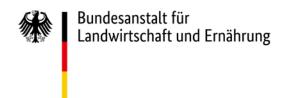
#### Gefördert durch:







aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

# Schlussbericht zum Thema

# "Untersuchungen zur Leguminosenmüdigkeit in Kleeund Luzernebeständen (TriSick – Trifolium Sickness)"

FKZ: 2818EPS014, 2818EPS038, 2818EPS039 und 2818EPS040

# Projektnehmer:

FKZ: 2818EPS014

Öko-BeratungsGesellschaft mbH

FKZ: 2818EPS038

Universität Rostock - Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät - Institut für Landnutzung - Phytomedizin

FKZ: 2818EPS039

Universität Rostock - Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät - Professur Grünland und Futterbauwissenschaften

FKZ: 2818EPS040

Universität Rostock - Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät - Bodenkunde

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen der BMLEH Eiweißpflanzenstrategie.



aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung





# **Abschlussbericht** Untersuchungen zur Leguminosenmüdigkeit in Kleeund Luzernebeständen

(TriSick - Trifolium Sickness, 15.04.2021-31.12.2024)

Nr.	Verbundpartner	FKZ
1	Öko-Beratungsgesellschaft mbH	2818EPS014
2	Universität Rostock, Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät, Phytomedizin	2818EPS038
3	Universität Rostock, Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät, Grünland und Futterbauwissenschaften	2818EPS039
4	Universität Rostock, Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät, Bodenkunde	2818EPS040

Hohenkammer und Rostock, den 23.12.2024

# Inhaltsverzeichnis

A	bbildung	sverzeichnis	4
T	abellenv	erzeichnis	5
Α	utor:inne	en	6
K	urzfassı	ing	7
A	bstract		9
1	Einfü	ihrung	11
	1.1	Gegenstand des Vorhabens	
	1.2	Ziele und Aufgabenstellung des Projektes	
	1.3	Planung und Ablauf des Projektes	
2	_	enschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	
3		rial und Methoden	
•	3.1	Flächenauswahl, Probensammlung und Erhebung auf den Praxisflächen	
	3.2	Phytomedizinische Parameter	
	3.2.1	·	
	3.2.2	-	
	3.2.3		
	3.2.4	Rhizosphärenmikrobiom	21
	3.3	Biotische Bodenparameter	22
	3.3.1	Mykorrhizierung	22
	3.3.2	Knöllchenformung mit Rhizobien	22
	3.3.3	Organische Chemie des Bodens bzw. der Wurzeln/Rhizosphäre	23
		Abiotische Bodenparameter und assoziierte Biomasseparameter;	22
		gruppenübergreifende Auswertungen	
	3.5 3.6	Demoanlagen	
4		ührliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	
_	4.1	Flächenauswahl, Probensammlung und Erhebung auf den Praxisflächen	
	4.1	Phytomedizinische Parameter	
	4.2.1	•	
	4.2.2		
	4.2.3		
	4.2.4		
	4.3	Biotische Bodenparameter	

# Inhaltsverzeichnis

	4.3.	Mykorrhizierung	37
	4.3.2	2 Knöllchenformung durch Rhizobien	37
	4.3.3	Organische Chemie des Bodens und der Wurzeln	38
	4.4	Abiotische Bodenparameter und assoziierte Biomasseparameter	39
	4.4.	Eindringwiderstand und Bodenfeuchte	39
	4.4.2	P pH-Wert des Bodens	41
	4.4.3	S Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel	42
	4.4.4	Übersicht Nährstoffgehaltsklassen	43
	4.4.5	5 Phosphor, Kalium und Magnesium	45
	4.4.6	Bor, Kupfer, Eisen, Mangan und Zink	46
	4.4.7	Calcium und Molybdän	47
	4.4.8	Nährstoffstöchiometrie	48
	4.4.9	Fraktionierung	52
	4.4.	0 Erträge und Futterwerte	52
	4.4.	1 Faseranalyse	54
	4.5	Arbeitsgruppenübergreifende Ergebnisse	55
	4.6	Faktorverteilungen	58
	4.7	Differenzialdiagnose	61
	4.8	Demoanlagen	64
5	Disk	ussion der Ergebnisse	67
	5.1	Phytomedizinische Parameter	67
	5.2	Biotische Bodenparameter	68
	5.3	Abiotische Faktoren und assoziierte Biomasseparameter	70
	5.4	Differenzialdiagnose	73
	5.5	Arbeitsgruppenübergreifende Auswertungen	74
6	Anga	aben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse	76
7	Geg	enüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen	78
	7.1	Arbeitsgruppenübergreifende Ziele	78
	7.2 Prober	Arbeitspaket 1: Auswahl der Flächen und Beschreibung der Symptome, sammlung, Anlage von Demonstrationsstreifen	78
	7.3	Arbeitspaket 2: Phytomedizinische Aspekte	79
	7.4	Arbeitspaket 3: Abiotische Bodenparameter	79
	7.5	Arbeitspaket 4: Biotische Bodenparameter	80
	7.6 Einsatz	Arbeitspaket 5: Prüfung der Eignung der Methode der Differenzialdiagnose für der bei feinsamigen Leguminosen	
	7.7 feinsar	Arbeitspaket 6: Erstellung einer Praxishandreichung zur Differenzialdiagnose benigen Leguminosen	
	7.8	Arbeitspaket 7: Koordination des Verbundvorhabens	81

# Inhaltsverzeichnis

8 Zus	ammenfassung	82
	Literaturverzeichnis	
10 Dar	nksagung	90
	öffentlichungen	
11.1	Vorträge und Poster	91
11.2	Veröffentlichungen	93
11.3	Vorträge und Veröffentlichungen geplant bzw. in Vorbereitung	94
Anlagen		95

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Mögliche biotische und abiotische Einflüsse auf die Entstehung von Kleemüdigkeit12
Abbildung 2: Wüchsiger und kleemüder Patch am Standort Arnstein (Bayern, Luzerne- Kleegras-Gemenge) sowie Beispiel eines Schlages mit wüchsigen und wuchsschwachen Bereichen (Standort Ziegendorf, Mecklenburg-Vorpommern, Luzerne)
Abbildung 3: Messung des Eindringwiderstandes mit dem Penetrologger (A) im Rotkleegras, Messung des Aufwuchses mit dem Herbometre (Aurea AgroSciences) (B)19
Abbildung 4: Versuchsplan und Varianten der Demoanlage im Rotkleegras in Harsewinkel (Nordrhein-Westfalen)
Abbildung 5: Demoanlage im Luzerne-Kleegras in Arnstein (Bayern) zur Anlage im Mai 2023.
Abbildung 6: Standorte der Probenahme und die entsprechende jahreszeitliche Zuordnung.
Abbildung 7: Anzahl der isolierten pilzlichen Krankheitserreger, unterteilt nach Jahreszeit und Wirtspflanze32
Abbildung 8: Fuß- und Brennfleckenkrankheit ( <i>Didymella pinodella</i> ) an Rotklee32
Abbildung 9: Fuß- und Brennfleckenkrankheit ( <i>Ascochyta medicaginicola</i> syn. <i>Phoma medicaginis</i> ) an Luzerne33
Abbildung 10: Blattbrand ( <i>Leptosphaerulina trifolii</i> ) an Luzerne33
Abbildung 11: Anzahl von Nematoden pro 100 ml Boden34
Abbildung 12: Überblick des gesamten pilzlichen und bakteriellen Rhizosphärenmikrobioms35
Abbildung 13: Einteilung des pilzlichen Rhizosphärenmikrobioms in die ökologischen Gilden36
Abbildung 14: Darstellung der Hauptkomponentenanalyse (PCA) des Pathomikrobioms in Bezug auf das Vorkommen der drei häufigsten Pathogene36
Abbildung 15: Mykorrhizierungsrate der Feinwurzeln (%)
Abbildung 16: Knöllchenformung der Feinwurzeln (n per Pflanze)38
Abbildung 17: Relative Abundanz von m/z 858 (A) und m/z 508 (B) mittels Py-FIMS (pyrolysis-field ionization spectrometry) von Feinwurzeln von <i>Trifolium pratense</i> L39
Abbildung 18: Vergleich von Eindringwiderstand und Bodenfeuchte40
Abbildung 19: Darstellung der gemessenen Bodenfeuchten im Jahresverlauf41
Abbildung 20: Vergleich der pH-Werte des Bodens42
Abbildung 21: Vergleich von Gesamt-Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefel-Gehalten, des Verhältnisses von Gesamt-Kohlenstoff zu Gesamt-Stickstoff und CAT-Schwefelgehalten43
Abbildung 22: Verteilung der Nährstoffgehaltsklassen nach Kape et al. (2019) mit Aufschlüsselung nach Bewirtschaftungsform44
Abbildung 23: Vergleich von Phosphor-, Kalium- und Magnesium-Gehalten45
Abbildung 24: Vergleich von Bor-, Kupfer-, Eisen-, Mangan-, und Zink-Gehalten46

# Tabellenverzeichnis

Abbildung 25: Vergleich der Bor- und Kupfergehalte des Bodens zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches mit Verdacht auf Mangel47
Abbildung 26: Vergleich von Calcium- und Molybdän-Gehalten der Biomasse48
Abbildung 27: Vergleich der C/N Verhältnisse in der Biomasse49
Abbildung 28: Beispiel eines Standortes mit Problemen hinsichtlich der Nährstoffstöchiometrie
Abbildung 29: Korrelation zwischen CAT-Schwefel und Schwefel in der Biomasse51
Abbildung 30: Vergleich des Bioconcentration-Faktors von Magnesium (Gehalt Biomasse (g/kg)/Gehalt Boden (mg/kg))
Abbildung 31: Gehalte an Kupfer, Mangan, und Zink in unterschiedlichen Kompartimenten des Rotklees.
Abbildung 32: Vergleich von Biomassebeständen und Futterwerten53
Abbildung 33: Digitales Geländemodell der Schläge Kobrow (A) und Broderstorf (B)54
Abbildung 34: Signifikante Korrelation der Rohfaser (XF) Schätzwerte verschiedener  Methoden55
Abbildung 35: Klassifikationsbaum56
Abbildung 36: Verteilung der Schadschwellenüberschreitungen von Nematoden in den einzelnen pH-Klassen (Zuordnung nach Kape et al. 2019)57
Abbildung 37: Boden-Borgehalte und pH-Werte von Flächen mit Kleekrebs58
Abbildung 38: Geografische Verteilung der Faktoren Höhenlage, Niederschlag, Bodenart, Bewirtschaftung und Futterleguminosenart über die Standorte59
Abbildung 39: Geografische Verteilung verschiedener pilzlicher Schaderreger60
Abbildung 40: Verteilung verschiedener pflanzenbaulicher Variablen von Schlägen mit wuchsschwachen Patches61
Abbildung 41: Einfluss der verschiedenen Varianten der Differenzialdiagnose auf das Sprosswachstum (cm) für alle Standorte62
Abbildung 42: Rotklee im Boden vom Standort Broderstorf nach 8 Wochen Wachstumsphase63
Abbildung 43: Luzerne im Boden vom Standort Broderstorf nach 6 Wochen Wachstumsphase63
Abbildung 44: Differenzialdiagnose unter nicht kontrollierten Bedingungen 8 Wochen nach der Anlage mit Boden vom Standort Jesewitz.
Abbildung 45: Demoanlage im Rotkleegras-Bestand am Standort Friedland (Mecklenburg-Vorpommern) am 06.09.202365
Abbildung 46: Knöllchenzahlen und Mykorrhizierungsgrade der Varianten in der Demoanlage am Standort Friedland (Mecklenburg-Vorpommern) bei Rotklee66
Tabellenverzeichnis
Tabelle 1: Probenarten, Entnahmemethoden und Analysenziele der Beprobungen20
Tabelle 2: Standorte und Schwerpunkte der Demoanlagen27

# Autor:innen

# Autor:innen

Christel Baum, Irene Jacob, Annika Kühnl, Jürgen Müller, Kristin Steinfurth, Christine Struck

# Kurzfassung

Das Gesamtziel des Vorhabens war es, die komplexen biotischen und abiotischen Faktoren, die zur Kleemüdigkeit führen können, zu identifizieren und Möglichkeiten zu deren Kontrolle zu erarbeiten. Es sollten standortspezifische Ansätze für ressourcen- und umweltschonende, nachhaltige Strategien des Klee- und Luzerneanbaus entwickelt werden, die für den ökologischen Landbau geeignet sind und welche auf den konventionell integrierten Landbau übertragen werden können. Dafür wurden entsprechende Rotklee- (*Trifolium pratense*) und Luzernefelder (*Medicago sativa*) erfasst und Pflanzen- sowie Bodenproben analysiert. Es wurde ein Diagnosetool erarbeitet, mit dessen Hilfe es Praktikern ermöglicht wird, die Kleemüdigkeit auslösenden Faktoren zu erkennen und zu kontrollieren. Die Ergebnisse wurden und werden in der Praxis kommuniziert. Dadurch soll ein betrieblich sinnvoll dimensionierter und produktionstechnisch optimierter Kleeanbau mit einer stabilen, hohen Produktivität und Wirtschaftlichkeit langfristig und nachhaltig gesichert werden.

Die 71 untersuchten kleemüden Flächen verteilen sich in ganz Deutschland und decken so eine Vielzahl an Boden-Klima-Räumen ab. Auf den kleemüden Flächen und vergleichbaren, kontrastierenden Flächen mit wüchsigen Beständen wurden Boden- und Pflanzenproben entnommen und Messungen durchgeführt. Die Untersuchungen umfassten Schadpilze, Nematoden, Schadinsekten, das Rhizosphärenmikrobiom, die Besiedelung der Wurzeln mit endophytischen Pilzen, Mykorrhiza und Rhizobien, die Nährstoffversorgung und den Eindringwiderstand und die Bodenfeuchte als Indikatoren für Bodenverdichtungen. Die Kleeund Luzernebiomasse wurde hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung untersucht. Zudem wurden Feinwurzeln analysiert und im Hinblick auf ihre auto- und allelopathischen Substanzen bzw. deren Eintrag in die organische Bodensubstanz bewertet.

Die Differenzialdiagnose wurde unter kontrollierten und nicht-kontrollierten Bedingungen als erfolgreicher Ansatz getestet, um die Ursachen der Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne schlagspezifisch einzugrenzen. Eine Anleitung für Praxis und Beratung wurde als Praxismerkblatt erstellt.

Als Ursache für das Auftreten der Kleemüdigkeit scheinen Schadpilze eine gewisse Bedeutung zu haben, ebenso bestimmte pflanzenparasitische Nematoden, Schadinsekten jedoch kaum.

Die ursächliche Beteiligung der symbiosebildenden Mikroorganismen wie Rhizobien und Mykorrhizapilze wird am Auftreten der Kleemüdigkeit ausgeschlossen.

Hinsichtlich der abiotischen Bodenparameter konnten Schwefel-, Bor- und Kupfermangel sowie zu geringe pH-Werte als Faktoren identifiziert werden, die das Auftreten von Kleemüdigkeit begünstigen. Besonders für den pH-Wert besteht zudem eine Interaktion mit

# Kurzfassung

anderen, biotischen Einflussfaktoren wie Nematoden und Schadpilzen. In einzelnen Fällen konnte Bodenverdichtung als eine Ursache der Kleemüdigkeit identifiziert werden.

Neben Ertragseinbußen führte Kleemüdigkeit auch zu geringeren Rohproteingehalten und somit zu einer Reduktion des Futterwertes.

#### **Abstract**

#### Studies on legume decline in clover and lucerne stands

The overall objective of the project was to investigate the complex biotic and abiotic factors that contribute to legume decline in red clover and lucerne (clover decline), and to develop strategies for controlling these factors. Site-specific approaches for resource- and environmentally friendly, sustainable clover and lucerne cultivation were developed. These strategies are suitable for organic farming and can also be adapted to conventional-integrated farming practices. Results were transferred to and validated by agricultural practice through close cooperation with farmers. This collaboration ensures that clover and lucerne cultivation on farms is production-optimised and stable, leading to high productivity. As a result, long term profitability can be sustained in an environmentally sustainable manner.

In total, 71 affected sites covering a broad range of soils and climatic conditions were identified and selected for examination of the causes of the clover decline appearing on these sites.

Soil and plant samples from various locations from patches with decline symptoms and from comparable, contrasting areas with vigorous stands were identified and selected for examination. The investigations included pathogenic fungi, nematodes, harmful insects, the microbiome of the rhizosphere, the colonization of the roots with endophytic fungi, mycorrhiza, and rhizobia, the nutrient supply, and the penetration resistance and soil moisture as indicators of soil compaction. Biomass of clover and lucerne was examined for its chemical composition. In addition, fine roots were analysed to evaluate their potential auto- and allelopathic substances and their addition and effects on soil organic matter.

A differential diagnosis approach under both controlled and non-controlled conditions on a mesocosmic scale was developed to evaluate legume decline sites. A guide for using this differential diagnosis tool was created along with practical instructions for farmers and consultants.

Pathogenic fungi seem to play a certain role for the occurrence of clover decline, so do certain plant parasitic nematodes. In contrast, insect pests do not.

The causal involvement of symbiotic microorganisms such as rhizobia and mycorrhizal fungi in the occurrence of clover fatigue is excluded.

Regarding the abiotic soil parameters, sulfur, boron, and copper deficiencies as well as too low pH values were identified as factors that promote the occurrence of clover decline. Especially the pH value also interacts with other biotic factors such as nematodes and pathogenic fungi. In individual cases, soil compaction was identified as a cause of clover decline.

# Abstract

In addition to yield losses, clover decline also led to lower crude protein contents and thus to a reduction in feed value.

# 1 Einführung

#### 1.1 Gegenstand des Vorhabens

Aus der Praxis gab es in den vergangenen Jahren regelmäßig Hinweise von Beratern und Landwirten auf Luzerne- und Kleebestände mit unzureichendem Wachstum, vermehrter Lückigkeit und weiteren unspezifischen Symptomen, die einer Ausschöpfung des vollen Potenzials entgegenstehen. Dies betraf sowohl den Rein- als auch den Gemengeanbau mit Gräsern und verschiedenen Kleearten sowie Luzerne. Man spricht oft weitgehend unspezifisch vom Symptom der "Kleemüdigkeit" oder eines "kleemüden Bodens". Auch bei den großkörnigen Leguminosen ist das Problem der Leguminosenmüdigkeit bekannt und beschrieben.

Im Zentrum der Diskussionen um Kleemüdigkeit stehen vorwiegend verschiedene pilzliche Krankheitserreger sowie tierische Schädlinge wie Nematoden und Insekten, die sich bei zu häufigem Anbau ihrer Wirtspflanzen an einem Standort etablieren. Entsprechende Vermeidungsstrategien umfassen eine Anpassung der Fruchtfolge, Anbaupausen und die Verwendung resistenter oder toleranter Sorten.

Eng beieinanderliegende Bereiche mit und ohne Symptome deuten jedoch darauf hin, dass nicht die Anwesenheit von Krankheits- oder Schaderregern allein die Ursache des Auftretens von Kleemüdigkeit ist. Viele weitere Faktoren stehen im Verdacht Einfluss auf das Auftreten von Kleemüdigkeit zu nehmen (Abbildung 1). In Betracht zu ziehen sind sowohl biotische (bspw. mutualistische Symbionten wie Mykorrhizapilze und Rhizobien; phytotoxische; allelopathische bzw. autotoxische Wurzelexsudate) als auch abiotische Faktoren (z.B. Nährstoffdefizite bzw. -imbalanzen, Bodenverdichtungen). Im Fokus des Projektes stand daher die Identifikation von Faktoren, die bei Rotklee und Luzerne in Deutschland die Symptome der Kleemüdigkeit hervorrufen und ihre Wechselwirkungen zu analysieren, um zusätzliche und gegebenenfalls gezieltere Vorbeugemaßnahmen erarbeiten zu können.

