

Aus dem Departement für Nutzpflanzenwissenschaften
Fachgebiet Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz
der Georg-August-Universität Göttingen

***Ramularia collo-cygni* an Gerste –
Biologie, Verbreitung, ökonomische Bedeutung
und Bekämpfungsmöglichkeiten**

Dissertation
zur erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Agrarwissenschaften
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von
Torsten Balz
geboren in Erwitte

Göttingen, im Dezember 2009

D 7

1. Referentin/Referent: Prof. Dr. Andreas von Tiedemann

2. Korreferentin/Korreferent: Prof. Dr. Elke Pawelzik

Tag der Disputation: 27. Januar 2010

1. Einleitung	1
1.1 Die Gerste – eine bedeutende Kulturpflanze	1
1.2 <i>Ramularia collo-cygni</i> - Systematische Stellung und Morphologie.....	2
1.3 Ziel der Arbeit	5
2. Material und Methoden	6
2.1 Chemikalien.....	6
2.2 Nährmedien und Pufferlösungen	7
2.3. Abkürzungen	10
2.4. <i>In-vitro</i> -Kultivierung von <i>R. collo-cygni</i>	13
2.4.1 Isolierung des Erregers	13
2.4.2 Kultivierung und Vermehrung	15
2.4.3 Dauerlagerung	15
2.5 Nachweismethoden für <i>R. collo-cygni</i>	16
2.5.1 Visuelle Bonitur von <i>R. collo-cygni</i>	16
2.5.2 Nachweis durch Auslegen auf sauren Wasseragar (nach Sachs).....	17
2.5.3 DAS-ELISA	17
2.5.3.1 Funktionsweise des DAS-ELISA	17
2.5.3.2 Antigenproduktion und -gewinnung.....	18
2.5.3.3 Immunisierung.....	19
2.5.3.4 Aufreinigung der Rohseren	20
2.5.3.5 Biotinylierung der Antikörper	21
2.5.3.6 Testen der Antikörperkonzentration.....	21
2.5.3.7 Kreuzreaktionen	22
2.5.3.8 Sensitivität und quantitative Überprüfung.....	24
2.6 Versuche unter kontrollierten Bedingungen.....	24
2.6.1 Keimtest auf Wasseragar	24
2.6.2 Untersuchungen zur Keimung auf Blattsegmenten	25
2.6.3 Untersuchung von Sporenkeimung und Nekrotisierung an Blattsegmenten in Abhängigkeit der Temperatur.....	25
2.6.4 Untersuchungen zur Inkubationszeit und Lichtabhängigkeit	26
2.6.5 Untersuchung der Anfälligkeit in unterschiedlichen Pflanzenentwicklungsstadien	26
2.7 Freilandversuche.....	28
2.7.1 Beobachtung von Befallsverlauf und Sporenflug.....	28

2.7.2 Untersuchungen zur Überdauerung auf Stroh	29
2.7.3 Monitoring der Verbreitung von <i>R. collo-cygni</i> innerhalb Deutschlands	29
2.7.4 Auswirkungen von <i>R. collo-cygni</i> auf Ertrag und Korngrößenverteilung.....	30
2.7.5 Untersuchungen zur Anfälligkeit zweizeiliger und mehrzeiliger Sorten	31
2.7.6 Untersuchungen zu Möglichkeiten der chemischen Bekämpfung	32
3 Ergebnisse	37
3.1 <i>In vitro</i> Kultivierung von <i>R. collo-cygni</i>	37
3.1.1 Dauerkulturen	37
3.2 Nachweismethoden.....	37
3.2.1 Visuelle Differenzierung von Blattnekrosen	37
3.2.1.1 Visuelle Diagnose von Mehltauabwehrnekrosen	38
3.2.1.2 Visuelle Diagnose von Pollennekrosen	38
3.2.1.3 Visuelle Diagnose von PLS (physiological leaf spots)	40
3.2.1.4 Visuelle Diagnose von Netzflecken	41
3.2.1.5 Visuelle Diagnose von <i>R. collo-cygni</i> -Blattflecken	42
3.2.1.6 Differenzierungshilfe zur Unterscheidung von Blattflecken an Gerste.....	45
3.2.2 Detektion von <i>R. collo-cygni</i> mit sauren Wasseragar (nach Sachs).....	47
3.2.3 DAS-ELISA	47
3.2.3.1 Optimierung der Antikörperkonzentration	47
3.2.3.2 Sensitivität und quantitative Aussage des DAS-ELISA.....	49
3.2.3.3 Kreuzreaktionen mit Pflanzenorganen und Pilzisolaten.....	50
3.3 Biologie und Epidemiologie.....	53
3.3.1 Keimung und Wachstum auf Wasseragar	53
3.3.2 Keimung auf Blattsegmenten	55
3.3.3 Keimung auf Blattsegmenten und Nekrotisierung von Blattsegmenten	56
3.3.4 Einfluss von Licht und Blattnässe auf die Infektion	58
3.3.5 Einfluss des Pflanzenentwicklungsstadiums auf die Anfälligkeit gegenüber <i>R. collo-cygni</i>	59
3.3.6 Untersuchungen zur Inokulumquelle Stroh.....	64
3.3.7 Befallsverlauf von <i>R. collo-cygni</i> im Feld.....	65
3.4 Verbreitung und Auftreten von <i>R. collo-cygni</i> in Deutschland.....	69
3.4.1 Verbreitung von <i>R. collo-cygni</i> in 2003	69
3.4.2 Verbreitung von <i>R. collo-cygni</i> in 2004	73
3.4.3 Verbreitung von <i>R. collo-cygni</i> in 2005	77

3.5	Schadwirkung von <i>R. collo-cygni</i>	82
3.5.1	Auswirkungen von Befall mit <i>R. collo-cygni</i> auf den Ertrag	82
3.5.2	Auswirkungen von Befall mit <i>R. collo-cygni</i> auf die Korngrößenverteilung.....	83
3.6	Sortenanfälligkeit	84
3.6.1	Anfälligkeit zweizeiliger Sorten.....	85
3.6.2	Anfälligkeit mehrzeiliger Sorten	96
3.7	Chemische Bekämpfung.....	103
3.7.1	Versuche in 2003	103
3.7.2	Versuche in 2004	106
3.7.2.1	Vergleich unterschiedlicher Präparate und Wirkstoffgruppen	106
3.7.2.2	Untersuchungen zum Applikationstermin und Auswirkungen der Reduktion von Aufwandmengen.....	110
4.	Diskussion.....	115
4.1	Diagnose von <i>R. collo-cygni</i>	115
4.1.1.	Visuelle Symptombonitur.....	115
4.1.2.	Auslegen auf Wasseragar (nach Sachs).....	116
4.1.3	ELISA Nachweis	116
4.2.	Daten zu Keimung, Wachstum und Infektion von <i>R. collo-cygni</i>	118
4.2.1.	Untersuchungen unter kontrollierten Bedingungen.....	118
4.2.1.1.	Einfluss der Temperatur auf Keimung und Wachstum von <i>R. collo-cygni</i>	118
4.2.1.2.	Einfluss von Feuchtigkeit auf die Keimung von <i>R. collo-cygni</i>	120
4.2.1.3.	Einfluss von Licht.....	121
4.2.1.4.	Einfluss des Pflanzenalters auf die Infektion und Nekrotisierung des Blattgewebes durch <i>R. collo-cygni</i>	123
4.2.2.	Untersuchungen im Freiland	124
4.2.2.1.	Befallsverlauf	124
4.3	Verbreitung von <i>R. collo-cygni</i>	126
4.4	Sortenunterschiede gegenüber der Anfälligkeit von <i>R. collo-cygni</i>	128
4.4.1.	Unterschiede bei zweizeiligen Sorten.....	128
4.4.2	Unterschiede bei mehrzeiligen Sorten.....	129
4.5.	Schadwirkung und chemische Bekämpfung von <i>R. collo-cygni</i>	131
5.	Zusammenfassung	134
	Literaturverzeichnis	136

1. Einleitung

1.1 Die Gerste – eine bedeutende Kulturpflanze

Die Gerste (*Hordeum vulgare*) zählt zu den ältesten Kulturpflanzen der Welt. Bereits vor 5000 Jahren erfolgte die erste Domestikation durch die Sumerer. 2007 wurden weltweit ca. 136,2 Mio. Tonnen Gerste erzeugt. Damit steht Gerste nach Körnermais (784,7 Mio t), Reis (651,7 Mio t) und Weizen (607,0 Mio t) auf Platz vier der häufigsten Getreidearten. In Deutschland werden jährlich zwischen 10,5 und 13,5 Mio. t Gerste produziert (Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz 2007). Im weltweiten Vergleich liegt Deutschland nach Russland, Ukraine und Kanada, die zusammen ca. 1/3 der Weltproduktion ausmachen, an vierter Stelle der Gerstenproduzenten (Lütke Entrup et al. 2000). In Deutschland wurde 2008 auf über 2 Mio. ha Gerste angebaut. Davon waren 1,48 Mio. ha Wintergerste und 0,55 Mio. ha Sommergerste. Der Selbstversorgungsgrad bei Getreide innerhalb der EU 25 lag im landwirtschaftlichen Wirtschaftsjahr 2005/2006 bei 103%. In Deutschland lag er mit 105 % im landwirtschaftlichen Wirtschaftsjahr 2006/2007 auf einem vergleichbaren Niveau wie die EU 25 (Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz 2007).

Gerste hat viele Verwendungszwecke. Wintergerste wird überwiegend als Futtergetreide verwendet. Hier wirkt sich der höhere Anteil Spelzen am Korn diätetisch in der Futterrati-on aus. Besonders in der Sauenfütterung ist Gerste daher sehr begehrt. Seit einigen Jahren werden auch in Deutschland zweizeilige Wintergerstensorten auf ihre Malzeignung geprüft (Bundessortenamt 2000). Außerhalb Deutschlands wird zweizeilige Wintergerste bereits seit einigen Jahren zur Malzproduktion verwendet. In Deutschland hingegen finden zwei-zeilige Wintergerstensorten kaum Verwendung zur Malzproduktion. Hier werden fast aus-schließlich Sommergerstensorten zur Malzproduktion vermarktet. Nur Sommergersten-charge, die nicht den Ansprüchen der Mälzereien entsprechen, finden ihre Verwertung in der Tierproduktion. In der Humanernährung spielt Gerste in Deutschland nur eine unterge-ordnete Rolle. Produkte aus Gerste sind z.B. Malzkaffee, Graupen, Fladenbrot oder Gers-tengrütze (Lütke Entrup et al. 2000).

1.2 *Ramularia collo-cygni* - Systematische Stellung und Morphologie

Erstmals beobachtet wurde *Ramularia collo-cygni* von Cavara 1893 in Oberitalien. Schon damals beschrieb Cavara die morphologischen Strukturen sehr detailliert und ordnete den Erreger aufgrund seiner Morphologie in eine neue Gattung als *Ophiocladium hordei* ein (Cavara 1893).

Von Sutton & Waller (1988) wurde der Erreger in die Gattung *Ramularia* eingeordnet. Sie begründeten dies mit der nekrotrophen Lebensweise, Pigmentierung, Konidiogenese und Konidienmorphologie, die sehr stark mit anderen Pilzen der Gattung *Ramularia* übereinstimmen. Die Artbezeichnung *collo-cygni* ist abgeleitet aus der Form der Konidienträger (Abb. 1), die wie Schwanenhälse (Lateinisch: collum = Hals; cygnus = Schwan) gebogen sind.



Abb. 1: Lichtmikroskopaufnahme eines einzelnen Konidienträgers von *R. collo-cygni*. Am oberen Ende, dort wo die Konidie gebildet wird, läuft der Konidienträger spitz zu, am unteren Ende ist keine Verjüngung zu erkennen. Darüber hinaus sind die einzelnen Segmente und die schwanenhalsförmige Biegung am oberen Ende zu sehen. Diese Form ergab den Namenszusatz collo-cygni (Lateinisch: collum = Hals, cygnus = Schwan).

Da die teleomorphe Form nicht bekannt ist, muss der Erreger systematisch zu den *Deuteromycetes* gezählt werden. Sollte eine teleomorphe Form existieren, so deuten die molekulargenetischen Untersuchungen von Goodwin et al. (2001) darauf hin, dass sie in der *Mycosphaerella*-Gruppe zu suchen ist.

Im Blattgewebe werden wenige hyaline, verzweigte, septierte Hyphen gebildet, die das Mesophyll besiedeln. Unter den Spaltöffnungen messen die Hyphen bis zu 30 µm Durchmesser (Sutton et al. 1988).

Die Konidienträger wachsen meist aus den Stomata auf der Blattunterseite heraus. Aus jedem Stoma wachsen in der Regel bis zu 15 Träger aus. (Abb. 2 und 3). An der Basis ver-

zweigen sie sich gelegentlich ein bis drei Mal. Seltener verzweigen sie sich 15-20 μm über der Basis. Die Länge der Konidiophoren variiert in der Literatur zwischen 30-56 μm (Sutton et al. 1988) und 15-70 μm bei Braun (1998). Die Konidiophoren selbst sind ein- bis dreifach septiert, 3-5 μm breit, zur Spitze auf 1-3 μm verjüngt und um 8-14 μm zur Hauptachse der Konidiophore zurückgebogen (Schwanenhals). Die konidienbildende Region ist wulstförmig auf ca. 3 μm Breite geschwollen (Sutton et al. 1988). Diese geschwollenen Regionen bleiben auch nach dem Abschnüren der Konidien sichtbar (Huss et al. 1992) (Abb. 3 und 4).

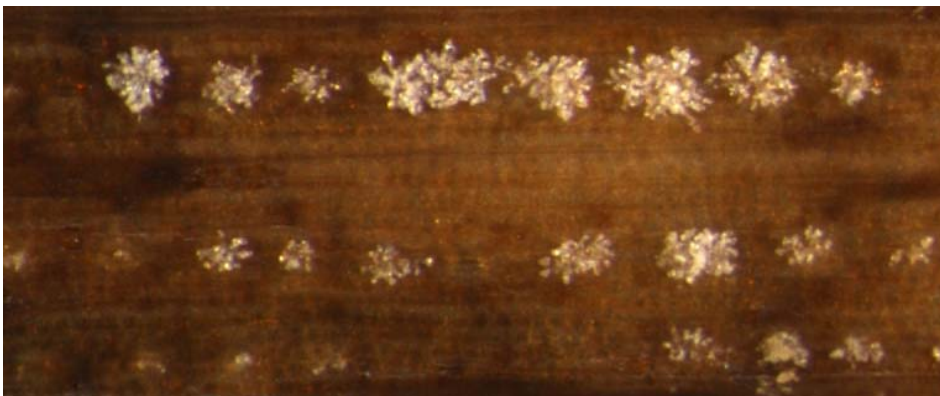


Abb. 1: Unterseite eines durch *R. collo-cygni* befallenen Gerstenblattes. Die weißen Büschel bestehen aus jeweils ca. 15 Konidienträgern. Die Konidienträger wachsen durch die Stomata nach außen. Dadurch entsteht die perlschnurartige Anordnung entlang der Blattadern. Zu erkennen ist diese Anordnung ab einer 20fachen Vergrößerung. Die Aufnahme entstand mit einer 100fachen Vergrößerung.

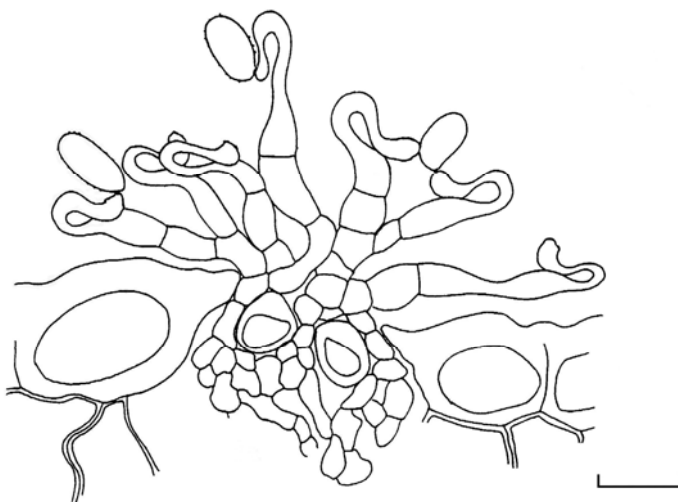


Abb. 2: Schematische Darstellung eines Konidienträgerbüschels. Der Messbalken steht für 10 μm . Zu erkennen ist die schwanenhalsförmige Form der Konidienträger mit jeweils einer Konidie an der Spitze sowie die Segmentierung der Konidienträger. Die sieben einzelnen Konidienträger wachsen aus einem Stoma heraus. (Sutton et al. 1988, verändert).

Die Konidien werden holoblastisch gebildet. Sie sind hyalin, unseptiert, oval bis elliptisch, mit einer flachen, auffällig verdickten, etwas exzentrisch gelegenen Narbe. Die Oberfläche ist mit vielen kleinen Fortsätzen übersät (Sutton et al. 1988). Zur Narbe hin sind die Fortsätze lappig vergrößert (Huss et al. 1992) (Abb. 4).

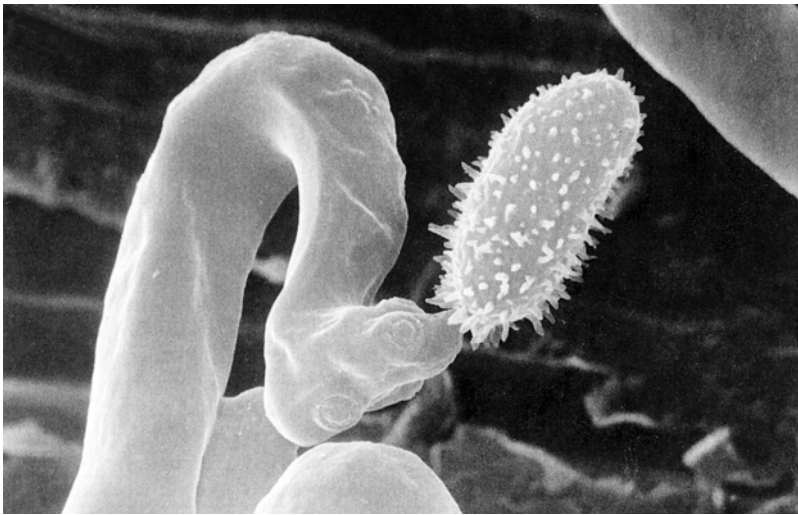


Abb. 3: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der polyblastischen Region am oberen Ende eines Konidienträgers. Unter dem Ansatz der stacheligen Konidie sind die schwach wulstig umrandeten Narben älterer Konidienansätze zu erkennen. Der Messbalken steht für 1 μm (Huss et al. 1992).

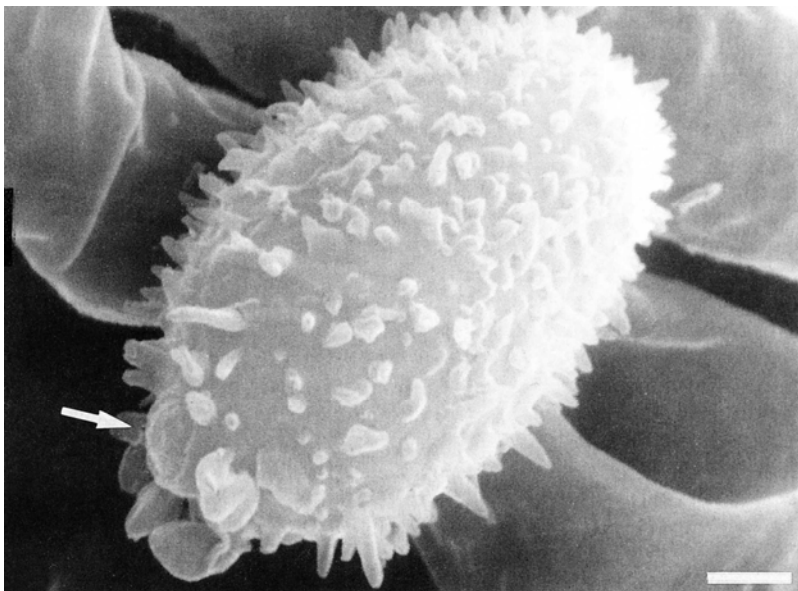


Abb. 4: Elektronenrasteraufnahme einer einzelnen Konidie. Der Pfeil zeigt die exzentrische Narbe, wo die Konidie ehemals mit dem Konidienträger verbunden war. Deutlich zu sehen sind die ausgeprägt stachelige Oberfläche und lappig vergrößerte Fortsätze an der ehemaligen Basis zum Konidienträger hin. Der Messbalken steht für 1 μm (Huss et al. 1992).

1.3 Ziel der Arbeit

Die Morphologie von *R. collo-cygni* ist gut erarbeitet. Probleme bereitet die Diagnose der Krankheit. Zur visuellen Diagnose fehlen sichere Unterscheidungsmerkmale zu anderen Krankheitserregern. Im Labor fehlt eine qualitative und quantitative Nachweismethode. Daher wurden im Rahmen der Arbeit Merkmale erarbeitet, anhand derer die Krankheit von anderen Blattfleckenenerregern differenziert werden kann. Zusätzlich wurde ein DAS-ELISA entwickelt und validiert. Beide Methoden wurden für weitere Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit eingesetzt.

Über die Bedeutung des Erregers wurde in Deutschland bisher kontrovers diskutiert. Gleiches gilt für Bekämpfungsmöglichkeiten und Anfälligkeit unterschiedlicher Gerstensorten. Um die Verbreitung innerhalb Deutschlands zu erfassen, wurde ein dreijähriges, bundesweites Monitoring durchgeführt. Die Auswirkungen der Krankheit auf Ertrag und Korngrößensortierung wurden in Freilandfeldversuchen ermittelt. Ebenfalls in Freilandversuchen wurden die Sortenanfälligkeit und die Wirkung unterschiedlicher Fungizide getestet. In den Fungizidversuchen wurden Einzelwirkstoffprodukte und Fertigformulierungen aus mehreren Wirkstoffgruppen getestet.

Obwohl es sich bei *R. collo-cygni* um einen seit langem bekannten Pilz handelt, ist über die Biologie des Pilzes wenig bekannt. Aus diesem Grund sollten in der Arbeit grundlegende Daten zur Biologie des Pilzes gesammelt werden. In der vorliegenden Arbeit wurden in Infektionsversuchen in Klimakammern, *In-vitro*-Versuchen im Labor und Freilanduntersuchungen Daten zur Keimung, Wachstum und Nekrotisierung von Blattsegmenten erarbeitet.

2. Material und Methoden

2.1 Chemikalien

Acanto	Syngenta Agro GmbH
Agar	Scharlau Chemie, Barcelona
Ammoniumsulfat	Merk Chemicals
Calciumcarbonat (CaCO ₃)	Merk Chemicals
Casein – peptidisch verd.	Serva Feinchemikalien, Heidelberg
Cellulose DEAE 52	Serva Feinchemikalien, Heidelberg
Chloroform	AppliChem, Darmstadt
Coomassie-Brilliant-Blue G250	Serva Feinchemikalien, Heidelberg
Czapek-D-Medium	Scharlau Chemie, Barcelona
Diethanolamin	Serva Feinchemikalien, Heidelberg
Eisensulfat Heptahydrat (FeSO ₄ x 7H ₂ O)	Merk Chemicals
Gemüsesaft	albi
D(+)-Glucose-Monohydrat	Merk Chemicals
Glycerin	Roth, Karlsruhe
Heumehl	eigene Herstellung
Kaliumchlorid (KCl)	Merk Chemicals
Kaliumhydrogenphosphat (K ₂ HPO ₄)	Merk Chemicals
Maltose	Scharlau Chemie, Barcelona
Magnesiumsulfat Heptahydrat (MgSO ₄ x7 H ₂ O)	Merk Chemicals
Natriumcarbonat (Na ₂ CO ₃)	Roth, Karlsruhe
Natriumchlorid (NaCl)	Merk Chemicals
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃)	Roth, Karlsruhe
Dinatriumhydrogenphosphat Dodecahydrat (Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O)	Merk Chemicals
Natriumacid (NaN ₃)	Roth, Karlsruhe
Natriumnitrat (NaNO ₃)	Roth, Karlsruhe
Natriumacetat wasserfrei (C ₂ H ₃ NaO ₂)	Roth, Karlsruhe

PDB Fertigmedium	Scharlau Chemie, Barcelona
Pepton, tryptisch verdaut	Merk Chemicals
Phosphorsäure (H ₃ PO ₄)	Sigma, Steinheim
Paranitrophenylphosphat (pnPP)	Serva Feinchemikalien, Heidelberg
Polyvinylpyrrolidon (PVPP; (C ₆ H ₉ NO) _n)	Serva Feinchemikalien, Heidelberg
Rinderserumalbumin Fraktion V	Merk Chemicals
Saccharose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	Scharlau Chemie, Barcelona
Salzsäure (HCl)	Sigma, Steinheim
Streptavidin-alkalische Phosphatase	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
Streptomycin	Fluka Chemie GmbH, Neu-Ulm
Trichloressigsäure (C ₂ HCl ₃ O ₂)	Merk Chemicals
Tween 20	Fluka Chemie GmbH, Neu-Ulm

2.2 Nährmedien und Pufferlösungen

Acanto-Strep.-GSA Medium

200 ml	Gemüsesaft (albi)
15 g	Agar
2 g	CaCO ₃
800 ml	H ₂ O _{bidest.}
0,2 g	Streptomycin
10 µl	Acanto (250 g/l Picoxystrobin)

ACE-Lösung

700 ml	Ethanol (96 %)
300 ml	Chloroform
1 ml	Trichloressigsäure (15 %)

Beschichtungspuffer (ELISA)

1,59 g	Na ₂ CO ₃
2,93 g	NaHCO ₃
0,2 g	NaN ₃
ad 1 l	H ₂ O _{bidest.}

Bradford-Reagenz

100 mg Coomassie-Brilliant-Blue G250
50 ml Ethanol (95 %)
100 ml Phosphorsäure (85 % (w/l))
ad 1 l $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest.}}$

Czapek-Solution-Agar (CzA)

1 l Czapek-Medium (siehe unten)
15 g Agar

Czapek-D-Medium (CzM)

3,0 g NaNO_3
1,0 g K_2HPO_4
0,5 g $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$
0,5 g KCl
0,01 g $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$
30 g Saccharose
ad. 1 l $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest.}}$

Czapek-D-Medium mit Peptonzusatz(CzM+P)

3,34 g CzM (siehe oben)
0,5 g Pepton tryptisch verdaut
ad 1 l $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest.}}$

Extraktionspuffer – für Cellulose, Curdlan, Stärke und Xylan

2,5 ml PPK + Tween Puffer
2 g PVP
0,2 g Natriumacid
ad. 1 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest.}}$
Essigsäure

Gemüsesaftagar (BBA)

200 ml	Gemüsesaft (albi)
15 g	Agar
2 g	CaCO ₃
800 ml	H ₂ O _{bidest.}

Glyceringefriermedium

750 ml	Czapek-D-Medium (CzM) [volle Konzentration]
250 ml	Glycerin

Heumehlextraktagar

10 g	Heumehl (in Mühle oder Mixer zerkleinert)
1 l	H ₂ O _{bidest.}
15 g	Agar

PDA (Potato-Dextrose-Agar)

39 g	PDA Fertigmedium (Merck, Difco)
1 l	H ₂ O _{bidest.}

PDB

24 g	PDB Fertigmedium (Merck, Difco)
1 l	H ₂ O _{bidest.}

PPK – Puffer

8,0 g	NaCl
0,2 g	KH ₂ PO ₄
2,9 g	Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O
0,2 g	KCl
ad 1 l	H ₂ O _{bidest.}

PPK –Puffer + Tween

8,0 g NaCl
0,2 g KH₂PO₄
2,9 g Na₂HPO₄*12H₂O
0,2 g KCl
0,5 ml Tween 20
ad 1 l H₂O_{bidest.}

R. collo-cygni Inokulation

1 g Maltose
0,25 g peptidisch verd. Casein
ad 1 l H₂O – nicht entmineralisiert

Substratpuffer (ELISA)

97 ml Diethanolamin
ad 1 l H₂O_{bidest.}
2 N HCl

Wasseragar pH 5,0 (WA 5,0)

1 l H₂O_{bidest.}
15 g Agar
Milchsäure

Waschpuffer (ELISA)

1,25 ml PPK – Puffer
0,2 g Natriumacid
ad 1 l H₂O_{bidest.}

2.3. Abkürzungen

% Prozent
°C Grad Celsius
μ mikro

μE	Mikroeinsteinst
μl	Mikroliter
Abb.	Abbildung
ACE Lsg	Lösung zum Entfärben
AI	Aktivwirkstoff
AT	Österreich
BB	Brandenburg
BBCH	Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien von Kulturpflanzen (<u>B</u> iologische Bundesanstalt, <u>B</u> undessortenamt, <u>C</u> hemische Industrie)
BW	Baden-Württemberg
BY	Bayern
cm	Zentimeter
CzA	Czapek-Medium (Nährboden)
DAS	double antibody sandwich
DWD	Deutscher Wetterdienst
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
evtl.	eventuell
F	Fahnenblatt
g	Gramm
g	Erdbeschleunigung
ggf.	gegebenenfalls
GSA	Gemüsesaftagar
H ₂ O _{bidest}	doppelt destilliertes Wasser
h	Stunden
ha	Hektar
HE	Hessen
HCl	Salzsäure
konz.	konzentrierte
l	Liter
IgG	Immunglobuline
M	Molar
mg	Milligramm
Mio	Million

ml	Milliliter
mm	Millimeter
n	Anzahl der Stichproben
N	Normalität/Äquivalentkonzentration
NI	Niedersachsen
nm	Nanometer
NUV	near Ultraviolett-Licht
NW	Nordrhein-Westfalen
OD	optische Dichte
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
Pfl.	Pflanzen
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Oxoniumionenkonzentration
PLS	physiological leaf spot
PLZ	Postleitzahl
pNPP	4-Nitrophenylphosphat
PPK	Phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung
ppm	parts per million
PVP	Polyvinylpyrrolidone
r	Bestimmtheitsmaß
<i>R. collo-cygni</i>	<i>Ramularia collo-cygni</i>
RAPD	Random amplification of polymorphic DNA
Rcc	<i>Ramularia collo-cygni</i>
RLH	relative Luftfeuchtigkeit
RP	Rheinland-Pfalz
rpm	Umdrehungen pro Minute
RSA	Rinderserumalbumin
SD	Standardabweichung
SH	Schleswig-Holstein
ST	Sachsen-Anhalt
StrAp	Streptavidin-alkalische Phosphatase
t	Tonne
Tab.	Tabelle
TH	Thüringen

TKG	Tausendkorngewicht
TS	Trockensubstanz

2.4. *In-vitro*-Kultivierung von *R. collo-cygni*

2.4.1 Isolierung des Erregers

Um den Erreger zu isolieren, wurde unter einem Binokular (Leica: Wild M, Planapo) sporulierendes Mycel gesucht. Anschließend wurden bei 80- bis 100-facher Vergrößerung mit einer Lanzettadel Sporen abgenommen. Die Kultivierung dieser Sporen erfolgte mittels fraktionierten Ausstrichs auf Gemüsesaftagar, der mit Streptomycin und Acanto versetzt war. Vorzugsweise erfolgte die Isolierung an Proben, an denen *R. collo-cygni* bereits sporulierte. Probenmaterial, an dem *R. collo-cygni* noch nicht sporulierte, wurde auf Wasseraagar ausgelegt und bei Raumtemperatur und Tageslicht bis zur Sporulation inkubiert. Anschließend erfolgte die Isolierung wie oben beschrieben.

Die Inkubation der angeimpften Petrischalen erfolgte bei 20°C und 24h NUV-Licht (Philips LTD 36W80). Sobald *R. collo-cygni*-Kolonien sichtbar waren, wurden diese auf einer neuen Petrischale mit Gemüsesaft erneut fraktioniert ausgestrichen. Um Einsporenisolate zu bekommen, wurde dieser Vorgang wiederholt. Die gewonnenen Isolate sollten folgenden Projekten als Grundlage für weitere Untersuchungen dienen. Die Bezeichnung der Isolate setzte sich aus einer laufenden Nummer sowie dem Isolationsmonat und –jahr zusammen. Das Isolat 010602 ist das erste Isolat (01), das im Juni (06) 2002 (02) isoliert wurde.

In den drei Jahren von 2002 bis 2004 wurden 31 Isolate aus ganz Deutschland isoliert (Tab. 1). Die Lagerung erfolgte zum Teil auf Petrischale auf GSA oder/und als Glycerinkultur bei -80°C. Die gewonnenen Isolate unterschieden sich sehr stark durch ihren Habitus. Da es allerdings nicht Ziel war, die unterschiedlichen Isolate weiter zu beschreiben, sondern nur eine Ausgangsbasis für evtl. folgende Projekte zu schaffen, wird nicht weiter auf die kultivierten Isolate eingegangen.

Tab. 1: Übersicht der im Rahmen dieser Arbeit isolierten Isolate

Nr.	Proben- nahme¹	Sorte	PLZ	Ort	Bundesland / Herkunftsland	Bezeich- nung
1	09.06.02	-	59597	Erwitte Schmerlecke	NW	010602
2	11.06.02	Duet	94315	Straubing	BY	021102
3	10.07.02	Camera	37120	Lenglern	NI	031102
4	20.07.03	Henni	59597	Erwitte/ Soest	NW	040703
5	17.06.03	Aquarelle	37154	Northeim/ Wetze	NI	050703
6	15.07.03	Diverse	73333	Gingen	BW	060703
7	k.A. ²	Franziska	06888	Dabrun	ST	070703
8	08.07.03	Franziska	37154	Northeim/ Höckelheim	NI	080703
9	07.07.03	Franziska	37120	Lenglern	NI	090703
10	05.07.03	Reni	86660	Brachstadt	BY	100703
11	02.07.03	Camera	85445	Oberding - Niederdina	BY	110803
12	08.07.03	Reni	74934	Reichartshausen	BW	120803
13	23.06.03	Theresa	23816	Heiderfeld	SH	130803
14	01.06.03	k.A.	AT 4073	Wilhering	Österreich	140803
15	25.06.03	Theresa	99867	Gotha	TH	150803
16	06.07.03	Candesse	66484	Dietrichingen	RP	161103
17	08.07.03	Carola	93352	Rohr	BY	170803
18	07.07.03	Franziska	36304	Reibertenrodt / Heckefeld	HE	180803
19	14.06.04	Carrero	74934	Reichartshausen	BW	191004
20	15.06.04	Nikel	59505	Bad Sassendorf	NW	200904
21	16.05.04	Theresa	32423	Minden	NW	211004
22	05/06.04	Reni	08638	Krumbach	BY	221004
23	16.05.04	Franziska	49143	Bissendorf-Wulfen	NI	231004
24	01.06.04	Candesse	6179	Holleben	ST	241004
25	01.06.04	Fee	39167	Ochtersleben	ST	251004
26	28.06.04	Lomerit	38838	Schlansedt	ST	261004
27	29.06.04	Lomerit	14532	Kleinmachnow	BB	271004
28	27.06.04	Franziska	37115	Duderstadt	NI	281004
29	29.06.04	Franziska	49685	Drantum	NI	291004
30	29.06.04	Carrero	88436	Eberhard Zell	BW	301004
31	13.07.04	Barke		Uffeln, südlich von Würz- burg	BY	311004

¹ Zeitpunkt der Probennahme im Feld; ² im Probenbegleitschreiben wurde keine Angabe gemacht.

2.4.2 Kultivierung und Vermehrung

Die Kultivierung erfolgte auf Gemüsesaftagar (GSA), dessen Zusammensetzung im Anhang aufgeführt ist. Überimpft wurde immer mit einer Sporen-Mycel-Suspension, die auf eine neue GSA-Petrischale mit einem Drigalskispatel verteilt wurde. Für Infektionsversuche mussten die Isolate vermehrt und zum Sporulieren gebracht werden. Dazu wurden mit einer Pipette 5 ml steriles Leitungswasser auf eine sporulierende Petrischale verteilt. Mit Hilfe einer Impföse, die zuvor abgeflammt wurde, konnten Mycel und Sporen auf der bewachsenen Platte abgeschwemmt werden. Anschließend wurden jeweils 200 µl Sporen-Mycel-Suspension auf einer neuen GSA-Petrischale mit einem Drigalskispatel ausplattiert. Die Inkubation erfolgte bei 20°C und Dauer-NUV-Licht (Phillips LTD 36W80).

2.4.3 Dauerlagerung

Die Dauerlagerung erfolgte in zwei Formen. Für die laufenden Arbeiten wurden die Isolate jeweils auf Gemüsesaftagar und Heuagar ausplattiert, bei 20°C und Dauer-NUV-Licht (Phillips LTD 36W80) für 14 Tage inkubiert, um anschließend im Kühlraum bei 4 °C ohne Licht gelagert zu werden. Der Vorteil dieser Vorgehensweise lag in der kurzen Zeitspanne, die benötigt wurde, um größere Mengen Sporenmaterial zu produzieren. Da die Isolate alle 2 bis 3 Monate umgesetzt werden mussten, ist diese Aufbewahrungsmethode nicht über lange Zeiträume geeignet.

Die zweite Form der Dauerlagerung bestand in einer Gefriermethode. Bei dieser Methode wurden die Sporen eingefroren und dadurch ohne Veränderungen über einen langen Zeitraum haltbar gemacht. Als Trägermedium diente eine Mischung zu jeweils 50 % aus Czapek-Dox-Flüssigmedium und Glycerin. Im Vorfeld wurde Czapek-Dox-Flüssigmedium und Glycerin jeweils einzeln in 2-ml-Eppendorf-save-look-Reaktionsgefäße in einem Autoklaven sterilisiert. Um das Glycerin pipettieren zu können, musste es nach dem Abkühlen erneut erwärmt werden. Anschließend wurden jeweils 500 µl in sterile Eppendorf-save-look-Reaktionsgefäße pipettiert. Mit 5000 µl Czapek-Dox-Flüssigmedium und mit Hilfe einer Impföse wurden von einer gut sporulierenden Petrischale die Sporen abgeschwemmt, anschließend jeweils 500 µl der Sporen-Mycel-Nährmedium-Suspension in Eppendorf-save-look-Reaktionsgefäße mit dem Glycerin überführt und mittels eines Vor-

texers gemischt. Vor dem letzten Schritt war wichtig sicherzustellen, dass das Glycerin ausreichend abgekühlt war. Bei zu hohen Temperaturen wären ansonsten die überführten Sporen direkt abgetötet worden. Das Einfrieren erfolgte ohne Zwischenschritte bei -80°C . Die Überprüfung der Methode erfolgte, indem einzelne Reaktionsgefäße aufgetaut wurden und die Suspension auf Gemüsesaftagar ausplattiert wurde. Für diesen Test kamen die Isolate 010602, 021102 und 031102 zum Einsatz. Zu jedem Termin wurden jeweils drei Reaktionsgefäße von einem Isolat getestet. Die getesteten Suspensionen wurden am 7. Juli 2003 eingefroren. Getestet wurde die Keimung zu drei unterschiedlichen Terminen. Zu jedem Termin wurde ein neues Eppendorfgesäß aufgetaut. Zum ersten Mal wurden Eppendorfgesäße am 10. November 2003 aufgetaut. Danach weitere zwei Male am 12. Juli und 06. Dezember 2004. Die Beurteilung der Keimung erfolgte drei Wochen nach Kultivierung auf GSA.

2.5 Nachweismethoden für *R. collo-cygni*

2.5.1 Visuelle Bonitur von *R. collo-cygni*

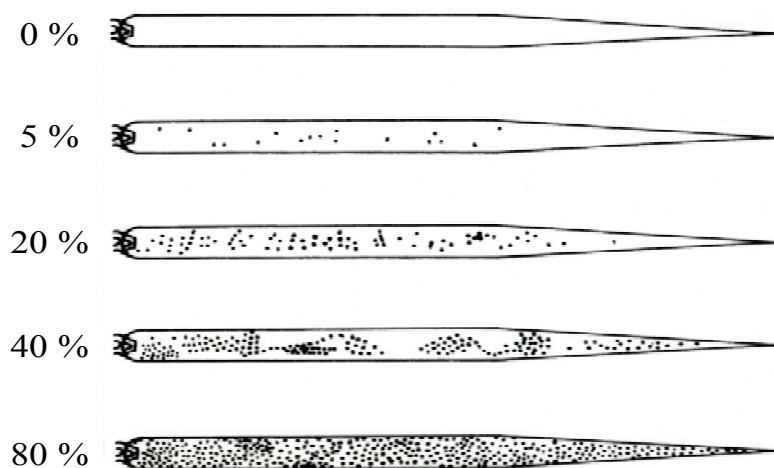


Abb. 5: Boniturhilfe, die zur visuellen Einschätzung des Befalls durch *R. collo-cygni* verwendet wurde. Die Prozentangaben links sind die jeweils nekrotisierte Blattfläche.

Bonitiert wurde immer die prozentual befallene Blattfläche. Um die Fläche besser einzuschätzen, wurde die Boniturskala aus Abb. 5 verwendet. Entwickelt wurde sie, um den Befall von Braun- und Zwergrost zu bonitieren. Da die Nekrosen von *R. collo-cygni* größer

als die von Braun- und Zwergrost sind, wurden die ursprünglichen prozentualen Befallswerte nach oben korrigiert.

2.5.2 Nachweis durch Auslegen auf sauren Wasseragar (nach Sachs)

Bei dieser Methode mussten die zu untersuchenden Blätter mit der Blattoberseite nach unten auf einen mit Essigessenz (Survig) auf pH 4 eingestellten 1,5 % Wasseragar ausgelegt werden. Bei Kontakt mit dem Wasseragar verfärbten sich die mit *R. collo-cygni* infizierten Blattregionen rot (Tschöpe et al. 2001). Zur Überprüfung wurden die angefärbten Blattregionen unter dem Binokular (Leica Wild M, Planapo) bei 60- bis 100facher Vergrößerung nach Konidienträgern untersucht. Erst das Vorhandensein der Konidienträger war der sichere Nachweis für *R. collo-cygni*. Die Befallsintensität wurde in Prozent befallener Blattfläche gemessen.

2.5.3 DAS-ELISA

Die gewählte Analysemethode sollte neben einer qualitativen Aussage auch eine quantitative Aussage ermöglichen. Dadurch sollten Rückschlüsse auf die durch *R.collo-cygni* befallene Blattfläche ermöglicht werden. Darüber hinaus sollte sie in einem überschaubaren Zeitraum und kostenmäßig etablierbar sein. In der Vergangenheit wurden zahlreiche ELISA-Nachweise am Institut entwickelt und etabliert, die diese Anforderungen erfüllten. Aus diesem Grund wurde der DAS-ELISA entwickelt.

2.5.3.1 Funktionsweise des DAS-ELISA

Am Anfang werden bei einem DAS-ELISA spezifische für das zu analysierende Antigen hergestellte Antikörper an die Wände einer Mikrotiterplatte gebunden (Abb. 6). Die danach noch offenen Bindungsstellen an der Mikrotiterplattenwand werden mit Rinderseumalbumin abgesättigt (geblockt), so dass keine offenen Bindungsstellen mehr an der Mikrotiterplatte vorhanden sind. Im nächsten Arbeitsschritt wird das Antigen, die Probe, aufgetragen. Das Antigen bindet an die spezifischen Antikörper an der Mikrotiterplattenwand (Abb. 6) und wird dadurch beim anschließenden Waschen nicht mit ausgewaschen. Antigen aus der Probe, das nicht auf die bereits gebundenen Antikörper passt, wird ausgewaschen. Im nächsten Arbeitsschritt werden für das Antigen spezifische Antikörper, an die

bereits Biotin gebunden ist, in die Kavität gegeben. Diese Antigen-Biotin-Komplexe binden an die bereits gebundenen Antikörper (Abb. 6). Überschüssiges Antigen wird ausgewaschen. Das Biotin dient als Bindungsstelle für die Streptavidin-alkalische Phosphatase, die im nächsten Arbeitsschritt in die Mikrotiterplatte eingefüllt wird (Abb. 6). Nachdem die Biotinbindungen damit abgesättigt sind, wird die überschüssige Streptavidin-alkalische Phosphatase ausgewaschen. Im letzten Arbeitsschritt wird Polyvenylpyrrolidone in die Kavitäten der Mikrotiterplatte eingefüllt (Abb. 6). Die Streptavidin-alkalische Phosphatase spaltet von dieser Nitrophenol ab, das die Lösung gelb färbt (Abb. 6). Die Geschwindigkeit, in der die Gelbfärbung zunimmt, korreliert mit den gebundenen Antikörpern an der Mikrotiterplatte. Diese wiederum korreliert mit der Antikörperkonzentration in der Probe. Dadurch ist neben einer qualitativen Aussage auch eine quantitative Aussage möglich.

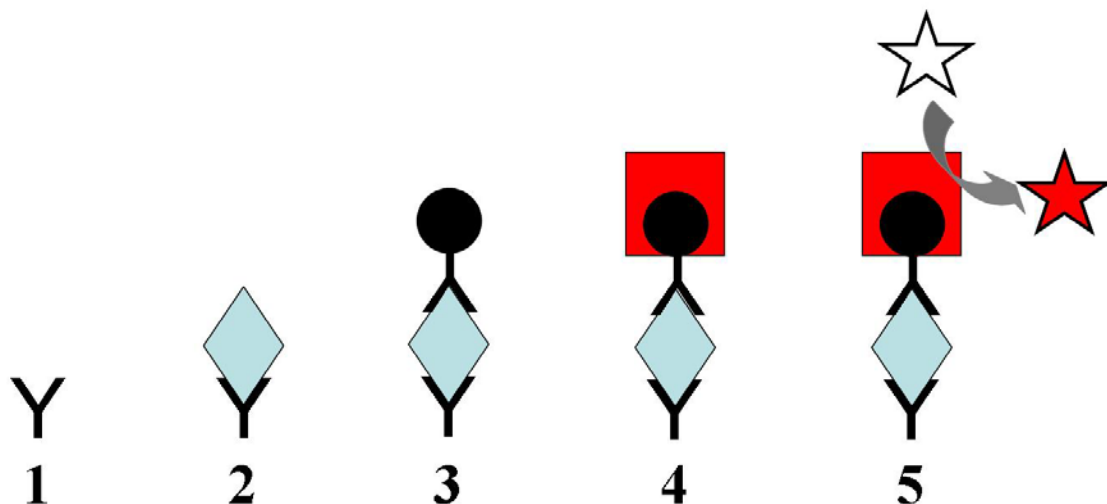


Abb. 6: Schematische Darstellung des DAS-ELISA-Arbeitsprinzips. (1) Antikörper werden an die Wandung gebunden. (2) An die gebundenen Antikörper bindet Antigen. (3) An das gebundene Antigen wird ein Antikörper-Biotin-Komplex gebunden. (4) Streptavidin-alkalische Phosphatase bindet an den Antikörper-Biotin-Komplex. (5) Streptavidin-alkalische Phosphatase spaltet Nitrophenol von Polyvenylpyrrolidone ab.

2.5.3.2 Antigenproduktion und -gewinnung

Die Antigenproduktion wurde in zwei Flüssignährmedien durchgeführt: PDB (Scharlau, 02-483; 27 g/l) und CzD-M (Scharlau, 2-051; 33,5 g/l), das mit 5g/l tryptisch verdaulichem Pepton (Merk, 7213) und 40 g/l D(+)-Glucose-Monohydrat (Merk, 8342) angereichert wurde. Die Isolate 010602, 021102, 100703 und 120803 dienen zum Animpfen der 100 ml Erlenmeyerkolben (Weithals). Die Inkubation erfolgte 14 Tage bei 18°C, NUV-Licht

(Phillips LTD 36W80) auf einem Schütteltisch bei 100 rpm. Eine mit dem Kulturmedium bestrichene GSA-Platte diente dem Ausschluss von Kontaminationen.

Das Pilzmycel wurde durch Abnutschen vom Kulturfiltrat getrennt. Unter Verwendung von flüssigem Stickstoff konnte das Pilzmycel im gefrorenen Zustand gemörsert und aufgeschlossen werden. Dieses Pulver wurde zusammen mit PPK-Puffer bei 20000xg für 20 Minuten zentrifugiert (Sorvall, Evulotion RC). Der Überstand wurde abgenommen und getrennt gesammelt. Anschließend wurde zur höheren Ausbeute das Pellet erneut mit PPK-Puffer aufgenommen und erneut für 20 Minuten bei 20000xg zentrifugiert. Dieser zweite Überstand wurde ebenfalls vorsichtig abpipettiert, getrennt gelagert und später zum Einstellen der Proteindichte verwendet.

Die Proteinbestimmung erfolgte nach Bradford (1976). Als Standard diente Rinderserumalbumin Fraktion V (Merk, 12018). Der Test erfolgte in Mikrotiterplatten mit 350 µl Kavitäten (Costa, 3595). In jede Kavität wurden 20 µl Probe bzw. Proteinstandard in Konzentrationsstufen zwischen 0,02-0,12 mg/ml und jeweils 300 µl Bradford-Reagenz pipettiert. Die Extinktion des Protein-Farbstoffkomplexes erfolgte nach 10 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur in einem Mehrstrahlphotometer (Spectra, Fa. SLT Labinstruments, Österreich) bei 592 nm Messwellenlänge und 492 nm Referenzwellenlänge.

Um zur Zielkonzentration von 1,0 mg Protein/ml zu gelangen, musste der aus der ersten Zentrifugation gewonnene Überstand mit dem aus dem zweiten Zentrifugationsschritt gewonnenen Überstand verdünnt werden. Bis zur Injektion in die Tiere wurden die Proteinlösungen in 2-ml-Eppendorf-Reaktionsgefäße (Eppis) zu jeweils 2 ml aufgeteilt und bei -20°C eingefroren.

2.5.3.3 Immunisierung

Die Immunisierung erfolgte durch Mitarbeiter der Arbeitsgruppe von Herrn Dr. Vetten, Biologische Bundesanstalt, Institut für Viruskrankheiten der Pflanzen, Braunschweig (jetzt Julius-Kühn-Institut, JKI). Die Immunisierung erfolgte zu drei Terminen. Der erste Termin am 26.11.2003, der zweite am 04.12.2003 und der dritte am 11.12.2003. Den Tieren wurde jeweils 1,5 ml Proteinlösung, vermischt mit 1,5 ml Freudschen Adjuvans complete, injiziert. Eine Boosterimmunisierung erfolgte nicht.

Die Immunisierung erfolgte an vier Kaninchen gleichzeitig. Die Tiere 168 und 169 wurden mit dem Protein aus dem Kulturmedium PDB und die beiden Kaninchen 170 und 171 mit Protein aus dem Kulturmedium CzM+Pepton+Glukose immunisiert. Nach der letzten Injektion wurde den Tieren insgesamt neunmal Blut abgenommen. Die erste Blutabnahme war kurz nach der letzten Immunisierung am 16.12.2003. Die zweite Blutabnahme am 06. Januar 2004, die dritte Blutabnahme am 20. Januar, die vierte Blutabnahme am 03. Februar, die fünfte Blutabnahme am 17. Februar, die sechste Blutabnahme am 02. März, die siebte Blutabnahme am 16. März, die achte Blutabnahme am 30. März und die neunte und letzte Blutabnahme am 14. April 2004.

