugengläser wurden anschließend zweimal mit je 300 µl Chloroform gespült und ebenfalls auf die Säule gegeben.

Zunächst wurden die neutralen Lipide mit 5 ml Chloroform und die Glycolipide mit 20 ml Aceton aus der Säule entfernt. Anschließend wurden die Phospholipide mit 5 ml Methanol eluiert und dann bei 40°C im Stickstoffstrom eingedampft.

Für die Messung wurde der eingeeengte Extrakt in 100 µl Isooctan gelöst und in 2-ml-Vials überführt. Die Messung am Gaschromatograph (Perkin Elmer, AutoSystem XL) erfolgte zu folgenden Konditionen:

Kapillarsäule:	HP-5 (quervernetztes 5% Phenyl-Methylsilikon, 0,2 mm Innendurchmesser, 0,33 µm Filmdicke, 50 m Länge)
Trärgas:	Helium 5.0, 250 KPa Durchflussgeschwindigkeit
Temperatur:	70°C (2 min Haltezeit), bis 160°C 30 K/min, bis 280°C 3 K/min (15 min Haltezeit)
Injektortemperatur:	260°C
Split:	30.0
Detektor:	Flammenionisations-Detektor (FID), Temperatur = 280°C
Gasdetektor:	450,0 ml/min synthetische Luft 5.0 (kohlenwasserstofffrei), 45,0 ml/min Wasserstoff 5.0

## Berechnungen

$$c_{\text{BW}} = \frac{A_{\text{FM}} \times c_{\text{IS}} \times 1,5 \times 1000}{A_{\text{IS}} \times \text{MG}_{\text{FM}}}$$

$c_{\text{BW}}$  = Konzentration des Blindwertes [nmol]

$A_{\text{FM}}$  = Fläche Fettsäuremethylester

$c_{\text{IS}}$  = Konzentration des internen Standards [ $\mu\text{g}$ ]

$A_{\text{IS}}$  = Fläche des internen Standards

$\text{MG}_{\text{FM}}$  = Molekulargewicht des Fettsäuremethylesters [ $\mu\text{g}/\mu\text{mol}$ ]

1,5 = Umrechnungsfaktor für den Aliquant von 4 ml aus 6 ml der organischen Phase nach der Phasentrennung

1000 = Umrechnungsfaktor auf nmol

$$c = \frac{\left( \frac{A_{\text{FM}} \times c_{\text{IS}} \times 1,5 \times 1000}{A_{\text{IS}} \times \text{MG}_{\text{FM}}} - c_{\text{BW}} \right) \times 100}{\text{EW} \times \text{TS}}$$

$c$  = Konzentration PLFA [nmol/g]

$\text{EW}$  = Einwaage [g]

$\text{TS}$  = Trockensubstanz [%]

- **Bestimmung der Enzymaktivitäten der Enzyme Glucosidase, Xylosidase, Phenoloxidase und Peroxidase**

**MUF ( $\beta$ -Glucosidase und  $\beta$ -Xylosidaseaktivität)**

Bei der MUF-Analyse wurden die Enzyme  $\beta$ -Glucosidase und  $\beta$ -Xylosidase erfasst. Vor der Analyse wurden alle Glaswaren, Pipettenspitzen und anschließend die hergestellte Pufferlösung autoklaviert.

Zur Herstellung des Puffers wurden 10,3365 g MES (Morpholinoethansulfonsäure) in Wasser gelöst und auf 0,5 l aufgefüllt. Zur Herstellung der Standardlösung wurde zuerst eine 10 mM MUF-Vorratslösung hergestellt. Hierfür wurden 0,0881 g 4-Methylumbelliferon in 25 ml Methanol gelöst und anschließend mit sterilisiertem Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Für die 10  $\mu\text{M}$  MUF-Arbeitslösung wurden aus der

Vorratslösung 100 µl entnommen und 900 µl MES-Puffer hinzugegeben. Aus dieser Lösung wiederum wurden 500 µl entnommen und 49,5 ml MES-Puffer zugefügt.

Für die Analyse der  $\beta$ -Glucosidase wurde eine Substatlösung aus 4-Methylumbelliferyl- $\beta$ -D-Glucosid ( $\beta$ -Glu) und für die  $\beta$ -Xylosidase eine Lösung aus 4-Methylumbelliferyl- $\beta$ -D-Xylopyranosid (Xyl) verwendet. Es wurden 1/10000 des Substatmolgewichts (0,0338 g  $\beta$ -Glu und 0,0308 g Xyl) zuerst in je 300 µl Dimethyl Sulfoxid gelöst und anschließend 9,7 ml steriles Wasser hinzugegeben. Aus dieser Lösung wurde ein Aliquot von 5 ml entnommen und mit 45 ml der sterilen Pufferlösung vermischt.

### Durchführung

Es wurden je Probe 1 g feuchter Boden eingewogen, mit 50 ml sterilem Wasser versetzt und mittels Ultraschallstab 2 min lang bei 35%-iger Leistung aufgeschlossen.

Pro Mikroplatte wurden acht Proben mit drei Wiederholungen pro Substrat pipettiert (50 µl Boden, 50 µl Puffer und 100 µl Substratlösung pro Well). Für die Standardmikroplatte wurden 50 µl Bodensuspension von jeder Probe und 0, 10, 20, 50, 80 und 120 µl des MUF-Standards pipettiert. Hieraus ergaben sich Konzentrationen des Standards in Höhe von 0, 100, 200, 500, 800 und 1200 pmol/Well. Während des Pipettierens wurden die Bodensuspensionen mittels Magnetrührer gerührt.

Die Mikroplatten wurden in einem Brutschrank ohne Umluft 30 min bei 30°C inkubiert. Die Messung erfolgte an einem Microplate Fluorescence Reader FLx800® der Firma Bio-Tek Instruments inc. bei einer Wellenlänge von 360 bis 460 nm im Abstand von 0, 30, 60, 120 und 180 min. Die Mikroplatten verbleiben zwischen den Messungen im Brutschrank bei 30°C.

### Berechnungen

Zuerst erfolgte eine Berechnung der Steigungen der Standardkonzentrationen zu den fünf Messzeitpunkten für die jeweilige Bodenprobe, woraus der Mittelwert errechnet wurde. Die Steigungen der Proben mit den zugesetzten Substratlösungen

wurden über den gesamten Messzeitraum ermittelt und anschließend der Mittelwert der drei Wiederholungen gebildet.

Die Fluoreszenz in pmol/Well\*min ergibt sich aus dem Quotienten der Steigungen:

$$F_{p/min} = \frac{m_{\text{Boden}}}{m_{\text{Std}}}$$

$F_{p/min}$  = Fluoreszenz [pmol/well\*min]

$m_{\text{Boden}}$  = Steigung der Bodenprobe

$m_{\text{Std}}$  = Steigung

Die Umrechnung auf die Enzymaktivität in nmol/g TS\*h erfolgt nach der Formel:

$$F_{n/h} = \frac{F_{p/min} \times 100}{1 \text{ g} \times \text{TS} [\%]} \times 60$$

$F_{n/h}$  = Fluoreszenz [nmol/gTS\*h]

100/TS = Umrechnung auf TS

1 g = Einwaage

60 = Umrechnungsfaktor auf h

### **Phenoloxidase- und Peroxidaseaktivität**

Zur Analyse der Phenol- und Peroxidaseaktivität wurde eine Methode nach JOHNSEN & JACOBSEN (2007) angewandt. Alle Glaswaren, Pipetten und Pufferlösungen wurden autoklaviert. Für den Natriumacetatpuffer (50 mM) wurde 6,804 g Natriumacetat in Wasser gelöst und auf 1 l mit Wasser aufgefüllt. Der pH-Wert wurde mit 12%-iger Essigsäure auf pH 5 eingestellt. Für einen Liter Natriumcitratpuffer (205 mM, pH 4) wurden 6,804 g Natriumcitrat in destilliertem Wasser gelöst und anschließend mit 1 M Citronensäure der pH eingestellt. Zur Herstellung der Substratlösung wurden in 2,5 ml Dimethylsulfoxid zuerst 0,0721 g Tetramethylbenzidin gelöst und anschließend 2,5 ml steriles Wasser hinzugefügt. Aus dieser 60 mM Lösung wurde ein Aliquot von 3 ml mit 12 ml Natriumcitratpuffer versetzt.

## Durchführung

Je Probe wurden 0,4 g Boden eingewogen und mit 50 ml Natriumacetatpuffer versetzt. Mit einem Ultraschallstab wurden die Proben 2 min lang bei 35%-iger Leistung aufgeschlossen. Es wurden 200 µl Bodensuspension und 50 µl Substratlösung, bzw. Acetatpuffer für die Blindproben, in die Mikroplatten pipettiert. Die Negativkontrolle bestand aus 200 µl Acetatpuffer und 50 µl Substratlösung. Für die Proben zur Messung der Peroxidaseaktivität wurden pro Well zusätzlich 10 µl Wasserstoffperoxid hinzugegeben. Während des Pipettierens wurden die Bodenproben von einem Magnetrührer gerührt. Es gab jeweils drei analytische Wiederholungen.

Die Messung erfolgte an einem Absorbance Microplate Reader EL x 808 der Firma Bio-Tek Instruments inc. bei einer Wellenlänge von 630 nm im Abstand von 0, 15, 30, 45 und 60 min. Zwischen den Messungen wurden die Mikroplatten in einem Brutschrank ohne Umluft bei 25°C inkubiert.

## Berechnungen

Gesamtaktivität = Probe  $\text{H}_2\text{O}_2$  – Blindprobe  $\text{H}_2\text{O}_2$

Phenoloxidase = Probe – Blindprobe

Peroxidase = Gesamtaktivität – Phenoloxidase

$$\text{Enzymaktivität [E 630nm / gTB * h]} = \frac{m \times 100}{\text{EW} \times \text{TS}} \times 60$$

m = Steigung über die fünf Messzeitpunkte

EW = Einwaage [g]

TS = Trockensubstanz [%]

## 2.5 Arbeitspaket V - Prüfung der entwickelten Methodik in der Praxis im Rahmen eines zweijährigen Feldversuchs

Auf der Versuchsstation Ihinger Hof (480 m NN, 686 mm) wurde ein 2-jähriger Feldversuch in der Fuchtfolgekonstellation Weizen nach Mais durchgeführt. Im Frühjahr 2007 wurde auf einem Schlag (LT, 4LöV, 65/62) Mais cv. Shorty (10 Pfl. / m<sup>2</sup>; Reihenabstand: 0,75 m) als Mulchsaat nach Weizen auf 72 Parzellen (3\*10 m) angebaut. In 2008 wurde anstelle der Sorte Shorty die fusariumanfälligerere Sorte Fuxxol verwendet. Die Bodenkennzahlen dieses Schlags waren L, 3LöV, 73/70. Das Stickstoffangebot wurde mit 130 kg N ha<sup>-1</sup> (einschließlich N<sub>min</sub>) bemessen. Der Abstand zwischen den Parzellen betrug 15 m, in den Zwischenräumen der Parzellen wurde Lein angebaut.

Die Maispflanzen wurden kurz vor der Ernte auf einen möglichen Befall mit Stängelfäule untersucht. Die Bonitur erfolgte durch Prüfung der Bruch- und Knickfestigkeit der Maispflanzen. Je Parzelle wurden 30 Pflanzen entsprechend der BSA-Richtlinie 2000 auf Fusariumbefall überprüft. Pflanzen, mit Verdacht auf Fusariumbefall wurden durch Prüfung der Elastizität durch Drücken des Stängels (BSA – Richtlinie, 2000) genauer untersucht.

Nach der Ernte wurden verschiedene Ertrags- und Qualitätsparameter wie Kornertrag, Ertragsaufbau (TKG, Ähren pro m<sup>2</sup>, Anzahl Körner pro Ähre) und Rohproteingehalt des Kornguts (N im Korn, Rohproteingehalt berechnet), untersucht. Zusätzlich wurden Stängel- und Kornproben aus jeder Parzelle entnommen, um den DON – Gehalt (Elisa) der Erntereste in den einzelnen Parzellen zur Ermittlung des potentiell vorhandenen Fusariuminokulums zu bestimmen.

Die Erntereste wurden auf dem Feld belassen und entsprechend der eingesetzten Bodenbearbeitungssysteme (Pflug, Mulchsaat, Direktsaat) in den Boden eingearbeitet. Als Folgefrucht wurde Winterweizen der Sorte Ritmo (Fusariumanfälligkeit: 7, BSA-Liste) auf den Parzellen mit einer Saatstärke von 300 Kö / m<sup>2</sup> (2007) bzw. 360 Kö / m<sup>2</sup> (2008) ausgesät. Als Versuchsfaktoren wurden die Pilzart, die Bodenbearbeitung, der Ausbringungszeitpunkt und die Inokulummenge variiert (siehe Versuchsplan Tab. 3).

Der Feldversuch wurde als vollständig randomisierte Blockanlage angelegt.



### 1.) Bodenbearbeitung:

Im Versuch wurden zwei unterschiedliche Bodenbearbeitungssysteme untersucht. In der Direktsaatvariante wurden die gesamten gehäckselten Erntereste oberflächlich auf der Parzelle belassen und keine Bodenbearbeitung durchgeführt. In der reduzierten Bodenbearbeitung (Mulchsaatvariante) wurden die Erntereste mit einer Dutzi 15 cm tief in den Boden eingearbeitet. Zusätzlich wurden drei Kontrollvarianten in den Versuch integriert, davon wurde eine gepflügt, eine gefräst, auf der vierten fand eine Direktsaat statt. Die Kontrollvariante diente der Untersuchung des Einflusses der Einarbeitung von Ernteresten und Pilzmaterial auf die Infektion des Weizens mit *Fusarium*. Auf einer Pflugvariante wurde zusätzlich *Cyathus striatus 1* in der Ausprägung Herbst&Frühjahr einfach inokuliert.

### 2.) Ausbringungszeitpunkt:

Im Versuch wurden zwei unterschiedliche Ausbringungszeitpunkte (Herbst, Frühjahr) des Pilzinokulums geprüft, um mögliche Umwelteinflüsse (Temperaturoptima etc.) zu evaluieren.

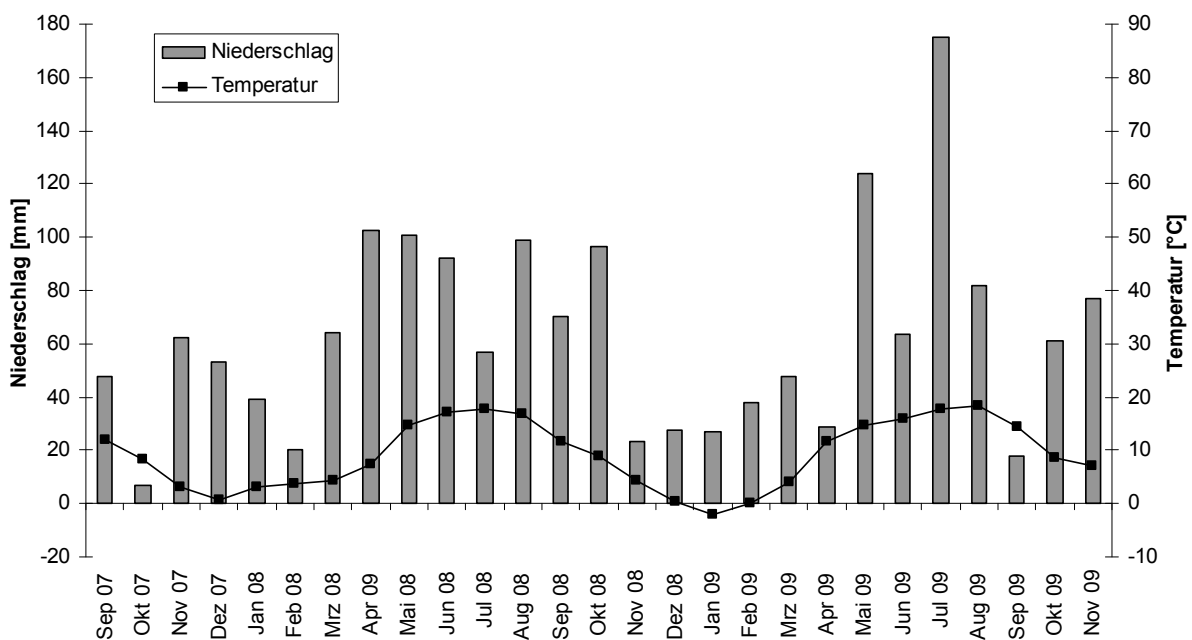
### 3.) Inokulummengen:

Um zu prüfen, wie viel Inokulum für einen effektiven Abbau der verbleibenden Erntereste durch die Pilze notwendig ist, wurden zwei verschiedene Mengen an Inokulum (150 g/Parzelle und 300 g/Parzelle) ausgebracht. Die benötigte einfache Menge an Inokulum (150 g/Parzelle) wurde analog zu CHEN (1995) berechnet. Sie ist bezogen auf die geschätzte Gesamtmenge an Biomasse pro Parzelle, abgeleitet vom gemessenen Kornertrag und einem Korn - Stroh Verhältnis von Mais von 1,3. Das Inokulum wurde in Form von Körnerbrut auf Roggen ausgebracht. Erweitert zum Projektantrag wurden in ausgewählten Varianten Jutesäckchen (Litterbags) mit gehäckseltem Maisstängeln vergraben. Die Säckchen dienten der gezielten Überprüfung und Quantifizierung eines möglichen TS-Abbaus durch die Weißfäulepilze im Feld (siehe 2.2.2).

Zwischen den Parzellen wurde in Windrichtung eine fusariumresistente Sorte Dekan (Fusariumanfälligkeit: 2, BSA-Liste) mit einer Saatstärke von 300 Kö / m<sup>2</sup> (2007) bzw. 340 Kö / m<sup>2</sup> (2008) nach Pflugeinsatz angebaut. Diese zweite Weizensorte wurde gewählt, um eine mögliche Windübertragung von *Fusarium* zwischen den einzelnen Varianten zu vermeiden. Herbizidmaßnahmen wurden betriebsüblich auf dem Schlag

durchgeführt. Auf Fungizidmaßnahmen wurde verzichtet, um eine Beeinflussung des Wachstums der Weißfäulepilze zu verhindern. Gedüngt wurde an 2 Terminen mit Harnstoff und an einem mit Piamon, um eine ausreichende Stickstoffdüngung zu gewährleisten. Im Sommer 2008 und 2009 wurden an drei Terminen Bestandesbonituren auf Fusariumbefall ab Blühbeginn (BBCH 65) im wöchentlichen Abstand durchgeführt. In einem visuellen Monitoring wurden an 5 zufällig ausgewählten Stellen pro Parzelle 30 Ähren auf ihre prozentuale Befallsdichte beurteilt und auf den Bestand (ha) übertragen.

Bei der Ernte wurden verschiedene Ertrags- und Qualitätsparameter wie Kornertrag, Ertragsaufbau (TKG, Ähren pro m<sup>2</sup>, Anzahl Körner pro Ähre) und Rohproteingehalt des Kornguts (N im Korn, Rohproteingehalt berechnet) und die DON – Gehalte nach Anleitung von r-biopharm (RIDASCREEN®FAST DON) untersucht.



**Abb. 2: Wetterdaten auf der Versuchsstation Ihinger Hof in den Versuchsjahren 2007/2008 und 2008/2009 (Lufttemperaturen (Monatsmittel); Niederschlag (Monatssumme))**

Tabelle 3: Versuchsplan mit den jeweiligen Prüffaktoren

Variante	Pilzstamm	Bodenbearbeitung	Ausbringungszeit& Konzentration	Wh 1	Wh2	Wh3
1	<i>Cyathus striatus 1</i>	<b>Direktsaat</b>	Kontrolle	1	2	3
2			Frühjahr & einfach	4	5	6
3			Herbst & einfach	7	8	9
4			Frühjahr+Herbst & je einfach	10	11	12
5			Frühjahr & doppelt	13	14	15
6			Herbst & doppelt	16	17	18
7		<b>red. Bodenbearbeitung Mulchsaat</b>	Kontrolle	19	20	21
8			Frühjahr & einfach	22	23	24
9			Herbst & einfach	25	26	27
10			Frühjahr+Herbst & je einfach	28	29	30
11			Frühjahr & doppelt	31	32	33
12			Herbst & doppelt	34	35	36
13		<b>Pflug</b>	Frühjahr+Herbst & je einfach	37	38	39
14	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	<b>Direktsaat</b>	Frühjahr & einfach	40	41	42
15			Herbst & einfach	43	44	45
16			Frühjahr+Herbst & je einfach	46	47	48
17			Frühjahr & doppelt	49	50	51
18			Herbst & doppelt	52	53	54
19		<b>red. Bodenbearbeitung Mulchsaat</b>	<b>Pflug</b> / Kontrolle	55	56	57
20			Frühjahr & einfach	58	59	60
21			Herbst & einfach	61	62	63
22			Frühjahr+Herbst & je einfach	64	65	66
23			Frühjahr & doppelt	67	68	69
24			Herbst & doppelt	70	71	72

 Parzellen, in denen Jutesäckchen vergraben wurden

 Parzellen, in denen Bodenproben entnommen wurden

## 2.6 Ergänzende Untersuchungen verschiedener Einflussfaktoren auf das Wachstums- und Abbauverhalten von Weißfäulepilzen

Im Rahmen der durchgeführten Arbeitspakete I–V entstanden weitere Versuchsfragen, die durch ergänzende Versuchsanstellungen im Rahmen des Projektes bearbeitet wurden. Bei diesen ergänzenden Untersuchungen handelte es sich in erster Linie um die Evaluierung verschiedener Einflussfaktoren, die das Wachstums- und Abbauverhalten der eingesetzten Weißfäulepilze in positiver bzw. negativer Weise beeinflussen könnten.

### 2.6.1 Inokulummenge

In einem Gefäßversuch über zwölf Wochen wurden die im Screeningversuch selektierten Weißfäulepilze *Cyatus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* in fünf Inokulumkonzentrationsstufen auf ihre Abbaurate von Maisstroh untersucht. Zur Herstellung des Inokulums wurden die Pilze auf Malzpeptonagar vorkultiviert. Nachdem die Platte vollständig bewachsen war, wurden sie in 0.5 cm<sup>2</sup> große, mit Pilzmycel bewachsene Agarstückchen geschnitten. In den Konzentrationsstufen 3, 6, 12, 24, und 48, Stückchen wurden Maistroh in Weithalsgläsern in jeweils 3-facher Wiederholung beimpft. (6 Agarstückchen entsprechen 350 g inokulierte Körner d.h. pro ha wurden bisher 10 kg Körner in der doppelten Ausbringung aufs Feld ausgebracht).

Es wurden jeweils 20 g auf 1 mm gemahlene Maisstängel cv. Fuxxol mit 75 ml H<sub>2</sub>O dest. in 850 ml Weithalsgläsern und der entsprechenden Anzahl Agarstückchen versetzt. Das Maisstroh wurde zuvor durch zweimaliges Autoklavieren (121°; 20 min) im Abstand von 24 h sterilisiert. Nach 6 und 12 Wochen wurde der Abbauerfolg anhand des Trockensubstanzverlustes (%) und der Veränderung des C/N – Verhältnisses bestimmt. Zusätzlich wurde eine Preiskalkulation für die Herstellung der optimalen Inokulummenge erarbeitet.

### 2.6.2 Ausbringungszeitpunkt / Temperatur

Für die Bestimmung des optimalen Ausbringungszeitpunktes des Inokulums (Herbst/ Frühjahr) wurde ein Gefäßversuch mit drei Temperaturstufen 4 °C, 15 °C und 30 °C über zwölf Wochen durchgeführt. Als Inokulum wurden die im Screeningversuch selektierten Weißfäulepilze *Cyatus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* auf

ihre Abbaurate von Maisstroh (Maisstängel cv. DK 315) untersucht. Zur Herstellung des Inokulums wurden die Pilze auf Malzpeptonagar vorkultiviert. Nachdem die Platten vollständig bewachsen waren, wurden sie in 0.5 cm<sup>2</sup> große, mit Pilzmycel bewachsene Agarstückchen geschnitten. 20 g auf 1 mm gemahlene Maisstängel wurden anschließend mit 75 ml H<sub>2</sub>O dest. in 850 ml Weithalsgläsern gegeben und mit jeweils 6 Agarstückchen des jeweiligen Pilzes in 3-facher Wiederholung pro Temperaturstufe beimpft. Das Maisstroh wurde zuvor durch zweimaliges Autoklavieren (121°; 20 min) im Abstand von 24 h sterilisiert. Erntetermine waren nach 6 und nach 12 Wochen. Für die Quantifizierung des Abbauerfolgs wurde der Trockensubstanzabbau (%) sowie die Veränderung des C/N – Verhältnisses bestimmt.

### 2.6.3 Mykotoxine

Um die saprophytische Wettbewerbsfähigkeit der selektierten Weißfäulepilze gegenüber *Fusarium spp.* besser einschätzen zu können, wurde unter kontrollierten Bedingungen untersucht, ob sich das Vorhandensein der von *Fusarium* gebildeten sekundären Stoffwechselprodukte, den sogenannten Mykotoxinen, negativ auf die Wachstumsgeschwindigkeit sowie das Abbauverhalten von Weißfäulepilzen auswirkt. In der Studie wurde der Einfluss auf die Weißfäulepilze *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* durch die im Mais am häufigsten vorkommenden Mykotoxine Deoxynivalenol, Zearalenon, Nivalenol, T2 – Toxin und Fumonisin B<sub>1</sub> untersucht.

In einem Vorversuch wurde zunächst das Wachstum der Weißfäulepilze auf mykotoxinbelasteten Malzpeptonagar beobachtet. Die verwendeten Toxinkonzentrationen (Tab. 4) orientierten sich an den in der Literatur beschriebenen durchschnittlichen Mykotoxinbelastungen in Mais- bzw. Weizen der letzten Jahre.

**Tabelle 4: Verwendete Mykotoxine**

Mykotoxin	Konzentration (µg/l)	Hersteller
Deoxynivalenol	1000	AppliChem
Nivalenol	250	Promochem
Fumonisin B1	500	AppliChem
T2 Toxin	150	AppliChem
Zearalenon	150	AppliChem

Die Mykotoxine, mit Ausnahme von Zearalenon (Lösungsmittel Alkohol), wurden in Wasser in Lösung gebracht, sterilfiltriert und 1 ml Lösung auf Platten mit Malzpeptonagar verteilt. Als Weißfäulepilze wurden *Phanerochaete chrysosporium* und *Cyathus striatus 1* gewählt, aus deren Vorkultur jeweils ein mit Weißfäulepilzmycel bewachsenes Agarstückchen aus dem Randbereich der Pilzkultur, in der Mitte der Platte platziert wurde. Je Variante wurden 3 Wiederholungen angelegt. Zusätzlich wurde Alkohol als weitere Variante hinzugenommen, um eine Beeinflussung in der Variante mit Zearalenon zu prüfen. Die Platten wurden in regelmäßigen Abständen fotografiert bis sie vollständig bewachsen waren und mit Hilfe der digitalen Bildbearbeitung von „Adobe Photoshop“ VS. 7.0 ausgewertet.