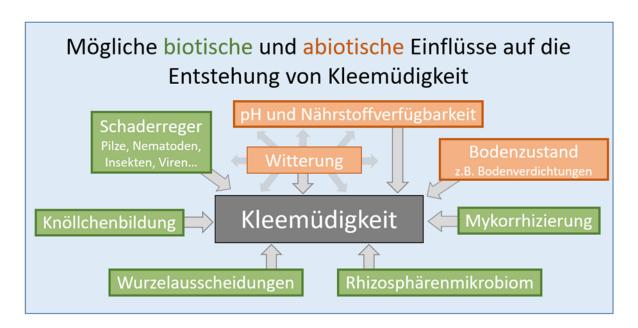


Abbildung 1: Mögliche biotische und abiotische Einflüsse auf die Entstehung von Kleemüdigkeit.

#### 1.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

Das Gesamtziel des Vorhabens war es, die komplexen Faktoren, die zur Kleemüdigkeit führen können, zu identifizieren und Möglichkeiten zu deren Kontrolle zu erarbeiten.

Hierfür sollten auf kleemüden und wüchsigen Flächen in der landwirtschaftlichen Praxis umfangreiche Probenahmen und Messungen durchgeführt werden, die möglichst viele der potenziellen Einflussfaktoren abdecken.

Durch die parallele Untersuchung sowohl von kleemüden Flächen als auch von Flächen mit wüchsigem Klee- bzw. Luzerneanbau sollten sowohl Parameter einer erfolgreichen Bewirtschaftung identifiziert werden als auch Faktoren bzw. Faktorkombinationen, die das Auftreten von Kleemüdigkeit begünstigen. Anschließend sollten entsprechende standortspezifische Ansätze für ressourcen- und umweltschonende, nachhaltige Strategien des Kleeanbaus entwickelt werden, die für den ökologischen Landbau geeignet sind und welche auf den konventionell integrierten Landbau übertragen werden können.

Zusätzlich sollte mit der Etablierung einer an die Differenzialdiagnose zur Bestimmung der Ursachen der Leguminosenmüdigkeit bei Körnerleguminosen angelehnten Methode der landwirtschaftlichen Praxis und Beratung ein Instrument zur Verfügung gestellt werden, mit dem die jeweils schlagspezifische Ursache der Kleemüdigkeit in einem ersten Schritt eingegrenzt werden kann und dadurch ggf. erste Gegenmaßnahmen ergriffen werden können. Auch sollten erste mögliche Behandlungsansätze, die für einen Einsatz im ökologischen

#### Einführung

Landbau geeignet sind, auf den betroffenen Flächen hinsichtlich ihrer Wirksamkeit geprüft werden.

Durch Ergebnisse des Projektes soll ein betrieblich sinnvoll dimensionierter und produktionstechnisch optimierter Kleeanbau mit einer stabilen, hohen Produktivität und Wirtschaftlichkeit langfristig und nachhaltig gesichert werden.

Das Projekt unterstützt die Ziele der Eiweißpflanzenstrategie des BMEL, speziell die Ausweitung und Verbesserung des Anbaus und der Verwertung von kleinkörnigen Leguminosen in Deutschland. Darüber hinaus wird ein wesentlicher Beitrag zur Umsetzung der Zukunftsstrategie ökologischer Landbau geleistet. Klee und Luzerne sowie Klee- und Luzernegras sind insbesondere im ökologischen Landbau ein essenzielles Fruchtfolgeglied aufgrund seiner Fähigkeit Stickstoff zu fixieren sowie vielfältiger weiterer Beiträge zur Gestaltung resilienter Anbausysteme wie der Humusmehrung (C-Sequestrierung), der Beikrautregulierung oder der Habitatfunktion. Weiterhin tragen sie zum einen dazu bei, die Raufutterversorgung der Wiederkäuer sicherzustellen, zum anderen rückt auch die Verwertung als regional erzeugte Eiweißträger für Monogastrier vermehrt in den Fokus. Im Hinblick auf die angestrebte 100-%-Fütterung aus ökologisch erzeugten Futtermitteln liegt hier ein erhebliches Potenzial, das es zu erschließen gilt.

#### 1.3 Planung und Ablauf des Projektes

Zu Beginn des Projektes und im weiteren Verlauf wurden bundesweit gezielt Betriebe akquiriert, deren Flächen Anzeichen der Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne aufwiesen. Dazu wurden Beratungsorganisationen angesprochen sowie Aufrufe in Fachzeitschriften und Newslettern veröffentlicht. In einem ersten telefonischen Kontakt wurde ermittelt, ob die Flächen für die Erhebungen und Fragestellungen im Rahmen des Projektes geeignet sind.

Geeignete Flächen wurden in einem holistischen Ansatz zur Ursacheneingrenzung für umfangreiche Analysen beprobt. Die Analyse erfolgte fortlaufend hinsichtlich der auftretenden phytopathologischen Faktoren, biotischen sowie abiotischen Bodenparameter (siehe Kapitel 3. Material und Methoden) und bildet die Grundlage für die Ermittlung der Relevanz einzelner Faktoren als auch derer Wechselwirkungen.

Die Probenahmekampagnen fanden hauptsächlich im Frühjahr und Herbst statt, um vor allem die biotischen Bodenparameter aussagekräftig zu erfassen. In sechs Probenahmekampagnen von Herbst 2021 bis zum Frühjahr 2024 wurden 71 Patch-Paare beprobt, bestehend aus einem kleemüden Patch und einem kontrastierenden wüchsigen Patch mit vergleichbaren

#### Einführung

Wachstumsbedingungen. Je nach Probenart kamen hierbei bis 76 Probenpaare zusammen (teils konnten z.B. im selben Patch sowohl Rotklee als auch Luzerne beprobt werden).

Für die detaillierte massenspektrometrische Analyse auf potenziell toxische/auto- oder allelopathische Substanzen wurden vier Standorte mit besonders ausgeprägten Symptomen von Leguminosenmüdigkeit ausgewählt und sowohl Boden- als auch Wurzelmaterial analysiert.

Nach dem Vorliegen der vollständigen Ergebnisse einer Probenahmekampagne wurden diese mit jeweils betriebsspezifischer fachlicher Einordnung an die Betriebe übermittelt.

Die kampagnenübergreifende und auf Interaktionen zwischen den Faktoren fokussierte statistische Auswertung erfolgte nach dem Vorliegen aller Analyseergebnisse zum Projektende und wird auch noch darüber hinaus für die Verfassung wissenschaftlicher Publikationen fortgesetzt.

Zusätzlich zu den fortlaufend durchgeführten Beprobungen und Messungen fanden für zwei Standorte zusätzliche Drohnen-Überfliegungen statt, um Spektralbilder für ein Upscaling der kleinräumig festgestellten Ergebnisse zu erhalten.

Im zweiten Projektjahr wurde ein erster Versuch zur Differenzialdiagnose durchgeführt. Hierzu wurde Boden von bereits untersuchten Standorten entnommen. Die Differenzialdiagnose wurde zuerst für Rotklee unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus durchgeführt. Später wurde der Ansatz für Luzerne wiederholt und zusätzlich unter nicht kontrollierten Bedingungen erprobt.

Ebenfalls wurden auf einigen Standorten, die zuvor untersucht wurden, Demoanlagen angelegt, um zu überprüfen, ob die Anzeichen der Kleemüdigkeit zum Beispiel durch den Einsatz einer Düngung eines im Mangel vorliegenden Nährstoffs ausgeglichen werden können. Zum Teil wurden diese Parzellen im Nachgang nochmals beprobt.

# 2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Begriffe "Leguminosenmüdigkeit" bzw. "Kleemüdigkeit" lassen sich bislang keiner einzelnen definierten Ursache zuordnen, vielmehr ist bei ihnen von einem Komplex vielfältiger kausaler Faktoren auszugehen.

Für die Ursachen der Kleemüdigkeit liegen nur wenige verifizierte Erkenntnisse vor. In Dänemark wurden Kleezystennematoden (*Heterodera trifolii*) als ein Haupterreger für Kleemüdigkeit bei Weißklee identifiziert (Soegaard & Moller 2006), wobei auch bspw. *Fusarium*- oder *Pythium*-Arten dazu beitragen können. Serikstad et al. (2013) fanden in nordeuropäischen Ländern verschiedene Schaderreger für die Kleemüdigkeit, darunter v. a. Nematoden und Wurzelfäulen, und verwiesen auch auf das gleichzeitige Auftreten mehrerer Erreger und deren mögliche Interaktionen.

Auch für die grobsamigen Leguminosen ist dieses Erscheinungsbild bekannt, vor allem die Erbse gilt als anfällig. Um die Ursachen eingrenzen zu können, entwickelten Fuchs et al. (2014, 2013) die Differenzialdiagnose, die in einem ersten Schritt Anhaltspunkte geben kann, ob biotische oder abiotische Faktoren (Nährstoffe, Schadstoffe) primär verantwortlich sind. In einem zweiten Schritt sollen dann die biotischen Faktoren näher eingegrenzt werden (bspw. pilzliche Schaderreger, Nematoden). Für feinsamige Leguminosen existiert bisher keine vergleichbare Untersuchungsmethode. Nach Erfahrungen mit dieser Differenzialdiagnose bei Körnerleguminosen auf Praxisflächen wurden als häufigste Ursache Stängelbasis- und Wurzelkrankheiten, sogen. "Fußkrankheiten" ermittelt (Schmidt et al. 2014), Nährstoffmangel und Schadstoffe waren von untergeordneter Bedeutung. In neueren Untersuchungen zu Erbsen stellte sich jedoch vermehrt eine Mangelsituation in der Nährstoffversorgung, auch mit Mikronährstoffen, bzw. eine Kombination aus Faktoren als ursächlich für Wachstumsdepressionen heraus (Urbatzka et al. 2017). Bereits nachgewiesen wurde der bei Futterleguminosen im Gegensatz zu Körnerleguminosen in größerem Maß ertragswirksame Effekt einer Düngung mit Schwefel (Becker et al. 2016, Köpke et al. 2016). Becker et al. (2016) verwiesen auf weitere Faktoren, die sich auf den Ertrag von Futterleguminosenbeständen auswirken können, bspw. die Bodenstruktur, der pH-Wert und die Versorgung mit weiteren Makro- und Mikronährstoffen. Bei Rotklee konnte überdies ein Rückgang von Wurzelkrankheiten nach der Düngung mit Mikronährstoffen wie Mn, Zn und Cu gezeigt werden (Stolz & Wallenhammar 2012).

Neben der direkten Schädigung durch Schaderreger, Nährstoffmangel oder phytotoxische Stoffe rückt vermehrt das gesamte Bodenmikrobiom, welches die Kulturpflanzen umgibt, in den Fokus. Das Wissen um die Zusammensetzung der Mikroorganismenflora der Rhizosphere

kann Aufschluss über negativ wirkende wie auch über positiv wirkende Mikroorganismengesellschaften bringen (Lareen et al. 2016). Bei Kleearten und Luzerne als feinsamige Leguminosen kann die erfolgreiche Besiedelung mit Rhizobien ein entscheidender Faktor für den erfolgreichen Anbau und den Ertrag sein (Roberts et al. 2017, Niewiadomska & Klama 2005, Lowendorf 1980). Diese hängt wiederum von Bodenfaktoren ab (pH-Wert, Bodenstruktur etc.), aber auch von weiteren Bodenmikroorganismen, die in wechselseitigen Beziehungen miteinander stehen (Schütz et al. 2018, Al-Falih 2002). Kleearten und Luzerne sind weiterhin mit Mykorrhizapilzen vergesellschaftet. Neben den positiven Effekten einer Mykorrhizierung für die Nährstoffversorgung wurde an *Trifolium repens* jedoch auch nachgewiesen, dass eine steigende Diversität und Besiedlung mit arbuskulären Mykorrhizapilzen bei Nährstoffmangel die Fähigkeit zur physiologischen Anpassung des Klees im Grünlandbestand verringern kann (Du et al. 2009).

Auch Wurzelausscheidungen der gleichen oder anderer Arten können das Pflanzenwachstum beeinträchtigen. Solche allelopathischen Effekte sind bereits für die Erbse, aber auch für Rotklee und Luzerne nachgewiesen worden (Liu et al. 2013, Volenec & Johnson 2004). Es wird davon ausgegangen, dass die Ausscheidung von phytotoxischen Substanzen über die Wurzeln wesentlich zur Durchsetzung des Rotklees z.B. gegenüber benachbarten Gräsern beiträgt (Liu et al. 2013).

Eine umfassende Untersuchung zu den Ursachen der Kleemüdigkeit in Deutschland liegt nicht vor. In den Jahren 2009 und 2010 wurde zwar eine Bewertung vorranging von Flächen zur Saatgutvermehrung und Versuchsflächen im Raum Mittel- und Süddeutschland vorgenommen, die dazu diente, das Auftreten der samenbürtigen Krankheiten Anthracnose (Colletotrichum trifolii) und Kleekrebs (Sclerotinia trifoliorum) abzuschätzen (Jacob & Hartmann 2012). Im Jahr 2019 begann ein Projekt der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft in Zusammenarbeit mit dem Landeskuratorium für pflanzliche Erzeugung in Bayern e.V. und den Erzeugerringen Naturland und Bioland (Kleemonitoring Bayern). In diesem Ansatz werden Kleebestände in ganz Bayern in einem Monitoring hinsichtlich ihres Gesundheitszustandes bewertet und das Auftreten von Pilzkrankheiten eingeordnet.

Eine systematische Untersuchung von bereits als kleemüde bekannten Flächen gibt es jedoch nicht, dabei wird die Erforschung der Ursachen der Kleemüdigkeit aus Sicht der Praxis als prioritäres Forschungsthema des ökologischen Pflanzenbaus eingestuft (BÖLW 2018). Für gezielte Gegenmaßnahmen und Handlungsempfehlungen gegen die Kleemüdigkeit ist es unabdingbar, die jeweilige schlagspezifische Ursache zu kennen.

# 3.1 Flächenauswahl, Probensammlung und Erhebung auf den Praxisflächen

#### Flächenauswahl

Der Ansatz des Projektes war es, gezielt Rotklee- und Luzerneschläge zu beproben, bei denen die Betriebsleitenden und/oder Beratenden das Auftreten der Kleemüdigkeit vermuteten.

Betriebe mit als kleemüde bekannten Flächen wurden durch Ansprache über Berater:innen, über das Demonet-KleeLuzPlus, über Rundbriefe und Newsletter, Hinweise in Verbandszeitschriften und auf Vortragsveranstaltungen sowie durch direkte Ansprache bundesweit akquiriert. Diese Akquise wurde während der Projektlaufzeit bis zur letzten Probenahme im Frühjahr 2024 beständig fortgeführt.

In einer ersten telefonischen Befragung wurde geprüft, ob die Fläche für die Fragestellung des Projektes geeignet ist. Bedeutsam war dabei das Vorhandensein einer kontrastierenden, vergleichbaren Fläche, bzw. das Vorhandensein von wüchsigen und kleemüden Stellen auf der gleichen Fläche (Abbildung 2). Außerdem wurde ausgeschlossen, dass es sich um ein erklärbares Problem handelt (Fehler bei der Aussaat, Schäden durch Mäuse etc.). Vor Ort wurden gemeinsam mit den Betrieben die kleemüden und wüchsigen Patches für die Probenahme identifiziert.



Abbildung 2: Wüchsiger und kleemüder Patch am Standort Arnstein (Bayern, Luzerne-Kleegras-Gemenge) sowie Beispiel eines Schlages mit wüchsigen und wuchsschwachen Bereichen (Standort Ziegendorf, Mecklenburg-Vorpommern, Luzerne).

# Probensammlung und Erhebung auf den Praxisflächen

Die Probenahme und die zu erhebenden Parameter wurden projektintern zu Beginn des Vorhabens abgestimmt. Eine projektinterne Schulung stellte sicher, dass die Bonituren und Datenerhebungen, trotz unterschiedlicher ausführender Personen, nach dem gleichen Schema erfolgten.

Die Probenahmekampagnen fanden hauptsächlich im Frühjahr (teils bis Frühsommer) und Herbst (teils schon ab Spätsommer) statt, um vor allem die biotischen Bodenparameter aussagekräftig zu erfassen. Bedingt durch den Zeitpunkt der Symptommeldung bzw. die

anhaltend zu nasse Witterung mussten manche Probenahmen außerhalb der Haupt-Probenahme im Juli bzw. Anfang Dezember vorgenommen werden.

Die Betriebe wurden mittels eines Fragebogens zu agronomischen Parametern und dem Auftreten der Kleemüdigkeit auf ihrem Betrieb befragt:

Daten zu Standort, Bewirtschaftung (Fruchtfolge, Pflanzenschutz, Bodenbearbeitung etc.), Kleegrasmanagement (Ansaatdatum und -verfahren, Mischung, Schnittregime etc.), beobachtete Anzeichen der Leguminosenmüdigkeit und Einschätzung der Wüchsigkeit.

Folgende Bonituren wurden jeweils auf den wüchsigen und wuchsschwachen Patches durchgeführt:

Entwicklungsstadium, Wuchshöhe, Mängel im Stand, Massenbildung, Lager, Lückigkeit, Anzahl Pflanzen pro m², Anteil Bestandsbildner, Verunkrautung, dominierende Unkrautarten, Anteil befallene Pflanzen, durchschnittliche Stärke des Befalls je Schaderreger, Beschreibung der Symptome. Ein Teil der Bonituren folgte dem Schema des Bundessortenamtes (2000). Zusätzlich wurden mit einem Penetrologger (Eijkelkamp, Abbildung 3A) der Eindringwiderstand sowie mit einer ML3-Thetasonde die volumetrische Bodenfeuchte gemessen (jeweils 5 Messungen je Patch). Mit verschiedenen Herbometern (Herbometre von Aurea AgroSciences (Abbildung 3B) und Eigenkonstruktion "großer Messteller") wurden komprimierte Wuchshöhen gemessen.

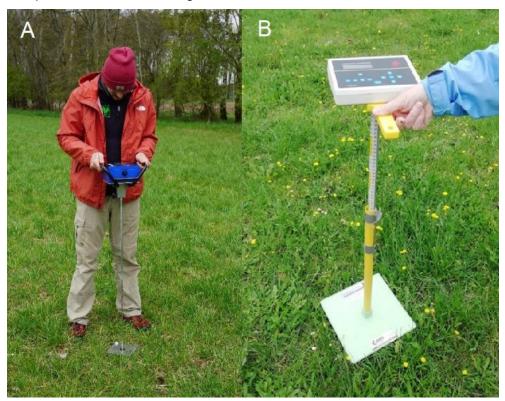


Abbildung 3: Messung des Eindringwiderstandes mit dem Penetrologger (A) im Rotkleegras, Messung des Aufwuchses mit dem Herbometre (Aurea AgroSciences) (B).

Die in Tabelle 1 gelisteten Proben wurden jeweils im wüchsigen und kleemüden Patch gesammelt.

Tabelle 1: Probenarten, Entnahmemethoden und Analysenziele der Beprobungen.

Probe	Methodik Probenahme	Analysenziel
Fünf Ganzpflanzen inkl.	Spaten und Messer	pilzliche Schaderreger,
Wurzel und anhaftenden		Mikrobiomanalyse,
Boden		Mykorrhiza & Rhizobien,
		Wurzelchemie,
		massenspektrometrische
		Analyse
Mind. 300 g oberirdische	Rasenkantenschere,	Nährstoffgehalte Pflanze
Pflanzenmasse (FM)	Schnitthöhe ca. 8 cm,	
	Sammelprobe	
Mind. 500 g Wurzel und	Bohrstock, Sammelprobe	Nematoden
Boden (bis 30 cm Tiefe)		
Mind. 300 g Boden (bis	Bohrstock, Sammelprobe	Nährstoffgehalte Boden,
10 cm Tiefe)		pH, Bodenart
Falleninhalt	Barberfalle, Leerung nach	Schadinsekten
	48 h	

Auf den Flächen der Demoanlagen wurden ebenfalls einige der Messungen und Beprobungen durchgeführt, um die Effekte der Behandlungen bewerten zu können.