Für die Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Rohseren aus dem ersten Blutabnahmetermin vom 16.12.2003 verwendet. Die Abtrennung der Erythrozyten erfolgte direkt durch Mitarbeiter der BBA in Braunschweig. Die Lagerung bis zur Weiterverarbeitung im Institut in Göttingen erfolgte bei 4°C im Kühlraum.

2.5.3.4 Aufreinigung der Rohseren

Die Aufbereitung der Rohseren zur Gewinnung von gereinigten Antikörpern (IgG) erfolgte nach Schröder und Weidemann (1988) und Clark und Adams (1977). Dazu wurde 1 ml Rohserum mit 9 ml H₂O_{bidest} verdünnt. Um die Globuline zu fällen, wurden 10 ml gesättigte Ammoniumsulfatlösung (3,9M) tropfenweise und unter ständigem Rühren hinzugegeben und anschließend bei Zimmertemperatur eine Stunde inkubiert. Bei der anschließenden Zentrifugation (20 Minuten, 5000xg) entstand ein klarer Überstand, der verworfen wurde. Das Pellet wurde in ½ konz. phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung Puffer resuspendiert. Das Entsalzen mittels Dialyse (Visking, Fa.Serva, Ausschlussgrenze 12-19 kD) erfolgte im Kühlraum bei 4°C für 24 h gegen eisgekühlten ½ konz. PPK (600 ml) mit dreimaligem Pufferwechsel. Die weitere Reinigung der Immunglobuline erfolgte durch eine Ionenaustauschchromatographie. Zum Einsatz kam eine Glassäule (Macherey Nagel, 730172), die 5 cm hoch mit DEAE 52 Cellulose (Serva, 45059) gefüllt war. Vor dem Einsatz wurde die Glassäule mit der Cellulose zum Quellen über Nacht mit ½ konz. PPK-Puffer gefüllt. Um das Ausfließen der Cellulose aus den Säulen zu verhindern, wurde der Ausgang mit einem im Lieferumfang enthaltenen Filterplättchen verschlossen. Vor dem Einfüllen der behandelten Rohseren wurden die Säulen mit ½ konz. PPK-Puffer gespült. Nach dem Spülvorgang verblieb ausreichend PPK-Puffer, damit die Cellulose bedeckt war.

Anschließend wurde das dialysierte Globulin auf die Säulen gegeben und die unten auslaufende Lösung in Fraktionen von 2 ml getrennt aufgefangen.

Die Bestimmung des Globulingehalts erfolgte mittels Photometer (Spectronic 601, Milton Roy, USA) und Quarzküvette. Die Messung erfolgte bei 280 nm, wobei eine Extinktion von 1,45 einer IgG-Konzentration von 1 mg/ml entspricht (Schröder und Weidemann, 1988; Clark und Adams, 1977). Die Fraktionen mit Extinktionswerten über 1,4 wurden vereinigt und zur Zielextinktion $E_{280}=1,45$ mit $\frac{1}{2}$ konz. PPK-Puffer verdünnt. Die Lagerung erfolgte bei -20°C unverdünnt als Stammlösung oder in Aliquots zur laufenden Verwendung zu jeweils 100 μl Antikörpern und 100 μl Glycerin bei -20°C .

2.5.3.5 Biotinylierung der Antikörper

Die Biotinylierung der IgG erfolgte weitgehend nach der Methode von Bieber (1985). 1000 μl der gereinigten Antikörper wurden, um freie Aminverbindungen zu entfernen, in einem Eppendorfreaktionsgefäß, dessen Deckel ausgestanzt wurde und mit einer Membran (Viskong, Fa. Serva, Ausschlussgrenze 12-17 kD) verschlossen war, bei dreimaligem Pufferwechsel innerhalb 24 h, das letzte Mal über Nacht, gegen eisgekühlten Kopplungspuffer im Kühlraum bei 4°C dialysiert. Die eigentliche Biotinylierung wurde durch die Zugabe von 50 μl Biotinylierungsreagenz gestartet. Nach 30 min Reaktionszeit bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von 50 μl 1M Tris/HCL (0,121 g Tris/ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$), pH 7,4 gestoppt. Das Produkt wurde anschließend innerhalb 24 Stunden mit dreimaligem Salinenwechsel (0,85 % NaCl), das letzte Mal über Nacht, dialysiert. Die Lagerung erfolgte in Aliquots zu je 100 μl biotinylierten Antikörpern und 100 μl Glycerin bei -20°C .

2.5.3.6 Testen der Antikörperkonzentration

Die Empfindlichkeit der Nachweisreaktion wird durch die Konzentration der Antikörper und der biotinylierten Antikörper beeinflusst. Je höher beide konzentriert sind, desto schneller läuft die Reaktion ab. Desto empfindlicher ist die Reaktion aber auch gegenüber Störfaktoren. Ebenfalls muss berücksichtigt werden, dass beide (Antikörper und biotinylierte Antikörper) nicht in unendlicher Menge vorhanden sind. Daher war es notwendig, die Konzentration von beiden Antikörpern so einzustellen, dass die Reaktion eine ausreichende Empfindlichkeit hatte und gleichzeitig in einem unkritischen Zeitraum (1h) ablief.

Zur Bestimmung der optimalen Konzentration von Antikörpern und biotinylierten Antikörpern wurden folgende Konzentrationen von Antikörpern und biotinylierten Antikörpern getestet: 1:250; 1:500; 1:1000 und 1:2000. Dadurch ergab sich Plattenbelegung wie in Abb. 7 dargestellt.

			Antikörper-Konzentration												
			K		1:2000		1:1000		1:500		1:250		K	K	K
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Biotinylierte-Antikörper-Konzentration	1:250	A													
		B													
	1:500	C													
		D													
	1:1000	E													
		F													
	1:2000	G													
		H													

Abb. 7: Belegung der Mikrotiterplatte zur Optimierung der Antikörperkonzentration. In den Zeilen wurde die Konzentration der Biotinylierte-Antikörper variiert, in den Spalten die Konzentration der Antikörper.

Das Antigen wurde in die Spalten 3, 5, 7 und 9 einheitlich in jede Kavität mit 1000 ng/ml und 100 µl/Kavität aufgetragen. In die Spalten ohne Antigen (K) wurden jeweils 100 µl/Kavität PPK-Puffer aufgetragen.

2.5.3.7 Kreuzreaktionen

Um Kreuzreaktionen der Antikörper mit anderen Erregern auszuschließen, wurden die in Tabelle 2 aufgeführten Pathogene mit 1000 ng Protein/Kavität getestet.

Die Anzucht erfolgte bei allen Pilzen einheitlich über 14 Tage. Die anschließende Aufbereitung des Pilzmaterials erfolgte analog der Antigengenerproduktion und -aufarbeitung von *R. collo-cygni*, welches zur Immunisierung verwendet worden war.

Tab. 2: Auf Kreuzreaktion getestete Pilzisolat mit Quelle und Anzuchtmedium

Pilz	Quelle	Bezeichnung	Anzuchtmedium
<i>Drechslera teres</i>	Universität Göttingen	29	PDB
<i>Rhynchosporium secalis</i>	Syngenta Münchwilen AG	219	PDB
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	Universität Göttingen	31	PDB
<i>Fusarium culmorum</i>	Universität Göttingen	33	PDB
<i>Fusarium graminearum</i>	Universität Göttingen	FG06	PDB
<i>Microdochium nivale</i>	Universität Göttingen	GN200	PDB
<i>Botrytis cinerea</i>	Universität Göttingen	9	PDB
<i>Penicillium brevicompactum</i>	Universität Göttingen	Myk. Prak.	PDB
<i>Epicoccum purpurascens</i>	Universität Göttingen	32	PDB
<i>Alternaria alternata</i>	Universität Göttingen	3	OA
<i>Ascochyta pisi</i>	Universität Göttingen	5	PDB
<i>Cladosporium herbarum</i>	Universität Göttingen	16	PDB

PDB = Potato Dextrose Agar; OA = Oatmeal Agar

Um Kreuzreaktionen der Antikörper mit anderen Inhaltsstoffen der Proben auszuschließen, wurde folgendes Pflanzenmaterial getestet:

- frische, nicht infizierte Blätter,
- getrocknete, nicht infizierte Blätter,
- gefrorene, nicht infizierte Blätter,
- nicht infiziertes Stroh,
- nicht infizierte Ähren.

Um den Befall mit *R. collo-cygni* auszuschließen, wurden die Pflanzen im Gewächshaus angezogen.

Vor dem Trocknen wurden die Materialien mit einer Schere in ca. 1 cm lange Stücke geschnitten und anschließend bei Raumtemperatur getrocknet. Anschließend wurden die Blätter zu einem feinen Mehl vermahlen (IKA Labortechnik A10). Die Lagerung erfolgte bei Zimmertemperatur in 10-ml-Schnappdeckelgläsern (Glasgerätebau Ochs, 104522). Für den DAS-ELISA wurden 250 mg pro Probe in ein 50-ml-Schnappdeckelglas abgewogen und über Nacht im Kühlraum bei 4°C mit Extraktionspuffer extrahiert. Am folgenden Tag wurden 1000 µl der Lösung vorsichtig, ohne feste Bestandteile, in ein Eppendorf überführt, die Abtrennung der festen Bestandteile erfolgte bei 13000xg für 10 min in einer Zentrifu-

ge. Der Überstand wurde dann erneut in ein neues Eppendorfggefäß überführt. Die kurze Lagerung bis zur Verwendung erfolgte im Kühlraum bei 4°C ohne Licht.

2.5.3.8 Sensitivität und quantitative Überprüfung

Die Sensitivität des Nachweises ist in erster Linie von den Antikörpern abhängig. Ist der benötigte Antikörpertyp nicht ausreichend vorhanden oder sind Stoffe in der Antikörperlösung enthalten, die den Nachweis stören, dann ist der Nachweis nicht zu gebrauchen. Für eine quantitative Aussage ist es notwendig, dass die Intensität der Färbung, die durch die Substratumwandlung entsteht, mit der Antigenkonzentration proportional ansteigt. Um dies zu überprüfen, wurde die Färbung bei unterschiedlichen Antigenkonzentrationen gemessen. In diesem Arbeitsschritt wird gleichzeitig die Sensitivität des Nachweises überprüft. Als Standard diente die Proteinlösung, die für die Immunisierung der Kaninchen hergestellt wurde, dort aber nicht eingesetzt wurde.

2.6 Versuche unter kontrollierten Bedingungen

2.6.1 Keimtest auf Wasseragar

Das Inokulum wurde drei Wochen auf Gemüsesaftagarplatten bei 20°C und Dauer-NUV-Licht (Phillips LTD 36W80) inkubiert. Die Inokulation des mit Acanto, Streptomycin und Benzimidazol versetzten Wasseragars erfolgte mit einem sterilen Glaslaborsprüher. Das Inokulum bestand aus *R. collo-cygni* Inokulationsmedium mit einer Sporendichte von 2×10^5 der Isolate 01, 02 und 03. Anschließend wurden die Platten zur Inkubation bei 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40 °C in die Temperaturorgel (Rumed, Rubarth & Co. Hannover, Typ 4000) gestellt. Im Abstand von 4h, 8h, 12h, 24h und 48h nach der Inokulation wurden Petrischalen entnommen und unter dem Mikroskop der prozentuale Anteil gekeimter zu dem ungekeimter Sporen ausgezählt. Der Ansatz wurde zur statistischen Absicherung zweimal durchgeführt. Zur prozentualen Bestimmung der gekeimten Sporen wurden jeweils 50 Sporen in vier Wiederholungen ausgezählt.

2.6.2 Untersuchungen zur Keimung auf Blattsegmenten

Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 20 x 30 cm großen Schalen mit Löchern im Boden. Als Substrat wurde ein Gemisch von Komposterde, Torf und Sand (3:3:1) verwendet. Da die Verteilung der Pflanzen in der Schale für den Versuch unbedeutend war, wurden die Körner (Sorte Barke) für die Aussaat gleichmäßig über die Schale verteilt und mit einer ca. 1 cm dicken Substratschicht abgedeckt. Während der zehntägigen Wachstumsphase erfolgten keine Düngung und keine Pflanzenschutzmaßnahmen. Die ca. 2 cm langen Blattsegmente wurden aus den ersten Laubblättern der Pflanzen geschnitten und mit der Blattoberseite nach unten auf 0,8% Wasseragar versetzt mit 10 ppm Acanto, 200 ppm Streptomycin und 30 ppm Benzimidazol gelegt.

Das Inokulum bestand aus *R. collo-cygni*-Inokulationsmedium mit einer Sporendichte von 2×10^5 aus den Isolaten 01, 02 und 03. Die Anzucht des Inokulums erfolgte zuvor auf Gemüsesaft-Agarplatten, die drei Wochen unter Dauer-NUV-Licht (Phillips LTD 36W80) bei 20°C inkubiert wurden. Die Inokulation erfolgte mit einem Glaslaborsprüher, der zuvor sterilisiert worden war. Die Inkubation erfolgte bei 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 oder 40°C in Thermostaten (Rumed, Rubarth & Co. Hannover, Typ 4000). Sechs Tage nach der Inokulation wurden die Blattsegmente entnommen und zum Entfärben auf ein Filterpapier in eine Glaspetrischale mit ACE-Lösung gegeben. Sobald die Blattsegmente entfärbt waren, wurde mit dem Mikroskopieren begonnen. Zur statistischen Absicherung wurde der Versuch zweimal durchgeführt. Es wurden jeweils 50 Sporen auf 4 Wiederholungen und zu zwei Versuchsansätzen ausgezählt.

2.6.3 Untersuchung von Sporenkeimung und Nekrotisierung an Blattsegmenten in Abhängigkeit der Temperatur

Die Anzucht der Pflanzen erfolgte auf dem gleichen Weg wie bei den Pflanzen, aus denen die Blattsegmente für die Keimtests gewonnen wurden. Mit 14 Tagen wurden die Pflanzen geerntet und aus den ersten Laubblättern die Blattsegmente für die Versuche geschnitten. Die ca. 2 cm langen Blattstücke wurden mit der Oberfläche nach unten auf 0,8% Wasseragar mit 10 ppm Acanto, 30 ppm Benzimidazol und 200 ppm Streptomycin gelegt. Die Inokulation erfolgte mit den Isolaten 01, 02, und 03 mit einer Sporendichte von 1×10^5 und *R. collo-cygni*-Inokulationsmedium. Die Inkubation erfolgte bei 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 und 40°C. Die Temperaturstufen 8, 16, 24, 32 und 40°C waren zwischen 8 und 22 $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ beleuchtet. Alle anderen Temperaturstufen wurden zwischen 6 und 11 $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ belichtet.

Nach 14 Tagen wurde vor dem Entfärben der Blätter die nekrotisierte Blattfläche bonitiert. Anschließend wurden die Blätter mit ACE-Lösung entfärbt und die gekeimten Sporen ausgezählt. Der Versuch wurde in einem Ansatz vierfach wiederholt. Um den Versuch statistisch auszuwerten, wurden 40 Blattsegmente pro Variante auf nekrotisierte Blattfläche bzw. 200 Sporen pro Variante ausgezählt.

2.6.4 Untersuchungen zur Inkubationszeit und Lichtabhängigkeit

Um einzelne Pflanzen für den Versuch zu bekommen, wurde pro Topf jeweils ein Samenkorn ausgesät. Als Substrat diente ein Gemisch von drei Teilen Komposterde, drei Teilen Torf und einem Teil Sand. Nach 14 Tagen waren die Pflanzen in BBCH 12 und konnten inokuliert werden. Die Inokulation wurde mit einem vorher autoklavierten Laborsprüher durchgeführt. Das Inokulum wurde drei Wochen auf GSA bei Dauer- NUV (Phillips LTD 36W80) bei 20°C angezogen. Als Inokulationsmedium diente *R. collo-cygni*-Inokulationsmedium. Die Inkubation erfolgte gemäß dem Versuchsaufbau unterschiedlich lange unter Kunststoffhauben, die bis auf in der Variante „3 dunkel“ lichtdurchlässig waren. Die Temperatur war während des gesamten Versuchs auf Tageswerte von 20°C und Nachtwerte von 16°C eingestellt. Während der 14 Stunden Tagphase wurden Lichtintensitäten von 115 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ erreicht. Während des Versuches wurden die Pflanzen nicht gedüngt. Die Bonitur der nekrotisierten Blattfläche erfolgte 14 Tage nach Inokulation. Bonitiert wurden jeweils 10 Keimblätter und 10-mal das erste Laubblatt.

2.6.5 Untersuchung der Anfälligkeit in unterschiedlichen Pflanzenentwicklungsstadien

Jeweils ein Samenkorn (Sorten Barke und Neruda) wurde in 9 x 9 cm große Kunststofföpfe ca. ein bis zwei cm tief ausgesät. Als Substrat diente ein Gemisch von drei Teilen Komposterde, drei Teilen Torf und einem Teil Sand. Um Pflanzen in den unterschiedlichen BBCH-Stadien zu einem Inokulationstermin zu bekommen, wurde zu unterschiedlichen Terminen ausgesät (Tab. 3). Die Anzucht wurde im Gewächshaus bei 20°C und 14 h Licht durchgeführt. Wenn notwendig, wurde zusätzlich zum Sonnenlicht Kunstlicht zugeschaltet.

Tab. 3: Aussaattermin und Entwicklungsstadium zum Zeitpunkt der Inokulation der Pflanzen zur Überprüfung des Einflusses des Entwicklungsstadiums der Pflanzen

Aussaatdatum	BBCH Stadium zur Inokulation
05.07.2005	12
12.07.2005	21/30
19.07.2005	31/32
26.07.2005	33/34
02.08.2005	34/37
11.08.2005	37/39
16.08.2005	47/49
06.09.2005	51/55

Das Inokulum setzte sich aus den vier Isolaten 01, 02, 21 und 31 zusammen und wurde auf Gemüsesaftagar bei 20°C und Dauer-NUV-Licht (Phillips LTD 36W80) für 14 Tage angezogen.

Inokuliert wurden alle Aussaattermine am 22.09.2005 mit *R. collo-cygni*-Inokulationsmedium mit einer Sporendichte von 2×10^5 . Die anschließende Inkubation erfolgte für 5 Tage unter Kunststoffhauben (Breite x Tiefe x Höhe: 32 x 50 x 30; ggf. konnten einzelne Elemente übereinander gestapelt werden) für 14 h bei 20°C mit Licht und 10 Stunden bei 18°C ohne Licht. Die Kunststoffhauben hielten die Luftfeuchtigkeit so hoch, dass die Blätter ununterbrochen feucht waren. Nach 5 Tagen wurden die Hauben entfernt und die Pflanzen wurden weitere 9 Tage jeweils 10 h bei 20°C und 60% rel. Luftfeuchte und 10 h bei 18°C und 80% Luftfeuchte inkubiert. Das eingesetzte Licht stammte von Neonröhren der Marke Phillips (Philips Master TL 5 HO54/840) und war auf Topfhöhe noch $115 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$, 20 cm über den Töpfen $130 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ und auf Ährenhöhe $210 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ stark. Vierzehn Tage nach der Inokulation wurden die Pflanzen bonitiert. Dabei wurde auf den obersten drei Blatttagen die nekrotisierte und vergilbte Blattfläche in Prozent befallener Blattfläche aufgenommen.

Zur statistischen Auswertung wurde der Versuch in zwei Ansätzen durchgeführt. In beiden Ansätzen war jede Variante mit 10 Pflanzen plus 10 Kontrollpflanzen enthalten. Somit konnten 20 Pflanzen pro Variante ausgewertet werden.

2.7 Freilandversuche

2.7.1 Beobachtung von Befallsverlauf und Sporenflug

Um den Befallsverlauf an Pflanzen zu beschreiben, wurden 2004 in Lenglern (Niedersachsen) in wöchentlichen Abständen Pflanzenproben gesammelt, im Labor visuell bonitiert und anschließend mit dem DAS-ELISA untersucht. Zu jedem Probetermin wurden 20 Einzelpflanzen untersucht. Gleichzeitig wurden Witterungsbedingungen und der Sporenflug aufgezeichnet. Der Niederschlag wurde direkt am Schlag mit einem Regenschirm erfasst, alle anderen Daten (Temperatur und Luftfeuchtigkeit) stammen vom Deutschen Wetterdienst (Station 444, Göttingen). Für den Sporenflug wurden Petrischalen in eigens dafür konstruierte Vorrichtungen aufgehängt (Abb. 8) und täglich gewechselt. Als Nährmedium wurde Gemüsesaftagar mit 10 ppm Acanto und 200 ppm Streptomycin versetzt. Damit die Platten nicht austrockneten, mussten die Petrischalen beim Gießen fast vollständig mit Nährmedium aufgefüllt werden. Nachdem die Platten vom Feld kamen, wurden sie für eine Woche bei Dauer-NUV-Licht und 20°C inkubiert. Die Auswertung erfolgte visuell und mikroskopisch.



Abb. 8: Verwendete Sporenfalle im Versuch. Eingesetztes Nährmedium war GSA+Acanto+Benzimidazol. Die gefüllte Petrischale hängt vor Regen geschützt ca. 30 cm über den Gerstenähren, die Höhe wurde laufend angepasst. Für jede Windrichtung wurden zwei Petrischalen ausgerichtet.

2.7.2 Untersuchungen zur Überdauerung auf Stroh

Um zu überprüfen, wie lange Sporen von Stroh unter Freilandbedingungen infektiös sind, wurde stark befallenes Stroh in Freilandparzellen verteilt und oberflächlich in den Boden eingearbeitet. In regelmäßigen Abständen wurden Strohproben im Feld gesammelt. Eine Probe bestand aus mindestens 10 Halmstücken und 10 Blattresten. Im Labor wurde versucht von den Strohresten *R. collo-cygni* zu isolieren. Anschließend wurden die Strohreste in einer feuchten Box ausgelegt. Die Proben wurden zum Abschluss unter dem Mikroskop auf Wachstum überprüft.

2.7.3 Monitoring der Verbreitung von *R. collo-cygni* innerhalb Deutschlands

Unspezifische Blattflecken und Sonnenbrand-Blattflecken werden sehr stark in Süddeutschland diskutiert. Inwieweit diese Blattflecken durch *R. collo-cygni* verursacht werden und wie häufig ihr Auftreten ist, sollte durch ein Monitoring festgestellt werden. Die Verbreitung zwischen 2003 und 2005 wurde unterschiedlich ermittelt. In 2003 und 2004 wurde auf ein Netz von Betrieben zurückgegriffen, die für Syngenta Agro GmbH Schaderreger an Getreide visuell bonitieren (Gerste aktuell). Um eine genaue Diagnose sicherzustellen, wurden diese Betriebe jährlich einmal geschult. Die von diesen Servicebetrieben erhobenen Daten dienen als Grundlage für einen Informationsdienst für Berater und Landwirte. Im letzten Monitoringjahr (2005) stammten die Proben von Versuchsstandorten der Pflanzenschutzindustrie und des Bundessortenamtes.

Für das erste Monitoringjahr sammelten die Servicebetriebe pro Probe 20 einzelne Halme aus Nullparzellen in Praxisschlägen und schickten diese nach Göttingen in das Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz ein. Als Probentermin war zu Beginn BBCH 59 festgelegt. Nachdem nur negative Proben eingetroffen waren, wurde der Probentermin auf BBCH 89 verschoben. Die Auswertung erfolgte visuell (befallene Blattfläche in %) nach Blattetagen getrennt. Das zweite Monitoringjahr, 2004, verlief ähnlich wie 2003. Anders als 2003 wurde als Probentermin BBCH 75 festgelegt. Aus den Fungizidversuchen aus 2003 war die nicht ausreichende Wirkung der in Gerste zugelassenen Produkte bekannt. Daher wurde darauf verzichtet, die Proben aus Nullparzellen zu sammeln, die Proben wurden stattdessen in fungizidbehandelten Praxisschlägen gesammelt. Der Umfang der Proben wurde beibehalten. Die Analyse der eingeschickten Proben erfolgte visuell (Prozent befallene Blattfläche) und mit dem DAS-ELISA.

Das letzte Jahr des Monitorings, 2005, wurde nicht mehr durch die Servicebetriebe von Syngenta Agro unterstützt. In diesem Jahr wurden nur Proben von Prüfstandorten des Bundessortenamtes und Versuchsstandorte von Syngenta Agro GmbH, BASF AG, Bayer Crop Science und Stähler Chemie in das Monitoring einbezogen. Als einheitlicher Proben-termin wurde der Termin BBCH 75 beibehalten. Der Umfang der Proben wurde mit jeweils 20 Einzelpflanzen beibehalten. Die Analyse erfolgte visuell und mittels DAS-ELISA.

2.7.4 Auswirkungen von *R. collo-cygni* auf Ertrag und Korngrößenverteilung

Um die Ertragsbeeinflussung und Verschiebungen der Korngrößenverteilung von *R. collo-cygni* zu messen, wurde 2004 ein randomisierter Freilandversuch als Blockanlage in vierfacher Wiederholung in Lenglern, 10 km nordwestlich von Göttingen angelegt. Die Parzellengröße betrug 2,2 m x 7,8 m. Als Versuchssorte wurde die zweizeilige, braufähige Wintergerste Jessica eingesetzt. Um zu einer Befalls-Verlust-Relation zu gelangen, mussten unterschiedliche Befallsintensitäten eingestellt werden. Dies erfolgte durch die Applikation von Bravo 500 zu unterschiedlichen Pflanzenentwicklungsstadien und in abgestuften Mengen. Dadurch ergab sich der Versuchsplan wie in Tab. 4 dargestellt.

Tab. 4: Versuchsvarianten zur Einstellung unterschiedlicher Befallsintensitäten im Feldversuch Lenglern 2004 (Sorte Jessica)

BBCH	33	37/39	49/51	59/61
Datum	22.04.2004	03.05.2004	12.05.2004	18.05.2004
Vg. 1	Kontrolle			
Vg. 2	2,4 l/ha Bravo			
Vg. 3	2 l/ha Bravo			
Vg. 4	1,5 l/ha Bravo			
Vg. 5	1 l/ha Bravo			
Vg. 6		2 l/ha Bravo		
Vg. 7		1,5 l/ha Bravo		
Vg. 8		1 l/ha Bravo		
Vg. 9			2 l/ha Bravo	
Vg. 10			1,5 l/ha Bravo	
Vg. 11			1 l/ha Bravo	
Vg. 12			0,5 l/ha Bravo	
Vg. 13				1 l/ha Bravo
Vg. 14				0,5 l/ha Bravo
Vg. 15	Kontrolle			

Chlorthalonil, der Wirkstoff in Bravo 500, besitzt als Kontaktwirkstoff den Vorteil, nicht oder nur sehr begrenzt in die Pflanze einzudringen und nicht den Metabolismus der Pflanze zu beeinflussen. Es sind keine physiologischen Effekte von dem Wirkstoff oder dem Produkt bekannt.

Der Befall mit Schaderregern wurde durch Bonituren am 01.06.2004 und 21.06.2004 bewertet. Am 22.06.2004 wurden Proben für den DAS-ELISA gesammelt. Die visuelle Bonitur erfolgte vor Ort in jeder Parzelle an fünf Stellen in Prozent befallener Blattfläche auf den oberen intakten Blattetagen. Für jede Blattetage wurden die Daten einzeln erhoben. Es wurde dabei zwischen den an Gerste vorkommenden Schadursachen *Erysiphe graminis* (f.sp. *hordei*), *Drechslera teres*, PLS (physiological leaf spots), *R. collo-cygni*, *Rhynchosporium secalis* und *Puccinia* spp. differenziert.

Aus dem Erntegut wurden Ertrag und Korngrößenverteilung als Parameter erhoben.

2.7.5 Untersuchungen zur Anfälligkeit zweizeiliger und mehrzeiliger Sorten

Die Sortenunterschiede wurden von 2003 bis 2004 auf unterschiedliche Weise untersucht. Als Standort stand die Versuchsfläche von Pajbergfonden in Lenglern und in 2004 zusätzlich die Versuchsfläche von Lochow Petkus in Wetze zur Verfügung. An beiden Standorten wurden die Sorten in einfacher Wiederholung ausgedrillt.

In 2003 wurde der Befall nur in Lenglern visuell (nekrotisierte Blattfläche) durch eine Exaktbonitur im Labor erhoben. Hierzu wurden 20 Fahnenblätter (F) und 20 Blätter aus der Etage darunter (F-1), verteilt über die Parzelle, gesammelt. Der erste Probenentwurf war am 30. Mai, BBCH 71-85. Der zweite Probenentwurf am 12. Juni, BBCH 75-89.

Durch zwei Feldbonituren und eine DAS-ELISA-Analyse wurde der Befall in 2004 an den Standorten Lenglern und Wetze aufgenommen. Die visuellen Feldbonituren erfolgten am 8. (BBCH 59-71) und 16. Juni (BBCH 73-85). Dabei wurde jede Parzelle an fünf Stellen aufgeschlagen und die mit *R. collo-cygni* befallene Blattfläche getrennt nach Blattetagen visuell geschätzt. Die Proben für den DAS-ELISA wurden am 23. Juni zu BBCH 83-89 gesammelt. Jeweils 20 Einzelpflanzen bildeten eine Probe. Nach dem Trocknen bei Raumtemperatur wurden die Blätter immunologisch untersucht.

2.7.6 Untersuchungen zu Möglichkeiten der chemischen Bekämpfung

Um die Möglichkeiten und die Terminierung der chemischen Bekämpfung zu testen, wurden in 2003 ein und in 2004 zwei Freilandversuche als randomisierte Blockanlagen mit vierfacher Wiederholung in Lenglern angelegt. Die Parzellengröße betrug in allen Versuchen 2,2 m x 7,8 m. In 2003 wurde die Sorte Fanziska, in 2004 die Sorte Candesse für die Versuche verwendet. Die Versuche standen jedes Jahr auf einem anderen Schlag.

Im ersten Versuchsjahr (2003) sollten die wichtigsten Wirkstoffgruppen (Morpholine, Azole und Strobilurine) auf ihre Wirkung gegen *R. collo-cygni* getestet werden. Zusätzlich sollten erste Daten zum optimalen Bekämpfungszeitpunkt von *R. collo-cygni* gesammelt werden. Um den Versuch möglichst praxisnah zu gestalten, wurden zu diesem Zweck auf dem Markt verfügbare Fertigprodukte eingesetzt. Ein weiterer wichtiger Grund für die Verwendung von Fertigprodukten war die Formulierung der Wirkstoffe in einem Produkt. Erst Formulierungshilfsstoffe ermöglichen es den Wirkstoffen, an ihren Wirkort zu gelangen oder den Wirkstoff in Wasser zu lösen. In der Wirkung macht es einen großen Unterschied, ob ein Fertigprodukt oder Aktivsubstanz verwendet wird. Im Versuch wurden eingesetzt: Acanto (250 g/l Picoxystrobin); BUC 10600 F (Versuchsprodukt BASF); Caramba (60 g/l Metconazol); Corbel (750 g/l Fenpropimorph); Fandango (100g/l Fluoxastrobin + 100g/l Prothioconazol); Input (300g/l Spiroxamine + 160g/l Prothioconazol); Opera (50 g/l Epoxiconazol + 133 g/l Pyraclostrobin); SYD 21424 F (Versuchsprodukt Syngenta Agro GmbH); SYD 21520 F (Versuchsprodukt Syngenta Agro GmbH) und Unix (750 g/kg Cyprodinil). Die Zusammensetzung der Nummernprodukte ist nicht bekannt.

Tab. 5: Versuchsplan und ausgebrachte Wirkstoffmengen (AI) Fungizidversuch Lenglern 2003, Eingesetzte Sorte: Franziska

Vgl.	BBCH 33	BBCH 37/39	BBCH 49/51	Ausgebrachte AI Mengen / ha
1		unbehandelte Kontrolle		-
2		1,25l/ha Fandango		125g Fluoxastrobin 125g Prothioconazol
3		0,8l/ha Fandango		80g Fluoxastrobin 80g Prothioconazol
4		1,25l/ha Input		375g Spiroxamine 200g Prothioconazol
5		1,5l/ha Opera		75 g Epoxiconazol 200 g Pyraclostrobin
6		1,5l/ha BUC 10600F		Versuchsprodukt BASF
7		2,0l/ha SYD 21424F		Versuchsprodukt Syngenta Agro GmbH
8		2,0l/ha SYD 21520F		Versuchsprodukt Syngenta Agro GmbH
9		1,0l/ha Corbel		750 g Fenpropimorph
10		1,5l/ha Caramba		90 g Metconazol
11		1,0l/ha Acanto		250 g Picoxystrobin
12	1,5l/ha Opera			75 g Epoxiconazol 200 g Pyraclostrobin
13			1,5l/ha Opera	75 g Epoxiconazol 200 g Pyraclostrobin
14		1,0l/ha +1,0kg/ha Acanto + Unix		250 g Picoxystrobin 750 g Cyprodinil

Der Befall wurde 2003 mittels Bonitur ermittelt. Dazu wurden an zehn unterschiedlichen Stellen in der Parzelle jeweils zwei Halme entnommen. Getrennt nach Blatttagen wurde im Labor die prozentuale befallene Blattfläche auf den oberen intakten Blatttagen festgestellt.

In 2004 wurden zwei Fungizidversuche mit unterschiedlicher Zielstellung angelegt. Im ersten Versuch wurde die Fragestellung vom Vorjahr mit anderen Wirkstoffen wieder aufgegriffen und zusätzlich unterschiedliche Formulierungen und Produkte getestet.

Tab. 6: Versuchsplan und ausgebrachte Wirkstoffmengen (AI) Fungizidversuch Lenglern 2004, Eingesetzte Sorte: Candesse

Vgl.	BBCH 33	BBCH 37/39	BBCH 49/51	Ausgebrachte AI Mengen / ha
1		unbehandelte Kontrolle		-
2		1,25l/ha Fandango		125g Fluoxastrobin 125g Prothioconazol
3		0,5l/ha Proline		125 g/l Prothioconazol
4		1,0l/ha Amistar		250 g/l Azoxystrobin
5		2,0l/ha Bravo		1000 g/l Chlorthalonil
6		1,0l/ha + 2,0l/ha Amistar + Bravo		250 g/l Azoxystrobin 1000 g/l Chlorthalonil
7		2,5l/ha Amistar Opti		250 g/l Azoxystrobin 1000 g/l Chlorthalonil
8		0,6l/ha Opus		75 g/l Epoxiconazol
9		1,5l/ha Opera		75 g Epoxiconazol 200 g Pyraclostrobin
10		0,8l/ha Harvesan		100 g Carbendazim 200 g Flusilazol
11		0,8l/ha Stratego		100 g Propiconazol 150 g Trifloxystrobin
12		1,5l/ha BUC 10600F		Versuchsprodukt BASF
13		1,75l/ha BUC 07300F		Versuchsprodukt BASF
14		1,0l/ha BUC 15500F		Versuchsprodukt BASF

Im Versuch wurden eingesetzt: Amistar (250 g/l Azoxystrobin); Amistar Opti (400 g/l Chlorthalonil + 80 g/l Azoxystrobin); Bravo (500 g/l Chlorthalonil); Fandango (100g/l Fluoxastrobin + 100g/l Prothioconazol); Harvesan (125 g/l Carbendazim + 250 g/l Flusilazol); Opera (50 g/l Epoxiconazol + 133 g/l Pyraclostrobin); Opus (125 g/l Epoxiconazol); Proline (250 g/l Prothioconazol) und Stratego (125 g/l Propiconazol + 187,5 g/l Trifloxystrobin). Der Versuchsplan ist in Tabelle 6 dargestellt.

Im zweiten Fungizidversuch in 2004 sollte die Fragestellung für den optimalen Bekämpfungszeitpunkt und Aufwandmengenreduzierungen intensiver behandelt werden. Hierzu wurden zwei Produkte aus der Praxis (Fandango und Opera) zu den Entwicklungsstadien BBCH 33, BBCH 37/39 und BBCH 49/51 ausgebracht. In weiteren Varianten wurden

Fandango, Opera, Input, Amistar Opti und Stratego auf häufig in der Praxis angewandte Aufwandmengen reduziert. Der dazugehörige Versuchsplan ist in Tabelle 7 dargestellt.

Tab. 7: Versuchsplan und ausgebrachte Wirkstoffmengen (AI) Wirkstoffgruppen; Versuchsstandort Lenglerm 2004, Eingesetzte Sorte: Candessee

Vgl.	BBCH 33	BBCH 37/39	BBCH 49/51	Ausgebrachte AI Mengen pro ha
1		unbehandelte Kontrolle		-
2	1,25l/ha Fandango			125g Fluoxastrobin 125g Prothioconazol
3		1,25l/ha Fandango		125g Fluoxastrobin 125g Prothioconazol
4			1,25l/ha Fandango	125g Fluoxastrobin 125g Prothioconazol
5	1,5l/ha Opera			75 g Epoxiconazol 200 g Pyraclostrobin
6		1,5l/ha Opera		75 g Epoxiconazol 200 g Pyraclostrobin
7			1,5l/ha Opera	75 g Epoxiconazol 200 g Pyraclostrobin
8		1,0l/ha Fandango		100g Fluoxastrobin 100g Prothioconazol
9		1,25l/ha Opera		62,5 g Epoxiconazol 166,25 g Pyraclostrobin
10		1,25l/ha Input		375g Spiroxamine 200g Prothioconazol
11		1,0l/ha Input		300 Spiroxamine 160g Prothioconazol
12		2,0l/ha Amistar Opti		800 g Chlorthalonil 160 g Azoxystrobin
13		0,5l/ha + 0,5l/ha Amistar + Harvesan		125 g Azoxystrobin 62,5 g Carbendazim 125 g Flusilazol
14		0,6l/ha Stratego		75 g Propiconazol 112,5 g/l Trifloxystrobin

Im Versuch wurden eingesetzt: Amistar (250 g/l Azoxystrobin); Amistar Opti (400 g/l Chlorthalonil + 80 g/l Azoxystrobin); Fandango (100g/l Fluoxastrobin + 100g/l Prothioconazol); Harvesan (125 g/l Carbendazim + 250 g/l Flusilazol); Input (300g/l Spiroxamine + 160g/l Prothioconazol); Opera (50 g/l Epoxiconazol + 133 g/l Pyraclostrobin); Stratego (125 g/l Propiconazol + 187,5 g/l Trifloxystrobin). Der dazugehörige Versuchsplan ist in Tabelle 7 dargestellt.

Der Befall wurde in beiden Versuchen durch eine Freilandbonitur und Untersuchungen mit dem DAS-ELISA im Labor ermittelt. Die Bonitur erfolgte getrennt nach Nekroseursache auf den oberen intakten Blattetagen an fünf unterschiedlichen Stellen in der Parzelle als prozentuale befallene Blattfläche. Der Befall wurde durch diese Methode am 01. Juni, 07. Juni, 17. Juni und am 21. Juni aufgenommen. Die Proben für den DAS-ELISA wurden zu BBCH 87/89 am 22. Juni gesammelt. Dazu wurden jeweils 20 Fahnenblätter an 20 unterschiedlichen Stellen in der Parzelle gesammelt.

3 Ergebnisse

3.1 *In vitro* Kultivierung von *R. collo-cygni*

3.1.1 Dauerkulturen

Die drei Isolate 010602, 021102 und 031102 wurden einheitlich am 7. Juli 2003 eingefroren. Der erste Kontrolltermin war am 10. November 2003, der zweite am 12. Juli 2004 und der dritte Kontrolltermin am 6. Dezember 2004 (Tab. 8). Alle drei Testisolate keimten an den Kontrollterminen mit zeitlicher Verzögerung gut aus. Bei der anschließenden Kultivierung gab es keine visuellen Unterschiede zu den auf GSA kultivierten Isolat. Es wurden zu jedem Termin jeweils drei Reaktionsgefäße von jedem Isoalt getestet.

Tab. 8: Keimung nach Gefrierlagerung (-80°C) zu drei unterschiedlichen Auftauterminen. Alle Isolate wurden am 7. Juli 2003 eingefroren.

Isolat	Auftaudatum	Keimung	Auftaudatum	Keimung	Auftaudatum	Keimung
010603	10.11.03	gut	12.07.2004	gut	06.12.2004	gut
021102	10.11.03	gut	12.07.2004	gut	06.12.2004	gut
031102	10.11.03	gut	12.07.2004	gut	06.12.2004	gut

3.2 Nachweismethoden

3.2.1 Visuelle Differenzierung von Blattnekrosen

Die Differenzierung von Blattflecken an Gerste ist aufgrund der Vielfalt der Nekrosenursachen sehr schwierig. Außer biotischen Ursachen gibt es eine Reihe von abiotischen Ursachen für nekrotisierte Blattfläche. Allen voran PLS-Blattflecken. Aber auch Nährstoffmangel und –überversorgung können Blattgewebe absterben lassen. Besonders Manganmangel, der häufiger in der Praxis zu beobachten ist, aber auch Überversorgung mit Bor können Symptome verursachen, die mit Blattflecken von *R. collo-cygni* verwechselt werden können.

Eines der wichtigsten Unterscheidungsmerkmale ist die direkte Umgebung um das nekrotisierte Blattgewebe. Solange das nicht betroffene Blatt noch grün ist und ein gelber Hof die Nekrose umgibt, können Pollen, Mehltauabwehrmechanismen und physiologische Ursa-

chen ausgeschlossen werden. Bei diesen Ursachen tritt erst im Laufe der Seneszenz ein chlorotischer Hof auf.

3.2.1.1 Visuelle Diagnose von Mehltauabwehrnekrosen

Bei durch Mehltau induzierten Nekrosen ist auf der Oberfläche mit einer Lupe (ab zehnfacher Vergrößerung) ein watteartiges Mycel zu erkennen (Abb. 9). Abhängig von der Anfälligkeit der Sorte kann bereits ein einzelner Keimschlauch von einer gekeimten Spore zu einer heftigen Abwehrreaktion führen (z. B. bei der mehrzeiligen Sorte Franziska). Bei weniger anfälligen Sorten ist in der Regel ein ausgeprägtes watteartiges Mycel zu erkennen. An Stellen, wo Mycel auf die Blattoberfläche trifft, reagiert die Pflanze und bildet dunkle Nekrosen aus. Dadurch sind Mehltauabwehrnekrosen nicht immer rund oder oval, sondern sie sind meist sehr unförmig und nicht zwingend zusammenhängend. Eine Differenzierung von Mehltauabwehrnekrosen zu PLS und Pollen ist ohne Mycel nur über die Größe und Form der Nekrose möglich. Mehltauabwehrnekrosen sind in der Regel größer als PLS und Pollennekrosen.



Abb. 9: Mehltauabwehrnekrosen auf der Blattoberfläche. Neben dem watteartigem Mycel ist auch die Ausprägung von HR-Nekrosen und die nicht zusammenhängende Form dieser Nekrosen zu erkennen. Diese HR-Symptome werden sortentypisch ausgebildet. Im Bild ist die Sorte Franziska dargestellt.

3.2.1.2 Visuelle Diagnose von Pollennekrosen

Einzelne Pollennekrosen sind immer sehr klein, ca. ein bis zwei Millimeter im Durchmesser. Da sie aber selten einzeln auftreten, wirken sie größer. Vereinzelt können ganze Blätter

von der Nekrotisierung betroffen sein. Bei sehr starker Vergrößerung, ab 100facher Vergrößerung, sind kleine Kügelchen sichtbar (Abb. 10). Diese Kügelchen bestehen wiederum aus zusammengeklebten kleinen runden Pollenkügelchen. Aus dem Pollen wachsen Keimschläuche auf der Blattoberfläche. Dort wo die Keimschläuche mit der Blattoberfläche in Kontakt gelangen, stirbt das unmittelbar darunterliegende Blattgewebe ab. Das wichtigste Unterscheidungskriterium dieser Nekrosen zu anderen Ursachen ist die einseitige Ausprägung. Die betroffenen Blattstellen sind nur auf einer Seite abgestorben. Auf der gegenüberliegenden Blattseite ist das Blattgewebe grün.

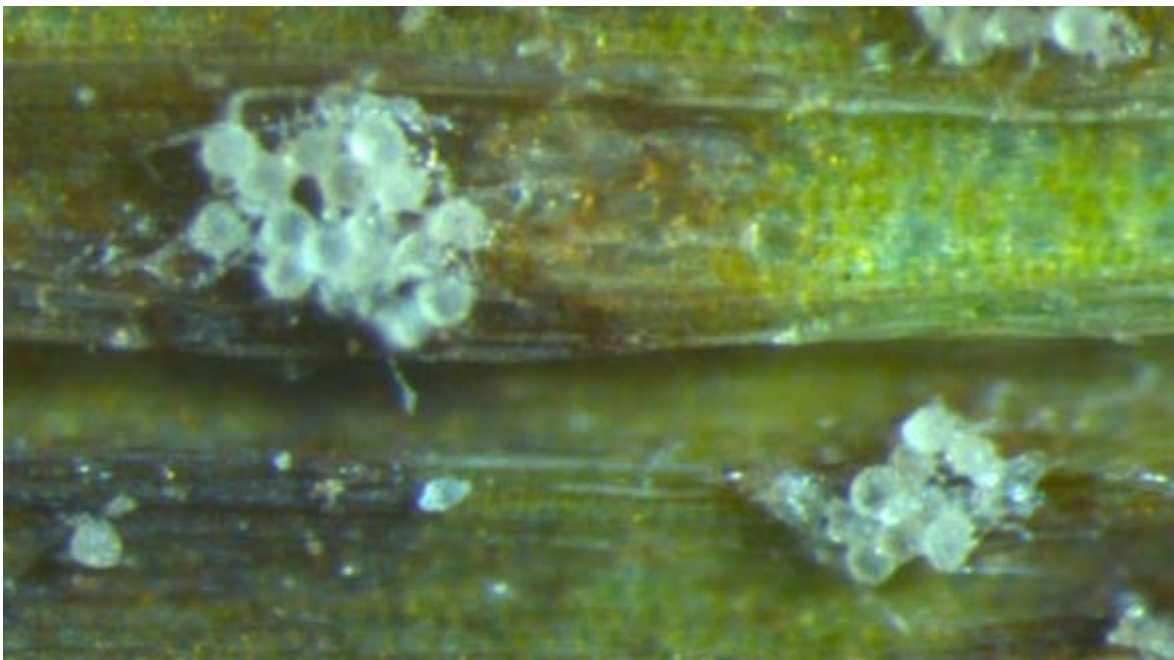


Abb. 10: „Pollenkugeln“ auf der Oberfläche von Gerstenblättern. Die großen „Kugeln“ setzen sich aus vielen kleinen miteinander verklebten Pollenkügelchen zusammen. Aus den einzelnen Pollen wachsen Keimschläuche heraus. Die Aufnahme entstand mit 100facher Vergrößerung.



Abb. 11: Verteilung von Pollennekrosen auf einem Blatt. Zusammen mit dem Wasser sammelt sich der Pollen in der Mitte des Blattes. Dort werden die Nekrosen ausgeprägt und ergeben die mittige Anordnung.

Die Pollenekrosen sind meist nicht gleichmäßig über das gesamte Blatt verteilt, sondern treten vor allem dort auf, wo sich Wasser auf den Blättern sammelt. Mit dem Wasser sammelt sich der Pollen an diesen Stellen, der anschließend Keimschläuche ausbildet (Abb. 11). Um unerwünschte Einkreuzungen zu vermeiden, testen Gerstenzüchter oftmals ihre neuen Sorten in so genannten Roggenfenstern. Dabei handelt es sich um Parzellen, die rundherum von Roggen umgeben sind. Hier sind Pollenekrosen besonders häufig und sehr stark ausgeprägt zu finden.

Im weiteren zeitlichen Verlauf vergilbt die noch grüne Seite ebenfalls. Der Unterschied ist einige Tage deutlich zu erkennen. Es fehlt auf der nicht betroffenen Seite jegliche Sprenkelung, die abgestorbene Fläche ist einheitlich hellbraun.

3.2.1.3 Visuelle Diagnose von PLS (physiological leaf spots)

Physiologische Blattflecken, PLS („physiological leaf spots“), sind sehr unterschiedlich in Form und Gestalt (Abb. 12). Die Ausprägung hängt mit der jeweiligen Gerstensorte zusammen.



Abb. 12: Unterschiedliche Ausprägungsformen von PLS bei unterschiedlichen Gerstenzuchtstämmen (Nummer/Name unbekannt); links kleine, rechts große Nekrosen

Meist sind die Nekrosen sehr dunkel und relativ klein in den Ausmaßen. Sie werden nicht von Blattadern oder anderen Strukturen im Blatt in der Ausdehnung begrenzt und sind auf beiden Blattseiten gleich stark ausgeprägt. Wie der Name schon sagt, sind sie nicht auf das Einwirken von Schadpilzen oder andere biotische Ursachen zurückzuführen. Daher sind auf der Blattoberfläche keine Strukturen von Mycel oder sonstige Strukturen zu erkennen, die auf einen Pilz rückschließen würden. Auch nach längerem Inkubieren im feuchten Milieu fehlen diese Strukturen. Häufig werden PLS mit Nährstoffmangelsymptomen wie zum Beispiel Mangan- oder Magnesiummangel verwechselt. Verwechslungen mit Borüberversorgung sind ebenfalls möglich.

3.2.1.4 Visuelle Diagnose von Netzflecken

Gerstenblatflecken, die durch einen gelben Hof umgeben sind, können durch *Pyrenophora teres* oder *R. collo-cygni* verursacht worden sein. Die Netzflecken, ausgelöst durch den Pilz *Pyrenophora teres*, werden wiederum in den Netztyp und in den Spotttyp unterschieden. Der Spotttyp ist rundlich oval und wird nicht durch die Blattadern begrenzt. Aus anfänglich kleinen Nekrosen entwickeln sich schnell ausgedehnte Blatflecken über 5mm Durchmesser (Abb. 13).



Abb. 13: Typische Nekrose verursacht durch *Pyrenophora teres* Spotttyp. Die mittig angeordnete Infektionsstelle ist dunkler ausgeprägt als der Randbereich. Zum umliegenden Gewebe ist keine Begrenzung durch Blattadern oder anderen Strukturen zu erkennen.

Die Nekrosen des Netztyps sind nicht rundlich oval, sondern länglich und zu den Seiten hin durch Blattadern begrenzt (Abb. 14). Im zeitlichen Verlauf überwindet er die Blattadern und bildet so eine braune Netzstruktur aus. Bei beiden Typen wachsen die Nekrosen, bis sie an andere Nekrosen angrenzen. Dadurch stirbt das Blatt vorzeitig ab. Die Braunfär-

bung der Nekrose ist sowohl vom Spot- als auch vom Netztyp auf beiden Blattseiten gleichstark ausgeprägt. Es gibt keinen Farbunterschied zwischen der Blattober- und Blattunterseite.



Abb. 14: Typische Nekrose verursacht durch *Pyrenophora teres* (Netztyp). Die Nekrose ist an den Blattadern ausgerichtet und wird durch Blattadern seitlich begrenzt. Im Innern entsteht eine netzartige Struktur.