In einem Gefäßversuch wurde zusätzlich der Einfluss der Mykotoxine auf das Abbauverhalten von *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* getestet. Hierzu wurde gehäckseltes Maisstroh der Sorte Fuxxol bei 60°C getrocknet und mit Hilfe einer Rotormühle (Brabender) auf 1 mm gemahlen. Davon wurden 20 g in Weithalsgläser gefüllt, 75 ml H<sub>2</sub>O<sub>dest.</sub> zugegeben und anschließend zweimal autoklaviert.

Die Toxinlösungen wurden, wie im Vorversuch, durch sterile Spritzenfilter mit einer Porengröße von 0,2 µm in sterile PP-Röhrchen gedrückt. Die mit Stroh befüllten Weithalsgläser wurden mit *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium*, unter sterilen Bedingungen unter dem Abzug, mit sechs ca. 0,5 cm<sup>2</sup> großen Pilzmycelstücken beimpft. Anschließend wurden jeweils 20 ml der Mykotoxinlösungen mit einer Pipette auf das Maisstroh gegeben. Die Weithalsgläser wurden mit Deckel und Wattestopfen verschlossen. So konnte der Gasaustausch für die Pilze gewährleistet werden ohne dass es zu Verunreinigungen kam. Die Weithalsgläser wurden im Keimschrank bei 25°C über einen Zeitraum von 8 Wochen bei völliger Dunkelheit inkubiert. Nach 4 Wochen wurden die ersten Proben entnommen und auf Trockensubstanzabbau (%) und Veränderung des C/N Verhältnisses untersucht.

#### **2.6.4 Wachstumssteigende Zusätze**

Für einen potenziellen Einsatz von Weißfäulepilzen zur Minimierung des Fusariumbefalls in Winterweizen ist es notwendig, dass die Besiedlung und der Abbau der Erntereste durch Weißfäulepilze schnell vonstatten geht, damit die

Chance des Überlebens und der Verbreitung von *Fusarium* wesentlich reduziert werden kann (Schlüter und Kropf, 2006).

Um dies zu erreichen, sollte in einem Zusatzversuch die Möglichkeit geprüft werden, das Wachstum sowie die Abbauleistung der Weißfäulepilze durch die Zugabe von verschiedenen Nährstoffzusätzen zu fördern. In einer Studie von Boyle (1995) wurde beispielsweise ein positiver Effekt auf das Wachstum eines Weißfäulepilzes durch die Zugabe von verschiedenen Nährstoffen, insbesondere durch die Zugabe eines Zusatzes der Kohlenstoff und Stickstoff enthielt, festgestellt. Die Zugabe von Glucose konnte in einer anderen Studie ebenfalls ein erhöhtes Wachstum von verschiedenen Weißfäulepilzen festgestellt werden (Morgan et al., 1993).

In einem Vorversuch sollte daher zunächst geklärt werden, ob das Wachstum von Weißfäulepilzen durch die Zugabe von verschiedenen Nährstoffzusätzen beeinflusst werden kann. Der sich daran anschließende Hauptversuch sollte Klarheit über den Einfluss der Zusätze auf das Abbauverhalten der Weißfäulepilze bringen.

Der Einfluss von Zusätzen (siehe Tabelle 5) auf die Wachstumsgeschwindigkeit von *Cyathus striatus* 1 und *Phanerochaete chrysosporium* wurde zunächst visuell auf Agarplatten beobachtet. Als Nährstoffzusätze wurden folgende fünf Kohlenstoffzusätze hergestellt: Glucose 2,5 % und 5 %, Maltose 5 %, Stärke 5 % und Glucose 5 % mit Xylose 1,25 %. Ebenfalls hergestellt wurden ein Stickstoffzusatz, ein Zusatz bestehend aus Phosphat, Vitaminen und Spurenelementen, sowie ein Zusatz bestehend aus den Komponenten Kohlenstoffzusatz, Stickstoffzusatz, Phosphat, Vitamine und Spurenelemente (Boyle, 1995; Leatham, 1983).

Hierfür wurden je Pilz und Variante drei Platten mit verschiedenen Zusätzen (Tab. 5) behandelt. Je ein 0,5 cm<sup>2</sup> großes Agarstückchen aus dem Randbereich einer zwei bis drei Wochen alten Pilzkultur diente als Inokulum. Das Agarstückchen wurde jeweils in der Mitte der behandelten Agarplatten platziert. Zusätzlich wurden je Pilz drei Platten ohne Zusatz als Kontrolle angelegt. In regelmäßigen Abständen wurden Aufnahmen gemacht bis die Platten vollständig bewachsen waren und mit Hilfe der digitalen Bildbearbeitung von „Adobe Photoshop“ VS. 7.0 ausgewertet.

Für die Evaluierung des Einflusses auf das Abbauverhalten wurde ebenfalls ein Abbauersuch mit gemahlenem Maisstroh (1 mm) über 8 Wochen angelegt. Nach 4 bzw. 8 Wochen wurden je Variante drei Gläser entnommen und der Trockensubstanzabbau (%) sowie die Veränderung des C/N Verhältnisses bestimmt.

**Tabelle 5: Auswahl an Nährstoffzusätzen (Boyle, 1995)**

Variante	Quelle	Zusatz
1	Kohlenstoff	2,5 % Glucose
2		5 % Glucose
3		5 % Maltose
4		5 % Glucose und 1,25 % Xylose
5	Stickstoff	0,8 % $\text{NH}_4\text{NO}_3$ und 2,9% Natriumglutamat
6	Nährstofflösung	Phosphat+Vitamin+Spurenelement (P+V+Sp)
7		Kohlenstoff + Stickstoff (C+N)
8		Kohlenstoff+Stickstoff+
		Phosphat+Vitamin+Spurenelement(C+N+P+V+Sp)

## 2.7 Statistik

Die Varianzanalyse wurde bei einfaktoriellen Versuchsdesigns mit Hilfe des Turkey Testes in SigmaStat 3.5 durchgeführt. Versuche mit verschiedenen Faktoren wurden in der Prozedur „proc mixed“ mit dem Programm SAS 9.1 (SAS Institute INC) statistisch verrechnet. Nach einem Test auf Varianzhomogenität und Normalverteilung folgte eine Varianzanalyse mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0,05$ . Falls nötig wurden heterogene Varianzen zugelassen.

In den grafischen Darstellungen wurden die arithmetischen Mittel (Mittelwert, MW) verwendet und für die Streuung der Standardfehler (SF) aus der Varianzanalyse genutzt. Je nach Versuchsanstellung (siehe Abbildungen) wurden drei bis sechs Wiederholungen je Variante durchgeführt.



### 3 Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

#### 3.1 Ergebnisse von Arbeitspaket I - Screening verschiedener Weißfäulepilze im Hinblick auf ihr Abbauvermögen von Mais- und Weizenernteresten

##### 3.1.1 Screening auf Mais- und Weizenstroh

Alle dreizehn eingesetzten Weißfäulepilze bauten die Ernterückstände von Mais in einer Variationsbreite von 4,8 % - 31,1 % ab. *Cyathus striatus 1* zeigte mit über 30 % Trockensubstanzabbau (Abb. 3) signifikant die höchste Abbaurate nach 98 Tagen. Mit Werten von 16,8 % wies *Cyathus olla* ebenfalls eine gute Abbaufähigkeit auf. *Phanerochaete chrysosporium*, ein Weißfäulepilz außerhalb der *Cyathus* – Gruppe, baute mit 14,9 % ebenfalls über 10 % des Ausgangssubstrates ab. Dieser Trend wurde durch die Analyseergebnisse des C/N Verhältnisses (Abb. 4) bestätigt. Auch hier konnten die drei genannten Weißfäulepilze das C/N Verhältnis am stärksten senken. Ein höherer Stickstoffgehalt und damit ein kleineres C/N-Verhältnis des Maisstrohs weist auf eine erhöhte Aktivität von Mikroorganismen hin (Wiedow, 2008). Das C/N-Verhältnis wird kleiner, da die organische Substanz abgebaut wird, indem Kohlenstoffdioxid freigesetzt und der Stickstoff hauptsächlich in mikrobielle Biomasse eingebaut wird (Scheffer und Schachtschabel, 2002).

Bei der Interpretation der Daten ist zu beachten, dass das gewachsene Pilzmycel nicht berücksichtigt wurde. Eine Quantifizierung des gewachsenen Pilzmycels in weiteren Versuchen über den Ergosterolgehalt ergab jedoch, dass das Gewicht des Mycels sehr gering war und somit vernachlässigt werden konnte.

*Cyathus helenae* nahm im Screeningversuch eine Sonderrolle ein. Er konnte sich nur in einem Glas etablieren, baute jedoch dort das Substrat nahezu vollständig ab. Daher wurde er neben *Cyathus striatus 1*, als bester Abbauer, *Phanerochaete chrysosporium*, als beste „Nicht – *Cyathus*“- Art und *Cyathus olla* als Standardkontrolle für die Folgeversuche in das Versuchsdesign aufgenommen.

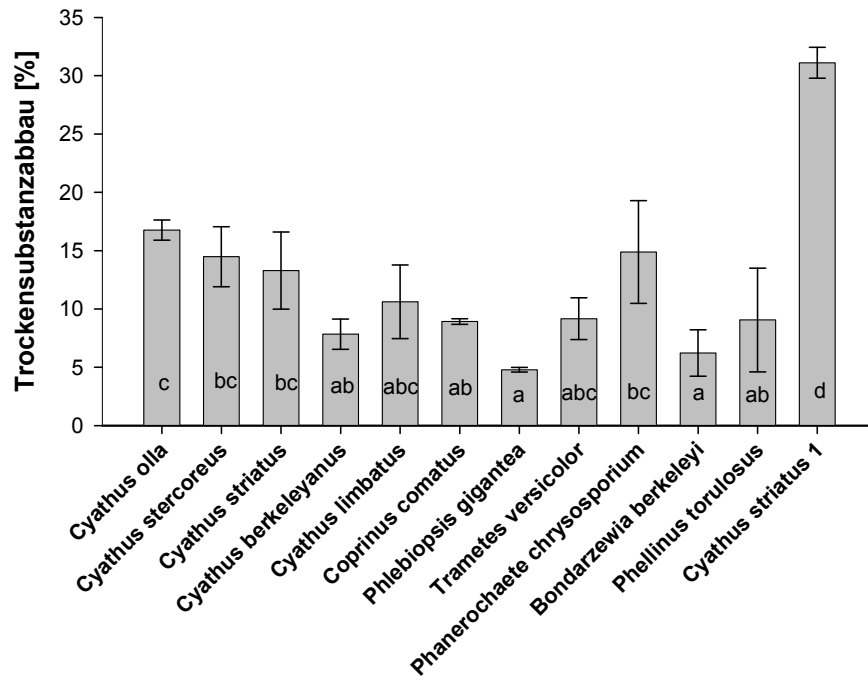


Abb. 3: Trockensubstanzabbau [%] nach einer Inkubationszeit von 98 Tagen. Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF,  $n = 3$ ).

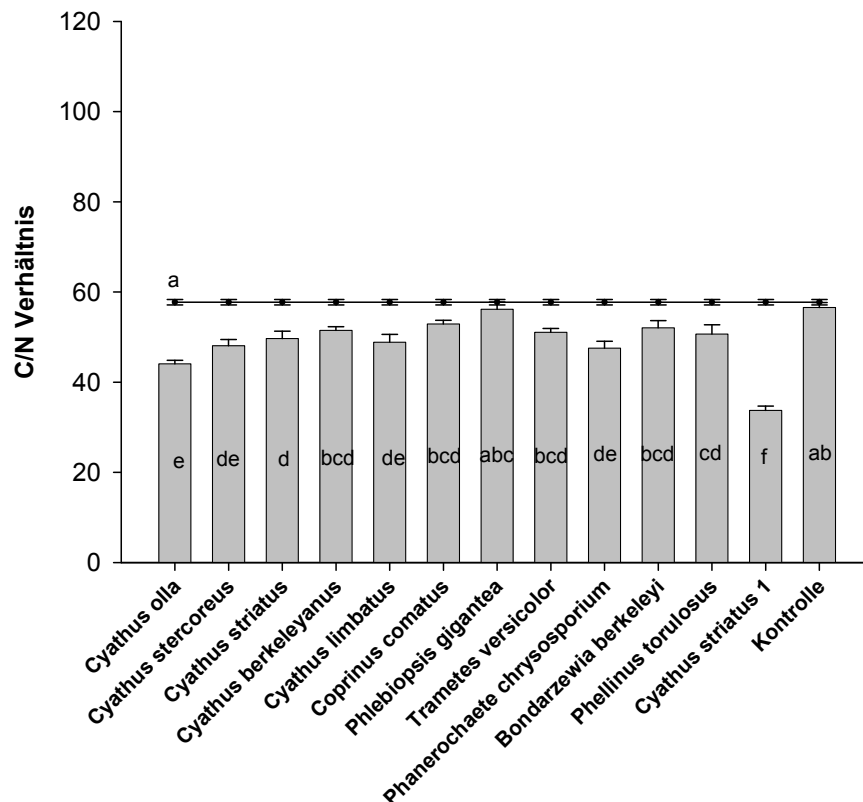
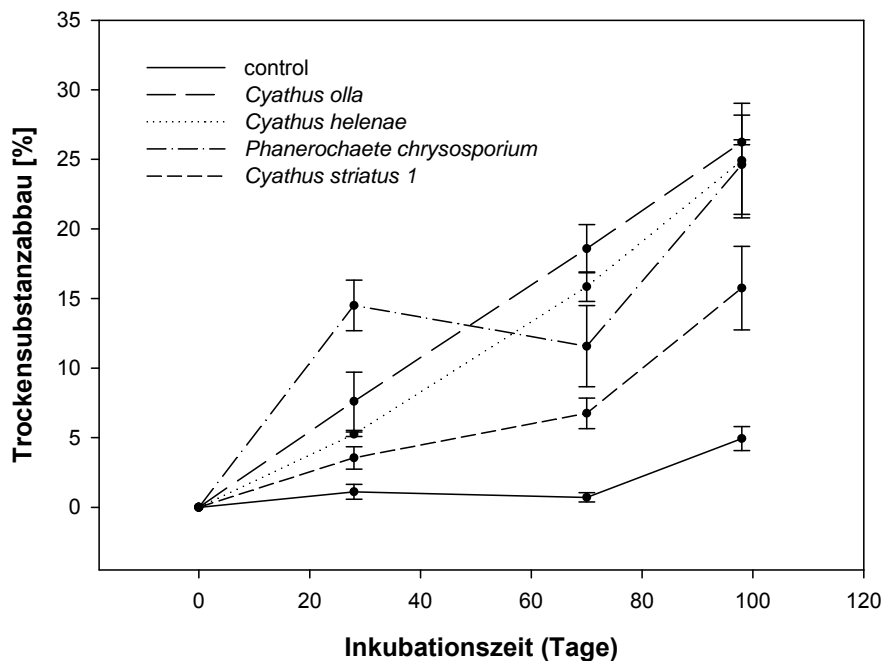


Abb. 4: C/N Verhältnis nach einer Inkubationszeit von 98 Tagen. Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF,  $n = 6$ ). (Linie kennzeichnet C/N Verhältnis des eingesetzten Substrates zu Versuchsbeginn)

Die Abbildungen zeigen die Abbauraten der Maisstängel (Abb.5) und Weizenstroh (Abb.6) über einen Zeitraum von 98 Tagen für die eingesetzten Pilze *Cyathus striatus 1*, *Cyathus olla*, *Cyathus helenae* und *Phanerochaete chrysosporium*.

Nach 98 Tagen bauten *Cyathus olla*, *Cyathus helenae* und *Phanerochaete chrysosporium* die eingesetzten Maisstängel mit Werten um 25 % deutlich besser ab, als *Cyathus striatus 1* mit einer Abbaurate von 15,8 %. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Weizenstroh wurde dagegen von *Cyathus striatus 1* mit einer Rate von über 30 % abgebaut. Demgegenüber bauten *Cyathus olla*, *Cyathus helenae* und *Phanerochaete chrysosporium* Weizenstroh mit einer Rate von 13,4 % - 14,7 % ab. Tabelle 6 verdeutlicht diesen Sachverhalt nochmals.



**Abb. 5:** Trockenmasseabbau [%] von Maisstängeln über einen Inkubationszeitraum von 98 Tagen

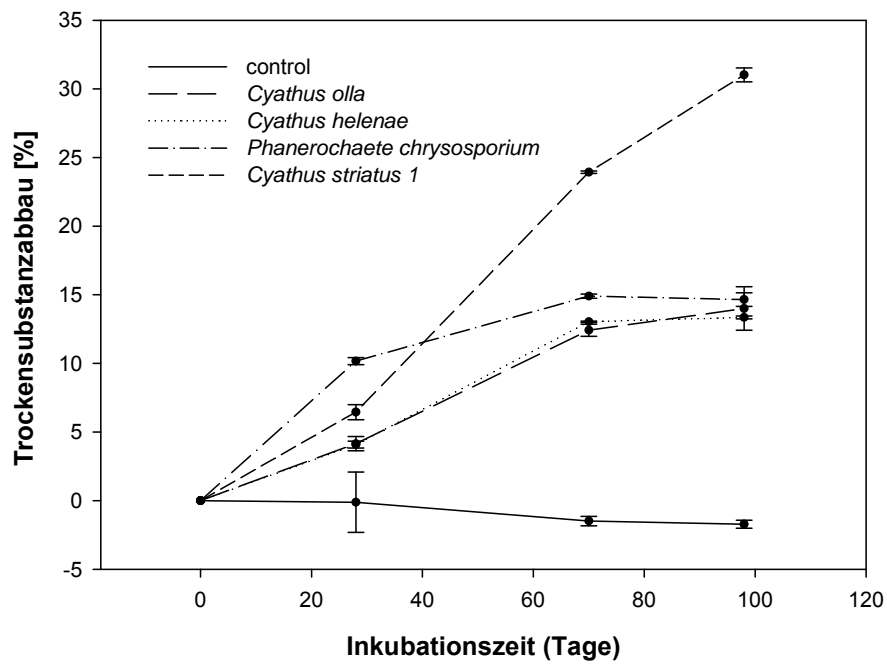


Abb. 6: Trockensubstanzabbau [%] von Weizenstroh über einen Inkubationszeitraum von 98 Tagen

Tabelle 6: Vergleich der Abbaufähigkeit von verschiedenen Kulturarten (Mais und Weizen) durch die eingesetzten Weißfäulepilze

	Maisstängel (Shorty)	Weizenstroh (Tommi)
<i>Cyathus olla</i>	+++	+
<i>Cyathus helenae</i>	+++	+
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	+++	+
<i>Cyathus striatus 1</i>	++	+++

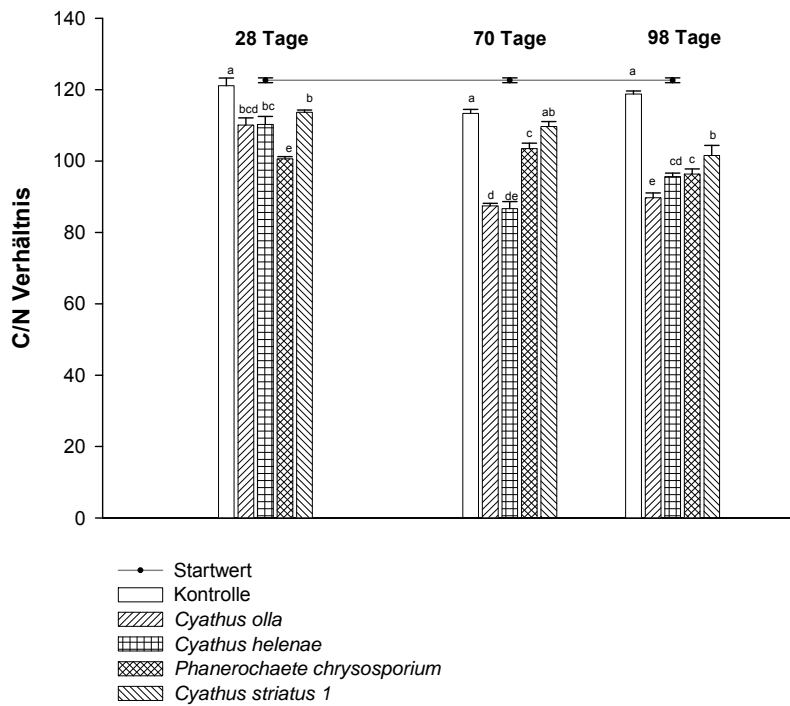


Abb. 7: C/N Verhältnis von Maisstängeln über einen Inkubationszeitraum von 98 Tagen. Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF, n = 6).

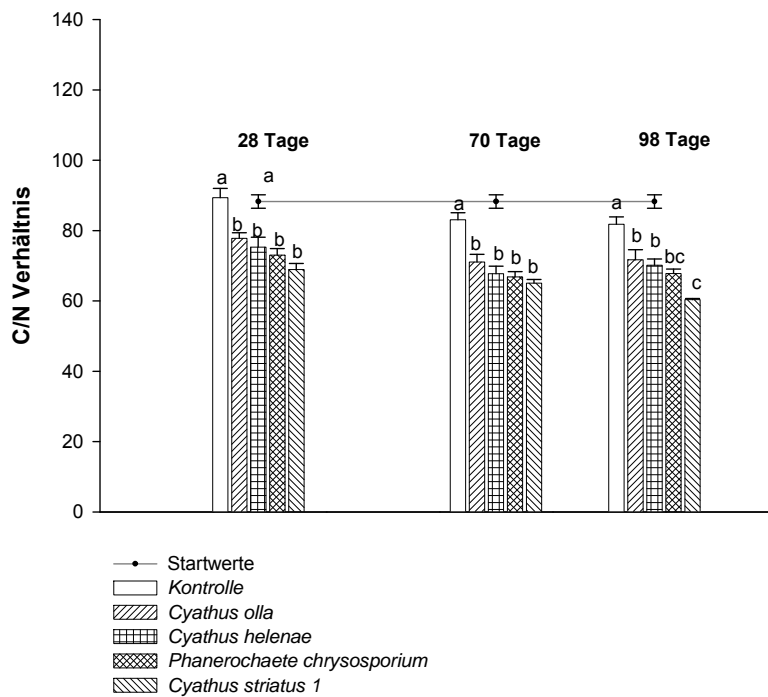


Abb. 8: C/N Verhältnis von Weizenstroh über einen Inkubationszeitraum von 98 Tagen. Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF, n = 6).

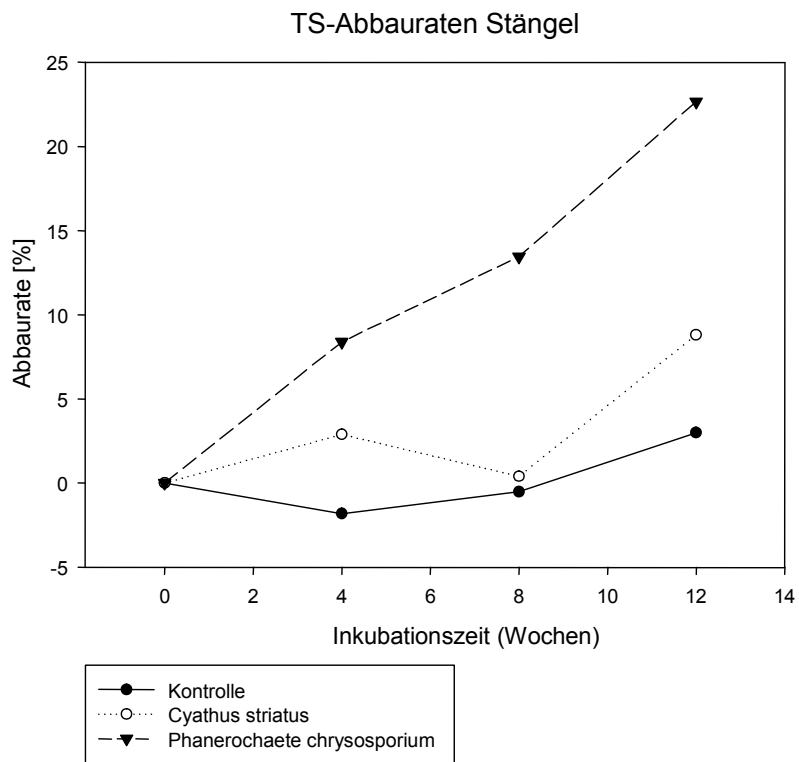
Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass für den Abbau der Erntereste von Mais und Weizen möglicherweise unterschiedliche Enzymsysteme erforderlich sind. Je nach Enzymsystem zeigten die getesteten Weißfäulepilze unterschiedliche Abbauraten. *Phanerochaete chrysosporium* gehört zu den am meisten erforschten Weißfäulepilzen, welcher Lignin sehr effizient mineralisiert (Hatakka, 1994). Er ist in die Abteilung der Eumycota oder auch höhere Pilze einzuordnen und gehört der Klasse der Basidiomyceten an (Esser, 2000). Er kann eine Vielzahl von asexuellen Sporen bilden und ist in den gemäßigten Wäldern Nordamerikas, Europas und im Iran zu finden. Bei Temperaturen von 40 °C liegen die optimalen Wachstumsraten (Singh und Chen, 2008). Weißfäulepilze der Spezies *Cyathus* werden als ökologisch darauf spezialisiert betrachtet Pflanzenkomponenten auseinander zu bringen was für die Spaltung der Verbindungen des Lignins mit Zellulose und Hemizellulose wichtig ist. Aufgrund dieser ökologischen Spezialisierung sind sie in der Natur auf Blattresten, alten Holz oder Dung zu finden (Abbott und Wicklow, 1984).

Bei *Phanerochaete chrysosporium* wird Lignin nur im sekundären Stoffwechsel abgebaut, welcher durch Stickstofflimitierung ausgelöst wird. Der Wechsel vom primären zum sekundären Stoffwechsel wird durch eine abfallende Glutamatkonzentration im Interzellularraum gefördert. Dies trifft auch für andere Weißfäulepilze zu (Kirk und Farrell, 1987).

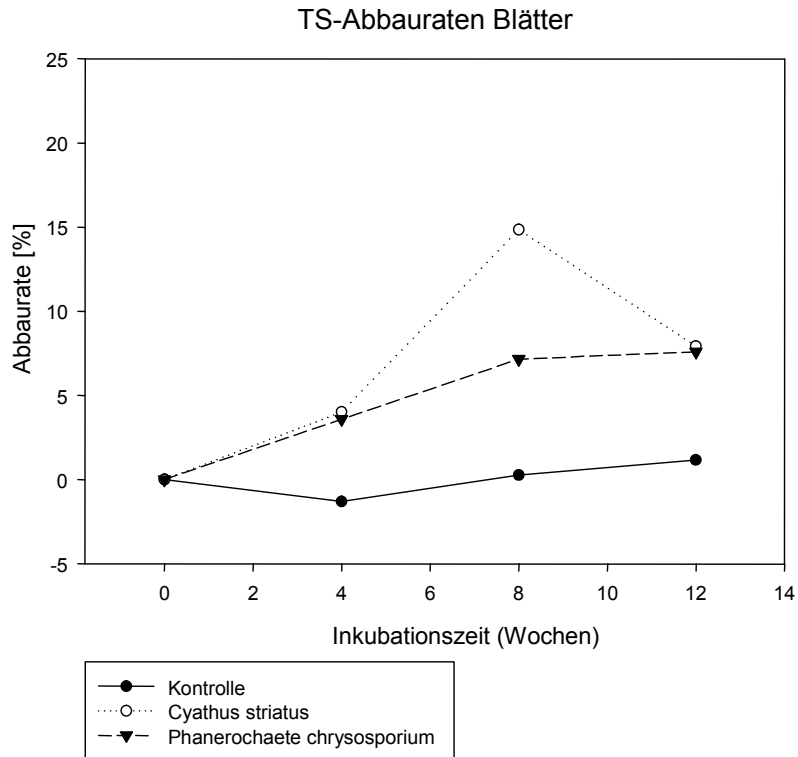
Für die Etablierung einer entsprechenden Methode unter Praxisbedingungen bedeuten die Ergebnisse, dass ein Gemisch unterschiedlicher Weißfäulepilze möglicherweise effizienter ist, als eine Reinkultur, da Unterschiede in den Ausgangsmaterialien (Art, Sorte, Ligninzusammensetzung, etc.) mittels eines Pilzgemischs abgepuffert werden könnten.