Die von Mitarbeitenden der Öko-BeratungsGesellschaft mbH genommenen Proben wurden gekühlt innerhalb von 24 h mit einem Kurierdienst verschickt. Die von Mitarbeitenden der Universität Rostock genommenen Proben konnten teils direkt aufbereitet werden, teils (Nematodenproben) wurden sie ebenfalls an das zuständige Labor verschickt.

Auf einigen Flächen in Norddeutschland wurden zusätzliche Pflanzenproben für Fraktionierungen gesammelt, die zur Untersuchung des Blatt-Stängel-Verhältnisses und Unterschieden in den Nährstoffgehalten von Blatt und Stängel dienen sollten (ca. 600 g oberirdische Pflanzenmasse (FM), in ca. 8 cm Höhe mit Rasenkantenschere geschnitten).

#### 3.2 Phytomedizinische Parameter

# 3.2.1 Erfassung von Pilzkrankheiten

Zur Erfassung von pilzlichen Pathogenen wurden 10 x 10 x 10 cm große Pflanzenwürfel von wüchsigen und wuchsschwachen Pflanzen gesammelt und im Labor untersucht. Dazu wurden Bestandteile der Rotklee- und Luzernepflanzen, die Symptome von Pilzerkrankungen zeigten, entnommen und mit Wasser gereinigt. Im Anschluss wurden die Blätter, kleine Abschnitte von Stängel oder Wurzel unter der Sterilbank oberflächensterilisiert. Dazu wurden sie jeweils für

1 min in 1 % NaClOH und Alkohol gelegt und danach in sterilem Wasser gewaschen. Nachdem das Pflanzenmaterial auf sterilem Filterpapier getrocknet wurde, wurden kleine Schnitte zwischen gesundem und krankem Gewebe entnommen und in Petrischalen mit Nährmedium (PDA) platziert. Die Platten wurden für 4 bis 7 Tage bei 20 °C inkubiert und Subkulturen auf neues Nährmedium (PDA) übertragen. Diese Kulturen wurden ebenfalls bei 20 °C für 14 bis 28 Tage inkubiert. Zu den Pilzkulturen wurde anschließend steriles Wasser gegeben und das Pilzmyzel vorsichtig mit einem Skalpell vom Nährmedium gelöst. Die erhaltende Suspension wurde 3-mal mit sterilem Wasser gewaschen. Mit einer Schwingmühle wurde das pilzliche Myzel mechanisch aufgeschlossen.

Die pilzliche genomische DNA wurde mir dem E.Z.N.A Fungal DNA Mini Kit nach Herstellerangaben isoliert. Die Amplifikation des ITS Genombereichs wurde mit dem AccuStar Mastermix und dem Primerpaar ITS1F und ITS4 (White et al. 1990, Gardes & Bruns 1993) durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden mit dem Ron's Pure Mini Kit aufgereinigt. Im Anschluss wurde die DNA-Konzentration mit dem NanoDrop Spektrometer erfasst. Zur Sequenzierung wurden die DNA-Proben an Eurofins Genomic übergeben. Im Anschluss erfolgte die Pilzbestimmung über die ITS-Sequenzen mit einem Genbankenabgleich per BLAST (Altschul et al. 1990).

#### 3.2.2 Nematoden

Zur Bestimmung eines Nematodenbefalls wurden Bodenproben aus dem Wurzelraum der Pflanzen genommen. Mit einem Bodenprobennehmer wurden insgesamt 500 ml Boden aus bis zu 20 cm Tiefe von mehreren Pflanzen gesammelt. Die Nematoden wurden durch den Pflanzenschutzdienst der Landwirtschaftskammer NRW, Köln-Auweiler auf Gattungs- bzw. Artniveau bestimmt. Die Befallsstärke wurde durch die Anzahl pro 100 ml Boden erfasst.

#### 3.2.3 Schadinsekten

Im Feld wurden an Stellen mit sichtbarem Insektenfraß Barberfallen aufgestellt. Diese wurden nach ca. 48 Stunden wieder eingesammelt. Die Insekten wurden in Bechern mit Ethanol aufbewahrt und zur Bestimmung auf Gattungs- bzw. Artniveau an Schmitt Faunistische Studien (Sanitz) übergeben.

### 3.2.4 Rhizosphärenmikrobiom

Für die Untersuchungen des Rhizosphärenmikrobioms wurden dieselben Pflanzenwürfel wie zur Bestimmung der Pilzkrankheiten genutzt. Die Wurzeln wurden grob vom Boden befreit. Im Anschluss wurde der sich direkt an den Wurzeln befindende Boden mit einem Pinsel abgebürstet und gesiebt. In einem Glas wurde der Boden von jeweils fünf wüchsigen oder wuchsschwachen Pflanzen gesammelt und vermischt. Die Bodenproben wurden in Eppendorf

Tubes bei -20 °C eingefroren. Die DNA aus den Bodenproben wurde mit dem Qiagen DNeasy Power Soil Kit nach den Angaben des Herstellers isoliert und ebenfalls eingefroren. Die Proben wurden für die Jahre 2021 und 2022 gesammelt und aufgrund der zeitintensiven Auswertung bereits Ende 2022 zur Sequenzierung und der ersten biostatistischen Aufbereitung der Daten an Omics2view (Kiel) übergeben.

Für die weitere statistische Auswertung wurden mit dem Programm FUNGuild in RStudio die Sequenzierungsdaten funktionell kategorisiert. Alle Pilze, denen eine Gattung oder Art zugeordnet werden konnte, wurden in die drei Gruppen "pathotroph", "saprotroph" oder "symbiotroph" eingeteilt. Für die statistischen Analysen wurde das Vegan-Paket (Oksanen et al. 2022) in RStudio verwendet. Um zu prüfen, ob es Unterschiede im Mikrobiom der Rhizosphäre zwischen wuchsschwachen und wüchsigen Pflanzen sowie zwischen erkrankten Pflanzen (mit den am häufigsten isolierten Pathogenen Aschochyta medicaginicola, Didymella pinodella und Leptosphaerulina trifolii) gibt, wurde eine multivariate Permutationanalyse (PERMANOVA) mit der Funktion "adonis2" durchgeführt. "Pairwise.adonis2" wurde verwendet, um zu testen, zwischen welchen Pathogenen Unterschiede in der mikrobiellen Zusammensetzung bestehen. Eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) wurde durchgeführt, um den Einfluss der drei wichtigsten Pathogene auf das Mikrobiom der Rhizosphäre zu vergleichen.

### 3.3 Biotische Bodenparameter

#### 3.3.1 Mykorrhizierung

Für die Untersuchung der Mykorrhizierungsrate der Feinwurzeln wurden die Wurzeln unter fließendem Wasser gereinigt, dann in die Knöllchenbonitur genommen (vgl. Pkt. 3.3.2) und im Anschluss die Feinwurzeln in 1 cm Stücke zerlegt, gebleicht mit 10% KOH und gefärbt mit Chlorazol Black E. Die gefärbten Wurzelpräparate wurden mikroskopisch ausgewertet auf ihre prozentual mykorrhizierte Feinwurzellänge (McGonigle et al. 1990).

#### 3.3.2 Knöllchenformung mit Rhizobien

Für die Erfassung der Knöllchenbildung durch Rhizobien wurden die gewaschenen Wurzelsysteme unter einem Stereomikroskop unter Verwendung eines Handstückzählers (Roth) quantifiziert. Gleichzeitig wurde auf Besonderheiten in der Vitalität, Verteilung und Größe der Knöllchen geachtet.

# 3.3.3 Organische Chemie des Bodens bzw. der Wurzeln/Rhizosphäre

Für die massenspektrometrische Analyse (Py-FIMS bzw. GC/MS) wurden Boden- und Wurzelproben getrocknet (40°C) und anschließend gemahlen und direkt analysiert (Py-FIMS) bzw. nach Extraktion analysiert (GC/MS vgl. Methode Marangi et al. 2024).

# 3.4 Abiotische Bodenparameter und assoziierte Biomasseparameter; arbeitsgruppenübergreifende Auswertungen

Die für die Nährstoffanalysen bestimmten Bodenproben aus 0-10 cm Tiefe wurden luftgetrocknet, grob gemörsert und auf 2 mm gesiebt. Die für die Bestimmung der Nährstoffgehalte in der Biomasse vorgesehenen Pflanzenproben wurden bei 55 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet (Rotklee, Luzerne, in Einzelfällen Inkarnatklee und Schwedenklee). Diese zusätzliche Untersuchung von Biomasseproben erfolgte als Ergänzung zur Einschätzung der Nährstoffversorgung und möglicher Auswirkungen auf den Futterwert. Teilproben wurden zur Untersuchung einer Vielzahl von Nährelementen sowie weiterer Bodeneigenschaften an zertifizierte Labore (Verwendung gängiger VDLUFA-Methoden) versandt.

Die verwendeten Methoden sind folgende:

Bodenproben, Analyse durch AGROLAB:

P, K: Methodenbuch der VDLUFA Band I, A6.2.1.2 DL: 1997

Mg: Methodenbuch der VDLUFA Band I, A 6.2.4.2 : 1997

Mn, Cu, B, Zn, S: Methodenbuch der VDLUFA Band I, A 6.4.1: 2002

Fe: Methodenbuch der VDLUFA Band I, A 13.1.1: 2004

pH-Wert: Methodenbuch der VDLUFA Band I, A5.1.1: 2004

Bodenart: Fingerprobe

Pflanzenproben, Analyse durch das Zentrallabor des Landeskontrollverbandes Berlin-Brandenburg eV (LKVBB):

S, P, K, Mg, Cu, Fe, Zn, Mn, Ca: Methodenbuch der VDLUFA Band III, 10.8.1.2

B, Mo: Methodenbuch der VDLUFA Band III, 10.8.2

Calcium- und Molybdängehalte wurden nur in der Biomasse (Pflanzenproben) bestimmt, da Bodengehalte hier wenig aussagekräftig sind.

Zusätzlich erfolgte eine Bestimmung der Gesamtgehalte an Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel in Boden- und Pflanzenproben im CNS Elementaranalysator (vario PYRO cube

Elemental Analyzer / CNS Elementaranalysator) und für die Pflanzenproben eine Untersuchung der Futterwerte mittels Nahinfrarotspektroskopie (Bruker MPA FT-NIRS; Schätzung Rohfasergehalt, Rohproteingehalt, Parameter für die Kalkulation der Netto-Energie-Laktation (NEL); Kalibration für Frischgras, Heu fg2019.eqa der VDLUFA).

Zur Prüfung der Ergebnisse der Nahinfrarotspektroskopie hinsichtlich der Fasergehalte wurden für einzelne repräsentative Biomasseproben mit der Faserextraktionseinheit FIBRETHERM die Gehalte an Rohfaser, ADF und NDF bestimmt.

Die zusätzlichen Pflanzenproben für Fraktionierungen wurden ebenfalls bei 55 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Nach dem Trocknen wurden visuell die Anteile an Stängeln, Blättern und gegebenenfalls Blüten und Samenständen geschätzt. Anschließend wurden die Proben in die Bestandteile Stängel, Blätter, Blüten und Samenstände fraktioniert und die einzelnen Anteile gewogen, um die visuell geschätzten mit den tatsächlichen Anteilen vergleichen zu können. Mit den einzelnen Fraktionen wurde im Folgenden wie mit den anderen Pflanzenproben verfahren.

Die mit den Herbometern gemessenen komprimierten Wuchshöhen wurden mit entsprechenden Kalibrationen und zugehörigen Schätzgleichungen für die Schätzung des Biomasse-Ertrages verwendet.

Schätzgleichung für das Herbometre:

Ertrag (dt TM/ha) =  $(38.56 * (1 - \exp(-0.134 * (Messhöhe (cm) - 4.66)))) * 1.11$ 

Schätzgleichung für "großer Messteller":

Ertrag (dt TM/ha) = 2.08 \* Messhöhe (cm) - 10.26

Für die Auswertung der Eindringwiderstände wurden die Messwerte der oberen 10 cm verwendet, einerseits da für viele Standorte tiefere Messungen nicht möglich waren, andererseits um einen Zusammenhang mit den Feuchtemessungen zu gewährleisten, welche nur im Tiefenbereich von 0 bis 6 cm erfolgen konnten.

Luftaufnahmen verschiedener Spektralbereiche zur Untersuchung der Bestandesstruktur und Vitalität erfolgten über feldspektroskopische Messungen durch das Steinbeis-Transferzentrum Geoinformatik. Es wurden zwei Standorte überflogen, einer davon mit zwei verschiedenen Kameras für unterschiedliche Spektren und Auflösungen. Auf diesen Standorten wurden zusätzliche Biomassebeprobungen (für NIRS-Analysen) und Herbometermessungen als Ground-Truthing vorgenommen.

Die statistische Auswertung erfolgte in R (R Core Team 2024). Für Vergleiche zwischen wuchsschwachen und wüchsigen Patches wurde der Wilcoxon-Test für verbundene

Stichproben verwendet. Dieser ermöglicht die Auswertung basierend auf Paarvergleichen zwischen den zusammengehörigen wüchsigen und wuchsschwachen Patches eines Standortes. Entsprechende Boxplot-Darstellungen (Darstellung aller Standorte zusammen) können gelegentlich kaum einen Unterschied erkennen lassen, während der Test signifikante oder nahezu signifikante Ergebnisse liefert. Dies sollte bei Betrachtung der Boxplots berücksichtigt werden. Zur Auswertung der Fraktionierungsdaten wurde bei Normalverteilung eine ANOVA mit anschließendem t-Test mit Bonferroni-Korrektur für verbundene Stichproben durchgeführt, bei fehlender Normalverteilung ein Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem Dunn-Test mit Bonferroni-Korrektur. Für arbeitsgruppenübergreifende Analysen wurde ein Klassifikationsbaum (CART-Analyse, package "rpart" (Therneau & Atkinson 2022)) unter Einbeziehung der Krankheitsgruppen (Blattfleckenkrankheiten, Stängelbasiskrankheiten, Wurzelkrankheiten), der Knöllchenzahlen Mykorrhizierungsraten, und Nährstoffgehaltsklassen bzw. pH-Klassen als Prädiktorvariablen erstellt. Abhängige Variable war der Zustand (wuchsschwach/wüchsig). Bei einer CART-Analyse wird der Datensatz über binäre Verzweigungen in Gruppen aufgeteilt. Je Verzweigung wird diejenige Prädiktorvariable zur Gruppierung genutzt, die zur geringsten Heterogenität der abhängigen Variable innerhalb der neuen Gruppen führt und somit die Wahrscheinlichkeit einer korrekten Klassifikation erhöht. Zusätzlich für Abbildungen genutzte Packages umfassen "ggplot2" (Wickham 2016), "ggmap" (Kahle & Wickham 2013), "ggpubr" (Kassambara 2023), "webr" (Moon 2020), "rnaturalhires" (Michael & Massicotte 2024), "rnaturalearth" (South et al. 2024), "sf" (Pebesma & Bivand 2023; Pebesma 2018), "tmap" (Tennekes 2018) und "sfheaders" (Cooley 2024).

#### 3.5 Differenzialdiagnose

Von der Universität Rostock wurden insgesamt drei Versuche zur Differenzialdiagnose unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt. Bei den ersten beiden Versuchen wurde Rotklee, beim dritten Versuch Luzerne als Testpflanze verwendet. Für die Versuche wurden von drei Standorten ca. 16 Liter Boden gesammelt. Alle Standorte zeigten Anzeichen von Leguminosenmüdigkeit und wurden auch im Rahmen der Kampagne beprobt. Die gesammelten Böden wurden dunkel und bei 5 °C gelagert.

Es wurde eine Differenzialdiagnose der Stufe 1 (nach Fuchs et al. 2014) durchgeführt, um mögliche Zusammenhänge zwischen dem Rückgang des Rotklees bzw. der Luzerne und Nährstoffmangel, dem Vorhandensein von toxischen Verbindungen und/oder Bodenpathogenen zu untersuchen.

Die Bodenproben wurden auf 1 cm gesiebt und von Hand homogenisiert. Jede Bodenprobe wurde in vier Teilproben unterteilt:

- (i) unbehandelte Kontrolle
- (ii) wöchentlich mit einer 5 % verdünnten Knop'schen (g l-1: Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 1.0; MgSO<sub>4</sub>x7 H<sub>2</sub>O 0.25; KNO3 0.25; KCl 0.12; FeSO<sub>4</sub> Spur) bzw. Murashige & Scoog (1962) Nährlösung gedüngt
- (iii) gemischt mit Aktivkohle (10 g l<sup>-1</sup> Boden)
- (iv) sterilisiert bei 70 °C / 24 h und 12 h abkühlen lassen

Der Boden wurde in 1-Liter-Töpfe verteilt und je fünf Rotklee- bzw. Luzernesamen in jeden Topf gesät. Jede Variante bestand aus vier Wiederholungen, so dass insgesamt 16 Töpfe pro Standort zur Verfügung standen. Einer der Versuche wurde in einer Klimakammer mit einem Tag-Nacht-Zyklus von 16 Stunden Tag und 8 Stunden Nacht bei einer konstanten Temperatur von 18 °C durchgeführt, zwei weitere unter natürlichem Tag-Nacht-Rhythmus im Gewächshaus. Zusätzlich wurden Samen auf feuchtem Filterpapier in zwei Petrischalen ausgelegt und die Keimlinge nach zwei Wochen in Töpfe mit weniger als fünf Keimlingen pikiert. Das in den Töpfen wachsende Unkraut wurde bis zum Tag der Messung nicht entfernt. Nach 6 bis 8 Wochen wurden die Pflanzen aus den Töpfen genommen, die Wurzeln gewaschen und mit einem Papiertuch getrocknet. Das Frischgewicht der Triebe und Wurzeln sowie die Pflanzenhöhe wurden gemessen. Das Trockengewicht der Sprosse und Wurzeln wurde nach 72-stündiger Trocknung bei 60 °C bestimmt.

Die statistischen Analysen wurden mit RStudio durchgeführt. Ein lineares gemischtes Modell (Paket Ime4 (Bates et al. 2014)) wurde verwendet, um die Beziehung zwischen dem Pflanzenwachstum und den verschiedenen Bodenbehandlungen zu beurteilen. Das Paket DHARMa (Hartig 2017) wurde verwendet, um zu überprüfen, ob die Anforderungen des Modells erfüllt wurden. DHARMa verwendet den KS-Test für die Normalverteilung der Residuen und den Levene-Test für die Varianzhomogenität der Residuen. Ein Dunnett-Test für multiple Vergleiche wurde durchgeführt, um jede Behandlung mit der Kontrollgruppe zu vergleichen und mögliche signifikante Unterschiede zu ermitteln. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant betrachtet. Der Dunnett-Test wurde mit dem Paket emmeans (Lenth 2024) durchgeführt.

Jeweils ein Durchgang der Differenzialdiagnose mit Rotklee und Luzerne wurde von der Öko-BeratungsGesellschaft mbH unter nicht-kontrollierten, betriebsüblichen Bedingungen im Freien durchgeführt.

#### 3.6 Demoanlagen

Auf kleemüden Flächen, zu denen Erkenntnisse aus einer vorherigen Beprobung vorlagen, wurden ab dem zweiten Projektjahr insgesamt vier Demoanlagen angelegt, um erste mögliche

Behandlungsansätze zur Kontrolle der Kleemüdigkeit, zu überprüfen. In 2022 wurde je eine Demoanlage in Baden-Württemberg durch die Bioland Beratungsdienst GmbH und in Mecklenburg-Vorpommern durch die Universität Rostock angelegt. In 2023 wurde je eine Demoanlage in Nordrhein-Westfalen sowie Bayern durch die ÖBG angelegt. Geprüft wurden jeweils Kontrollmöglichkeiten, die für einen Einsatz im ökologischen Landbau geeignet sind (Tabelle 2). Die Demoanlagen wurden möglichst auf vorher untersuchten Flächen oder vergleichbaren Flächen der Betriebe angelegt. Die Anlage erfolgte meist ohne Wiederholung, außer in Nordrhein-Westfalen (Abbildung 4).