3.2.1.5 Visuelle Diagnose von *R. collo-cygni*-Blattflecken

Nekrosen, verursacht durch *R. collo-cygni*, unterscheiden sich durch eine Reihe von Merkmalen zu den bereits beschriebenen Nekrosen. Zu Beginn der Symptomausbildung sind diese Merkmale noch wenig ausgeprägt und die durch *R. collo-cygni* verursachten Nekrosen werden daher häufig in frühen Stadien mit anderen Ursachen verwechselt. Aufgrund der geringen Größe am Anfang, Durchmesser kleiner 1 mm, ist die seitliche Abgrenzung durch Blattadern schlecht zu erkennen (Abb.15).



Abb. 15: Einzelne *R. collo-cygni*-Nekrose mit seitlicher Begrenzung durch Blattadern, dunklem Zentrum in der Mitte der Nekrose, in Längsrichtung umgebenden gelbem Hof und einigen Konidienträgerbüscheln (weiße kleine Punkte in der unteren Hälfte der Nekrose).

Erst nach einigen Tagen bildet sich ein chlorotischer Hof und die Nekrose dehnt sich aus. Bei geringem Befallsdruck kann die Nekrose eine Größe in Längsrichtung von ca. 5 mm und quer von ca. 2 mm erreichen. In diesen Fällen ist die Nekrose in der Mitte etwas dunkler, die ursprüngliche Infektionsstelle, nach außen wird die Braunfärbung heller und endet schließlich in den chlorotischen Hof. Seitlich wird die befallene Stelle durch Blattadern begrenzt (Abb. 16).



Abb. 16: Einzelne *R. collo-cygni* Nekrose mit seitlicher Begrenzung durch Blattadern, dunklem Zentrum in der Mitte der Nekrose, in Längsrichtung umgebenen gelbem Hof und einigen Konidienträgerbüscheln (weiße kleine Punkte in der unteren Hälfte der Nekrose).

Häufig ist der Befallsdruck so stark, dass bevor die Nekrose sich bis auf die volle Länge von bis zu 5 mm ausdehnen kann, sie bereits an die nächste Nekrose angrenzt. In diesen Fällen sind die Begrenzung durch die Blattadern und der chlorotische Hof nicht zu erkennen. Die Blätter sind gekennzeichnet durch eine feine dichte Sprenkelung.

Unabhängig vom Entwicklungsstand der Krankheit ist zwischen der sonnenzugewandten Seite und der sonnenabgewandten Seite ein Farbunterschied zu beobachten. Die Braunfärbung der Nekrose ist auf der sonnenzugewandten Seite dunkler ausgeprägt als auf der sonnenabgewandten Seite (Abb. 17). Besonders deutlich ist dies bei in sich gedrehten Blättern zu erkennen, wenn sie glatt gezogen werden. Abschnitte, die zuvor der Sonne zugewandt waren, sind dann dunkler als Abschnitte, die der Sonne abgewandt waren. Dieser Farbunterschied ist aber nur dann zu erkennen, wenn es eine sonnenabgewandte und eine sonnenzugewandte Seite gibt. Blätter, die aufrecht stehen, zeigen diesen Farbunterschied nicht. Eine mögliche Ursache für dieses Symptom können die Rubbeline sein. *R. collo-cygni* produziert unterschiedliche Rubbeline, die alle lichtaktiv sind (Heiser et. al. 2003). Da-

durch, dass die Rubbeline nur unter Lichteinstrahlung aktiv sind, könnte die dunklere Färbung der Nekrose auf der sonnenzugewandten Seite erklärt werden.

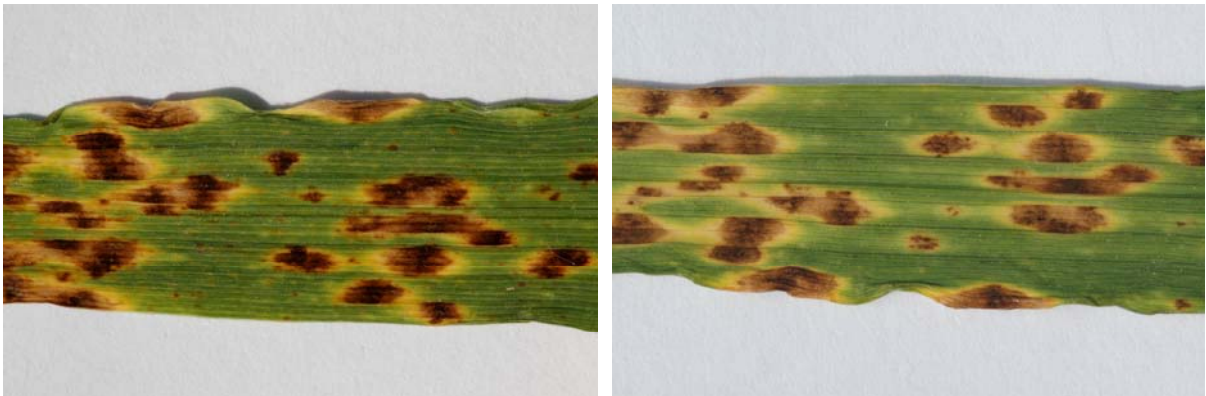


Abb. 17: Ein Blattausschnitt von beiden Blattseiten fotografiert. Links die sonnenzugewandte Blattseite mit deutlich dunkleren Nekrosen als rechts die sonnenabgewandte Blattseite mit weniger intensiv braun gefärbten Nekrosen. Beide Bilder zeigen den gleichen Blattausschnitt.

In sehr späten Stadien der Krankheit ist auf der Blattunterseite bei sehr spitzem Betrachtungswinkel ein silbriger Schimmer zu erkennen (Abb. 18). Dieser entsteht durch die Konidienträgerbüschel, in denen sich das Licht bricht und den silbrigen Schimmer erzeugt.



Abb. 18: Silbriger Schimmer auf der Blattunterseite, verursacht durch die Konidienträgerbüschel von *R. collo-cygni*, nur sichtbar bei flachem Betrachtungswinkel

Letztes eindeutiges Kennzeichen stellen die Konidienträger dar. Sie wachsen jeweils in Büscheln zu max. 15 Konidienträgern aus den Stomata heraus (Abb. 19). Durch die An-

ordnung der Stomata auf der Blattoberfläche sind die Konidienträgerbüschel „perlschnurartig“ aufgereiht. Es ist nicht geklärt, unter welchen Voraussetzungen *R. collo-cygni* anfängt zu sporulieren. Daher ist das Fehlen der Konidienträger kein Beweis dafür, dass *R. collo-cygni* nicht die Ursache für die Nekrose war.



Abb. 19: Konidienträgerbüschel bestehend aus 6 Konidienträgern aus den Stomata auswachsend. Aufgenommen von der Blattunterseite. Pilzstrukturen wurden mit Chromassie Blue angefärbt und mit dem Mikroskop aufgenommen.

3.2.1.6 Differenzierungshilfe zur Unterscheidung von Blattflecken an Gerste

Durch die Integration der in den vorigen Kapiteln beschriebenen Unterscheidungsmerkmale in ein Differenzierungsschema entstand das in Abbildung 20 dargestellte Differenzierungsschema. Dabei wurden nur Blattflecken berücksichtigt, deren Symptome häufig mit denen von *R. collo-cygni* verwechselt werden.

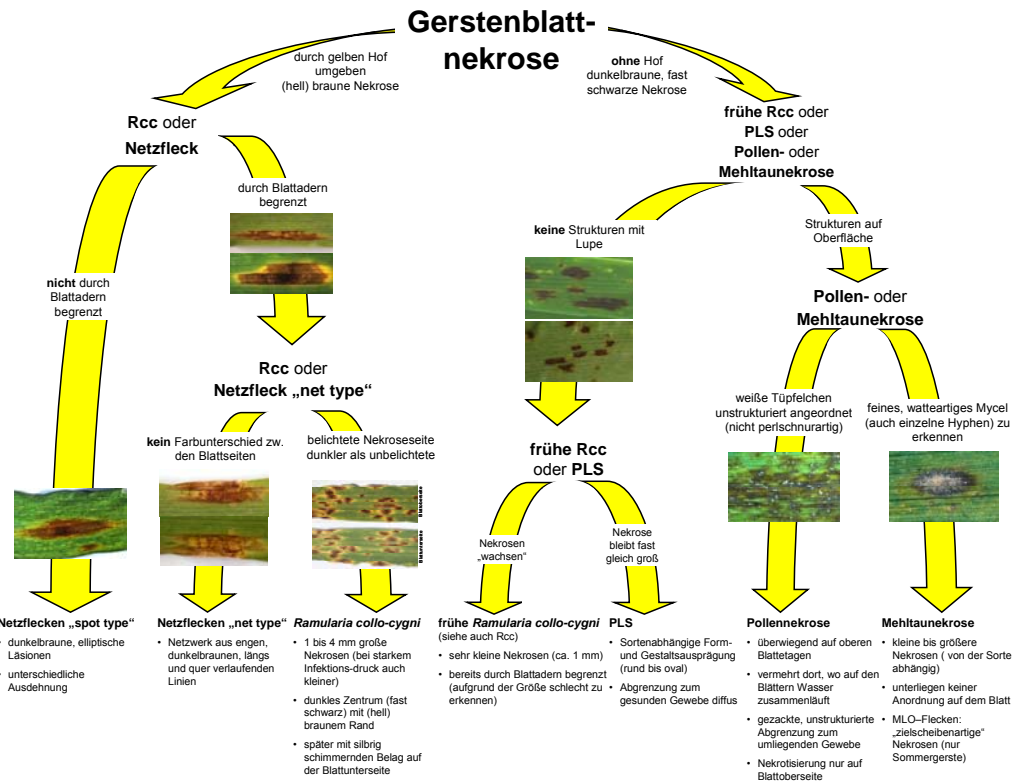


Abb. 20: Entscheidungshilfe zur visuellen Differenzierung von symptomatisch vergleichbaren Gerstenblatfflecken.

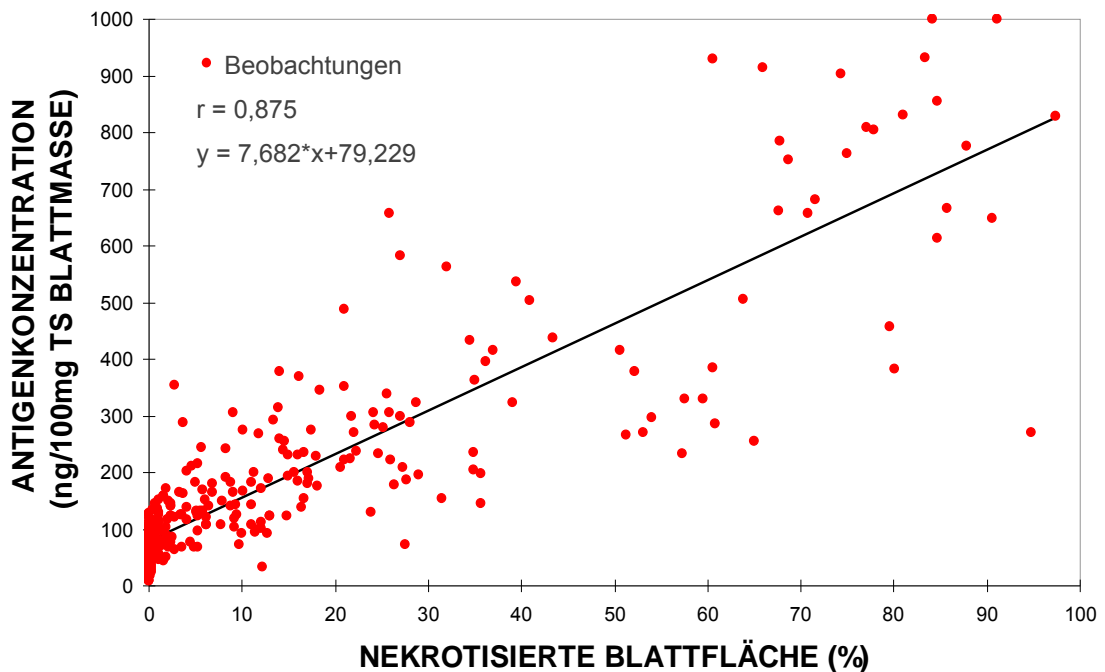


Abb. 21: Regressionsgrade und Korrelationskoeffizient der Antigenkonzentration und visuell bonitierter, durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche in % (F und F-1). Die Proben stammten aus dem Monitoring 2005.

In der Differenzierungshilfe wurde die Einordnung von *R. collo-cygni* mit Hilfe des DAS-ELISA validiert. Hierzu wurden im Jahr 2005 Freilandproben aus den Fungizidversuchen zuerst bonitiert und anschließend mit dem DAS-ELISA untersucht. Für die Untersuchungen wurden die obersten beiden Blattetagen verwendet. Die Abbildung 21 zeigt die Beobachtungen und die Regressionsgrade. Zwischen der gemessenen Antigenkonzentration und der visuell bonitierten durch *R. collo-cygni* befallenen Blattfläche besteht eine enge Korrelation. Der Korrelationskoeffizient r ist mit 0,875 sehr hoch. Dies zeigt, dass eine visuelle Differenzierung möglich ist.

3.2.2 Detektion von *R. collo-cygni* mit sauren Wasseragar (nach Sachs)

Durch die Ansäuerung des Wasseragars auf pH 4,0 mit Essigsäure konnte keine zuverlässige Rotfärbung der befallenen Blattregionen erzeugt werden. Auch die Ansäuerung mit Essigessenz (Survig) war keine zuverlässige Methode. Es konnte beobachtet werden, dass sich stark mit *R. collo-cygni* befallene Blattstellen (Konidienträger bereits vor dem Auslegen zu sehen) nicht rot färbten. Problematisiert wurde dieser Sachverhalt zusätzlich dadurch, dass sich mit Netzflecken befallene Blattregionen vereinzelt ebenfalls rot anfärbten. Die beiden Rotfärbungen unterschieden sich dabei nur geringfügig und machten eine genaue Differenzierung nur mit einem Binokular möglich.

3.2.3 DAS-ELISA

3.2.3.1 Optimierung der Antikörperkonzentration

Um ein möglichst ausgewogenes Verhältnis zwischen Antikörpern, biotinylierten Antikörpern und Reaktionsgeschwindigkeit zu bekommen, wurden unterschiedliche Konzentrationen von Antikörpern und biotinylierten Antikörpern gegeneinander aufgetragen. Es stellte sich heraus, dass die Konzentration der beiden Antikörper einen hohen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeiten hatte. Die Tabellen 9 zeigt die Extinktion der einzelnen Rohserumherkünfte, gemessen nach einer Stunde bei einer Wellenlänge von 405nm. Es wurde das gleiche Antigen als Standard verwendet, mit dem auch die Tiere immunisiert wurden.

Tab. 9: Einfluss der Konzentration von Antikörpern und biotinylierten Antikörpern auf die OD bei 405nm, gemessen nach 1h

Antikörperherkunft	Konzentration biotinylierte Antikörper	Antikörperkonzentration			
		1:2000	1:1000	1:500	1:250
168	1:2000	0,162	0,285	0,495	0,532
	1:1000	0,274	0,550	0,906	0,867
	1:500	0,525	1,075	1,766	1,737
	1:250	0,753	1,873	2,709	2,694
169	1:2000	0,156	0,290	0,487	0,530
	1:1000	0,178	0,410	0,724	0,909
	1:500	0,302	0,805	1,568	1,715
	1:250	0,600	1,122	2,456	2,370
170	1:2000	0,368	0,835	1,181	1,282
	1:1000	0,634	1,448	2,009	2,263
	1:500	0,768	2,110	2,960	3,051
	1:250	0,829	2,600	3,239	3,240
171	1:2000	0,258	0,452	0,560	0,693
	1:1000	0,359	0,969	0,998	1,137
	1:500	0,547	1,229	1,151	1,943
	1:250	0,869	1,878	2,651	2,842

Wie zu erwarten, nahm die Extinktion, gemessen nach einer Stunde Reaktionszeit, mit zunehmender Verdünnung der Antikörper ab. Die stärkste Extinktion nach einer Stunde Reaktionszeit wurde bei allen vier Antikörperherkünften in den geringsten Verdünnungsstufen von Antikörpern und biotinylierten Antikörpern gemessen. Extinktionen über 1,5 konnten mit dem verwendeten Gerät nicht genau gemessen werden. Zwischen Werten über 1,5 wurde nicht mehr differenziert.

Die Unterschiede zwischen den Antikörperherkünften sind deutlich zu erkennen. Die beiden Herkünfte 168 und 169, bei denen das Pilzmycel zur Antigenherstellung auf PDB (Scharlau, 02-483; 27 g/l) wuchs, zeigten die geringste Extinktion nach einer Stunde. Die beiden anderen Antigenseren, dessen Pilzmycel zur Immunisierung auf CzD-M (Scharlau, 2-051; 33,5 g/l), welches mit 5g/l tryptisch verdautem Pepton (Merk, 7213) und 40 g/l

D(+)-Glucose-Monohydrat (Merk, 8342) versetzt war, wuchsen, reagierten intensiver. Beide Antigenseren reagierten mit einer stärkeren Extinktion als die Seren 168 und 169.

Die Bedeutung des versuchsbedingten Fehlers, der durch die Substratzugabe im letzten Arbeitsschritt bei Licht entsteht, nimmt mit zunehmender Reaktionszeit zwischen Substratzugabe und Messung der Extinktion ab. Wird das Zeitfenster zwischen Substratzugabe und Messung zu lang, dann vergrößert sich damit der Fehler, der durch den normalen Zerfall des Substrates entsteht. Messungen mit dem Photometer über OD 1 werden aufgrund der hohen Extinktion ungenau. Daher wurde als Idealwert der Wert 1 nach einer Stunde angestrebt.

Die Antikörperherkunft 171 zeigte bei der Verdünnung 1:1000 der Antikörper und der biotinylierten Antikörper von 1:1000 nach einer Stunde Reaktionszeit nach der Substratzugabe nahezu den Idealwert von 0,969. Aus diesem Grund wurden alle weiteren Untersuchungen mit diesem Antiserum und dieser Verdünnung durchgeführt.

3.2.3.2 Sensitivität und quantitative Aussage des DAS-ELISA

Die Empfindlichkeit eines Nachweises ist eines der wichtigen Kriterien für eine Analyse-methode. Sie entscheidet mit darüber, ob ein Nachweis für die zu bearbeitende Fragestellung zu gebrauchen ist oder nicht. Neben der qualitativen Aussage ist für einige Fragestellungen eine quantitative Aussage notwendig. Die verwendete DAS-ELISA Methode ermöglicht beides, wenn die verwendeten Antikörper eine hohe Selektivität aufweisen. Die quantitative Analyse wird durch die Korrelation zwischen Extinktion und Antigenkonzentration in der Probe erreicht. Die Extinktionswerte steigen proportional zur Antigenkonzentration an. Die Extinktion wird bei 405nm gemessen und mit einer Referenzwellenlänge von 592nm verrechnet. Daraus ergibt sich die korrigierte Optische Dichte (OD).

In Abbildung 22 ist der Anstieg der korrigierten Optischen Dichte im Zusammenhang mit dem Anstieg der Antigenkonzentration dargestellt. Auf der Ordinate ist die Antigenkonzentration in ng/mg Trockensubstanz aufgeführt, die Abszisse stellt die korrigierte OD dar. Mit zunehmender Antigenkonzentration in der aufgetragenen Probe nimmt die korrigierte Optische Dichte zu. Der Anstieg zwischen 25ng und 1000ng ist ausreichend gleichmäßig, um eine Berechnung der Antigenkonzentration zu ermöglichen. Die Werte unter 25ng steigen nicht ausreichend an, um Rückschlüsse auf die Ausgangskonzentration zu machen. Daher wurde die Nachweisgrenze auf 25ng Antigen/mg TS festgesetzt.

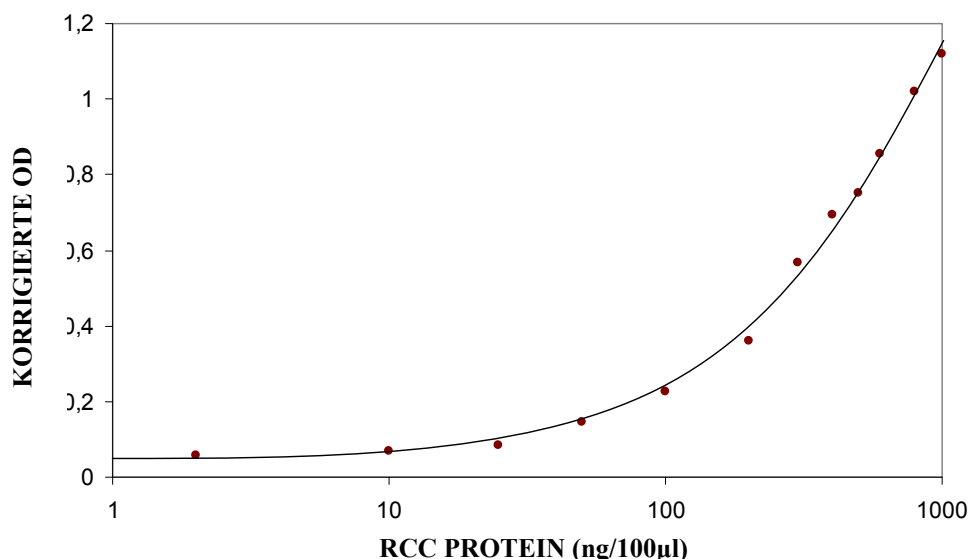


Abb. 22: Proportional ansteigende korrigierte OD (gemessene OD Protein 405nm – gemessene OD Substratpuffer 592nm) in Abhängigkeit der Antigenkonzentration.

3.2.3.3 Kreuzreaktionen mit Pflanzenorganen und Pilzisolaten

Bevor der DAS-ELISA für die Analysen der Proben verwendet werden konnte, musste die Selektivität gegenüber anderen möglichen Bestandteilen in den Proben getestet werden. Um mögliche Kreuzreaktionen abzutesten, wurden unterschiedliche Pflanzenbestandteile und eine Auswahl an Pilzisolaten auf mögliche Kreuzreaktionen getestet. Alle verwendeten Pflanzenteile stammten von Gerstenpflanzen aus dem Gewächshaus und zeigten keinerlei Pathogenbefall. Die Ergebnisse der unterschiedlichen getesteten Pflanzenteile sind in Tab. 10 aufgeführt.

Tab. 10: Kreuzreaktionen des Antikörperserums 171 mit unterschiedlichen Gerstenpflanzenteilen. Die verwendeten Pflanzenteile waren symptomfrei.

Pflanzenorgan	Korrigierte OD ¹	Berechneter Proteingehalt ² (ng/100mg TS Blattmasse)
Frische Blätter	0,056	2
Getrocknete Blätter	0,048	1,8
Gefrorene Blätter	0,059	2,05
Getrocknete Halme	0,053	1,9
Getrocknete Ähren	0,097	15

¹ korrigierte Optische Dichte = gemessene OD Protein 405nm – gemessene OD Substratpuffer 592nm

² berechnet aus Antigenstandard

Der Zustand der Blätter zum Zeitpunkt der Probenaufarbeitung hatte keine Auswirkungen auf die gemessene Extinktion. Unabhängig davon, wie die Blätter gelagert wurden, waren die Extinktionswerte im Verhältnis zu den Antigenstandards sehr gering. Vergleichbare Werte wie bei den Blättern zeigten die getrockneten Halme. Auch hier waren die Extinktionswerte im Verhältnis zu den Antigenstandards sehr gering. Die höchsten Extinktionswerte zeigten die getrockneten Ähren. Aber auch hier lagen die Extinktionswerte im Vergleich zu den mitgelaufenen Proteinstandards sehr weit unten.

Bei allen getesteten Pflanzenteilen lag die Extinktion im Vergleich zu den Antigenstandards am unteren Ende der Skala und bezogen auf die rechnerische Antigenmenge unter der festgelegten Nachweisgrenze.

Neben Pflanzenorganen wurden auch Pilzisolat auf mögliche Kreuzreaktionen getestet. Dabei wurden die an Gerste vorkommenden Hauptpathogene *Pyrenophora teres* und *Rhynchosporium secalis* und weitere Pilze auf Kreuzreaktionen getestet. Getestet wurden diese Pathogene mit jeweils 10000ng. Die Tab. 11 zeigt die korrigierte OD und den daraus aus dem mitlaufenden Antigenstandard rechnerisch ermittelten Antigengehalt.

Tab. 11: Kreuzreaktionen des Antikörperserums 171 mit an Gerste vorkommenden Pilzen

	Korrigierte OD ¹	Berechneter Proteingehalt ² (ng/100mg TS Blattmasse)
<i>Pyrenophora teres</i>	0,105	14,5
<i>Rhynchosporium secalis</i>	0,114	18,0
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	0,079	7,5
<i>Fusarium culmorum</i>	0,055	1,8
<i>Fusarium graminearum</i>	0,061	2,0
<i>Microdochium nivale</i>	0,043	1,5
<i>Botrytis cinerea</i>	0,082	8,0
<i>Penicillium brevicompactum</i>	0,058	1,9
<i>Epiccocum purpurascens</i>	0,039	1,3
<i>Alternaria alternata</i>	0,071	6,4
<i>Ascochyta pisi</i>	0,085	8,3
<i>Cladosporium herbarum</i>	0,069	4,3

¹ korrigierte Optische Dichte = gemessene OD Protein 405nm – gemessene OD Substratpuffer 592nm; ² berechnet aus mit getesteten Proteinstandard

Die Hauptpathogene *Pyrenophora teres* und *Rhynchosporium secalis* hatten von den getesteten Pilzen die höchsten Extinktionswerte. Alle anderen getesteten Pilze lagen in ihren Extinktionswerten deutlich unter diesen beiden Hauptpathogenen. Im Vergleich zu den mitlaufenden Standards lagen allerdings auch *Pyrenophora teres* und *Rhynchosporium secalis* in den Extinktionswerten sehr niedrig. Bei dem kalkulatorisch ermittelten Antigengehalt von 14,5 ng/100mgTS bei *Pyrenophora teres* bzw. 18ng/100mgTS bei *Rhynchosporium secalis* lagen beide Pathogene unter der festgesetzten Nachweisgrenze von 25ng.

3.3 Biologie und Epidemiologie

3.3.1 Keimung und Wachstum auf Wasseragar

Für erfolgreiche Infektionsversuche ist es unter anderem erforderlich, die optimalen Temperaturbereiche des Pilzes zu kennen. Zu unterscheiden ist hier zwischen Keimtemperatur, Wachstumstemperatur und Infektionstemperatur. Aus diesem Grund wurden in den Keimtests auf Wasseragar der prozentuale Anteil gekeimter Sporen ausgezählt und das Wachstum des Mycels bestimmt. Zur Berechnung wurden in vier Wiederholungen jeweils 50 Sporen ausgezählt. Das Mycelwachstum wurde in vier Wiederholungen an jeweils 50 Stellen vermessen.

Getestet wurde Keimung und Wachstum in einem breiten Temperaturbereich zwischen 4 und 40°C in 4°C Stufen.

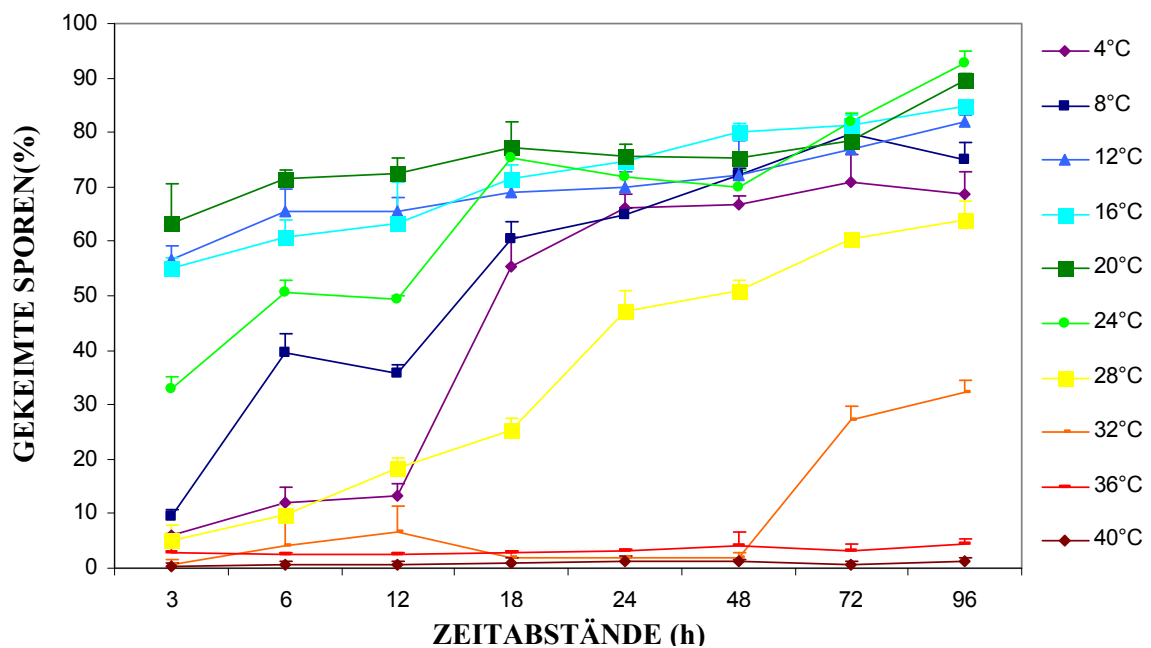


Abb. 23: Prozentualer Anteil gekeimter Konidien von *R. collo-cygni* (Ordinate) in konstanten Temperaturstufen auf Wasseragar. Die Auszählung erfolgte in unterschiedlichen Zeitabständen. Die letzte Auszählung erfolgte 96 Stunden nach dem Auftragen der Sporen auf Wasseragar. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindicators dargestellt. (n=200)

Der Anteil gekeimter Sporen variierte sehr stark zwischen den getesteten Temperaturstufen. Zum ersten Messzeitpunkt, drei Stunden nach Inokulation, waren in den Temperaturstufen 20°C, 16°C und 12°C bereits über 50% der Konidien gekeimt. In der Temperaturstufe 24°C waren es mit 33% gekeimter Sporen deutlich weniger. In allen anderen Tempe-

raturstufen, 4°C, 8°C, 28°C, 32°C, 36°C und 40°C, lag die durchschnittliche Keimungsrate unter 10%. Im weiteren Verlauf des Versuchs nahm die Anzahl der gekeimten Sporen in 24°C, 8°C und 4°C sehr schnell zu und war schließlich auf dem Niveau der Temperaturstufen 12°C, 16°C und 20°C. Der Anteil gekeimter Sporen bei 4°C nahm erst nach 12 Stunden deutlich zu. Am langsamsten stieg der Anteil gekeimter Sporen bei 28°C und darüber. In der 32°C-Stufe entwickelte sich die Keimung erst nach zwei Tagen. Der Anteil gekeimter Sporen lag am Ende der Messungen noch deutlich unter allen kühleren Temperaturstufen. In den beiden wärmsten Temperaturstufen 36°C und 40°C blieb die Anzahl gekeimter Sporen über den gesamten Versuch auf einem sehr niedrigen Niveau. In allen Temperaturstufen bis einschließlich 28°C waren am Ende der Messungen über 50% der Sporen gekeimt. Die Varianten, die bereits am Anfang eine höhere Keimrate zeigten, zeigten auch am Schluss des Versuchs den größten Anteil gekeimter Sporen. Hierzu zählten 12°C, 16°C, 20°C und 24°C. Die beiden wärmsten Stufen 36°C und 40°C zeigten auch am Ende des Versuchs deutlich unter 10% gekeimte Sporen.

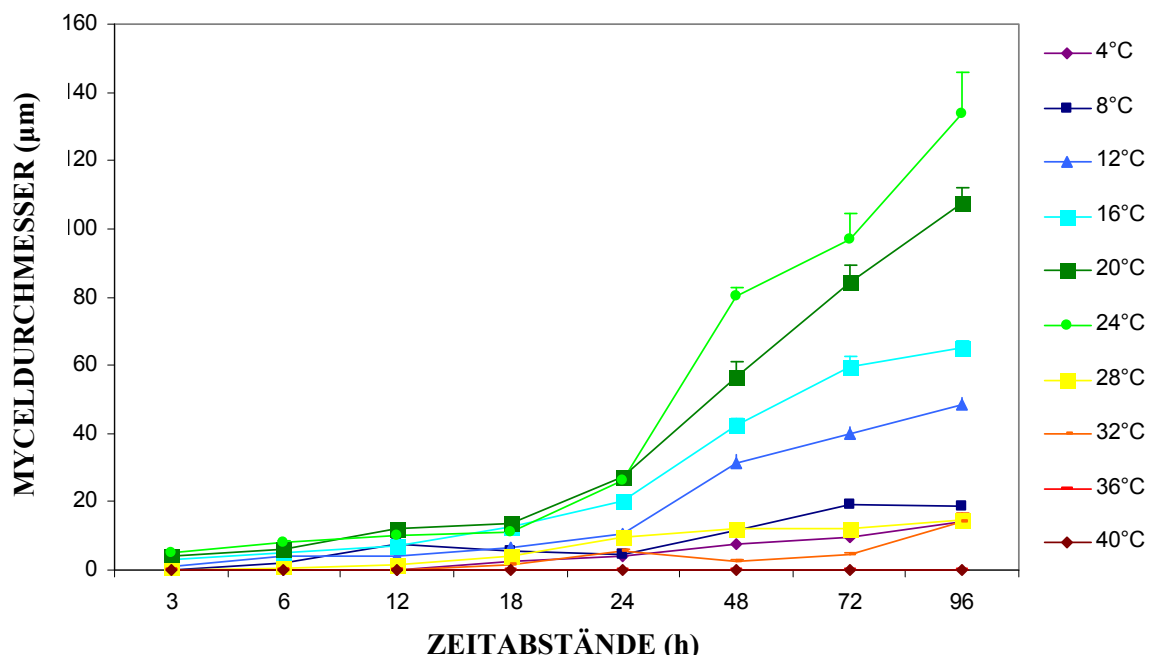


Abb. 24: Mycelwachstum von *R. collo-cygni* auf Wassergar in konstanten Temperaturstufen. Gemessen wurde der maximale Myceldurchmesser (Ordinate) in unterschiedlichen Zeitabständen (Abzisse). Die letzte Messung erfolgte 96 Stunden nach dem Auftragen der Konidien auf Wassergar. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindicators dargestellt. (n=200)

Das Wachstum des Mycels ist noch stärker von der Temperatur abhängig als die Keimung der Sporen. In dem Bereich von 4°C bis 24°C nimmt die Geschwindigkeit des Wachstums

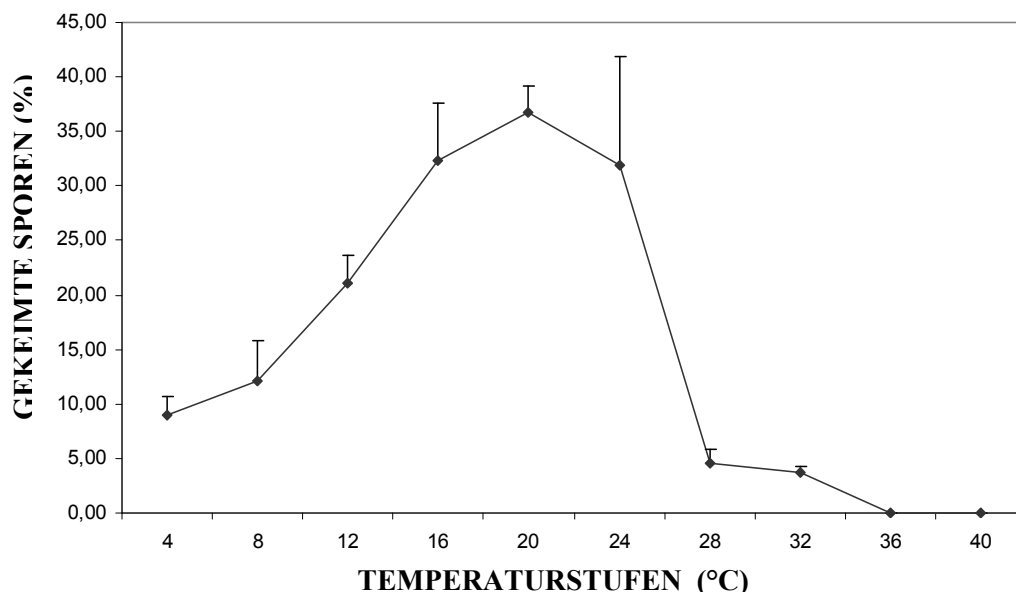
mit zunehmender Temperatur stetig zu. Über 24°C nimmt die Geschwindigkeit deutlich ab. In den wärmeren Varianten, 28°C und darüber, ist das Wachstum deutlich reduziert. In den beiden wärmsten Temperaturstufen, 36°C und 40°C, konnte kein Wachstum gemessen werden. Das Temperaturspektrum überschneidet sich sehr stark mit dem Temperaturspektrum der Keimung der Sporen

3.3.2 Keimung auf Blattsegmenten

Wasseragar hat eine ganz andere Oberfläche und bietet Sporen zum Keimen ganz andere Bedingungen als Blattoberflächen. Um die Daten aus den vorigen Versuchen mit Wasseragar zu validieren, war es notwendig, die Ergebnisse an Blattsegmenten bei unterschiedlichen Temperaturen zu überprüfen.

Die Abbildung 25 zeigt den prozentualen Anteil gekeimter Sporen auf der Blattunterseite nach 6 Tagen. Es wurden jeweils 50 Sporen in 4 Wiederholungen und zu zwei Versuchsansätzen ausgezählt.

Abb. 25: Prozentualer Anteil gekeimter Konidien auf Gerstenblattsegmenten (1. Laubblatt, Sorte:



Barke BBCH 11-12). Die Konidien wurden auf der Blattunterseite aufgetragen und in unterschiedlichen konstanten Temperaturstufen inkubiert. Die Messung erfolgte 6 Tage nach dem Auftragen auf die Blattoberfläche. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindicators dargestellt. n=400

Bis 20°C nimmt der Anteil gekeimter Sporen stetig zu. Alle wärmeren Varianten zeigen einen geringen Anteil gekeimter Sporen. Am stärksten sinkt die prozentuale Keimung zwischen den Temperaturstufen 24°C und 28°C von 32% auf 5% gekeimter Sporen. Das Op-

timum für die Keimung auf Blattsegmenten lag in dem Versuch zwischen 16°C und 24°C. Verglichen mit der prozentualen Keimung auf Wasseragar ist der prozentuale Anteil gekeimter Sporen auf Blattsegmenten halbiert. Die Relationen zwischen den Temperaturstufen sind vergleichbar.

3.3.3 Keimung auf Blattsegmenten und Nekrotisierung von Blattsegmenten

Im letzten Schritt sollte nicht nur die Keimung von *R. collo-cygni* auf Blattsegmenten beobachtet werden, sondern zusätzlich, unter welchen Temperaturen die stärkste Nekrotisierung stattfand (Abbildung 26a).

Die Bonitur der nekrotisierten Blattfläche erfolgte 14 Tage nach Inokulation. Bonitiert wurden jeweils 10 Blattsegmente in 4 Wiederholungen. Die Auszählung der gekeimten Sporen erfolgte ebenfalls 14 Tage nach der Inokulation in 4 Wiederholungen an 50 Sporen. Der Versuch wurde einmal durchgeführt.

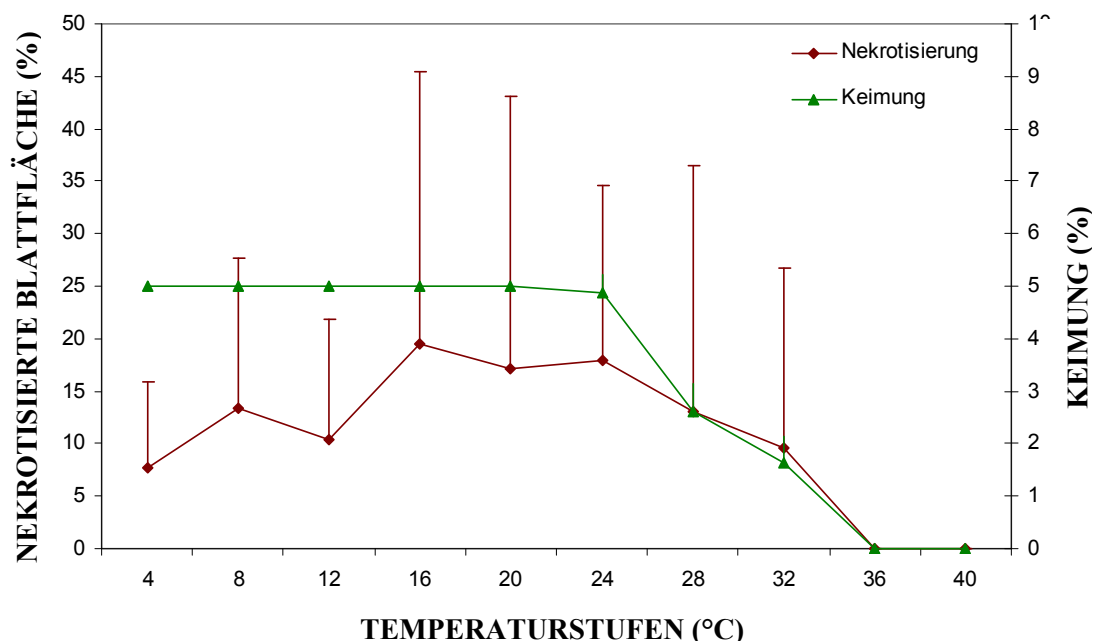


Abb. 26a: Nekrotisierung und Keimung nach künstlicher Infektion von Gerstenblattsegmenten (1. Laubblatt, Sorte: Barke BBCH 11-12) durch *R. collo-cygni* in unterschiedlichen Temperaturstufen. Die Auswertung erfolgte 14 Tage nach Inokulation. Die Temperaturstufen 4°C, 12°C, 20°C, 28°C, 36°C wurden von 6 bis 11 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ inkubiert, die Temperaturstufen 8°C, 16°C, 24°C, 32°C und 40°C wurden zwischen 18 und 22 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ bestrahlt. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindicators dargestellt. nekrotisierte Blattfläche n=40; prozentualer Anteil gekeimter Sporen n=200

Die Standardabweichungen waren in diesem Versuch deutlich ausgeprägter als in den vorhergegangenen Versuchen zu Keimung und Wachstum. Auch in diesem Versuch zeigt *R.*

collo-cygni das Optimum in den gleichen Temperaturstufen. Aufgrund des langen Zeitfensters zwischen Inokulation und Auswertung zeigten auch niedrige Temperaturstufen einen höheren Anteil gekeimter Sporen. In den hohen Temperaturstufen über 28°C waren die Sporen wie bereits in den vorherigen Versuchen deutlich weniger häufig gekeimt. Ab 36°C konnten keine gekeimten Sporen festgestellt werden.

Die nekrotisierte Blattfläche in den unterschiedlichen Temperaturstufen spiegelt Keimung und Wachstum in unterschiedlichen Temperaturstufen aus den vorausgegangenen Versuchen auf Blattsegmenten und Wasseragar wieder. Die nekrotisierte Blattfläche bei 12°C und 20°C weichen von den anderen Werten ab. Der Grund hierfür ist eine andere Beleuchtung während der Inkubation. Die Temperaturstufen 4°C, 12°C, 20°C, 28°C und 36°C wurden mit 6 bis 11 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ bestrahlt, die Temperaturstufen 8°C, 16°C, 24°C, 32°C und 40°C wurden zwischen 18 und 22 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ inkubiert. Daher wurden die Werte in den Abbildungen 26b und Abbildung 26c getrennt nach der Intensität der Belichtung während der Inkubation dargestellt.

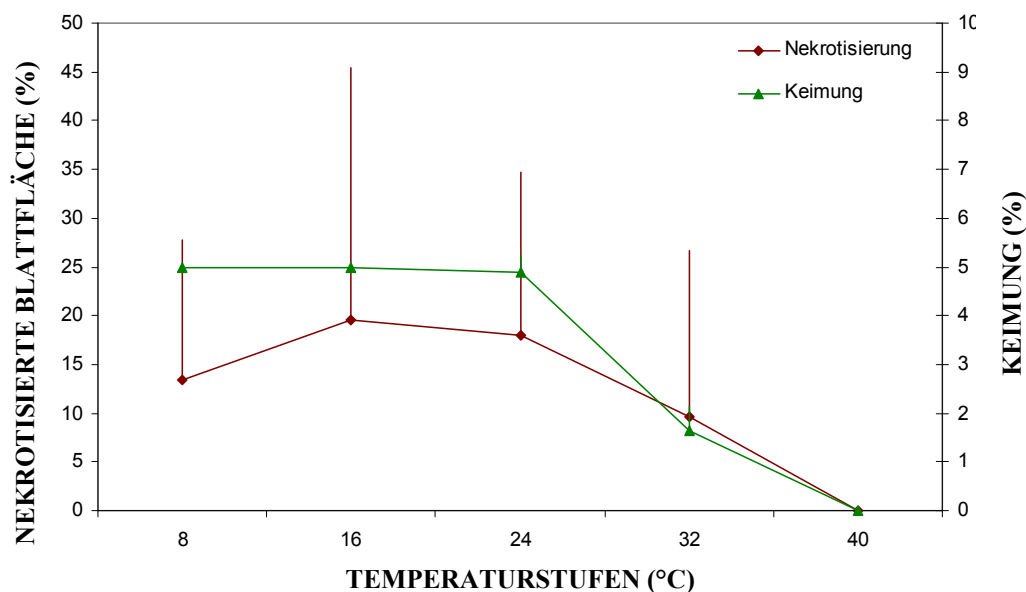


Abb. 26b: Ausschnitt aus Abb. 26a. der Varianten mit hoher Lichteinstrahlung während der Inkubation. Nekrotisierung und Keimung nach künstlicher Infektion von Gerstenblattsegmenten (1. Laubblatt, Sorte: Barke BBCH 11-12) durch *R. collo-cygni* in unterschiedlichen Temperaturstufen. Die Auswertung erfolgte 14 Tage nach Inokulation. Die Blattsegmente wurden zwischen 18 und 22 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ während der Inkubationszeit bestrahlt. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindicators dargestellt. nekrotisierte Blattfläche $n=40$; prozentualer Anteil gekeimter Sporen $n=200$

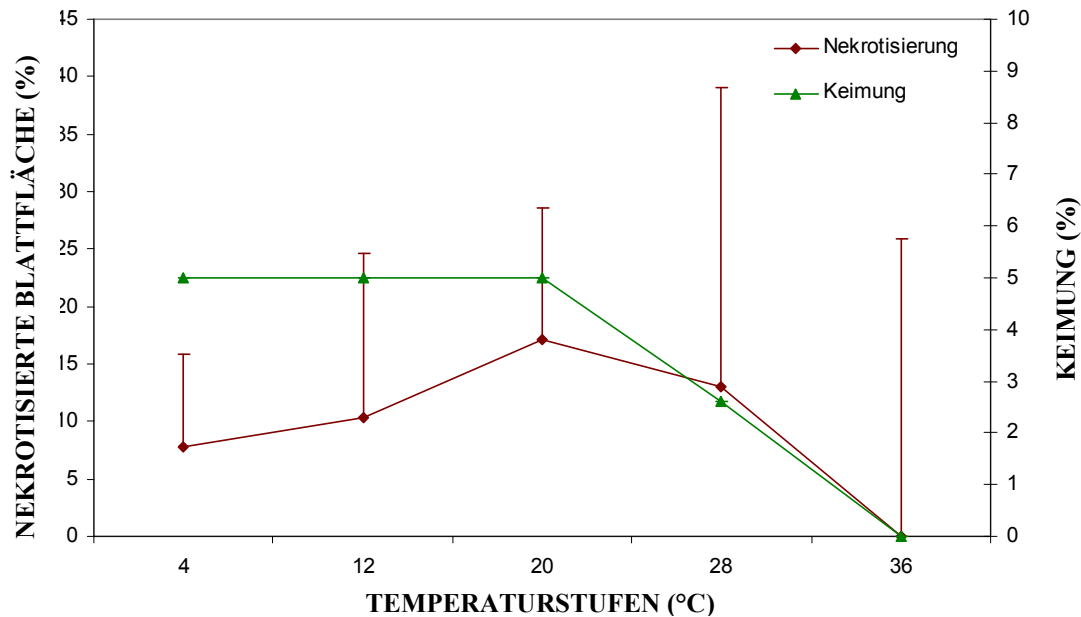


Abb. 26c: Ausschnitt aus Abb. 26a. der Varianten mit geringer Lichteinstrahlung während der Inkubation. Nekrotisierung und Keimung nach künstlicher Infektion von Gerstenblattsegmenten (1. Laubblatt, Sorte: Barke BBCH 11-12) durch *R. collo-cygni* in unterschiedlichen Temperaturstufen. Die Auswertung erfolgte 14 Tage nach Inokulation. Die Blattsegmente wurden zwischen 6 und 11 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ inkubiert. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindikator dargestellt. nekrotisierte Blattfläche $n=40$; prozentualer Anteil gekeimter Sporen $n=200$

3.3.4 Einfluss von Licht und Blattnäse auf die Infektion

Neben der Temperatur haben noch weitere Faktoren, zum Beispiel Licht, einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf von *R. collo-cygni*. In Abbildung 27 ist der Einfluss von Licht und unterschiedlichen Inkubationszeiten dargestellt. Inkubiert wurden alle Varianten einheitlich bei 95% relativer Luftfeuchtigkeit. Während der Inkubationszeit war permanent ein dünner Wasserfilm auf den Blättern.

Mit Licht nimmt die nekrotisierte Blattfläche ab einem Tag Inkubationszeit bis hin zu fünf Tagen stetig zu. Sowohl das Keimblatt als auch das erste Laubblatt wurden durch *R. collo-cygni* nekrotisiert. In Variante 5 wurde zusätzlich beobachtet, dass *R. collo-cygni*-Myzel auf der Blattoberfläche wuchs. Dies hing mit dem verwendeten *R. collo-cygni*-Inokulationsmedium zusammen. Durch das Aufsprühen der Lösung wurde ein Nährboden auf der Blattoberfläche geschaffen. Zusammen mit der langen Inkubationszeit konnte der Pilz auf der Blattoberfläche wachsen.

Die Variante ohne Inkubation im wassergesättigten Raum zeigte ebenfalls einen hohen Anteil durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche. Die Ursache waren die Raumbefeuchtungsdüsen, die die Pflanzen immer wieder mit Wasser benetzten.

Neben den unterschiedlichen Inkubationszeiten wurde in diesem Versuch der Einfluss von Licht getestet. Die Pflanzen wurden drei Tage ohne Licht bei 95% Luftfeuchtigkeit inkubiert. Vierzehn Tage nach der Inokulation konnte nur auf dem 1. Laubblatt nur ein sehr geringer Befall durch *R. collo-cygni* festgestellt werden.