### **3.1.2 Unterschiedliche Bestandteile Stängel, Blatt, Kolben**

Die Ergebnisse der Abbildungen 9 – 11 zeigen, dass bei beiden Pilzen über einen Zeitraum von 12 Wochen der Abbau der Trockensubstanz (%) in nahezu allen Varianten zunahm. *Phanerochaete chrysosporium* wies dabei eine signifikant bessere Abbaufähigkeit bei Stängeln mit 22,8 % im Vergleich zu *Cyathus striatus 1* mit 8,8 % nach 12 Wochen Inkubationszeit auf. Auch die Korn / Spindel Fraktion wurde von *Phanerochaete chrysosporium* mit 24,4 % zu 12,5 % etwas besser, aber ohne signifikante Unterschiede zu *Cyathus striatus 1* abgebaut. Dagegen wurden die Blätter etwas besser von *Cyathus striatus 1* abgebaut.



**Abb.: 9: Trockensubstanzabbau [%] von Stängel über einen Zeitraum von 12 Wochen**



**Abb. 10: Trockensubstanzabbau [%] von Blätter über einen Zeitraum von 12 Wochen**

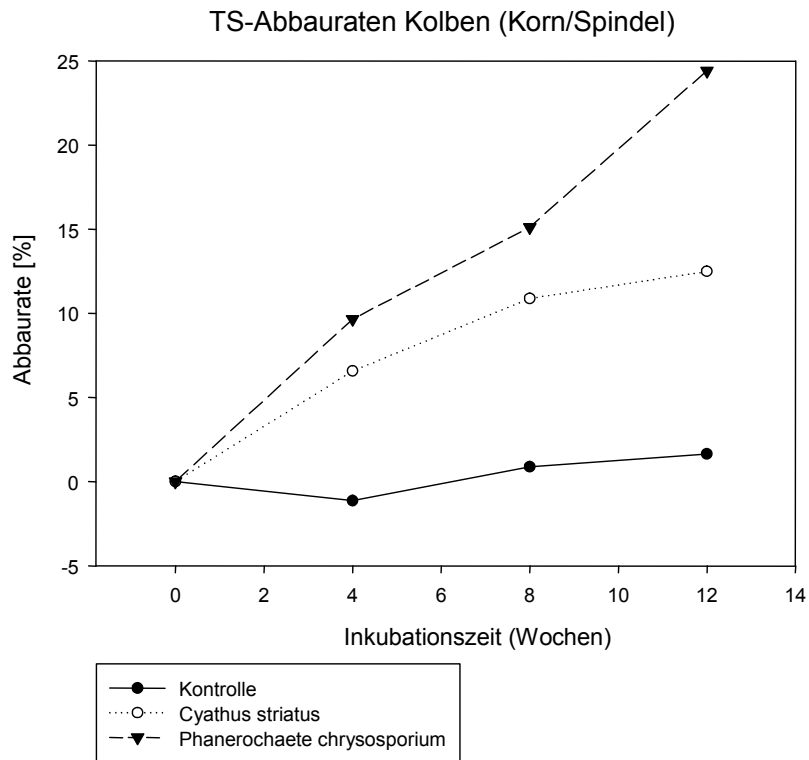


Abb. 11: Trockensubstanzabbau [%] von Korn/Spindel über einen Zeitraum von 12 Wochen

Es zeigte sich in Abb. 12, dass beide Pilze bevorzugt zucker- bzw. stärkehaltiges Material d.h. in erster Linie Korn / Spindel abbauen. Tendenziell wurde von beiden Pilzen Hemicellulose und Rohcellulose besser als Lignin abgebaut. Die geringe Variationsbreite der Wiederholungen lässt eine gute Homogenität des Ausgangssubstrates erkennen.

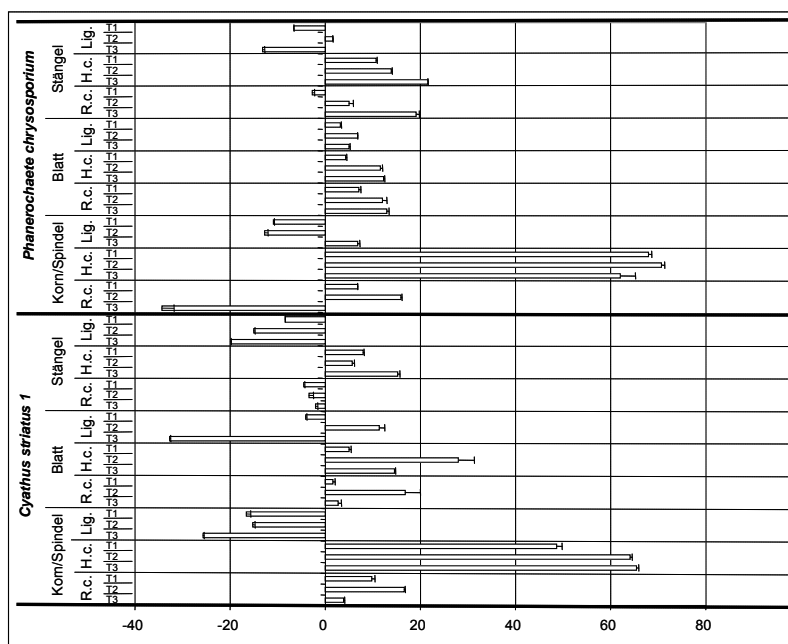


Abb. 12: Abbau [%] von Rohcellulose (R.c.), Hemicellulose (H.c.) und Lignin nach 2, 4 und 12 Wochen durch die Weißfäulepilze



## **3.2 Ergebnisse von Arbeitspaket II - Evaluierung der Konkurrenzkraft der ausgewählten Pilze unter feldähnlichen Bedingungen einschließlich der Gewinnung von Informationen zur möglichen praxisnahen Ausbringung des Pilzinokulums auf landwirtschaftliche Flächen**

### **3.2.1 Unter kontrollierten feldähnlichen Bedingungen (Eingrabeversuch)**

Im Versuch (Abb. 13 - 15) konnten erste Ergebnisse über die Effizienz der Pilze *Cyathus striatus 1*, *Phanerochaete chrysosporium* und *Cyathus olla* bei Einsatz in verschiedenen Bodentiefen gewonnen werden. Die im Versuch gewählten Eingrabetiefen simulierten unterschiedliche Bodenbearbeitungssysteme wie z. B. reduzierte Bodenbearbeitung (5 und 15 cm) und Pflug (30 cm).

Nach 105 Tagen lag ein Verlust der organischen Substanz bei allen geprüften Pilzen und allen Eingrabetiefen von knapp 40 % vor. Die nicht-inokulierte Kontrollvariante zeigte jedoch, dass die reine Abbauleistung der Weißfäulepilze deutlich niedriger lag und natürliche Rotteprozesse für einen Großteil des Abbaus verantwortlich waren. Die reine Abbauleistung der Weißfäulepilze betrug nach 105 Tagen weniger als 5 % und unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollvariante. Nach 140 Tagen wurden in 15 cm Tiefe max. 7,6 % organische Substanz (*Phanerochaete chrysosporium*) gefolgt von *Cyathus striatus 1* mit 7,3 % signifikant unterschiedlich zur Kontrolle abgebaut. *Cyathus olla* baute 4,2 % der organischen Substanz ab. Somit unterschieden sich die Pilze nicht signifikant voneinander. In 5 cm Eingrabetiefe betrug die Abbauleistung der Pilze nur noch 3,9 % (*Phanerochaete chrysosporium*), 3,3 % für *Cyathus striatus 1* und 1,2 % für *Cyathus olla*. Sie unterschieden sich nicht signifikant zur Kontrolle. In 30 cm Tiefe zeigten alle Weißfäulepilze keinen Abbau der Ernterückstände. Möglicherweise sind in dieser Tiefe die Lebensbedingungen für die Weißfäulepilze (Temperatur, Sauerstoff) nicht optimal. Nach 175 Tagen konnten keine bzw. kaum Abbauleistungen der Weißfäulepilze festgestellt werden, natürliche Rotteprozesse dominierten.

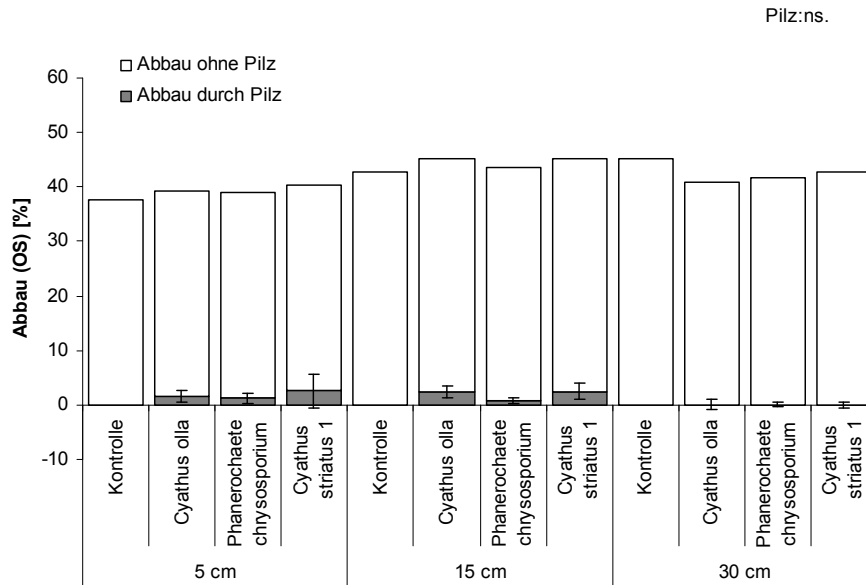


Abb. 13: Abbau der organischen Substanz [%] in den Eingrabetiefen 5 cm, 15 cm und 30 cm nach einer Vergrabezeit von 105 Tagen (MW, SF, n = 3).

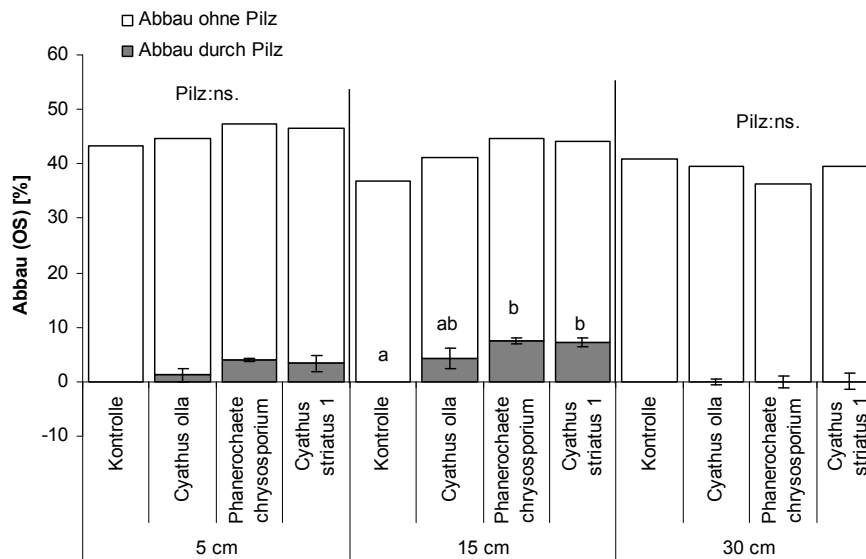
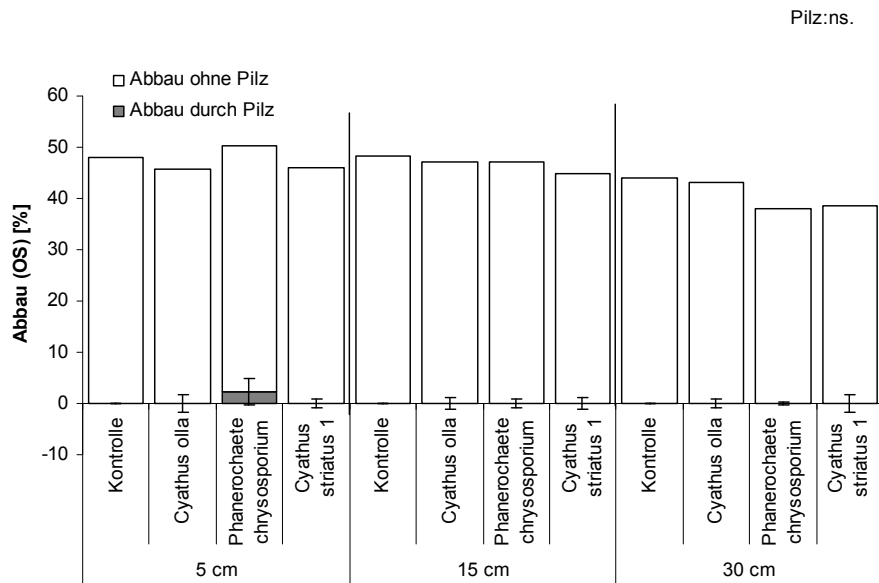


Abb. 14: Abbau der organischen Substanz [%] in den Eingrabetiefen 5 cm, 15 cm und 30 cm nach einer Vergrabezeit von 140 Tagen (MW, SF, n = 3).

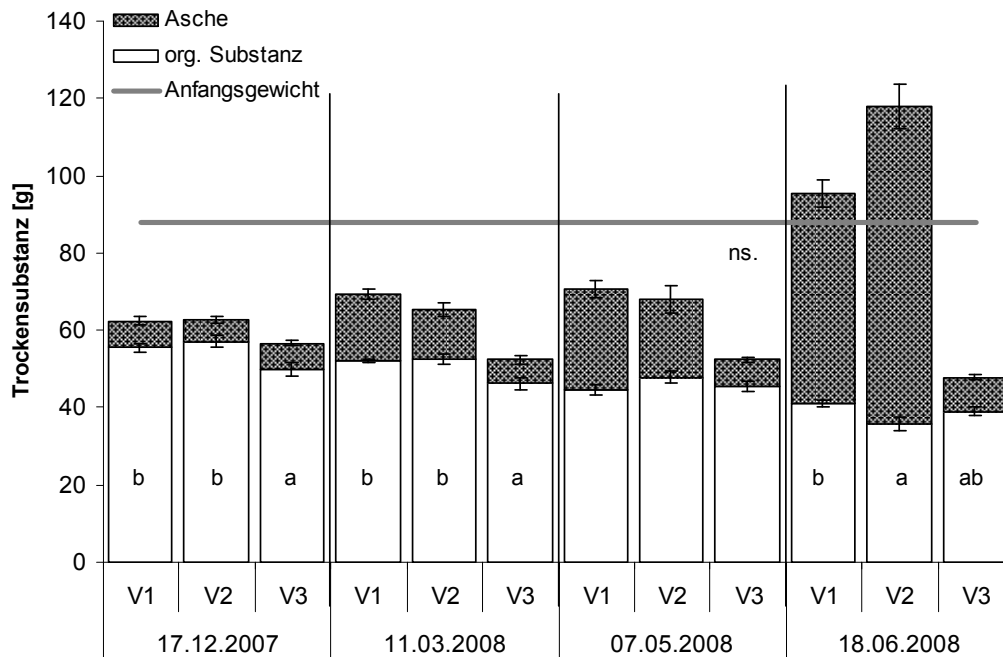


**Abb. 15: Abbau der organischen Substanz [%] in den Eingrabetiefen 5 cm, 15 cm und 30 cm nach einer Vergrabezeit von 175 Tagen**

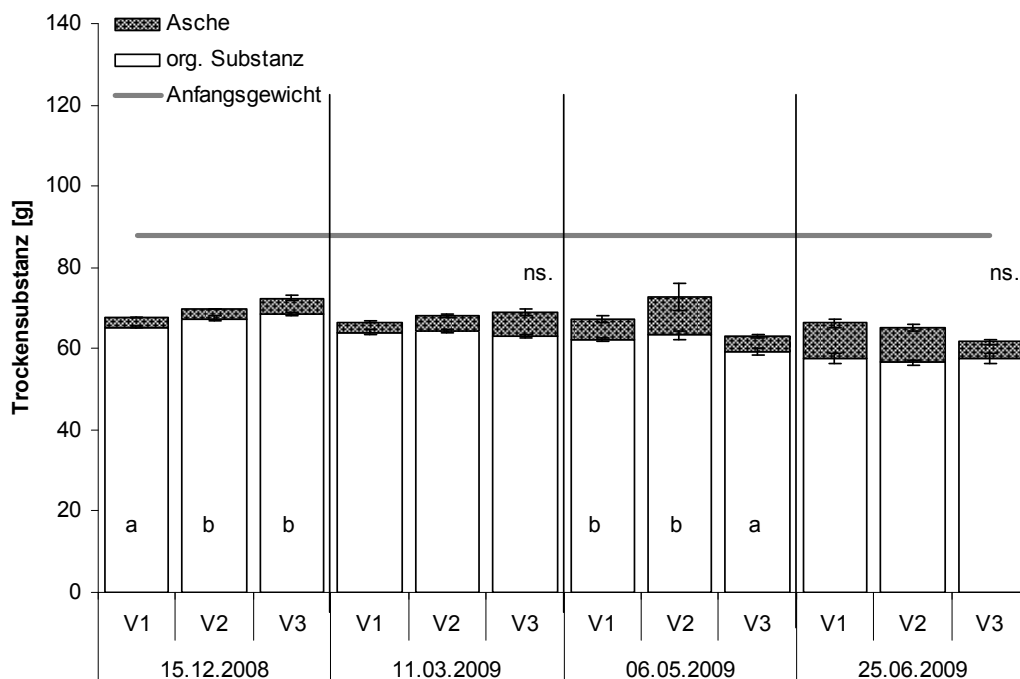
Für den Praxiseinsatz einer entsprechenden Methode deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die Weißfäulepilze bei Einsatz in reduzierten Bodenbearbeitungssystemen bessere Ausgangsbedingungen für eine Etablierung und damit einen Abbau der Ernterückstände vorfinden. Bei einer Bodenbearbeitung mit Pflug scheint die Ausbringung der Pilze keinen zusätzlichen Abbauerfolg zu bringen. Daher sollte das Verfahren speziell für den Einsatz reduzierter Bodenbearbeitungssysteme weiter untersucht und optimiert werden.

### 3.2.2 Unter Feldbedingungen (Teil des Feldversuches)

Die Ergebnisse der Litterbagstudien im Rahmen des Feldversuches zeigten, dass *Cyathus striatus 1* unter Feldbedingungen über einen Zeitraum von Oktober bis Juni, d.h. der Zeitraum der effektiv für einen möglichen Abbau der Ernterückstände bis zur Weizenblüte zur Verfügung steht, je nach Bodenbearbeitungssystem die ursprünglich ca. 88 g schwere organische Substanz des Säckcheninhalts auf 35,9 g bis 41,1 g organische Substanz im Versuchsjahr 2007/2008 reduzieren konnte (Abb.16). Nicht so stark war der Abbau im Versuchsjahr 2008/2009, hier sank das Gewicht der organischen Masse auf Werte zwischen 56,7 und 57,6 g (Abb.17).



**Abb. 16: Abbau [g] von Maisernterückständen in Litterbags über die Vegetationsdauer des Weizens im Versuchsjahr 2007/2008 V1 = Direktsaat+Kontrolle; V2 = Direktsaat+*Cyathus striatus* 1+Ausbringung Herbst doppelt; V3 = Pflug+*Cyathus striatus* 1+Ausbringung Herbst&Frühjahr einfach, (MW, SF, n=3)**



**Abb. 17: Abbau [g] von Maisernterückständen in Litterbags über die Vegetationsdauer des Weizens im Versuchsjahr 2008/2009 V1 = Direktsaat+Kontrolle; V2 = Direktsaat+*Cyathus striatus* 1+Ausbringung Herbst doppelt; V3 = Pflug+*Cyathus striatus* 1+Ausbringung Herbst&Frühjahr einfach, (MW, SF, n=3)**

Die geringeren Abbauraten unter Freilandbedingungen (ca. 7 %) nach 140 Tagen unter feldähnlichen Bedingungen) im Vergleich zu denen unter sterilen Bedingungen

in den Gefäßversuchen (ca. 30 % nach 98 Tagen) erfordern eine differenzierte Beurteilung des Verfahrens unter Praxisbedingungen. In weiteren Untersuchungen sollte zwingend die Möglichkeit der Steigerung der Abbauraten unter Freilandbedingungen evaluiert werden. Mögliche Ansatzpunkte könnten die Erhöhung der Inokulummenge bzw. die Zugabe wachstumsfördernder Zusätze bzw. die stärkere Zerkleinerung der Erntereste im Feld sein.

### **3.3 Ergebnisse von Arbeitspaket III - Einfluß unterschiedlicher Maissorten auf die Abbaubarkeit bzw. Abbaugeschwindigkeit der hinterlassenen Ernterückstände durch die saprophytischen Pilze**

#### **3.3.1 Prüfung des Einflusses der Maissorte**

Mit den vier, aus dem Screeningversuch in Arbeitspaket I ausgewählten Weißfäulepilzen *Cyathus olla*, *Cyathus helenae*, *Phanerochaete chrysosporium* und *Cyathus striatus 1* wurde die Übertragbarkeit der Abbauraten auf Maissorten mit unterschiedlichem Ligningehalt cv. Silas (3,7%), cv. Shorty (5,7%), DK 315 (7,0%) über einen Zeitraum von 98 Tagen evaluiert (Abb. 18 a+b).

Nach 98 Tagen ließen sich deutliche Unterschiede in der Abbauraten der eingesetzten Maissorten als Substrat in Kombination mit signifikanten Interaktionen zwischen Pilz und Sorte erkennen. Die Maissorte Shorty wurde generell am besten, gefolgt von DK 315 und Silas abgebaut. Zusätzlich schienen die Pilze die eingesetzten Maissorten unterschiedlich gut abzubauen. Wie Abbildung 18 a zeigt, bauten *Cyathus olla*, *Cyathus helenae* und *Phanerochaete chrysosporium* die Maissorte Shorty mit Abbauraten (%) von 20,6, 18,0 und 18,2 am besten ab. *Cyathus striatus 1*, der auch schon im Screeningversuch eine Sonderrolle einnahm, baute dagegen DK 315 mit 21,8 % nach 98 Tagen am besten ab. Die Tabelle 7 verdeutlicht noch mal diesen Sachverhalt.

Die Ergebnisse des C/N Verhältnisses (Abb. 18b) unterstrichen die Ergebnisse des Trockensubstanzabbaus. Es wurde jedoch keine Signifikanz in der Interaktion zwischen Pilz und Sorte festgestellt. Das C/N Verhältnis von cv. Shorty wurde signifikant am meisten, gefolgt von cv. DK 315 und cv. Silas gesenkt. In allen inokulierten Varianten wurde das C/N Verhältnis signifikant zur Kontrolle und zum Startwert verringert. Zwischen den getesteten Weißfäulepilzen gab es dagegen keine signifikanten Unterschiede.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass der absolute Ligningehalt nicht der beeinflussende Faktor für die Unterschiede in der Abbaubarkeit verschiedener Maissorten ist, sondern möglicherweise die Ligninzusammensetzung oder andere Faktoren eine Rolle spielen könnten. Aufgrund der Vielzahl an Maissorten, die auf dem Markt vertrieben werden, müsste auch hier überlegt werden, ob nicht eine Mischung aus verschiedenen Weißfäulepilzen als Bekämpfungsstrategie auch aus ökonomischer Sicht sinnvoll sein könnte.

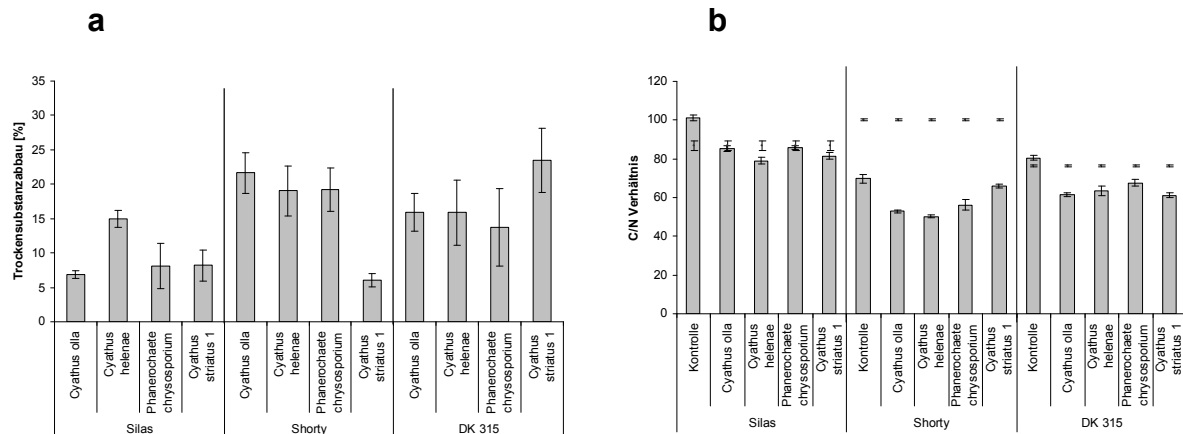


Abb. 18: Trockensubstanzabbau [%] (a) und C/N Verhältnis (b) nach einer Inkubationszeit von 98 Tagen (MW, SF, TS n = 3; C/N n = 6).

LSD	TS Abbau (%)	C/N
Sorte*Sorte	4.88	4.65
Pilz*Pilz	ns.	6.00
Pilz*Startwert	-	6.57
Interaktion	Pilz x Sorte	9.76

Tabelle 7: Vergleich der Abbaufähigkeit von verschiedenen Maissorten durch die eingesetzten Weißfäulepilze

	Silas	Shorty	DK 315
<i>Cyathus olla</i>	+	+++	++
<i>Cyathus helenae</i>	+	+++	++
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	+	+++	++
<i>Cyathus striatus 1</i>	++	+	+++

### **3.4 Ergebnisse aus Arbeitspaket IV - Prüfung des Einflusses der Inokulation auf den Humusabbau und auf die im Feld bereits etablierten Mikroorganismen**

Im Rahmen der Untersuchungen eines beschleunigten Abbaus an Ernterückständen durch saprophytische Pilze sollte gleichzeitig geklärt werden, ob ein forciertes Lignin- und vor allem Zelluloseabbau den Abbau von Kohlenstoffgerüsten und damit auch einen Humusabbau bzw. eine langfristige Beeinflussung der Bodenfruchtbarkeit zur Konsequenz haben könnte. Daher wurde in einem Gefäßversuch sowie unter Freilandbedingungen der Einfluss der Inokulation von Ernterückständen mit *Cyathus* spp. bzw. anderen saprophytischen Pilzen auf den Humusgehalt des Bodens geprüft. Ergänzend zum Humusabbau sollten in weiteren Untersuchungen die Auswirkungen der Ausbringung von Weißfäulepilzen auf im Boden vorhandene Bodenlebewesen und Bodenmikroorganismen geklärt werden.