Tabelle 2: Standorte und Schwerpunkte der Demoanlagen.

Standort	Fokus &	Dauer	Durchführung
	Kontrollmöglichkeiten		
Baden-	Nährstoffe, v.a. P-Versorgung;	07/2022-	Bioland
Württemberg, 78199	Mehrnährstoffdünger mit	10/2023	Beratungsdienst
Bräunlingen	Zulassung für den Ökologischen		GmbH
	Landbau		
Mecklenburg-	Biotische Aktivität des Bodens,	09/2022-	Universität
Vorpommern,	Co-metabolischer Abbau von	09/2023	Rostock
17098 Friedland	autotoxischen Substanzen;		
	Pilzsubstrat-Kompost		
Nordrhein-	Nährstoffe, u.a. B-Versorgung;	04/2023-	ÖBG
Westfalen,	Mehrnährstoffdünger mit	05/2024	
33428 Harsewinkel	Zulassung für den Ökologischen		
	Landbau, organische Düngung		
Bayern,	Nährstoffe, u.a. S- & B-	05/2023-	ÖBG
97450 Arnstein	Versorgung;	10/2023	
	Mehrnährstoffdünger mit		
	Zulassung für den Ökologischen		
	Landbau		



Abbildung 4: Versuchsplan und Varianten der Demoanlage im Rotkleegras in Harsewinkel (Nordrhein-Westfalen).



Abbildung 5: Demoanlage im Luzerne-Kleegras in Arnstein (Bayern) zur Anlage im Mai 2023.

# 4 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

# 4.1 Flächenauswahl, Probensammlung und Erhebung auf den Praxisflächen

Insgesamt wurden bis zu 76 Probenpaare je Probenart auf 71 Patchpaaren in sechs Probenahmekampagnen von Herbst 2021 bis Frühjahr 2024 gesammelt. Wie erwartet meldeten sich hauptsächlich Betriebe, die ökologisch wirtschaften, da in diesen Betrieben Fruchtfolgen mit höheren Leguminosenanteilen vorliegen und der Krankheitsdruck dementsprechend höher ist. Möglicherweise ist auch die Nährstoffsituation in den Böden für den Futterleguminosenbau abhängig vom Bewirtschaftungstyp und beeinflusst damit die Anfälligkeit für Schadereignisse indirekt. Darüber hinaus scheint die Sensibilität für das Thema Leguminosenmüdigkeit auf Öko-Betrieben höher.

58 Patchpaare stammten von ökologisch bewirtschafteten Flächen, 1 Patchpaar von einer ökologisch bewirtschafteten Versuchsfläche. 9 Patchpaare stammten von konventionell bewirtschafteten Praxisflächen sowie 3 Patchpaare von konventionell bewirtschafteten Versuchsflächen.

Von den 76 Probenpaaren stammen 42 von Schlägen mit Luzerne und 32 von Rotklee. Hinzu kam ein Schlag mit Inkarnatklee und einer mit Schwedenklee. Darunter waren sowohl Reinals auch Mischbestände mit Gräsern und mehreren Leguminosenarten.

Einige Standorte wurden mehrfach beprobt um die zeitliche Entwicklung bzw. den Zustand zu verschiedenen Zeitpunkten (Frühjahr/Herbst) oder bei jahresübergreifend unterschiedlichen Witterungsbedingungen beurteilen zu können. In Mischungen mit beiden Arten wurden die Ganzpflanzen und die oberirdische Biomasse je Art (Rotklee und Luzerne) gesammelt (doppelte Probenzahl). Wiederum konnten an manchen Standorten einige Probenarten nicht gesammelt werden, da z.B. zu wenig Pflanzenmaterial vorhanden war. An zwei Standorten fand sich weder Rotklee noch Luzerne, sondern Inkarnatklee bzw. Schwedenklee. Diese wurden dennoch beprobt, da es sich um für das Projekt interessante Fälle handelte (z.B. beim Inkarnatklee Verdacht auf Kleekrebs). Dasselbe gilt für einige wenige Patchpaare, die Versuchsflächen beinhalten z.B. den Standort Poel mit Versuchsflächen der Norddeutschen Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG.

An einzelnen Standorten wurden auch Probenahmen und Messungen auf zusätzlichen wuchsschwachen Teilflächen durchgeführt, für die es keine zugehörige wüchsige Fläche gab, um dennoch Hinweise auf Ursachen für diese Einzelflächen aufzuspüren. **Fehler! V erweisquelle konnte nicht gefunden werden.** zeigt alle Probenahmestandorte und die entsprechende jahreszeitliche Zuordnung der Beprobung (Frühjahr/Herbst). Tabelle A1 (Anhang) gibt eine Übersicht über die Standorte, die beprobten Arten und die Art der Bewirtschaftung.

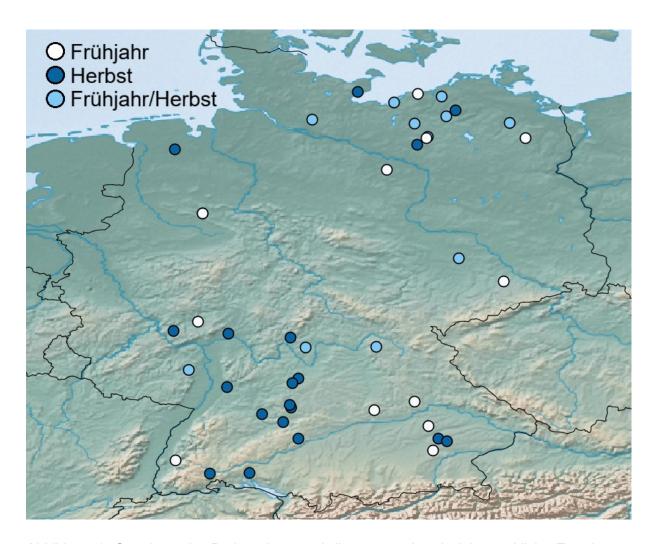


Abbildung 6: Standorte der Probenahme und die entsprechende jahreszeitliche Zuordnung. Die Probenahmen im Juli wurde zur Förderung der Übersichtlichkeit dem Frühjahr zugeordnet, die Probenahme im Dezember dem Herbst. Karte: Natural Earth (2021a, b).

#### 4.2 Phytomedizinische Parameter

#### 4.2.1 Pilzkrankheiten

An allen Standorten wurden pathogene Pilze nachgewiesen. Die Erreger der Fuß- und Brennfleckenkrankheit (*Ascochyta medicaginicola* und *Didymella pinodella*) konnten am häufigsten nachgewiesen werden (Abbildung 7), diese Erreger verursachen Brennflecken (nekrotische Flecken) an den Blättern sowie Fuß- und Wurzelfäule (Abbildung 8 und Abbildung 9). Während *A. medicaginicola* besonders an Standorten mit Luzerne auftrat, trat *D. pinodella* vermehrt an Standorten mit Rotklee auf. Beide Erreger konnten in beiden Jahreszeiten nachgewiesen werden, bedeutend ist das gehäufte Auftreten der Erreger im Frühjahr (mit zum

Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

Teil hohen Befallsstärken). Insgesamt sind die Befallsstärken jedoch überwiegend im mittleren Bereich einzuordnen.

Zudem traten viele Blattkrankheiten verursachende Erreger auf, die sich durch Flecken (meist nekrotisches Gewebe) an den Blättern zeigen und die Futterqualität stark beeinträchtigen. Am häufigsten konnte der Erreger Leptosphaerulina trifolii nachgewiesen werden. Dieser Pilz verursacht Blattbrand und wurde häufiger an Luzerne, seltener an Rotklee nachgewiesen. Daneben wurden unter den Blattkrankheiten verursachenden Erregern auch besonders die Erreger Stemphylium vesicarium und Alternaria infectoria nachgewiesen, beide Pathogene schienen jedoch eher als Sekundärinfektionen aufzutreten. Oft wurden beide Pathogene zusammen mit den Erregern der Fuß- und Brennfleckenkrankheit oder auch Wurzelfäule (Fusarium spp.) nachgewiesen. Die Befallsstärken waren meist gering (5-20 %) und Symptome oft nur an älteren Blättern sichtbar. L. trifolii (Blattbrand, Abbildung 10) dagegen wurde mit zum Teil hohen Befallsstärken nachgewiesen. Dieser Erreger kann die Futterqualität stark vermindern, befallene Pflanzen können hohe Mengen an östrogenwirksamen Substanzen enthalten und damit bei Verfütterung starke Auswirkungen auf die Gesundheit der Tiere haben. An sieben Standorten (davon zwei im Herbst 2023) trat der Anthraknose verursachende Erreger Colletotrichum destructivum auf. Die Symptomstärken waren jedoch an allen Standorten gering. Vergleichsweise selten wurde Kleekrebs (Sclerotinia trifoliorum) gefunden. Es gab zwei Standorte mit Nachweisen von Kleekrebs, die Befallsstärken lagen bei 30 % und 80 %. Der Erreger wurde von Inkarnatklee und Luzerne isoliert. Vereinzelt wurden verschiedene saprophytische Schimmelpilze von den Klee- und Luzernepflanzen isoliert.

Die Befallsstärken waren insgesamt sehr unterschiedlich und lagen zwischen 5–95 %, an den meisten Standorten im mittleren Bereich, wobei die Befallsstärken im Herbst etwas höher einzuordnen waren. Die Krankheitserreger wurden in der Regel sowohl im wuchsschwachen als auch wüchsigen Bereich nachgewiesen, wobei die Krankheitssymptome in der Regel in den wuchsschwachen Arealen stärker ausgeprägt waren.

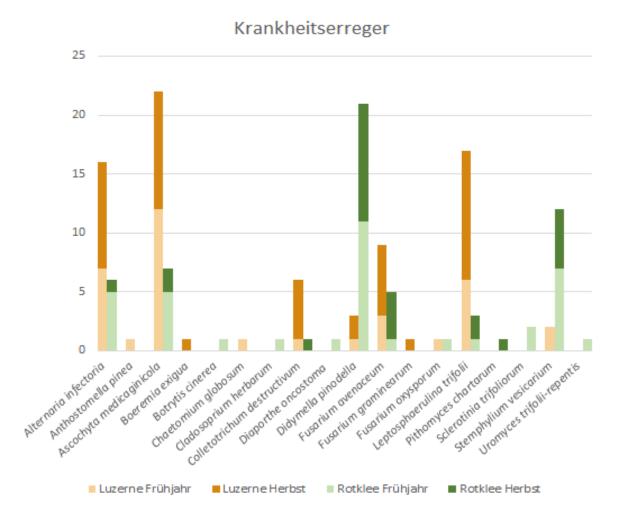


Abbildung 7: Anzahl der isolierten pilzlichen Krankheitserreger, unterteilt nach Jahreszeit und Wirtspflanze.



Abbildung 8: Fuß- und Brennfleckenkrankheit (Didymella pinodella) an Rotklee.



Abbildung 9: Fuß- und Brennfleckenkrankheit (*Ascochyta medicaginicola* syn. *Phoma medicaginis*) an Luzerne.



Abbildung 10: Blattbrand (Leptosphaerulina trifolii) an Luzerne.

#### 4.2.2 Nematoden

An allen Standorten kamen pflanzenschädigende Nematoden vor, jedoch überschritten die Populationsdichten nur an vereinzelten Standorten die in der Literatur (Eder & Kiewnick 2019, Kempkens et al. 2004) angegebenen Schadschwellenwerte. Die Überschreitungen kamen sowohl auf den wuchsschwachen als auch auf den wüchsigen Flächen vor. Die Wurzelläsionsnematode *Pratylenchus* spp. wurde am häufigsten gefunden, die Gattung war an allen beprobten Standorten nachweisbar. Dabei waren die Populationsdichten in den Bodenproben jedoch oft unauffällig. An 22 Standorten wurde die Grenze von 100 Individuen pro 100 ml Boden überschritten. Die Wurzelgallnematoden *Meloidogyne* spp. konnten an 24 Standorten nachgewiesen werden, dabei gab es eine Überschreitung der Grenze von 100 Individuen pro 100 ml Boden bei 11 Standorten. Ein Standort zeigte sich besonders auffällig

mit einer Populationsdichte von über 1600 Individuen pro 100 ml Boden. Das Stängelälchen (*Ditylenchus dipsaci*) wurde an insgesamt 4 Standorten nachgewiesen. Dabei zeigten sich an einem der Standorte deutliche Symptome in Form von abgestorbenen Pflanzen. An den anderen Standorten waren keine deutlichen Hinweise auf *D. dipsaci* sichtbar. Zum Teil wurden Larven der Zystennematode *Heterodera* spp. gefunden, diese lagen bei 8 Standorten zwischen 100 bis 500 Individuen pro 100 ml Boden.

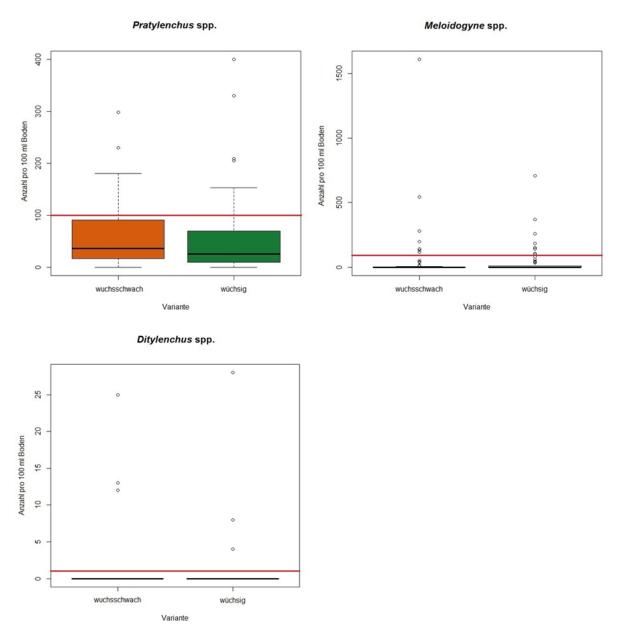


Abbildung 11: Anzahl von Nematoden pro 100 ml Boden, verrechnet für alles beprobten Standorte von 2021 bis 2024. In Rot eingezeichnet ist die Schadschwellengrenze nach Eder & Kiewnick (2019).

#### 4.2.3 Schadinsekten

Leichte Fraßschäden durch Insekten konnten an einigen Standorten bonitiert werden. Von 2021 bis 2023 gab es an 23 Standorten Nachweise von relevanten Schadinsekten durch Fänge in Barberfallen. Folgende Schadinsekten konnten mit den Barberfallen eingefangen werden: Rotklee-Blattrandrüssler (*Sitona obsoletus*, Gmelin, 1790), Luzerne-Blattrandrüssler (*Sitona humeralis* Steph., 1831), Borstiger Blattrandrüssler (*Sitona hispidulus*, Fabricius, 1777), Spitzmausrüssler (*Apioninae*). Es konnte jedoch an keinem Standort eine bedeutende Schadwirkung durch Insekten festgestellt werden.

#### 4.2.4 Rhizosphärenmikrobiom

Untersuchungen der Bodenproben aus dem Rhizosphärebereich zeigten eine sehr ähnliche Zusammensetzung von Mikroorganismen zwischen wüchsigen und wuchsschwachen Pflanzen (Abbildung 12).

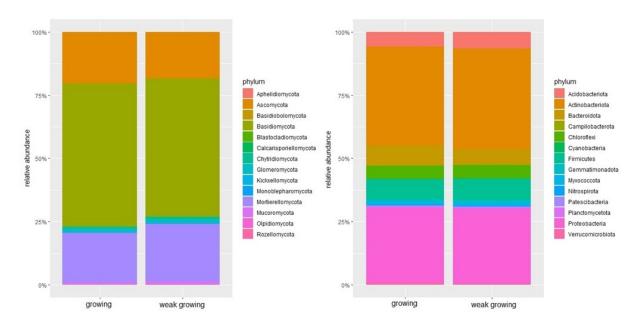


Abbildung 12: Überblick des gesamten pilzlichen und bakteriellen Rhizosphärenmikrobioms, jeweils im Vergleich zwischen wüchsig und wuchsschwach.

Zur weiteren Auswertung wurden die Mikrobiomdaten in ökologische Gilden (pathotroph, saprotroph und symbiotroph) eingeteilt. Auch hier zeigten sich sowohl in Bezug auf die Wüchsigkeit (Abbildung 13) als auch die untersuchte Pflanzenart keine signifikanten Unterschiede. Jedoch zeigten sich im Pathomikrobiom signifikante Unterschiede in Bezug auf die Krankheiten, die zuvor von den Pflanzen isoliert wurden (Abbildung 14). Insbesondere zwischen dem Rhizosphärenmikrobiom von infizierten Pflanzen mit den drei am häufigsten isolierten Erregern (A. medicaginicola, D. pinodella und L. tifolii) zeigten sich signifikante Unterschiede (p < 0,05) in der Zusammensetzung des Mikrobioms. An Standorten mit D. pinodella gab es einen deutlich höheren Anteil an Didymella sp. im Mikrobiom als an

Standorten mit den beiden anderen Erregern. An Standorten mit *L. trifolii* kam vermehrt *Fusarium* sp. vor. Standorte mit *A. medicaginicola* wiesen wenig *Ascochyta* sp. auf, dafür im Vergleich am meisten *Verticillium* sp.

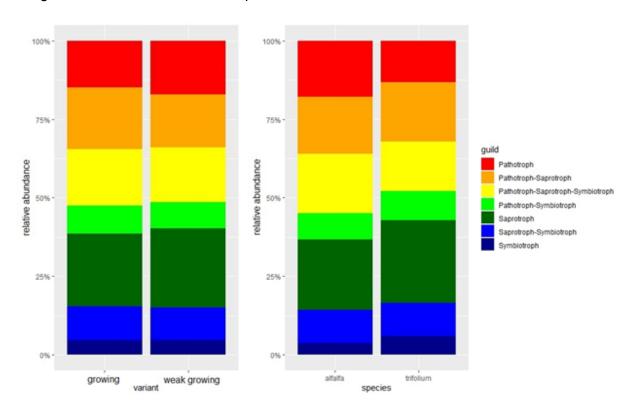


Abbildung 13: Einteilung des pilzlichen Rhizosphärenmikrobioms in die ökologischen Gilden, mit Darstellung der Unterschiede zwischen 1) wüchsig und wuchsschwach, 2) Luzerne und Rotklee.

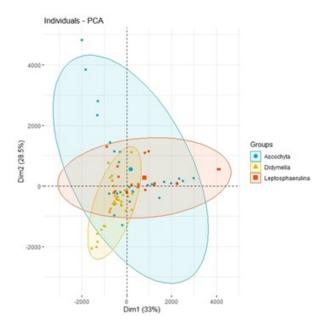


Abbildung 14: Darstellung der Hauptkomponentenanalyse (PCA) des Pathomikrobioms in Bezug auf das Vorkommen der drei häufigsten Pathogene.

#### 4.3 Biotische Bodenparameter

#### 4.3.1 Mykorrhizierung

Die Mykorrhizierungsrate der Feinwurzeln der wuchsschwachen Pflanzen war signifikant reduziert gegenüber den wüchsigen Pflanzen (p < 0,05) (Abbildung 15). Jedoch gab es einzelne Standorte, auf denen die gegenläufige Tendenz (Mykorrhizierungsrate der wuchsschwachen Pflanzen signifikant höher als der wüchsigen Pflanzen) war.