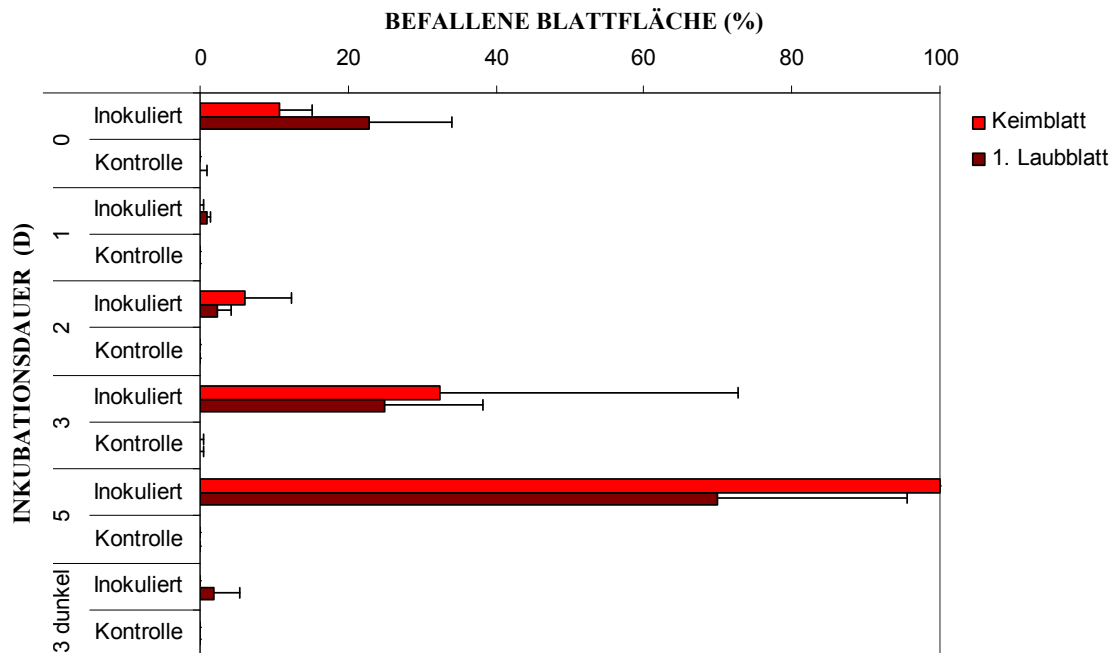


Abb. 27: Durch *R. collo-cygni* befallene Blattfläche von Gerste (Sorte Barke; BBCH 12) in Abhängigkeit von Blattnässedauer (Variante 0 bis 5) und Belichtung (Variante 3 dunkel). Die Inkubationszeit bei 95% relativer Luftfeuchtigkeit variierte in den Varianten 0 bis 5 zwischen 0 und 5 Tagen. Dabei erfolgte ein Tag/Nach-Wechsel (14h Tag/10h Nacht). Die Variante 3 dunkel wurde 3 Tage ohne Licht bei 95% relativer Luftfeuchtigkeit inkubiert. Zur Messung wurde die befallene Blattfläche auf dem Keimblatt und auf dem 1. Laubblatt bonitiert. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindikators dargestellt. n=10

3.3.5 Einfluss des Pflanzenentwicklungsstadiums auf die Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni*

Das sehr späte Auftreten von *R. collo-cygni* innerhalb der Vegetationsperiode kann nicht durch das Temperaturoptimum von *R. collo-cygni* erklärt werden. Daher ergab sich die Fragestellung, ob das Entwicklungsstadium der Pflanze einen Einfluss auf die Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* hat. Um dies zu prüfen, wurden in regelmäßigen Abständen Körner im Gewächshaus ausgesät und die Pflanzen zu einem Zeitpunkt inokuliert. Zur Verwendung kamen die Sorte Neruda und Barke. Der Befall wurde durch eine visuelle Bonitur der durch *R. collo-cygni* nekrotisierten Blattfläche ermittelt.

Die Symptome von *R. collo-cygni* in der Klimakammer waren mit denen im Freiland vergleichbar. Unterschiede lagen darin, dass die inokulierten Blätter vergilbten und gleichzeitig eine viel feinere, dichtere Sprenkelung ausbildeten (Abb. 28). Eine mögliche Ursache hierfür ist der im Vergleich zum Freiland stärkere Infektionsdruck.

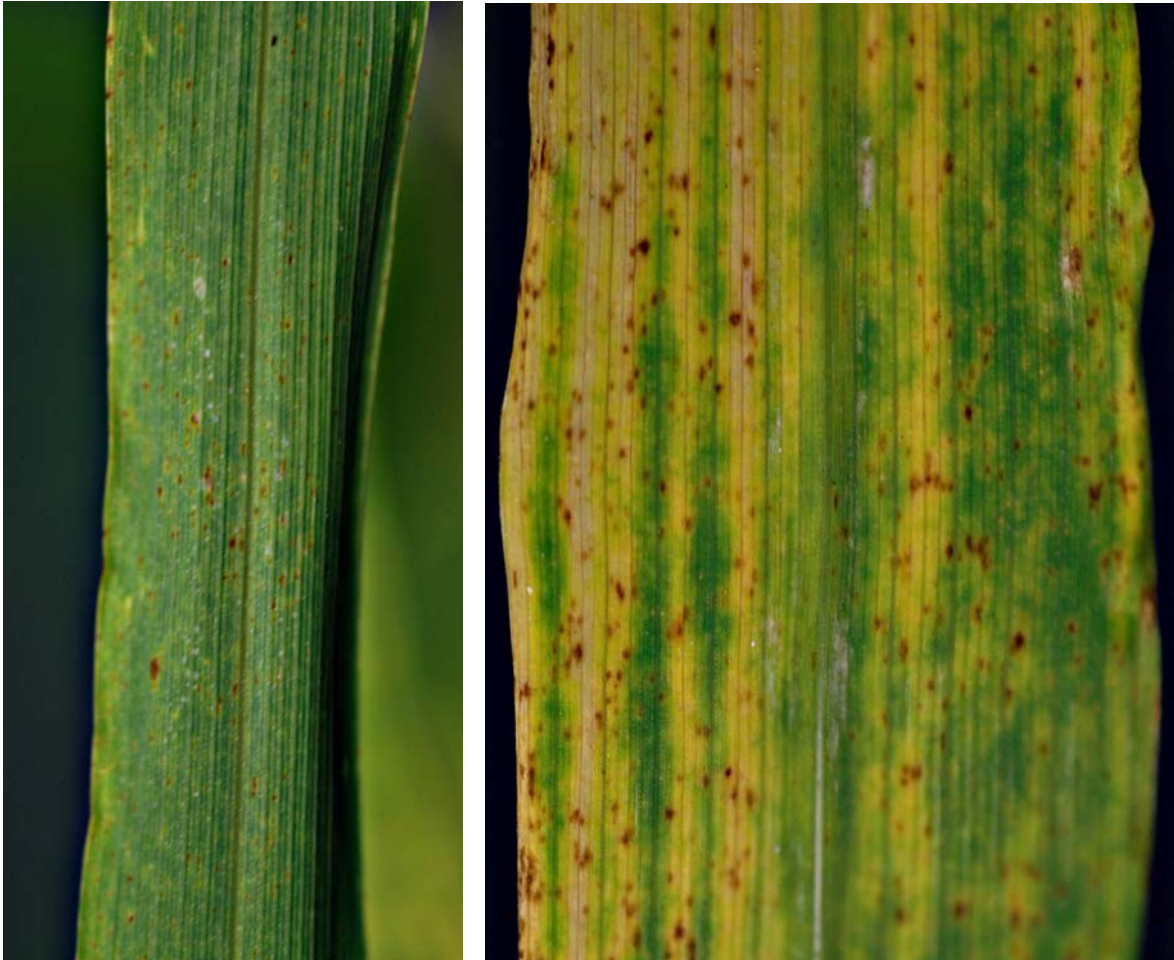


Abb. 28: *R. collo-cygni*-Symptome auf Blättern von Barke nach künstlicher Inokulation in der Klimakammer (links früh, 7 Tage nach der Inokulation; rechts spät, 14 Tage nach der Inokulation). Die Nekrosen blieben über den gesamten Zeitraum sehr klein, befallene Blätter vergilbten und starben vorzeitig ab.

Es konnten nicht nur Nekrosen auf den Blättern beobachtet werden. Auch auf den Grannen bildeten sich feine Sprenkel (Abb. 29). Die gleichen Symptome werden auch auf Pflanzen mit natürlichen Infektionen ausgebildet.



Abb. 29: Gerstengrannen (Sorte Barke) nach künstlicher Inokulation in der Klimakammer mit kleinen, durch *R. collo-cygni* verursachten, Nekrosen. (Die Aufnahme entstand 14 Tage nach der Inokulation.)

Beide Sorten reagieren im Entwicklungsverlauf mit vergleichbarer Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni*. Ältere, untere Blätter werden stärker befallen als jüngere, weiter oben angeordnete Blätter. Diese Unterschiede sind bei der Sorte Barke deutlicher ausgeprägt als bei der Sorte Neruda. Bei der Sorte Neruda ist auch die Streuung der Werte weniger stark ausgeprägt als bei der Vergleichssorte Barke. Im Gegensatz zu Beobachtungen im Freiland, wo häufig das Fahnenblatt stärker betroffen ist als die darunterliegende Blatttete, handelt es sich hier um Klimakammerversuche. Die Pflanzen waren so angeordnet, dass alle Teile der Pflanzen gut mit Licht versorgt wurden und nicht wie unter Freilandbedingungen, wo die unteren Blatttagen deutlich weniger Licht bekommen als höhere Blatttagen.

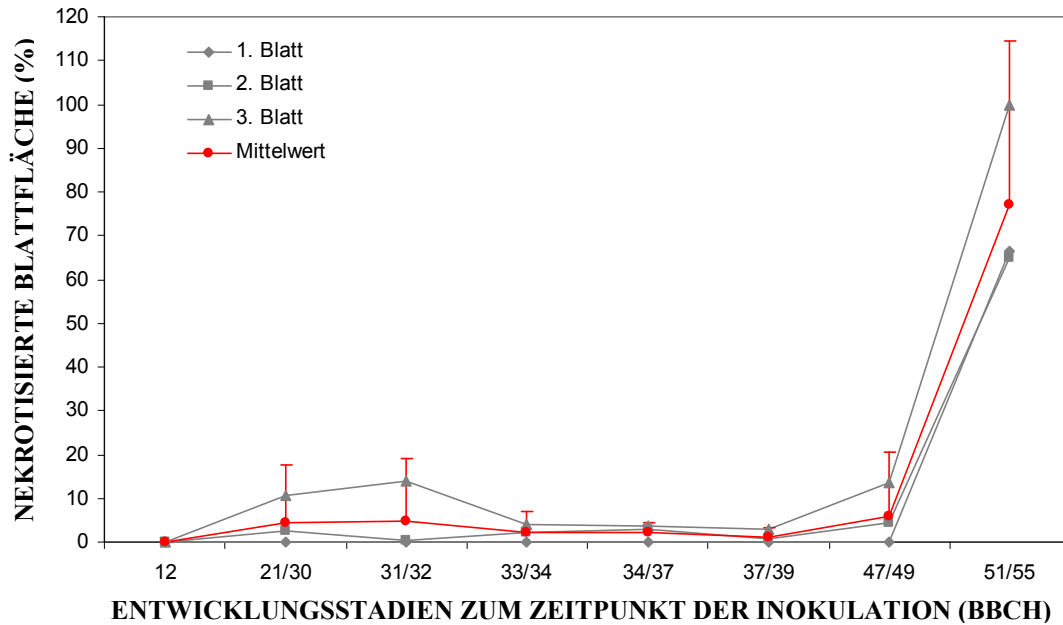


Abb. 30: Nekrotisierte Blattfläche der obersten drei Blattetagen in Abhängigkeit des Pflanzenentwicklungsstadiums zum Zeitpunkt der Inokulation. Die Nummerierung der Blattetagen erfolgte von oben (1. Blatt = oberstes Blatt). Eingesetzte Sorte: Neruda. Der Befall wurde 14 Tage nach der Inokulation durch visuelles Schätzen der befallenen Blattfläche ermittelt. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar. n=20

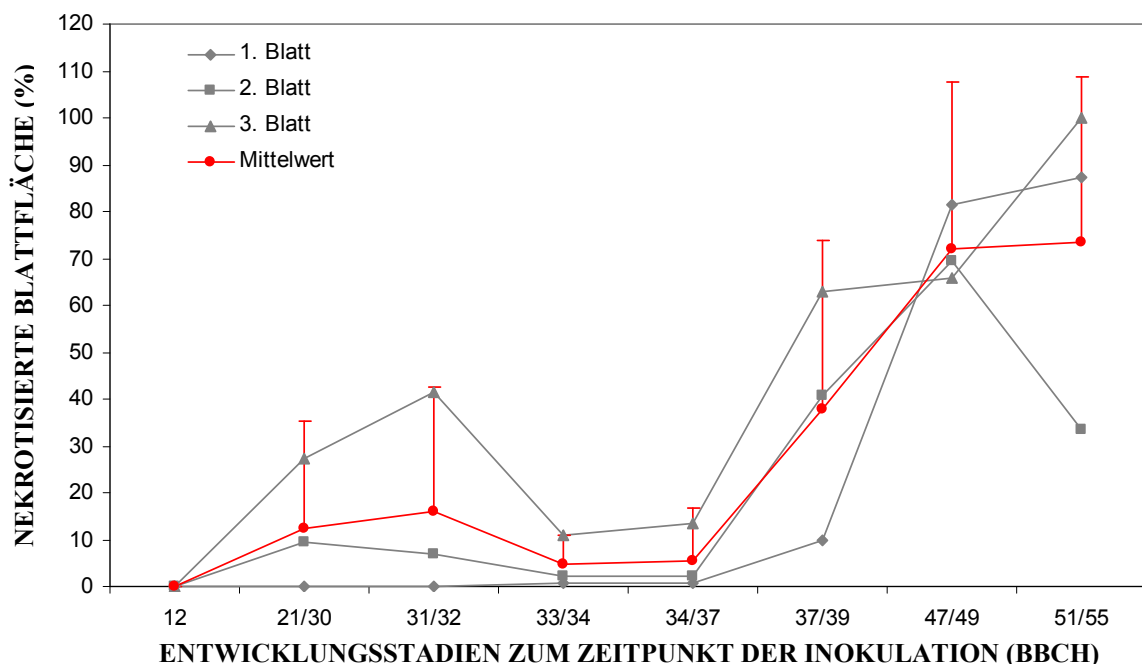


Abb. 31: Nekrotisierte Blattfläche der obersten drei Blattetagen in Abhängigkeit des Pflanzenentwicklungsstadiums zum Zeitpunkt der Inokulation. Die Nummerierung der Blattetagen erfolgte von oben (1. Blatt = oberstes Blatt) Eingesetzte Sorte: Barke. Der Befall wurde 14 Tage nach der Inokulation durch visuelles Schätzen der befallenen Blattfläche ermittelt. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar. n=20

Eine besondere, nicht weiter aufgeklärte Beobachtung war, dass einzelne Triebe der Sorte Barke, die ab dem Entwicklungsstadium Fahnenblattschieben (BBCH 37) inokuliert wurden, abstarben. Beginnend mit dem Fahnenblatt verfärbten sich die Pflanzen braun (Abb. 32).



Abb. 32: Einzelne Triebe der Sorte Barke der Variante, die in BBCH 51/55 inokuliert wurden, reagierte mit absterbenden Trieben. Wie auf dem Bild zu sehen starben zuerst die Fahnenblätter ab. Danach der gesamte Trieb. Die Pflanze überlebte, indem sie am Bestockungsknoten neue Triebe bildete.

Bei beiden Sorten steigt die Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* in jungen Entwicklungsstadien an (BBCH 21/30 bis 31/32) und nimmt dann wieder ab. Im weiteren Verlauf nimmt die Anfälligkeit bei beiden Sorten wieder zu. Zu dem Zeitpunkt, wenn die Anfälligkeit wieder zunimmt, unterscheiden sich die verwendeten Sorten. Die Sorte Barke reagiert mit einem früheren Anstieg der Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* als die Sorte Neruda. Auch der erste Peak ist bei der Sorte Barke stärker ausgeprägt als bei der Sorte Neruda.

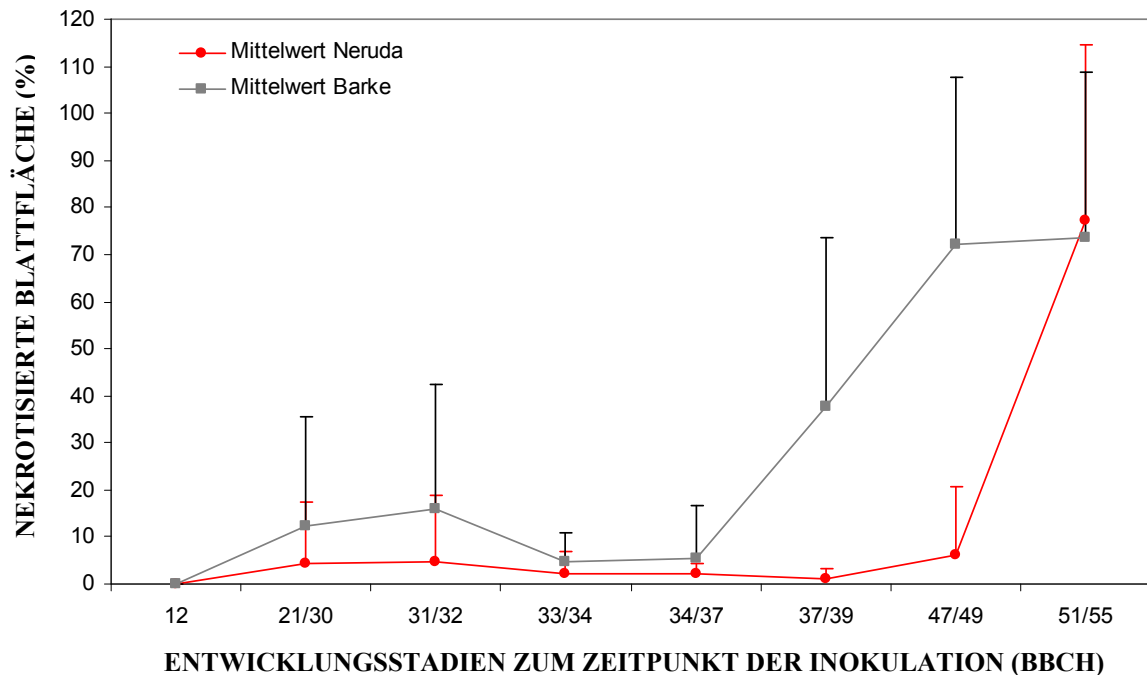


Abb. 33: Mittelwerte der nekrotisierten Blattfläche der jeweils obersten drei Blätter der verwendeten Sorten Barke und Neruda in Abhängigkeit des Pflanzenentwicklungsstadiums zum Zeitpunkt der Inokulation. Der Befall wurde 14 Tage nach der Inokulation durch visuelles Schätzen der befallenen Blattfläche ermittelt. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar. n=20.

3.3.6 Untersuchungen zur Inokulumquelle Stroh

Von anderen Getreidepathogenen ist die Übertragung durch und die Überdauerung auf Stroh bekannt. Um die Bedeutung von Stroh für die Epidemiologie von *R. collo-cygni* abzuschätzen, wurde im Herbst Stroh ausgestreut und leicht im Boden eingearbeitet. Anschließend wurden im wöchentlichen Abstand Proben genommen und der Erreger davon isoliert. Bereits zwei Wochen nach dem Ausbringen des Strohs konnten keine Isolate von *R. collo-cygni* mehr gewonnen werden (Tab. 12). Weitere Untersuchungen mit dem Lichtmikroskop zeigten, dass die auf dem Stroh vorhandenen Konidien auch nach 4tägiger Inkubation bei 95% RLH kein Wachstum zeigten. Nachdem wiederholt keine Isolate gewonnen werden konnten, wurde der Versuch nach dem 12. März abgebrochen.

Tab. 12: Zeitlicher Ablauf des Versuchs zur Ermittlung der Keimfähigkeit von Sporen auf Stroh. Das Stroh wurde oberflächlich in den Boden eingearbeitet.

Datum	Aktivität
03.11.2003	Stroh wurde in den Parzellen ausgebracht und eingearbeitet
10.11.2003	1. Probe im Feld gesammelt
14.11.2003	<i>R. collo-cygni</i> wurde erfolgreich von der 1. Probe vom 10.11.2003 isoliert
17.11.2003	Probe im Feld gesammelt
21.11.2003	keine Isolierung von <i>R. collo-cygni</i> möglich
24.11.2003	Probe im Feld gesammelt
28.11.2003	keine Isolierung von <i>R. collo-cygni</i> möglich
08.12.2003	Probe im Feld gesammelt
12.12.2003	keine Isolierung von <i>R. collo-cygni</i> möglich

3.3.7 Befallsverlauf von *R. collo-cygni* im Feld

Aus Beobachtungen war bekannt, dass *R. collo-cygni* sehr spät auftritt, der Krankheitsverlauf dann sehr schnell verläuft und die Blätter sehr schnell vollständig nekrotisiert werden. Es werden alle Blättertage nahezu gleichzeitig befallen, unabhängig davon, in welchem Seneszenzzustand sie sich befinden. Bereits totes Material wird nicht besiedelt. Um den Krankheitsverlauf genauer zu dokumentieren, wurden in 2004 am Standort Lenglern in der Sorte Candesse der Befall visuell auf den einzelnen Blättertagen bonitiert und Proben für eine anschließende DAS-ELISA-Untersuchung genommen. Die Ergebnisse aus den Untersuchungen sind in den Abbildungen 34 und 35 dargestellt.

Das erste Mal konnte *R. collo-cygni* am 7. Juni visuell diagnostiziert werden (Abb. 34). Die vierte Blättertage von oben (F-3) zeigte im gesamten Beobachtungszeitraum keine Symptome. Das letzte Mal wurde diese Blättertage am 24. Mai bonitiert. Auf den obersten drei Blättertagen startete die Symptomausprägung am 7. Juni. Die dritte Blättertage von oben (F-2) konnte danach noch eine weitere Woche beobachtet werden. Der Befall stieg auf 3,1% befallener Blattfläche. Für eine sichere Bonitur war die Blättertage danach zu seneszent. Zwei Wochen nach Auftreten der ersten *R. collo-cygni*-Symptome war der komplette Blattapparat abgestorben. Die Abschlussbonitur am 23. Juni zeigte auf dem Fahnblatt 92,2% und auf F-1 89,9% durch *R. collo-cygni* befallene Blattfläche.

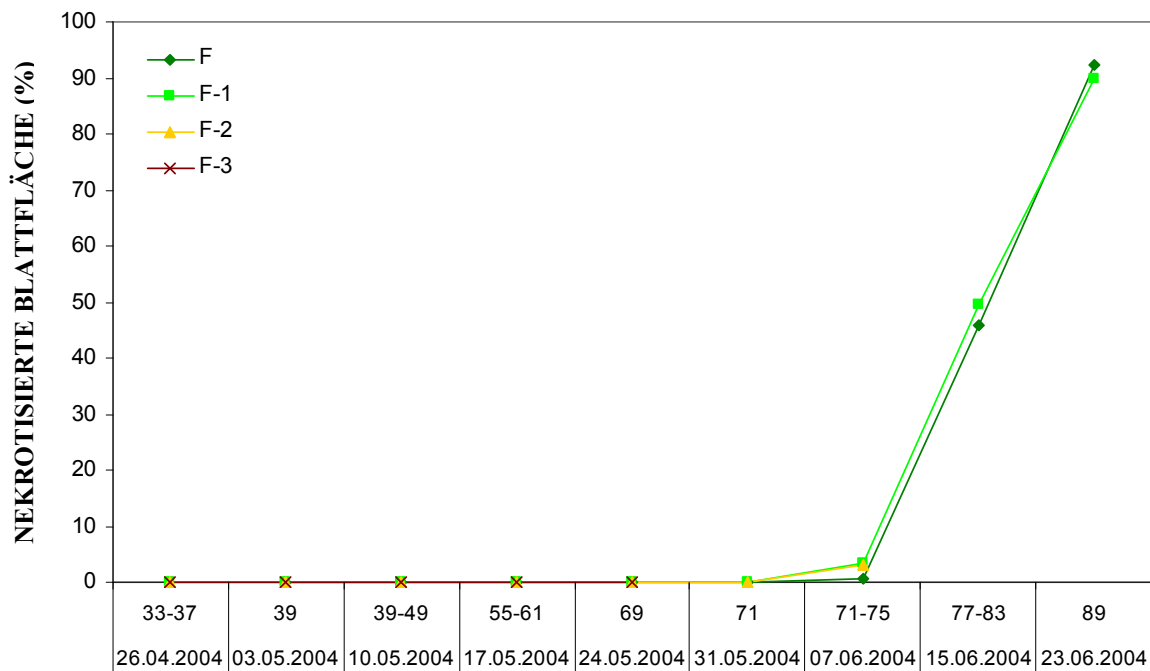


Abb. 34: Befallsverlauf durch *R. collo-cygni* in der Sorte Candesse am Standort Lenglern, 2004. Erfasst wurde die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche in Prozent befallener Blattfläche. Aufgrund der Abreife konnte die Blattetage F-3 nur bis zum 24. Mai und die Blattetage F-2 nur bis zum 7. Juni bonitiert werden. n=20

Die DAS-ELISA-Untersuchungen (Abb. 35) wurden an denselben Blättern durchgeführt, an denen zuvor der Befall mit *R. collo-cygni* visuell bonitiert wurde. Anders als bei visuellen Bonituren konnten auch Blattetagen untersucht werden, die nicht mehr visuell auswertbar waren. Daher konnten auch die Blattetagen F-2 und F-3 bis 23. Juni und F-4 bis zum 31. Mai analysiert werden. Anschließend waren die Blätter zu weit zersetzt.

Auf den beiden untersuchten untersten Blattetagen F-4 und F-3 stieg die Antigenkonzentration deutlich früher an als auf den obersten drei Blattetagen. Auf F-4 stiegen die Werte bereits am Anfang, am 3. Mai, über 25ng Antigen pro 100mg TS Blattmasse. Auf den Blattetagen F-3 und F-2 wurden am 24. Mai über 25ng Antigen pro 100mg TS Blattmasse gemessen. Die Antigenkonzentration stieg in F-3 deutlich stärker an als in den darüberliegenden Blattetagen. Auf den obersten drei Blattetagen nahm die Antigenkonzentration erst ab dem 7. Juni exponential zu.

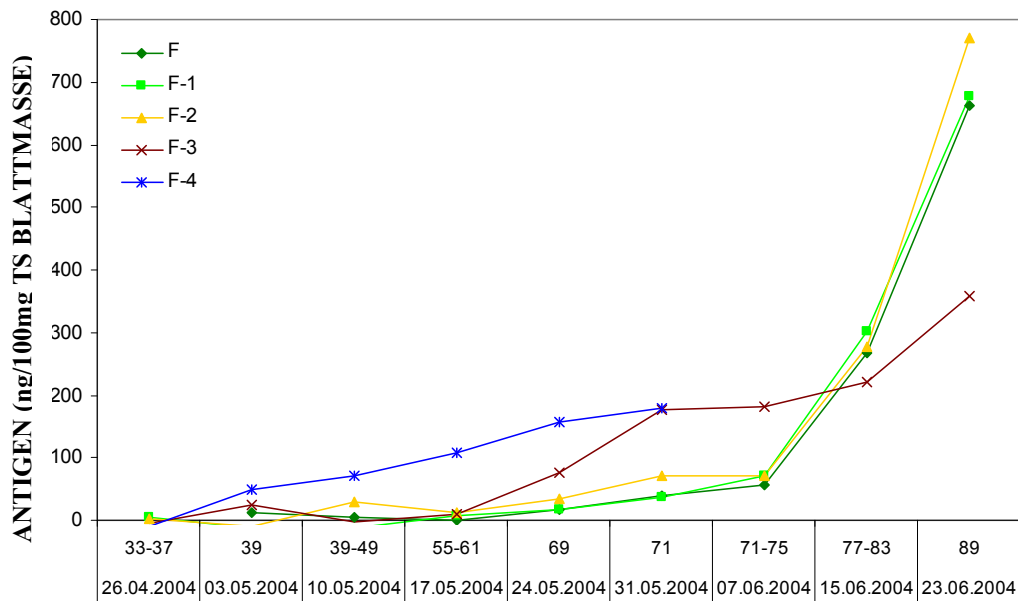


Abb. 35: Befallsverlauf durch *R. collo-cygni* an der Sorte Candesse am Standort Lenglern, 2004. Der Krankheitsverlauf wurde durch den Verlauf der Antigenkonzentration mittels DAS-ELISA in der jeweiligen Blattetage erfasst. Die Standardabweichung ist mittels Fehlerindicators dargestellt. n=20

In Abbildung 36 ist der gemessene Sporenflug mit den Witterungsdaten Niederschlag, Luftfeuchtigkeit und Temperatur für den Standort Lenglern dargestellt. Die Vegetationsperiode 2003/2004 hat sich nicht durch besondere Witterungsextreme ausgezeichnet. Außergewöhnlich war der Temperatureinbruch Ende Mai.

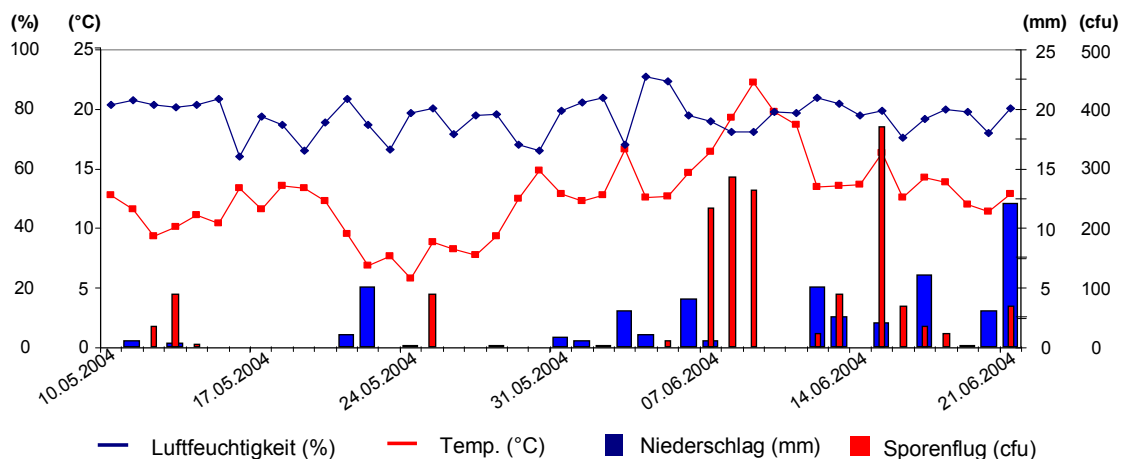


Abb. 36: Witterungsverlauf und Sporenflug am Versuchsstandort Lenglern im Beobachtungszeitraum 10. Mai bis 21. Juni 2004. Werte für Luftfeuchtigkeit und Temperatur vom DWD, Station 444 Göttingen, gemessen in 20cm Höhe. Niederschläge und Sporenflug wurden am Versuchsstandort gemessen.

cfu = Anzahl gekeimter Sporen pro Petrischale

Zwischen Luftfeuchtigkeit, Temperatur und dem Sporenflug konnte kein Zusammenhang hergestellt werden. Anders war dies mit den gemessenen Niederschlägen. Unmittelbar vor oder während jedes Sporenflugauftretens kam es am Versuchsstandort zu Niederschlagsereignissen, ein Zusammenhang zwischen diesen beiden Ereignissen liegt nahe.

Die Luftfeuchtigkeit variierte im gesamten Aufzeichnungszeitraum zwischen 66% RLF und 94% RLF. Am 4. und 5. Juni stieg die Luftfeuchtigkeit kurzfristig auf bis zu 91% RLF an. Im restlichen Beobachtungszeitraum pendelte die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 66% und 84% RLF. Eine Korrelation zum Sporenflug konnte nicht festgestellt werden.

Die Temperatur an der Wetterstation in Göttingen in 20cm Höhe über dem Erdboden variierte sehr stark. Die tiefsten Temperaturen wurden am 22. bis 24. Mai gemessen. In diesem Zeitraum lagen die Tagesdurchschnittstemperaturen zwischen 5°C und 8°C. Der höchste Tagesmittelwert wurde am 9. Juni mit 22°C ermittelt. Zu Beginn des Beobachtungszeitraums, 10. bis 20. Mai, variierten die Temperaturen zwischen 10°C und 14°C. Ausnahme war der 12. Mai, an dem die Tagesdurchschnittstemperatur knapp unter 10°C lag. In der Zeit vom 21. bis 28. Mai kühlte es sich deutlich ab. Die Temperaturen lagen in diesem Zeitraum zwischen 10°C und 5°C. Vom 29. Mai bis 9. Juni stieg die Temperatur bis auf 22°C an. Danach fiel die Temperatur bis zum 12. Juni auf 14°C ab. Anschließend pendelten die Temperaturen wieder zwischen 12°C und 14°C. Auch hier konnte kein Zusammenhang zum Sporenflug hergestellt werden.

An 20 Tagen im Beobachtungszeitraum wurden Niederschläge gemessen. Häufig, an 9 Tagen, lagen sie unter 1l/m². In dem Beobachtungszeitraum wurden insgesamt 47,5l/m² gemessen. Im Mai wurden am 11. (0,5l/m²), 13. (0,3l/m²), 21. (1l/m²), 22. (5l/m²), 24. (1l/m²), 28. (0,1l/m²) und 31. (0,8l/m²) Niederschläge festgestellt. Im Juni regnete es am 1. (0,5l/m²), 2. (0,1l/m²), 3. (3l/m²), 4. (1l/m²), 6. (4l/m²), 7. (0,5l/m²), 12. (5l/m²), 13. (2,5l/m²), 15. (2l/m²), 17. (6l/m²), 19. (0,1l/m²), 20. (3l/m²) und 21. (12l/m²).

Sporenflug konnte im Mai am 12. (34 Sporen/14,77cm²), 13. (88 Sporen/14,77cm²), 14. (5 Sporen/14,77cm²) und 25. (88 Sporen/14,77cm²) festgestellt werden. Im Juni wurden am 5. (10 Sporen/14,77cm²), 7. (232 Sporen/14,77cm²), 8. (285 Sporen/14,77cm²), 9. (262 Sporen/14,77cm²), 15. (368 Sporen/14,77cm²), 16. (69 Sporen/14,77cm²), 17. (34 Sporen/14,77cm²), 18. (21 Sporen/14,77cm²) und 21. (69 Sporen/14,77cm²) Sporen gemessen.

3.4 Verbreitung und Auftreten von *R. collo-cygni* in Deutschland

Eine der Kernfragen der Arbeit war, die Verbreitung von *R. collo-cygni* innerhalb Deutschlands festzustellen. Zu diesem Zweck wurde in Zusammenarbeit mit Syngenta Agro GmbH ein zweijähriges Monitoring (2003 und 2004) durchgeführt. Im dritten Jahr (2005) wurden Proben vom Bundessortenamt, Syngenta Agro GmbH, BASF AG, Bayer CropScience Deutschland und Stähler Chemie eingeschickt.

3.4.1 Verbreitung von *R. collo-cygni* in 2003

Das erste Monitoringjahr 2003 kennzeichnete einen langen kalten Winter mit ausgeprägten Frösten. Mitte April stiegen die Temperaturen deutlich an und Mai und Juni waren außergewöhnlich heiß. Aber nicht nur die Temperaturen waren von Extremen gekennzeichnet, sondern auch die Niederschläge, die häufig ausblieben.

In 2003 wurden 124 Proben von 101 Standorten eingeschickt und analysiert. Die genaue Aufteilung der Herkünfte ist in Tabelle 13 dargestellt.

Tab. 13: Herkunft der Proben der Proben für das Monitoring 2003; nach Bundesländern sortiert

	Eingegangene Proben ¹		Standorte ²	
	Stück	%	Stück	%
Baden-Württemberg	4	3,2	4	4,0
Bayern	9	7,3	9	8,9
Brandenburg	7	5,6	7	6,9
Hessen	7	5,6	4	4,0
Mecklenburg-Vorpommern	22	17,7	13	12,9
Niedersachsen	22	17,7	20	19,8
Nordrhein-Westfalen	17	13,7	17	16,8
Rheinland Pfalz	3	2,4	3	3,0
Saarland	0	0,0	0	0,0
Sachsen	10	8,1	9	8,9
Sachsen-Anhalt	3	2,4	3	3,0
Schleswig-Holstein	8	6,5	5	5,0
Thüringen	9	7,3	7	6,9
k.A. ³	3	2,4		0,0
Summe	124	100	101	100

¹ Von einem Standort wurden vereinzelt mehrere Proben eingeschickt.

² Proben aus unterschiedlichen Postleitzahlenbereichen wurden als Standorte definiert.

³ Keine Angaben, Proben ohne Herkunftsangaben wurden nicht in das Monitoring einbezogen.

Zu Beginn des Monitorings war der optimale Probenahmetermin unklar. Die ersten Proben wurden während der Blüte zwischen BBCH 61 und 69 gezogen. Auf diesen Proben konnte kein *R. collo-cygni*-Befall festgestellt werden. Daher wurde der Probenahmetermin nach hinten in die Fruchtbildung, BBCH 71 bis 77, verschoben. Auch unter diesen Proben waren nur wenige Positivfunde. Mehr als ein Drittel der Proben wurde daher noch nach dem nach hinten versetzten Probenahmetermin, nach BBCH 77 gesammelt. Die genaue Aufteilung ist in Tabelle 14 dargestellt.

Tab. 14: Entwicklungsstadienverteilung der in 2003 für das Monitoring eingeschickten Proben. Eine Probe bestand aus 20 Fahnenblättern (F).

BBCH Stadium	Proben ¹		Standorte ²	
	Stück	%	Stück	%
bis 59	7	5,6	7	6,9
61-69	33	26,6	32	31,7
71-77	35	28,2	21	20,8
über 77	48	38,7	40	39,6
k.A. ³	1	0,8	1	1,0
Summe	124	100,0	101	100,0

¹ Von einem Standort wurden vereinzelt mehrere Proben eingeschickt.

² Proben aus unterschiedlichen Postleitzahlenbereichen wurden als Standorte definiert.

³ Keine Angaben, nur Bätter eingeschendet.

Die Befallshäufigkeit von *Erysiphe graminis*, *Rhynchosporium secalis*, *Pyrenophora teres* und *Puccinia* spp. lag unter den Erwartungen für unbehandelte Kontrollpflanzen, genauso wie die jeweilige Befallsstärke der befallenen Proben. Überdurchschnittlich häufig wurden PLS-Blattflecken festgestellt. Die Befallsstärke war mit durchschnittlich 2,5% befallener Blattfläche sehr gering (Tab. 15).

Tab. 15: Befallshäufigkeit und Befallsstärke der bonitierten Pathogene auf den in 2003 eingeschickten Proben für das Monitoring. Eine Probe bestand aus 20 Fahrenblättern (F).

	Proben ¹			Standorte ²		
	Stück	%	befallene Bl.fl. ³	Stück	%	befallene Bl.fl. ³
Mehltau	42	33,9	1,8	34	33,3	1,76
Netzflecken	27	21,8	0,7	20	19,6	0,64
PLS	119	96,0	2,5	96	94,1	2,40
Rcc ⁴	15	12,1	91,6	11	10,8	89,03
Rhyncho. ⁵	32	25,8	2,4	43	42,2	2,08
Rost	0	0,0	0,0	0	0,0	0

¹ Von einigen Standorten wurden zum Teil mehrere Proben eingeschickt.

² Proben aus unterschiedlichen Postleitzahlenbereichen wurden als Standorte definiert.

³ befallene Blattfläche in % (visuell bonitiert)

⁴ *R. collo-cygni*-Blattflecken

⁵ Rhynchosporium-secalis-Blattflecken

Bei der Verteilung von PLS und *R. collo-cygni* über die Bundesländer gesehen fällt auf, dass PLS-Blattflecken in allen Bundesländern gefunden wurden. Auf allen Proben aus Brandenburg, Sachsen-Anhalt und Rheinland-Pfalz konnten PLS-Symptome diagnostiziert werden. Auch Bayern hatte mit 94% einen sehr hohen Anteil Proben mit PLS-Blattflecken. Insgesamt waren 95% der eingesendeten Proben mit PLS-Blattflecken befallen. *R. collo-cygni* wurde seltener festgestellt. Nur auf 11% der eingeschickten Proben konnte *R. collo-cygni* festgestellt werden. Mit einem Anteil von 50% befallener Proben waren Baden-Württemberg und Hessen besonders stark betroffen. Bayern, mit deutlich mehr Probeneinsendungen, war mit 44% befallenen Proben mit *R. collo-cygni* ebenfalls stark betroffen. Auf Proben aus Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt, Thüringen und Schleswig-Holstein konnten 2003 keine *R. collo-cygni*-Symptome festgestellt werden (Tab. 16).

Tab. 16: Verteilung der Standorte mit PLS und/oder *R. collo-cygni*-positiven Proben, sortiert nach Bundesländern (Monitoring 2003)

	Standorte mit Befall			
	PLS ¹		Rcc ²	
	Stück	%	Stück	%
Baden-Württemberg	3	75	2	50
Bayern	7	78	4	44
Brandenburg	7	100	0	0
Hessen	4	57	2	50
Mecklenburg-Vorpommern	13	59	0	0
Niedersachsen	19	86	1	5
Nordrhein-Westfalen	16	94	1	6
Rheinland-Pfalz	3	100	1	33
Saarland	0		0	
Sachsen	9	90	0	0
Sachsen-Anhalt	3	100	0	0
Schleswig-Holstein	5	63	0	0
Thüringen	7	78	0	0
Summe	96	95	11	11

¹ Physiologische Blattflecken

² *R. collo-cygni*-Blattflecken

Abbildung 37 zeigt die Monitoringstandorte auf einer Deutschlandkarte abgebildet. Die Farbe der Punkte richtet sich nach der Befallsstärke durch *R. collo-cygni*. An Standorten mit einem grünen Punkt konnte kein Befall durch *R. collo-cygni* nachgewiesen werden. Die unterschiedlichen gelben und roten Töne kennzeichnen Standorte mit *R. collo-cygni*-Befall. Die Intensität der Rotfärbung zeigt die Befallsstärke an. Gelb steht nur für geringen Befall, Dunkelrot für sehr starken Befall an der eingeschickten Probe.

Auf der Karte ist die Verschiebung des Probenzeitpunktes deutlich zu erkennen. Proben, die zu einem späteren Zeitpunkt genommen wurden, zeigten in dem Monitoring einen deutlich stärkeren Befall mit *R. collo-cygni* als früher genommene Proben.

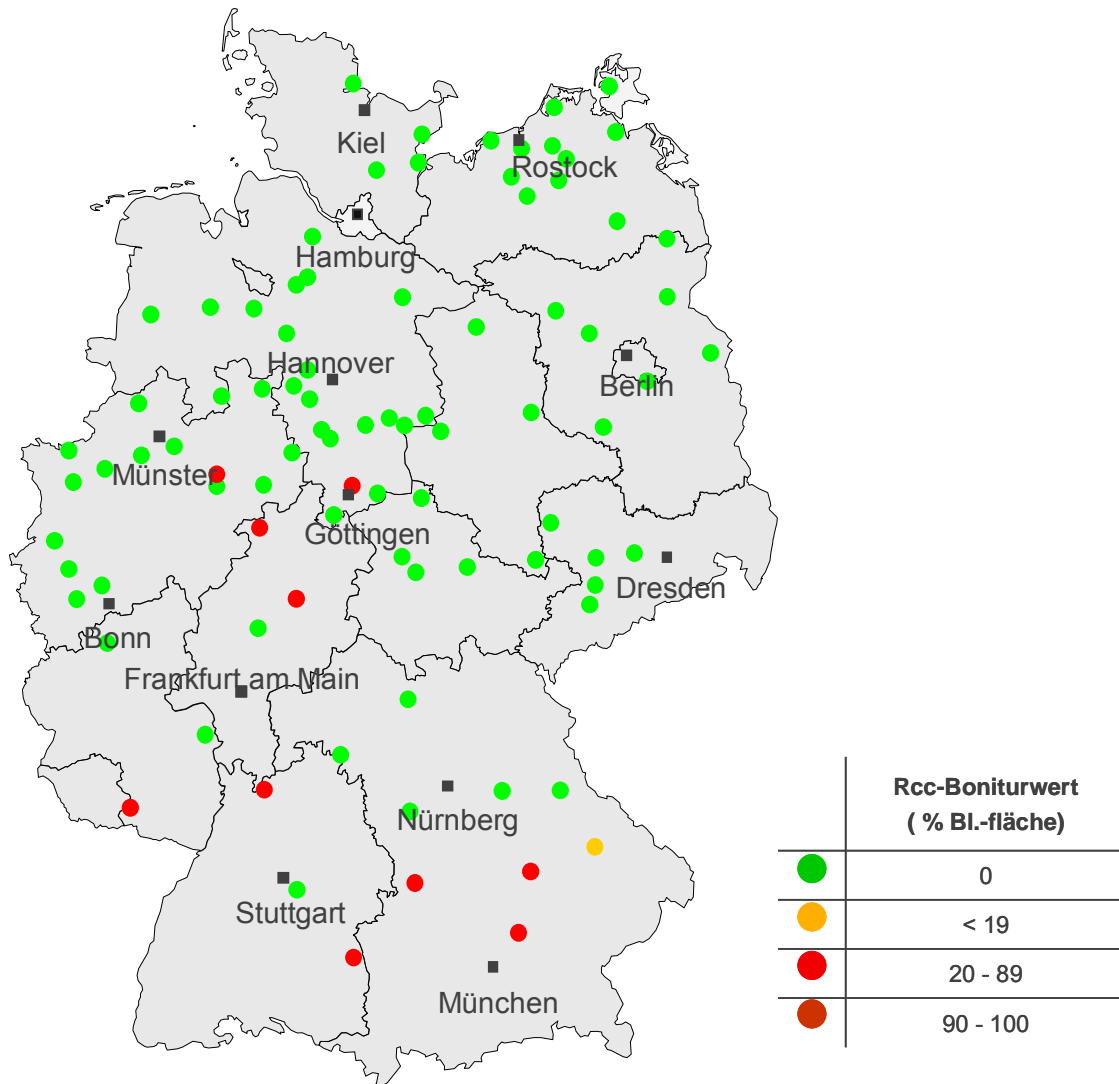


Abb. 37: Geographische Verteilung der eingeschickten Proben und Befallstärke durch *R. collo-cygni* in 2003

3.4.2 Verbreitung von *R. collo-cygni* in 2004

Der Winter 2003/2004 dauerte von Anfang Dezember bis Anfang März und war damit, wie im Jahr zuvor, vergleichbar lang. Die Durchschnittstemperaturen waren im Vergleich deutlich wärmer als im Winter 2002/2003. Ab Anfang März stiegen die Temperaturen an. Anfang Mai gab es einen erneuten Kälteeinbruch, der aber nur wenige Tage andauerte. Die Temperaturen im Mai und Juni waren gemäßigt. Die Wasserversorgung war über das erste halbe Jahr durch Niederschläge abgedeckt und ausgeglichen.

Insgesamt wurden 2004 160 Proben von 104 unterschiedlichen Standorten für das Monitoring eingeschickt. Die Verteilung über die Bundesländer ist in Tabelle 17 aufgeschlüsselt. Aus Rheinland-Pfalz und Saarland wurden keine Proben eingeschickt. Die meisten Proben

(64,4%) stammten aus den Bundesländern Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Bayern und Baden-Württemberg.

Tab. 17: Herkunft der Proben für das Monitoring 2004 nach Bundesländern. Eine Probe bestand aus 20 Fahrenblättern (F).

	eingegangene Proben ¹		unterschiedliche Standorte ²	
	Stück	%	Stück	%
Baden-Württemberg	21	13,1	14	13,5
Bayern	29	18,1	16	15,4
Brandenburg	12	7,5	7	6,7
Hessen	5	3,1	4	3,8
Mecklenburg-Vorpommern	6	3,8	5	4,8
Niedersachsen	29	18,1	20	19,2
Nordrhein-Westfalen	25	15,6	17	16,3
Rheinland-Pfalz	0	0,0	0	0,0
Saarland	0	0,0	0	0,0
Sachsen	6	3,8	3	2,9
Sachsen-Anhalt	13	8,1	9	8,7
Schleswig-Holstein	9	5,6	5	4,8
Thüringen	5	3,1	4	3,8
Summe	160	100	104	100

¹ Von einem Standort wurden vereinzelt mehrere Proben eingeschickt.

² Proben aus unterschiedlichen Postleitzahlenbereichen wurden als Standorte definiert.

Da die in 2003 später eingeschickten Proben häufiger *R. collo-cygni* aufwiesen, war das Bestreben in 2004, möglichst spät die Proben zu nehmen. Da an den Blättern noch visuell der Befall mit Pathogenen bestimmt werden sollte, durfte der Termin nicht zu spät gewählt werden. Ein Kompromiss zwischen beiden Aspekten stellte der Termin zur Mitte der Milchreife, BBCH 75, dar. Die Tabelle 18 zeigt, in welchen Entwicklungsstadien die Pflanzen auf dem Feld gezogen wurden. Nur 5,8% der Proben wurden vor dem angestrebten Entwicklungsalter der Pflanzen eingeschickt. Die Mehrheit der Proben wurde um das angestrebte Entwicklungsalter eingeschickt. Knapp über einem Drittel (35,6%) wurden nach BBCH 79 gesammelt.

Tab. 18: Entwicklungsstadienverteilung der in 2004 für das Monitoring eingeschickten Proben. Eine Probe bestand aus 20 Fahnenblättern (F).

BBCH Stadium	Proben ¹		Standorte ²	
	absolut	%	absolut	%
bis 59	10	6,3	5	4,8
61-69	1	0,6	1	1,0
71-77	90	56,3	61	58,7
über 77	29	18,1	15	14,4
k.A.	30	18,8	22	21,2
Summe	160	100,0	104	100,0

¹ Von einem Standort wurden vereinzelt mehrere Proben eingeschickt.

² Proben aus unterschiedlichen Postleitzahlenbereichen wurden als Standorte bezeichnet.

³ Keine Angaben, es wurden nur Blätter eingeschickt.

Anders als in 2003 stammten die Proben in 2004 nicht von Kontrollparzellen, sondern aus Praxisschlägen. Dies war möglich, da aus den Fungizidversuchen bekannt war, dass kein auf dem Markt verfügbares Produkt eine ausreichende Wirkung gegen *R. collo-cygni* hatte. Da die anderen beobachteten Pathogene allerdings gut von den auf dem Markt befindlichen Produkten erfasst wurden, war eine Auswertung nach den klassischen Pathogenen nicht zweckmäßig.