#### **3.4.1 Humusabbau im Gefäßversuch**

##### 3.4.1.1 Gasbildung vom 06.05 – 03.07

Über die Messung der CO<sub>2</sub> – Bildung sollten erste Hinweise auf die Umsetzung von organischer Masse durch die eingesetzten Weißfäulepilze im Gefäßversuch gewonnen werden. Abb. 19 zeigt die Ergebnisse der Gasmessungen, die 3x wöchentlich über den gesamten Versuchszeitraum von ca. 2 Monaten stattgefunden hatten. Die über die Zeit gebildeten Gase wurden als gesamtes Gasvolumen zusammengefasst (Abb. 20). Die Abbildungen lassen eine Erhöhung der Gasrate bei Zugabe von Pilzmaterial erkennen. Dabei stieg das gesamte Gasvolumen bei allen Pilzvarianten signifikant zum unsterilen Oberboden (Kontrolle) an. Zwischen den Pilzen produzierte *Cyathus striatus* 1 signifikant am meisten CO<sub>2</sub>, gefolgt von *Cyathus olla* und *Phanerochaete chrysosporium*. Da bei dieser Methode die vom Boden abgegebenen Atemgase bestimmt werden, kann daraus auf eine erhöhte Stoffwechselaktivität in den pilzbehandelten Böden geschlossen werden. Dies bedeutet, der Pilz wandelt theoretisch zusätzlich organische Masse in CO<sub>2</sub> um.

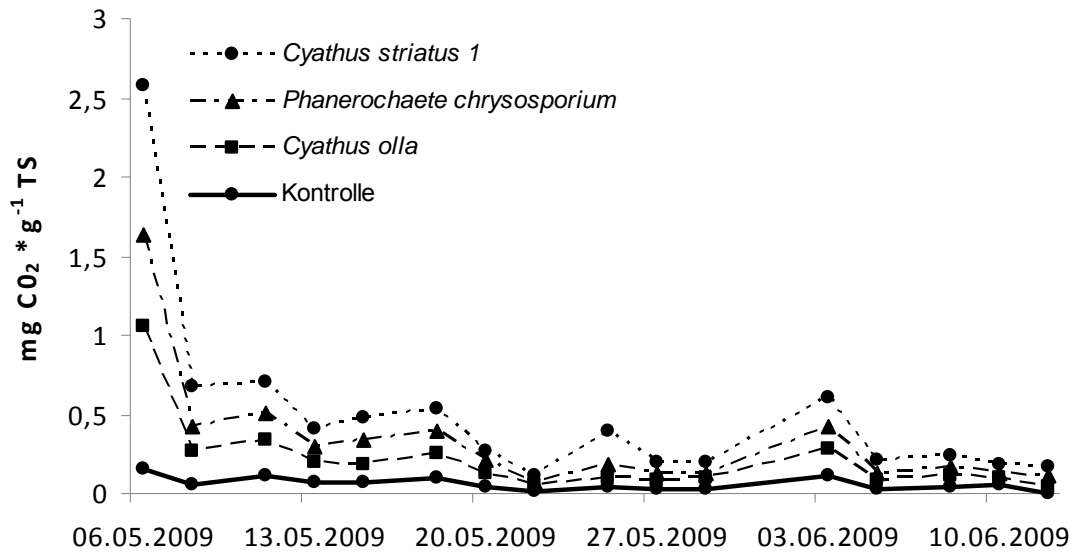


Abb. 19: Titrimetrische Bestimmung der Gasbildung (Zeitkurve)

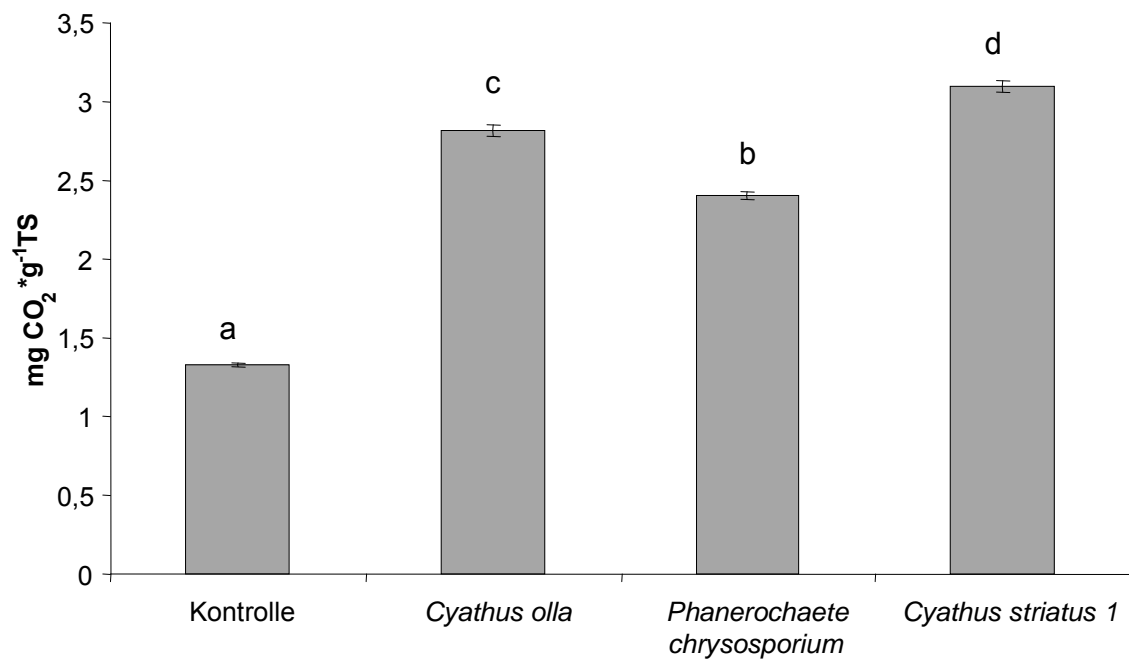
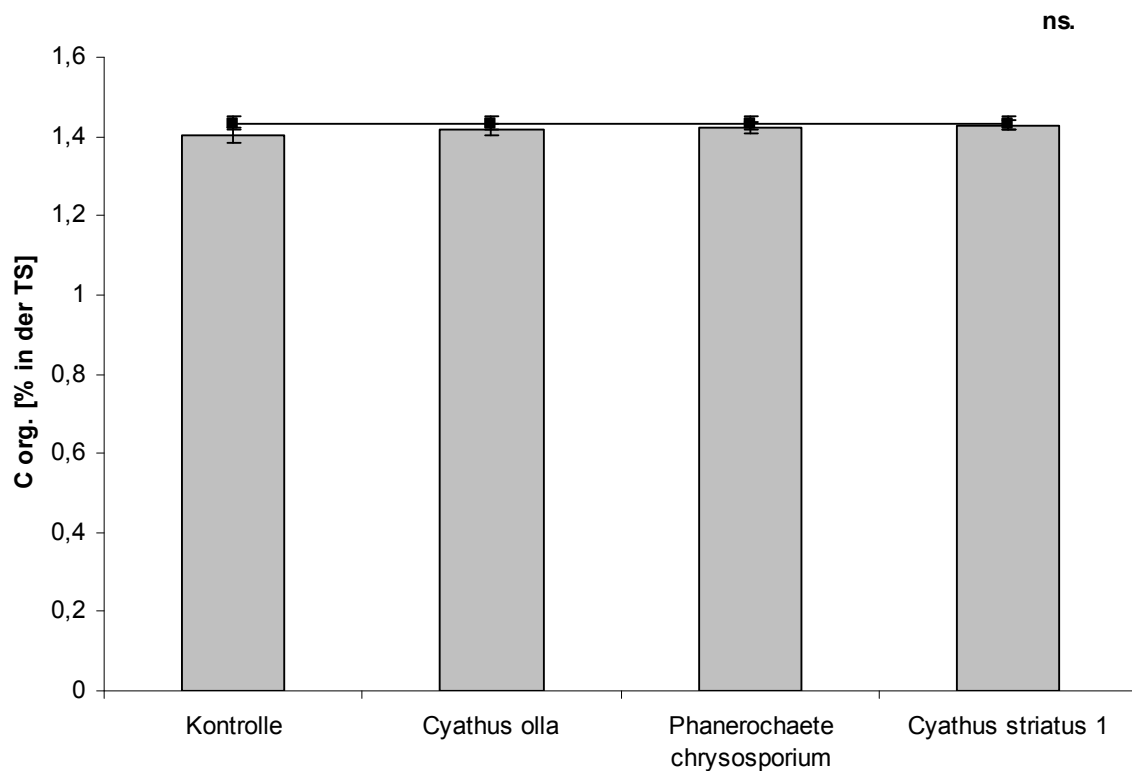


Abb. 20: Titrimetrische Bestimmung der Gasbildung (Gesamtvolume) Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF, n = 4).

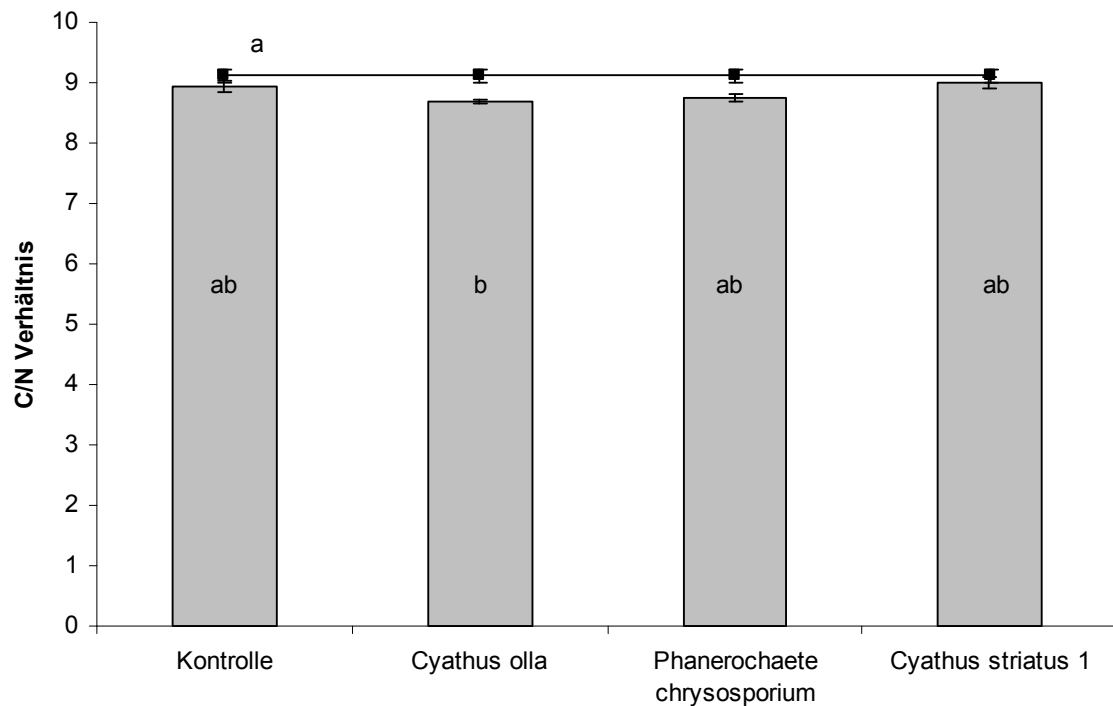


### 3.4.1.2 Humusgehalt (Corg ) bzw. Veränderung des C/N Verhältnisses des Bodens im Gefäßversuch

Zur weiteren Untersuchung des Humusabbaus wurde nach Beendigung des Versuchs nach einer Inkubationszeit von ungefähr zwei Monaten der organische Kohlenstoffgehalt (Corg.) (Abb. 21) sowie die Veränderung des C/N-Verhältnisses im Bodenprobenmaterial bestimmt (Abb. 22). Wie die Abbildungen zeigen, gab es keine Abweichungen zwischen pilzbehandelten Varianten und Kontrolle, d.h. es konnten im Gefäßversuch trotz erhöhter mikrobieller Aktivität bei Inokulation von Pilzmaterial keine Auswirkungen auf den Humusgehalt festgestellt werden.



**Abb. 21: Humusgehalt (Corg [% in der Trockensubstanz]) im Boden**



**Abb. 22: Veränderung des C/N Verhältnisses. Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF,  $n = 3$ ); (Linie = Ausgangswert)**

### 3.4.2 Humusabbau auf dem Feld und Einfluss auf die im Feld vorhandenen Mikroorganismen

#### 3.4.2.1 Einfluss auf die Mikroorganismen

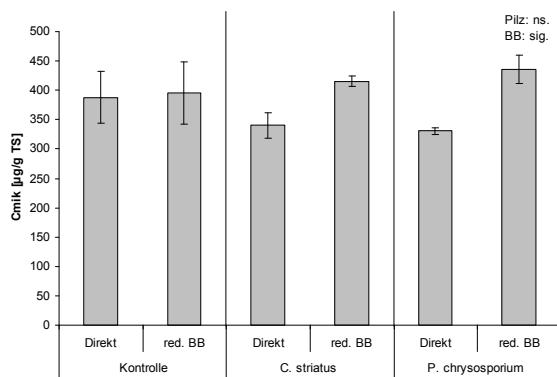
- **Mikrobielle Biomasse**

Die mikrobielle Biomasse ist ein Indikator für die Reaktion der Bodenmikroorganismen auf Bewirtschaftung, Klimawandel, örtliche Störungen und Umweltverschmutzungen sowie andere Eingriffe.

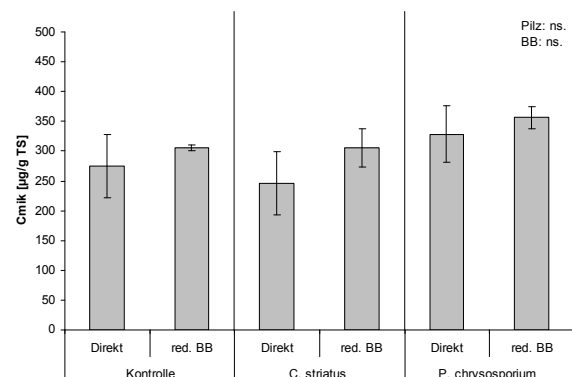
Im Feldversuch wurde ab der Inokulation mit Weißfäulepilzen an vier Terminen (Ende April, Ende Mai, August und Anfang Oktober) Bodenmaterial entnommen und auf die Parameter mikrobieller Kohlenstoff ( $C_{\text{mik.}}$ ) und Stickstoff ( $N_{\text{mik.}}$ ) untersucht. Die Inokulation mit Weißfäulepilzen hatte keinen Einfluss auf die mikrobielle Biomasse in den untersuchten Parzellen. Dagegen war die mikrobielle Biomasse in der reduzierten Bodenbearbeitung am ersten Probenahmetermin Mitte April bei beiden

Messparametern Kohlenstoff (Abb. 23a+b) und Stickstoff (Abb. 24a+b) signifikant höher als in der Direktsaat. Beim vierten Probenahmetermin Ende Oktober (Abb. 23-24b) konnte dieser Effekt nicht mehr beobachtet werden, da vermutlich durch die Stoppelbearbeitung nach der Ernte die oberen Bodenschichten vermischt wurden.

## Bestockung (a)

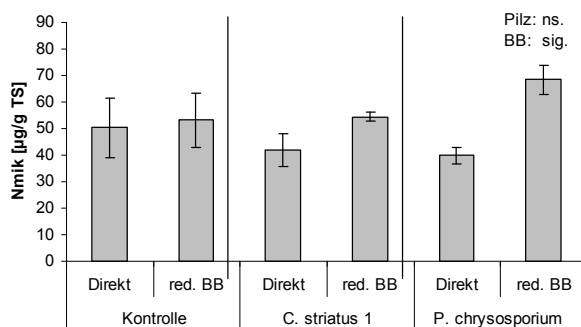


## nach Stoppelbearbeitung (b)

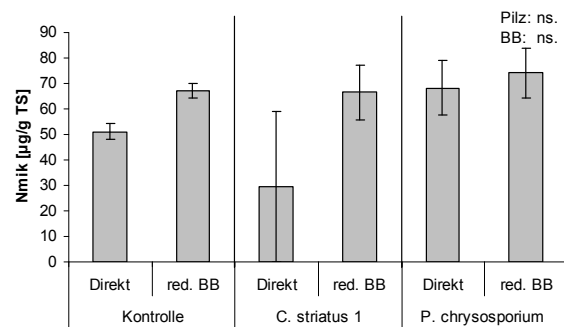


**Abb. 23: Mikrobieller Kohlenstoff im Boden bei Direktsaat und reduzierter Bodenbearbeitung nach Herbstinokulation mit Weißfäulepilzen am 1. Probenahmetermin (a) und 4. Probenahmetermin (b); (BB =Bodenbearbeitung) (MW, SF, n = 3).**

## Bestockung (a)

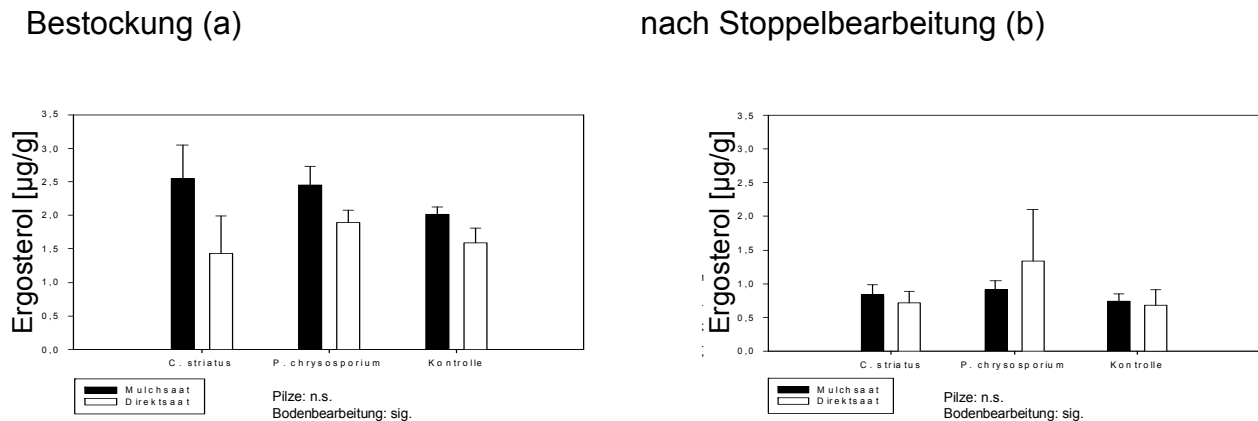


## nach Stoppelbearbeitung (b)



**Abb. 24: Mikrobieller Stickstoff im Boden bei Direktsaat und reduzierter Bodenbearbeitung nach Herbstinokulation mit Weißfäulepilzen am 1. Probenahmetermin (a) und 4. Probenahmetermin (b); (BB =Bodenbearbeitung) (MW, SF, n = 3).**

- **Ergosterolgehalt**



**Abb. 25: Ergosterolgehalt im Boden bei Direktsaat und reduzierter Bodenbearbeitung nach Herbstinokulation mit Weißfäulepilzen am 1. Probenahmetermin (a) und 4. Probenahmetermin (b); (BB =Bodenbearbeitung (MW, SF, n = 3).**

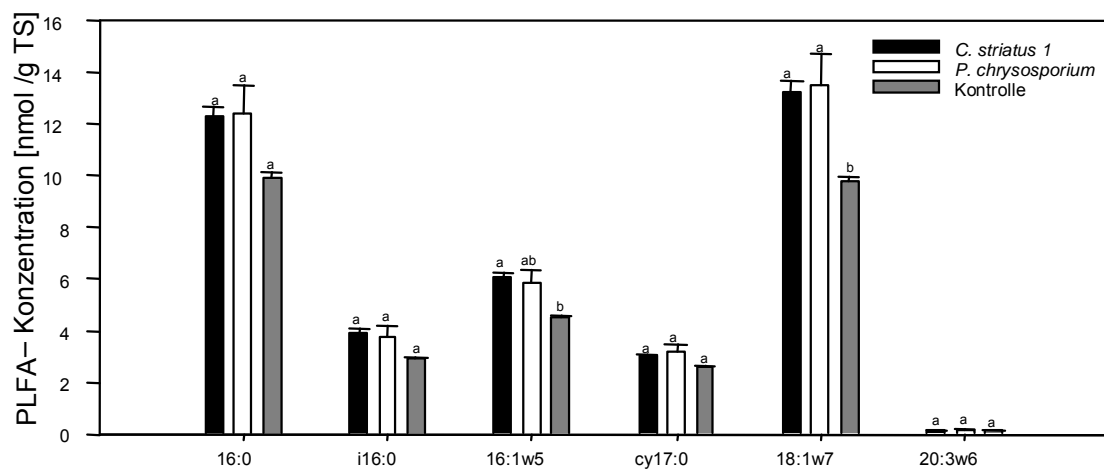
In den Abbildungen 25 a+b sind die Ergosterolgehalte im Boden beim ersten Probenahmetermin bei der Bestockung des Weizens und am letzten Termin nach der Stoppelbearbeitung dargestellt. Die Ergosterolgehalte lagen im Oktober (Abb. 25b) nach der Stoppelbearbeitung deutlich unter denjenigen vom April (Abb. 25a). Wie schon bei der mikrobiellen Biomasse war auch hier nach der Stoppelbearbeitung keine Signifikanz aufgrund der Durchmischung der Bodenschichten in der Versuchsvariante Bodenbearbeitung mehr feststellbar. Widererwarten lagen allerdings die Ergosterolwerte der Pilzvarianten nicht deutlich über denjenigen der Kontrolle, daher ist es unsicher, ob sich die Pilze im Feld etablieren konnten.

- **PLFA**

Bei den PLFA ließen sich keine nennenswerten Unterschiede zwischen Mulch- und Direktsaat feststellen. Jedoch waren bei den einzelnen Fettsäuren zwischen den Pilzen und der Kontrolle teilweise ein signifikant höheres Aufkommen von Mikroorganismen, wie zum Beispiel Cyanobakterien/Arbuskuläre Mykorrhizapilze und Aerobe Eubakterien/Gram-negative Bakterien erkennbar (Abb. 26). Aus Tabelle 8 wird ersichtlich, welche Fettsäuren als Marker für welche Organismen eingesetzt wurden.

**Tabelle 8: Übersicht der PLFA für die untersuchten Organismen**

PLFA	Organismus
16:00	Pilze
i16:00	Gram-positive Bakterien
16:1 $\omega$ 5	Cyanobakterien, Arbuskuläre Mykorrhizapilze
cy17:0	Anaerobe Eubakterien, Gram-negative Bakterien
18:1 $\omega$ 7	Aerobe Eubakterien, Gram-negative Bakterien
20:3 $\omega$ 6	Protozoen



**Abb. 26: PLFA – Konzentration zum Zeitpunkt der Bestockung bei Mulchsaat . Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF, n = 3).**

- **Enzymaktivität**

Die Enzymaktivitäten von Glucosidase, Xylosidase, Phenoloxidase und Peroxidase unterlagen an den vier gemessenen Terminen starken Schwankungen. Es ergaben sich aber weder hinsichtlich der Pilze noch in Bezug auf die Bodenbearbeitung signifikante Unterschiede.

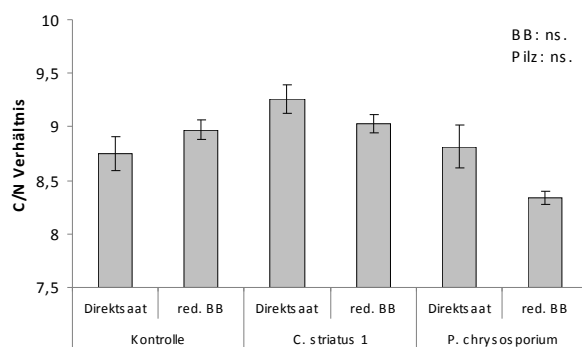
Zusammenfassend zeigte die Messung der mikrobiellen Biomasse, des Ergosterolgehaltes, sowie der Enzymaktivitäten keine Auffälligkeiten durch die Ausbringung der Weißfäulepilze auf das Feld. Mit Ausnahme der PLFA-Analyse, wo zum Teil ein erhöhtes Aufkommen von anderen Mikroorganismen registriert wurde, konnten schlussfolgernd keine Auswirkungen auf die bereits etablierten Bodenmikroorganismen nachgewiesen werden. Die Bodenbearbeitung dagegen übte

einen nachweisbar größeren Einfluss auf die Mikroorganismen aus als die Ausbringung von Pilzen. Da zumindest die Pilzbiomasse bzw. Enzyme welche von den Weißfäulepilzen produziert wurden positiv auf die Ausbringung im Vergleich zur Kontrolle hätte reagieren müssen ist daher fraglich, ob sich Weißfäulepilze auf dem Feld etablieren können. Um dies eindeutig zu klären, wären molekularbiologische Untersuchungen notwendig gewesen.

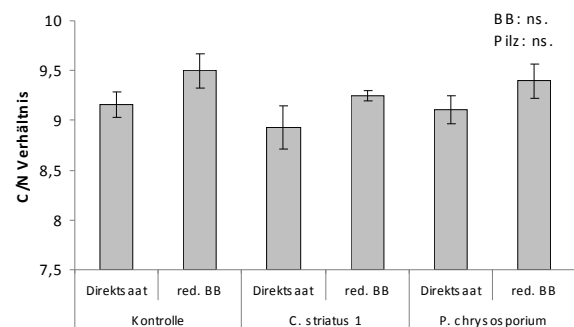
### 3.4.2.2 C/N Verhältnis des Bodens über die Vegetationszeit (Weizen)

Abbildung 27 a-d zeigt die Veränderung des C/N Verhältnisses in den ausgewählten Parzellen an den 4 Beprobungsterminen. Die Inokulation mit Weißfäulepilzen hatte auch auf diesen Parameter keinen Einfluss. Ein Einfluss des Bodenbearbeitungssystems auf das C/N Verhältnis konnte ebenfalls nicht festgestellt werden..