# 

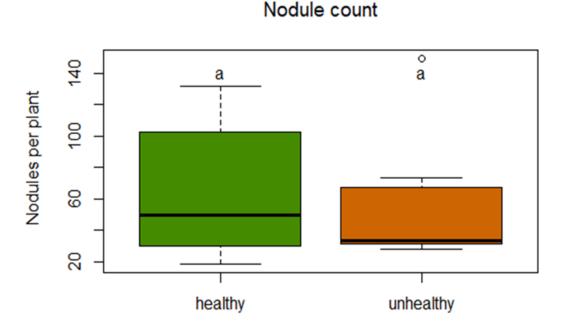
Abbildung 15: Mykorrhizierungsrate der Feinwurzeln (%) mit Darstellung der Unterschiede zwischen 1) wüchsig (healthy) und 2) wuchsschwach (unhealthy).

unhealthy

#### 4.3.2 Knöllchenformung durch Rhizobien

healthy

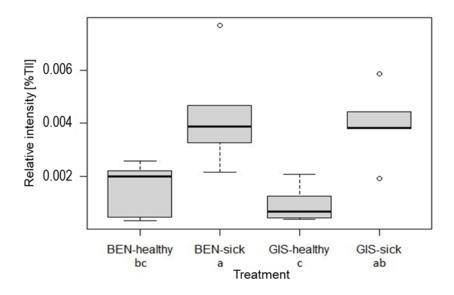
Die Knöllchenbildung an den Feinwurzeln der wuchsschwachen Pflanzen war nicht signifikant unterschiedlich von der Knöllchenbildung der wüchsigen Pflanzen (p > 0,05) (Abbildung 16). Jedoch gab es auch hier einzelne Standorte, die diesem Trend nicht entsprachen und teils eine höhere, teils eine geringere Knöllchenformung aufwiesen.



## Abbildung 16: Knöllchenformung der Feinwurzeln (n per Pflanze) mit Darstellung der Unterschiede zwischen 1) wüchsig (healthy) und 2) wuchsschwach (unhealthy).

## 4.3.3 Organische Chemie des Bodens und der Wurzeln

Die ausgewählten Standorte für die Untersuchung der organischen Chemie des Bodens bzw. der Wurzeln mit dem Fokus auf potenziell toxische Substanzen führten zu einer Indikation von selektiver signifikanter Anreicherung von Suberin und einem Lipid (m/z 858, 508) in den Feinwurzeln der wuchsschwachen Pflanzen (Abbildung 17).



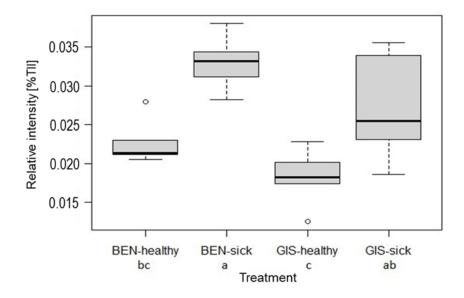


Abbildung 17: Relative Abundanz von m/z 858 (A) und m/z 508 (B) mittels Py-FIMS (pyrolysisfield ionization spectrometry) von Feinwurzeln von *Trifolium pratense* L. der Standorte Bentfeld (BEN) and Gischow (GIS) mit Darstellung der Unterschiede zwischen 1) wüchsigen (healthy) und 2) wuchsschwachen (unhealthy) Pflanzen.

#### 4.4 Abiotische Bodenparameter und assoziierte Biomasseparameter

#### 4.4.1 Eindringwiderstand und Bodenfeuchte

Es fanden sich über alle Standorte keine signifikant unterschiedlichen Eindringwiderstände zwischen wüchsigen und wuchsschwachen Patches. Jedoch gab es einzelne Standorte, bei

denen es Hinweise auf Bodenverdichtungen im wuchsschwachen Patch gab. Zudem zeigte sich auf den wuchsschwachen Patches ein größerer Wertebereich (Abbildung 18).

Hinsichtlich der Bodenfeuchte gab es signifikante Unterschiede zwischen den wüchsigen und wuchsschwachen Patches mit geringeren Bodenfeuchten in den wuchsschwachen Patches. Auch im Jahresverlauf finden sich Unterschiede in der Bodenfeuchte mit den geringsten Werten im Juli (Abbildung 19). Während die Bodenfeuchte im Schnitt meist auf den wuchsschwachen Patches geringer war, war dies gerade für die Sommermonate Juni und Juli nicht eindeutig der Fall.

Zusätzlich zu den Unterschieden in der Bodenfeuchte zwischen wüchsigen und wuchsschwachen Patches, gab es auch Unterschiede zwischen den einzelnen Patchpaaren (Standort-Jahr-Jahreszeit-Kombinationen), die durch Bodenparameter und die Witterung bedingt waren.

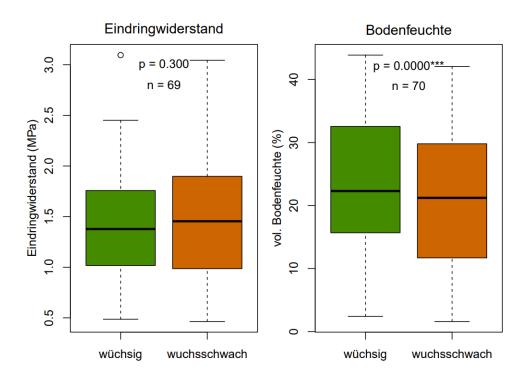


Abbildung 18: Vergleich von Eindringwiderstand und Bodenfeuchte zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben).

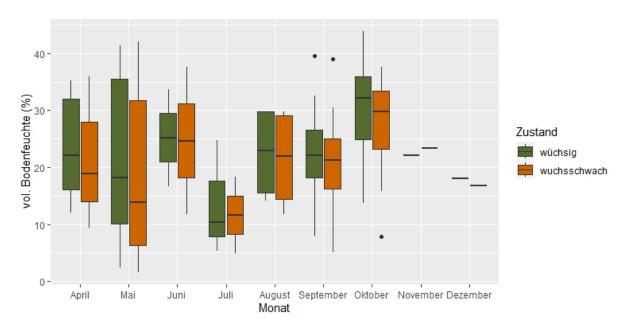


Abbildung 19: Darstellung der gemessenen Bodenfeuchten im Jahresverlauf. Die Monate enthalten jeweils unterschiedliche Patchpaare, im November und Dezember wurde nur je ein Patchpaar gemessen.

#### 4.4.2 pH-Wert des Bodens

Bei Auswertung der Daten aller Standorte zusammen fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den pH-Werten der wuchsschwachen und den wüchsigen Patches. Die wuchsschwachen Patches wiesen jedoch eine größere Ausdehnung des Wertebereichs hin zu sehr geringen pH-Werten auf (Abbildung 20, links). Für Standorte mit Luzerneanbau und mit mindestens einem Patch mit einem pH-Wert unter 6 ergab sich eine starke Tendenz zu geringeren pH-Werten auf den wuchsschwachen Patches (Abbildung 20, rechts). Für Rotklee ergab sich keine solche Tendenz, jedoch fanden sich dennoch einige Fälle mit sehr geringen pH-Werten im wuchsschwachen Bereich.

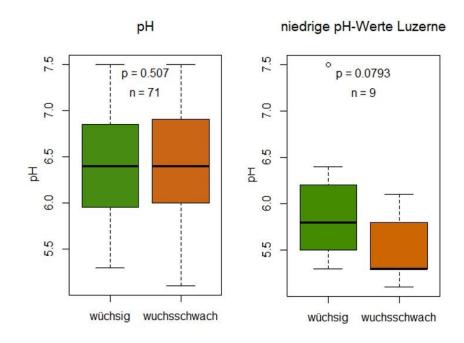


Abbildung 20: Vergleich der pH-Werte des Bodens zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben). Links: alle Standorte; rechts: Luzerne-Standorte bei denen mindestens einer der Patches einen pH-Wert unter 6 aufwies.

#### 4.4.3 Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel

Auch wenn dies anhand der Boxplots (Abbildung 21) nicht auf den ersten Blick offensichtlich ist, so gab es doch Tendenzen zu geringeren Gesamt-Bodengehalten an Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel in den wuchsschwachen Patches.

Für CAT-Schwefel zeigten sich signifikant geringere Werte auf den wuchsschwachen Patches. Die Biomassegehalte an Stickstoff waren in den wuchsschwachen Patches signifikant geringer als in den wüchsigen (C/N-Verhältnisse sind entsprechend auf den wüchsigen Flächen geringer).

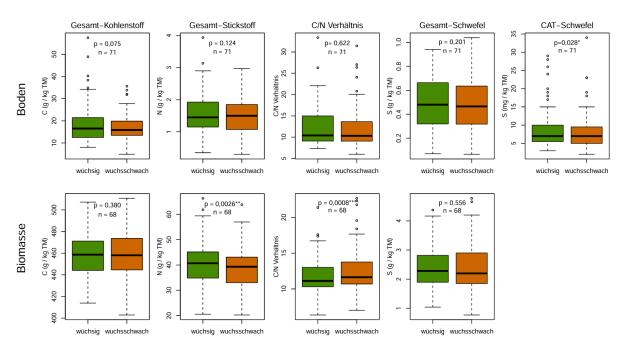


Abbildung 21: Vergleich von Gesamt-Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefel-Gehalten, des Verhältnisses von Gesamt-Kohlenstoff zu Gesamt-Stickstoff und CAT-Schwefelgehalten zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben).

## 4.4.4 Übersicht Nährstoffgehaltsklassen

Abbildung 22 zeigt die Verteilung der Nährstoffgehaltsklassen der Patches nach Kape et al. (2019). Während ein recht großer Anteil der Patches unterhalb des Zielbereichs (C) für Phosphor liegt, ist dies für Kalium und Magnesium selten der Fall. Bor- und Kupfergehalte der Böden liegen ebenfalls häufig unter dem Zielbereich. Mangan- und Zink-Mangel sind seltener; hier ist eher die häufige Überversorgung zu beachten. Auffällig ist auch, dass auch Patches konventionell wirtschaftender Betriebe recht häufig unter dem Zielbereich liegen.

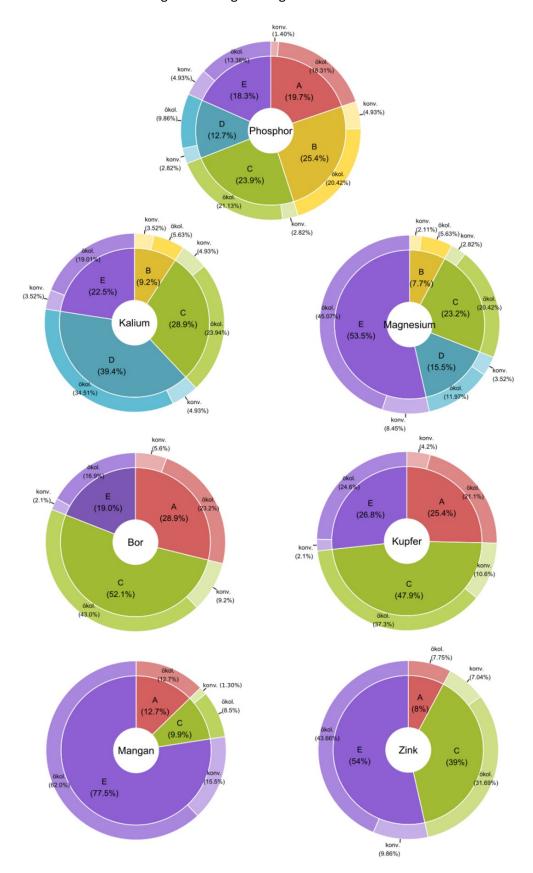


Abbildung 22: Verteilung der Nährstoffgehaltsklassen nach Kape et al. (2019) mit Aufschlüsselung nach Bewirtschaftungsform.

A = sehr niedrig, B = niedrig, C = anzustreben, optimal, D = hoch, E = sehr hoch

#### 4.4.5 Phosphor, Kalium und Magnesium

Die Bodengehalte an Phosphor, Kalium und Magnesium zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen wüchsigen und wuchsschwachen Patches. Für Magnesium bestand jedoch eine gewisse Tendenz zu geringeren Gehalten auf dem wuchsschwachen Patch, obwohl ein großer Teil der Standorte keinerlei Anzeichen auf einen Mangel zeigte (Werte häufig in Versorgungsklasse E; Abbildung 23). Auswertungen, bei denen nur solche Standorte mit Verdacht auf einen Mangel berücksichtigt wurden (mindestens einer der Patches in Versorgungsklasse A oder B), zeigten keine auffälligen Unterschiede zwischen wüchsigem und wuchsschwachem Patch.

In der Biomasse fanden sich signifikant geringere Kaliumgehalte in den wuchsschwachen Patches.

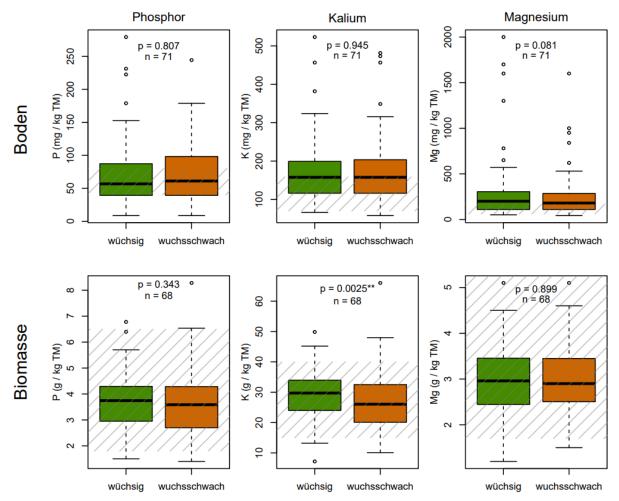


Abbildung 23: Vergleich von Phosphor-, Kalium- und Magnesium-Gehalten zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben). Schraffierte Bereiche entsprechen Ziel-/Normbereichen nach Kape et al. (2019). Diese Bereiche decken alle in der Datenbank vorhandenen Bodenarten und pH-Werte bzw. Arten und Wachstumsstadien ab. Entsprechend können Werte im schraffierten Bereich liegen, die dennoch für die spezifische Situation einem Mangel entsprechen.

#### 4.4.6 Bor, Kupfer, Eisen, Mangan und Zink

Für die Nährstoffe Bor, Kupfer, Eisen, Mangan und Zink gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den wüchsigen und wuchsschwachen Flächen, wenn alle Standorte berücksichtigt wurden. Es gab jedoch eine starke Tendenz zu höheren Mangangehalten in den wuchsschwachen Pflanzen (Abbildung 24).

Zusätzliche Analysen, bei denen nur Standorte berücksichtigt wurden, bei denen der Verdacht auf einen Mangel bestand (mindestens einer der Patches in Versorgungsklasse A oder B), zeigten für Standorte mit Verdacht auf Bor- und Kupfer-Mangel Tendenzen zu geringeren Bodengehalten auf den wuchsschwachen Patches (Abbildung 25).

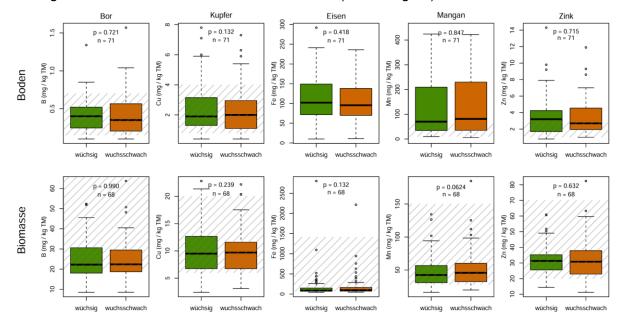


Abbildung 24: Vergleich von Bor-, Kupfer-, Eisen-, Mangan-, und Zink-Gehalten zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben). Schraffierte Bereiche entsprechen Ziel-/Normbereichen nach Kape et al. (2019) bzw. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (2021). Diese Bereiche decken alle in der Datenbank vorhandenen Bodenarten und pH-Werte bzw. Arten und Wachstumsstadien ab. Entsprechend können Werte im schraffierten Bereich liegen, die dennoch für die spezifische Situation einem Mangel entsprechen.

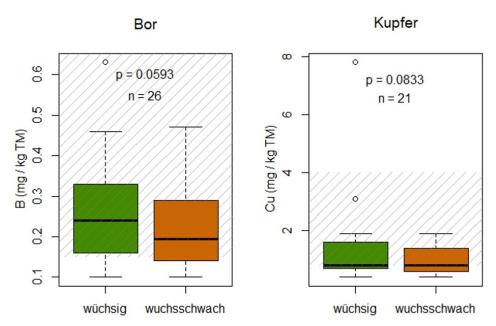


Abbildung 25: Vergleich der Bor- und Kupfergehalte des Bodens zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches mit Verdacht auf Mangel (mindestens einer der Patches in Gehaltsklasse A; Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben). Schraffierte Bereiche entsprechen Ziel-/Normbereichen nach Kape et al. (2019). Diese Bereiche decken alle in der Datenbank vorhandenen Bodenarten und pH-Werte ab. Entsprechend können Werte im schraffierten Bereich liegen, die dennoch für die spezifische Situation einem Mangel entsprechen.

#### 4.4.7 Calcium und Molybdän

Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den wüchsigen und den wuchsschwachen Patches (Abbildung 26).

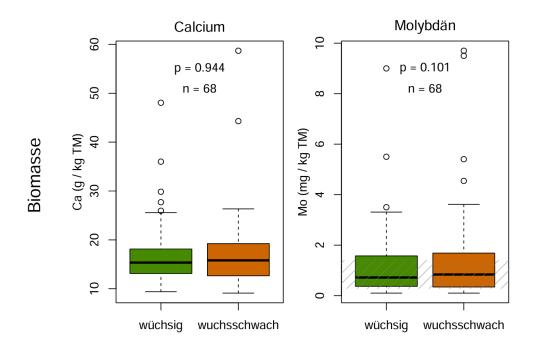


Abbildung 26: Vergleich von Calcium- und Molybdän-Gehalten der Biomasse zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben). Der schraffierte Bereich für Molybdän entspricht dem Normbereichen nach Kape et al. (2019). Dieser Bereiche deckt alle in der Datenbank vorhandenen Arten und Wachstumsstadien ab. Entsprechend können Werte im schraffierten Bereich liegen, die dennoch für die spezifische Situation einem Mangel entsprechen.

#### 4.4.8 Nährstoffstöchiometrie

Es fanden sich signifikant höhere C/N-Verhältnisse in den wuchsschwachen Pflanzen (Abbildung 27). Derselbe Test wurde für N/S- und C/S- Verhältnisse durchgeführt, jedoch ohne signifikante Unterschiede zu finden.

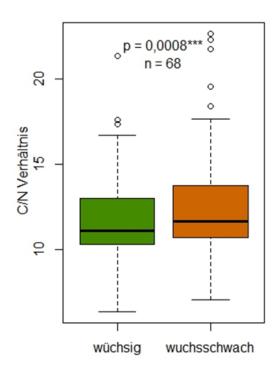


Abbildung 27: Vergleich der C/N Verhältnisse in der Biomasse zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben).

Es fanden sich einige Einzelstandorte, an denen Eisen- oder Manganmangelsymptome auftraten, obwohl die Verfügbarkeit beider Nährstoffe hoch war (teils auch besonders hoch durch geringe pH-Werte). Hier liegt der Verdacht eines Antagonismus bei der Aufnahme dieser Nährstoffe nahe (Abbildung 28).