Die Tabelle 19 zeigt den Befall mit *R. collo-cygni* und PLS aufgesplittet auf die einzelnen Bundesländer. Wie im Vorjahr wurden die eingesandten Proben visuell bonitiert. Zusätzlich wurden die Proben noch mit dem neu entwickelten DAS-ELISA untersucht. Die durchschnittlichen Befallswerte bzw. Antigenwerte sind in der Tabelle ebenfalls mit aufgeführt. Die Bundesländer Rheinland-Pfalz und Saarland schickten keine Proben ein. Anders als im Vorjahr war die Befallshäufigkeit von PLS deutlich geringer. Nur an 78% der Standorte konnte PLS diagnostiziert werden. Die durchschnittlich befallene Blattfläche mit PLS war leicht angestiegen auf 3,2%. Die Standorte, an denen *R. collo-cygni* anhand der Symptome festgestellt werden konnte, stiegen mit 63% im Vergleich zum Vorjahr deutlich an. Die befallene Blattfläche lag auf diesen Standorten bei 18%. Die Befallshäufigkeit, die mit dem DAS-ELISA nachgewiesen werden konnte lag bei 98%. Der durchschnittliche Antigengehalt lag bei 230,2 ng/100mg TS Blattmasse.

Bereits visuell konnte *R. collo-cygni* auf Proben aus jedem Bundesland festgestellt werden.

Tab. 19: Verteilung der Standorte mit PLS und *R. collo-cygni*-positiven Proben nach Bundesländern. Eine Probe bestand aus 20 Fahnenblättern (F).

	PLS ¹			Rcc ² (Bonitur)			Rcc ² (ELISA)		
	Stück	% ³	Ø Befall	Stück	% ³	Ø Befall	Stück	% ³	Ø Befall
Baden-Württemberg	10	71	3,4	6	43	42,0	12	86	402,0
Bayern	9	56	3,2	11	69	23,4	16	100	276,5
Brandenburg	6	86	2,2	4	57	10,5	6	86	182,9
Hessen	3	75	0,4	3	75	21,8	4	100	172,2
Mecklenburg-Vorpommern	5	100	1,1	3	60	1,0	5	100	145,7
Niedersachsen	9	45	9,2	12	60	25,8	20	100	361,8
Nordrhein-Westfalen	10	59	1,1	11	65	31,6	16	94	357,8
Rheinland-Pfalz	keine Proben eingeschickt								
Saarland	keine Proben eingeschickt								
Sachsen	3	100	3,2	3	100	13,6	3	100	190,2
Sachsen-Anhalt	6	67	11,0	8	89	12,7	8	89	176,1
Schleswig-Holstein	5	100	0,4	1	20	0,8	4	80	94,5
Thüringen	1	25	0,0	3	75	15,0	4	100	172,1
Summe/Mittel	67	78	3,20	65	63	18	98	94	230,2

¹ Physiologische Blattflecken² *R. collo-cygni*-Blattflecken³ Prozentualer Anteil befallener Standorte von Standorten aus dem Bundesland

Die genaue Verteilung der Standorte über Deutschland hinweg und die Anitgenkonzentration sind in Abbildung 38 dargestellt.

Die Farbe der Punkte richtet sich nach der Befallsstärke mit *R. collo-cygni*. An Standorten mit einem grünen Punkt konnte kein *R. collo-cygni* nachgewiesen werden. Die unterschiedlichen Gelb- und Rottöne kennzeichnen Standorte mit *R. collo-cygni*-Befall. Die Intensität der Rotfärbung zeigt die Befallsstärke an. Gelb steht für geringen Befall, Dunkelrot für sehr starken Befall durch *R. collo-cygni* der eingeschickten Probe.

Es waren keine regionalen Befallsschwerpunkte zu erkennen. *R. collo-cygni* trat 2004 in ganz Deutschland flächendeckend auf.

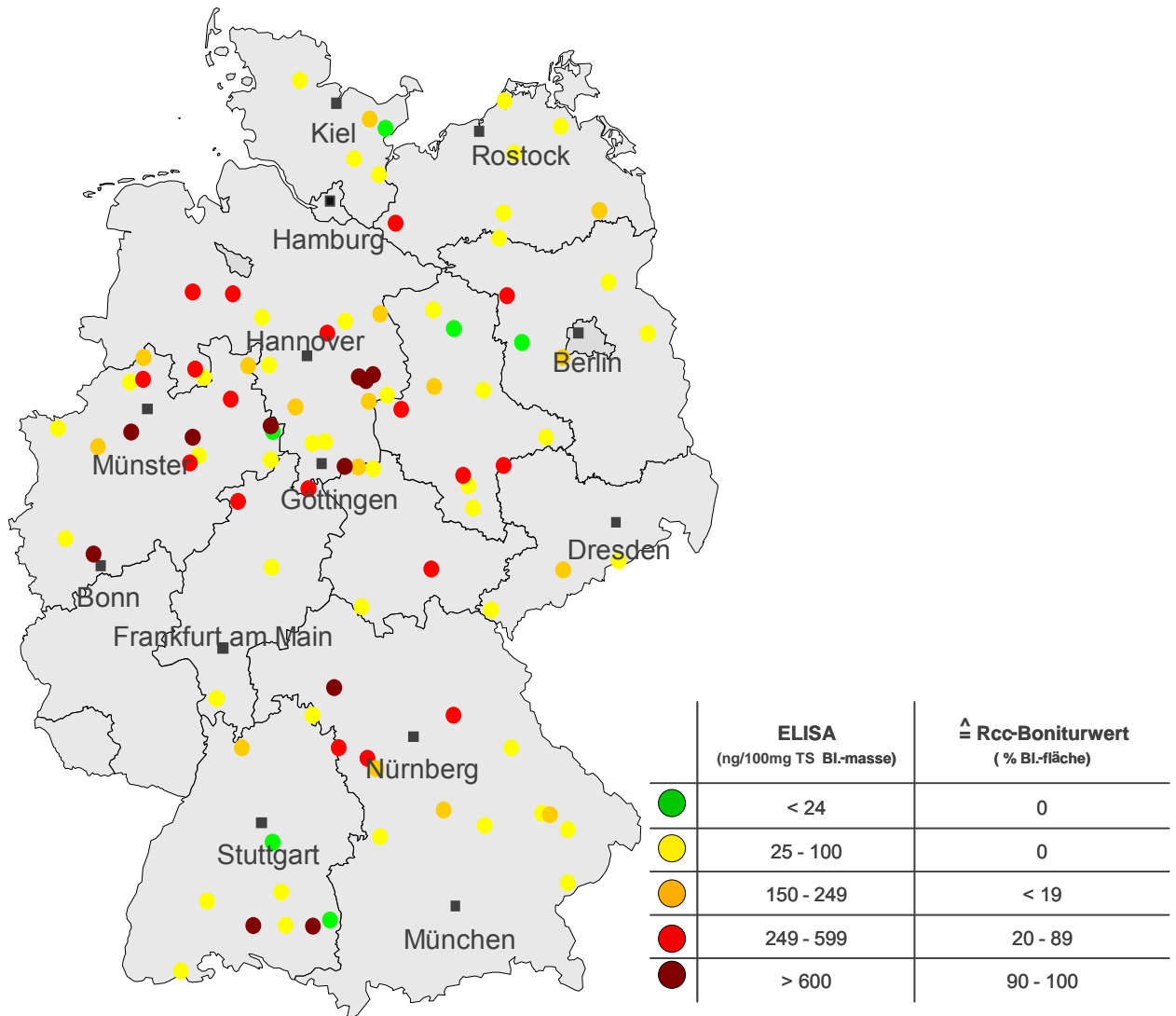


Abb. 38: Geographische Verteilung der eingeschickten Proben und Befallstärke durch *R. collo-cygni* in 2004 in Deutschland

3.4.3 Verbreitung von *R. collo-cygni* in 2005

In 2004 setzte der Winter mit Anfang Dezember für die Region relativ spät ein. Der Januar war außergewöhnlich warm mit Tageshöchsttemperaturen über 10°C. Ende Januar nahmen die Temperaturen wieder ab. Ende Februar kam es zu einer ausgeprägten Frostphase. Direkt darauf, Anfang März, stiegen die Temperaturen deutlich an. Die Zeit zwischen Anfang März und Ende Mai war sehr mild und eher kühl. Die Niederschlagsverteilung war gut. Es bestand kein Wassermangel im ersten Halbjahr 2005.

Im Vergleich zu den Vorjahren wurden in 2005 deutlich weniger Proben eingeschickt. Der Grund war der Umstieg von den Servicebetrieben der Syngenta Agro GmbH hin zu unverbindlichen Probennehmern.

Bis auf die Bundesländer Brandenburg, Saarland, Rheinland-Pfalz und Thüringen beteiligten sich alle Bundesländer an dem Monitoring. Die meisten Proben wurden in Nordrhein-Westfalen, Baden-Württemberg und Bayern gesammelt. Aus diesen drei Bundesländern stammten 57,5% aller eingeschickten Probenstandorte. Die genaue Aufteilung der Proben ist in Tabelle 20 aufgestellt.

Tab. 20: Herkunft der Proben für das Monitoring 2005 nach Bundesländern. Eine Probe bestand aus 20 Fahrenblättern (F).

	unterschiedliche Standorte ¹	
	Stück	%
Baden-Württemberg	8	20,0
Bayern	7	17,5
Brandenburg	0	0,0
Hessen	3	7,5
Mecklenburg-Vorpommern	2	5,0
Niedersachsen	5	12,5
Nordrhein-Westfalen	8	20,0
Rheinland-Pfalz	0	0,0
Saarland	0	0,0
Sachsen	2	5,0
Sachsen-Anhalt	1	2,5
Schleswig-Holstein	4	10,0
Thüringen	0	0,0
Summe	40	100

¹ Proben aus unterschiedlichen Postleitzahlenbereichen wurde als Standorte definiert.

Der Zeitpunkt, zu dem die Proben gesammelt werden sollten, hatte sich in 2004 bewährt und wurde nicht verändert. Angestrebter Probenahmetermin war BBCH 75, Mitte Teigreife. In Tab. 21 sind die Entwicklungsstadien der eingeschickten Proben aufgezeigt. Vergleichbar wie in 2004 wurden einige Proben noch nach dem angestrebten Termin gesammelt. In 2004 war diese Tendenz zu späteren Probenahmeterminen ausgeprägter. Keine der eingeschickten Proben war in der Abreife und hätte daher nicht bonitiert werden können.

Tab. 21: Entwicklungsstadienverteilung der in 2005 für das Monitoring eingeschickten Proben. Eine Probe bestand aus 20 Fahnenblättern (F).

	Standorte	
	Stück	%
bis 59	1	2,5
61-69	0	0,0
71-77	16	40,0
über 77	22	55,0
keine Angaben ¹	1	2,5
Summe	40	

¹ Keine Angaben, es wurden nur Blätter eingeschickt.

Da in 2005 nur Proben mit Verdacht auf *R. collo-cygni* eingeschickt wurden, war der Befall mit PLS-Blattflecken sehr gering. Die genaue Verteilung nach Bundesländern ist in Tabelle 22 aufgeführt. Auf den eingeschickten Proben konnten keine PLS-Blattflecken festgestellt werden. Dafür wurde auf allen Proben *R. collo-cygni* diagnostiziert. Den stärksten durchschnittlichen Befall hatten die Proben aus Baden-Württemberg mit durchschnittlich 71,9% befallener Blattfläche, gefolgt von Nordrhein-Westfalen und Bayern, beide über 50% befallene Blattfläche. Den geringsten Befall hatte Mecklenburg-Vorpommern mit 0,1% befallener Blattfläche. Die Proben aus Hessen zeigten vergleichbar hohe Antigenwerte wie Bayern und Nordrhein-Westfalen. Diese hohen Werte zeigten sich nicht in den Boniturwerten.

Tab. 22: Verteilung der Standorte mit PLS und *R. collo-cygni*-positiven Proben nach Bundesländern. Eine Probe bestand aus 20 Fahrenblättern (F).

	PLS ¹			Rcc ² (Bonitur)			Rcc ² (ELISA)		
	Stück	% ³	Ø Befall	Stück	% ³	Ø Befall	Stück	% ³	Ø Befall
Baden-Württemberg	0	- ⁴	- ⁴	8	20,0	71,9	8,0	20	554,6
Bayern	0	- ⁴	- ⁴	7	17,5	55,4	7,0	18	431,2
Brandenburg	0	- ⁴	- ⁴	0	- ⁴	- ⁴	0,0	- ⁴	- ⁴
Hessen	0	- ⁴	- ⁴	3	7,5	41,4	3,0	8	449,9
Mecklenburg-Vorpommern	0	- ⁴	- ⁴	1	2,5	0,1	2,0	5	74,3
Niedersachsen	0	- ⁴	- ⁴	5	12,5	39,4	5,0	13	378,3
Nordrhein-Westfalen	0	- ⁴	- ⁴	8	20,0	58,0	8,0	20	452,9
Rheinland-Pfalz	0	- ⁴	- ⁴	0	0,0	- ⁴	0,0	- ⁴	- ⁴
Saarland	0	- ⁴	- ⁴	0	0,0	- ⁴	0,0	- ⁴	- ⁴
Sachsen	0	- ⁴	- ⁴	2	5,0	27,3	2,0	5	313,7
Sachsen-Anhalt	0	- ⁴	- ⁴	1	2,5	13,1	1,0	3	201,3
Schleswig-Holstein	0	- ⁴	- ⁴	4	10,0	24,1	4,0	10	187,5
Thüringen	0	- ⁴	- ⁴	0	0,0	- ⁴	0,0	- ⁴	- ⁴
Summe/Mittel	0			39			40		338,2

¹ Physiologische Blattflecken² *R. collo-cygni*-Blattflecken³ Prozentualer Anteil befallener Standorte von Standorten aus dem Bundesland⁴ Keine positiven Proben, es konnten keine Werte berechnet werden.

Die genaue Verteilung der Standorte und die Antigenkonzentration sind in Abbildung 39 dargestellt. Die Farbe der Punkte richtet sich nach der Befallsstärke mit *R. collo-cygni*. An Standorten mit einem grünen Punkt konnte kein *R. collo-cygni* nachgewiesen werden. Die unterschiedlichen Gelb- und Rottöne kennzeichnen wieder die Befallsstärke an den Standorten. Es waren keine regionalen Befallsschwerpunkte zu erkennen. *R. collo-cygni* trat 2005 in ganz Deutschland flächendeckend auf. Vergleichbar mit den Jahren zuvor konnte auch in 2005 kein Nord-Süd-Gradient festgestellt werden.

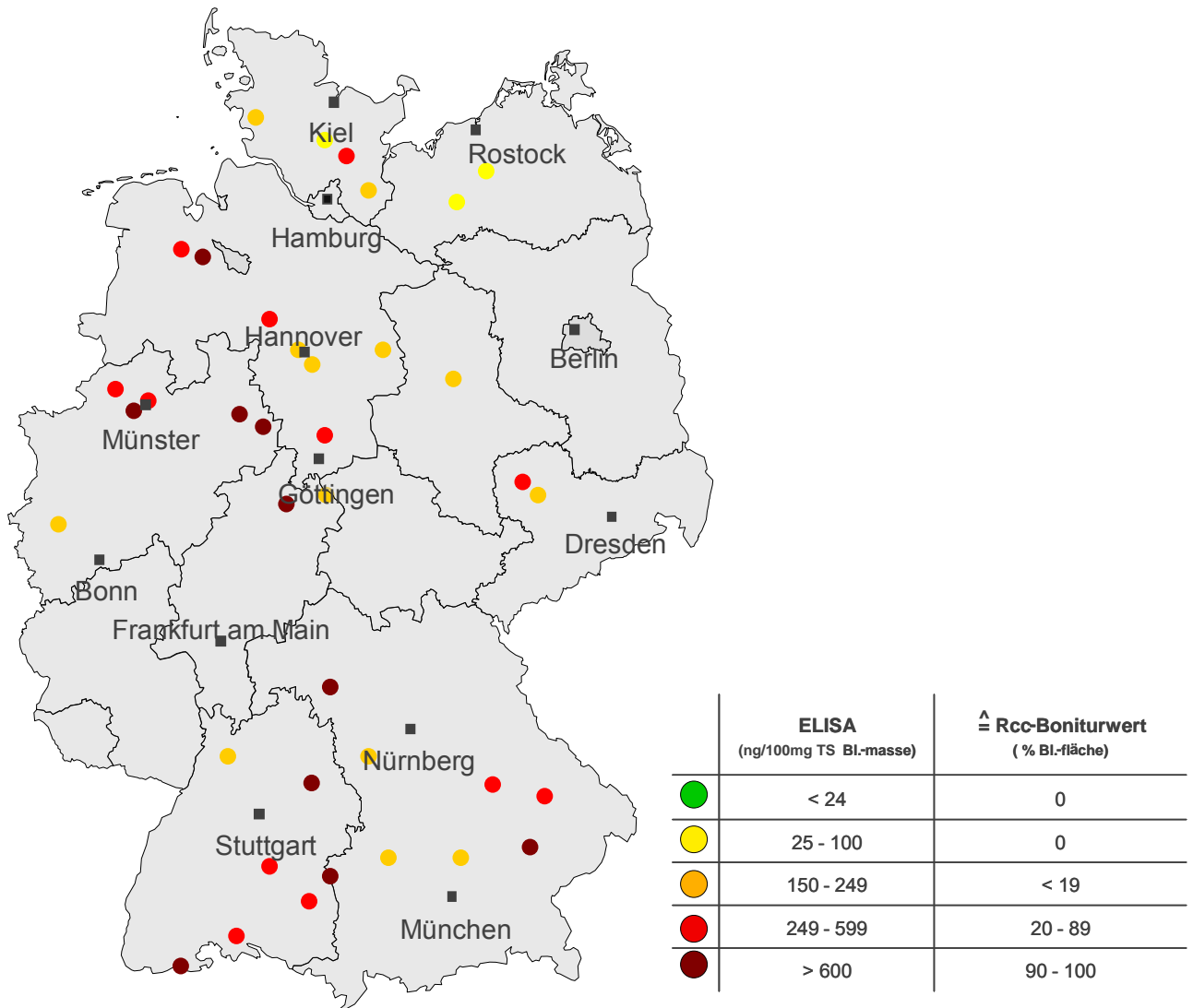


Abb. 39: Geographische Verteilung der eingeschickten Proben und Befallstärke durch *R. collycygni* in 2005

3.5 Schadwirkung von *R. collo-cygni*

Die Bedeutung eines Pathogens in der Praxis hängt von dem möglichen Ausmaß des Schadens ab, den der Erreger erzeugen kann. Daher war ein Ziel der Arbeit, die ökonomische Bedeutung des Erregers zu erarbeiten. Schadwirkungen können durch unterschiedliche Parameter gemessen werden. Einer der wichtigsten Parameter ist der Ertrag. Neben dem Ertrag ist besonders bei Gerste die Korngrößenverteilung ein bedeutender Faktor. Beide Kriterien wurden in der vorliegenden Arbeit untersucht.

Die Reduzierung des Ertrages stellt den offensichtlichsten Schaden dar. Durch die Anwendung von Bravo 500, einem Kontaktwirkstoff ohne physiologische Nebeneffekte, zu unterschiedlichen Zeitpunkten und mit abgestuften Aufwandmengen gelang es, unterschiedliche Befallsstärken mit *R. collo-cygni* einzustellen. Außer *R. collo-cygni* konnten keine anderen Schaderreger in dem Versuch festgestellt werden. In Kombination mit den unterschiedlichen Befallsstärken konnte der direkte Einfluss von *R. collo-cygni* auf den Ertrag und die Korngrößenverteilung ermittelt werden.

In dem Versuch wurde der erste Befall mit *R. collo-cygni* am 24. Mai 2004 mittels DAS-ELISA nachgewiesen. Eine Woche später zeigten sich die ersten Symptome auf den Blättern in der Kontrolle. Zum Zeitpunkt der ersten Diagnose von *R. collo-cygni* mittels DAS-ELISA waren die Pflanzen in BBCH 69.

3.5.1 Auswirkungen von Befall mit *R. collo-cygni* auf den Ertrag

In Abb. 40 ist der Ertrag auf der Abszisse in Abhängigkeit vom Antigengehalt (linke Ordinate) bzw. der durch *R. collo-cygni* nekrotisierten Blattfläche (rechte Ordinate) dargestellt. Da die obersten beiden Blätter unterschiedlich stark zur Ertragsbildung beitragen, wurde dies auch bei der Angabe der Antigenkonzentration bzw. nekrotisierten Blattfläche berücksichtigt. Es wurden Mittelwerte zwischen der obersten und der zweiten Blättertage gebildet. Dabei wurden die Werte der obersten Blättertage zu 30% und die der zweiten Blättertage zu 70% berücksichtigt.

Sowohl die Antigenkonzentration als auch die nekrotisierte Blattfläche stehen in einer sehr engen Wechselbeziehung zum Ertrag. Der Korrelationskoeffizient zwischen Antigenkonzentration und Ertrag liegt bei $r=0,733$. Dies ist ein sehr hoher Wert. Der Korrelationskoeffizient

fizient zwischen der nekrotisierten Blattfläche und dem Ertrag liegt mit $r=0,725$ auf einem vergleichbaren Niveau wie zwischen Antigenkonzentration und Ertrag.

Die negative Steigung der Regressionsgeraden zwischen Ertrag und Bonitur bzw. Ertrag und DAS-ELISA zeigt, dass der Ertrag mit zunehmendem *R. collo-cygni*-Befall abnimmt.

Die hohe negative Steigung der Geraden zeigt die hohe Ertragsrelevanz von *R. collo-cygni*.

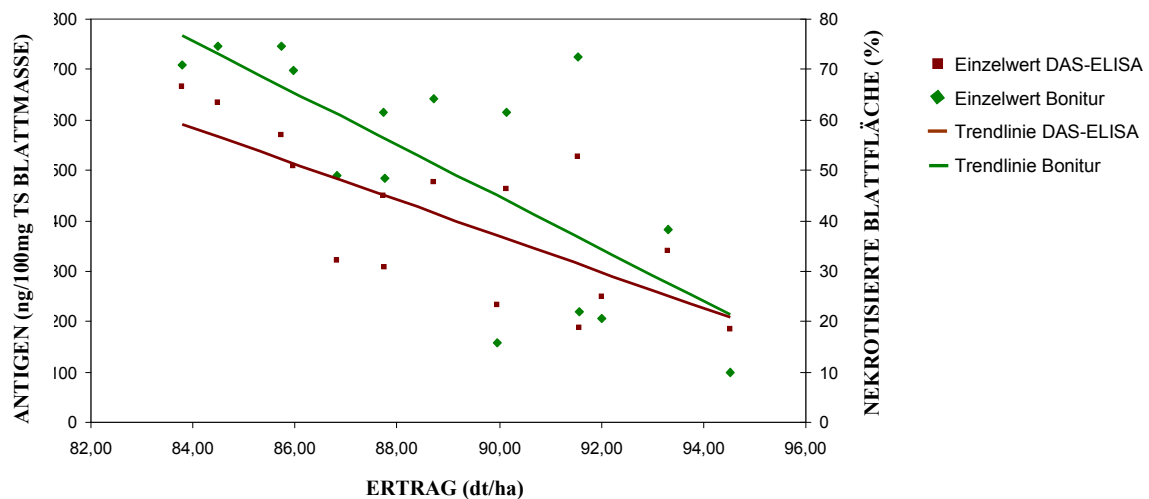


Abb. 40: Korrelation zwischen befallener Blattfläche bzw. Antigengehalt und dem Ertrag. Verwendete Sorte: Jessica; Standort Lenglern, 2004; In der Berechnung der Antigenkonzentration bzw. der nekrotisierten Blattfläche wurden die obersten beiden Blättern unterschiedlich gewichtet. Das Fahnenblatt machte 30% und F-1 machte 70% der jeweiligen Werte aus. Die Trendlinie der Antigenkonzentration hat die Gleichung: $y=3586,86-35,75x$ mit dem Korrelationskoeffizienten $r=0,733$. Die Trendlinie der Bonitur hat die Gleichung: $y=509,69-5,17x$ mit $r=0,725$.

3.5.2 Auswirkungen von Befall mit *R. collo-cygni* auf die Korngrößenverteilung

Für die Vermarktung als Qualitätsgerste wird der Marktwareanteil (Gerstenkörner über 2,2 mm) und der Vollgerstenanteil (Gerstenkörner über 2,5 mm) bestimmt. Zur besseren Übersicht werden in Abb. 41 die einzelnen Korngrößenfraktionen gezeigt.

Auf der Abszisse ist die Antigenkonzentration aufgezeigt, die Ordinate gibt den prozentualen Anteil der jeweiligen Korngrößenfraktion wieder.

Mit zunehmendem Befall nimmt besonders stark der Vollgerstenanteil (über 2,5 mm) ab. Der Anteil Körner zwischen 2,2 mm und 2,5 mm nimmt dafür zu. Da aber auch der Anteil Körner unter 2,2 mm zunimmt, nimmt der vermarktungsfähige Anteil Körner (über 2,2mm) ab. Schaden für den Gerstenerzeuger entsteht so durch die Reduktion der vermarktungsfähigen Ware und durch die Reduktion des Vollgerstenanteils.

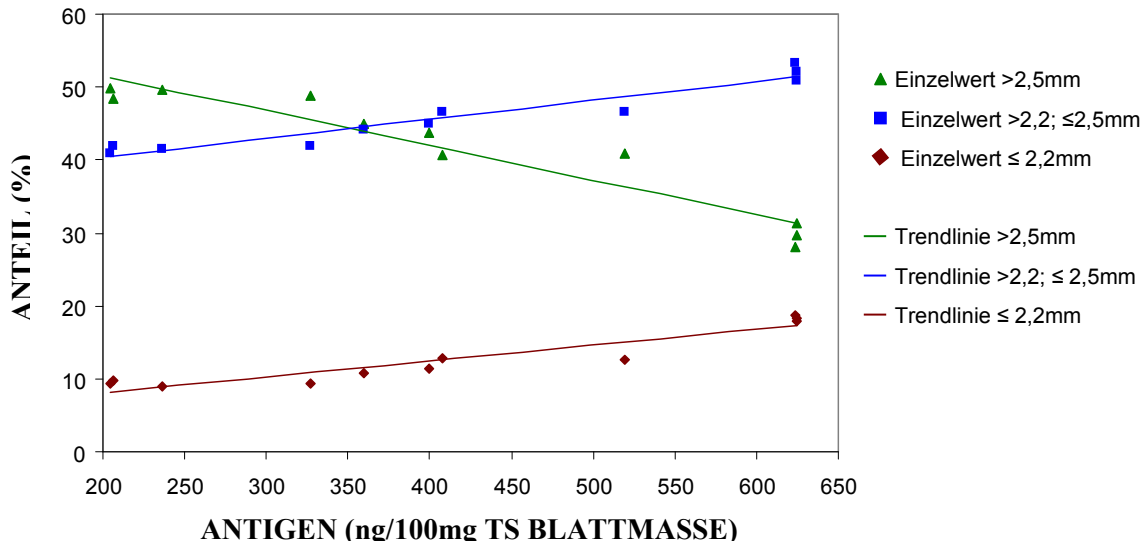


Abb. 41: Korrelation zwischen Korngrößenverteilung und Antigenkonzentration in F-1. Verwendete Sorte Jessica; Standort Lenglern, 2004. Die Trendlinie der Körner größer 2,5mm hat die Gleichung: $y=61-0,047x$ mit dem Korrelationskoeffizienten $r=0,912$. Die Trendlinie der Körner zwischen 2,2 und 2,5mm hat die Gleichung: $y=35,18+0,026x$ mit dem Korrelationskoeffizienten $r=0,921$. Die Trendlinie der Körner unter 2,2mm hat die Gleichung: $y=3,81+0,022x$ mit dem Korrelationskoeffizienten $r=0,892$.

3.6 Sortenanfälligkeit

Nur wenige Sorten konnten über mehrere Jahre und an unterschiedlichen Standorten beobachtet werden. Gründe dafür waren das unregelmäßige und im Vorfeld nicht prognostizierbare Auftreten von *R. collo-cygni* und ein an den Beobachtungsstandorten wechselndes Sortenspektrum. Die ersten Boniturdaten wurden 2003 am Standort Lenglern gesammelt. Der Standort Wetze konnte das erste Mal 2004 ausführlich beobachtet werden. Leider war hier der Befall nur an zweizeiligen Sorten zu bonitieren. An den mehrzeiligen Sorten konnte kein Befall diagnostiziert werden.

3.6.1 Anfälligkeit zweizeiliger Sorten

Die zweizeiligen Sorten wurden 2003 nur am Standort Lenglern und 2004 in Lenglern und Wetze beobachtet. Die Abbildung 42 zeigt den Befall am Standort Lenglern am 12.06.2003. Erfasst wurde der Befall mit *R. collo-cygni* visuell auf den beiden obersten Blattetagen F und F-1. Eine statistische Auswertung wurde aufgrund mangelnder Wiederholungen im Feld nicht vorgenommen. Die 20 Pflanzen für die Bonitur wurden einer Wiederholung entnommen.

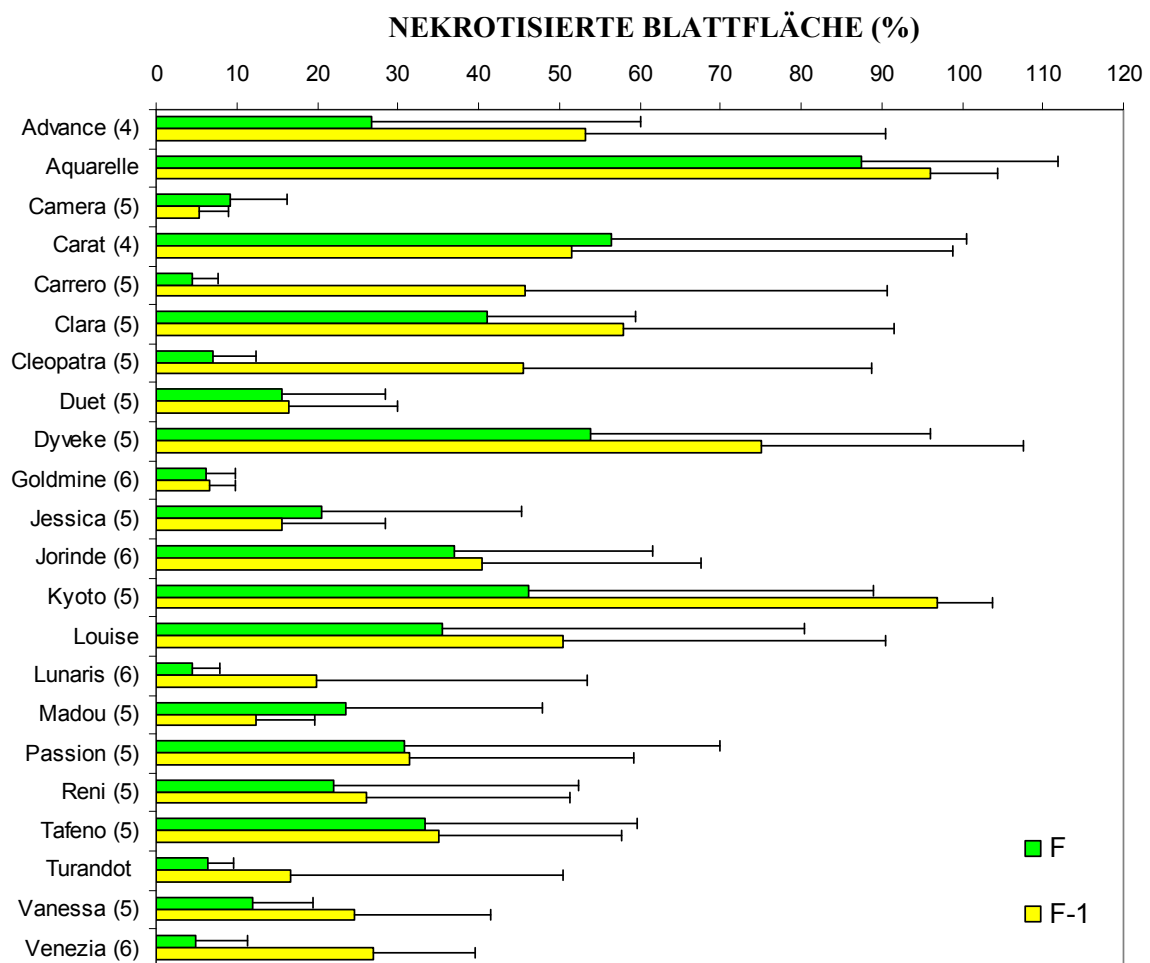


Abb. 42: Nekrotisierte Blattfläche auf F und F-1 zweizeiliger Wintergerstensorten am Standort Lenglern am 12.06.2003 (BBCH 75-89). Die Einstufung des Ährenschiebens vom Bundessortenamt ist in Klammern hinter dem jeweiligen Namen aufgeführt (4=früh bis mittel; 5=mittel; 6=mittel bis spät). Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar. n = 20 (aus einer Wiederholung im Feld).

Der Befall mit *R. collo-cygni* wurde am Standort Lenglern bereits am 30.05.2003 zum ersten Mal aufgenommen. Zu diesem Zeitpunkt war kein Befall auf dem Fahnenblatt und F-1 zu erkennen. Zum zweiten Boniturtermin am 12.06.2003 zeigten alle Sorten einen deutli-

chen Befall und differenzierten sehr ausgeprägt. Am wenigsten befallen auf F und F-1 waren die Sorten Camera und Goldmine. Einen geringen Befall auf F, aber einen erhöhten Befall auf F-1 zeigten die Sorten Carrero, Cleopatra, Lunaris, Turandot und Venezia. Besonders stark befallen auf F und F-1 waren die Sorten Aquarelle (F: 88%, F-1 96%) und Dyveke (F 54, F-1 75). Die Sorte Carat zeigte mit über 50% befallener Blattfläche auf F und F-1 einen überdurchschnittlichen Befall. Bei der Sorte Kyoto fiel der hohe Befall auf F-1 auf (97% befallene Blattfläche). Der Befall auf dem Fahnenblatt war mit 46% befallener Blattfläche ebenfalls sehr hoch.

Die Korrelationen zwischen dem Zeitpunkt des Ährenschiebens und den ermittelten Boniturwerten war wenig ausgeprägt. Der Korrelationskoeffizient zwischen den Boniturwerten vom Fahnenblatt und dem Ährenschieben war $r=0,451$. Zwischen den Boniturwerten und dem zweiten Blatt von oben (F-1) war der Korrelationskoeffizient $r=0,341$. Die dazugehörigen Geradengleichungen sind in Tabelle 23 aufgeführt.

Tab. 23: Regressionsgeradengleichungen über alle Sorten zwischen Ährenschieben und nekrotisierter Blattfläche von F und F-1 (12.06.2003) am Standort Lenglern, 2003

Geradengleichung	x	y	r
$y= 5,47-0,0150x$	nekrotisierte Blattfläche F	Ährenschieben	0,451
$y= 5,4-0,00812x$	nekrotisierte Blattfläche F-1	Ährenschieben	0,341

Abbildung 43 zeigt den Befall mit *R. collo-cygni* in 2004. Die Bonituren erfolgten zu zwei Terminen (08.06.2004 und 16.06.2004). Die Proben zur Bestimmung der Antigenkonzentration im Fahnenblatt wurden zum Zeitpunkt der Totreife am 23.06.2004 gesammelt. Eine statistische Auswertung wurde aufgrund mangelnder Wiederholungen im Feld nicht vorgenommen. Die Sorten wurden nur in einfacher Wiederholung ausgedrillt.

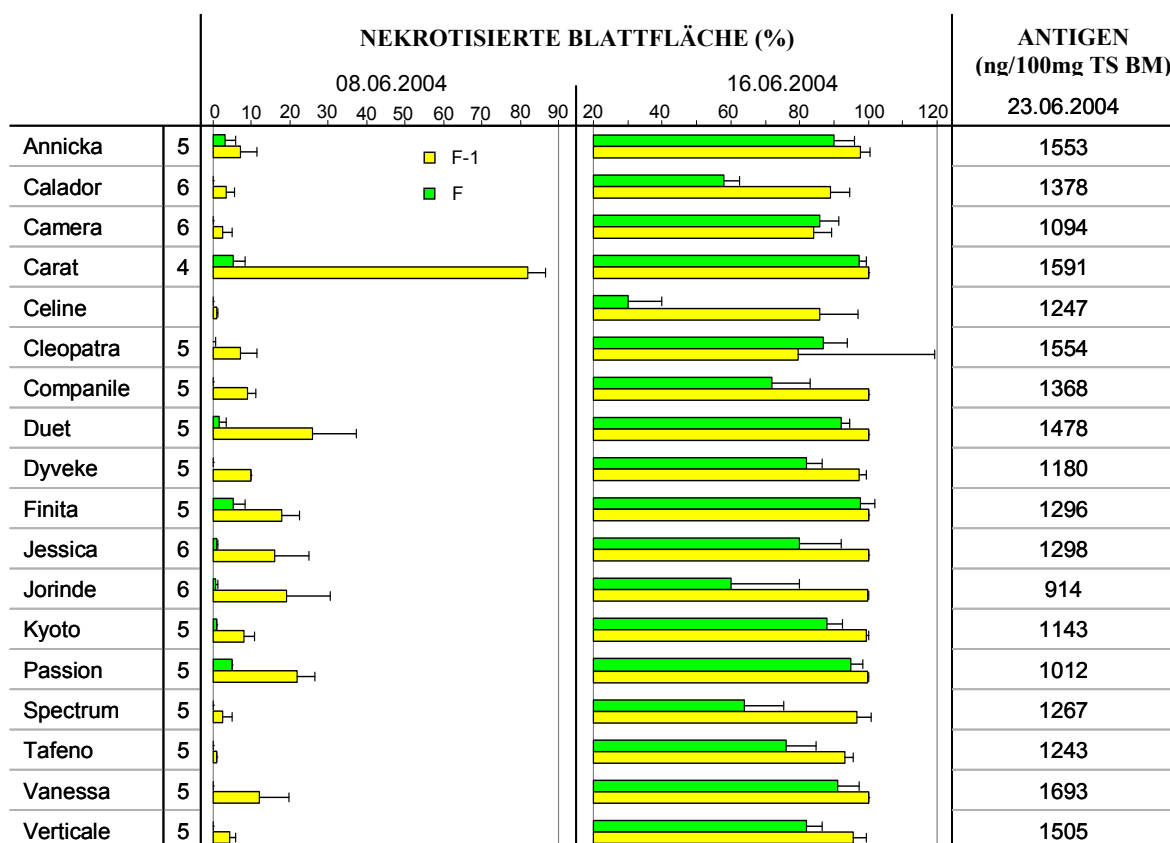


Abb. 43: Befallsverlauf und Antigenkonzentration im Fahnenblatt zweizeiliger Wintergerstensorten in 2004 am Standort Lenglern. Die Einstufung des Ährenschiebens vom Bundessortenamt ist hinter dem jeweiligen Sortennamen aufgeführt (4=früh bis mittel; 5=mittel; 6=mittel bis spät). Die Antigenkonzentration wurde mittels DAS-ELISA ermittelt. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

Die durch *R. collo-cygni* befallene Blattfläche war zum ersten Boniturzeitpunkt (08.06.2004) sehr gering. Auf dem Fahnenblatt konnte auch bei den am stärksten befallenen Sorten weniger als 6% befallene Blattfläche festgestellt werden. Die zweite Blatttage von oben (F-1) differenzierte deutlich ausgeprägter und war deutlich stärker befallen. Die Sorte Carat, eine sehr frühe Sorte, zeigte auf F-1 einen besonders starken Befall. Zum ersten Boniturtermin ebenfalls überdurchschnittlich stark mit *R. collo-cygni* befallen waren die Sorten Duet, Finita, Jessica, Jorinde und Passion. Die zweite Bonitur fand sechs Tage später am 16.06.2004 statt. Auf F-1 war der Befall sehr weit fortgeschritten. Durchschnittlich lag der Befall bei 95% befallener Blattfläche auf F-1 und 79% auf dem Fahnenblatt. Das zweite Blatt von oben war bei folgenden Sorten unter 90% befallen: Calador, Camera, Celine und Cleopatra. Ausgeprägtere Unterschiede waren zu dem Zeitpunkt auf dem Fahnenblatt zu sehen. Die Sorte Celine zeigte mit 30% befallener Blattfläche den geringsten Befall mit *R. collo-cygni*. Den nächsthöheren Wert hatte die Sorte Calador (58% befallene Blattfläche), gefolgt von Jorinde (60% befallene Blattfläche), Spectrum (64% befallene

Blattfläche) und Companile (72% befallene Blattfläche). Die Sorte Tafeno lag ebenfalls noch unter 80% befallener Blattfläche. Bei alle anderen Sorten waren über 80% der Blattfläche durch *R. collo-cygni* befallen. Die sehr früh im Ährenschieben eingestufte Carat und die mittel eingestufte Finita zeigten den stärksten Befall (beide 97% befallene Blattfläche).

Die Proben für die DAS-ELISA-Untersuchung wurden am 23.06.2004 genommen, eine Woche nach dem zweiten Boniturtermin. Die Antigenkonzentrationen waren bei allen Sorten einheitlich sehr hoch. Die Korrelation zwischen den Boniturwerten, unabhängig vom Termin, und der Antigenkonzentration in F am 23. Juni 2004 war sehr gering. Die Sorte Jorinde hatte am 16. Juni einen unterdurchschnittlichen Befall auf dem Fahnenblatt und eine im Vergleich sehr niedrige Antigenkonzentration. Alle anderen Sorten, die am 16. Juni durch einen geringen Befall mit *R. collo-cygni* auffielen, zeigten im DAS-ELISA eine sehr hohe Antigenkonzentration.

Tab. 24: Regressionsgeradengleichungen und der Korrelationskoeffizient für die jeweiligen Gleichungen. Berechnet wurden Regressionsgerade und Korrelationskoeffizient zwischen Ährenschieben, Antigenkonzentration und nekrotisierter Blattfläche zu beiden Terminen am Standort Lenglern in 2004. Es wurde jeweils ein Mittel aus allen Sorten verwendet

Geradengleichung	x	y	r
$y=1319,49+3,24x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F	Antigenkonzentration	0,030
$y=1285,71+2,71x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F-1	Antigenkonzentration	0,238
$y=1037,93+3,6x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F	Antigenkonzentration	0,293
$y=1399,58-0,8x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F-1	Antigenkonzentration	0,024
$y=2357,71-198,93x$	Ährenschieben	Antigenkonzentration	0,483
$y=5,34-0,12x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F	Ährenschieben	0,464
$y=5,4-0,015x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F-1	Ährenschieben	0,534
$y=7,16-0,0241x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F	Ährenschieben	0,569
$y=7,56-0,0248x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F-1	Ährenschieben	0,291
$y=6,74-0,00117x$	Antigenkonzentration	Ährenschieben	0,483

Die Korrelationen zwischen den Boniturwerten und der Antigenkonzentration waren sehr gering. Die kleinste Korrelation bestand zwischen der nekrotisierten Blattfläche am 08. Juni 2004 auf F bzw. F-1 am 16.06 und der Antigenkonzentration. Die Korrelation zwischen Antigenkonzentration und Ährenschieben war ausgeprägter, aber ebenfalls zu niedrig, um einen Zusammenhang festzustellen. Die Korrelationen zwischen dem Ährenschie-

ben und den Boniturwerten bzw. gemessenen Antigenkonzentrationen waren höher als zwischen Antigenkonzentration und Boniturwerten. Die entsprechenden Regressionsgeradengleichungen sind in Tabelle 24 aufgeführt. Alle Regressionsgeraden die den Zusammenhang mit dem Ährenschieben beschreiben, haben eine negative Steigung. Diese Steigung ist allerdings in allen berechneten Regressionsgeraden sehr gering.

Die beiden Abbildungen 44a und 44b zeigen den Befallsverlauf am Standort Wetze am 08. Juni 2004 und acht Tage später am 16. Juni 2004. Die Proben für den DAS-ELISA wurden eine Woche nach der letzten Bonitur am 23. Juni gesammelt. Die Gerstenpflanzen befanden sich zum ersten Boniturzeitpunkt zwischen BBCH 59 und BBCH 71, zum zweiten Boniturtermin am 08. Juni zwischen BBCH 73-85 und zum Zeitpunkt der Probennahme für die DAS-ELISA-Untersuchung zwischen BBCH 83-89.

Aufgrund der hohen Anzahl beobachteter Sorten wurde das Spektrum alphabetisch auf zwei Abbildungen aufgeteilt. Wegen der fehlenden Wiederholungen im Feld wurde auf eine Berechnung von Signifikanzen verzichtet. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindikators in die Abbildung eingearbeitet.

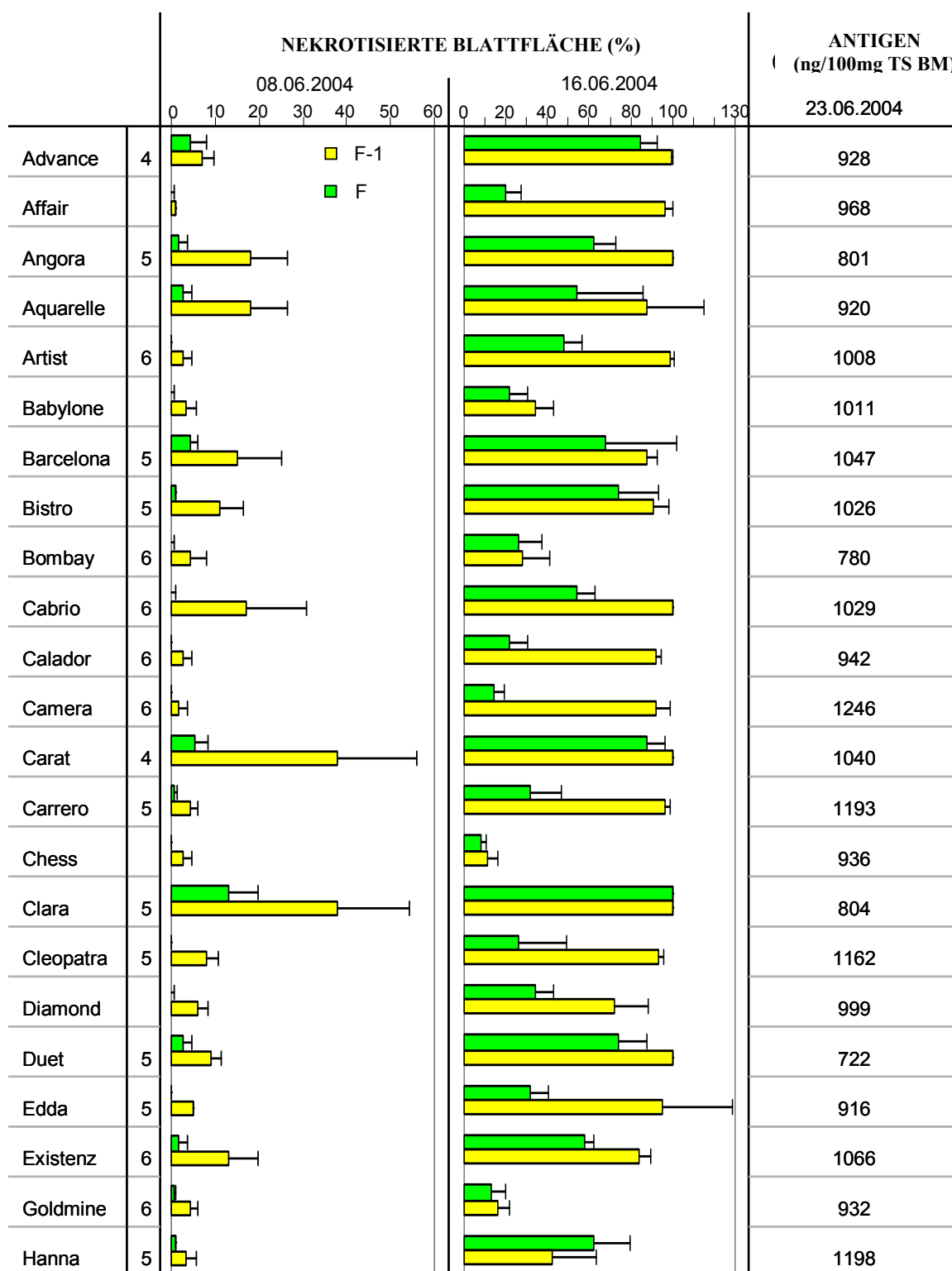


Abb. 44a: Befallsverlauf und Antigenkonzentration im Fahnenblatt zweizeiliger Wintergerstensorten in 2004 am Standort Wetzze. Die Einstufung des Ährenschiebens vom Bundessortenamt ist hinter dem jeweiligen Sortennamen aufgeführt (4=früh bis mittel; 5=mittel; 6=mittel bis spät). Die Antigenkonzentration wurde mittels DAS-ELISA ermittelt. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

(Teil 1)

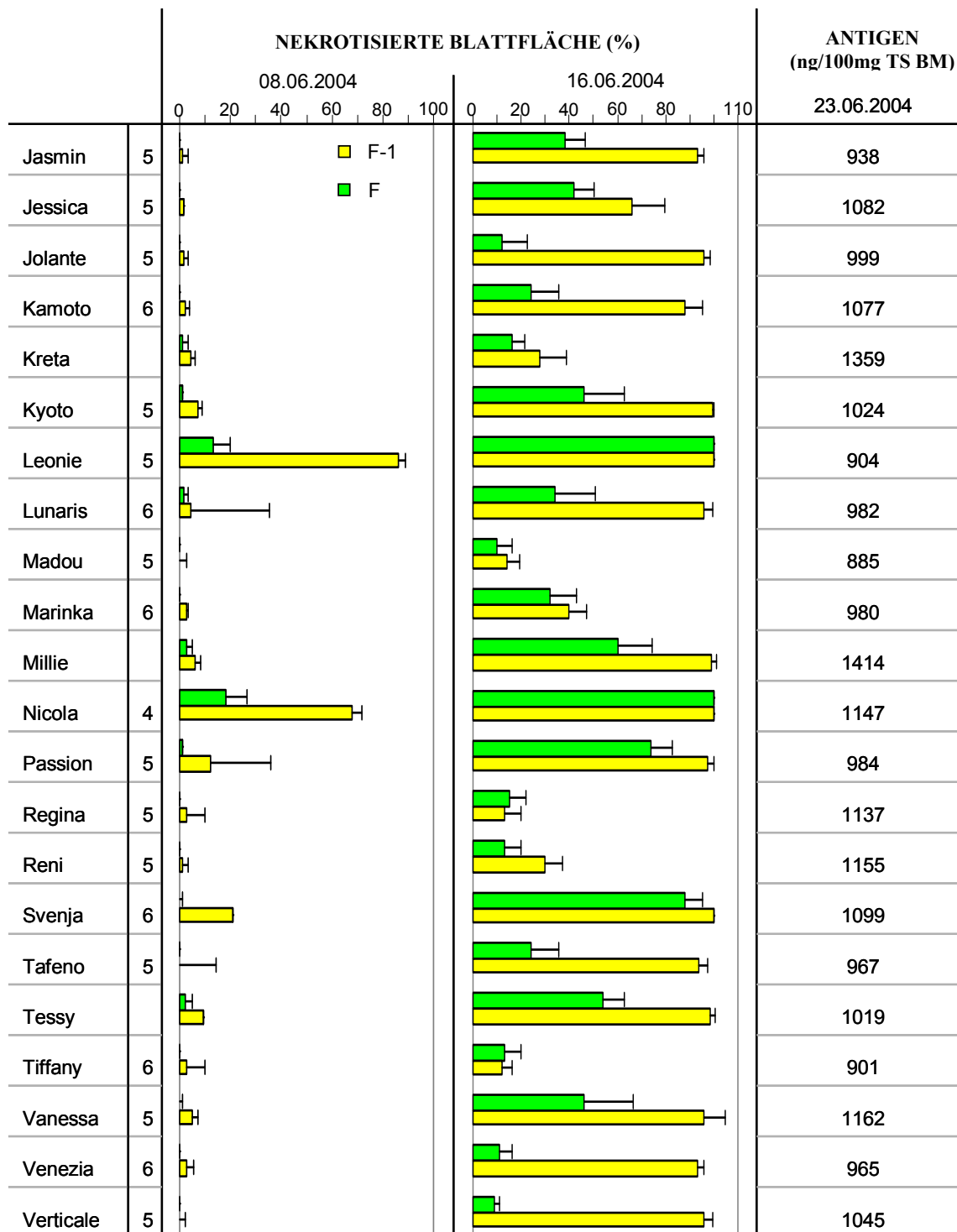


Abb. 44b: Befallsverlauf und Antigenkonzentration im Fahnenblatt zweizeiliger Wintergerstensorten in 2004 am Standort Wetzze. Die Einstufung des Ährenschiebens vom Bundessortenamt ist hinter dem jeweiligen Sortennamen aufgeführt (4=früh bis mittel; 5=mittel; 6=mittel bis spät). Die Antigenkonzentration wurde mittels DAS-ELISA ermittelt. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

(Teil 2)

Die erste visuelle Aufnahme des Befalls erfolgte am 8. Juni. Zu diesem Zeitpunkt waren bereits alle Sorten auf F-1 durch *R. collo-cygni* befallen. Sehr ausgeprägt war dieser Befall vor allem bei den Sorten Leonie (86% befallene Blattfläche), Nicola (68% befallene Blattfläche), Carat und Clara (beide jeweils 38% befallene Blattfläche). Einen sehr geringen Befall, unter 2% befallene Blattfläche, zeigten die Sorten Affair (1% befallene Blattfläche), Jasmin (1% befallene Blattfläche), Jessica (1,8% befallene Blattfläche), Jolante (1,8% befallene Blattfläche), Kamoto (2% befallene Blattfläche), Madou (0,8% befallene Blattfläche), Reni (1% befallene Blattfläche), Tafeno (0,2% befallene Blattfläche) und Verticale (0,2% befallene Blattfläche). Das Fahnenblatt war bei den Sorten Nicola (18% befallene Blattfläche), Clara (13% befallene Blattfläche), Leonie (13% befallene Blattfläche) und Carat (5,2% befallene Blattfläche) sehr stark befallen. Kein Befall auf dem Fahnenblatt konnte an den Sorten Artist, Calador, Camera, Chess, Edda, Jasmin, Jessica, Jolante, Kamoto, Madou, Marinka, Regina, Reni, Tiffany, Venezia und Verticale festgestellt werden.