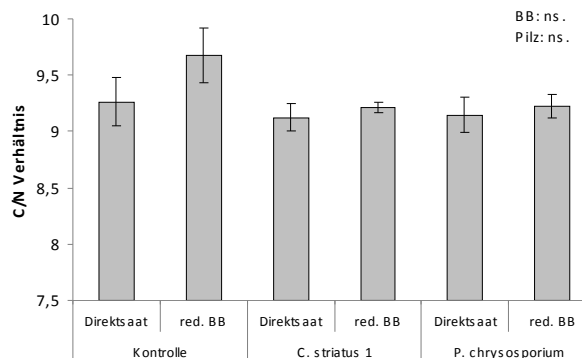
Bestockung (a)



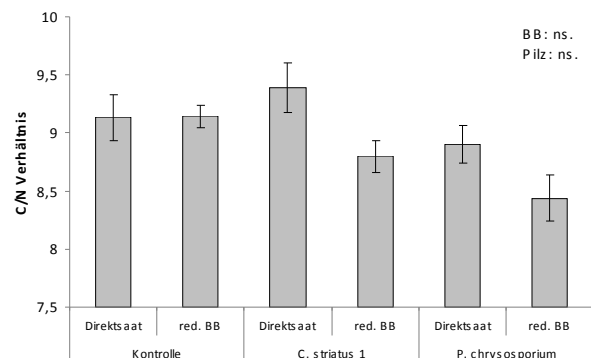
Ährenschieben (b)



Ernte (c)



nach Stoppelbearbeitung (d)



**Abb. 27: Veränderung des C/N Verhältnisses im Boden bei Direktsaat und reduzierter Bodenbearbeitung nach Herbstinokulation mit Weißfäulepilzen an 4 Probenahmeterminen (a-d) (MW, SF, n = 3).**

Zusammenfassend konnten in keinem der durchgeführten Versuche über die gewählte Versuchsdauer Hinweise auf eine Beeinflussung des Humusgehaltes bzw. Mikroorganismen festgestellt werden. Zu prüfen wäre allerdings in eine Langzeitstudie, ob nach mehreren Jahren ein entsprechender Effekt zu erwarten wäre.

### **3.5 Ergebnisse zu Arbeitspaket V - Prüfung der entwickelten Methodik in der Praxis im Rahmen eines zweijährigen Feldversuchs**

#### **3.5.1 Ertrag und Ertragsparameter**

In Tabelle 9 ist der Weizenkornenertrag (dt/ha) sowie in den Tabellen 10-12 die Ertragsparameter ährentragende Halme (Tab.10), Körner/Ähre (Tab.11) und TKG (Tab.12) in Abhängigkeit der verschiedenen Bodenbearbeitungssysteme Direktsaat, reduzierte Bodenbearbeitung und Pflug und der Pilzvarianten in den Versuchsjahren 2007/2008 und 2008/2009 aufgeführt. Wie aus den Tabellen zu entnehmen ist, weisen alle Ertragsparameter signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsjahren auf. Der Kornenertrag war im Versuchsjahr 2007/2008 mit durchschnittlich 55,3 dt/ha signifikant höher als im Folgejahr 2008/2009 (37,1 dt/ha). Der sehr geringe Ertrag in diesem Jahr ist vermutlich eine Folge des hohen Krankheitsbefalls des Weizens. Durch den feuchten Frühling waren die Pflanzen stark mit Rost, *Septoria spp.* und *Fusarium spp.* befallen. Die Körner blieben sehr klein und leicht. Es waren im Jahr 2008/2009 signifikant mehr Körner pro Ähre (32,8) als 2007/2008 (30,2) vorhanden, der Ertragsparameter ährendtragende Halme war mit 500 zu 480 Halme pro m<sup>2</sup> ebenfalls signifikant erhöht. Infolgedessen war das TKG im Jahr 2008/2009 signifikant niedriger mit durchschnittlich 21,2 g als im Jahr davor (36,0 g). Auf die Bodenbearbeitung reagierten ebenfalls alle Ertragsparameter mit signifikanten Unterschieden. Der Ertrag der Weizenkörner war in der Pflugvariante signifikant höher als bei reduzierter Bodenbearbeitung und Direktsaat. Die auf dem Feld verbliebenen Maiserntereste führten möglicherweise zu einem verminderten Aufgang der Pflanzen aufgrund einer schlechteren Tiefenablage der Saat. Diese Vermutung spiegelt sich auch durch dieselbe Konstellation Pflug > red. Bodenbearbeitung > Direktsaat bei der Anzahl ährentragender Halme wieder. Einen signifikanten Unterschied zeigte hier allerdings nur die Bodenbearbeitung Direktsaat zur reduzierten Bodenbearbeitung. Die Anzahl der Körner pro Ähre war in der

Pflugvariante signifikant höher als bei Direktsaat. Die anderen Varianten zeigten keine Signifikanzen. Beim TKG zeigten sich signifikante Unterschiede von Direktsaat zu red. Bodenbearbeitung und von Direktsaat zu Pflug, in beiden Fällen war das TKG bei geringerer Bodenbearbeitung niedriger. Zurückzuführen ist dies vermutlich ebenfalls auf den hohen Krankheitsdruck des Weizens, der mit der Minimierung der Bodenbearbeitung erhöht wurde und sich somit negativ auf den Ertragsparameter auswirkte.

Der Einfluss der Pilze konnte nur im Ertragsparameter TKG durch einen signifikanten Unterschied zwischen den Pilzstämmen *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* festgestellt werden, da die Ausbringung der Pilze im Vergleich zur Kontrollvariante jedoch auf keinen der getesteten Ertragsparameter einen Einfluss zu haben scheint und es sonst auch keine Unterschiede gibt, ist dies wohl eher ein zufälliger Effekt. Auch die Menge der Pilze (150 g bzw. 300 g inokulierte Roggenkörner / Parzelle) und der Zeitpunkt der Ausbringung im Frühjahr oder Herbst sowie die Kombination aus beiden zeigte keinen Effekt auf die untersuchten Ertragsparameter ährentragende Halme, Körner/Ähre und TKG und auch nicht auf den Ertrag.

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse eine starke Abhängigkeit der getesteten Ertragsparameter vom Jahr bzw. den je nach Jahr bedingten Einflüssen wie z.B. der Witterung oder des Standortes und von der Bodenbearbeitung. Hier zeigte sich die Abstufung Pflug > red. Bodenbearbeitung > Direktsaat. Wie schon auf den Humusgehalt und die im Boden lebenden Mikroorganismen, schien die Ausbringung der Pilze, unabhängig von der Inokulummenge und dem Zeitpunkt der Ausbringung keinen Einfluß auf den Ertrag und die untersuchten Ertragsparameter zu haben.



**Tabelle 9: Weizenkornenertrag [dt/ha] in 2007/2008 und 2008/2009**

		Weizenkörner (dt/ha)		
		2008	2009	Mittel über 2 Jahre
<b><i>Cyathus striatus 1</i></b>				MW SF
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>				
	Frühjahr & einfach	57,3	31,6	39,1 (±4,72)
	Herbst & einfach	60,6	41,2	43,8 (±2,86)
	Frühjahr+Herbst & je einfach	63,3	27,1	43,9 (±3,77)
	Frühjahr & doppelt	39,7	31,3	35,8 (±3,53)
	Herbst & doppelt	53,3	36,7	41,9 (±3,25)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>				
	Frühjahr & einfach	62,2	39,6	50,5 (±5,45)
	Herbst & einfach	63,2	42,8	49,8 (±5,88)
	Frühjahr+Herbst & je einfach	54,2	37,1	47,6 (±5,57)
	Frühjahr & doppelt	60,6	34,5	48,0 (±4,85)
	Herbst & doppelt	67,3	41,4	51,7 (±5,45)
<b>Pflug</b>				
	Frühjahr+Herbst & je einfach	68,1	42,2	56,8 (±4,57)
<b><i>Phanerochaete chrysosporium</i></b>				
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>				
	Frühjahr & einfach	24,4	41,9	45,0 (±3,30)
	Herbst & einfach	50,7	33,4	40,1 (±4,24)
	Frühjahr+Herbst & je einfach	45,8	25,1	37,3 (±3,95)
	Frühjahr & doppelt	47,1	37,6	42,8 (±3,54)
	Herbst & doppelt	45,5	32,2	38,9 (±4,04)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>				
	Frühjahr & einfach	61,7	45,6	51,8 (±6,44)
	Herbst & einfach	68,8	40,6	49,9 (±5,18)
	Frühjahr+Herbst & je einfach	50,6	37,6	47,0 (±5,66)
	Frühjahr & doppelt	65,8	41,4	50,2 (±6,60)
	Herbst & doppelt	59,6	36,5	50,2 (±4,48)
<b>Kontrolle</b>				
	<b>Flache Bodenbearbeitung</b>	58,8	43,8	43,2 (±4,32)
	<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>	65,1	39,7	50,0 (±5,71)
	<b>Pflug</b>	71,3	40,7	54,5 (±5,67)

<b>Jahr</b>	<b>sig.</b>
<b>Jahr*WDH</b>	<b>ns.</b>
<b>Inokulummenge</b>	<b>ns.</b>
<b>Ausbringung (Zeit)</b>	<b>ns.</b>
<b>Pilzstamm</b>	<b>ns.</b>
<b>Bodenbearbeitung</b>	<b>sig.</b>

**Tabelle 10: Ährentragende Halme pro m<sup>2</sup> in 2007/2008 und 2008/2009**

Ährentragende (Halme/m <sup>2</sup> )					
		2008	2009	Mittel über 2 Jahre	
<b>Cyathus striatus 1</b>					MW    SF
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>					
Frühjahr & einfach		444,6	456,9	450,7	(±14,49)
Herbst & einfach		515,6	533,3	524,5	(±61,12)
Frühjahr+Herbst & je einfach		490,6	375,0	432,8	(±44,95)
Frühjahr & doppelt		507,6	378,6	443,1	(±54,54)
Herbst & doppelt		472,1	494,2	483,2	(±47,30)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>					
Frühjahr & einfach		496,4	482,6	489,5	(±23,39)
Herbst & einfach		494,6	574,3	534,4	(±31,51)
Frühjahr+Herbst & je einfach		469,9	476,1	473,0	(±13,77)
Frühjahr & doppelt		489,9	506,5	498,2	(±33,43)
Herbst & doppelt		505,4	515,6	510,5	(±9,41)
<b>Pflug</b>					
Frühjahr+Herbst & je einfach		519,9	544,9	532,4	(±20,28)
<b>Phanerochaete chrysosporium</b>					
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>					
Frühjahr & einfach		388,4	538,0	463,2	(±44,80)
Herbst & einfach		468,1	433,0	450,5	(±50,31)
Frühjahr+Herbst & je einfach		454,0	384,1	419,0	(±22,51)
Frühjahr & doppelt		477,2	475,4	476,3	(±21,65)
Herbst & doppelt		417,4	493,8	455,6	(±32,37)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>					
Frühjahr & einfach		518,8	600,7	559,8	(±37,93)
Herbst & einfach		511,6	510,9	511,2	(±8,65)
Frühjahr+Herbst & je einfach		436,2	485,5	460,9	(±18,49)
Frühjahr & doppelt		534,1	592,4	563,2	(±30,21)
Herbst & doppelt		487,0	456,9	471,9	(±20,72)
<b>Kontrolle</b>					
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>		470,3	618,5	544,4	(±37,20)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>		517,0	554,7	535,9	(±27,61)
<b>Pflug</b>		456,5	530,1	493,3	(±30,26)

<b>Jahr*WDH</b>	<b>sig.</b>
<b>Inokulummenge</b>	<b>ns.</b>
<b>Ausbringung (Zeit)</b>	<b>ns.</b>
<b>Pilzstamm</b>	<b>ns.</b>
<b>Bodenbearbeitung</b>	<b>sig.</b>

Tabelle 11: Körner/Ähre in 2007/2008 und 2008/2009

	Körner/Ähre		
	2008	2009	Mittel über 2 Jahre
<b>Cyathus striatus 1</b>			
			MW SF
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>			
Frühjahr & einfach	33,3	32,9	33,1 (±1,98)
Herbst & einfach	31,7	32,4	32,0 (±2,25)
Frühjahr+Herbst & je einfach	33,1	32,4	32,7 (±1,30)
Frühjahr & doppelt	19,4	35,1	27,3 (±3,75)
Herbst & doppelt	29,3	33,5	31,4 (±1,51)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>			
Frühjahr & einfach	31,1	34,4	32,7 (±1,18)
Herbst & einfach	31,9	31,8	31,9 (±1,50)
Frühjahr+Herbst & je einfach	28,3	33,2	30,8 (±1,39)
Frühjahr & doppelt	31,5	30,2	30,8 (±1,87)
Herbst & doppelt	32,5	33,7	33,1 (±0,55)
<b>Pflug</b>			
Frühjahr+Herbst & je einfach	32,9	31,0	31,9 (±0,86)
<b>Phanerochaete chrysosporium</b>			
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>			
Frühjahr & einfach	18,3	34,2	26,3 (±4,65)
Herbst & einfach	27,8	34,1	30,9 (±1,61)
Frühjahr+Herbst & je einfach	26,8	28,9	27,8 (±1,47)
Frühjahr & doppelt	26,2	37,7	32,0 (±2,80)
Herbst & doppelt	27,3	31,5	29,4 (±1,39)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>			
Frühjahr & einfach	30,1	33,5	31,8 (±0,95)
Herbst & einfach	34,0	35,0	34,5 (±0,53)
Frühjahr+Herbst & je einfach	29,3	34,0	31,7 (±1,69)
Frühjahr & doppelt	31,9	30,5	31,2 (±1,24)
Herbst & doppelt	31,9	31,8	31,8 (±0,42)
<b>Kontrolle</b>			
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>	33,2	32,6	32,9 (±0,70)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>	32,4	31,4	31,9 (±0,64)
<b>Pflug</b>	40,2	32,0	36,1 (±3,19)

<b>Jahr*WDH</b>	<b>sig.</b>
<b>Inokulummenge</b>	<b>ns.</b>
<b>Ausbringung (Zeit)</b>	<b>ns.</b>
<b>Pilzstamm</b>	<b>ns.</b>
<b>Bodenbearbeitung</b>	<b>sig.</b>

**Tabelle 12: Tausendkorngewicht [g] in 2007/2008 und 2008/2009**

	TKG (g)		
	2008	2009	Mittel über 2 Jahre
<b><i>Cyathus striatus 1</i></b>			
			MW SF
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>			
Frühjahr & einfach	35,1	19,3	27,2 (±3,59)
Herbst & einfach	36,4	22,0	29,2 (±3,23)
Frühjahr+Herbst & je einfach	35,8	20,6	28,2 (±3,45)
Frühjahr & doppelt	36,4	21,9	29,1 (±3,28)
Herbst & doppelt	34,9	20,8	27,9 (±3,19)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>			
Frühjahr & einfach	36,8	22,1	29,5 (±3,35)
Herbst & einfach	36,8	21,8	29,3 (±3,37)
Frühjahr+Herbst & je einfach	37,3	21,6	29,5 (±3,53)
Frühjahr & doppelt	36,0	21,6	28,8 (±3,28)
Herbst & doppelt	37,8	21,9	29,9 (±3,55)
<b>Pflug</b>			
Frühjahr+Herbst & je einfach	36,8	23,1	29,9 (±3,09)
<b><i>Phanerochaete chrysosporium</i></b>			
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>			
Frühjahr & einfach	34,8	21,0	27,9 (±3,14)
Herbst & einfach	35,3	20,8	28,0 (±3,28)
Frühjahr+Herbst & je einfach	34,7	20,7	27,7 (±3,16)
Frühjahr & doppelt	34,6	19,5	27,1 (±3,43)
Herbst & doppelt	36,2	19,2	27,7 (±3,82)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>			
Frühjahr & einfach	36,7	20,8	28,8 (±3,56)
Herbst & einfach	36,4	20,8	28,6 (±3,47)
Frühjahr+Herbst & je einfach	36,1	20,9	28,5 (±3,44)
Frühjahr & doppelt	35,9	21,1	28,5 (±3,35)
Herbst & doppelt	35,3	23,1	29,2 (±2,80)
<b>Kontrolle</b>			
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>	34,8	20,0	27,4 (±3,31)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>	35,7	20,9	28,3 (±3,32)
<b>Pflug</b>	36,6	22,3	29,4 (±3,25)

<b>Jahr</b>	<b>sig.</b>
<b>Inokulummenge</b>	<b>ns.</b>
<b>Ausbringung (Zeit)</b>	<b>ns.</b>
<b>Pilzstamm</b>	<b>sig.</b>
<b>Bodenbearbeitung</b>	<b>sig.</b>

### 3.5.2 Qualitätsparameter

Für die Bestimmung des Rohproteingehaltes wurde der Gesamtstickstoff im Weizenkorn gemessen. In der Multiplikation mit 5,7 (Faktor für Weizen) (Kübler, 1994) ergab sich dann daraus der Rohproteingehalt (%). Die Ergebnisse, dargestellt in Tabelle 13, zeigten einen signifikant höheren Rohproteingehalt im Versuchsjahr 2007/2008 mit durchschnittlich 14,1 % im Vergleich zum Jahr darauf mit 13,9 %. Auch die Bodenbearbeitung zeigte einen signifikanten Unterschied von Direktsaat (14,2 %) zu red. Bodenbearbeitung (13,8 %) und von Direktsaat zu Pflug (13,8 %), in beiden Fällen war der Rohproteingehalt bei geringerer Bodenbearbeitung signifikant höher. Die Aufbringung der Pilze, egal in welcher Ausprägung, schien dagegen auch auf die Qualität keinen Einfluss zu haben.

**Tabelle 13: Rohproteingehalt [%] in 2007/2008 und 2008/2009**

	Rohproteingehalt (%)			
	2008	2009	Mittel über 2 Jahre	
<b><i>Cyathus striatus 1</i></b>			MW	SF
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>				
Frühjahr & einfach	14,14 (±0,16)	14,38 (±0,22)	14,26	(±0,13)
Herbst & einfach	13,80 (±0,09)	13,69 (±0,22)	13,74	(±0,11)
Frühjahr+Herbst & je einfach	14,30 (±0,12)	13,97 (±0,34)	14,13	(±0,18)
Frühjahr & doppelt	14,78 (±0,33)	13,73 (±0,29)	14,26	(±0,31)
Herbst & doppelt	14,75 (±0,15)	13,63 (±0,16)	14,19	(±0,27)
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>				
Frühjahr & einfach	13,65 (±0,18)	13,68 (±0,11)	13,66	(±0,10)
Herbst & einfach	13,49 (±0,09)	14,06 (±0,34)	13,77	(±0,20)
Frühjahr+Herbst & je einfach	13,81 (±0,40)	13,70 (±0,12)	13,76	(±0,19)
Frühjahr & doppelt	13,37 (±0,06)	13,96 (±0,02)	13,66	(±0,14)
Herbst & doppelt	13,68 (±0,13)	13,82 (±0,24)	13,75	(±0,13)
<b>Pflug</b>				
Frühjahr+Herbst & je einfach	13,56 (±0,32)	14,09 (±0,19)	13,82	(±0,20)
<b><i>Phanerochaete chrysosporium</i></b>				
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>				
Frühjahr & einfach	14,54 (±0,20)	13,87 (±0,10)	14,20	(±0,18)
Herbst & einfach	14,77 (±0,09)	14,14 (±0,23)	14,45	(±0,18)
Frühjahr+Herbst & je einfach	15,15 (±0,48)	13,74 (±0,05)	14,45	(±0,38)
Frühjahr & doppelt	14,73 (±0,21)	13,72 (±0,08)	14,23	(±0,25)
Herbst & doppelt	14,72 (±0,44)	13,95 (±0,11)	14,34	(±0,27)

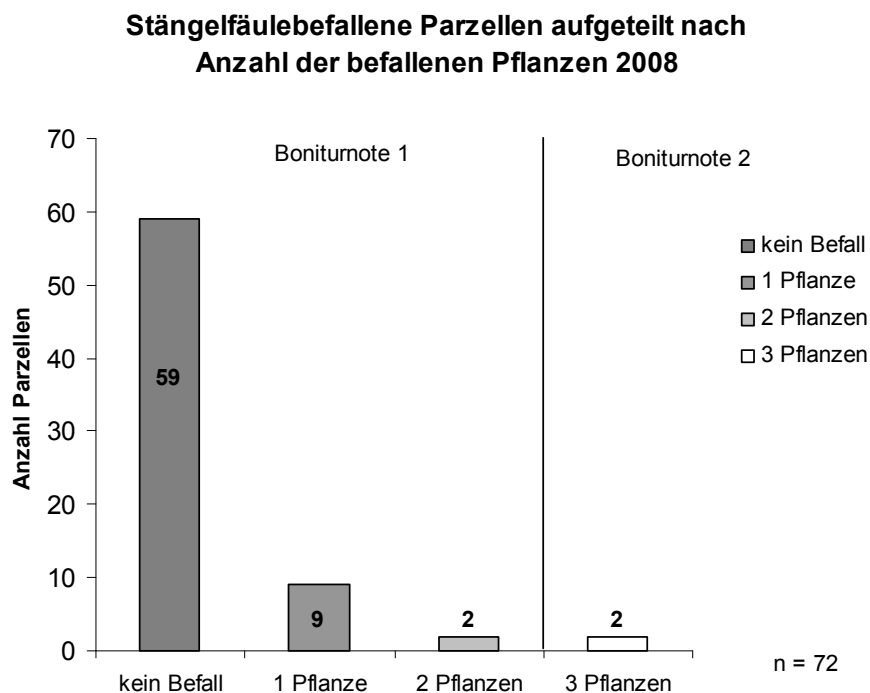
Tiefe Bodenbearbeitung						
Frühjahr & einfach	13,77	(±0,03)	13,83	(±0,12)	13,80	(±0,05)
Herbst & einfach	13,88	(±0,06)	13,77	(±0,21)	13,82	(±0,10)
Frühjahr+Herbst & je einfach	13,80	(±0,17)	14,09	(±0,08)	13,95	(±0,11)
Frühjahr & doppelt	13,57	(±0,17)	13,76	(±0,16)	13,67	(±0,11)
Herbst & doppelt	14,17	(±0,25)	13,82	(±0,13)	13,99	(±0,15)
Kontrolle						
Flache Bodenbearbeitung	13,60	(±0,10)	14,07	(±0,16)	13,83	(±0,13)
Tiefe Bodenbearbeitung	14,00	(±0,37)	14,19	(±0,34)	14,10	(±0,23)
Pflug	13,55	(±0,16)	14,04	(±0,28)	13,79	(±0,18)

Jahr	sig.
Inokulummenge	ns.
Ausbringung (Zeit)	ns.
Pilzstamm	ns.
Bodenbearbeitung	sig.

### 3.5.3. Bonituren

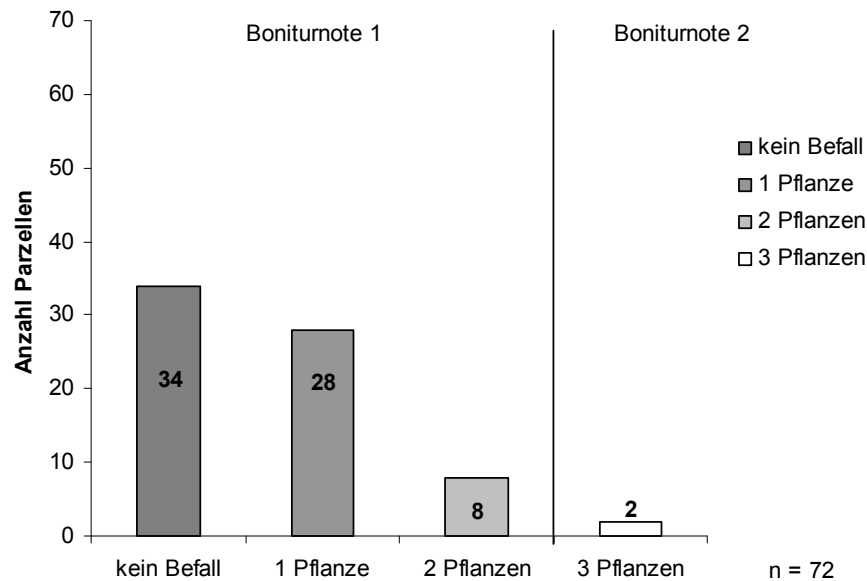
#### 3.5.3.1 Bonitur auf Stängelfäule bei Mais

Die Bonitur auf Stängelfäule (Abb. 28 + 29) bei Mais zeigte in beiden Versuchsjahren einen geringen Befall im Bestand mit Noten von 1 bis max. 2. (BSA – Richtlinie, 2000).



**Abb. 28: Bonitur auf Stängelfäule im Versuchsjahr 2007/2008 aufgeteilt nach der Anzahl befallener Parzellen (pro 30 je Parzelle)**

### Stängelfäulebefallene Parzellen aufgeteilt nach Anzahl der befallenen Pflanzen 2007



**Abb. 29: Bonitur auf Stängelfäule in den Versuchsjahr 2008/2009 aufgeteilt nach der Anzahl befallener Parzellen (pro 30 je Parzelle)**

**Tabelle 14: Noten nach BSA – Richtlinie, 2000**

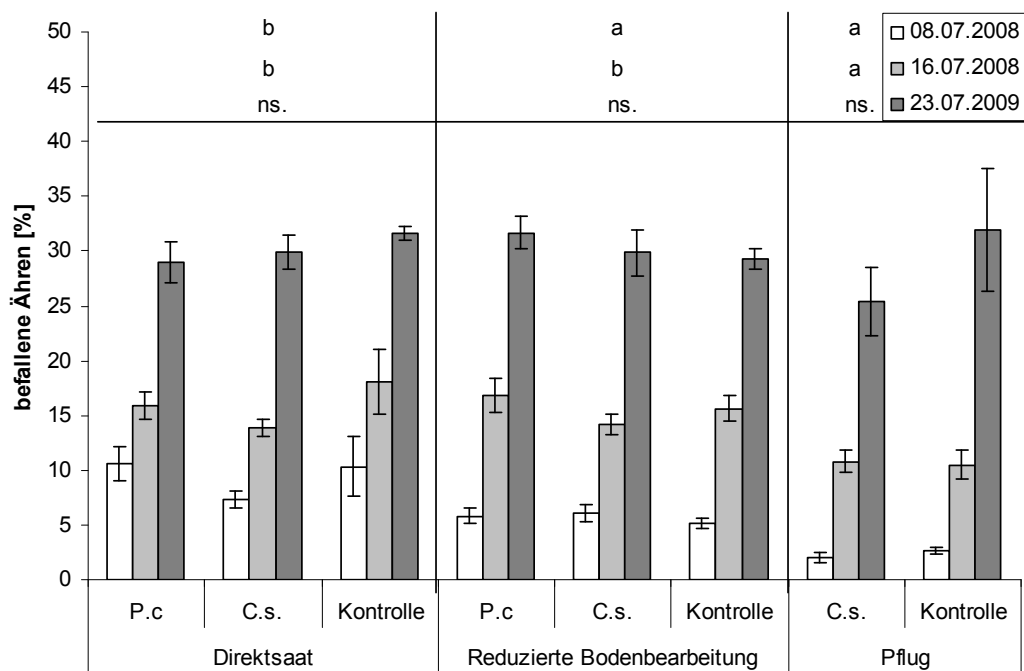
Note	Anzahl Pflanzen mit Stängelfäule (von 30 Pflanzen)
1	0-2
2	3-5
3	6-8
4	9-11
5	12-14
6	15-17
7	18-20
8	21-23
9	über 23

#### 3.5.3.2 Ährenbonitur auf Ährenfusarium bei Weizen

Die Bonitur auf Ährenfusarium sollte erste Erkenntnisse über den Befall des Weizens mit Fusarium bringen. Abbildung 30 und 31 zeigt die Ergebnisse der Bestandesbonitur in Form der befallenen Ähren (%) bei den verschiedenen Bodenbearbeitungssystemen und den beiden Pilzvarianten *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* an drei Boniturerminen in den Versuchsjahren 2007/2008 und 2008/2009.