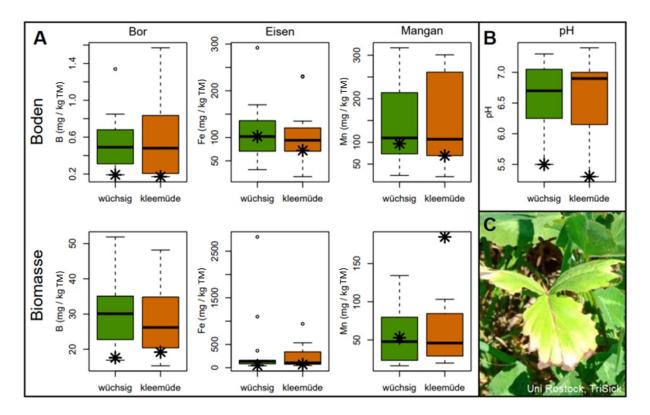


Abbildung 28: Beispiel eines Standortes mit Problemen hinsichtlich der Nährstoffstöchiometrie (Verhältnis Eisen/Mangan-Gehalte bzw. -Aufnahme). Die in den Boxplots dargestellten Daten beschränken sich auf die Daten einer Probenahmekampagne als Vergleichswerte. Die Sterne zeigen die Werte des spezifischen Standortes. Trotz ausreichend hoher Boden-Gehalte an Eisen und Mangan (A) und vermutlich hoher Verfügbarkeit, bedingt durch die geringen pH-Werte (B), sind die Biomassegehalte an Eisen gering und vorgefundene Chlorosen an Rotklee (C) könnten auf einen Eisenmangel hindeuten. Ursache ist vermutlich eine Hemmung der Eisenaufnahme durch die hohe Manganaufnahme. Ein Bormangel kommt ebenfalls als Erklärung der Chlorosen in Frage.

Während es keinen Zusammenhang zwischen Gesamt-Schwefel im Boden und Schwefel in der Biomasse gab, fand sich eine signifikante, wenn auch schwache, Korrelation zwischen pflanzenverfügbarem Schwefel (CAT) und Schwefel in der Biomasse (Abbildung 29). Ähnliche Verhältnisse (signifikante, aber schwache Korrelationen) ergaben sich für Phosphor, Kupfer und Zink. Für Magnesium, Eisen, Mangan und Kalium waren die Korrelationen noch schwächer und nicht signifikant. Allein für Bor gab es eine stärkere signifikante Korrelation der Bodengehalte mit den Biomassegehalten.

#### Verhältnis Boden/Biomasse für Schwefel

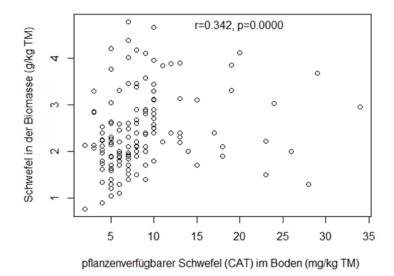


Abbildung 29: Korrelation zwischen CAT-Schwefel und Schwefel in der Biomasse (Spearman-Test).

Beim Vergleich der Nährstoffverhältnisse Boden/Biomasse (Bioconcentration-Factor) zwischen wuchsschwachen und wüchsigen Patches, fand sich allein für Magnesium ein signifikanter Unterschied mit höheren Verhältnissen auf den wuchsschwachen Patches (Abbildung 30).

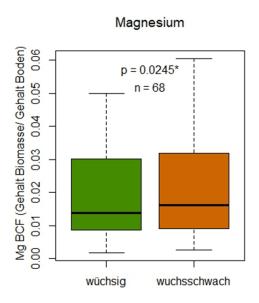


Abbildung 30: Vergleich des Bioconcentration-Faktors von Magnesium (Gehalt Biomasse (g/kg)/Gehalt Boden (mg/kg)) zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben).

#### 4.4.9 Fraktionierung

Für Rotklee und Luzerne wurden signifikant geringere Gehalte an Stickstoff und Schwefel im Stängel im Vergleich zu den Blättern gefunden. Für Luzerne war dies auch für Magnesium der Fall. Hinsichtlich der Mikronährstoffgehalte wurden signifikante Unterschiede zwischen den Kompartimenten für Kupfer, Mangan und Zink für Rotklee und Luzerne gefunden, mit geringeren Gehalten in den Stängeln (Abbildung 31, Rotklee). Für Luzerne war dies auch für Bor der Fall. In den meisten Fällen war der Stängelanteil nicht hoch genug, um zu einer falschen Klassifikation zu führen.

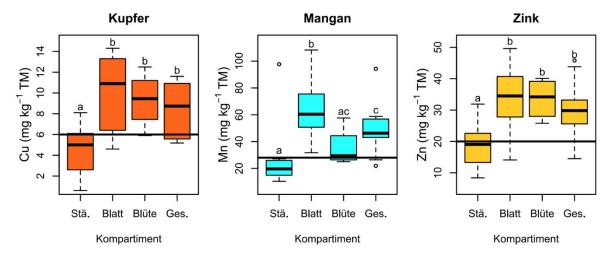


Abbildung 31: Gehalte an Kupfer, Mangan, und Zink in unterschiedlichen Kompartimenten des Rotklees. Stängel, Blätter, Gesamtpflanze: n = 10; Blüten: n = 4. Horizontale Linien: untere Grenzen ausreichender Gehalte im Entwicklungsstadium der Blüte (Kape et al. 2019).

#### 4.4.10 Erträge und Futterwerte

Wie zu erwarten, fanden sich signifikant geringere Biomassewerte und somit geringere Erträge in den wuchsschwachen Patches. Diese wiesen zudem auch signifikant geringere Rohproteingehalte auf (Abbildung 32), sodass nicht nur der Ertrag, sondern auch die Qualität beeinträchtigt ist.

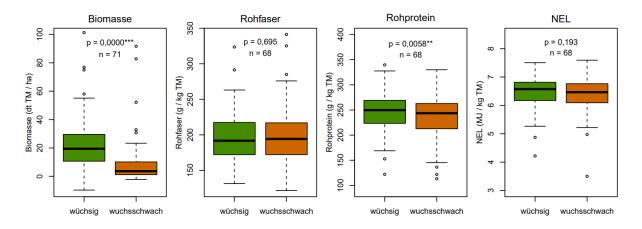


Abbildung 32: Vergleich von Biomassebeständen und Futterwerten zusammengehöriger wüchsiger und wuchsschwacher Patches (Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben). Die negativen Biomassewerte sind ein Resultat der verwendeten Schätzgleichung, bei der eine extrem geringe komprimierte Höhe zu negativen Werten führen kann. Negative Werte der wüchsigen Teilflächen sind durch sehr kleine (im zeitigen Frühjahr beprobte), aber gesunde Pflanzen bedingt.

Die Spektralbilder von Kobrow (Aufnahmen von 2022) und Broderstorf (Aufnahmen von 2023, zwei Überfliegungen mit unterschiedlichen Kameras) wurden verwendet, um die Auswirkungen der Müdigkeitserscheinungen auf den gesamten Schlag hochzurechnen. Für Kobrow (Abbildung 33A) wurden 16 % der Gesamtfläche hinsichtlich der Wuchshöhe als ähnlich zur wuchsschwachen Fläche kategorisiert. Würde man davon ausgehen, dass der gesamte Schlag potenziell der wüchsigen Teilfläche gleichen könnte, entspricht dies einem Ertragsverlust von 1.3 dt/ha (3.3 % des Gesamtertrages). In Broderstorf (Abbildung 33B) wurden nur 7.5 % der Gesamtfläche als ähnlich zur wuchsschwachen Fläche kategorisiert, die Biomasseunterschiede zwischen den wüchsigen und wuchsschwachen Teilflächen waren hier jedoch bedeutend stärker ausgeprägt als in Kobrow. Dies entspräche einem Ertragsverlust von 0.9 dt/ha (2.7 % des Gesamtertrages). Für Broderstorf lagen auch Referenzwerte für Rohproteingehalte vor, sodass zusätzlich der potenzielle Rohproteinverlust geschätzt werden konnte. Dieser belief sich auf 0.21 dt/ha (3.5 % des Gesamt-Rohprotein-Ertrages).

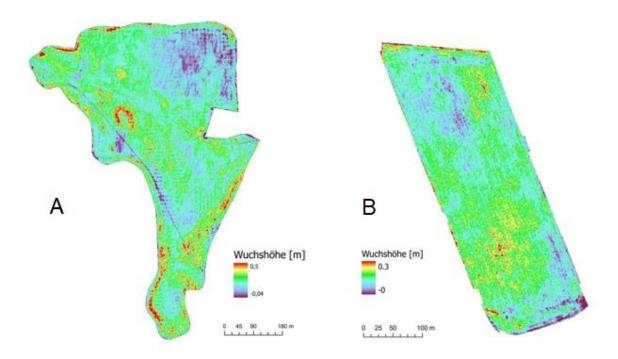


Abbildung 33: Digitales Geländemodell der Schläge Kobrow (A) und Broderstorf (B). Die teils geringfügig negativen Werte sind durch Ungenauigkeiten bei sehr geringer Wuchshöhe und Deckung in Kombination mit Bodenunebenheiten bedingt.

#### 4.4.11 Faseranalyse

Die Überprüfung der Ergebnisse der nahinfrarotspektroskopischen Schätzungen von Futterwerten mit zusätzlichen Analysen mit der Faserextraktionseinheit FIBRETHERM ergaben weitestgehend starke Korrelationen, jedoch mit einigen Ausreißern (Beispiel Rohfaser: Abbildung 34).

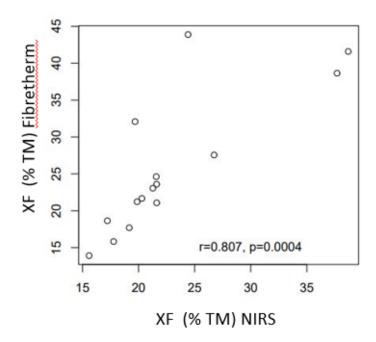


Abbildung 34: Signifikante Korrelation der Rohfaser (XF) Schätzwerte verschiedener Methoden.

### 4.5 Arbeitsgruppenübergreifende Ergebnisse

Einige arbeitsgruppenübergreifende Auswertungen werden im folgenden Abschnitt vorgestellt. Die Wahrscheinlichkeit einer korrekten Klassifikation (korrekte Zuordnung der Patches zu wuchsschwach und wüchsig anhand der Prädiktorvariablen) durch die CART-Analyse lag häufig unter 80 % (Abbildung 35). Als initiales Entscheidungskriterium erwies sich die Präsenz von Blattfleckenkrankheiten. Eine dem Zielbereich entsprechende Phosphorversorgung ist offenbar kein Garant für Wüchsigkeit und sehr geringe Knöllchenzahlen (< 1.2 Knöllchen pro Pflanze) sind meist mit wuchsschwachen Pflanzen assoziiert. Bemerkenswert ist die höhere Wahrscheinlichkeit für Wachstumsprobleme bei relativ geringen Knöllchenzahlen, in Kombination mit Kalium-Über- oder Unterversorgung und zusätzlicher Borunterversorgung.

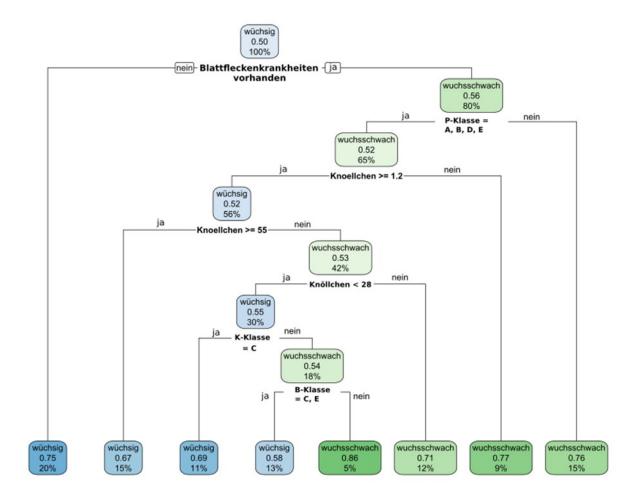


Abbildung 35: Klassifikationsbaum. Output (Package rpart; Therneau & Atkinson, 2022) zur besseren Verständlichkeit angepasst. Einbezogen wurden Krankheitsgruppen (Blattfleckenkrankheiten, Stängelbasiskrankheiten, Wurzelkrankheiten), Knöllchenzahlen und Mykorrhizierungsraten sowie Nährstoffgehaltsklassen bzw. pH-Klassen. Der Titel jeder Box gibt die zugeordnete Klasse (wüchsig/wuchsschwach) an, die obere Zahl die Wahrscheinlichkeit einer korrekten Zuordnung, die untere Zahl den Anteil der Patches, der in diese Gruppe fällt.

Bei Betrachtung der Verteilungen von verschiedenen Faktorkombinationen fiel auf, dass die Fälle von Überschreitungen der Nematoden-Schadschwellenwerte von pH-Klasse B nach E hin abnahmen (Abbildung 36; nur ein Patch war der Klasse A zugeteilt).



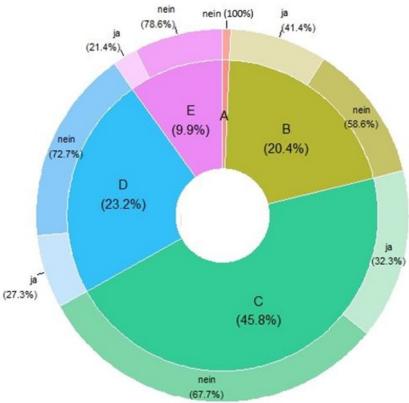


Abbildung 36: Verteilung der Schadschwellenüberschreitungen von Nematoden in den einzelnen pH-Klassen (Zuordnung nach Kape et al. 2019).

Es ist unwahrscheinlich, dass immer genau dieselbe Faktorkombination Ursache des Symptomkomplexes der Kleemüdigkeit ist, daher wurde auch nach kleineren Mustern gesucht, die nur auf einigen wenigen Einzelbetrieben auftraten. Auffällig war hierbei, dass z.B. beide Standorte mit nachgewiesenen Fällen von Kleekrebs (*Sclerotinia trifoliorum;* einmal Inkarnatklee, einmal Luzerne) Böden mit ausgeprägtem Bormangel aufwiesen (Abbildung 37). Für einen der Standorte mit besonders extremen Ausfallerscheinungen lagen zusätzlich sehr niedrige pH-Werte vor und die Symptome traten nach einem milden und feuchten Winter auf. Hier waren auch sowohl der Boden-Borgehalt als auch der pH-Wert auf dem wuchsschwachen Patch nochmals geringer als auf dem wüchsigen. In beiden Fällen waren die wüchsigen Patches zwar weniger betroffen, wiesen aber durchaus auch Symptome auf.

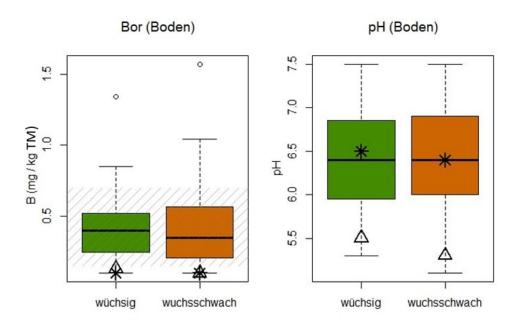


Abbildung 37: Boden-Borgehalte und pH-Werte von Flächen mit Kleekrebs (Sterne und Dreiecke) im Vergleich zur Gesamtverteilung der Werte im Datensatz (Boxplots). Beide Standorte wiesen sehr geringe Boden-Borgehalte auf; einer (Dreieck) zusätzlich auch sehr geringe pH-Werte und für Bor und pH nochmals geringere Werte auf dem wuchsschwachen Patch.

#### 4.6 Faktorverteilungen

Abbildung 38 zeigt die geografische Verteilung verschiedener Faktoren (Höhenlage, Niederschlag, Bodenart, Bewirtschaftung und Futterleguminosenart). Auffallend ist die starke Dominanz leichter Böden in Nord-Ost-Deutschland sowie der Anbau von Rotklee vorwiegend in den nördlichen und südlichen Randbereichen. Abbildung 39 zeigt die geografische Verteilung verschiedener pilzlicher Schaderreger. Hierbei gab es keine auffälligen regionalen Unterschiede bis auf die an die geografische Verteilung der angebauten Art gebundene Verteilung des Auftretens von *Didymella pinodella* (Rotklee) und *Ascochyta medicaginicola* (Luzerne).

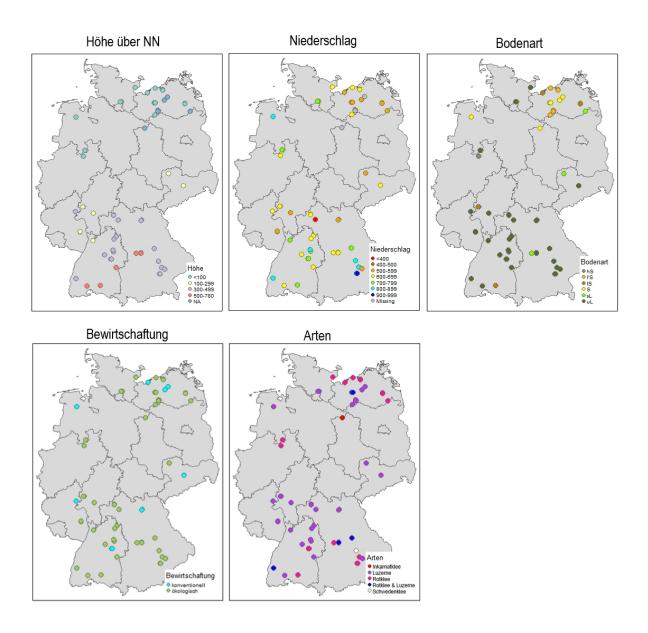


Abbildung 38: Geografische Verteilung der Faktoren Höhenlage, Niederschlag, Bodenart, Bewirtschaftung und Futterleguminosenart über die Standorte.

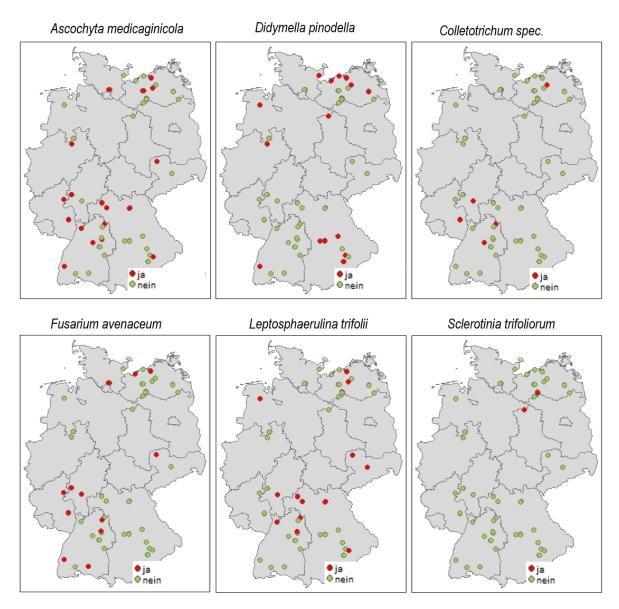


Abbildung 39: Geografische Verteilung verschiedener pilzlicher Schaderreger. Erreger nachgewiesen = "ja", Erreger nicht nachgewiesen = "nein".

In Abbildung 40 sind einige agronomische Variablen anteilsmäßig dargestellt. Der Anteil von Rotklee oder Luzerne in der Fruchtfolge variiert stark zwischen den Schlägen der verschiedenen Betriebe. Teils liegt er unter 20 %, in Einzelfällen aber auch über 70 %. Auffällig ist, dass auf etwa einem Viertel der Flächen mit Kleemüdigkeitssymptomen in den letzten zehn Jahren, teilweise sogar bedeutend länger, keinerlei Leguminosen angebaut wurden. Auf mehr als der Hälfte der Schläge wurden keine weiteren Leguminosen neben Rotklee oder Luzerne angebaut. Die häufigsten zusätzlichen Leguminosen waren Erbsen und Ackerbohnen. Der zeitliche Abstand zwischen verschiedenen Leguminosen betrug recht häufig nur ein Jahr, teils wurden Rotklee- oder Luzernebestände sogar direkt im Folgejahr angelegt. Der größte Anteil der Schläge wies Pausen von zwei oder drei Jahren auf. Symptome traten häufig bereits im

ersten oder zweiten Hauptnutzungsjahr auf. Ein Großteil der Schläge wurde zumindest ab und zu gepflügt.