Nach acht Tagen war der Befall mit *R. collo-cygni* am selben Standort deutlich vorangeschritten. Sowohl das Fahnenblatt als auch das zweite Blatt von oben (F-1) wiesen zu diesem Zeitpunkt deutliche *R. collo-cygni*-Symptome auf. Im Durchschnitt lag der Befall mit *R. collo-cygni* auf F bei 43% befallener Blattfläche und auf F-1 bei 77% befallener Blattfläche. Den geringsten Befall auf F und F-1 zeigten die Sorten Babylone (F: 22%, F-1: 34%), Chess (F: 8%, F-1: 11%), Goldmine (F: 13%, F-1: 16%), Kreta (F: 16%, F-1: 28%), Regina (F: 15%, F-1: 13%), Reni (F: 13%, F-1: 30%) und Tiffany (F: 13%, F-1: 12%). Nur einen geringen Befall auf F wiesen die Sorten Camera (F: 14%, F-1: 92%), Cleopatra (F: 26%, F-1: 93%), Jolante (F: 12%, F-1: 96%), Kamoto (F: 24%, F-1: 88%), Tafeno (F: 24%, F-1: 94%), Venezia (F: 11%, F-1: 93%) und Verticale (F: 9%, F-1: 96%) auf. Sehr stark waren die Sorten Advance (F: 84%, F-1: 100%), Carat (F: 88%, F-1: 100%), Clara (F: 100%, F-1: 100%), Leonie (F: 100%, F-1: 100%), Nicola (F: 100%, F-1: 100%) und Svenja (F: 88%, F-1: 100%) mit *R. collo-cygni* befallen.

Die Antigenkonzentration in den am 23. Juni gesammelten Proben war in allen Proben sehr hoch. Im Durchschnitt aller Sorten wurden 1020ng/100mg Trockensubstanz nachgewiesen. Deutlich darunter lagen die Sorten Duet (722 ng/100mgTS BM), Bombay (780 ng/100mgTS BM), Angora (801 ng/100mgTS BM), Clara (804 ng/100mgTS BM) und Madou (885ng/100mgTS BM). Die höchsten Werte hatten die Sorten Kreta (1359 ng/100mgTS BM) und Millie (1414 ng/100mgTS BM).

Alle Sorten, die zum ersten Boniturtermin keinen Befall auf dem Fahnenblatt zeigten, waren auch zum zweiten Boniturtermin wenig bis mittel befallen. Sorten die zum ersten Boniturtermin einen sehr starken Befall mit *R. collo-cygni* aufwiesen, waren auch am zweiten Boniturtermin stärker als der Durchschnitt mit *R. collo-cygni* befallen.

In der Tabelle 25 sind die berechneten Korrelationen zwischen den erhobenen Parametern aufgeführt.

Die Korrelation zwischen der ersten und zweiten Bonitur von F war sehr hoch ($r=0,713$). Die ermittelten Werte auf F-1 am zweiten Boniturtermin korrelierten nur wenig mit denen zum ersten Boniturtermin von F-1. Der Grund hierfür war die fortgeschrittene Abreife der Blattetage, die eine Aussage über die befallene Blattfläche mit *R.collo-cygni* aufgrund der seneszenten Blattfläche schwierig machte. Auffällig war die geringe Korrelation zwischen den ermittelten Antikonzentrationen und den Boniturwerten. Ursache hierfür war das unterschiedliche Abreifeverhalten der Sorten. Während die Bonituren nur eine „Momentaufnahme“ des Befalls repräsentieren, zeigen die Antigenwerte den Endbefall mit *R. collo-cygni*. Tabelle 25 beinhaltet die berechneten Geradengleichungen und die dazugehörigen Korrelationskoeffizienten zwischen den jeweils erhobenen Parametern (Antigenkonzentration, Ährenschieben und nekrotisierte Blattfläche am 08. Juni 2004 und am 16. Juni 2004).

Tab. 25: Regressionsgeradengleichungen und der Korrelationskoeffizient (r) für die jeweiligen Gleichungen. Berechnet wurden Regressionsgerade und Korrelationskoeffizient zwischen Ährenschieben, Antigenkonzentration und nekrotisierter Blattfläche zu beiden Terminen für Sorten am Standort Wetze in 2004. Es wurde jeweils ein Mittel aus allen Sorten verwendet

Geradengleichung	x	y	r
$y=1025,79-2,99x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F	Antigenkonzentration	0,081
$y=1029,35-0,85x$	nekrotisierte Blattfl.08.06.04; F-1	Antigenkonzentration	0,104
$y=1041,84-0,5x$	nekrotisierte Blattfl.16.06.04; F	Antigenkonzentration	0,101
$y=1021,86-0,0197x$	nekrotisierte Blattfl.16.06.04; F-1	Antigenkonzentration	0,004
$y= 1079,89-13,68x$	Ährenschieben	Antigenkonzentration	0,067
$y= 5,41-0,0701x$	nekrotisierte Blattfl.08.06.04; F	Ährenschieben	0,473
$y= 5,41-0,0121x$	nekrotisierte Blattfl.08.06.04; F-1	Ährenschieben	0,366
$y= 5,69 -0,00932x$	nekrotisierte Blattfl.16.06.04; F	Ährenschieben	0,488
$y= 5,64-0,004,64x$	nekrotisierte Blattfl.16.06.04; F-1	Ährenschieben	0,233
$y= 5,60-00003,30x$	Antigenkonzentration	Ährenschieben	0,067

Wie bereits am Standort Lenglern in 2004 sind die Steigungen der Regressionsgleichungen zwischen Bonitur und Ährenschieben negativ (Variablenvergabe ist geblieben; x =Boniturnwerte, y = Ährenschieben). Zusätzlich sind am Standort Wetze 2004 auch die Steigungen der Regressionsgleichungen zwischen Bonitur und Antigenkonzentration negativ.

Abbildung 45 zeigt die visuell aufgenommene durch *R. collo-cygni* befallene Blattfläche an zwei Terminen und die Antigenkonzentration im Fahnenblatt zum Zeitpunkt der Totreife an den Standorten Lenglern und Wetze. Es wurden nur die Sorten ausgewählt, die 2004 an beiden Standorten beobachtet werden konnten. Aufgrund fehlender Wiederholungen im Feld wurde auf eine Berechnung von Signifikanzen verzichtet. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindicators in die Abbildung eingearbeitet.

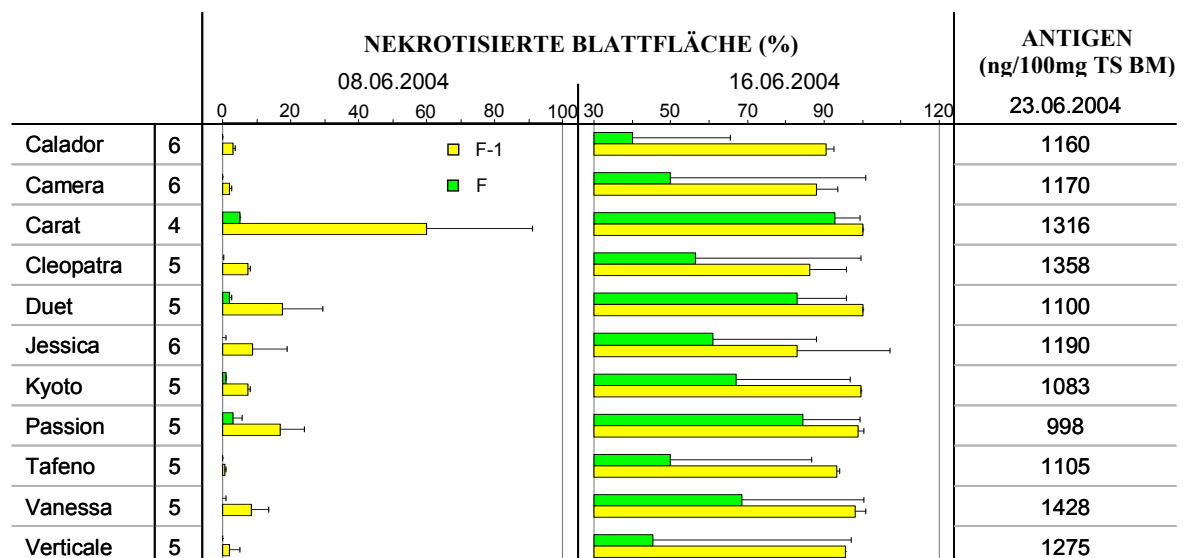


Abb. 45: Befallsverlauf und Antigenkonzentration im Fahnenblatt zweizeiliger Wintergerstensorten in 2004 an den Standorten Lenglern und Wetze. Die Einstufung des Ährenschiebens vom Bundessortenamt ist in der Spalte neben dem jeweiligen Sortennamen aufgeführt (4=früh bis mittel; 5=mittel; 6=mittel bis spät). Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

Zum ersten Boniturtermin am 08. Juni war der Befall durch *R. collo-cygni* sehr gering. Die durchschnittlich befallene Blattfläche bei allen Sorten auf dem Fahnenblatt (F) lag bei 1,1% und auf F-1 bei 12,8%. Zum zweiten Boniturtermin, acht Tage nach dem ersten Termin, hatte die durch *R. collo-cygni* befallene Blattfläche stark zugenommen. Die durchschnittlich befallene Blattfläche lag am zweiten Boniturtermin, 16. Juni 2004, auf dem Fahnenblatt bei 63,5% und auf F-1 bei 93,9%. Auffällig zum ersten Boniturtermin war die Sorte Carat. Wie bereits bei den Einzelstandorten zeigt sie auch im Schnitt über die beiden

Standorte einen sehr starken und früh einsetzenden Befall durch *R. collo-cygni*. Ebenfalls stärker befallen waren die Sorten Duet und Passion.

Wie zum ersten Boniturtermin waren Duet (F: 83%, F-1: 100% befallene Blattfläche) und Passion (F: 84,5%, F-1: 98,7% befallene Blattfläche) nach Carat (F: 92,7%, F-1: 100% befallene Blattfläche) die am stärksten mit *R. collo-cygni* befallenen Sorten. Den geringsten Befall zu beiden Boniturterminen zeigten die Sorten Calador (F: 40%, F-1: 90,5% befallene Blattfläche), Camera (F: 50%, F-1: 87,9% befallene Blattfläche), Tafeno (F: 50%, F-1: 93,4% befallene Blattfläche) und Verticale (F: 45,5%, F-1: 95,6% befallene Blattfläche).

Tabelle 26 beinhaltet die berechneten Geradengleichungen und Korrelationskoeffizient zwischen Ährenschieben, Antigenkonzentration und nekrotisierter Blattfläche für Sorten, die in 2004 an den Standorten Lenglern und Wetze beobachtet werden konnten. Zur Verrechnung wurden jeweils Mittelwerte der Sorten verwendet, die an beiden Standorten beobachtet werden konnten

Tab. 26: Regressionsgeradengleichungen und der Korrelationskoeffizient (r) für die jeweiligen Gleichungen. Berechnet wurden Regressionsgerade und Korrelationskoeffizient zwischen Ährenschieben, Antigenkonzentration und nekrotisierter Blattfläche zu beiden Terminen für Sorten, die gleichzeitig am den Standorten Lenglern und Wetze in 2004 beobachtet wurden. Es wurde jeweils ein Mittel aus allen Sorten verwendet

Geradengleichung	x	y	r
$y=1206,65-7,09x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F	Antigenkonzentration	0,091
$y=1181,05+1,45x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F-1	Antigenkonzentration	0,186
$y=1238,66-0,63x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F	Antigenkonzentration	0,083
$y=1501,78-3,23x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F-1	Antigenkonzentration	0,150
$y=1473,26-52,96x$	Ährenschieben	Antigenkonzentration	0,244
$y=5,46-0,25x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F	Ährenschieben	0,693
$y=5,49-0,025x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F-1	Ährenschieben	0,693
$y=6,63-0,0229x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F	Ährenschieben	0,657
$y=11,82-0,0706x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F-1	Ährenschieben	0,716
$y=6,52-0,00112x$	Antigenkonzentration	Ährenschieben	0,244

Die Korrelation zwischen den erhobenen Parametern verhält sich im Mittel der beiden Standorte wie die Einzelstandorte. Die Korrelation zwischen Ährenschieben und Bonituren ist im Vergleich zu den Einzelstandorten höher. Die Korrelation zwischen Antigenkonzentration und Bonituren bzw. Ährenschieben ist noch geringer ausgeprägt als an den Einzelstandorten. Sie lässt aber den Schluss zu, dass es keinen Zusammenhang zwischen berechneten Antigenkonzentrationen und zu zwei, früher stattgefundenen, visuellen Befallsaufnahmen gibt.

Aufgrund der geringen Korrelation zwischen Antigenkonzentration und den erhobenen Parametern Ährenschieben und nekrotisierter Blattfläche sind die Geradengleichungen hier von untergeordneter Bedeutung. Die Geradengleichungen zwischen Ährenschieben und Bonituren sind alle negativ, die Steigung der Geraden sehr gering. Die negative Steigung der Regressionsgeraden zwischen Boniturwerten und Ährenschieben weist auf eine negative Korrelation hin.

Die Sorte Carat war in beiden Jahren und auf beiden Standorten sehr anfällig gegenüber *R. collo-cygni*. Ebenfalls stärker nekrotisiert als der Durchschnitt der Sorten, aber deutlich weniger stark nekrotisiert als die Sorte Carat, war die Sorte Passion. Die Sorten Cleopatra, Duet, Jessica, Kyoto, Tafeno zeigten sich im Durchschnitt der beiden Jahre und Standorte im Mittelfeld. Die gesündesten Sorten über beide Jahre und Standorte betrachtet waren konstant Calador und Camera.

3.6.2 Anfälligkeit mehrzeiliger Sorten

Die mehrzeiligen Sorten konnten nur am Standort Lenglern beobachtet werden. Am Standort Wetze trat 2004 an mehrzeiligen Sorten kein Befall durch *R. collo-cygni* auf.

Die Abbildung 46 zeigt den Befall der mehrzeiligen Sorten am Standort Lenglern in 2003. Die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche wurde zu einem Termin am 12. Juni 2003 aufgenommen. Zum ersten Boniturtermin am 30. Mai 2003 konnten keine *R. collo-cygni*-Symptome festgestellt werden. Aufgrund fehlender Wiederholungen im Feld wurde

auf eine Berechnung von Signifikanzen verzichtet. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindicators in die Abbildung eingearbeitet.

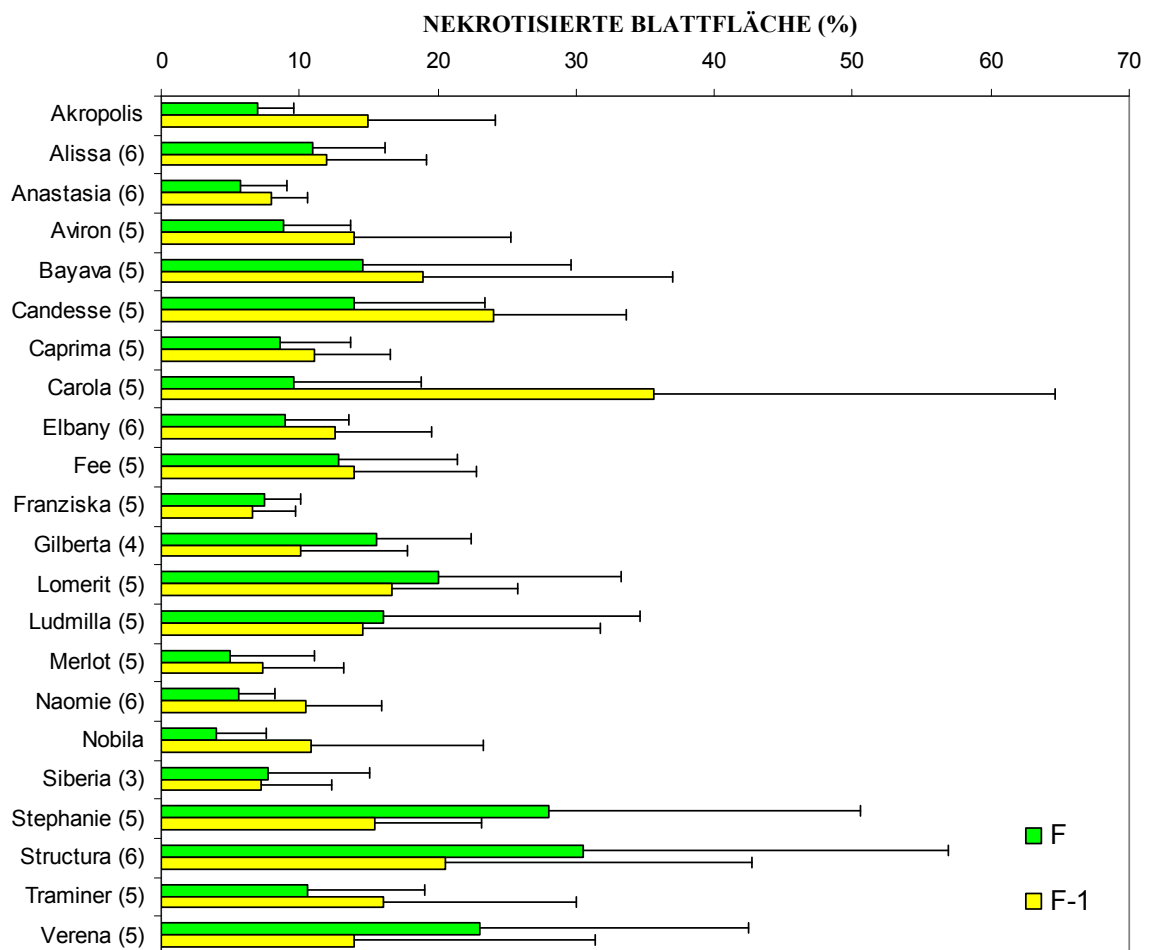


Abb. 46: Befallene Blattfläche auf F und F-1 mehrzeiliger Wintergerstensorten am Standort Lenglern am 12.06.2003 (BBCH 75-89). Die Einstufung des Ährenschiebens vom Bundessortenamt ist hinter dem jeweiligen Sortennamen aufgeführt (4=früh bis mittel; 5=mittel; 6=mittel bis spät). Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

Am 12. Juni 2003 waren die obersten beiden Blattetagen der Sorten unterschiedlich stark durch *R. collo-cygni* nekrotisiert. Auf dem Fahnenblatt reichte das Spektrum durch *R. collo-cygni* nekrotisierter Blattfläche von 4% (Nobilia) bis 30,5% nekrotisierte Blattfläche (Structura). Auf dem zweitobersten Blatt (F-1) differenzierten die Sorten von 7,3% (Merlot) bis 35,6% durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche (Carola). Die auf beiden Blattetagen am geringsten nekrotisierten Sorten waren Anastasia (F: 5,7%, F-1: 8% befallene Blattfläche), Franziska (F: 7,5%, F-1: 6,6% befallene Blattfläche), Merlot (F: 5%, F-1: 7,3% befallene Blattfläche), Naomie (F: 5,6%, F-1: 10,5% befallene Blattfläche), Nobilia (F: 4,4%, F-1: 10,8% befallene Blattfläche) und Siberia (F: 7,7%, F-1: 7,2% befallene Blattfläche). Den stärksten Befall durch *R. collo-cygni* zeigten auf F die Sorten Stephanie

(F: 28%, F-1: 15,5% befallene Blattfläche), Structura (F: 30,5%, F-1: 20,5% befallene Blattfläche) und Verena (F: 23%, F-1: 13,9% befallene Blattfläche), auf F-1 Candesse (F: 14%, F-1: 24% befallene Blattfläche), Carola (F: 9,6%, F-1: 35,6% befallene Blattfläche) und Structura (F: 30,5%, 20,5F-1: % befallene Blattfläche).

Besonders auffällig ist die geringe Korrelation zwischen den Parametern Ährenschieben und nekrotisierter Blattfläche von F bzw. F-1. Die Korrelation zwischen den beiden Blatttagen untereinander ist ebenfalls sehr wenig ausgeprägt (Tab. 27).

Tab. 27: Regressionsgeradengleichungen und Korrelationskoeffizient (r) zwischen nekrotisierter Blattfläche und dem Ährenschieben am Standort Lenglern 2003. Die Berechnung erfolgte mit Mittelwerten aller Sorten vom Standorte Lenglern in 2003

Geradengleichung	x	y	r
$y = 5,04 + 0,00446x$	nekrotisierte Blattfl. 12.06.03; F	Ährenschieben	0,045
$y = 4,93 + 0,0117x$	nekrotisierte Blattfl. 12.06.03; F-1	Ährenschieben	0,110

Aufgrund der geringen Korrelationen sind die Regressionsgeraden von untergeordneter Bedeutung. Anders als bei den zweizeiligen Sorten haben die Regressionsgeraden zwischen der Einstufung im Ährenschieben und den erhobenen Bonituren eine negative Steigung. Aufgrund der geringen Korrelation ist dem aber wenig Bedeutung zuzuordnen.

In Abbildung 47 sind der Befall mit *R. collo-cygni* an zwei Terminen aus 2004 und die Antigenkonzentration im Fahnenblatt zum Zeitpunkt der Totreife dargestellt. Die Ziffern hinter den Sortennamen sind Einstufungen vom Bundessortenamt und geben den Zeitpunkt des Ährenschiebens wieder (4=früh bis mittel; 5=mittel; 6=mittel bis spät). Aufgrund fehlender Wiederholungen im Feld wurde auf eine Berechnung von Signifikanzen verzichtet. Die Standardabweichung ist in Form des Fehlerindicators in die Abbildung eingearbeitet.

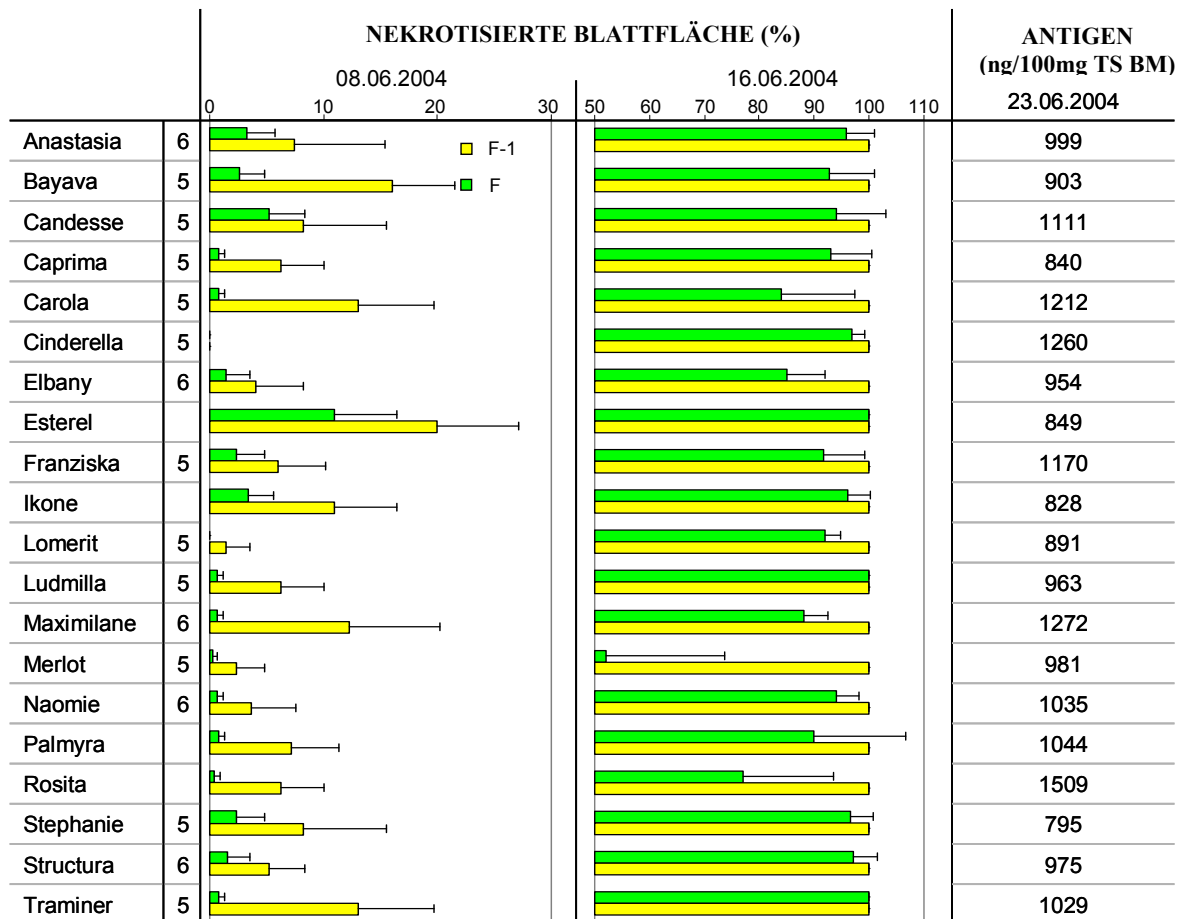


Abb. 47: Befallsverlauf und Antigenkonzentration im Fahnenblatt mehrzeiliger Wintergerstensorten in 2004 am Standort Lenglern. Die Einstufung des Ährenschiebens vom Bundessortenamt ist hinter dem jeweiligen Sortennamen aufgeführt (4=früh bis mittel; 5=mittel; 6=mittel bis spät). Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

In 2004 wurde der Befall der verschiedenen Sorten durch *R. collo-cygni* anhand zweier Bonituren und einer DAS-ELISA-Analyse festgehalten. Zum Zeitpunkt der ersten Bonitur (08.06.2004) waren die obersten beiden Blattetagen bereits befallen. Bei der zweiten Bonitur (16.06.2004) war dieser Befall weiter fortgeschritten. Eine Ausnahme bildete die Sorte Merlot, die zu beiden Boniturterminen nur einen sehr geringen Befall durch *R. collo-cygni* zeigte.

Zum ersten Boniturzeitpunkt am 08. Juni waren folgende Sorten besonders stark befallen: Candesse (F: 5,2%, F-1: 8,2% befallene Blattfläche), Esterel (F: 11%, F-1: 20% befallene Blattfläche), Ikone (F: 3,4%, F-1: 11% befallene Blattfläche), Bayava (F: 2,6%, F-1: 16% befallene Blattfläche), Carola (F: 0,8%, F-1: 13% befallene Blattfläche), Maximilane (F: 0%, F-1: 11,2% befallene Blattfläche), und Traminer (F: 0,8%, F-1: 13% befallene Blattfläche). Den geringsten Befall zeigten die Sorten Cinderella (F: 0%, F-1: 0% befallene

Blattfläche), Lomerit (F: %, F-1: 1,4% befallene Blattfläche) und Merlot (F: 0,2%, F-1: 2,4% befallene Blattfläche).

Zum zweiten Boniturtermin am 16. Juni waren bei den Sorten Esterel, Ludmilla und Traminer die beiden oberen Blattetagen vollständig mit *R. collo-cygni* befallen. Alle drei Sorten waren bereits acht Tage vorher, zum ersten Boniturzeitpunkt, überdurchschnittlich stark befallen. Etwas weniger, aber immer noch sehr stark befallen waren die Sorten Anastasia, Cinderella, Ikone, Stephanie und Structura. Bis auf die Sorte Cinderella zeigten diese Sorten bereits zum Zeitpunkt der ersten Bonitur einen überdurchschnittlichen Befall durch *R. collo-cygni*. An der Sorte Cinderella konnte bei der ersten Bonitur kein Befall durch den Schaderreger festgestellt werden. Zur zweiten Bonitur war die Sorte Merlot am geringsten befallen. Während der ersten Bonitur wurde an dieser Sorte ein geringer Befall durch *R. collo-cygni* auf F und F-1 festgestellt. Ebenfalls sehr wenig befallen waren die Sorten Carola, Elbany, Maximilane und Rosita. Die Sorten Bayava, Candesse, Ikone und Maximilane waren zum Zeitpunkt der ersten Bonitur sehr stark durch *R. collo-cygni* nekrotisiert. Zum Zeitpunkt der zweiten Bonitur war der Befall durch *R. collo-cygni* weniger stark fortgeschritten. Die Befallswerte lagen im Mittelfeld der beobachteten Sorten. Im Gegensatz dazu war der Befall bei den Sorten Lomerit und Cinderella stärker angestiegen als im Mittel der Sorten. Beide zeigten in der ersten Bonitur einen geringen Befall durch *R. collo-cygni*. Acht Tage später, bei der zweiten Bonitur, waren diese Sorten wie der Durchschnitt befallen.

Die im Labor ermittelten Antigenkonzentrationen im Fahnenblatt waren bei allen Sorten sehr hoch. Die geringsten Werte zeigten die Sorten Caprima (840ng/100mgTS), Esterel (849 ng/100mgTS), Ikone (828 ng/100mgTS) und Stephanie (795 ng/100mgTS). Alle Sorten waren bereits zum ersten Boniturtermin durchschnittlich bis überdurchschnittlich stark befallen. Besonders hohe Antigenkonzentrationen hatten die Sorten Carola (1212 ng/100mgTS), Cinderella (1260 ng/100mgTS), Maximilane (1272 ng/100mgTS) und Rosita (1509 ng/100mgTS). Die Sorten Carola, Maximilane und Rosita waren zum zweiten Boniturtermin unterdurchschnittlich befallen. Cinderella war zum ersten Boniturzeitpunkt die am wenigsten stark befallene Sorte. Zum zweiten Boniturtermin hatte der Befall stärker zugenommen als im Durchschnitt der Sorten und die Befallswerte lagen im Mittelfeld.

Tabelle 28 zeigt die berechneten Regressionsgeraden und die jeweiligen Korrelationskoeffizienten zwischen den erhobenen Parametern nekrotisierte Blattfläche (zwei Termine: 08.

Juni 2004 und 16.04.2004), Antigenkonzentration und Ährenschieben. Zur Verrechnung wurden jeweils Mittelwerte aller beobachteten Sorten am Standort Lenglern in 2004 verwendet.

Tab. 28: Regressionsgeraden und Korrelationskoeffizienten zwischen nekrotisierter Blattfläche, Antigenkonzentration und Zeitpunkt des Ährenschiebens (Einstufung des Bundesortenamtes). Berechnet wurden Regressionsgerade und Korrelationskoeffizient für beobachtete Sorten am Standort Lenglern 2004. Zur Berechnung wurde jeweils ein Mittel aus allen Sorten verwendet.

Geradengleichung	x	y	r
$y = 1076,67 - 23,54x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F	Antigenkonzentration	0,330
$y = 1076,55 - 5,79x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F-1	Antigenkonzentration	0,162
$y = 1455,95 - 4,68x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F	Antigenkonzentration	0,281
nicht möglich*	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F-1	Antigenkonzentration	*
$y = 849,55 + 32,91x$	Ährenschieben	Antigenkonzentration	0,109
$y = 5,31 + 0,00509x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F	Ährenschieben	0,015
$y = 5,38 - 0,00938x$	nekrotisierte Blattfl. 08.06.04; F-1	Ährenschieben	0,089
$y = 5,04 + 0,00301x$	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F	Ährenschieben	0,071
nicht möglich*	nekrotisierte Blattfl. 16.06.04; F-1	Ährenschieben	*
$y = 4,94 + 0,000361x$	Antigenkonzentration	Ährenschieben	0,109

* Da der Befall auf F-1 bei allen Sorten mit 100% Blattfläche bonitiert wurde, ist es keine Variable, sondern eine Konstante, dadurch konnte keine Geradengleichung und kein Korrelationskoeffizient berechnet werden.

Aufgrund der sehr geringen Korrelation zwischen den erhobenen Parametern spielen die Regressionsgeraden nur eine untergeordnete Rolle. Sie wurden hier nur vollständigkeithalber aufgeführt. Bei den zweizeiligen Sorten war die Steigung zwischen Ährenschieben und den anderen erhobenen Parametern meist negativ, bei den mehrzeiligen Sorten meist positiv.

Die Abbildung 48 zeigt den Befall der beobachteten mehrzeiligen Sorten aus den Jahren 2003 und 2004 (erste Bonitur, 08.06.2004) vom Standort in Lenglern. Die Zahlen hinter den Sortennamen stehen für Einstufungen des Ährenschiebens des Bundesortenamtes. Dadurch kann eine Unterteilung der Sorten in frühe und späte vorgenommen werden, je kleiner die Zahl, desto früher schiebt die Sorte die Ähre

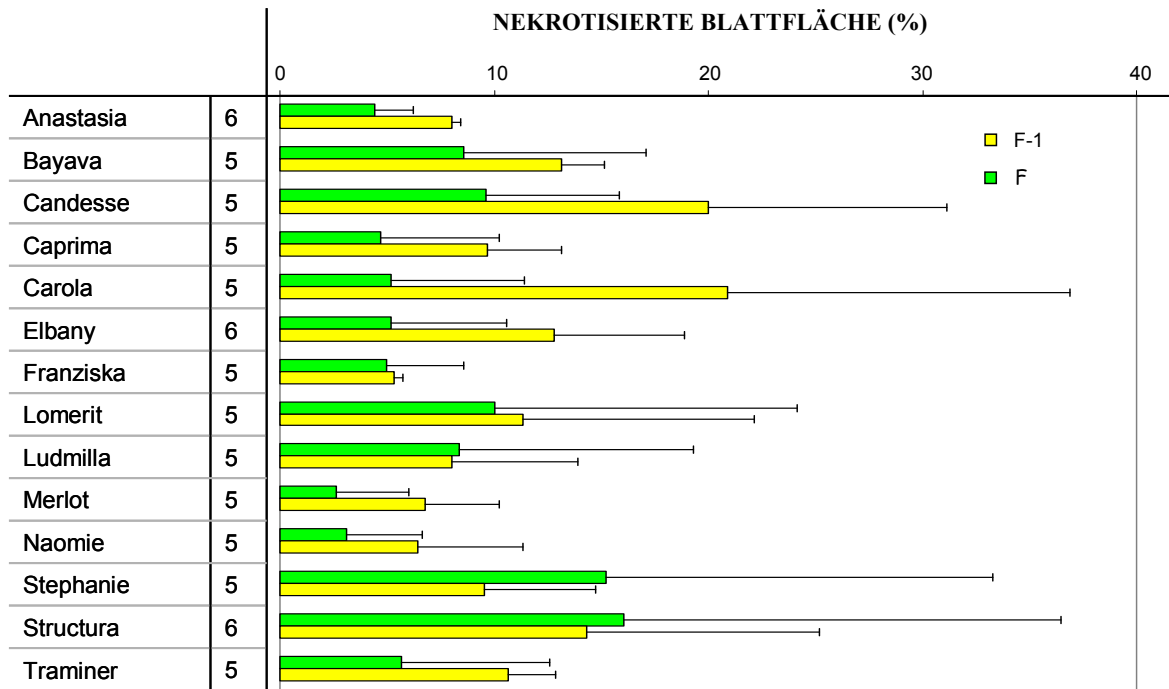


Abb. 48: Nekrotisierte Blattfläche auf dem Fahnenblatt und der darunterliegenden Blattetage (F-1) der mehrzeiligen Wintergerstensorten, die 2003 und 2004 (erste Bonitur, 08.06.2004) an dem Standort Lenglern bonitiert werden konnten. Die Einstufung des Ährenschiebens vom Bundessortenamt ist in der Spalte hinter dem jeweiligen Sortennamen aufgeführt (4=früh bis mittel; 5=mittel; 6=mittel bis spät). Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

Über beide Jahre hinweg zeigten die Sorten Merlot und Naomie einen unterdurchschnittlichen Befall durch *R. collo-cygni*. Die Sorte Franziska lag im Durchschnitt beider Jahre (2003 und 2004) leicht über den Werten von Merlot und Naomie, im Vergleich zu den anderen Sorten war sie aber ebenfalls deutlich weniger stark durch *R.a collo-cygni* befallen. Ebenfalls sehr geringen Befall zeigten die Sorten Anastasia und Ludmilla. Die Sorten Stephanie und Structura waren im Vergleich zu den anderen Sorten sehr stark befallen. Bei den Sorten Candesse und Carola fallen die hohen Befallswerte auf F-1 auf. Bei der Sorte Candesse war das Fahnenblatt ebenfalls sehr stark befallen. Bei der Sorte Carola war der Befall durch *R. collo-cygni* auf dem Fahnenblatt im Vergleich zu den anderen beobachteten Sorten nicht überdurchschnittlich hoch.

Tabelle 29 enthält die berechneten Regressionsgeradengleichungen und Korrelationskoeffizienten der erhobenen Parameter durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche und das Ährenschieben. Die Antigenkonzentrationen konnten nicht berücksichtigt werden, da nur Werte aus 2004 vorlagen. Zur Verrechnung wurden jeweils Mittelwerte aller beobachteten Sorten am Standort Lenglerln aus 2003 und 2004 verwendet.

Tab. 29: Regressionsgeradengleichungen und Korrelationskoeffizienten (r) für die jeweiligen Gleichungen. Berechnet wurden Regressionsgerade und Korrelationskoeffizient zwischen Ährenschieben und nekrotisierter Blattfläche für beobachtete Sorten am Standort Lenglern 2003 und 2004. Für die Berechnung wurde jeweils ein Mittel aus allen Sorten verwendet.

Geradengleichung	x	y	r
$y = 5,31 - 3,69E-3x$	nekrotisierte Blattfläche auf F	Ährenschieben	0,033
$y = 5,41 - 1,11^{-2}x$	nekrotisierte Blattfläche auf F1	Ährenschieben	0,112

Anders als bei den zweizeiligen Sorten kann kein gesicherter Zusammenhang zwischen der Einstufung des Ährenschiebens und dem Befall durch *R. collo-cygni* festgestellt werden. Der Korrelationskoeffizient zwischen dem Ährenschieben und den erhobenen Bonituren ist, um daraus einen Zusammenhang abzuleiten, zu gering. Aus diesem Grund haben die Geradengleichungen keine Aussagekraft und wurden nicht weiter behandelt.

3.7 Chemische Bekämpfung

3.7.1 Versuche in 2003

Der Befall durch *R. collo-cygni* setzte 2003 sehr spät ein. Erstmals konnte am 06.06.2003 der Pilz an den Blättern visuell diagnostiziert werden. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich die Pflanzen in BBCH 65/69. Der Befallsverlauf verlief anschließend sehr schnell. Andere Pathogene traten aufgrund der Trockenheit nur in geringem Umfang auf (Tabelle 30).

Tab. 30: Nekrotisierte Blattfläche auf F und F-1 in der Kontrolle. Daten aus Feldversuchen vom Standort Lenglern, Boniturdatum 13.06.2003, Sorte Franziska

Pathogen	F (% nekrotisierte Blattfl.)	F -1 (% nekrotisierte Blattfl.)
<i>Erysiphe graminis</i>	0,39	0,26
<i>Drechslera teres</i>	0,38	0,5
<i>Rhynchosporium secalis</i>	0,51	0,26
<i>Puccinia hordei</i>	0,19	0
<i>R. collo-cygni</i>	59,98	82,26

In der Abbildung 49 ist die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche in Abhängigkeit der Fungizidbehandlung am Standort Lenglern dargestellt. Die erste Fungizidbehandlung erfolgte am 5. Mai 2003, die zweite Behandlung am 7. Mai und die dritte Behandlung wurde am 15. Mai 2003 durchgeführt. Zwischen der ersten Applikation und dritten Appli-

kation vergingen 10 Tage. Die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche wurde am 13. Juni 2003 visuell bonitiert.

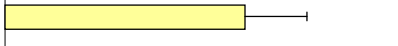

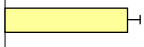

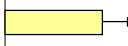

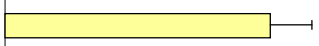

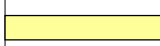
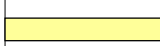
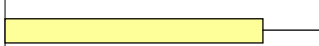
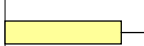
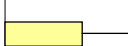
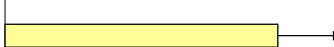
VGL.	BBCH 33	BBCH 37/39	BBCH 49/51	NEKROTISIERTE BLATTFLÄCHE (F, %)					DUNCAN
	05.03.03	07.05.03	15.05.03	0	20	40	60	80	100
1	Kontrolle								A
2		1,25 l/ha Fandango							BC
3		0,8 l/ha Fandango							B
4		1,25 l/ha Input							BC
5		1,5 l/ha Opera							BC
6		1,5 l/ha BUC 10600F							BC
7		2,0 l/ha SYD 21424F							A
8		2,0 l/ha SYD21520F							C
9		1,0 l/ha Corbel							A
10		1,5 l/ha Caramba							A
11		1,0 l/ha Acanto							A
12	1,5 l/ha Opera								B
13			1,5 l/ha Opera						BC
14		1,0 l/ha + 1,0 kg/ha Acanto + Unix							A

Abb. 49: Einfluss der Fungizidbehandlung auf die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche auf dem Fahnenblatt. Daten aus Feldversuchen (vierfach wiederholt, randomisierte Blockanlage) am Standort Lenglern. Die Bonitur erfolgte am 13.06.2003. Die Gerstenpflanzen befanden sich zu dem Zeitpunkt in BBCH 75-77. Die Signifikanzen wurden mit der Duncan-Test-Analyse berechnet. Varianten mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Verwendetes Konfidenzintervall 95%. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

Am 13. Juni differenzierte der Befall durch *R. collo-cygni* zwischen den unterschiedlichen Varianten sehr gut. Eine schlechte bzw. keine Reduktion des durch *R. collo-cygni* bedingten Befalls wurde mit der Kombination Acanto (Picoxystrobin) + Unix (Cyprodinil), SYD 21424F solo, Acanto solo, Corbel solo (Fenpropimorph) und Caramba solo (Metconazol) erzielt. Die nekrotisierte Blattfläche bei der Kombination Acanto + Unix und bei den Soloprodukten Acanto und SYD 21424 F waren gegenüber der Kontrolle erhöht. Deutlich stärker wurde der Befall durch die Wirkstoffkombinationen Input (Propiconazol + Spiroxamine), Fandango (Fluoxastrobin + Prothioconazol) und Opera (Pyraclostrobin + Epoxiconazol) reduziert. Die Varianten zwei bis vier enthalten den Wirkstoff Prothioconazol. In der

Variante vier wird die höchste Aufwandmenge Prothioconazol ausgebracht, in Variante 3 die geringste. Die Fahnenblätter der Variante 4 waren im Vergleich zu den anderen beiden Varianten am wenigsten durch *R. collo-cygni* nekrotisiert. Die Unterschiede zwischen den drei Varianten sind nicht signifikant. Die Nummernprodukte von BASF (BUC 10600F) und Syngenta (SYD 21520 F) reduzierten den Befall durch *R. collo-cygni* sehr gut. Im Vergleich zwischen den beiden Nummernprodukten zeigte SYD 21520 die bessere Wirkung gegen *R. collo-cygni*.

In den Varianten fünf, zwölf und dreizehn wurden unterschiedliche Einsatzzeitpunkte mit dem Produkt Opera geprüft. Der Einsatz zu BBCH 49/51, im Versuch der späteste Einsatz, zeigte die deutlichste Reduktion der durch *R. collo-cygni* nekrotisierten Blattfläche. Die Unterschiede sind nicht signifikant.

VGL.	EC 33	EC 37/39	EC 49/51	ERTRAG (dt/ha)						DUNCAN
	05.03.03	07.05.03	15.05.03	0	20	40	60	80	100	(5%)
1	Kontrolle			74,16						B
2		1,25 l/ha Fandango		80,51						A
3		0,8 l/ha Fandango		74,18						B
4		1,25 l/ha Input		79,54						AB
5		1,5 l/ha Opera		77,07						AB
6		1,5 l/ha BUC 10600F		79,38						AB
7		2,0 l/ha SYD 21424F		77,76						AB
8		2,0 l/ha SYD21520F		79,73						AB
9		1,0 l/ha Corbel		75,17						AB
10		1,5 l/ha Caramba		76,61						AB
11		1,0 l/ha Acanto		77,34						AB
12	1,5 l/ha Opera			79,05						AB
13			1,5 l/ha Opera	77,16						AB
14		1,0 l/ha + 1,0 kg/ha Acanto + Unix		78,76						AB

Abb. 50: Einfluss der Fungizidbehandlung auf den Ertrag (15% Restfeuchte im Korn). Daten aus Feldversuchen (vierfach wiederholt, randomisierte Blockanlage) am Standort Lenglern. Die Zahlen in den Balken geben die absoluten Erträge in dt/ha an. Die Signifikanzen wurden mit der Duncan-Test-Analyse berechnet. Varianten mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Verwendetes Konfidenzintervall 95%. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

Die ausgeprägten Befallsunterschiede zwischen den Varianten spiegelten sich nicht in den Erträgen wieder (Abb. 50). Die Erträge schwankten zwischen 74,16 dt/ha in der Kontrolle und 80,51 dt/ha in der Variante 2 (1,25 l/ha Fandango). Ein signifikanter Unterschied war nur zwischen der hohen und niedrigen Fandango-Aufwandmenge bzw. der Kontrolle zu finden.

Der Ertrag war bei der frühen Opera-Anwendung besser als bei den späteren Anwendungsterminen. Dies korreliert nicht zu der durch *R. collo-cygni* nekrotisierten Blattfläche. Hier war der Anwendungstermin in BBCH 33 stärker durch *R. collo-cygni* befallen als der spätere Anwendungstermin in BBCH 49/51.

3.7.2 Versuche in 2004

In allen in 2004 durchgeführten Versuchen wurde in der Kontrolle neben *R. collo-cygni* ein sehr geringer Befall durch *Drechslera teres* gefunden (unter 1% befallener Blattfläche). In einigen Fungizidvarianten, in denen der Befall durch *R. collo-cygni* sehr deutlich reduziert wurde, trat *Drechslera teres* verstärkt auf.

Alle Versuche zeigten die ersten Symptome, verursacht durch *R. collo-cygni*, am 31.05.2004. Eine Woche zuvor konnte der Befall mittels DAS-ELISA diagnostiziert werden. Die Pflanzen befanden sich zu diesem Zeitpunkt in BBCH 69.

3.7.2.1 Vergleich unterschiedlicher Präparate und Wirkstoffgruppen

Abbildung 51 zeigt den Vergleich unterschiedlicher zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung verfügbarer ausgewählter Präparate aus unterschiedlichen Wirkstoffgruppen. Die Applikation erfolgte einheitlich zu einem Termin am 3. Mai 2004. Die Pflanzen befanden sich zu diesem Zeitpunkt in BBCH 37/39. Dargestellt ist der Befallsverlauf auf dem Fahnblatt (F) zu drei Boniturzeitpunkten und zusätzlich der Endbefall zum Zeitpunkt der Totreife (BBCH 92) auf dem Fahnblatt durch Messung der Antigenkonzentration mittels DAS-ELISA.