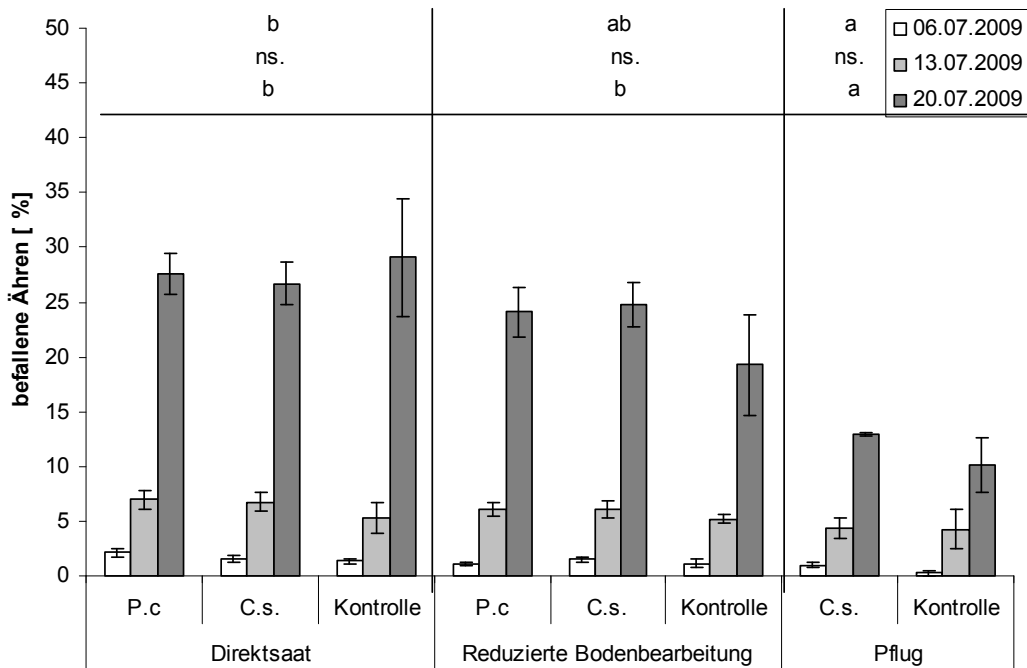
Im Vergleich der unterschiedlichen Bodenbearbeitungssysteme zeigte sich vor allem im ersten Versuchsjahr (Abb. 30) kurz nach der Blüte in der ersten Bonitur ein starker

Befall in der Direktsaatvariante. Der Befall nahm in der Reihenfolge Direktsaat > Reduzierte Bodenbearbeitung > Pflug ab. Mit steigendem Infektionsdruck glichen sich die einzelnen Bodenbearbeitungssysteme im weiteren Vegetationsverlauf jedoch an. Auch im zweiten Versuchsjahr (Abb. 31) glichen sie sich zunächst an, mit steigendem Infektionsdruck am letzten Termin kurz vor der Ernte blieb der Befall in der Pflugvariante jedoch signifikant niedriger als in den anderen beiden Varianten. Der Einfluss der Pilzbehandlung konnte dagegen in beiden Versuchsjahren nicht bzw. in nur sehr geringer Ausprägung in der Direktsaatvariante festgestellt werden.



**Abb. 30: Bestandesbonitur auf Ährenfusarium [%] im Versuchsjahr 2007/2008. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb eines Boniturtermins kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Bodenbearbeitungssystemen ( $\alpha = 0,05$ ).**





**Abb. 31: Bestandesbonitur auf Ährenfusarium [%] im Versuchsjahr 2008/2009. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb eines Boniturtermins kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Bodenbearbeitungssystemen ( $\alpha = 0,05$ ).**

### 3.5.4 Untersuchung des DON -Gehaltes (g/kg) im Korngut

Tabelle 15 zeigt die Ergebnisse der DON Messungen im Weizenkorn in Abhängigkeit der verschiedenen Bodenbearbeitungssysteme Direktsaat, reduzierte Bodenbearbeitung und Pflug und der Pilzvarianten in den Versuchsjahren 2007/2008 und 2008/2009. In Blick auf die Jahresdurchschnittsgehalte lagen sie bereits im Versuchsjahr 2007/2008 mit 4,2 g/kg über den Werten, die in der Höchstmengenverordnung angegeben sind. 2008/2009 steigerte sich der auf dem Schlag gemessene Durchschnittswert auf ein Mittel von 16,0 g/kg. Diese hohen Werte resultieren vermutlich aus der feuchten Witterung während der Blüte des Weizens, welches ideale Übertragungsbedingungen für Fusarium bot und im weiteren Verlauf wegen des vollständigen Verzichtes auf Fungizide. Im Vergleich der Bodenbearbeitungssysteme nahm die Mykotoxinbelastung in der Reihenfolge Direktsaat > Reduzierte Bodenbearbeitung > Pflug signifikant ab. Die Inokulation mit saprophytischen Pilzen zeigte keinen signifikanten Einfluss auf den DON-Gehalt. Dabei war es völlig unerheblich wann und in welcher Menge die Pilze auf das Feld inokulliert wurden. Zusammenfassend zeigte sich keine signifikante Verringerung des Infektionsdrucks durch Fusarien und damit der DON-Gehalte im Korngut von Winterweizen durch den Einsatz der Pilze. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass

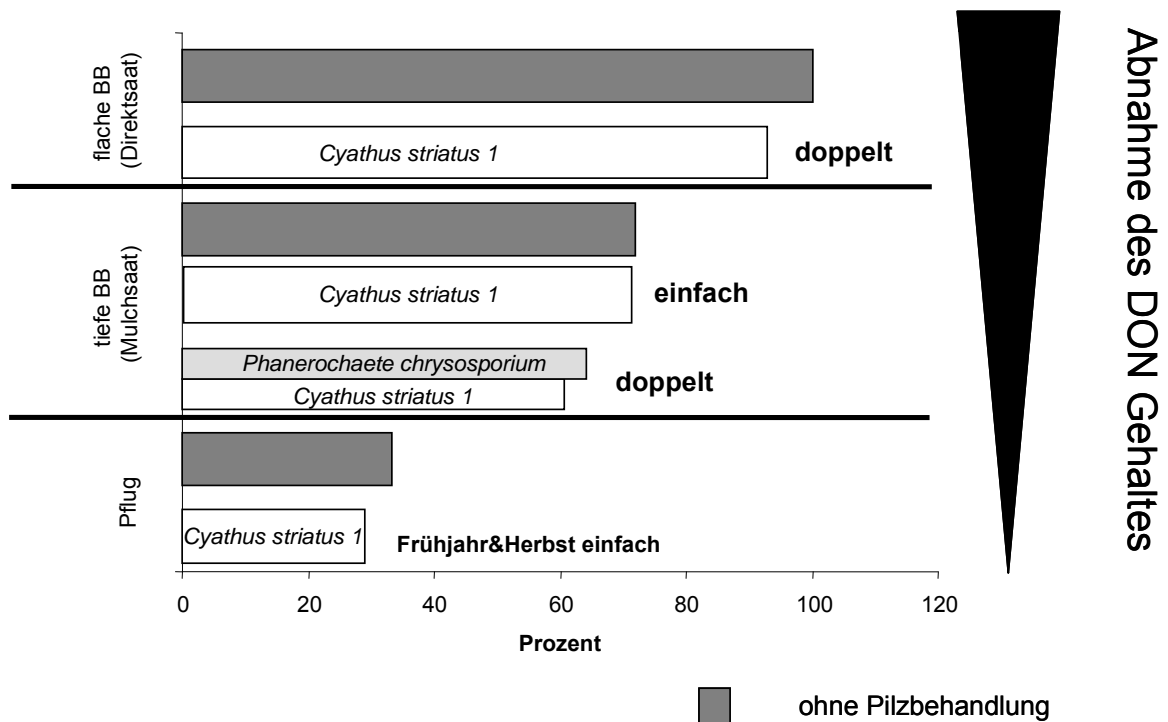
Maisstroh unter Freilandbedingungen nicht effizient genug abgebaut werden konnte, um den Fusarien die Lebensgrundlage zu entziehen.

Tabelle 15: DON Gehalt [g/kg]

	<i>Cyathus striatus 1</i>						<i>Phanerochaete chrysosporium</i>					
	2008		2009		Mittel über 2 Jahre		2008		2009		Mittel über 2 Jahre	
	MW	SF	MW	SF	MW	SF	MW	SF	MW	SF	MW	SF
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>												
Frühjahr & einfach	3,30	(±0,96)	30,15	(±8,03)	16,73	(±7,01)	6,62	(±1,68)	12,00	(±2,23)	9,31	(±1,73)
Herbst & einfach	5,14	(±0,39)	19,07	(±0,22)	11,25	(±3,58)	4,06	(±0,21)	14,97	(±4,33)	9,51	(±3,11)
Frühjahr+Herbst & je einfach	8,03	(±1,25)	23,26	(±2,45)	15,65	(±3,62)	7,07	(±2,03)	17,78	(±3,04)	12,42	(±2,90)
Frühjahr & doppelt	3,26	(±0,51)	13,53	(±0,43)	8,40	(±2,32)	6,55	(±0,11)	18,88	(±3,31)	12,71	(±3,13)
Herbst & doppelt	7,57	(±0,79)	18,43	(±3,84)	13,00	(±3,00)	6,25	(±1,83)	43,40	(±4,44)	24,83	(±8,58)
<b>Mittelwert:</b>	<b>5,12</b>	<b>(±0,73)</b>	<b>20,89</b>	<b>(±2,16)</b>	<b>13,00</b>	<b>(±1,84)</b>	<b>6,11</b>	<b>(±0,61)</b>	<b>21,41</b>	<b>(±3,30)</b>	<b>13,76</b>	<b>(±2,11)</b>
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>												
Frühjahr & einfach	3,13	(±0,76)	14,38	(±1,03)	8,76	(±2,58)	3,15	(±0,86)	13,50	(±1,42)	8,33	(±2,43)
Herbst & einfach	2,59	(±0,64)	12,68	(±2,86)	7,64	(±2,61)	2,65	(±0,73)	18,48	(±0,39)	10,56	(±3,56)
Frühjahr+Herbst & je einfach	3,14	(±0,80)	15,70	(±1,01)	9,42	(±2,87)	2,95	(±1,23)	13,73	(±4,80)	8,34	(±3,27)
Frühjahr & doppelt	3,77	(±1,05)	10,00	(±3,22)	6,89	(±2,06)	3,46	(±1,17)	9,68	(±1,78)	6,57	(±1,69)
Herbst & doppelt	3,17	(±0,33)	10,96	(±3,04)	7,07	(±2,21)	1,63	(±0,10)	14,80	(±1,07)	8,22	(±2,98)
<b>Mittelwert:</b>	<b>3,16</b>	<b>(±0,30)</b>	<b>12,75</b>	<b>(±1,08)</b>	<b>7,95</b>	<b>(±1,05)</b>	<b>2,77</b>	<b>(±0,38)</b>	<b>14,04</b>	<b>(±1,19)</b>	<b>8,40</b>	<b>(±1,21)</b>
<b>Pflug</b>												
Frühjahr+Herbst & je einfach	2,76	(±0,34)	3,90	(±0,94)	3,33	(±0,51)	-	-	-	-	-	-
<b>Kontrolle</b>												
<b>Flache Bodenbearbeitung</b>	<b>5,76</b>	<b>(±0,51)</b>	<b>17,30</b>	<b>(±1,16)</b>	<b>11,53</b>	<b>(±2,64)</b>	<b>Jahr</b>					sig.
<b>Tiefe Bodenbearbeitung</b>	<b>3,92</b>	<b>(±1,03)</b>	<b>12,64</b>	<b>(±1,01)</b>	<b>8,28</b>	<b>(±2,05)</b>	<b>Jahr*WDH</b>					ns.
<b>Pflug</b>	<b>3,47</b>	<b>(±1,26)</b>	<b>4,19</b>	<b>(±1,05)</b>	<b>3,83</b>	<b>(±0,75)</b>	<b>Inokulummenge</b>					ns.
							<b>Ausbringung (Zeit)</b>					ns.
							<b>Pilzstamm</b>					ns.
							<b>Bodenbearbeitung</b>					sig.

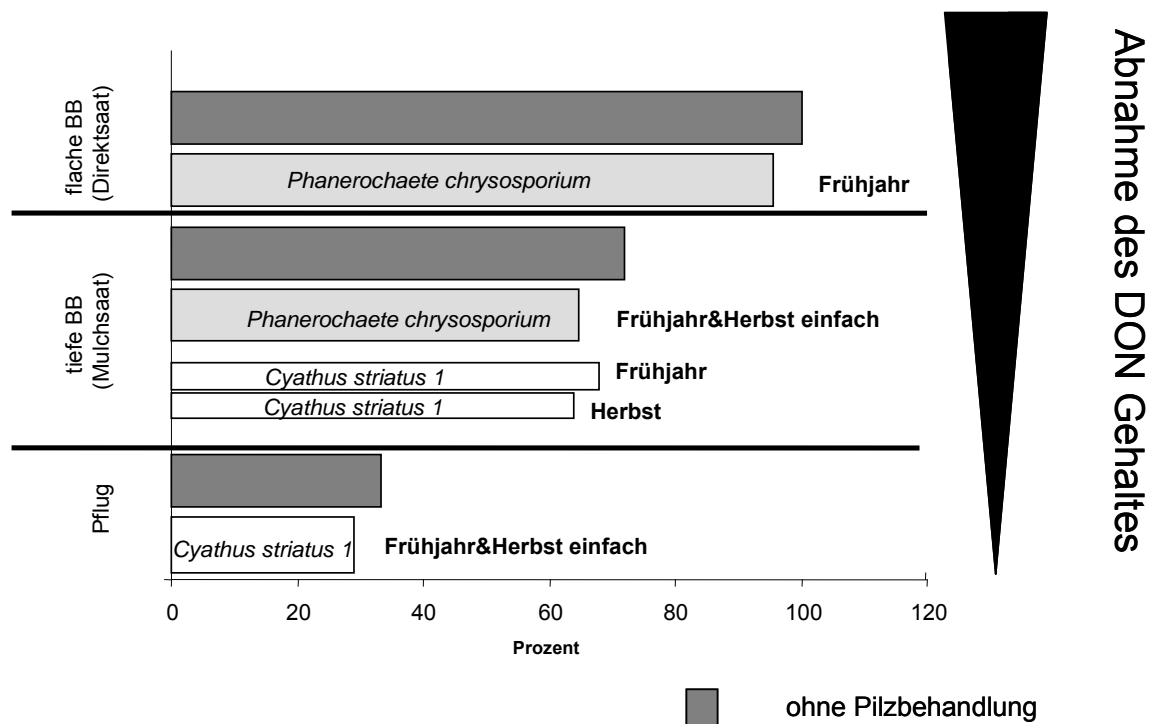
### 3.5.6 Überblick über den Nutzen der angewandten Maßnahmen - Bodenbearbeitung und Inokulummenge und Bodenbearbeitung und Ausbringungszeitraum - auf die Reduktion von DON in Weizen

In den Abbildungen 32 und 33 wurden die Maßnahmen, die einen reduzierenden Einfluss auf den DON-Gehalt haben, dargestellt. Dabei ist zu beachten, dass alle Maßnahmen, die die Pilzbehandlungen betreffen, nicht signifikant waren und nur als Tendenz gesehen werden können. Varianten, die keinen Einfluss hatten, wurden weggelassen. Die Bodenbearbeitung, die einen signifikanten Einfluss zwischen allen Bearbeitungsstufen aufwies, wurde als Referenz für den Pilzeffekt herangezogen. Für die Darstellung dieses Sachverhaltes wurde die höchste Konzentration (flache Bodenbearbeitung bzw. Direktsaat ohne Pilzbehandlung) = 100% gesetzt und davon die jeweilige prozentuale Reduktion der DON Belastung im Weizenkorn berechnet. Im Vergleich Bodenbearbeitungssysteme und Inokulummenge der beiden eingesetzten Weißfäulepilze *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* (Abb. 32) konnte in der flachen Bodenbearbeitung (Direktsaat) nur die doppelte Menge an *Cyathus striatus 1* einen reduzierenden Effekt um 7 % erzielen. Durch die Bearbeitung des Bodens und der Erntereste mit einer Fräse (Mulchsaat) wurde der DON-Gehalt um 28 % reduziert. Durch Zugabe der einfachen Menge an *Cyathus striatus 1* Inokulum (150 g inokulierte Körner / Parzelle) in dieser Bodenbearbeitungsstufe wurde der Gehalt geringfügig um 1 % zur Kontrolle reduziert. Die doppelte Menge an Inokulum ergab eine Reduzierung um weitere 10 % auf 61 % in Bezug zur höchsten Belastung. *Phanerochaete chrysosporium* zeigte nur in dieser Behandlung eine Reduktion des DON-Gehaltes im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle um 8% und schnitt somit schlechter als *Cyathus striatus 1* ab. Die Pflugvariante brachte eine signifikante Reduktion zur reduzierten Bodenbehandlung um 39 % im Bezug zur unbehandelten Direktsaatvariante. Die Inokulation der einfachen Menge mit *Cyathus striatus 1* im Herbst und im Frühjahr reduzierte den DON-Gehalt um weitere 4 % und erzielte somit die höchste Reduktion.



**Abb. 32:** Darstellung des Maßnahmenkataloges für Bodenbearbeitung und Inokulummenge basierend auf den Ergebnissen der DON Messungen

Wie die Abbildung 33 zeigt, brachte für *Phanerochaete chrysosporium* eher die Ausbringung im Frühjahr Erfolg. So reduzierte sich der DON-Gehalt in der Direktsaat um 5 % und in der Mulchsaat in der Frühjahr & Herbstausbringung um 35 %. Bei *Cyathus striatus 1* hingegen zeigte tendenziell die Herbstausbringung einen höheren Einfluss. In der Mulchsaat lag die Reduzierung bei 36 % im Vergleich zur Frühjahrsausbringung, welche 4 % weniger Erfolg hatte. Alle anderen nicht dargestellten Varianten hatten keinen Erfolg.



**Abb. 33:** Darstellung des Maßnahmenkataloges für Bodenbearbeitung und Ausbringungszeit basierend auf den Ergebnissen der DON Messungen

Zusammenfassend zeigte sich, dass der Einfluss der Inokulummenge entscheidender war als der Ausbringungszeitpunkt. *Cyathus striatus 1* erwies sich dabei insgesamt als geeigneter als *Phanerochaete chrysosporium*. Allerdings konnte kein signifikanter Einfluss durch die Pilze festgestellt werden. Die Steigerung der Abbauleistung in Verbindung mit der Optimierung der Inokulummenge scheint daher am erfolgversprechendsten für den Praxiseinsatz.

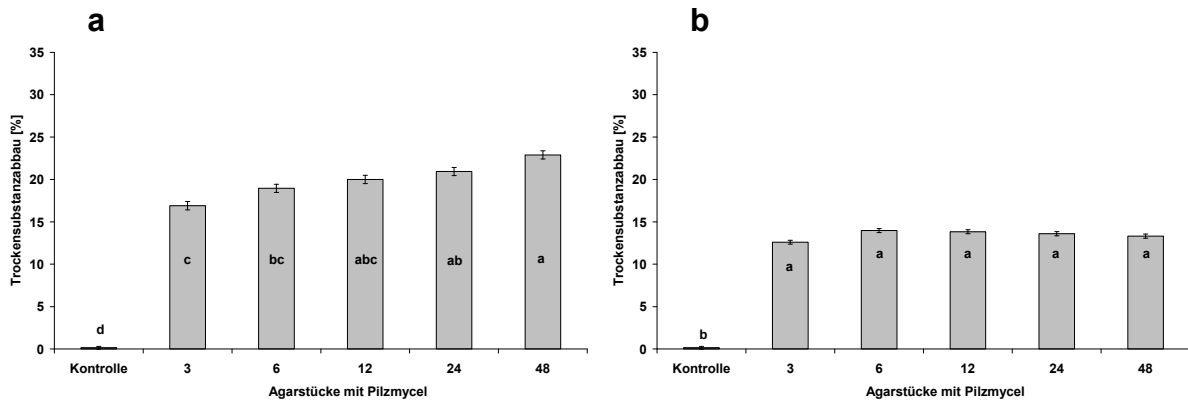
### 3.6. Ergänzende Untersuchungen verschiedener Einflussfaktoren auf das Wachstums- und Abbauverhalten von Weißfäulepilzen

#### 3.6.1 Inokulummenge

Ein Abbau von Maisernterückständen (%) fand nach einer Inkubationszeit von 6 Wochen bei beiden Weißfäulepilzen in allen Inokulationsstufen statt. Zwischen den Weißfäulepilzen gab es jedoch deutliche Unterschiede im Abbauverhalten bei Einsatz verschiedener Inokulummengen. Bei *Cyathus striatus 1* steigerte sich die Abbauleistung mit steigender Inokulummenge signifikant von 8,7 % bei 3 Agarstückchen zu 14,4 % bei Inokulation mit 48 Agarstückchen. Die Abbauleistung

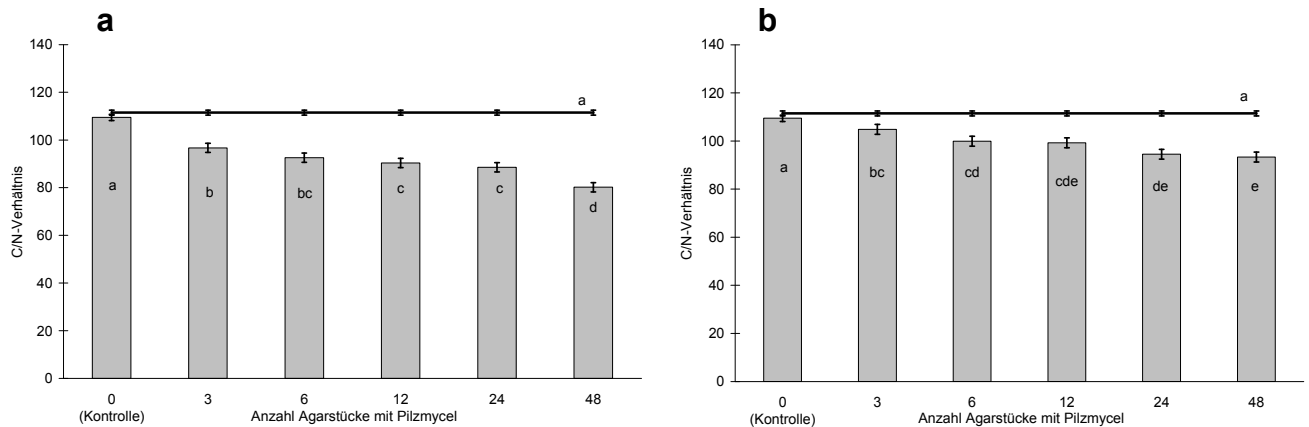
von *Phanerochaete chrysosporium* (11,7 % - 12,1 %) erhöhte sich dagegen mit steigender Inokulummenge nicht.

Dieser Trend bestätigte sich auch am 2. Messtermin nach 12 Wochen (Abb. 34 a+b). Nach der doppelten Inkubationszeit wiesen ebenfalls alle inokulierten Varianten von *Cyathus striatus 1* einen signifikanten Abbau gegenüber der Kontrolle auf (Abb. 34a). Hier wurde mit der Inokulumvariante „3 Agarstücke“ ein TS-Abbau von 16,90 % erreicht. Auch für den zwölfwöchigen Inkubationszeitraum konnte eine Steigerung der Abbauraten durch erhöhte Inokulummengen erreicht werden. Die maximale Reduktion betrug 22,9 % bei der Variante mit der höchsten Inokulummenge. Der Trockensubstanzabbau über beide Zeiträume bewegte sich insgesamt von 8,7 % („3 Agarstücke“ nach sechs Wochen) bis 22,9 % („48 Agarstücke“ nach zwölf Wochen). Somit war eine signifikante Steigerung des Trockensubstanzabbaus durch eine erhöhte Inokulummenge möglich. Im Gegensatz zu *Cyathus striatus 1* waren für *Phanerochaete chrysosporium* auch nach dem zwölfwöchigen Inkubationszeitraum keine großen Veränderungen sichtbar (Abb. 34b). Die Trockensubstanzabbauraten lagen bei rund 10 % und konnten weder durch die Inokulummenge noch durch die Inkubationszeit gesteigert werden. Der Trockensubstanzabbau über beide Zeiträume bewegte sich insgesamt von 11,0 % („3 Agarstücke“ nach sechs Wochen) bis 14,0 % („6 Agarstücke“ nach zwölf Wochen). Im direkten Vergleich der beiden Weißfäulepilze über beide Inkubationszeiträume wurden eindeutige Unterschiede sichtbar. Bei den Varianten „3 Agarstücke“ und „6 Agarstücke“ wies *Phanerochaete chrysosporium* einen höheren Trockensubstanzabbau auf. In der höchsten Inokulumvariante hatte *Cyathus striatus 1* einen höheren Trockensubstanzabbau als die entsprechende Variante von *Phanerochaete chrysosporium*. Nach zwölfwöchiger Inkubation zeigte sich, dass alle Varianten von *Cyathus striatus 1* einen signifikant höheren Trockensubstanzabbau als *Phanerochaete chrysosporium* erreichen.



**Abb. 34:** Abbau von Maisernterückständen (Trockensubstanzabbau [%]) durch die Weißfäulepilze *Cyathus striatus 1* (a) und *Phanerochaete chrysosporium* (b) bei unterschiedlichen Inokulationsmengen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen. Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF,  $n = 3$ ).

Analog zu den Trockensubstanzabbauraten traten auch im C/N-Verhältnis signifikante Unterschiede auf. Nach einer sechswöchigen Inkubation mit *Cyathus striatus 1* zeigte sich bei allen inokulierten Varianten, außer der Variante „6 Agarstücke“ (C/N-Verhältnis 106,22), ein signifikanter Unterschied zum Startwert (111,48). Im Vergleich zur Kontrolle (C/N-Verhältnis 103,21) unterschied sich von allen Varianten nur die höchste Inokulumstufe (C/N-Verhältnis 92,69) eindeutig. Untereinander trat von der Kontrolle bis zur Variante „24 Agarstücke“ keine signifikante Reduktion des C/N-Verhältnisses auf. Die C/N-Verhältnisse nach 12 Wochen (Abb. 35 a+b) Inkubation zeigten durchgehend niedrigere Werte als die der sechswöchigen Inkubation. Hier wiesen alle Varianten mit Agarstücken eine eindeutige Reduktion des C/N-Verhältnisses im Vergleich zum Startwert und zur Kontrolle auf. Es war eine signifikante Reduzierung des C/N-Verhältnisses durch eine erhöhte Inokulummenge möglich. Im Vergleich zum Startwert konnte bei *Phanerochaete chrysosporium* nach sechs Wochen bei allen Varianten, außer bei der Variante „12 Agarstücke“ (C/N-Verhältnis: 109,70), eine signifikante Reduktion des C/N-Verhältnisses herbeigeführt werden. Im Vergleich zur Kontrolle (C/N-Verhältnis 103,21) unterschieden sich die Varianten ab einer Inokulummenge von 12 Agarstücken bis zur höchsten Variante (C/N-Verhältnis 89,06) signifikant. Nach zwölf Wochen trat nur bei der Kontrolle (C/N-Verhältnis 109,47) kein eindeutiger Unterschied zum Startwert auf. Alle weiteren Varianten zeichneten sich durch eine signifikante Minimierung des C/N-Verhältnisses im Vergleich zum Startwert aus.