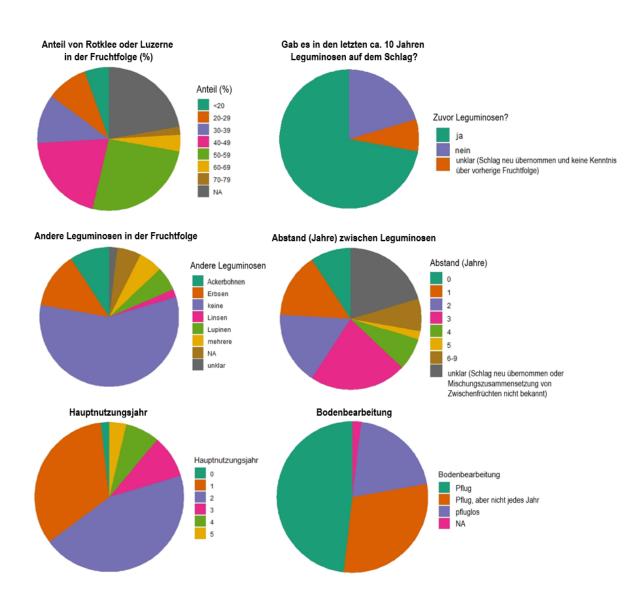


Abbildung 40: Verteilung verschiedener pflanzenbaulicher Variablen von Schlägen mit wuchsschwachen Patches (jeder Schlag nur einmal berücksichtigt, n = 54).

#### 4.7 Differenzialdiagnose

Alle Versuche zur Differenzialdiagnose zeigten Unterschiede im Wachstum zwischen den verschiedenen Varianten. Die Ergebnisse zu vorigen Laboruntersuchungen stimmten zuverlässig mit den Ergebnissen der Differenzialdiagnose überein. Bei allen Versuchen konnten sicher Pathogene und/oder tierische Schädlinge als Ursache erkannt werden. Auch an Standorten mit Nährstoffmängeln war ein stärkeres Wachstum dieser Variante zu beobachten. Boden des Standortes Broderstorf wurde in allen drei Versuchen verwendet und

zeigte jeweils übereinstimmende Ergebnisse. Die sterilisierte Variante zeigte das höchste Wachstum und Gewicht (Site 2, Abbildung 41). Dies deutet auf Pathogene und tierische Schädlinge als Hauptursache für die Wuchsdepressionen des Standortes hin (Laboranalysen zeigten Nachweis von *D. pinodella* und hohen Nematodenbefall). Auch der Boden des Standortes Biedesheim (Site 1, Abbildung 41) wurde mehrfach für die Versuche gesammelt und zeigte bei den Versuchen jeweils keine eindeutige Ursache für Mängel im Stand an. Auch die Laboranalysen der Feldbeprobung zeigten keine einzelne Ursache für diesen Standort. Dies lässt für den Standort Biedesheim auf ein Zusammenwirken verschiedener Ursachen schließen. Der dritte Standort Friedland (Site 3, Abbildung 41) zeigte in der gedüngten Variante und der mit Aktivkohle versehenen Variante geringeres Wachstum als in der unbehandelten Kontrolle. Über dieses Ergebnis kann nur spekuliert werden, z.B. gab es an diesem Standort Hinweise auf Nährstoffungleichgewichte, die durch die Applikation der Nährlösung eventuell verschärft wurden. Sowohl mit Rotklee als auch Luzerne zeigten die Tests gute, wiederholbare Ergebnisse (Abbildung 42 und Abbildung 43), auch unter nicht kontrollierten Bedingungen (Abbildung 44).

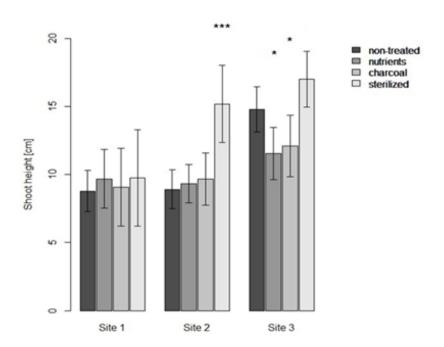


Abbildung 41: Einfluss der verschiedenen Varianten der Differenzialdiagnose auf das Sprosswachstum (cm) für alle Standorte.



Abbildung 42: Rotklee im Boden vom Standort Broderstorf nach 8 Wochen Wachstumsphase. A) Kontrolle, B) Nährlösung, C) Aktivkohle, D) Sterilisation.



Abbildung 43: Luzerne im Boden vom Standort Broderstorf nach 6 Wochen Wachstumsphase. 0) Kontrolle, 1) Sterilisation, 2) Aktivkohle, 3) Nährlösung.



Abbildung 44: Differenzialdiagnose unter nicht kontrollierten Bedingungen 8 Wochen nach der Anlage mit Boden vom Standort Jesewitz. A) Rotklee, B) Luzerne; von links nach rechts: Kontrolle, sterilisiert, gedüngt, Aktivkohle.

#### 4.8 Demoanlagen

In der im Sommer 2022 angelegten Demoanlage in Baden-Württemberg konnten keine Effekte der ausgebrachten Dünger auf die Wüchsigkeit des Bestandes beobachtet werden. Dies könnte der Trockenheit im Jahr 2022 geschuldet sein, jedoch konnten auch in 2023 keine Effekte festgestellt werden. Optisch zeigten sich auch bei den im Frühjahr 2023 angelegten Demoanlagen in Bayern und Nordrhein-Westfalen keine Effekte der Düngung. Jedoch wurden in der Demoanlage in Nordrhein-Westfalen vereinzelt Varianten im Herbst 2023 beprobt und hinsichtlich der Ziel-Nährstoffe analysiert: Dabei zeigte die Variante Kieserit und Stallmist den höchsten Biomassegehalt an Magnesium. Im Vergleich zu niedrigen Boden-Borgehalten der wüchsigen, wuchsschwachen und Kontroll-Fläche wiesen die Behandlungen mit Borsäure, aber auch mit Kieserit und Stallmist höhere Werte auf. Der Biomassegehalt lag nur für die Behandlung mit Borsäure etwas höher. Es muss beachtet werden, dass die Demonstrationsanlagen und Beprobungen ohne Wiederholungen erfolgten und Aussagen nur eingeschränkt getroffen werden können.

Bei der Demoanlage in Mecklenburg-Vorpommern zeigte sich auch optisch eine Wirkung der Düngevarianten (Abbildung 45).

In begleitenden Nährstoffanalysen zeigten sich ebenfalls Effekte: Der Ertrag an Rotklee, der Rohproteingehalt und die NEL war bei der Behandlung mit Pilzkompost am höchsten und ohne Behandlung (Kontrolle) am geringsten. Bei der Behandlung mit Mist ist der Boden-Schwefelgehalt etwas höher, wobei die Gehalte zwischen den Behandlungen ähnlich waren. Bei den übrigen Nähstoffen wurden keine Effekte beobachtet. Es wurde eine tendenziell höhere Knöllchenbesiedlung bei der Behandlung mit Mist oder Pilzkompost als im Vergleich zur Kontrolle (K) beobachtet, jedoch waren die Spannbreiten der Daten sehr hoch, wie auch für den Mykorrhizierungsgrad. Hier schien im Schnitt die Kontrolle eine höhere Mykorrhizierungsrate zu haben. Aufgrund der großen Spannbreiten lassen sich jedoch keine genauen Tendenzen abbilden (Abbildung 46).

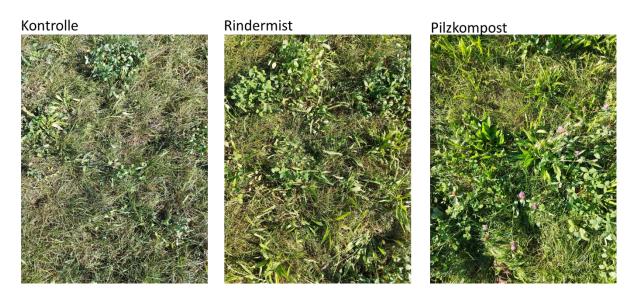


Abbildung 45: Demoanlage im Rotkleegras-Bestand am Standort Friedland (Mecklenburg-Vorpommern) am 06.09.2023.

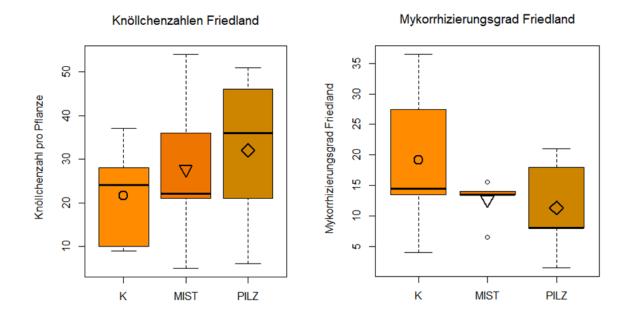


Abbildung 46: Knöllchenzahlen und Mykorrhizierungsgrade der Varianten in der Demoanlage am Standort Friedland (Mecklenburg-Vorpommern) bei Rotklee. K = Kontrolle, MIST = Rindermist, PILZ = Pilzkompost.

## 5 Diskussion der Ergebnisse

#### 5.1 Phytomedizinische Parameter

An fast allen untersuchten Standorten wurden für Futterleguminosen relevante pilzliche Schaderreger nachgewiesen. Die Symptome sind oftmals in abgeschwächter Form auch in den "wüchsigen" Bereichen sichtbar. Am häufigsten wurden die Erreger des Fuß- und Wurzelfäulekomplexes (Ascochyta medicaginicola, Didymella pinodella und Fusarium avenaceum) gefunden. Während A. medicaginicola vor allem an Luzerne gefunden wurde, trat D. pinodella vor allem in Rotkleefeldern auf. Auch andere Studien haben gezeigt, dass A. medicaginicola eine der wichtigsten Blattkrankheiten im Luzerneanbau ist (Hwang et al. 2006). Infektionen mit dem Erreger können schwere Schäden an Luzernebeständen verursachen und zu vollständiger Fäulnis mit Absterben der Pflanze führen (Barbetti et al. 2006). Wurzelfäuleerreger spielen auch bei anderen in Deutschland angebauten Leguminosen wie Erbsen (Pisum sativum) und Ackerbohnen (Vicia faba) eine wichtige Rolle (Pflughöft et al. 2012, Šišić et al. 2020, Šišić et al. 2022). Colletotrichum destructivum ist als ein Erreger von Anthraknose bei Luzerne bekannt (Latunde-Dada 1997, Frayssinet, 2008). Diese Art ist weniger virulent als die nahe verwandte Art C. trifolii, die Pflanzen zeigen oft weniger schwere Symptome und überleben Infektionen gut (Schubiger et al. 2003). Unter warmen und feuchten Bedingungen kann er jedoch als Haupterreger der Luzerne auftreten (Latunde-Dada 1997). An allen Standorten an denen C. destructivum isoliert wurde, traten nur leichte bis mäßige Symptome wie ovale Läsionen am Stängel und Welke an den Blatträndern auf. Der am häufigsten isolierte Blatterreger war Leptosphaerulina trifolii, der Blattbrand verursacht. Dieser Pilz kann nicht nur den Ertrag verringern, sondern auch die Qualität des Tierfutters beeinträchtigen. Betroffene Pflanzen können hohe Mengen des Phytoöstogens Cumestrol enthalten, dass die Fruchtbarkeit von Nutztieren beeinträchtigen kann. Auch bei Infektionen mit A. medicaginicola kann der Cumestrolgehalt in den Pflanzen sehr hoch sein. Barbetti (2007) konnte in erkrankten Luzernepflanzen Cumestrolgehalte zwischen 114 und 1230 ppm Trockengewicht nachweisen. Derzeit gilt ein Phytoöstrogengehalt von 25 mg/kg-1 als Referenzwert für die Prävention von Reproduktionsstörungen bei Rindern und Schafen (Reed 2016). Andere Blattfleckenerreger wie Alternaria infectoria und Stemphylium vesicarium traten als Sekundärinfektionen auf und spielen eine eher untergeordnete Rolle. Kleekrebs, hervorgerufen durch den Erreger Sclerotinia trifoliorum, gilt als wichtige Krankheit im Kleeanbau (Öhberg et al 2008, Vleugels et al. 2013) Dieser Schadpilz spielte bei unseren Untersuchungen eine untergeordnete Rolle, er wurde nur auf zwei Flächen nachgewiesen bzw. von Pflanzen isoliert. Neben pilzlichen Pathogenen werden auch zahlreiche pflanzenschädigende Nematoden mit Wachstumsstörungen von Klee und Luzerne in

Verbindung gebracht (Hancock 1996, Frame 2005, Leath 2015, Griffin et al. 2015). Die Nematodenanalysen ergaben an allen beprobten Standorten Nachweise von phytoparasitären Nematoden. Mit Abstand am häufigsten nachgewiesen wurden Nematoden der Gattung Pratylenchus spp., eine häufig in Futterleguminosen vorkommende Gattung, die den Ernteertrag von Rotklee und Luzerne verringert (Willis & Thompson 1969, Pederson & Quesenberry 2015). Ebenso sind auch die Wurzelgallnematoden Meloidogyne spp. und die Stängelälchen Ditylenchus dipsaci bekannt dafür, in Rotklee und Luzerne signifikante Ernteverluste zu verursachen (Dobosz & Krawczyk 2021). Nematoden beider Gattungen konnten vereinzelt in höheren Zahlen und mit unterschiedlichen Schadwirkungen nachgewiesen werden. Ein Grund könnten unterschiedliche abiotische Faktoren der Standorte sein. So kann sich zum Beispiel der Bodentyp oder der pH-Wert auf die Schadwirkung von Nematoden auswirken (Koppenhöfer & Fuzy 2006). Im Rhizosphärenmikrobiom konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen "wüchsigen" und "wuchsschwachen" Pflanzen festgestellt werden. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass pathogene Mikroorganismen meist im Boden auf der gesamten Fläche zu finden. Das Auftreten von Pathogenen ist einer der stärksten Einflüsse auf das Mikrobiom (Chapelle et al. 2016). Viele bodenbürtige Pilze wachsen und vermehren sich saprophytisch in der Rhizosphäre der Wirtspflanze, um die Schutzbarriere der Rhizosphäre effektiv zu umgehen und die Pflanze zu infizieren (Berendsen et al. 2012). Aber auch oberirdische Infektionen von Pflanzen können zu Veränderungen des pflanzlichen Mikrobioms führen (Yuan et al. 2018). In diesen Fällen können Pflanzen die Struktur ihres Rhizosphärenmikrobioms verändern und eine nützliche mikrobielle Gemeinschaft zur Abwehr von (bodenbürtigen) Pathogenen bilden (Berendsen et al. 2012, Chapelle et al. 2016, de Faria et al. 2021). Dies könnte auch eine Erklärung für die Unterschiede in der Zusammensatzung des pilzlichen Pathomikrobioms beim Auftreten von verschiedenen Krankheiten sein.

#### **5.2** Biotische Bodenparameter

Die Mykorrhizierung der Wirtspflanzen Rotklee und Luzerne wurde auf allen Standorten und in wüchsigen und nicht wüchsigen Bereichen generell bestätigt und auch in einem für diese Pflanzenarten üblichen Niveau. Es wird davon ausgegangen, dass die Mykorrhizierung die Ertragsleistung von Leguminosen in Futtermischungen verbessert (van der Heijden et al. 2013). Obwohl die wuchsschwächeren Pflanzen im Mittel der Standorte eine signifikant geringere Mykorrhizierungsrate aufwiesen, wird nicht davon ausgegangen, dass dies eine Ursache der Kleemüdigkeit ist. Eher ist davon auszugehen, dass in Folge der Wuchsschwäche weniger Assimilate für die Symbionten zur Verfügung gestellt wurden und diese daher eine

geringere Abundanz und vermutlich auch Wirkung in der Nährstoffversorgung aufwiesen. Hierfür spricht auch die tendenziell verringerte Kupferversorgung der wuchsschwachen Pflanzen, da Kupfer neben Phosphor und Zink in besonders hohem Maße durch Mykorrhizapilze zu den Wirtspflanzen geliefert wird (vgl. Absatz 5.3; Bhantana et al. 2021).

Die Knöllchenbildung mit Rhizobien interagiert mit der Mykorrhizierung von Leguminosen (Primieri et al. 2021). Die Mykorrhizierung liefert durch die verbesserte Versorgung mit Kupfer, Zink und Phosphor für die Symbiosebildung essenzielle Nährelemente, kann jedoch auch die Knöllchenbildung mit Rhizobien in Konkurrenz um die Assimilate der Wirtspflanze reduzieren. Die Knöllchenbildung der wuchsschwachen Patches war nicht signifikant reduziert. Auch dies bekräftigt, dass die Agenten der Symbiosebildung (Mykorrhizapilze und Rhizobien) keine wesentliche Beteiligung an der Wuchsdepression hatten.

Neu ist die im Rahmen des Projektes nachgewiesene Anreicherung von Suberin und Lipiden in den Wurzeln wuchsschwacher Patches, die zu einem vermehrten Eintrag in die organische Bodensubstanz beiträgt. Suberine und Lipide haben eine hohe bodenökologische Relevanz. Suberine werden in Reaktion auf Stress verstärkt gebildet und sind ihrerseits hydrophob, d.h. sie verringern den Kontakt der Wurzeln mit der Bodenlösung (Chen et al. 2022). Damit ist dieses Ergebnis als Reaktion auf die Wuchsdepression zu werten, führt aber in Folge zu einer Verschärfung des abiotischen Stresses durch die Erhöhung von Hydrophobizität der organischen Substanz. Lipide werden von Leguminosen an den Feinwurzeln in Reaktion z.B. auf P-Mangel verstärkt gebildet und verringern dann die Knöllchenbildung (Dokwal et al. 2021). Daher wird auch bei der Anreicherung von Lipiden in den Wurzeln der wuchsschwachen Patches primär von einer Reaktion auf ungünstige Nährstoffverhältnisse im Boden ausgegangen, die wiederum zu einer Verschärfung der ungünstigen Wuchsbedingungen führt, da sie ihrerseits die Symbiosebildung reduzieren können.

Die Anreicherung von rekalzitranten Substanzen wie Suberine und Lipide in den Wurzeln wuchsschwacher Pflanzen deutet darauf hin, dass die Entwicklung von Kleemüdigkeit zu einer Anreicherung von wachstumsreduzierenden Stoffen führt. Dies kann durch eine Förderung der Zersetzung rekalzitranter Substanzen mindestens verlangsamt werden, wie die Ergebnisse der Demoanlagen unter Einsatz von Komposten belegen. Komposte sind reich an enzymatischem Potenzial für den Abbau rekalzitranter Substanzen und hiermit für die biologische Bodensanierung (Liu et al. 2019).

#### 5.3 Abiotische Faktoren und assoziierte Biomasseparameter

Die Eindringwiderstände erwiesen sich als schwer zwischen den einzelnen Standorten vergleichbar, bedingt durch unterschiedliche Bodenfeuchten zum Zeitpunkt der Messung und den großen Einfluss der Feuchte auf den Eindringwiderstand - höhere Bodenfeuchten sind hierbei meist mit geringeren Eindringwiderständen verbunden (Silva et al. 2016). Auch ein durchgeführtes Studentenprojekt hierzu bestätigte, dass ein Vergleich Eindringwiderständen zwischen Böden unterschiedlicher Feuchte wenig sinnvoll ist und dass auch eine Umrechnung nicht erfolgversprechend ist, da eine ausreichend genaue Kalibration nicht möglich war. Dennoch konnten einzelne Standorte identifiziert werden, an denen das Bodenverdichtungen auf der wuchsschwachen Fläche Vorliegen von den Wuchsunterschieden beigetragen haben kann, z.B. durch schlechtere Durchwurzelbarkeit (Głąb 2013). Es sollte beachtet werden, dass es auch Standorte gab, an denen der wuchsschwache Patch bedeutend geringere Eindringwiderstände aufwies und dass generell der Wertebereich auf den wuchsschwachen Flächen größer war. Dies kann darauf hindeuten, dass es hier neben recht dichten Böden auch vermehrt leichtere Böden gab, sodass nicht nur Bodenverdichtungen problematisch sein können, sondern auch z.B. besonders sandige Bereiche. Dies wurde auch durch teils unterschiedliche Bodenarten (Fingerprobe) zusammengehöriger Patches belegt. Ein sandiger Boden geht in aller Regel mit schlechteren Wasserspeicherkapazitäten einher (Olorunfemi et al. 2016). Im Falle solcher kleinräumigen Gradienten der Bodenart, wie sie auf jungpleistozänen Standorten im Norden Deutschlands häufiger vorkommen, ist fraglich ob von Kleemüdigkeit gesprochen werden kann oder nur von generell schlechteren Wachstumsbedingungen auszugehen ist.