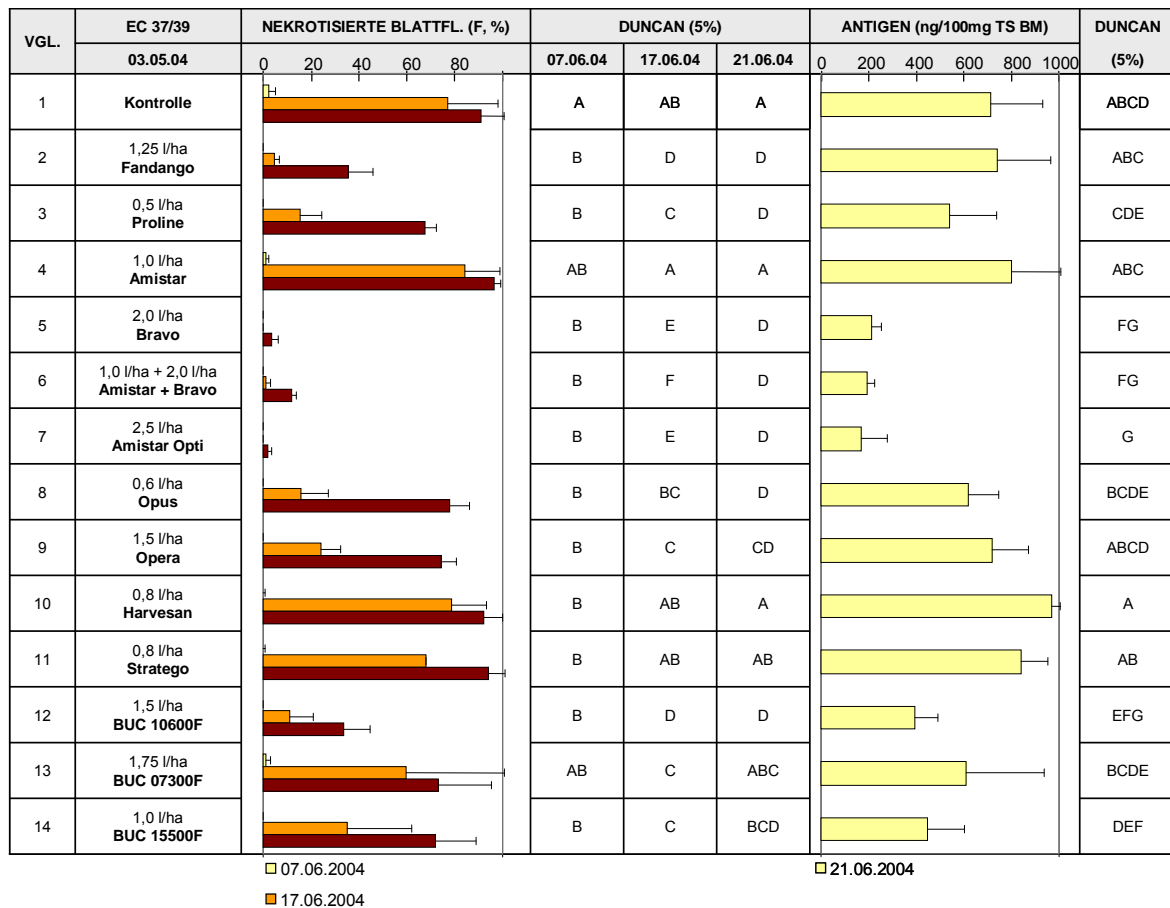


Abb. 51: Einfluss der Fungizidbehandlung auf den Befallsverlauf durch *R. collo-cygni* auf dem Fahnenblatt. Daten aus Feldversuchen (vierfach wiederholt, randomisierte Blockanlage) am Standort Lenglern. Die Bonitur erfolgte zu drei Terminen am 07.06.2004 (BBCH 71-75), 17.06.2004 (BBCH 77-83) und 21.06.2004 (BBCH 87-89). Die Proben für den DAS-ELISA wurden am 21.06.2004 kurz vor der Ernte genommen. Die Signifikanzen wurden mit der Duncan-Test-Analyse berechnet. Varianten mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Es wurden nur Werte innerhalb einer Spalte miteinander verrechnet. Verwendetes Konfidenzintervall 95%. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

Die Zunahme der nekrotisierten Blattfläche durch *R. collo-cygni* wurde an drei Terminen durch jeweils eine Bonitur im Feld festgehalten. Zum ersten Boniturtermin, am 7. Juni, konnte nur in einigen Varianten durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche festgestellt werden. Die zweite Bonitur erfolgte zehn Tage später am 17. Juni. Die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche hatte deutlich zugenommen. Alle Varianten zeigten Befall durch *R. collo-cygni*. Die letzte Bonitur erfolgte vier Tage nach der zweiten bzw. 14 Tage nach der ersten Bonitur. Mit Ausnahme der Chlorthalonil-haltigen Varianten waren alle Varianten sehr stark durch *R. collo-cygni* nekrotisiert. Die Fahnenblätter der Pflanzen in der Kontrolle waren bis zu 80% befallen.

In den Varianten zwei und drei wurde jeweils die gleiche Prothioconazolmenge in unterschiedlicher Formulierung ausgebracht. Die Variante zwei enthielt zusätzlich das in Fan-

dango enthaltene Strobilurin Fluoxastrobin. Beide ausgebrachten Präparate, Fandango und Proline, zeigten in dem Versuch eine sehr gute Wirkung gegenüber *R. collo-cygni* und reduzierten die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche. Fandango reduzierte die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche stärker als Proline. Der Unterschied war nicht signifikant. Gegenüber Proline in Variante drei hatte Fandango allerdings die höheren Antigengehalte (nicht signifikant). In den Varianten acht und neun wurde die gleiche Menge Epoxiconazol in unterschiedlichen Formulierungen ausgebracht. Beide Varianten enthielten jeweils 75g/ha Epoxiconazol. Variante acht enthielt als Wirkstoff nur Epoxiconazol, während Variante neun zusätzlich noch das im Opera enthaltene Strobilurin Pyraclostrobin enthielt. Beide Varianten unterschieden sich zu keinem der drei Boniturtermine signifikant voneinander und reduzierten beide die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche. Zum ersten Boniturtermin waren beide Varianten gleich stark durch *R. collo-cygni* nekrotisiert. Am zweiten Boniturtermin war Variante acht etwas weniger als Variante neun durch *R. collo-cygni* nekrotisiert. Am letzten Boniturtermin zeigte die Variante acht gegenüber Variante neun einen etwas höheren Anteil durch *R. collo-cygni* nekrotisierter Blattfläche. Wie bereits bei Variante zwei und vier ist auch bei den Varianten acht und neun die Antigenkonzentration in der Variante mit einem Strobilurin-Anteil nicht signifikant erhöht.

In den Versuchsgliedern vier bis sieben wurden Azoxystrobin und Chlorthalonil in Mischung und jeweils solo miteinander verglichen. Wie bereits in 2003 das Produkt Acanto zeigte auch Amistar in 2004, als reines Strobilurinprodukt, keine Wirkung gegen *R. collo-cygni*. Die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche nahm im Vergleich zur Kontrolle nicht signifikant zu. Die Antigenkonzentration der Variante vier war gegenüber der Kontrolle nicht signifikant erhöht. In den Versuchsgliedern fünf bis sieben, alle mit 1000g/ha Chlorthalonil, wurde die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche am deutlichsten reduziert. Auch die Antigenkonzentrationen waren im Vergleich zu den anderen Varianten am geringsten. Die drei Varianten haben signifikant weniger nekrotisierte Blattfläche und signifikant geringere Antigenkonzentrationen gegenüber der Kontrolle. In der Variante zehn, eine reine Azolkombination, wurde die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche gegenüber der Kontrolle nicht reduziert. Die Antigenwerte waren gegenüber allen anderen Varianten erhöht.

Die Kombination aus Strobilurin und Azol in Variante elf, Stratego (Propiconazol + Trifloxystrobin), konnte gegenüber der Kontrolle die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte

Blattfläche nur wenig und nicht signifikant reduzieren. Die Antigenkonzentration in Variante elf war nicht signifikant höher als in der Kontrolle. Die beiden Nummernprodukte von BASF, BUC 10600F und BUC 15500F reduzierten die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche beide. Signifikante Unterschiede zur Kontrolle waren nur zu den ersten beiden Boniturterminen. Die Antigenkonzentration war ebenfalls geringer als in der Kontrolle, der Unterschied war nicht signifikant. Das Nummernprodukt BUC 07300F konnte die Antigenkonzentration reduzieren, der Blattbefall durch *R. collo-cygni* war allerdings auf einem hohen Niveau. Sowohl Boniturnwerte als auch die Antigenkonzentration unterscheiden sich nicht signifikant von der Kontrolle.

Die bereinigten Erträge zu dem Versuch sind in Abbildung 53 dargestellt. Grafisch wurden die Daten in Säulen dargestellt, die absoluten bereinigten Erträge wurden in dt/ha in Zahlen in die Abbildung eingefügt. Als einheitliche Basis wurden die gemessenen Erträge auf 15% Feuchtigkeit bereinigt. Zusätzlich wurden in der letzten Spalte die signifikanten Unterschiede aufgeführt. Als Berechnungsgrundlage galt die Methode nach Duncan. Das verwendete Konfidenzintervall war 95%.

In den Varianten drei und acht wurden reine Azolprodukte eingesetzt. Bei den Varianten zwei und neun wurde jeweils die gleiche Azolmenge um ein Strobilurin ergänzt. Die Variante Strobilurin plus Azol war im Ertrag nicht signifikant höher als die jeweilige Variante Azol solo.

Die Variante Strobilurin solo, Variante vier, zeigte keine Wirkung auf die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche bzw. auf die gemessene Antigenkonzentration. Der Ertrag dagegen war signifikant höher als der der Kontrolle, aber nicht signifikant höher als der in Variante fünf (Chlorthalonil solo), die wiederum eine signifikant bessere Wirkung gegen *R. collo-cygni* zeigte. Die Kombination aus Kontaktwirkstoff und Strobilurin, Variante sechs bzw. sieben, schnitt ertraglich auf gleichem Niveau ab wie Variante zwei (Azol/Strobilurin-Fertigprodukt).

In den Varianten neun und zehn spiegeln die Erträge die visuellen Bonituren wieder. Beide Varianten zeigten in den visuellen Bonituren unterdurchschnittliche Wirkung gegen *R. collo-cygni*, die Erträge sind ebenfalls geringer als der Durchschnitt.

Die Nummernprodukte von BASF sind im Ertrag mittel bis sehr gut. Das Nummernprodukt BUC 10600F reduzierte die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche sehr gut und erhöhte die Erträge. BUC 07300F war bei den Bonituren deutlich schlechter als BUC

10600F, lag im Ertrag aber leicht darüber. BUC 15500F war das schlechteste Produkt von den drei Nummernprodukten.

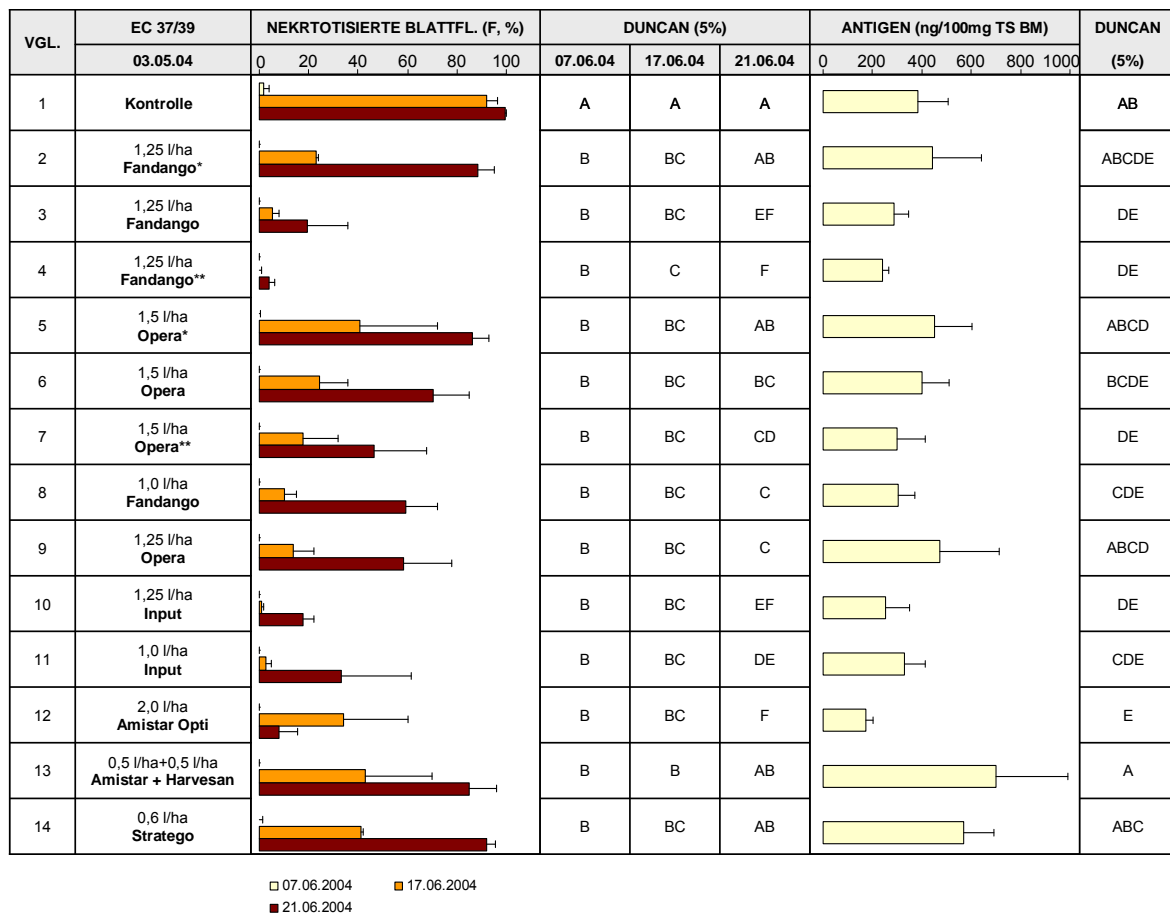
VGL.	EC 33	EC 37/39	EC 49/51	ERTRAG (dt/ha)					DUNCAN (5%)
	22.04.04	03.05.04	12.05.04	80	90	100	110	120	
1	Kontrolle			80,69					E
2		1,25 l/ha Fandango		102,08					AB
3		0,5 l/ha Proline		99,98					ABC
4		1,0 l/ha Amistar		93,95					ABCD
5		2,0 l/ha Bravo		89,69					D
6		1,0 l/ha + 2,0 l/ha Amistar + Bravo		100,32					ABC
7		2,5 l/ha Amistar Opti		99,91					ABC
8		0,6 l/ha Opus		94,54					ABCD
9		1,5 l/ha Opera		98,51					ABCD
10		0,8 l/ha Harvesan		93,21					BCD
11		0,8 l/ha Stratego		91,87					CD
12		1,5 l/ha BUC 10600F		102,01					AB
13		1,75 l/ha BUC 07300F		103,18					A
14		1,0 l/ha BUC 15500F		95,07					ABCD

Abb. 52: Einfluss der Fungizidbehandlung auf den Ertrag (15% Restfeuchte im Korn). Daten aus Feldversuchen (vierfach wiederholt, randomisierte Blockanlage) am Standort Lenglern. Die Zahlen in den Balken geben die absoluten Erträge in dt/ha an. Die Signifikanzen wurden mit der Duncan-Test-Analyse berechnet. Varianten mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Verwendetes Konfidenzintervall 95%. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

3.7.2.2 Untersuchungen zum Applikationstermin und Auswirkungen der Reduktion von Aufwandmengen

In 2004 wurden mehrere Fungizidversuche mit unterschiedlichen Fragestellungen angelegt. In diesem Versuch wurden die Auswirkungen unterschiedlicher Anwendungstermine und die Auswirkung Reduktion der Aufwandmengen untersucht.

Abbildung 53 zeigt den Vergleich unterschiedlicher Anwendungszeitpunkte und Aufwandmengenreduktion einzelner Produkte zum Einfachanwendungstermin in BBCH 37/39. Dargestellt sind der Befallsverlauf auf dem Fahnenblatt (F) durch drei Boniturzeitpunkte und der Endbefall auf dem Fahnenblatt durch Messung der Antigenkonzentration mittels DAS-ELISA.



* Applikation zu BBCH 33; 21.04.2004

** Applikation zu BBCH 49/51; 12.05.2004

Abb. 53: Wirkung der Terminierung der Applikation und Wirkung reduzierter Aufwandmengen auf den Befallsverlauf durch *R. collo-cygni* auf dem Fahnenblatt. Daten aus Feldversuchen (vierfach wiederholt, randomisierte Blockanlage) am Standort Lenglern. Die Bonitur erfolgte zu drei Terminen am 07.06.2004 (BBCH 71-75), 17.06.2004 (BBCH 77-83) und 21.06.2004 (BBCH 87-89). Die Proben für den DAS-ELISA wurden am 21.06.2004 kurz vor der Ernte genommen. Die Signifikanzen wurden mit der Duncan-Test-Analyse berechnet. Varianten mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Es wurden nur Werte innerhalb einer Spalte miteinander verrechnet. Verwendetes Konfidenzintervall 95%. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

In den Varianten zwei bis vier wurde Fandango zu unterschiedlichen Terminen in voller empfohlener Aufwandmenge und jeweils nur einmal ausgebracht. Dasselbe wurde mit dem Produkt Opera in den Varianten fünf bis sieben durchgeführt. Beide Produkte zeigten zum letzten Anwendungstermin BBCH 49/51 die beste Wirkung gegen *R. collo-cygni*. Sowohl die visuell bonitierte nekrotisierte Blattfläche als auch die Antigenwerte waren zum letzten Applikationstermin kleiner. Der späte Applikationstermin am 12. Mai 2004 von Fandango

und Opera unterscheidet sich in der dritten Bonitur am 12. Mai 2004 signifikant zu dem frühen Applikationstermin am 21. April 2004.

Durch die Reduktion der Aufwandmenge bei Input von 1,25 l/ha auf 1,0 l/ha, Varianten zehn und elf, nahm der Anteil nekrotisierter Blattfläche zu. Noch stärker war der Unterschied zwischen empfohlener und reduzierter Aufwandmenge bei Fandango und Opera, Varianten drei und acht bzw. sechs und neun. Bei Fandango ist der Unterschied zwischen voller empfohlener und reduzierter Aufwandmenge am dritten Boniturtermin signifikant. Durch die Reduktion der empfohlenen Aufwandmenge nahm der Anteil durch *R. collo-cygni* nekrotisierter Blattfläche bei allen drei getesteten Produkten (Input, Fandango, Opera) zu. Die Unterschiede zwischen den nicht reduzierten und reduzierten Aufwandmengen waren bis auf bei dem Präparat Fandango zum dritten Boniturtermin nicht signifikant.

Die aus der Praxis abgeleitete Variante dreizehn, Amistar plus Harvesan, und die reduzierte Aufwandmenge Stratego, Variante vierzehn, reduzierten die durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche nicht ausreichend. Beide Varianten unterscheiden sich zum dritten Boniturtermin nicht signifikant von der Kontrolle.

Die Antigenkonzentration wurde zu einem Termin am 21. Juni 2004 (BBCH 92) gemessen. Dabei zeigte die Variante zwölf die geringste Antigenkonzentration. Die Antigenkonzentration war in dieser Variante signifikant niedriger als in den Varianten eins, fünf, neun, dreizehn und vierzehn. In der Variante dreizehn, Amistar plus Harvesan, war die gemessene Antigenkonzentration signifikant höher als in den Varianten drei, vier, sechs, sieben, acht, zehn, elf und zwölf. In Variante vierzehn war die gemessene Antigenkonzentration signifikant höher als in den Varianten drei, vier, sieben, zehn und zwölf. Darüber hinaus konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Die bereinigten Erträge zu dem Versuch sind in Abbildung 55 dargestellt. Grafisch wurden die Daten in Säulen dargestellt. Die absoluten bereinigten Erträge wurden in Zahlen als dt/ha in die Grafik integriert. Als einheitliche Basis wurden die gemessenen Erträge auf 15% Feuchtigkeit bereinigt. Zusätzlich wurden in der letzten Spalte die signifikanten Unterschiede aufgeführt. Als Berechnungsgrundlage galt die Methode nach Duncan. Das verwendete Konfidenzintervall war 95%.

VGL.	EC 33	EC 37/39	EC 49/51	ERTRAG (dt/ha)					DUNCAN
	22.04.04	03.05.04	12.05.04	80	90	100	110	120	(5%)
1	Kontrolle			83,2					A
2	1,25 l/ha Fandango			96,4					B
3		1,25 l/ha Fandango		98,5					B
4			1,25 l/ha Fandango	98,7					B
5	1,5 l/ha Opera			97,1					B
6		1,5 l/ha Opera		98,3					B
7			1,5 l/ha Opera	99,4					B
8		1,0 l/ha Fandango		96,1					B
9		1,25 l/ha Opera		99,4					B
10		1,25 l/ha Input		102,5					B
11		1,0 l/ha Input		100,1					B
12		2,0 l/ha Amistar Opti		93,9					B
13		0,5 l/ha+0,5 l/ha Amistar + Harvesan		93,9					B
14		0,6 l/ha Stratego		94,6					B

Abb. 54: Wirkung der Terminierung und reduzierter Aufwandmengen auf den Ertrag (15% Restfeuchte im Korn). Daten aus Feldversuchen (vierfach wiederholt, randomisierte Blockanlage) am Standort Lenglern. Die Zahlen in den Balken geben die absoluten Erträge in dt/ha an. Die Signifikanzen wurden mit der Duncan-Test-Analyse berechnet. Varianten mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Verwendetes Konfidenzintervall 95%. Der Fehlerindikator stellt die Standardabweichung dar.

Im Durchschnitt erzielten die Fungizidvarianten 14,3 dt/ha Mehrertrag gegenüber der Kontrolle. Signifikante Unterschiede zwischen den Fungizidvarianten traten nicht auf. Alle Fungizidvarianten unterschieden sich signifikant von der Kontrolle.

In den Varianten zwei bis sieben wurden die unterschiedlichen Applikationstermine getestet. Die jeweils spätesten Applikationstermine, Variante vier und sieben, erzielten nicht signifikant die höchsten Mehrerträge. Dies korreliert mit den Boniturwerten und den gemessenen Antigenkonzentrationen, bei denen die Varianten vier und sieben ebenfalls besser abschnitten als die Varianten zwei und drei bzw. fünf und sechs.

Die Aufwandmengenreduktion führte bei Fandango und Input zu nicht signifikant geringeren Mehrerträgen bezogen auf die Kontrolle als im Vergleich die vollen empfohlenen Aufwandmengen. In der Variante neun, Opera reduziert, war der Ertrag um 1,1 dt/ha höher als in der Variante sechs, Opera volle empfohlene Aufwandmenge. Auch dieser Unterschied war nicht signifikant. Bei allen drei Produkten, mit denen die Aufwandmengenre-

duktion getestet wurde, waren die Unterschiede zwischen voller empfohlener und reduzierter Aufwandmenge innerhalb der Standardabweichung und nicht signifikant.

Die Erträge der Varianten zwölf bis vierzehn lagen sehr eng beieinander, zwischen 93,9dt/ha und 94,6dt/ha. Der Mehrertrag zur Kontrolle war damit im Vergleich zu den anderen Fungizidvarianten am geringsten, aber trotzdem noch signifikant höher als in der Kontrolle.

4. Diskussion

Im Mittelpunkt dieser Arbeit stand die Sammlung von Daten zur Bedeutung und Biologie des Schaderregers *R. collo-cygni*. Die Bedeutung der Krankheit in der Praxis hängt von der Verbreitung, Befallsstärke, Schadrelevanz und deren Bekämpfungsmöglichkeiten ab. Damit die Krankheit allerdings wahrgenommen werden kann, muss sie erkannt werden. Daher zählte die Ausarbeitung visueller Differenzierungsmerkmale von *R. collo-cygni* zu anderen Nekroseursachen ebenfalls zu den Kernpunkten der Arbeit.

4.1 Diagnose von *R. collo-cygni*

4.1.1. Visuelle Symptombonitur

Eine eindeutige Diagnose des Schaderregers war für das Monitoring und die Fungizidversuche notwendig. Die visuelle Bonitur der befallenen Blattfläche ist eine im Feld häufig eingesetzte Methode und ermöglicht eine schnelle Befallsermittlung. Für eine sichere Unterscheidung wurde eine Differenzierungshilfe erarbeitet. Zur Validierung und genaueren Untersuchung wurde zusätzlich ein DAS-ELISA entwickelt und etabliert. Die sehr hohe Korrelation ($r=0,875$) zwischen den visuellen Bonituren und den gemessenen Antigenkonzentrationen im Monitoring zeigt die Möglichkeit der Differenzierung anhand von optischen Merkmalen auf. Die Zuordnung einzelner Nekrosen zu ihren Ursachen ist durchführbar.

Neben Amistar Opti gibt es kein weiteres Produkt auf dem Markt mit einer Indikationszulassung gegen „Ramularia-Blattflecken“ (PAPI, Stand 11. Dezember 2009), obwohl es einige weitere Produkte mit einer guten Wirkung gibt. Dagegen gibt es einige neuere Pflanzenschutzmittel, die eine Indikationszulassung zur „Minderung nicht parasitärer Blattflecken“ besitzen. PLS, nichtparasitäre Blattflecken, traten an den Monitoringproben häufig auf. Die durch PLS nekrotisierte Blattfläche war sehr gering. Um *R. collo-cygni* in der Wahrnehmung von Beratern und Landwirten den Stellenwert zu beschaffen, den die Krankheit in der Ertragsrelevanz hat, sind weitere Arbeiten notwendig.

4.1.2. Auslegen auf Wasseragar (nach Sachs)

Die von Tschöpe et. al. (2001) beschriebene Methode, Nekrosen anhand der Rotfärbung auf saurem Wasseragar *R. collo-cygni* zuzuordnen, konnte nicht nachvollzogen werden. In eigenen Versuchen gestaltete sich die Rotfärbung als unzuverlässig und unspezifisch. Aus diesem Grund wurde die Methode nicht weiter verfolgt.

4.1.3 ELISA Nachweis

Die Methode, Erreger mittels Antikörper nachzuweisen, stammt ursprünglich aus der Humanmedizin. Im Gegensatz zu RIA (Radioimmunoassay), bei dem der Nachweis auf der Messung radioaktiver Strahlung basiert, wird im ELISA eine Farbreaktion gemessen (Engvall et al. 1971). Bereits in den 70er Jahren wurde von Clark und Adams (1977) der erste ELISA für die Phytopathologie entwickelt. Sie nutzten die Methode, um Pflanzenviren nachzuweisen. In den nachfolgenden Jahren wurden ELISA zum Nachweis von Erregern in Pflanzen und Boden entwickelt (Nachmias et al., 1979; Casper & Mendgen, 1979; Unger, 1989; Cernusko, 1995; Heppner, 1995).

Im ELISA-Verfahren können monoklonale und polyklonale Antikörper eingesetzt werden. Monoklonale Antikörper sind Antikörper, die von einer auf einen einzigen B-Lymphozyten zurückgehenden Zelllinie (Zellklon) produziert werden. Kennzeichnend für monoklonale Antikörper ist die sehr hohe Spezifität gegenüber dem nachzuweisenden Antigen (Peters & Baumgarten, 1990; Köhler, G et al. 1975). Der Nachteil dieser Art Antikörper liegt in den höheren Herstellungskosten, einer aufwendigeren und zeitintensiveren Herstellung und der sehr hohen Spezifität. Sobald der nachzuweisende Erreger heterogen ist oder sich die Oberfläche des Erregers ändert, an dem die monoklonalen Antikörper binden, kann der Erreger nicht mehr nachgewiesen werden. Die Folge ist, dass einzelne Isolate einer Population nicht mehr nachgewiesen werden.

Eine physiologisch vorkommende Immunantwort gegen ein in den Körper eingedrungenes Antigen ist dagegen stets polyklonal und richtet sich z. B. gegen viele verschiedene Teile auf einem Bakterium oder Pilzmycel. Sobald nicht nur ein einzelnes Protein zur Immunisierung genutzt wird, sondern eine Mischung von Proteinen, richtet sich die Immunabwehr gegen alle sich in der Mischung befindenden Proteine. Mit zunehmender Anzahl unterschiedlicher Proteine in der Mischung, die für die Immunisierung verwendet wird, sinkt gleichzeitig die Spezifität des Nachweises (Fortnagel 1994).

Die Anforderungen, schnell einsatzfähige, kostengünstige, möglichst breite Isolate einer möglicherweise sehr heterogenen Art zu detektieren, gleichzeitig aber sehr spezifisch auf die Art *R. collo-cygni* und sowohl qualitative als auch quantitative Aussagen zu treffen, erfüllen polyklonale Antikörper besser als monoklonale Antikörper. Aus diesem Grund wurden polyklonale Antikörper für den ELISA ausgewählt.

Für die Entwicklung des DAS-ELISA standen Blutseren von vier Kaninchen zur Verfügung, die mit einer Mischung aus *R. collo-cygni*-Proteinen immunisiert worden waren. Die Aktivität der Antikörper und der biotinylierten Antikörper war aus dem Serum 171 am höchsten. Daher wurden alle weiteren Untersuchungen mit Antikörpern aus diesem Serum durchgeführt.

Bevor der ELISA für Routineuntersuchungen verwendet werden konnte, mussten einige Parameter untersucht und optimiert werden. Der erste untersuchte Parameter war die Konzentration von Antikörpern und biotinylierten Antikörpern. Als optimal stellte sich eine Verdünnung von 1:1000 bei Antikörpern und biotinylierten Antikörpern heraus. In dieser Konzentration verlief die Färbung am Ende des Nachweises ausreichend schnell, um methodisch bedingte Fehler zu minimieren, und es wurde sparsam mit Antikörpern umgegangen.

Für die Untersuchung von Pflanzenproben ist es wichtig, dass die Analysemethode spezifisch den gesuchten Erreger nachweist und unerwünschte Kreuzreaktionen mit anderen Verbindungen ausschließt. Um mögliche Kreuzreaktionen mit anderen Verbindungen außer denen von *R. collo-cygni* auszuschließen, wurden Pflanzenteile und Protein von Pilzen extrahiert und getestet.

Bis auf *Pyrenophora teres* und *Rhynchosporium secalis* lagen alle gemessenen Extinktionswerte ($E_{405\text{nm}}$) nach 60 Minuten unter 0,1 und waren damit zu vernachlässigen. Bei *Pyrenophora teres* war $E_{405\text{nm}}=0,105$ (umgerechnet 14,5ng Antigen/ml) und *Rhynchosporium secalis* lag $E_{405\text{nm}}=0,114$ (umgerechnet 18ng Antigen/ml).

Analysemethoden werden häufig nach ihrer Nachweisgrenze beurteilt. In der Literatur sind oft Nachweisgrenzen von 10-50 ng Protein/ml beschrieben (Unger, 1989; Fortnagel, 1994). Nach Clark & Adams (1977) können antigene Substanzen bis zu einer Konzentration von 1ng/ml Protein im ELISA nachgewiesen werden. In der vorliegenden Arbeit wurde eine Nachweisgrenze aufgrund der Kreuzreaktionen bei *Pyrenophora teres* und *Rhynchosporium secalis* bei 25ng Antigen/ml inklusive eines Sicherheitspuffers festgelegt. Dies ent-

spricht 25ng/100mg TS Blattmasse. Vergleichswerte zu anderen serologischen Verfahren zum Nachweis von *R. collo-cygni* fehlen, da bisher keine Arbeitsgruppe ein vergleichbares Verfahren erarbeitet hat.

Eine weitere wichtige Anforderung an den ELISA war neben der qualitativen Aussage eine quantitative Aussage zu liefern. Voruntersuchungen haben gezeigt, dass der relevante Bereich, in dem gemessen werden sollte, zwischen 25ng und 1000ng/100mg TS Blattmasse lag. Untersuchungen mit aufgereinigtem *R. collo-cygni*-Protein zeigten, dass der ELISA in diesem Bereich zuverlässig arbeitet.

4.2. Daten zu Keimung, Wachstum und Infektion von *R. collo-cygni*

4.2.1. Untersuchungen unter kontrollierten Bedingungen

4.2.1.1. Einfluss der Temperatur auf Keimung und Wachstum von *R. collo-cygni*

Die Temperatur hat einen entscheidenden Einfluss auf Keimung, Wachstum und Infektion von Pilzen. Daher ist es wichtig, die minimalen Ansprüche und das Optimum für Keimung, Wachstum und Infektion zu kennen. Nur so sind Kultivierung, Inokulation und Befallsprognosen möglich. Um die optimalen Temperaturbedingungen für Keimung, Wachstum und Infektion zu ermitteln, wurden einige Laborstudien durchgeführt. Die ersten Untersuchungen hatten zum Ziel, die optimale Keimtemperatur herauszufinden. Hierzu wurden Versuche auf Wasseragar und Blattoberflächen durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass *R. collo-cygni* in einem sehr breiten Temperaturspektrum keimen kann. Bereits bei 4°C wurden auf Wasseragar die ersten gekeimten Sporen gezählt. Das Optimum auf Wasseragar lag zwischen 12°C und 24°C, wobei in Temperaturstufen außerhalb dieses Bereiches, 28°C bzw. 8°C, ebenfalls eine hohe Anzahl gekeimter Sporen auftraten. Auf den Blattsegmenten fiel das Optimum zwischen 16°C und 24°C etwas kleiner als auf Wasseragar aus. Die Abgrenzung zu der jeweils höheren (28°C) bzw. niedrigeren (12°C) Temperaturstufe war auf den Blattsegmenten deutlich ausgeprägter als auf Wasseragar. In den Temperaturstufen über 32°C keimten Sporen auf beiden Medien kaum oder überhaupt nicht. In den Stufen darüber (36°C und 40°C) keimten die Sporen oder wuchs Mycel auf beiden Medien, Wasseragar und Blattoberfläche, nicht.

Der Anteil gekeimter Sporen auf Wasseragar lag deutlich höher und die Keimung verlief deutlich schneller. Dies hängt mit den unterschiedlichen Feuchtigkeitsverhältnissen zusammen. Auf der Oberfläche des Wasseragars war zu jedem Zeitpunkt flüssiges Wasser vorhanden, während auf den Blattsegmenten nur ein feiner Taufilm, bestehend aus kleinen Tropfen, war. Der Verlauf der Kurven ist bei beiden Oberflächen vergleichbar. Dadurch sind die Daten aus den Versuchen mit Wasseragar auf Blattsegmente und damit auf Pflanzen übertragbar.

Der Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von *R. collo-cygni*-Mycel wurde nur auf Wasseragar untersucht. Das stärkste Wachstum konnte in den Temperaturstufen 20°C und 24°C beobachtet werden. Deutlich weniger stark wuchs *R. collo-cygni* in den Temperaturstufen darunter, 12°C und 16°C. Das geringste Wachstum wurde unter 8°C und über 28°C festgestellt.

Zusammengefasst lässt sich feststellen, dass *R. collo-cygni* bereits bei sehr niedrigen Temperaturen keimen und wachsen kann. Das Temperaturoptimum für Keimung und Wachstum liegt aber zwischen 16°C und 24°C in einem kleineren Bereich. Temperaturen über 28°C hemmen das Wachstum und Sporen keimen deutlich schlechter. Ab Temperaturen über 36°C stellt *R. collo-cygni* Wachstum und Keimung der Sporen ein.

Für die Nekrotisierung stellt *R. collo-cygni* die gleichen Anforderungen an die Temperatur wie für die Keimung. Die stärkste Nekrotisierung wurde zwischen 16°C und 24°C beobachtet.

Bestätigt werden diese Beobachtungen durch Herbert Huss (persönl. Mitteil.). Er berichtet 2001 bereits von der Anpassung von *R. collo-cygni* gegenüber sehr niedrigen Temperaturen. In einem Versuch stellte er infizierte Pflanzen im Winter ohne schützende Schneeschicht nach draußen und beobachtete einen fortschreitenden Befall mit *R. collo-cygni*. Alle anderen Schaderreger, die zuvor bereits die Pflanzen infiziert hatten, entwickelten sich bei extremen Tiefstemperaturen, bis zu -15°C, nicht weiter. Im zeitigen Frühjahr konnte er auf den Pflanzen sporulierenden *R. collo-cygni*-Pilzrasen feststellen. In den eigenen Versuchen konnte bei 4°C ein sehr geringes Wachstum von *R. collo-cygni* festgestellt werden. Da der Beobachtungszeitraum von Huss aber deutlich länger gewählt war, konnte er nach mehreren Monaten sporulierende Pilzkolonien beobachten. In den eigenen Versuchen war dies aufgrund des geringeren Beobachtungszeitraums nicht möglich. Trotzdem unterstützen diese Beobachtungen die in der vorliegenden Arbeit erarbeiteten Ergebnisse.

Sutton & Waller berichten bereits 1988 im Zusammenhang mit der Kultivierung von *R. collo-cygni* auf CMA-Medium, dass der Pilz bei 25°C am schnellsten wächst. Bei 20°C ist

das Wachstum geringfügig langsamer, während bei 28°C das Wachstum deutlich langsamer ist und bei 32°C kein Wachstum beobachtet werden konnte. Diese Angaben decken sich mit den erarbeiteten Daten.

Das Temperaturoptimum für *R. collo-cygni* zwischen 16°C und 24°C ist im Vergleich zu anderen spät auftretenden Pathogenen der Gerste nicht sehr hoch. Für *Pyrenophora teres* werden in der Literatur Temperaturspannen zwischen 15°C und 25°C, abhängig von Entwicklungsstadium und Rasse, als ideal aufgeführt (Shaw, 1986; Brandl, F. et al., 1990; Maier, J., 1993). *Bipolaris sorokiniana*, der Erreger der Braunfleckigkeit, tritt vergleichbar mit *R. collo-cygni* ebenfalls sehr spät im Verlauf der Vegetation auf. *Bipolaris sorokiniana* benötigt Temperaturen zwischen 24°C und 28°C für Blattbefall und 25°C bis 30°C für Ährenbefall (Maier et al., 1993). Auch die Keimung von Sporen in sehr geringen Temperaturen ist für in der Vegetation spät auftretende Pathogene nichts Ungewöhnliches. Sporen von *Pyrenophora teres* z.B. können zwischen 2°C und 30°C keimen (Brandl, F. et al., 1990; Maier, J., 1993). Der Vergleich mit anderen Pathogenen zeigt, dass *R. collo-cygni* keine besonderen Anforderungen zu Keimung oder Wachstum benötigt.

4.2.1.2. Einfluss von Feuchtigkeit auf die Keimung von *R. collo-cygni*

Die Temperatur ist ein sehr wichtiger Faktor für die Keimung der Sporen und das Wachstum des Mycels. Für eine erfolgreiche Infektion reicht bei vielen Pflanzenpathogenen eine optimale Temperatur allein allerdings nicht aus. Zusätzlich wird häufig eine gewisse Feuchtigkeit zur Keimung und Infektion auf der Blattoberfläche benötigt. *Pyrenophora-teres*-Sporen z.B. benötigen zur Keimung für mindestens 6 Stunden freies Wasser auf der Blattoberfläche (Hoffmann et al. 1999). Auch für *Rhynchosporium secalis*, einem weiteren sehr bedeutenden Erreger der Gerste, ist Blattnässe für mindestens 10 bis 12 Stunden zur Keimung der Sporen Voraussetzung (Pietsch, E., 1984; Kremb, S., 1993). In der vorliegenden Arbeit wurden in Klimakammerversuchen Pflanzen unterschiedlich lange unter 95% rel. Luftfeuchte inkubiert. Je länger die Pflanzen inkubiert wurden, desto stärker war die Blattfläche durch *R. collo-cygni* nekrotisiert. Nach 24 Stunden Inkubation konnte noch kein Befall durch *R. collo-cygni* festgestellt werden, nach 48 Stunden Inkubation nahm der Befall stetig bis zur maximalen Inkubation von 5 Tagen zu. Aus dem Versuch geht hervor, dass *R. collo-cygni* für eine erfolgreiche Infektion eine Mindestblattnässedauer über 24 Stunden bei 20°C Tagestemperatur und 16°C Nachttemperatur benötigt. Je näher die Umwelteinflüsse am Optimum für Keimung und Wachstum eines Pathogens liegen, desto kür-

zer ist die Zeitspanne bis zur erfolgreichen Infektion. Bei *R. collo-cygni* bedeutet das, dass tropfbares Wasser auf der Oberfläche vorhanden sein muss. Entfernen sich die Temperaturen für Keimung und Wachstum vom Optimum, verlängert sich die Zeitspanne, die tropfbares Wasser auf der Blattoberfläche benötigt, damit *R. collo-cygni* Pflanzen infizieren kann.

Die Bedeutung von Blattnässe wurde von Huss 2001 und 2002 untersucht. In seinen Versuchen belegt er, dass ohne Feuchtigkeit keine Infektionen durch *R. collo-cygni* stattfinden (Huss et al. 2003). Huss und Sachs schließen 1998 aus ihren Beobachtungen im Freiland, dass das Temperaturoptimum zwischen 18°C und 24°C für mindestens 48 Stunden 100% relative Luftfeuchtigkeit liegt. Sie schätzen die Inkubationszeit unter diesen Bedingungen auf 6-8 Tage (Huss et al. 1998). Diese Zeitspanne deckt sich wiederum mit den Beobachtungen im Freiland. ELISA-Untersuchungen zeigten den Befall ca. eine Woche vor den ersten Symptomen.

4.2.1.3. Einfluss von Licht

Neben Temperatur und Feuchtigkeit können weitere Umwelteinflüsse für die Entwicklung von pathogenen Pilzen wichtig sein. Ohne UV-Licht werden bei *Pyrenophora teres* keine Konidienträger gebildet. Zusätzlich benötigt *Pyrenophora teres* einen Tag/Nacht-Rhythmus, um Sporen zu produzieren. Während der Sporenproduktion selbst hat die Temperatur einen untergeordneten Einfluss (Brandl F. et al., 1990). In der vorliegenden Arbeit konnte der Einfluss von Licht auf die Pathogenese gezeigt werden. Pflanzen, die für 72 Stunden inkubiert wurden und dabei täglich für 14 Stunden belichtet wurden, zeigten nach 14 Tagen deutliche Symptome, ausgelöst durch *R. collo-cygni*. Pflanzen, die unter den gleichen Bedingungen ohne Licht inkubiert wurden, zeigten 14 Tage nach der Inokulation keine durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche. Die Bedeutung von Licht in der Pathogenese wird dadurch bestätigt. Auch nach einer sich anschließenden Phase von 9 Tagen mit einem Tag/Nacht-Rhythmus wurden keine Symptome ausgebildet. *R. collo-cygni* war nicht in der Lage, die Blätter zu infizieren.

Unterstützt werden diese Ergebnisse durch die Untersuchungen von Heiser (2003). Sie wies die Bildung von photodynamischen Toxinen für *R. collo-cygni* nach. Photodynamische Toxine sind Substanzen, die erst unter Lichteinstrahlung toxisch werden. Ohne den Einfluss von Licht sind sie inaktiv und verursachen keinen Schaden. Für einige phytopathogene Pilze ist die Bildung solcher photodynamischer Toxine bereits nachgewiesen.

Die toxische Wirkung dieser Verbindungen liegt in der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), aktivierte Formen von molekularem Sauerstoff. Dies sind Superoxidradikalanionen ($O_2^{\cdot-}$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Hydroxylradikal ($\cdot OH$) und Singulett-Sauerstoff (1O_2). Diese Moleküle entstehen unter anderem auch im normalen Stoffwechsel der Pflanze und werden dort durch enzymatische Schutzsysteme (Superoxiddismutase, Katalase, Ascorbat-Peroxidase) oder niedermolekulare Antioxidantien (Carotinoide, Flavonoide, α -Tocopherol, Glutathion, Ascorbat) sofort wieder entgiftet (Heiser et al. 1998; Heiser et al. 2003; Buchanan et al. 2000). Für *R. collo-cygni* wurde die Bildung von Rubellinen, einer Gruppe photoaktiver Moleküle, nachgewiesen (Miethuber, S., 2002; Heiser, I., 2003). Bisher sind 6 unterschiedliche Rubelline dokumentiert: Rubellin A, Rubellin B, Rubellin C, Rubellin D, Dehydrorubellin-D, Rubellin E (mündliche Mitteilung Heiser I. 2007). Die Moleküle unterscheiden sich darin, wie stark sie Ethan durch Oxidation von α -Linolensäure freisetzen (Miethuber, S., 2006). Dadurch unterscheiden sie sich auch in ihrer Aggressivität gegenüber der Pflanze.

Untersuchungen von Makepeace zeigen allerdings, dass eine geringere Lichtintensität nach der Inokulation von Vorteil ist (Makepeace et al. 2008). In seinen Untersuchungen hat er unterschiedliche Lichtregime untereinander verglichen. Dabei kam er zu dem Ergebnis, dass Pflanzen, die bis zur Inokulation mit hoher Lichtintensität aufwuchsen und nach der Inokulation unter geringerer Einstrahlung inkubiert wurden, deutlich stärkere Symptome zeigen als Pflanzen, die unter den gleichen Lichtintensitäten inkubiert wurden (Makepeace et al. 2008). Nach den Erkenntnissen über die Rubelline war mit diesen Ergebnissen nicht zu rechnen, da diese Licht zur Aktivierung benötigen. Der Schlüssel liegt in der Intensität. Die Untersuchungen von Heiser mit Mitarbeitern bzw. Miethbauer und Mitarbeitern wurden mit Lichtintensitäten durchgeführt, die dem Lichtregime mit geringer Lichtintensität entsprechen. (Heiser et al. 2003, 2004; Miethbauer et al. 2003). Lichtintensitäten, die darüber hinausgehen, sind offenbar für die Entwicklung von Symptomen hemmend. In der vorliegenden Arbeit wurden keine unterschiedlichen Lichtintensitäten untersucht. Es wurde nur die Inkubation komplett ohne Licht getestet. Ohne Licht ist der Erreger nicht in der Lage, Pflanzen zu befallen.

4.2.1.4. Einfluss des Pflanzenalters auf die Infektion und Nekrotisierung des Blattgewebes durch *R. collo-cygni*

In frühen Entwicklungsstadien, bis BBCH 34/38, verhielten sich im Versuch beide verwendeten Sorten gleich. Die Sorten Barke und Neruda sind um das Entwicklungsstadium 31/32 anfälliger gegenüber *R. collo-cygni* als früher oder später. Die Sorte Barke ist im Vergleich zu Neruda etwas anfälliger zu diesem frühen Entwicklungsstadium. Im weiteren Entwicklungsverlauf nahm die Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* bei der Sorte Barke früher zu als bei der Vergleichssorte Neruda. Die Anfälligkeit stieg bei der Sorte Barke ab BBCH 34/39 an. Die Sorte Neruda reagiert mit einem Anstieg der Anfälligkeit erst ab BBCH 47/49.

Bereits von erfolgreichen Inokulationen im Keimblattstadium berichtet Makepeace. Damit hat er Pflanzen infiziert, die jünger waren als in der vorliegenden Arbeit. Im Gegensatz zu den Daten in dieser Arbeit hatte er mit Pflanzen im Keimblattstadium sehr gute Infektionserfolge. Anders als in der vorliegenden Arbeit hat er ausschließlich Mycelfragmente als Inokulum verwendet. Die Inokulumdichte wird von ihm nicht bestimmt, stattdessen verwendete er als Maßstab die Fläche, auf der das Inokulum gewachsen ist. Mit zunehmender Inokulumdichte nimmt der Befall durch *R. collo-cygni* an den Keimblättern deutlich zu (Makepeace et al. 2008). In der vorliegenden Arbeit wurde mit einem überwiegend aus Sporen bestehendem Inokulum gearbeitet. Zusammen mit einer höheren Inokulumdichte können dies die Gründe für den Erfolg der Infektion im Keimblattstadium sein.

Der Anstieg der Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* bei weiter entwickelten Pflanzen wurde von Schützendübel et al. 2008 näher untersucht. Er weist in seinen Untersuchungen einen sehr engen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von *R. collo-cygni* an den Blättern von Gerstenpflanzen und der Konzentration von antioxidativen Verbindungen nach (Schützendübel et al. 2008). Diese Ergebnisse werden auch durch die vorliegenden Daten bestätigt. In dem Versuch wurden jeweils die obersten drei Blättetagen bonitiert. Die älteste der drei Blättetagen zeigte bei beiden Sorten den stärksten Befall durch *R. collo-cygni*. Beobachtungen von Salamati (Salamati et al. 2002) und Huss (Huss et al. 1987 und Huss, 2000) aus dem Freiland und die Untersuchungen von Schützendübel (Schützendübel et al. 2008) bestätigen die Ergebnisse aus der vorliegenden Arbeit.

Neben der nachlassenden Konzentration von antioxidativen Substanzen im Blattgewebe sind weitere Parameter für das Ausbrechen von *R. collo-cygni* verantwortlich. Strobilurine führen im Blattgewebe zu einem erhöhten Gehalt an antioxidativen Verbindungen (Wu et al. 2001, Vernacio et al. 2003). Dadurch sollten Strobilurine den Befall mit *R. collo-cygni*

reduzieren. In den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zeigten die reinen Strobilurin-Varianten einen höheren Anteil durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche und eine höhere Antigenkonzentration. Ein Grund dafür ist die gute Wirksamkeit von Strobilurinen auf andere an der Gerste vorkommende Pathogene. Dadurch wird Blattgewebe frei von anderen Pathogenen gehalten und *R. collo-cygni* kann sich etablieren. Eine Theorie ist, dass der Effekt, den Strobilurine auf die Konzentration auf antioxidative Substanzen haben, nicht ausreichend ist, um *R. collo-cygni* zu bekämpfen. Hierbei handelt es sich um eine Theorie, die weiter untersucht werden sollte.

Auch die Beobachtungen, dass im Freiland häufig Fahnenblätter stärker betroffen sind, als das die darunterliegenden Blattetagen zeigen, dass neben der Konzentration von antioxidativen Substanzen weitere Faktoren für den Befall durch *R. collo-cygni* verantwortlich sind.(?) Eine plausible Erklärung für dieses Phänomen sind z. B. die lichtaktiven Rubelline. Da auf der obersten Blattetage die Einstrahlung intensiver ist als auf den darunterliegenden Blattetagen, können die von *R. collo-cygni* produzierten lichtaktiven Rubelline auf oberen Blattetagen einen größeren Schaden verursachen.

Die Ursache für den ersten Anstieg der Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* in den Versuchen der vorliegenden Arbeit, in BBCH 21/30 bis BBCH 33/34, ist unklar. Hier wären Untersuchungen, vergleichbar denen von Schützendübel et al. (2008), notwendig.

Damit überhaupt Befall einsetzen kann, muss ausreichend Infektionsmaterial vorhanden sein. Hier zeigen die Ergebnisse der Arbeit einen sehr engen Zusammenhang zwischen Sporenflug und Auftreten der Symptome.

4.2.2. Untersuchungen im Freiland

4.2.2.1. Befallsverlauf

Charakteristisch für *R. collo-cygni* ist der sehr schnelle Krankheitsverlauf (Huss et al. 1998, Sachs et al. 1998, Sachs 2000, Schützendübel et al. 2008). Dies wurde auch in Versuchen der vorliegenden Arbeit beobachtet. Die ersten Symptome wurden am Versuchsstandort Lenglern Anfang Juni beobachtet. Dieses sehr späte Auftreten ist für *R. collo-cygni* ebenfalls typisch (Huss 2000, Harvey 2002). Zusätzlich zu den visuellen Bonituren konnte in der vorliegenden Arbeit das erste Mal der Erreger mit ELISA nachgewiesen werden und der Befall mit dem ELISA verfolgt werden.

In der Kombination von ELISA-Daten, visuell erfasstem Befallsverlauf, Symptombild und Sporenflug wird deutlich, dass die Epidemie durch Sporenflug in Kombination mit dem physiologischen Alter der Pflanzen und nicht durch systemisches Wachstum des Pilzes ausgelöst wurde.