**Abb. 35: Veränderung des C/N Verhältnisses durch die Weißfäulepilze *Cyathus striatus 1* (a) und *Phanerochaete chrysosporium* (b) bei unterschiedlichen Inokulationsmengen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen. Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF, n (Startwert) = 10, n (Varianten) = 6).**

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse, dass sich beide Weißfäulepilze unterschiedlich mit steigender Inokulummenge verhalten. Bei *Cyathus striatus 1* erfolgte mit steigender Inokulummenge ein fast linearer Anstieg des Trockensubstanzabbaus in beiden Inkubationszeiträumen. Der höchste erreichte Trockensubstanzabbau betrug 22,90 % bei einer Inokulummenge von 48 Agarstücken mit Pilzmycel nach zwölfwöchiger Inkubation. Außerdem erreichten alle Inokulumvarianten nach zwölf Wochen einen signifikant höheren Abbau im Vergleich zu *Phanerochaete chrysosporium*. Mit steigenden Inokulummengen von *Phanerochaete chrysosporium* konnte kein Anstieg des Trockensubstanzabbaus innerhalb der inokulierten Varianten in beiden Inkubationszeiträumen erreicht werden. Der beste erreichte Trockensubstanzabbau betrug 13,97 %. Die C/N-Verhältnisse des Maissubstrates wurden in fast allen Inokulumvarianten beider Weißfäulepilze signifikant zum C/N-Ausgangsverhältnis reduziert. Nach sechs Wochen zeigte sich bei beiden Weißfäulepilzen ein Trend zur Verringerung durch eine Steigerung der Inokulummenge. Nach zwölf Wochen war dieser Trend noch stärker sichtbar. Durch *Cyathus striatus 1* konnte nach zwölf Wochen immer ein signifikant niedrigerer C/N-Wert erreicht werden als durch *Phanerochaete chrysosporium*.

### 3.6.2 Ausbringungszeitpunkt / Temperatur

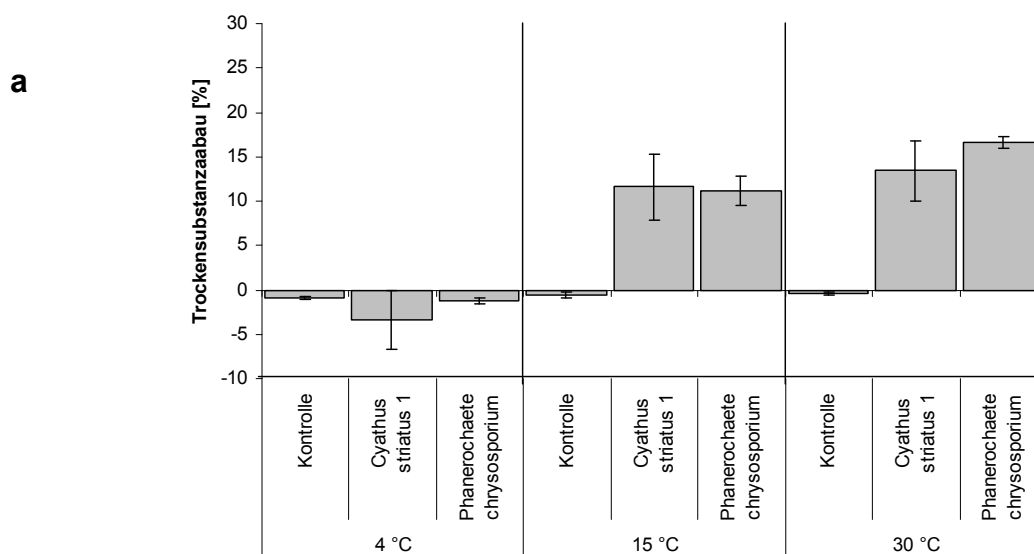
Beide eingesetzten Pilze (Abb. 36 a) zeigten nach 12 Wochen im Keimschrank bei 4°C Bebrütungstemperatur noch keine Abbaufähigkeit des Maisstrohs. Bereits bei



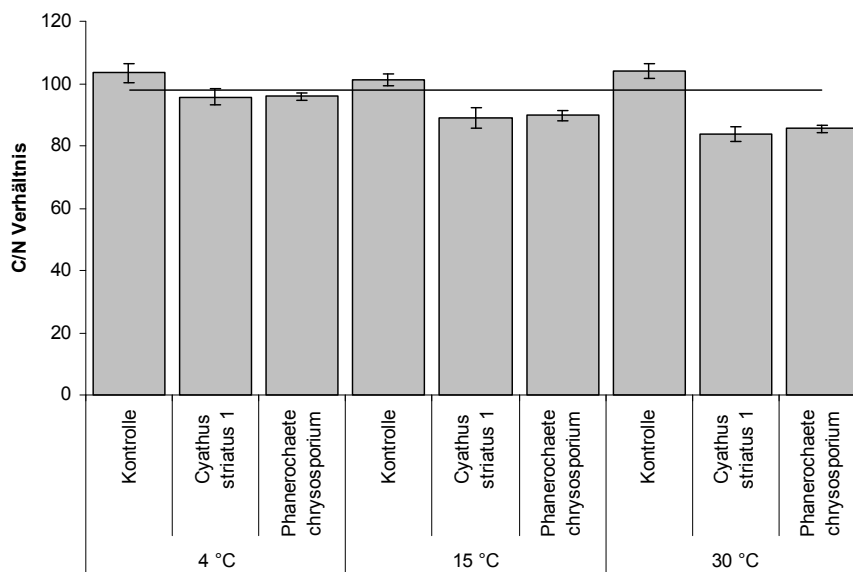
einer Temperatur von 15°C konnte *Cyathus striatus 1* die Abbaurate signifikant im Vergleich zur Kontrolle um fast 15 % bzw. *Phanerochaete chrysosporium* um über 12 % steigern. Eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C brachte dagegen nur noch eine geringfügige Steigerung im Vergleich zur Kontrolle um 1.8 % bzw. 5.5 %. Vergleicht man die Pilze untereinander zeigte *Cyathus striatus 1* eine höhere Abbaurate bei 15 °C als *Phanerochaete chrysosporium* und *Phanerochaete chrysosporium* bei 30 °C. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Die erzielten Ergebnisse im Trockensubstanzabbau spiegeln sich auch in den C/N-Verhältnissen wieder (Abb. 36b). *Cyathus striatus 1* senkten das C/N Verhältnis von 97,79 (Ausgangswert) bei 15 °C und 30 °C auf 88,96 bzw. 83,65, signifikant zur Kontrolle, *Phanerochaete chrysosporium* auf Werte von 89,71 bei einer Bebrütungstemperatur von 15 °C und auf 85,51 bei 30 °C und somit ebenfalls signifikant zur Kontrolle. Bei einer Temperatur von 4 °C senkte sich das C/N Verhältnis in beiden pilzinokulierten Varianten nicht signifikant zur Kontrolle. Auch war zwischen den Temperatureinstellungen 15 und 30 °C kein signifikanter Unterschied feststellbar.

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse, dass die Pilze im mesophilen Temperaturbereich ein Abbaupotential haben, welches sich durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C nicht mehr stark steigern lässt. Allerdings konnte in der Studie auch gezeigt werden, dass bei niedrigen Temperaturen (4°C) kein Abbau stattfindet, die Pilze aber auch nicht abgetötet werden.



b



	TS Abbau (%)	C/N
LSD	3.62	4.25
Interaktion	Pilz x Temperatur	6.26
		ns.

Abb. 36: Trockensubstanzabbau [%] (a) und C/N Verhältnis (b) von *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* inokuliertem Maisstroh nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen bei unterschiedlichen Bebrütungstemperaturen; (MW, SF, TS n=3; C/N n=6)

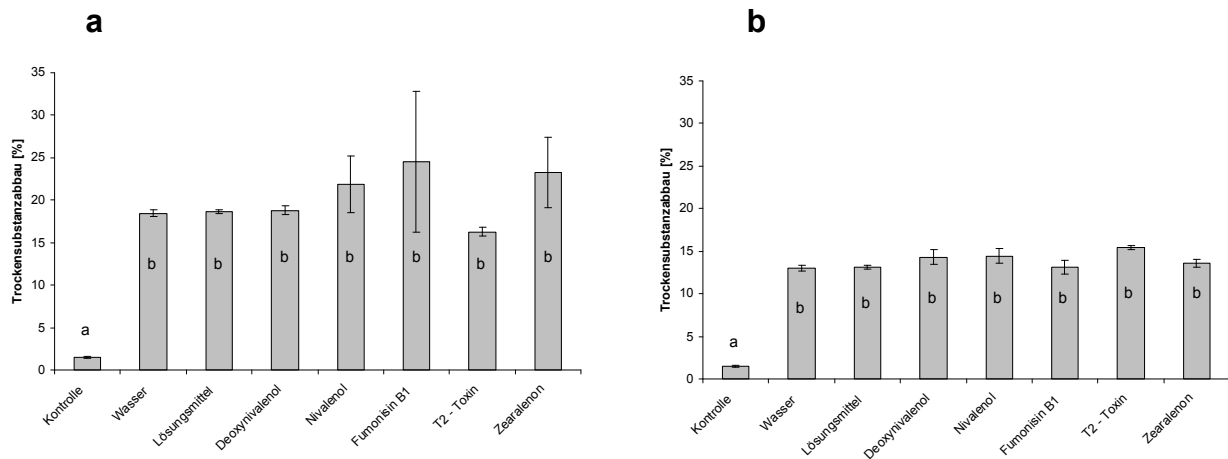
### 3.6.3 Mykotoxine

In einem Vorversuch wurde zunächst das Wachstum der Weißfäulepilze auf mykotoxinbelasteten Malzpeptonagar beobachtet. Die verwendeten Toxinkonzentrationen orientierten sich an den in der Literatur beschriebenen durchschnittlichen Mykotoxinbelastungen in Mais- bzw. Weizen der letzten Jahre.

*Cyathus striatus 1* wuchs auf Malzpeptonagar deutlich langsamer als *Phanerochaete chrysosporium* und brauchte daher einen bis zwei weitere Beobachtungszeitpunkte bis die Platten vollständig bewachsen waren. Allerdings zeigte sich bei beiden Pilzvarianten durch die Behandlung mit den geprüften Mykotoxinen keine negative Auswirkung auf das Wachstum des Pilzmycels.

Vor allem in der Initialphase wurde das Pilzwachstum in keiner Mykotoxinvariante negativ beeinträchtigt, so dass davon ausgegangen werden kann, dass unter Freilandbedingungen die geprüften Weißfäulepilze in ihrem Wachstum nicht durch eventuell auftretende Fusariumtoxine beeinträchtigt werden. Um einen abschließende Aussage über die Wirkung der Mykotoxine auf die Abbaurate der geprüften Weißfäulepilz treffen zu können, wurden in einem Gefäßversuch gezielte

Abbauversuche durchgeführt. Der Trockensubstanzabbau (%) durch die beiden eingesetzten Pilze *Cyathus striatus 1* bzw. *Phanerochaete chrysosporium* zeigte nach vier und acht Wochen bei allen Toxinbehandlungen keine signifikanten Unterschiede zur inokulierten Kontrolle und zwischen den beiden Pilzen (Abb. 37)

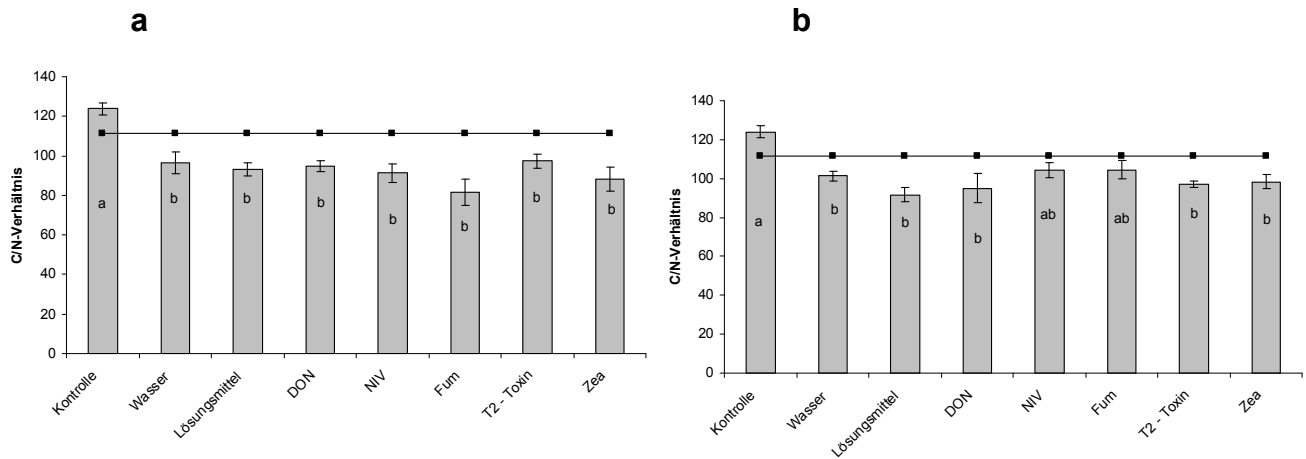


**Abb. 37: Abbau der Trockensubstanz [%] durch die Weißfäulepilze *Cyathus striatus 1* (a) und *Phanerochaete chrysosporium* (b) bei unterschiedlichen Mykotoxinbehandlungen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen. Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF,  $n = 3$ ).**

In der Abbildung 38 (a+b) sind die C/N-Verhältnisse nach acht Wochen im Keimschrank und Inokulation mit *Cyathus striatus 1* bzw. *Phanerochaete chrysosporium* dargestellt. Die Linie im Diagramm kennzeichnet das C/N-Verhältnis welches das verwendete Maisstroh vor der Inokulation hatte.

Auffällig ist, dass bei *Cyathus striatus 1* (Abb. 37a) die einzelnen Behandlungen sehr unterschiedliche Balkenhöhen aufweisen, es jedoch aufgrund der starken Messschwankungen zu keinerlei Signifikanzen zwischen den Behandlungen kam. Am ersten Termin bestand selbst zur Kontrolle keine Signifikanz. Beim zweiten Termin, nach acht Wochen zeigte jede Behandlung einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle, zwischen den Toxinen lagen jedoch keine signifikanten Unterschiede vor.

Für *Phanerochaete chrysosporium* waren die Ergebnisse ähnlich (Abb. 38b). Auch hier gab es beim ersten Termin, nach vier Wochen keine Signifikanz zwischen den einzelnen Behandlungen und zur Kontrolle. Beim zweiten Termin, nach acht Wochen, kam es zu signifikanten Unterschieden zur Kontrolle für die Behandlung Wasser, Lösungsmittel, Deoxynivalenol, T2-Toxin und Zearalenon. Im Unterschied zu *Cyathus striatus 1* kam es zu keinen signifikanten Unterschieden zur Kontrolle bei Nivalenol und Fumonisin B1.



**Abb. 38: Veränderung des C/N Verhältnisses durch die Weißfäulepilze *Cyathus striatus 1* (a) und *Phanerochaete chrysosporium* (b) bei unterschiedlichen Mykotoxinbehandlungen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen. Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF,  $n = 6$ ).**

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse, dass die von *Fusarium spp.* gebildeten Mykotoxine, Deoxynivalenol, Nivalenol, T2-Toxin, Fumnisin B1 und Zearalenon, in der in dieser Arbeit verwendeten Konzentration, wahrscheinlich keine Auswirkungen sowohl auf das Wachstum wie auch auf die Abbauleistung von den beiden Weißfäulepilzen *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* haben. Durch Bestimmung des Trockensubstanzabbaus konnte eine mögliche Einflussnahme der Mykotoxine auf das Abbauverhalten der beiden Weißfäulepilze ausgeschlossen werden. Die Ergebnisse zeigten auch das *Cyathus striatus 1* nach acht Wochen 19,2 % des Ausgangstrohs abbauen konnte. *Phanerochaete chrysosporium* hingegen konnte die Mengen nicht erreichen, nach acht Wochen waren gerade 13,9 % des Ausgangstrohs abgebaut. Durch Berechnung dieser Werte konnte festgestellt werden, dass bei einer Betrachtung von vier Wochen, *Cyathus striatus 1* noch hinter der Abbauleistung von *Phanerochaete chrysosporium* lag, wodurch auf Probleme in der Etablierungsphase geschlossen wurde.

Durch Ermittlung von Veränderungen im C/N-Verhältnis wurden die Ergebnisse des Trockensubstanzabbaus bestätigt. Auch hier kam es zu keinen Auswirkungen durch die eingesetzten Mykotoxine. Aufgezeigt werden konnte aber, dass es durch Einwirkungen der Weißfäulepilze zu einer Veränderung des C/N-Verhältnisses kommt. Dadurch konnte eine beschleunigende Wirkung, auf den Abbau von Maisstroh, durch die Pilze bekräftigt werden. Auch hier konnten Unterschiede in der

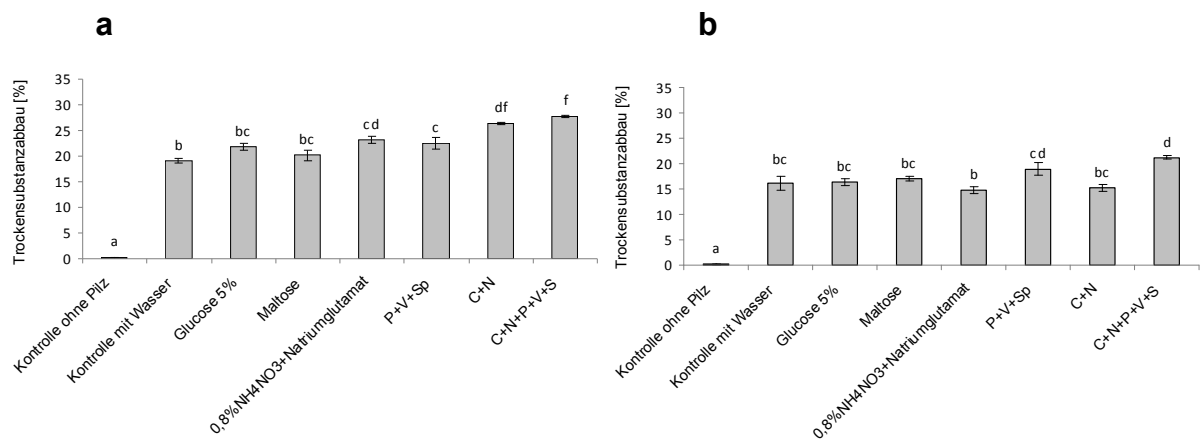
Abbauleistung zwischen *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* festgestellt werden.

#### 3.6.4 Wachstumssteigende Zusätze

Im Vorversuch konnten keine signifikante Beschleunigung des Mycelwachstums von *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* durch die Behandlung des Agars mit Nährstoffzusätzen im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden. Boyle (1995), der Erde als Substrat verwendete, konnte eine deutliche Steigerung des Wachstums verzeichnen. Dies lässt vermuten, dass der verwendete Malzpeptonagar, der im Vorversuch als Substrat eingesetzt wurde zu reichhaltig war. Die Weißfäulepilze konnten keinen zusätzlichen Nutzen aus den zugeführten Nährstoffen ziehen. Basierend auf dem Vorversuch, indem das Wachstumsverhalten der Weißfäulepilze untersucht wurde, konnten für den Hauptversuch, indem das Abbauverhalten der Weißfäulepilze geprüft wurde, die folgenden Zusätze ausgewählt werden: Glucose-5%-, Maltose-, Ammoniumnitrat + Natriumglutamat-, C+N-, P+V+Sp- und der C+N+P+V+Sp-Zusatz. Der Stärkezusatz wurde für den Hauptversuch nicht verwendet, da er sich nicht durch den Sterilfilter drücken ließ und bei seiner zweifachen Anwendung sehr unterschiedliche Ergebnisse brachte. Bei *Cyathus striatus 1* wies die Kontrolle mit Pilz nach vier Wochen einen Trockensubstanzabbau von knapp 9 % auf. Bei dem Zusatz von Maltose konnte kein signifikant höherer Trockensubstanzabbau festgestellt werden. Ebenso verhielt es sich bei der Zugabe von der Phosphat-, Vitamin- und Spurenelementlösung. Einen signifikant höheren Abbau im Vergleich zur Kontrolle konnte vor allem bei den Zusätzen, die Stickstoff enthielten, erkannt werden. Unter Zugabe des C+N-Zusatzes und auch bei dem C+N+P+V+Sp-Zusatz entstand ein doppelt so hoher Trockensubstanzabbau mit 18 % und 17,5 % im Vergleich zur Kontrolle. Auch beim Zusatz von Ammoniumnitrat mit Natriumglutamat wies *Cyathus striatus 1* einen signifikant höheren Trockensubstanzabbau mit 14 % auf. *Phanerochaete chrysosporium* zeigte nur bei der C+N+P+V+Sp-Lösung mit einem Abbau von knapp 20 % einen signifikant höheren Abbau im Vergleich zur Kontrolle, welche einen Abbau von 13 % aufwies. Hierbei entstand ein zusätzlicher Trockensubstanzabbau von über 7 %. Bei allen anderen Zusätzen konnte bei *Phanerochaete chrysosporium* kein signifikant höherer Abbau verzeichnet werden. Der zweite Termin, also nach acht Wochen Inkubation im Keimschrank, konnte die Ergebnisse des ersten Termins

bei *Cyathus striatus 1* überwiegend bestätigen (Abb.39 a) Auch hier erbrachten die Zusätze die Stickstoff enthielten eine signifikante Verbesserung im Trockensubstanzabbau. Mit fast 28 % Trockensubstanzabbau konnte *Cyathus striatus 1* unter Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatzes den höchsten Trockensubstanzabbau erreichen. Damit lag ein signifikant höherer Abbau von 9 % im Vergleich zur Kontrolle, die einen Trockensubstanzabbau von 19 % aufwies, vor. Ein signifikant höherer Abbau im Vergleich zur Kontrolle wurde auch durch die Zugabe des C+N-Zusatzes erreicht. Der Trockensubstanzabbau betrug hier über 26 %. Auch unter Zugabe der Ammoniumnitrat-Natriumglutamat-Lösung war der Trockensubstanzabbau durch *Cyathus striatus 1* mit 23 % im Vergleich zur Kontrolle signifikant um 4 % höher. Unter Zugabe des P+V+Sp-Zusatz wurde beim zweiten Termin ebenfalls ein signifikant höherer Trockensubstanzabbau sichtbar. Dies war beim ersten Termin nicht der Fall. Beim zweiten Termin konnte der positive Einfluss des C+N+P+V+Sp-Zusatzes auf den Trockensubstanzabbau durch *Phanerochaete chrysosporium* bestätigt werden (Abb. 39 b). Der signifikant höhere Trockensubstanzabbau erreichte hier 21 % und erbrachte damit eine Erhöhung des Abbaus um 5 % im Vergleich zur Kontrolle, die einen Trockensubstanzabbau von 16 % aufwies. Unter Zugabe der anderen Zusätze konnten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden. Die Zugabe von Phosphat, Vitaminen und Spurenelementen erbrachte einen signifikant höheren Trockensubstanzabbau als die Zugabe von Natriumglutamat mit Ammoniumnitrat und zeigte keine Signifikanz zur Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatzes. Durch die Zugabe des N-Zusatzes wurde mit 15 % der kleinste Trockensubstanzabbau erbracht. Im Vergleich zu *Cyathus striatus 1* war der höchst erbrachte Trockensubstanzabbau von *Phanerochaete chrysosporium* mit 21 % um 7 % geringer als bei *Cyathus striatus 1*.

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse, dass eine Steigerung des Trockensubstanzabbaus während zunehmender Inkubationszeit bei beiden Weißfäulepilzen bei allen Behandlungen möglich war. Nach acht Wochen Inkubationszeit konnte *Cyathus striatus 1* bei allen Behandlungen einen höheren Trockensubstanzabbau im Vergleich zu *Phanerochaete chrysosporium* aufweisen. Die deutlichste Steigerung der Abbauleistung war bei beiden Weißfäulepilzen durch die Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatzes zu verzeichnen.



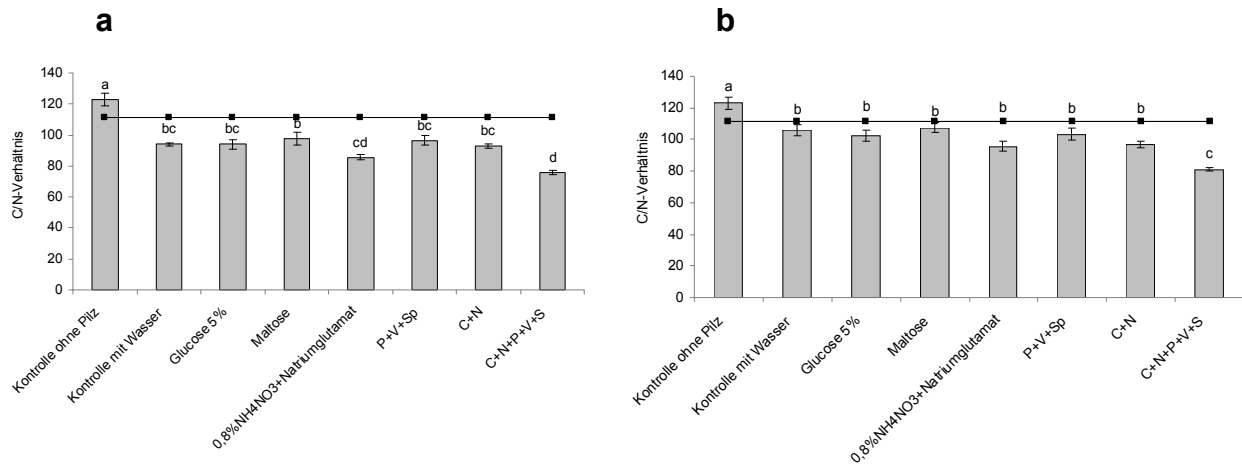
**Abb. 39: Abbau der Trockensubstanz [%] durch die Weißfäulepilze *Cyathus striatus 1* (a) und *Phanerochaete chrysosporium* (b) bei unterschiedlichen Zusätzen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen. Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF,  $n = 3$ ).**

Bei der Untersuchung der C/N-Verhältnisse des Maisstrohs nach vier Wochen, welches mit *Cyathus striatus 1* inokuliert war, zeigte sich, dass unter der Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatz das kleinste C/N-Verhältnis erzielt werden konnte. Die Zugabe dieses Zusatzes ergab ein signifikant kleineres C/N-Verhältnis mit 86 im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz, welche ein C/N-Verhältnis von 116 hatte. Die Zugabe des C+N-Zusatzes ergab ebenfalls ein deutlich und signifikant kleineres C/N-Verhältnis mit 94 im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz. Die Zugabe der Kohlenstoffzusätze Glucose und Maltose wie auch der P+V+Sp-Zusatz ergab keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz. Ein signifikant höheres C/N-Verhältnis im Vergleich zur Kontrolle ohne Pilz, welche ein C/N-Verhältnis von 109 hatte, ergab die Zugabe von Ammoniumnitrat+Natriumglutamat mit einem C/N-Verhältnis von 120. Die Kontrolle, die mit *Cyathus striatus 1* inokuliert wurde, wies nach vier Wochen keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zur Kontrolle ohne Pilz auf. Auch im Vergleich mit dem C/N-Verhältnis des Ausgangstrohs konnte kein signifikanter Unterschied bei der Kontrolle mit Pilz festgestellt werden.