Der erste Sporenflug wurde am 12. und 13. Mai 2004 gemessen. Die Sporen stammen vermutlich von den Blattetagen F-4 und darunter. Eine eindeutige Zuordnung über die Sporenfallen und deren Ausrichtung war aufgrund der genauen Positionierung der Fallen nicht möglich. Die Sporenfallen waren jeweils um die Versuche aufgestellt und um die Versuche lag noch ein Streifen mit unbehandelter Gerste. Aufgrund des Alterungszustandes wurden auf der F-4-Blatttage keine Bonituren durchgeführt. Eine Untersuchung auf Symptome war aufgrund des Alterungszustands der Blätter ebenfalls nicht möglich. Die erhöhten ELISA-Werte zeigen aber, dass zu diesem Zeitpunkt ausreichend Antigen im Blattgewebe in F-4 vorhanden war. Es ist davon auszugehen, dass durch diesen Sporenflug F-3 infiziert wurde. Bis zu dem positiven ELISA auf F-3 wurde kein weiterer Sporenflug festgestellt, die Antigenkonzentration nahm ab dem 13. Mai 2004 deutlich zu. Am 24. und 25. Mai wurde der zweite große Sporenflug festgestellt. Durch dieses Ereignis wurden die obersten drei Blattetagen F, F-1 und F-2 infiziert. Danach nimmt in allen drei Blattetagen die Antigenkonzentration zu. Am stärksten ist der Anstieg in F-2. Ein Grund dafür ist das physiologische Alter von F-2 und die damit verbundene höhere Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni*. Die ersten Symptome von *R. collo-cygni* wurden am 7. Juni auf den obersten drei Blattetagen gleichzeitig festgestellt.

Ein sehr geringer Sporenflug wurde am 5. Juni gemessen. Nach mehreren Niederschlägen vom 31. Mai bis 7. Juni wurde vom 7. bis 9. Juni der bis dahin stärkste Sporenflug gemessen. An allen drei Tagen war der Sporenflug mehr als doppelt so hoch wie zuvor. Verursacht wurde der Sporenflug sehr wahrscheinlich von Sporulation auf F-3 und den darunter liegenden Blattetagen. Dieser massive Sporenflug verursachte den sehr schnellen Krankheitsverlauf ab dem 7. Juni.

Sachs berichtete 2002, dass sie bereits im November 1999 an sich bestockender Gerste erste sporulierende *R. collo-cygni*-Kolonien gefunden hat. Ihre Untersuchungen zeigten, dass der Erreger bereits im Herbst Gerstenpflanzen infizieren kann und sich von unten ausbreitet (Sachs 2002). Diese Untersuchungen werden durch die Beobachtungen von Huss bestätigt (Huss 2001).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten keine Infektionen im Herbst festgestellt werden. Leider geht aus den Aufzeichnungen von Frau Sachs nicht die Herkunft der Proben hervor. In Süddeutschland infiziert *R. collo-cygni* Gerste häufiger bereits im Herbst. Verantwortlich ist der besonders in südlicheren Regionen sehr stark ausgeprägte Tau. Der Tau fördert durch die Blattflechte Infektionen durch *R. collo-cygni*. Dies könnte die Herbstinfektionen in Süddeutschland erklären.

Untersuchungen von Oxley zeigen, dass *R. collo-cygni* bereits am Saatgut anhaften kann und Pflanzen sehr früh infiziert (Oxley 2002). Zur Bedeutung dieses Infektionsweges gibt es keine weiteren Angaben. Um die Bedeutung der samenbürtigen Übertragung aufzuklären, sind weitere Untersuchungen notwendig.

Das epidemische Auftreten von *R. collo-cygni* wird durch luftbürtige Sporen ausgelöst. Für diese Theorie sprechen einige Faktoren:

- Die Korrelation zwischen Sporenflug, physiologischem Blattalter und epidemischem Auftreten von *R. collo-cygni*. In den Versuchen wurde zuerst ein intensiver Sporenflug gemessen, danach stiegen zuerst die Antigenkonzentrationen im Blattgewebe an, dann traten die ersten Symptome auf den Blättern auf.
- Das fein gesprenkelte Symptombild legt die Vermutung nah, dass diese von einzelnen Infektionen stammen.
- Die gute Wirkung von Kontaktfungiziden, die bei einer systemischen Krankheit keine so guten Wirkungsgrade zeigen würden.
- In trockenen Jahren tritt die Krankheit deutlich seltener auf. In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung von Blattflechte aufgezeigt. Beispiele für sehr trockene Jahre sind 2003 und 2006. In beiden Jahren trat die Krankheit deutlich seltener auf als in normalen, feuchten Jahren.

4.3 Verbreitung von *R. collo-cygni*

Erstmals wurde *R. collo-cygni* 1893 in Norditalien beobachtet und beschrieben (Cavara 1893). Danach wird die Krankheit für eine sehr lange Zeit nicht mehr in der Literatur erwähnt. Erst 1930 wird sie erstmals in Norwegen (Jørstad 1930, Salamati et al. 2000) gefunden und beschrieben. Ab 1988 häufen sich Beschreibungen aus anderen Ländern: 1986 Schweiz (Brönnimann 1988, Frei und Gindrat 2000), 1987 Österreich (Huss et al. 1987); 1988 Mexiko (Sutton und Waller 1988); 1995 Deutschland (Huss et al. 1998, Sachs et al.

1998); 1998 Irland (Sachs et al. 1998); 1999 Schottland (Amelung et al. 1999), 1999 Tschechien (Amelung et al. 1999); 2000 Argentinien (Sachs 2002); 2000 Uruguay (Sachs 2002); 2004 Frankreich (eigene Untersuchungen).

In Deutschland wurde *R. collo-cygni* erstmals 1998 durch Huss und Sachs parallel festgestellt (Huss et al. 1998; Sachs et al. 1998). Im darauffolgenden Jahr erfolgte das erste Monitoring in Bayern (Sachs 2000). Ein Jahr später, 2000, fand das erste bundesweite Monitoring zur Verbreitung von *R. collo-cygni* statt (Sachs 2002). Dabei stellte Sachs ein Nord-Süd-Gefälle innerhalb Deutschlands fest. Auf den ersten Blick ist im ersten Monitoringjahr, 2003, ebenfalls ein Nord-Süd-Gefälle zu erkennen. Dies ist auf die Probennahme zurückzuführen. In Süddeutschland erfolgte die Probennahme deutlich später als in Nord- oder Ostdeutschland. In Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurde nachgewiesen, dass mit zunehmendem Entwicklungsalter der Pflanzen die Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* ansteigt. Damit kann das vermeintliche Gefälle in 2003 erklärt werden. Im Monitoring der Jahre danach (2004 und 2005) konnte kein solches Gefälle beobachtet werden. Auch später durchgeführte Monitorings (Syngenta Agro GmbH, unveröffentlicht) konnten kein Nord-Süd-Gefälle nachweisen.

Die ebenfalls im Monitoring beobachteten PLS-Blattflecken traten in allen Jahren (Ausnahme 2005) ebenfalls sehr häufig auf. In 2005 wurden nur Proben eingeschickt, auf denen *R. collo-cygni* vermutet wurde. Daher wurde 2005 nicht zur Auswertung der Verbreitung von PLS-Blattflecken herangezogen.

Die durchschnittlich durch *R. collo-cygni* nekrotisierte Blattfläche bei den mit *R. collo-cygni* befallenen Proben in 2004 lag bei 90,7% und 2005 bei 49,1% Blattfläche. Die durch PLS nekrotisierte Blattfläche bei den mit PLS befallenen Proben lag 2004 bei 2,5% und 2005 bei 3,7% Blattfläche, damit also deutlich unter den Werten von *R. collo-cygni*. Obst berichtet erstmals 1995 von einem verstärkten Auftreten „nichtparasitär bedingter Blattverbräunung“ in 1994 (Obst et al. 1995, Obst et al. 1996). Seine Beschreibungen der Symptome, des Befallsverlaufs und der Befallsstärke weisen sehr stark auf einen Befall mit *R. collo-cygni* und nicht mit PLS-Blattflecken hin. Die Monitoringdaten aus der vorliegenden Arbeit deuten ebenfalls darauf hin. Die von Obst beschriebene Befallsstärke mit PLS konnte auf keiner im Monitoring eingeschickten Probe festgestellt werden. Die Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit zeigen, dass *R. collo-cygni* ein bundesweites Problem für den Gerstenanbau darstellt. Die Befallswahrscheinlichkeit für einen Gerstenschlag hängt nicht

mit der Lage innerhalb Deutschlands zusammen, sondern von den Bedingungen am Schlag selbst. Um eine genaue Befallsprognose durchführen zu können, sind weitere Untersuchungen notwendig.

Untersuchungen aus der vorliegenden Arbeit und Literaturangaben (Huss 2001, Oxley 2007) zeigen die Bedeutung der windbürtigen Verbreitung von *R. collo-cygni* auf. Die sehr gute Wirksamkeit von fungiziden Kontaktmitteln (Chlorthalonil und Boscalid) und das Symptombild mit vielen kleinen Nekrosen weisen darauf hin, dass die windbürtige Verbreitung einen sehr bedeutenden Faktor in der epidemischen Ausbreitung darstellt. Unterstützt wird diese These durch Beobachtungen von Huss. Huss sieht einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Krankheit und den Witterungsbedingungen in unterschiedlichen Jahren (Huss et al. 2001). Bereits 2000 weist Huss die sehr gute Flugfähigkeit von Sporen in Folientunnel und Gewächshaus nach. Welche Bedeutung die samenbürtige Übertragung hat, muss noch geklärt werden.

4.4 Sortenunterschiede gegenüber der Anfälligkeit von *R. collo-cygni*

Neben Pflanzenschutzmitteln besteht auch die Möglichkeit, Krankheiten durch resistente Sorten einzuschränken. Bei vielen bedeutenden Krankheiten hat die Sortenwahl einen entscheidenden Einfluss auf den späteren Krankheitsverlauf.

Um den Einfluss unterschiedlicher Sorten herauszustellen, wurden Sorten an mehreren Standorten über zwei Jahre beobachtet. Dabei trat die Krankheit nicht jedes Jahr an jedem der beobachteten Standorte auf. Aus diesem Grund basiert die Aussage für mehrzeilige Sorten nur auf einem Standort, der über zwei Jahre beobachtet werden konnte. Zweizeilige Sorten konnten an einem Standort über zwei Jahre und an einem zweiten Standort ein Jahr beobachtet werden. Aus diesem Grund sind zuverlässige Aussagen zu mehrzeiligen Sorten nur eingeschränkt möglich.

4.4.1. Unterschiede bei zweizeiligen Sorten

Die Regressionsgerade und die Korrelation zwischen den erhobenen Parametern Boniturwert, Antigengehalt und Zeitpunkt des Ährenschiebens geben Informationen über die Zusammenhänge dieser Parameter wieder. Aussagen über einzelne Sorten hinweg sind somit möglich. Die ermittelten Boniturwerte der zweizeiligen Sorten sind an beiden Standorten sehr einheitlich. Die berechneten Regressionsgeraden sind alle negativ. Frühe Sorten haben zum selben Zeitpunkt einen größeren Anteil durch *R. coll-cygni* nekrotisierte Blattfläche

als im Ährenschieben später eingestufte Sorten. Damit bestätigt sich eine in der Praxis häufig gemachte Beobachtung, dass frühe Sorten gegenüber späten Sorten stärker befallen werden. (Huss 2000, mündliche Mitteilungen Großer 2004, mündliche Mitteilungen Emmer 2004). Der tatsächliche Endbefall kann nicht durch Bonituren vorhergesagt werden, noch wird er durch die Einstufung des Ährenschiebens beeinflusst. Der im Labor gemessene Antigenwert im Fahnenblatt korreliert nur sehr gering mit den ermittelten Boniturwerten oder der Einstufung des Ährenschiebens.

Eine mögliche Ursache für die Entkopplung der Antigenwerte von den Bonituren bzw. der Einstufung des Ährenschiebens ist das Absterben der Pflanzen im Rahmen der Abreife. Eine Bonitur stellt immer eine „Momentaufnahme“ des Befalls dar. Bis zur Totreife spielt eine Reihe von Faktoren eine bedeutende Rolle. Bei einer vorzeitigen Abreife der Pflanzen stirbt Blattgewebe ab, bevor es durch *R. collo-cygni* besiedelt werden kann, oder *R. collo-cygni*-Befall und Seneszenz zusammen lassen das Blatt vorzeitig absterben. Dadurch kann sich der Pilz nicht ungestört etablieren. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte keine Besiedlung von totem Blattmaterial durch *R. collo-cygni* beobachtet werden. Eine nachträgliche Ausbreitung auf totem Blattgewebe wird daher ausgeschlossen. Die Bedeutung des Endbefalls verglichen mit der visuellen Befallsaufnahme von *R. collo-cygni* ist ungeklärt, da die ertraglichen Auswirkungen nicht bekannt sind. Um hier einen sicheren Parameter zu finden, sind weitere Untersuchungen notwendig.

4.4.2 Unterschiede bei mehrzeiligen Sorten

Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten erbrachte bei den mehrzeiligen Sorten keine Zusammenhänge zwischen der Einstufung des Ährenschiebens, der Antigenkonzentration oder den Bonituren. Eine mögliche Ursache für diese Entkopplung kann der besonders ausgeprägte unterschiedliche Krankheitsverlauf zwischen den mehrzeiligen Sorten sein. Dieser war in den zweizeiligen Sorten deutlich weniger ausgeprägt als bei den mehrzeiligen Sorten. Die drei mehrzeiligen Sorten Cinderella, Carola und Merlot zeigten 2004 einen vollkommen unterschiedlichen Krankheitsverlauf (Cinderella: geringer Anfangsbefall, starker Befall zur zweiten Bonitur; Carola: starker Anfangsbefall, durchschnittlicher Befall am zweiten Boniturtermin; Merlot: geringer Befall an beiden Boniturterminen). Ebenfalls anders als bei den zweizeiligen Sorten stechen einige Sorten (Merlot und Naomie) durch besonders geringen Befall durch *R. collo-cygni* heraus. Diese Tatsache lässt sich nicht durch die Einstufung des Ährenschiebens erklären und basiert vermutlich auf Sorteneigenschaften.

Das Verhalten verschiedener Sorten wurde auch von Oxley untersucht. Aufgrund der unterschiedlichen beobachteten Sorten sind die Daten nicht unmittelbar miteinander vergleichbar. Sortenübergreifend hat er keine Berechnungen angestellt. Oxley findet bei den beobachteten Sorten keine ausgeprägten Unterschiede (Oxley 2007).

In der Literatur das Vorhandensein von mlo Genen in Zusammenhang mit der Anfälligkeit von Gerstensorten gegenüber *R. collo-cygni* gebracht. Allerdings existieren hier unterschiedliche Ansichten. Die Ersten, die Untersuchungen zu dem Zusammenhang publiziert haben, sind Pinnschmidt und Mitarbeiter (Pinnschmidt et al. 2006). Pinnschmidt hat den Befall unterschiedlicher Sorten ausgewertet und die Korrelation zwischen Befall und mlo berechnet. Er kommt zu dem Schluss, dass Sorten mit mlo-Mutationen eine höhere Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* aufweisen als Sorten mit dem Wildtyp Mlo⁺. Eine andere Ansicht vertreten Makepeace und Mitarbeiter (Makepeace et al. 2007). In seinen Untersuchungen kommt er zu dem Schluss, dass Sorten, die Mlo⁺-Gen enthalten, anfälliger gegenüber *R. collo-cygni* sind als Sorten, die mlo-Mutationen enthalten. Er begründet die unterschiedlichen Ergebnisse mit dem unterschiedlichen Pflanzenmaterial. Makepeace hat Tochterlinien von zwei Sorten verwendet, Pinnschmidt hat untereinander nicht verwandte Sorten verglichen. Unterschiede, die Pinnschmidt herausgefunden hat, werden von Makepeace auf den Einfluß anderer Gene geschoben, die ebenfalls die Anfälligkeit von *R. collo-cygni* beeinflussen. (Makepeace et al. 2007).

In der vorliegenden Arbeit wurden ebenfalls nicht untereinander verwandte Sorten verglichen. Daher wurde auf eine Berechnung der Korrelation zwischen mlo und Befall verzichtet.

Makepeace selber sieht ein großes Problem in der Diagnose von *R. collo-cygni*. In seiner Publikation differenziert er zwischen PLS und *R. collo-cygni* nur, ob zum Zeitpunkt der Bonitur ein gelber Hof vorhanden ist oder nicht. Weitere Analysen im Labor werden nicht durchgeführt (Makepeace et al. 2007). In der vorliegenden Arbeit wurde auf die Probleme der visuellen Diagnose eingegangen und gezeigt, dass diese Differenzierung nicht ausreichend ist.

4.5. Schadwirkung und chemische Bekämpfung von *R. collo-cygni*

Die Schadwirkung eines Pathogens hängt von zwei Faktoren ab. Zum einen der durch den Befall verursachte direkte Minderertrag, zum anderen die durch den Befall verursachten Qualitätseinbußen, die bei einer Vermarktung einen Einfluss auf den zu erzielenden Erlös haben. Ein in der Praxis bei Gerste häufig genutzter Parameter ist die Korngrößenverteilung. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche zeigen, dass Befall mit *R. collo-cygni* den Ertrag reduziert und gleichzeitig die Korngrößenverteilung zu kleineren Körnern verschiebt. In dem Versuchsjahr konnte *R. collo-cygni* an dem Versuchsstandort erst sehr spät am 24.05.2004, BBCH 69 festgestellt werden. Obwohl der Erstbefall so spät einsetzte, reduzierte sich der Ertrag in der Kontrolle gegenüber einer Gesundvariante (eingestellt durch Fungizide aus der Gruppe der Kontaktmittel ohne physiologischen Effekt) um 9,3%.

Herbert Huss und Mitarbeiter zeigten in Feldversuchen an der Versuchsstation Stadl-Paura in Oberösterreich durchschnittliche Ertragseinbußen über zwei Jahre (1997 und 1998) von 16% (Huss et al. 1995, Huss et al. 1998). Zuvor hat er von Ertragseinbußen von bis zu 20% in Teilen des oststeirischen Hügellandes Österreichs berichtet (Huss et al. 1992). In Norwegen weisen Untersuchungen von Salamati und Mitarbeitern Mindererträge von 11% nach (Salamati et al. 2002). In Großbritannien beziffert Oxley den durch *R. collo-cygni* verursachten Minderertrag in der Sorte Optic auf 4 t/ha bis 0,9 t/ha (Oxley 2007).

In der Literatur sind zum Teil deutlich höhere Angaben für Mindererträge angegeben als in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen. Eine Erklärung dafür ist, dass der Mehrertrag zwischen Kontrolle und einer Fungizidvariante berechnet wird, die neben der Krankheitsbekämpfung noch physiologische Nebenwirkungen hat.

Bereits 2000 beschreibt Huss, dass der Befall durch *R. collo-cygni* die Kornqualität verschlechtert. Fungizidbehandlungen wirken sich vor allem positiv auf das TKG und Hektolitergewicht aus (Huss 2000). Dies konnte durch die vorliegenden Untersuchungen mit anderen Parametern bestätigt werden.

Die Wirkstoffgruppe der Morpholine wurde nur im ersten Versuchsjahr eingesetzt. Das verwendete Produkt Corbel zeigte keine ausreichende Wirkung. Da die Wirkstoffgruppe ein sehr begrenztes Wirkungsspektrum hat, wurden in den Folgejahren keine reinen Morpholine eingesetzt.

Produkte ausschließlich mit Aktivsubstanzen aus der Gruppe der Strobilurine wurden in beiden Versuchsjahren getestet. Keines der getesteten Produkte zeigte eine Wirkung gegen

R. collo-cygni. Zum gleichen Ergebnis kommt Oxley in Großbritannien (Oxley 2007). Noch 2002 berichtet Harvey von Fungizidversuchen, in denen Amistar ohne Mischpartner die besten Bekämpfungserfolge zeigt (Harvey 2002). Grund dafür kann eine genetische Veränderung der *R. collo-cygni*-Population sein, vergleichbar der von *Septoria tritici* gegen Strobilurine im Weizen. Hierzu sind weitere Untersuchungen notwendig.

Der Zusatz von Cyprodinil (Unix) zu Picoxystrobin (Acanto) brachte keine entscheidenden Vorteile gegenüber Acanto solo. Dies legt die Schlussfolgerung nahe, dass Cyprodinil ebenfalls keine ausreichende Wirkung gegen *R. collo-cygni* hat. Diese Schlussfolgerung wird auch von Oxley unterstützt, der Cyprodinil ebenfalls keine Wirkung gegenüber *R. collo-cygni* zuschreibt (Oxley 2007).

Auch reine Azolpräparate wurden in beiden Jahren getestet. Dabei fiel die sehr unterschiedliche Leistung der verwendeten Azole auf. Harvey testete 2000 bereits unterschiedliche Azole und stellte ebenfalls sehr unterschiedliche Wirkungsgrade gegenüber *R. collo-cygni* fest. In den eigenen Versuchen zeigten sich prothioconazolhaltige Produkte (Fandango, Input und Proline) besonders positiv. Epoxiconazolhaltige Produkte (Opera und Opus) zeigten ebenfalls eine gute Wirkung, konnten aber nicht mit Prothioconazol mithalten.

Oxley stuft Prothioconazol und Chlorthalonil als die besten Wirkstoffe gegen *R. collo-cygni* ein (Oxley 2007). Die beste Wirkung in den Versuchen aus der vorliegenden Arbeit zeigten chlorthalonilhaltige Produkte. Zum Einsatz kamen Bravo 500 und Amistar Opti. Chlorthalonilhaltige Produkte zeigten eine bessere Dauerwirkung als prothioconazolhaltige Produkte gegen *R. collo-cygni*. Die Produkte beider Wirkstoffe zeigten im Ertrag nur geringe Unterschiede.

Die unterschiedliche Wirkung der eingesetzten Produkte gegen *R. collo-cygni* spiegelte sich nicht immer in den Erträgen wieder. Im ersten Versuchsjahr konnten bis auf eine Variante keine signifikanten Ertragsunterschiede festgestellt werden. Die Gründe hierfür waren die durch Trockenheit bedingte sehr schnelle Abreife und der sehr spät einsetzende Befall in dem Jahr. Im zweiten Versuchsjahr differenzierten sich die Fungizidvarianten von der Kontrolle und auch die unterschiedlichen Fungizidvarianten differenzierten untereinander. In 2004 reiften die Pflanzen deutlich langsamer ab als 2003. Dadurch verlängerte sich die Korneinlagerungsphase und Unterschiede im Befall machten sich stärker bemerkbar.

Vergleicht man die unterschiedlichen Applikationstermine untereinander, dann war der letzte Applikationstermin immer der wirksamste gegen *R. collo-cygni*. Dies hing an diesem

Standort in den Versuchsjahren mit der spät erfolgten Infektion zusammen. Die späten Fungizidanwendungen waren terminlich näher am Infektionszeitpunkt der oberen drei Blattetagen. Die Infektion der oberen drei Blattetagen wurde durch Sporenflug vom 24. und 25. Mai 2004 ausgelöst. Die letzte Fungizidapplikation erfolgte am 12. Mai 2004. Dadurch war zum Zeitpunkt der Infektion mehr Aktivsubstanz zur Bekämpfung von *R. collo-cygni* vorhanden. Salamati berichtet 2002 ebenfalls, dass spätere Anwendungstermine zur Bekämpfung von *R. collo-cygni* besser sind als frühe Anwendungstermine. Allerdings hat sie andere Termine gewählt als in der vorliegenden Arbeit. Sie hat als frühen Termin BBCH 35/40 gewählt und als späten BBCH 50 (Salamati et al. 2002). Unveröffentlichte Versuchsberichte bestätigen, dass nicht immer eine Fungizidanwendung in BBCH 49/51 optimal ist. In Einzelfällen sind Fungizidanwendungen in BBCH 37/39 besser zur Bekämpfung von *R. collo-cygni* geeignet. Besonders in Süddeutschland infiziert *R. collo-cygni* vereinzelt zwischen dem etablierten späten Behandlungstermin 49/51 und dem etablierten früheren Einfachbehandlungstermin in BBCH 37/39. Die Beobachtungen zeigen, dass in einem solchen Fall die späten Fungizidanwendungen den Befall nicht mehr ausreichend reduzieren und dann der Ertrag in den späten Applikationsterminen gegenüber den früheren Einfachapplikationen abfällt.

Wertet man die Antigenkonzentrationen der unterschiedlichen Varianten der Fungizidversuche aus, dann fallen die Fungizidvarianten ohne *R. collo-cygni*-Wirkung besonders negativ auf. Die Antigenkonzentration lag in diesen Varianten zum Teil über der Kontrolle. Eine mögliche Ursache hierfür ist, dass Azole und Strobilurine neben ihren fungiziden Eigenschaften auch physiologische Eigenschaften besitzen. Sie erhöhen die Antioxidantienkonzentration im Blattgewebe und wirken der Seneszenz entgegen. In der dadurch verlängerten Lebensdauer kann *R. collo-cygni* länger wachsen und dadurch mehr Antigen bilden. Ein weiterer Punkt ist, dass diese Varianten ohne Wirkung gegen *R. collo-cygni* eine gute Wirkung auf andere Pathogene der Gerste haben. Dadurch wurden andere Pathogene daran gehindert, das Blattgewebe zu besiedeln. Auf dem intakten Blattgewebe konnte sich *R. collo-cygni* etablieren. Dadurch sind die höheren Antigenkonzentrationen zu erklären.

5. Zusammenfassung

Die Diagnose von *R. collo-cygni* bleibt auch nach dieser Dissertation eine Herausforderung. Zur visuellen Identifizierung wurden einige Unterschiede zu anderen Pathogenen erarbeitet und in einer Differenzierungshilfe zusammengefasst. Diese Differenzierungshilfe findet eine breite Anwendung in der Praxis. Trotzdem wird *R. collo-cygni* häufig noch mit PLS oder Netzflecken verwechselt.

Zur eindeutigen Diagnose wurde ein ELISA entwickelt und etabliert. Mit Hilfe dieser Analysemethode konnte nicht nur der Befall, latenter und sichtbarer, eindeutig nachgewiesen werden, sondern auch die Intensität des Befalls bewertet werden. Durch den ELISA konnte die visuelle Differenzierung validiert werden.

Die Sporen von *R. collo-cygni* können in einem sehr großen Temperaturbereich keimen und wachsen. In den vorliegenden Untersuchungen auf Wasseragar keimten Sporen und wuchs Mycel von 4°C bis 32°C. Der optimale Bereich (hoher Anteil gekeimter Sporen, schnelles Mycelwachstum) in den Untersuchungen lag zwischen 16°C und 24°C. Diese Werte bestätigten sich auch auf Blattsegmenten.

In den Klimakammerversuchen konnte die Bedeutung von Blattfeuchte eindeutig nachgewiesen werden. Die notwendige Dauer hängt von der Temperatur ab. Ebenfalls in den Klimakammerversuchen konnte die unterschiedliche Anfälligkeit in Abhängigkeit von Entwicklungsstadien nachgewiesen werden. Mit zunehmenden Entwicklungsstadien nimmt die Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* zu. Ab welchem Entwicklungsstadium die Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* zunimmt, ist von der Sorte abhängig. Um einen Befall im Rahmen eines Prognosemodells vorherzusagen, sind weitere Untersuchungen notwendig.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen die sehr hohe Korrelation zwischen windbürtigem Sporenflug von *R. collo-cygni* und Krankheitsverlauf. Welchen Stellenwert das systemische Wachstum des Pilzes in der Epidemiologie hat, wurde in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Stroh als Nahrungsgrundlage über den Winter kann durch die vorliegenden Arbeiten ausgeschlossen werden.

Der Krankheitsverlauf erfolgt, nachdem *R. collo-cygni* auf den oberen Blattetagen zu diagnostizieren ist, sehr schnell. In den Versuchen waren die Pflanzen spätestens nach drei Wochen vollständig befallen.

R. collo-cygni ist in ganz Deutschland verbreitet. In dem Monitoring der Jahre 2003 bis 2005 konnte kein Nord-Süd-Gefälle festgestellt werden. Das Auftreten von *R. collo-cygni* konnte regional nicht eindeutig begründet werden. Die biologischen Daten weisen auf schlagspezifische Faktoren hin. Entscheidend können Faktoren sein, die Taulänge und/oder –intensität fördern oder das Abtrocknen nach einem Niederschlag verlängern.

Die Ertragsrelevanz von *R. collo-cygni* konnte in der vorliegenden Arbeit eindeutig nachgewiesen werden. Durch den Befall mit *R. collo-cygni* reduzierte sich der Ertrag bei der braufähigen zweizeiligen Wintergerste Jessica um 11% bzw. der Vollgerstenanteil im Erntegut von 49,8% auf 29,7% gegenüber einer Gesundvariante mit Kontaktfungiziden.

In den Sorten konnten nur die Daten der zweizeiligen Sorten berücksichtigt werden. Aufgrund des unsteten Befalls mit *R. collo-cygni* wurden zu wenige Daten mit mehrzeiligen Sorten gesammelt. Die Beobachtungen des Befallsverlaufs in unterschiedlichen zweizeiligen Sorten haben gezeigt, dass besonders späte Sorten durch hohe Antigenkonzentrationen auffallen. Frühe Sorten fallen durch frühen Befall auf, die Antigenkonzentration im Stroh ist allerdings niedriger. Die Unterschiede in der Anfälligkeit gegenüber *R. collo-cygni* im Sortenspektrum der zweizeiligen Sorten sind gering. Alle Sorten wurden von *R. collo-cygni* befallen.

Große Unterschiede ergaben sich bei der Wirksamkeit der getesteten Fungizide. Die Produkte aus der Wirkstoffgruppe der Morpholine und Strobilurine zeigten keine Wirkung gegen *R. collo-cygni*. Varianten, die mit Produkten behandelt wurden, die als Aktivsubstanz nur Wirkstoffe aus der Gruppe der Strobilurine enthielten, zeigten gegenüber der Kontrolle sowohl in den Bonituren als auch in den Antigenkonzentrationen in der Regel schlechtere Werte. Inwieweit eine Resistenzentwicklung gegen Strobilurine dafür verantwortlich ist, muss noch untersucht werden. Die Produkte aus der Wirkstoffgruppe der Azole zeigten sehr unterschiedliche Wirkung gegen *R. collo-cygni*. Prothioconazol in Proline, Input oder Fandango zeigte die besten Wirkungsgrade gegen *R. collo-cygni*. Etwas weniger wirksam war Epoxiconazol. Das Azol mit der geringsten Wirksamkeit war Flusilazol in dem Produkt Harvesan. In den Versuchen die beste Dauerwirkung zeigte der Kontaktwirkstoff Chlorthalonil in Bravo bzw. Amistar Opti. Interessant wäre in weiteren Untersuchungen die Kurativleistung der Wirkstoffe zu testen.

Literaturverzeichnis

AMELUNG, D., SACHS, E., HUSS, H. (1999) Ramularia-Blattfleckenkrankheit. Eine neue Gerstenkrankheit in Deutschland. Getreide 5, S. 47

BALZ, T; VON TIEDEMANN, A. (2004) Ramularia breitet sich rasant aus; topAgrar 12, S. 48-51

BALZ, T; VON TIEDEMANN, A., KIRCH G., LUCKHARD J. (2005) *Ramularia collo-cygni* und PLS-Flecken bei Gerste. Getreidemagazin 2, S. 84-89

BIEBER, F. (1985) Biotinylierung monoklonale Antikörper. In: Peters, J.H., Baumgarten, H., Schulze, M. (eds.) Monoklonale Antikörper – Herstellung und Charakterisierung. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Tokio, S. 209-212

BRADFORD, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of micogram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72, S. 248-254

BRANDL, F., HOFFMANN, G. M. (1990) Untersuchungen zum Befallsverlauf der Netzfleckenkrankheit an Wintergerste (Erreger: *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.; Perfektstadium *Pyrenophora teres* Drechs.) und Entscheidungshilfen für Fungizidmaßnahmen. Gesunde Pflanze 42, S. 192-202

BRAUN, U. (1998) Studies on Ramularia and allied genera (IV). Nova Hedwigia 53 (3-4), S. 91-305

BRÖNNIMANN, A. (1988) Tätigkeitsbericht über die Jahre 1986 und 1987 aus der Eidg. Forschungsanstalt für Landw. Pflanzenbau Zürich-Reckenholz, S. 199

BUCHANAN, B. B., GRUISSEM, W., JONES, R. L. (2000) Biochemistry & Molecular Biology of Plants. Plant Growth Regulation, S.105-106

BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHUTZ (2007) Agrarpolitischer Bericht der Bundesregierung 2007, S. 66

BUNDESSORTENAMT (2000) Beschreibende Sortenliste Getreide, Mais, Ölfrüchte, Leguminosen (großkörnige), Hackfrüchte (außer Kartoffeln). Landbuch Verlagsgesellschaft mbH, S. 118-129

BUNDESSORTENAMT (2003) Beschreibende Sortenliste Getreide, Mais, Ölfrüchte, Leguminosen (großkörnige), Hackfrüchte (außer Kartoffeln). Landbuch Verlagsgesellschaft mbH, S. 26-29

BUNDESSORTENAMT (2004) Beschreibende Sortenliste Getreide, Mais, Ölfrüchte, Leguminosen (großkörnig), Hackfrüchte. Landbuch Verlagsgesellschaft mbH, S. 20-22

BUNDESSORTENAMT (2007) Beschreibende Sortenliste Getreide, Mais, Ölfrüchte, Leguminosen (großkörnig), Hackfrüchte. Landbuch Verlagsgesellschaft mbH, S. 26-28

CASPER, R., MENDGEN, K. (1979) Quantitative serological estimation of a hyperparasite: Detection of *Verticillium lecanii* yellow rust infected wheat by ELISA. Phytopathologische Zeitschrift 94, S. 89-91

CASPER, R., MEYER, S. (1981) Die Anwendung des ELISA-Verfahrens zum Nachweis pflanzenpathogener Viren. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 33, S. 49-54

CAVARA, F. (1893) Über einige parasitäre Pilze auf dem Getreide. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 3, S. 16-26

CERNUSKO, R. (1995) Entwicklung und Erprobung enzymatischer und immunologischer Nachweismethoden für *Verticillium dahliae* Kleb. im Raps (*Brassica napus* L.). Dissertation, Universität Göttingen

CLARK, M. F., ADAMS, A. N. (1977) Characteristics of the microtiterplate of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34, S. 475-483

ENGVALL, E., PERLMAN, P. (1971) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8, S. 871-874

FREI, P., GINDRAT, D. (2000) Le champignon *Ramularia collo-cygni* provoque une forme de grillures sur les feuilles d'orge d'automne et graminées adventices. *Revue Suisse Agriculture* 32, S. 229-233

GOODWIN, S. B., DUNKLE, L. D., ZISMANN, V. L. (2001) Phylogenetic analysis of *Cercospora* and *Mycosphaerella* based on the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. *Phytopathology* 91, S. 648-658

HARVEY, I. C. (2002) Epidemiology and control of leaf and awn spot of barley caused by *Ramularia collo-cygni*. *New Zealand Plant Protection* 55, S. 331-335

HEISER, I., OßWALD, W., ELSTNER, E. F. (1998) The formation of reactive oxygen species by fungal and bacterial phytotoxins. *Plant Physiology and Biochemistry* 36, S. 703-713

HEISER, I., SACHS, E., LIEBERMANN, B. (2003) Photodynamic oxygen activation by rubellin D, a phytotoxin produced by *Ramularia collo-cygni* (Sutton et Waller). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 62, S. 29-36

HEISER, I., HEß, M., SCHMIDTKE, K. U., VOGLER, U., MIETHBAUER, S., LIEBERMANN, B. (2004) Fatty acid peroxidation by rubellin B, C and D, phytotoxins produced by *Ramularia collo-cygni* (Sutton et Waller). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 64, S. S. 135-143

HEPPNER, C. (1995) Nachweis von *Verticillium dahliae* Kleb. im Boden mit Plattengussverfahren und ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) sowie Untersuchungen zur Auswirkung des Inokulums auf den Befall von Winterraps (*Brassica napus* ssp. *oleifera* Metzg.). Dissertation, Georg-August Universität Göttingen

HOFFMANN, G. M., SCHMUTTERER, H. (1999) Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart

HUSS, H., MAYRHOFER, H., WETSCHNIG, W. (1987) *Ophiocladium hordei* CAV. (Fungi imperfecti), ein für Österreich neuer parasitischer Pilz der Gerste. Der Pflanzenarzt 40, S. 167-169

HUSS, H., MAYRHOFER, H., INGOLČ, E. (1992) *Ramularia collo-cygni* Sutton & Waller (Fungi imperfecti), ein wirtschaftlich bedeutender Parasit der Gerste in der Steiermark. Mitteilungen des naturwissenschaftlichen Vereins für Steiermark 122, S. 87-95

HUSS, H., NEUHOLD, G. (1995) *Ramularia collo-cygni* (Fungi imperfecti) – Der Erreger der Spreitelkrankheit der Gerste. Bericht über die 46. Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter im Rahmen der „Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter“, S. 197-199

HUSS, H., SACHS, E. (1998) *Ramularia*-Blattflecken- oder Spreitelkrankheit der Gerste. Der Pflanzenarzt 51, S. 15-18

HUSS, H. (2000) Die Spreitelkrankheit der Gerste und ihre Bedeutung für den Pflanzenbau in Österreich. Jahresbericht Bundesanstalt für Agrarbiologie, Biologischer Landbau, S. 4-5

HUSS, H. (2000) Ist die Spreitelkrankheit der Gerste bekämpfungswürdig? Der Pflanzenarzt 5, S. 4-6

HUSS, H., MAYER, E. (2001) Spreitelkrankheit auf der Gerste: Untersuchungen der meteorologischen Ursachen der Krankheit insbesondere der Entwicklung des Pilzes *Ramularia collo-cygni*. Jahresbericht Biologischer Landbau 2001, S. 94

HUSS, H. (2001) Untersuchungen zur biologischen Kontrolle der Spreitelkrankheit. Jahresbericht 2001 Biologischer Landbau, S. 95

HUSS, H., FORMAYER, H., STABENTHEINER, E. (2003) Die Spreitelkrankheit weiter auf dem Vormarsch! Der Pflanzenarzt 5, S. 8-11

JORSTAD, I., (1930) Beretning om plantesykdommer i land – og hagebruket. VI. Sykdommer pa korn – og engvekster. Grondahl & Sons Broktrykkeri, Oslo 84

KÖHLER, G., MILSTEIN, C. (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256, S. 495–497

KREMB, S. (1993) Epidemiologie und Ertragsrelevanz von Blattkrankheitserregern an Wintergerste; populationsdynamische Effekte der Anwendung von fungiziden Wirkstoffen und deren Kombinationen. Diss Techn. Univ. München/Weihenstephan

LASSAK, V. LUCKHARD, J. (2004) Pilzkrankheiten an Getreide; Broschüre Syngenta Agro GmbH

LÜTKE ENTRUP, N., OEHMICHEN, J. (2000) Lehrbuch des Pflanzenbaus – Band 2: Kulturpflanzen. Verlag Thomas Mann, S. 325-327

MAKEPEACE, J. C., OXLEY, S. J. P., HAVIS, N. D., HACKETT, R., BURKE J. I., BROWN J. K. M. (2007) Associations between fungal and abiotic leaf spotting and the presence of mlo alleles in barley. Plant Pathology 56, S. 934-942

MAKEPEACE, J. C., HAVIS, N. D., BURKE, J. I., OXLEY, S. J. P., BROWN, J. K. M. (2008) A method of inoculating barley seedlings with *Ramularia coll-cygni*. Plant Pathology 57, S. 991-999

MAIER, J., HOFFMANN, G. M. (1993) Entwicklung des „IPS-Gerstenmodell“ in Bayern zur integrierten Bekämpfung von Pilzkrankheiten – Grundlagen und Fallstudien. Gesunde Pflanze 45, S. 123-134

MIETHBAUER S. (2002) Isolierung, Strukturaufklärung und biologische Wirksamkeit von Anthrachinon-Derivaten aus *Ramularia collo-cygni* Sutton & Waller. Diplomarbeit Friedrich Schiller Universität Jena

MIETHBAUER, S., HEISER, I., LIEBERMANN, B. (2003) The phytopathogenic fungus *Ramularia collo-cygni* produces biologically active rubellins on infected barley leaves. Journal of Phytopathology 151, S. 665-668

MIETHBAUER, S., HAASE, S., SCHMIDTKE, K. U., GÜNTHER, W., HEISER, I., LIEBERMANN, B. (2006) Biosynthesis of photodynamically active rubellins and structure elucidation of new anthraquinone derivatives produced by *Ramularia collo-cygni*. Phytochemistry 67, S. 1206-1213

NACHMIAS, A., BAR-JOSEPH, M., SOLEL, Z., BARASH, T. (1979) Diagnosis of mal secco disease in lemon by enzyme-linked immunosorbent assay. Phytopathology 69, S. 559-591

OBST, A. BAUMER, M., HUBER, G. (1995) Nichtparasitär bedingte Blattverbräunungen bei Gerste – ein Problem mit zunehmender Bedeutung? Gesunde Pflanze 47, S. 308-314

OBST, A., HUBER, G. (1996) Flecke geben Rätsel auf. DLG Mitteilungen 3, S. 58-61

OXLEY, S. (2002) *Ramularia collo-cygni* lifecycle. Proceedings of the Second International Workshop on Barley Leaf Blights, 2002. Aleppo, Syria: ICARDA, 355-9. <http://www.icarda.cgiar.org>

OXLEY, S. (2007) Barley Disease Control - Technical Note. ISBN 1 85482 840 1

PETERS, J. H., BAUMGARTEN, H. (1990) Monoklonale Antikörper. Springer Verlag, Berlin

PIETSCH, E. (1984) Untersuchungen zur Biologie von *Rhynchosporium secalis*, der Pathotypensituation und des Resistenzverhaltens deutscher Wintergerstensorten. Diss. Techn. Univ. München/Weihenstephan

PINNSCHMIDT, H. O., CHRISTIANSEN A. E., SINDBERG, S. A. (2006) Expression of resistance of barley varieties to *Ramularia* leaf spots and the status of the disease in Denmark. 1st European *Ramularia* Workshop, March 2006, Göttingen, Book of Abstracts

SACHS, E., AMELUNG, D., GREIF, P. (1998) Ramularia-Blattflecken (*Ramularia collo-cygni* Sutton et Waller) an Gerste in Franken (Bayern). Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 50, S. 307-309

SACHS, E. (2000) Das Auftreten der Ramularia-Blattfleckenkrankheit an Gerste in Bayern 1999, verursacht durch *Ramularia collo-cygni* Sutton et Waller. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 52, S. 160-163

SACHS, E. (2002) First findings on the epidemiology of Ramularia leaf spot disease on barley. Aleppo, Syria: ICARDA, Poster

SACHS, E. (2002) Monitoring zur Verbreitung der Ramularia-Blattfleckenkrankheit an Wintergerste in Deutschland im Jahr 2000, Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 54, S. 31-35

SALAMATI, S., REITAN, L. (2000) Spraglefleck (Ramularia) – opptreden og betydning i bygg. Kvithardagene 2000, Grønn Forskning, Plante Forsk, Plantemøtet Midt-Norge 157

SALAMATI, S., REITAN, I., FLATAKER, K. E. (2002) Occurrence of *Ramularia collo-cygni* on spring barley in Norway. Proceedings of the Second International Workshop on Barley Leaf Blights, 2002. Aleppo, Syria: ICARDA, 355-9. <http://www.icarda.cgiar.org>

SCHRÖDER, WEIDEMANN (1988) Globulin- und Konjugatherstellung aus Rohserum für den ELISA Nachweis. Internes Arbeitsprotokoll der BBA

SCHÜTZENDÜBEL, A., STADLER, M., WALLNER, D., TIEDEMANN, A.V. (2008) A hypothesis on physiological alteration during plant ontogenesis governing susceptibility of winter barley to Ramularia leaf spot. Plant Pathology 57, S. 518 - 526

SHAW, M. W. (1986) Effects of temperature and leaf wetness on *Pyrenophora teres* growing on barley cv. Sonja., Plant Pathology 35, S. 294-309

SUTTON, B., WALLER, J. (1988) Taxonomy of *Ophiocladium hordei*, causing leaf lesions on triticale and other gramineae. Transactions of the British Mycological Society 90, S. 55-61

SUTTON, B., WALLER, J. (1988) *Ramularia collo-cygni*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria, No 1039, Mycopathologia 114, S. 61-62

UNGER, J.-G. (1989) Entwicklung und Erprobung eines Erprobung eines ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) zum Nachweis von *Fusarium culmorum* (W:G.Sm.) Sacc. und *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron.) Deigh. in Weizen.
Dissertation, Universität Göttingen

TSCHÖPE, O., SACHS, E. (2001) Die Farbstoffbildung von *Ramularia collo-cygni* Sutton & Waller als Grundlage für eine Schnell diagnose. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 53, S. 161-164

VENANCIO, W. S., RODRIGUES, T. M. A., BEGLIOMINI, E., SOUZA, N. L. D. (2003) Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. Publicatio UEPG - Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias 9, S. 59-68

WU, Y., VON TIEDEMANN, A. (2001) Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone. Environmental Pollution 116, S. 37-47

Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. A. von Tiedemann für die Überlassung des Themas, die ständige Diskussionsbereitschaft und die stets gewährte Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit bedanken. Genauso herzlich möchte ich mich bei der Arbeitsgruppe Prof. v. Tiedemann bedanken. Besonderer Dank gilt Dr. Weinert für die vielen interessanten Diskussionen, Gespräche und die Unterstützung in der täglichen Arbeit. Herrn Hubertus Reintke und Herrn Hodyl möchte ich mich für die Unterstützung bei der Arbeit im Feld bzw. im Gewächshaus danken. Besonderer Dank gilt Frau Bode. Sie hat mich zuverlässig mit Prüfungsterminen versorgt und auch bei allen anderen administrativen Aufgaben tatkräftig unterstützt.

Bei Frau Prof. Dr. E. Pawelzik bedanke ich mich für die bereitwillige Übernahme des Korreferats.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei Frau Dr. Sachs bedanken. Sie hat die ersten Arbeiten zu *R. collo-cygni* in Deutschland durchgeführt und mir beigebracht wie ich mit dem Pathogen arbeiten kann.

Herrn Dr. Vetten und seiner Arbeitsgruppe vom JKI möchte ich für die Bereitstellung der Rohseren für die Entwicklung des ELISA danken.

Bei Herrn Emmert von Pajbjergfonden und Herrn Dr. Großer möchte ich mich für die Bereitstellung ihrer Sortenversuche bedanken.

Für die Durchführung der Fungizidversuche und finanzielle Unterstützung bedanke ich mich bei den Pflanzenschutzunternehmen Syngenta Agro GmbH, vertreten durch Herr Dr. Kirch, Bayer CropScience, vertreten durch Herrn Dr. Krieg und BASF AG, vertreten durch Herrn Dr. Prigge und Herrn Dr. Speakman. Die gute Zusammenarbeit hat meinen späteren Lebensweg geprägt.

Herr Dr. Teutsch und Herrn Dr. Hermann möchte ich für die Gelegenheit danken bei Syngenta Crop Protection Münchwilen AG in der Schweiz einen Blick „hinter die Kulissen“ zu bekommen. Viele dort erlernten Vorgehensweisen konnte ich weiter verwenden.

Dem Land Niedersachsen möchte ich für die Bereitstellung finanzieller Mittel danken.

Zum Schluss möchte ich mich bei meinen Eltern, meinem Bruder Dieter und meiner Freundin Tatjana ganz herzlich für die mir entgegengebrachte endlose Geduld und Verständnis bedanken. Erst dadurch wurde es möglich diese Dissertation neben meiner Arbeit fertigzustellen.

In diesem Zusammenhang möchte ich auch meinen Arbeitskollegen und Freunden danken, die mich in der langen Zeit nach dem Institut immer ein offenes Ohr hatten und mich immer wieder an meine noch ausstehende Dissertation erinnert haben. Besonders hervorheben möchte ich an dieser Stelle meinem Arbeitskollegen Franz Stuke.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Balz
Vorname: Torsten Theodor
Privatadresse: Breienweg 11
59597 Erwitte
Telefon: + (49) 177 2331819
E-Mail: tbalz@gmx.net
Geburtsdatum: 29.07.1977
Geburtsort: Erwitte (Deutschland, NRW)
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig

Schulischer Werdegang

08/1988 – 06/1994 **Edith Stein Realschule**, Lippstadt
Abschluss: Sekundarabschluss 1 (Fachoberschulreife)

07/1994 – 01/1996 **Evangelisches Gymnasium**, Lippstadt

01/1996 – 06/1997 **Städtisches Gymnasium**, Erwitte
Abschluss: Abitur

Ausbildung und Studium

10/1997 – 09/1998 **Universität Dortmund**, Dortmund
Chemietechnik-Studium

09/1998 – 08/2002 **Fachhochschule Südwestfalen – Hochschule für Technik und Wirtschaft**, Soest

Agrarwirtschaft-Studium mit den Schwerpunkten: Unternehmensführung und Pflanzenproduktion

Thema der Diplomarbeit: Untersuchungen zur Optimierung der Inokulation von *Lolium multiflorum* mit dem Erreger der Bakteriellen Gräserwelke *Xanthomonas campestris* pv. *graminis*

08/2002 – 08/2005 Georg August Universität Göttingen – Institut für allgemeine Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Göttingen

Promotionsstudium

Thema der Promotion: Biologie, Bedeutung und Verbreitung von *Ramularia collo-cygni* im Gerstenanbau

angestrebter Abschluss: Doctor scientiarum agrariarum (Dr. sc. agr.), Herbst 2009

Praktika/Berufserfahrung

08/1997 – 09/1997 Schäffer Maschinenfabrik GmbH, Erwitte

Maschinenbau, Erstellung von Stahlkonstruktionen, Materialzubereitung, Endmontage Radlader, Lager

07/1998 – 09/1998 Landwirtschaftlicher Betrieb F. Josef Bals Lusebrink, Erwitte

Babyferkelaufzucht, Schweinemast, Putenmast, Feldarbeiten

07/1999 – 09/1999 E. W. Pepper LTD., Roysten (GB)

zuständig für Arbeitskräfteeinteilung, Erntearbeiten (Narzissen, Kartoffeln, Zwiebeln)

02/2000 Hellweg Molkerei Soest, Soest

chemisch/physikalische Untersuchungen von Milch und Milchprodukten

10/2002 The Graduate School – Experimental Plant Sciences, Wageningen University (NL)

Workshop zu Resistenzmechanismen in Pflanzen und Wirt Parasit Interaktion

10/2004 – 11/2004 Syngenta Crop Protection Münchwilen AG, Stein AG (CH)

Ansätze zur Etablierung geeigneter Prüfbedingungen für *Ramularia collo-cygni* in vivo und in vitro

- 01/2006 – 10/2006** **Syngenta Agro GmbH**, Hannover und Maintal
Kennenlernen der Strukturen und des Aufbaus von Syngenta Agro GmbH. Durchlauf unterschiedlicher Abteilungen (Forschung, Entwicklung, Portfoliomanagement, Verkauf, Marketing, Registrierung).
- 10/2006 – 05/2010** **Syngenta Agro GmbH**, Würzburg
fachliche Unterstützung des Verkaufsteams Bayern, Betreuung der TU München, Fachhochschulen, Landesanstalt und amtlichen Beratung in Bayern
- 06/2010** **Bayer CropScience Deutschland GmbH**, Düsseldorf
fachliche Unterstützung des Verkaufsteams NRW, Betreuung der Hochschulen und amtlichen Beratung in NRW

Schmerlecke, Dezember 2009

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich eidesstattlich, dass diese Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt wurde.

Schmerlecke, Dezember 2009