Nach vier Wochen Inkubation mit *Phanerochaete chrysosporium* wurde durch die Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatzes das kleinste C/N-Verhältnis mit 82 erbracht. Dieses C/N-Verhältnis war im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz, welche ein C/N-Verhältnis von 100 hatte, signifikant kleiner. Zu einem ebenfalls signifikant kleinerem C/N-Verhältnis im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz führte die Zugabe des N-Zusatzes, welcher ein C/N-Verhältnis von 86 hatte. Die Kohlenstoffzusätze Glucose und

Maltose wiesen keine Signifikanz im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz auf, ebenso verhielt es mit dem P+V+Sp-Zusatz und dem C+N-Zusatz. Im Vergleich zu *Cyathus striatus 1* bei welchem ein Kontrollwert mit Pilz von 116 auftrat, zeigte die Kontrolle mit Pilz von *Phanerochaete chrysosporium* nach vier Wochen ein kleineres C/N-Verhältnis mit 100. Durch die Inkubation des Maisstrohs mit *Phanerochaete chrysosporium* und die Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatzes konnte nach vier Wochen mit einem Wert von 82 das kleinste C/N-Verhältnis erzielt werden. Nach acht Wochen Inkubation mit *Cyathus striatus 1* (Abb 40 a) konnte ein signifikant kleineres C/N-Verhältnisse durch die Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatzes erzielt werden. Das C/N-Verhältnis dieses Zusatzes war mit 76 wesentlich geringer im Vergleich zur Kontrolle, die ein C/N-Verhältnis von 94 aufwies. Die Zugabe des C+N-Zusatzes ergab nach acht Wochen mit 93 kein signifikant kleineres C/N-Verhältnis im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz. Im Gegensatz zum ersten Termin konnte die Zugabe des N-Zusatzes nach acht Wochen ein deutlich geringeres und auch signifikant kleineres C/N-Verhältnis mit 86 im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz aufweisen. Nach acht Wochen Inkubation mit *Phanerochaete chrysosporium* (Abb. 40 b) erbrachte die Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatzes wieder das kleinste C/N-Verhältnis mit 81. Damit wurde das Ergebnis des ersten Termins, an welchem dieser Zusatz ebenfalls das engste C/N-Verhältnis hatte, bestätigt. Die Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatzes ergab ein um 25 signifikant kleineres C/N-Verhältnis im Vergleich zur Kontrolle mit einem C/N-Verhältnis von 106. Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle (C/N-Verhältnis 106), die mit *Phanerochaete chrysosporium* inokuliert wurde, und der Kontrolle ohne Pilz (123) festgestellt werden. Im Gegensatz zum ersten Termin konnte die Zugabe des N-Zusatzes kein signifikant kleineres C/N-Verhältnis im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz erbringen. Die Kohlenstoffzusätze Maltose und Glucose ergaben keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz und auch die Zugabe des P+V+Sp-Zusatzes ergab keine Signifikanz zur Kontrolle mit Pilz.





**Abb. 40: Veränderung des C/N Verhältnisses durch die Weißfäulepilze *Cyathus striatus 1* (a) und *Phanerochaete chrysosporium* (b) bei unterschiedlichen Mykotoxinbehandlungen nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen. Unterschiedliche Buchstaben zwischen den Behandlungen kennzeichnen signifikante Unterschiede bei  $\alpha = 0,05$  (MW, SF,  $n = 6$ ).**

Der Vergleich zwischen den beiden Pilzen *Cyathus striatus 1* und *Phanerochaete chrysosporium* zeigt, dass sich die C/N-Verhältnisse bei einigen Behandlungen sehr ähneln. Bei beiden Pilzen führte die Zugabe des C+N+P+V+Sp-Zusatzes zu den kleinsten C/N-Verhältnissen, während die Zugabe der Kohlenstoffzusätze keine signifikant kleineren C/N-Verhältnisse im Vergleich zur Kontrolle mit Pilz ergab. *Cyathus striatus 1* konnte beim zweiten Termin die C/N-Verhältnisse noch mal verkleinern was bei *Phanerochaete chrysosporium* nicht der Fall war. Dies führte dazu, dass *Cyathus striatus 1* nach acht Wochen insgesamt geringere C/N-Verhältnisse hatte als *Phanerochaete chrysosporium*.

## 4 Zusammenfassung

Durch eine verstärkte Anwendung konservierender Bodenbearbeitungsverfahren oder Direktsaat, die eine nachhaltige Landbewirtschaftung garantieren sollen, kommt es zu einem Anstieg des Fusarium-Risikos in der Fruchtfolge Weizen nach Mais. Die oberflächlich aufliegenden oder nur gering eingearbeiteten Erntereste von Mais stellen für Fusarium Nahrungsquelle und Refugium bis zu einem Befall der Weizenblüte dar. Durch den Einsatz saprophytischer Weißfäulepilze soll der Abbau der Erntereste gefördert und Fusarium somit die Lebensgrundlage entzogen werden. Der Fusariumbefall im Weizen soll dadurch vermindert werden.

Ziel des durchgeführten Forschungsprojektes war, den systematische Einsatz von Pilzen der Spezies *Cyathus* und anderer Saprophyten aus der Gruppe der Weißfäulepilze im Hinblick auf einen beschleunigten Abbau von Mais- und Weizenernteresten zu untersuchen. Hierbei wurde gleichzeitig überprüft, ob durch einen beschleunigten Ernterestabbau der Infektionsdruck mit Ährenfusarium in der Folgefrucht Winterweizen minimiert und damit die Belastung des Erntegutes mit Mykotoxinen reduziert werden kann. Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse:

- I. In einer hohen Variationsbreite von 4,8 – 31,1% zeigte sich das Potential der untersuchten Weißfäulepilze, den Abbau von Ernteresten zu beschleunigen. Es wurden *Cyathus striatus* 1 und *Phanerochaete chrysosporium* als geeignete Pilze ausgewählt. Allerdings erscheint ein Gemisch aus verschiedenen Weißfäulepilzen zum Abbau verschiedener Substrate von Vorteil.
- II. Der Einsatz in verschiedenen simulierten Bodenbearbeitungssystemen sowie unter Feldbedingungen zeigte, dass die Inokulation der Pilze nur in Direktsaat und in Systemen mit reduzierter Bodenbearbeitung sinnvoll ist, da in einer Eingrabetiefe von 30 cm (Plugvariante) die Pilzinokulation keinen positiven Effekt auf die Abbaurate hatte.
- III. Der Ligningehalt der Maissorten scheint keinen Einfluss auf das Abbaupotential der Weißfäulepilze zu haben, da die Maissorte mit mittlerem Ligningehalt (cv. Shorty) besser als die Maissorte mit niedrigem (cv. Silas)

oder höherem Gehalt an Lignin (cv. DK315) abgebaut wurde. Allerdings erscheint auch hier ein Gemisch aus verschiedenen Weißfäulepilzen zum Abbau verschiedener Sorten von Vorteil.

- IV. Die Humusrate und im Boden vorhandene Mikroorganismen wurden durch die Weißfäulepilze nicht nachhaltig beeinträchtigt. Die Ergebnisse aus den Versuchen zur Klärung dieser Frage zeigten keine Beeinflussung des Corg.-Gehaltes sowie des C/N Verhältnisses im Gefäßversuch bzw. im Freiland.
- V. Unter Feldbedingungen konnte keine eindeutige Verringerung des Infektionsdrucks durch Fusarien durch den Einsatz der Pilze in der Folgekultur Weizen festgestellt werden. Die wöchentlich durchgeführte Bonitur der befallenen Ähren, sowie die DON-Analysen ließen keine eindeutige Reduktion des Fusariumbefalls, respektive der Mykotoxinkonzentration in mit Pilz inokulierten Parzellen erkennen. Allerdings lagen die Abbauraten der Erntereste deutlich unter den im Gefäßversuch erzielten Werten, so dass davon ausgegangen werden kann, dass das Maisstroh unter Freilandbedingungen nicht effizient genug abgebaut wurde, um den Fusarien die Lebensgrundlage zu entziehen. Eine deutliche Steigerung der Abbauraten der eingesetzten Pilze unter Freilandbedingungen ist für die erfolgreiche Umsetzung des Verfahrens in der Praxis unabdingbar.

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse, dass Weißfäulepilze mit unterschiedlichen Abbauraten für Mais- und Weizenernterückstände selektiert und in Gefäß- und Freilandversuchen eingesetzt werden konnten. Aufgrund unterschiedlicher Abbauraten für Mais- und Weizenstroh und unterschiedlicher Temperaturoptima der eingesetzten Pilze erscheint für die Etablierung eines entsprechenden Praxisverfahrens ein Gemisch aus verschiedenen Weißfäulepilzen zum Abbau verschiedener Substrate (Stroh, Blätter, Stängel, Kolben etc.) und Sorten von Vorteil.

Für den erfolgreichen Einsatz eines entsprechenden Verfahrens zur Minimierung des Fusariumbefalls in Winterweizen ist allerdings die Steigerung der Abbaurate der Weißfäulepilze unabdingbar. Konnten unter kontrollierten Bedingungen Abbauraten von 20-30 % über drei Monate erzielt werden, so lag die Abbaurate unter

Freilandbedingungen über den gleichen Zeitraum bei 5-10 %. Für eine erfolgreiche Fusariumbekämpfung müsste jedoch über einen Zeitraum von 6-9 Monaten ein nahezu vollständiger Abbau der Ernterückstände erfolgen. In weiteren Studien wäre daher zu prüfen, ob und mit welchen Maßnahmen die Abbaurate der selektierten Weißfäulepilze weiter gesteigert werden kann. Denkbar wäre an dieser Stelle auch die Erarbeitung einer biologischen Bekämpfungsstrategie durch die Kombination mit Pilzen der Gattung *Trichoderma spp.* (Sivan und Chet, 1986), um zu einer deutlicheren Reduzierung des Fusariumbefalls zu gelangen. Darüber hinaus wäre zu prüfen, ob eine Kombination unterschiedlicher pflanzenbaulicher Maßnahmen wie Sortenwahl, Fruchtfolge, Bodenbearbeitung etc. in Kombination mit einem Einsatz von Weißfäulepilzen in Form eines Maßnahmenkataloges signifikant zur Reduktion des Fusariumbefalls in Weizen beitragen könnte.

## 5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten und tatsächlich erreichten Ziele

Die mit dem Projektantrag verbundenen Zielsetzungen und Erwartungen konnten alle in umfangreichen Versuchsvorhaben sowohl unter kontrollierten als auch praxisnahen Feldbedingungen untersucht und geklärt werden. Das Projekt liefert somit einen entscheidenden Beitrag zur Schließung von Wissenslücken im Bereich des Einsatzes von Weißfäulepilzen zur Förderung des Abbaus von Ernterückständen und der damit möglicherweise verbundenen Reduzierung eines Fusariumbefalls in Winterweizen. Im Laufe des Projektes ergaben sich neue, für einen erfolgreichen Ausgang des Projektes und die Beurteilung der geprüften Methodik entscheidende Fragestellungen, die durch zusätzliche Versuchsansätze bearbeitet wurden.

Übergeordnetes Gesamtziel des Projektes war:

**„die Entwicklung innovativer Vorsorgestrategien zur Einhaltung der Fusarium-Mykotoxingrenzwerte in Getreide, zur Unterstützung erosionsmindernder Mulchsaatverfahren, zur Reduktion des Einsatzes von Fungiziden und zur Weiterentwicklung der guten fachlichen Praxis“.**

Zur Schließung dieser Wissenslücken konnten die folgenden Fragen bearbeitet und beantwortet werden:

- *Kann durch den Einsatz von Pilzen der Gattung *Cyathus* oder anderer Pilze die Anlaufphase bei der Zersetzung der Erntereste beschleunigt und somit ein schnellerer Abbau erzielt werden?*

Im Gefäßversuch konnte unter kontrollierten Bedingungen gezeigt werden, dass die geprüften Weißfäulepilze das Potenzial haben, den Abbau von Mais- und Weizenernteresten zu beschleunigen. Über einen Zeitraum von 14 Wochen konnte der TS-Abbau um 31,1 % gesteigert werden. Hierbei wies das geprüfte Spektrum der Weißfäulepilze eine Variationsbreite im TS-Abbau zwischen 4,8 und 31,1 % auf.

- Welche Rolle spielen hierbei der Ligningehalt der Maissorten, die Witterungs- und Ausbringungsbedingungen, die Intensität der Bodenbearbeitung sowie die ausgebrachten Inokulummengen?

Der Ligningehalt der Maissorten scheint keinen Einfluss auf das Abbaupotential der Weißfäulepilze zu haben, da die Maissorte mit mittlerem Ligningehalt (cv. Shorty) besser als die Maissorte mit niedrigem (cv. Silas) oder höherem Gehalt an Lignin (cv. DK315) abgebaut wurde. Deutliche Unterschiede traten jedoch zwischen dem eingesetzten Material (Weizen/ Maisernterückstände) auf. Die selektieren Weißfäulepilze wiesen je nach Pilz unterschiedliche Abbauraten für das eine oder das andere Material auf, so dass für einen möglichen Praxiseinsatz einer entsprechenden Methode auf jeden Fall ein Gemisch unterschiedlicher Weißfäulepilze zu empfehlen ist.

Weiterhin scheinen Witterungs- und Ausbringungsbedingungen auf die Wachstumsfähigkeit des Pilzmycels eine große Auswirkung zu haben. Vor allem die Feuchtigkeit des Substrates bzw. des Bodens, die in dieser Studie nur eine Randbeachtung fand, müsste noch größere Beachtung in weiteren Untersuchungen finden, da Weißfäulepilze vor allem in feuchten Waldböden bzw. Holz beheimatet sind.

Erste Untersuchungen zur Temperaturverträglichkeit der Pilze haben gezeigt, dass diese Pilze im mesophilen Temperaturbereich ein Abbaupotential haben, welches sich durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30 °C nicht mehr stark steigern lässt. Allerdings konnte in der Studie auch gezeigt werden, dass bei niedrigen Temperaturen (4°C) kein Abbau stattfindet, die Pilze aber auch nicht abgetötet werden. Für einen Praxiseinsatz der Methode bedeutet dies jedoch, dass über die Wintermonate praktisch kein Abbau der Ernterückstände über die Pilze stattfindet. Der Abbau setzt möglicherweise erst im Frühjahr bei milden Temperaturen zwischen 10-15 °C ein. Daraus ergibt sich allerdings die Problematik, dass für den effektiven Einsatz der Methodik theoretisch nur die Monate März-Mai/(Juni) zur Verfügung stehen, da die Ernterückstände bis zur Weizenblüte und damit der Hauptinfektionszeit von Ährenfusariosen abgebaut sein sollten. Weiter hat sich herausgestellt, dass der Einsatz der Pilze nur in Verbindung mit Direktsaat oder reduzierter Bodenbearbeitung sinnvoll ist, da in einer Eingrabetiefe von 30 cm kein Effekt der Pilzinokulation auf die Abbaurate festgestellt werden konnte. Auch zeigte sich im Gefäßversuch, dass die Abbaurate von *Cyathis striatus 1* durch die Erhöhung

der Inokulummenge gesteigert werden konnte. Dies konnte im Feldversuch jedoch nicht bestätigt werden. Hier sind weitere Untersuchungen erforderlich.

*Welchen Einfluss haben die ausgebrachten Pilzstämme auf den Humusgehalt im Boden?*

Die Ergebnisse aus den Versuchen zeigten im Gefäßversuch keine signifikante Veränderung des Corg.-Gehaltes sowie des C/N Verhältnisses im Boden. Auch die zusätzlichen Bodenproben aus dem Feldversuch ließen keine Beeinflussung des Humusgehaltes und der Mikroorganismen im Boden über die Vegetationszeit des Weizens erkennen. Ob ein langfristiger Einsatz der Pilze einen Einfluss auf die Bodenfruchtbarkeit und die Bodenmikroflora hat, kann nur in Langzeitstudien beantwortet werden.

- *Kann durch den schnelleren Abbau der Erntereste einer Vorfrucht (Mais, Getreide) der Infektionsdruck durch mykotoxinbildende Fusarien in der Folgefrucht Winterweizen verringert werden?*

In Feldversuch konnte keine signifikante Verringerung des Infektionsdrucks durch Fusarien und damit der DON-Gehalte im Korngut von Winterweizen durch den Einsatz der Pilze festgestellt werden. Allerdings muss auch darauf hingewiesen werden, dass der Abbau unter Freilandbedingungen weit geringer war als unter kontrollierten Bedingungen d.h. das Maisstroh konnte unter Freilandbedingungen nicht effizient genug abgebaut werden, um den Fusarien die Lebensgrundlage zu entziehen. Eine mögliche Erklärung für die verringerten Abbauraten im Feld könnten einerseits die schwankenden Temperatur- und Feuchteverhältnisse im Feld sein, die unter kontrollierten Bedingungen im Gefäß konstant gehalten werden konnten. Ein weiterer Grund könnte auch die Beschaffenheit der Ernterückstände sein. Während die Ernterückstände für die Gefäßversuche aus Gründen der Homogenisierung des Ausgangsmaterials auf 1 mm gemahlen wurden und damit andere Ausgangsbedingungen für eine Pilzbesiedelung boten, lagen unter Freilandbedingungen die gehäckselten Maisernterückstände vor. Zu prüfen wäre in weiteren Versuchen, ob kleinere Häcksellängen der Ernterückstände einen wesentlichen Beitrag zur Erhöhung der Abbaurate leisten könnten. In diesem Zusammenhang ist gleichfalls die generelle Frage der Abbaueffizienzsteigerung zu klären. Für die Thematik der Abbaueffizienzsteigerung wäre zunächst zu beantworten, wie viel

absolute Substratreduktion notwendig ist, um eine effektive Fusariumreduktion zu erreichen. Um diese schließlich zu erreichen, müssten zwingend verschiedene Wege untersucht werden, den TS-Abbau zu steigern. Einige Ansatzpunkte wie die Zugabe wachstumsfördernder Zusätze und die Steigerung der Inokulummenge wurden in zusätzlichen Arbeiten bereits angedacht und zeigten erste Erfolge zur Effizienzsteigerung. Werden diese Wege ausgebaut und durch neue Maßnahmen ergänzt, kann ein erfolgreicher Einsatz der Pilze möglich sein. Ein zweiter Punkt für die geringe Abbauleistung der Pilze vor allem unter Freilandbedingungen könnte auch eine mangelnde Etablierungsfähigkeit der Pilze auf Maisstroh sein. Hier müsste zunächst die Frage geklärt werden, ob die Ausbringung von Pilzmycel auf Roggenkörner überhaupt technisch praktikabel und wirtschaftlich gerechtfertigt ist. Hierzu könnten saprophytische, konidienbildende Pilze beispielsweise der Gattung *Trichoderma spp.* als Alternativpräparat mit den bisher getesteten Pilzen verglichen und eine eventuell bessere Etablierungsfähigkeit der Konidien geprüft werden. Zu Bedenken wäre auch, dass die Produktionskosten eines solchen Präparates weitaus günstiger sind. Ein zusätzlicher Vorteil eines solchen Produktes wäre die bessere Lagerfähigkeit. Eine andere Möglichkeit, *Fusarium graminearum* auf den Maisstoppeln zu bekämpfen, wäre der Einsatz eines antagonistisch wirksamen Pilzes. Antagonistisch wirksame Pilze, beispielsweise auf Basis des Pilzes *Microsphaeropsis ochracea*, befallen melanisierte pilzliche Strukturen wie z.B. die Perithezien von *Fusarium graminearum* und könnte damit Ascosporenbildung von *Fusarium graminearum* verhindern.



## 6 Literatur

Abbott, T.P. und D.T Wicklow (1984): Degradation of Lignin by *Cyathus* Species. Applied and Environmental Microbiology 47 (3), 585-587

Bartels G. und B. Rodemann (2003): Strategien zur Vermeidung von Mykotoxinen im Getreide. Gesunde Pflanzen 55(5), 125-135

Beck R. und J. Lepschy (2000): Ergebnisse aus dem Fusarium-Monitoring 1989-1999 – Einfluss der produktionstechnischen Faktoren Fruchtfolge und Bodenbearbeitung. In: Risiken durch den Ährenparasiten *Fusarium graminearum* – Ergebnisse eines LBP-Forschungsverbundes. Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau (Hrsg.), 4 (3/00), 39-47

Beck R., Lepschy J. und A Obst (1997): Gefahr aus der Maisstoppel. Pflanzenschutz - Praxis. In DLG-Mitteilungen 5/97, 34-38

Bottalico A., Visconti A. und P. Lerario (1982): Influenza della temperatura sulla produzione di zearalenone da parte di isolati di *Fusarium* da cereali, in Italia [Influence of temperature on zearalenone production by isolates of *Fusarium* from cereals in Italy (English summary)]. Phytopathologia Mediterranea Bologna 21, 79-82

Boyle, D. C. (1995): Development of a practical method for inducing white-rot fungi to grow into and degrade organopollutants in soil. Canadian journal of microbiology, 345-353

Bundessortenamt (2000): Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen, [www.bundessortenamt.de](http://www.bundessortenamt.de)

Chelkowski J., Golinski P., Perkowski J., Visconti A., Rakowska M. und W. Wakulinski (1991): Toxinogenicity of *Microdochium nivale* (*Fusarium nivale*) isolates from cereals in Poland. Mycotoxin Research 7, 140-145

Chen, J., Fales, S.L., Varga, G.A. und D.J. Royse (1995): Biodegradation of Cell Wall Components of Maize Stover Colonized by White-Rot Fungi and Resulting Impact on In-Vitro Digestibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 68, 91-98

Cook R.J. (1981) Fusarium diseases of wheat and other small grains in North America. p. 39-52. In P.E. Nelson, T.A. Toussoun and R.J. Cook (eds.) *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park, PA, USA

Dill-Macky R. (1996): Fusarium head blight: recent epidemics and research efforts in the upper midwest of the united states. In: Dubin H. J. et al. (eds) *Fusarium Head Scab: Global status and future prospects*, pp. 1-6

Dill-Macky R. und R.K Jones (2000): The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat. *Plant Disease* 84, 71-76

Esser K. (2000): *Kryptogamen*. Springer Verlag, Berlin, Deutschland

Fiedler, H.J. und W. Dunger (1997): *Methoden der Bodenbiologie*, 2. Auflage, Fischer Verlag

Garbe, V., Rodemann, B. und G. Bartels 2000: Erfolgreich gegen Fusarien. *Mais*, 28 (4), 160-163

Hatakka, A. (1994): Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. *FEMS Microbiology Reviews* 13: 125-135

Kirk, T.K. und R.L Farrell (1987): Enzymatic "combustion": The microbial degradation of lignin. *Annual Review of Microbiology* 41, 465-505

Krauthausen H.-J., Joachim Weinert J., Bauermann W. und G.A Wolf (2003): Mehrjährige Erhebungen zum Vorkommen von Ährenfusarien und dem Mykotoxin Deoxynivalenol in Getreide aus Rheinland-Pfalz. *Gesunde Pflanzen*, 55, 136-143

Krebs H., Dubois D., Kulling C., Forrer H.R., Streit B., Rieger S. und W. Richner (2000): Fusarien- und Toxinbelastung des Weizens bei Direktsaat. *Getreide* 6(3), 198-201.

Kübler, E. (1994): Weizenanbau, Ulmer Verlag, Stuttgart

Leatham, G. F. (1983): a chemically defined medium for the fruiting of *Lentinus edodes*. *Mycologm*, 905-908

McMullen M. P. und R.W. Stack (1983): Effects of isolation techniques and media on the differential isolation of *Fusarium* species. *Phytopathology*. 73, 458-462

Miller J. D., Culley J., Fraser K., Hubbard S und F. Meloche (1998): Effect of tillage practice on *Fusarium* head blight of wheat. -*Can. J. of Plant Pathol.* 20, 95-103

Morgan, P.; Lee, S. A.; Lewis, S.T.; Sheppard, A. N. und R. J Watkinson (1993): Growth and biodegradation by White-Rot fungi inoculated into soil. *Soil Biol. Biochem.* 2, 279-287

Obst A., Bauer G., Bechtel A., Beck R., Bürstmayr H., Eder J., Fuchs H., Gammel P., Hart L., Rintelen J., Schweizer G., Wosnitza A. und G. Zimmermann (2000): Risiken durch den Ährenparasiten *Fusarium graminearum* – Ergebnisse eines LBP-Forschungsverbundes (14 Beiträge. *Bodenkultur und Pflanzenbau: Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau* 4 (3/00)

Petterson H. (1997): Toxicity and metabolism in farm animals. *Cereal Research Communications* 25, 423-427

Scheffer F. und P. Schachtschabel (2002): *Lehrbuch der Bodenkunde*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Deutschland

Schlüter, K. und U. Kropf (2006): Infektionswege von Fusarien Fusarium-Befall aus dem Boden ? *Landwirtschaft ohne Pflug* 2, 28-33

Shinners-Carnelley T.C., Szpacenko A., Tewari J.P. und M.M Palcic. (2000): Enzymatic activity of *Cyathus olla* during solid state fermentation of canola roots. *Phytoprotection* 83, 31-40

Singh, D. und S. Chen (2008): The white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: conditions for the production of lignin-degrading enzymes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 81: 399-417

Snijders, C.H.A. (1990) *Fusarium* head blight and mycotoxin contamination of wheat, a review. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 96, 187-198

Sturz A. V. und C.C. Bernier (1987): Survival of cereal root pathogens in the stubble and soil of cereal versus noncereal crops. *Can. J. Plant. Pathol.* 9, 205-213

Sturz A. V. und H.W. Johnston (1985): Characterization of *Fusarium* colonization of spring barley and wheat produced on stubble or fallow soil. *Can. J. Plant. Pathol.* 7, 270-276

Summerell B. A., Burgess L.W., Klein T.A. und A.B. Pattison (1990): Stubble management and the site of penetration of wheat by *Fusarium graminearum* group 1. *Phytopathology.* 80, 877-879

Sivan und I. Chet (1986): Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat, and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. *J. Phytopathol.* 116, 39–47

Tischner H. und A. Obst (2002): Einflussfaktoren, insbesondere Fungizide, auf den Befall und die Toxinbildung durch Ährenfusarien an Weizen. *Mitt. d. Biol. Bundesanstalt*, 390, 72-73

Wiedow, D., (2007): Beschleunigung des Strohabbaus in Ackerböden: Selektion saprotropher Pilze und Nachweis ihrer Wirksamkeit. Dissertation, Universität Rostock, Deutschland