Die signifikanten Unterschiede in der Bodenfeuchte, mit geringerer Feuchte auf den wuchsschwachen Patches, können entweder darauf hindeuten, dass eine hydrologisch bedingt geringere Wasserverfügbarkeit eine der Ursachen des Minderwuchses ist, oder dass der Deckungsgrad der Vegetation den Wasserhaushalt beeinflusst. Wahrscheinlich ist, dass beides standortabhängig eine Rolle spielen kann. Hervorzuheben ist, dass im Jahresverlauf erwartungsgemäß die Bodenfeuchte im Juli am geringsten war, jedoch gerade in diesem Monat die Bodenfeuchten der wüchsigen Flächen nicht eindeutig höher waren. Mögliche Ursache könnte vermehrte Evapotranspiration durch mehr Blattfläche der wüchsigen Pflanzen sein (Unkovich et al. 2018).

Bei der Flächenauswahl wurde auf möglichst ähnlich gelegene Flächen (ähnliche Höhe, Exposition) geachtet; dennoch ist nicht ganz auszuschließen, dass z.B. Grundwasserstände oder Unterböden variierten. Zudem können sich die teils unterschiedlichen Bodenarten auf die Wasserspeicherkapazität auswirken (Unkovich et al. 2018). Die Luftaufnahmen der überflogenen Schläge ließen Muster erkennen, die auf Unterschiede im Wasserhaushalt

## Diskussion der Ergebnisse

hindeuteten. Während die dort beprobten Patches nicht in den Bereich entsprechender starker Unterschiede fielen, kann davon ausgegangen werden, dass Ertragsunterschiede in anderen Bereichen der Schläge durchaus mit dem Wasserhaushalt in Verbindung standen.

Diese Befunde sind insofern relevant, als dass im weiteren Verlauf des Klimawandels davon ausgegangen werden muss, dass sich diese hydrologischen Konsequenzen heterogener Böden stärker negativ auf die Ertragssicherheit auswirken werden. Dem sollte mit einem strategischen Humusaufbau auf diesen Standorten begegnet werden (z.B. Einschränkung des Hackfruchtbaus, längere Ackerfutterbauphasen).

Der pH-Wert des Bodens hat Einfluss auf verschiedene Prozesse, so können z.B. niedrige pH-Werte ein Pilzwachstum begünstigen (Rousk et al. 2010). Tatsächlich fanden sich einzelne Standorte, an denen der wuchsschwache Patch einen niedrigeren pH-Wert aufwies als der wüchsige Patch und auf dem sich zudem ein bedeutend stärkerer Befall mit einer Pilzkrankheit zeigte. Zusätzlich sind einige Nährstoffe in bestimmten pH-Bereichen besser oder schlechter verfügbar (Hartemink & Barrow 2023). Luzerne bevorzugt eher hohe pH-Werte (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft 2016). Die Untersuchungen bei Luzerne zeigten mehrere Standorte mit geringen pH-Werten, unter denen besonders geringe pH-Werte auf den wuchsschwachen Patches auftraten, während dies für Rotklee nicht systematisch der Fall war. Die Tendenz zu geringen Gehalten an Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel und somit organischer Bodensubstanz auf den wuchsschwachen Patches legt nahe, dass das Anstreben höherer Gehalte durch z.B. organische Düngung eine Maßnahme gegen das Auftreten starker Kleemüdigkeitssymptome darstellen könnte. Hohe Anteile organischer Bodensubstanz können zum Beispiel das Wasserspeichervermögen des Bodens und Nährstoffkreisläufe positiv beeinflussen (Murphy 2015). Die Aufbringung von organischem Material wie zum Beispiel Komposten kann sowohl den Anteil der organischen Bodensubstanz steigern als auch vorteilhafte mikrobielle Konsortien einbringen (siehe 5.2 Biotische Bodenparameter).

Während der Gesamtschwefelgehalt des Bodens ungeeignet ist für Aussagen über die Schwefelverfügbarkeit und Smin nur eine Momentaufnahme darstellt, wurde zusätzlich S-CAT bestimmt. Hier wird vermutet, dass die Werte besser geeignet sind, um die langfristige Schwefelverfügbarkeit zu beschreiben. Die signifikant geringeren pflanzenverfügbaren Schwefelgehalte (S-CAT) der wuchsschwachen Flächen deuten auf mangelnde Schwefelversorgung als einen Faktor des Auftretens von Kleemüdigkeit hin. Dies passt zu dem bereits nachgewiesenen häufig ertragswirksamen Effekt einer Düngung mit Schwefel bei Luzerne-Kleegrasbeständen (Becker et al. 2016). Die CAT-Methode wird jedoch in Analysen für den Ackerbau kaum angewendet und es liegen keine Zielbereiche vor. Entsprechend kann die Feststellung eines Schwefelmangels in der Praxis stattdessen zum Beispiel über die Anlage eines Schwefelfensters erfolgen (Applikation von Sulfatdüngemitteln auf einer

begrenzten Fläche und Vergleich der Bestandesentwicklung mit der nicht behandelten Fläche; Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung 2023).

Für alle Nährstoffe, für die eine Einteilung in Nährstoffgehaltsklassen verfügbar ist, gab es Fälle von zu geringen Gehalten. Besonders häufig war dies jedoch für Phosphor, Bor und Kupfer der Fall. Es ist unwahrscheinlich, dass sich für jeden Standort ein und derselbe Nährstoff im Mangel befand, sodass alle Standorte umfassende signifikante Unterschiede zwischen wüchsigen und wuchsschwachen Patches nicht zu erwarten waren. Tendenzen zu geringeren Boden-Bor- und Kupfer-Gehalten auf wuchsschwachen Patches von Standorten mit Verdacht auf entsprechenden Mangel lassen darauf schließen, dass gravierender Mangel an Bor oder Kupfer eine Ursache von Wuchsunterschieden sein kann. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Resultaten der Studien von Sherrell (1983), Jarvis & Robson (1982) und Stolz & Wallenhammar (2012). Die geringeren Kaliumgehalte in der Biomasse wuchsschwacher Pflanzen sind auf Grund der meist hohen Verfügbarkeit im Boden vermutlich nicht Zeichen eines Mangels, sondern eine Folge der beobachteten Krankheiten.

Nicht nur die einzelnen Gehalte an Nährstoffen können Aufschluss über den Ernährungszustand von Pflanzen geben, sondern auch das Verhältnis von Nährstoffgehalten zueinander. Die signifikant höheren C/N-Verhältnisse in den wuchsschwachen Pflanzen, passen zum geringeren Rohproteingehalt, sodass entweder die Fixierleistung der Rhizobien oder die Aufnahme bzw. Verstoffwechselung von Stickstoff gestört ist. Boden- und Biomassegehalte desselben Nährstoffs korrelierten meist nur schwach (wenn überhaupt). Ausnahme war Bor. Hier scheint der Biomassegehalt stärker vom Bodengehalt abzuhängen, sodass ein Mangel auch an geringen Biomassegehalten erkannt werden könnte. Auch wenn es für andere Nährstoffe (Schwefel, Phosphor, Kupfer und Zink) signifikante Korrelationen gab, so sind Biomasse-Einzelwerte aufgrund der hohen Schwankungsbreite jedoch kein sicheres Kriterium, um einen Mangel festzustellen. Es fanden sich dennoch signifikant höhere Bioconcentration-Faktoren (Biomassegehalt im Verhältnis zum Bodengehalt) für Magnesium auf den wuchsschwachen Patches, die Ursache-Wirkungsdynamik muss hierbei noch eingehender untersucht werden.

Einzelstandorte mit Eisen- oder Manganmangelsymptomen trotz hoher Gehalte im Boden deuten auf gehemmte Aufnahme infolge von Antagonismen hin. Für Eisen und Mangan ist eine solche Interaktion bekannt (Warden & Reisenauer 2008). Ähnliche Interaktionen bzw. Antagonismen können auch bei anderen Nährstoffen auftreten, besonders häufig sind Ionen mit gleicher Ladung betroffen (Ghasemi-Fasaei & Ronaghi 2008). Es ist möglich, dass solche in Einzelfällen auftraten, systematische Zusammenhänge konnten jedoch nicht identifiziert werden.

Ergebnisse der Fraktionierung zeigten, dass die Stängelgehalte die Untergrenze typischer Bereiche häufig unterschritten. Die Gesamtpflanzengehalte lagen jedoch zumeist über dieser Grenze, sodass der Blattanteil diese Werte offenbar ausglich. Bei Proben mit sehr hohen Stängelanteilen, wie sie z.B. bei fortgeschrittenem Entwicklungsstadium oder bestimmten Sortentypen (Tucak et al. 2013) auftreten, wäre die Berücksichtigung der Gehaltsunterschiede jedoch ratsam.

Die reduzierten Proteingehalte bei Auftreten von Kleemüdigkeit sollten bei der Fütterung beachtet werden und stellen neben den reduzierten Erträgen einen weiteren Grund dar, dem Auftreten von Kleemüdigkeitssymptomen möglichst vorzubeugen. Hinsichtlich der Hochrechnungen von Ertragseinbußen auf Schlag-Ebene sollte beachtet werden, dass diese Standorte nur recht kleinflächige Problemstellen aufwiesen, während größere Ausfälle an anderen Standorten oder bei anderer Witterung durchaus möglich sind und entsprechend zu größeren Ertragseinbußen führen würden.

Im Vergleich der NIRS-Ergebnisse und der Ergebnisse der Faseranalyse fielen Ausreißer auf. Hierbei erschienen aber die NIRS-Schätzungen tatsächlich realistischer. Vermutlich entstanden die Ausreißer durch Probleme bei der Faserextraktion ("überkochen").

## 5.4 Differenzialdiagnose

In allen untersuchten Böden verbesserte die Sterilisationsbehandlung das Pflanzenwachstum, was darauf hindeutet, dass das Vorhandensein von Schadorganismen im Boden eine entscheidende Ursache für die Ertragsminderung bei Klee war. Die Ergebnisse des diagnostischen Tests wurden durch die Pflanzen- und Bodenanalysen bestätigt, bei denen an den entsprechenden Standorten pathogene Pilze bzw. pflanzenparasitäre Nematoden nachgewiesen wurden. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Fuchs et al. (2014), die ebenfalls in den meisten Bodenproben ein signifikant höheres Gewicht von Erbsen in sterilisierten Böden im Vergleich zu Erbsen in unbehandelten Böden beobachteten, was darauf hindeutet, dass biotische Faktoren eine der Hauptursachen für ungeklärte Ertragsdepressionen bei Leguminosen im ökologischen Ackerbau in Deutschland sind.

Darüber hinaus zeigte der diagnostische Test, dass Nährstoffmangel und toxische Verbindungen ebenfalls eine Rolle bei der Schwächung der Futterleguminosen spielten. Der Test stimmte verlässlich mit den Ergebnissen der Laboranalysen für die Müdigkeitserscheinungen überein. Somit stellt das Diagnoseinstrument ein zuverlässiges Mittel dar, um das Vorhandensein von Schadorganismen und Schadstoffen im Boden als mögliche Ursache für den Rückgang des Rotklees sowie Nährstoffmängel frühzeitig zu erkennen.

## 5.5 Arbeitsgruppenübergreifende Auswertungen

Auch wenn die Klassifikation durch die CART-Analyse noch keine zufriedenstellende Falldiskriminierung ermöglichte (Wahrscheinlichkeit einer korrekten Klassifikation meist unter 80 %), so können die Verzweigungen doch Hinweise auf die Relevanz und das Zusammenspiel verschiedener Faktoren liefern und zu weiteren Untersuchungen anregen. So scheint eine ausreichende Phosphorversorgung zum Beispiel kein Garant für gesunde Bestände zu sein. Dieser Befund wird von den Ergebnissen der Einzelanalysen bestätigt, bei denen eher die Mikronährstoffe Bor und Kupfer sowie pflanzenverfügbarer Schwefel (in der CART-Analyse bisher nicht berücksichtigt, da hierfür keine Nährstoffgehaltsklassen vorliegen) Effekte zeigten. Hinsichtlich der Knöllchenzahlen steht zur Debatte, ob geringe Knöllchenzahlen eher Ursache der Wuchsunterschiede sind, oder ob die geringen Knöllchenzahlen nicht vielmehr ein Symptom bereits vorhandener Probleme sind. Für das Auftreten von Blattfleckenkrankheiten ist die Ursache-Wirkungsbeziehung ebenfalls noch ungewiss, da hierdurch auftretende offensichtliche Symptome ein Kriterium für die Auswahl eines Patches als "wuchsschwache" Fläche darstellten. Die in Einzelanalysen festgestellten geringeren Boden-Borgehalte auf wuchsschwachen Flächen scheinen sich als wichtiger Faktor zu bestätigen, jedoch nur in Kombination mit zu geringen oder zu hohen Boden-Kaliumgehalten und relativ geringen Knöllchenzahlen. Die genauen Wirkungsbeziehungen sowie Effekte weiterer Faktoren (z.B. agronomische Faktoren) sind Gegenstand weiterer Analysen.

Die Tatsache, dass beide Standorte mit Kleekrebs einen starken Bormangel aufwiesen und in einem Fall die Gehalte auf dem wuchsschwachen Plot nochmals geringer waren, legt besonders für diesen Erreger nahe, dass ein Bormangel die Anfälligkeit erhöhen könnte. Dass Bor bei *Brassica napus* zum Schutz vor Befall mit dem pilzlichen Schaderreger *Sclerotinia sclerotiorum* beiträgt, ist bereits erwiesen (Cale et al. 2024). Da bei nur zwei Fällen diese Vermutung jedoch keineswegs gesichert ist, wären hier weitere Versuche unter kontrollierten Bedingungen sinnvoll, um statistisch abgesicherte Ergebnisse zu erzielen. Eine zusätzliche Abklärung der Interaktion mit dem pH-Wert des Bodens wäre auf Grund des in einem Fall zusätzlich sehr niedrigen pH-Wertes und einer dadurch möglichen Begünstigung des Pilzwachstums ebenfalls sinnvoll.

Die Abnahme von Schadschwellenüberschreitungen von Nematoden mit zunehmender pH-Klasse passt zur leichten Bevorzugung saurer Böden, die Matute (2013) feststellte.

Geografische Gradienten hinsichtlich der Höhenlage, Niederschläge und Bodenarten waren zu erwarten und die entsprechende Verteilung der angebauten Arten kann hieran in Teilen nachvollzogen werden mit zum Beispiel vorrangigem Anbau der tief wurzelnden Luzerne auf

## Diskussion der Ergebnisse

trockenen Standorten Mecklenburg-Vorpommerns, während dort Rotklee eher in Küstennähe und auf etwas sorptionsstärkeren Böden zu finden war.

Die geografische Verteilung der verschiedenen pilzlichen Krankheitserreger wies keine offensichtlichen Auffälligkeiten auf, die darauf schließen ließen, dass bestimmte Regionen vermehrt oder seltener betroffen wären. Die Verteilung des Auftretens von *Didymella pinodella* und *Ascochyta medicaginicola* folgte der Verteilung der entsprechenden Wirtspflanzen. Das Auftreten von Kleekrebs (*Sclerotinia trifoliorum*) ausschließlich im Norden ist bei nur zwei Standorten kein zwingender Hinweis auf unterschiedliche Verteilung.

Das Auftreten von Kleemüdigkeitssymptomen auf Flächen auf denen zuvor über viele (>10) Jahre keine Leguminosen angebaut wurden, zeigt, dass die Problematik nicht nur nach wiederholtem Anbau, sondern auch spontan auftreten kann. Entsprechend gewinnt die Vorbeugung durch Optimierung anderer Faktoren zusätzlich an Bedeutung.

# 6 Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse

Kleearten und Luzerne sowie deren Gemenge mit Gräsern sind essenzielle Fruchtfolgeglieder und unverzichtbar in ökologischen Landbausystemen. Nur gesunde und damit anbauwürdige und leistungsfähige Bestände können die Stickstoffversorgung in der Fruchtfolge sichern, Beikräuter effizient regulieren und qualitativ hochwertiges und ertragreiches Raufutter für Wiederkäuer erzeugen. Das Auftreten von Kleemüdigkeitssymptomen gefährdet diese Funktionen.

Durch das bundesweite Monitoring von Flächen verschiedener Standorte und Betriebstypen mit unterschiedlicher Bewirtschaftung sowie der umfassenden Analyse verschiedenster, als Ursache in Frage kommender Parameter wurde ein authentischer und gleichwohl differenzierter Überblick über den Komplex der Kleemüdigkeit bei Rotklee und Luzerne generiert.

Dies bildet den Ausgangspunkt für die Entwicklung von Strategien, die dazu beizutragen, durch eine optimierte Bewirtschaftung und einer damit einhergehenden erhöhten Produktivität den Anbau kleinkörniger Leguminosen vor allem im ökologischen Landbau zu sichern. Durch den direkten Einbezug von Betrieben und Beratenden sowie die Aktivitäten der Wissensvermittlung durch die Projektpartner ist das aus der Praxis generierte Wissen bereits in die Breite getragen worden.

Das Verwertungspotenzial der erarbeiteten Handreichung zur Differenzialdiagnose für kleinkörnige Leguminosen für die Praxis, die auch auf den konventionellen Landbau übertragen werden kann, wird als sehr hoch eingeschätzt, da derzeit keine Möglichkeiten einer Ursacheneingrenzung der Kleemüdigkeit direkt auf dem landwirtschaftlichen Betrieb existieren.

Damit trägt das Vorhaben zum Ziel der Bundeseiweißpflanzenstrategie bei, welche eine Ausweitung des Leguminosenanbaus in Deutschland anstrebt. Zudem werden die Ziele der Nationalen Nachhaltigkeitsstrategie der Bundesregierung, wie bspw. die langfristige Erhöhung des Flächenanteils des ökologischen Landbaus in Deutschland auf 20 % bis 2030, unterstützt. Durch die differenzierten Analysen wurden Ergebnisse und Hinweise erarbeitet, auf welche Parameter beim Anbau von Rotklee und Luzerne besonderes Augenmerk gelegt werden sollte, um den dauerhaft gelingenden Anbau dieser Kulturen zu erreichen. Durch die Einsparung von Stickstoffdüngern und Herbiziden ergeben sich auch für den konventionellen Landbau durch den Kleegrasanbau Möglichkeiten, die zu einer ressourcen- und umweltschonenden sowie nachhaltigen Landbewirtschaftung beitragen. Für die Praxis und Beratung entsteht ein direkter Nutzen aus dem Projekt, indem auf Basis der Ergebnisse a) das

Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse

Management von kleinkörnigen Leguminosen auf dem eigenen Betrieb überprüft und optimiert und b) Beratungsempfehlungen angepasst werden können.

Das Thema Kleemüdigkeit ist nicht nur in Deutschland, sondern auch international präsent, sodass eine Veröffentlichung der wissenschaftlichen Erkenntnisse auch in internationalen Fachzeitschriften angestrebt wird. Geplant sind einzelne Veröffentlichungen aus den Arbeitsgruppen zu Teilursachen der Kleemüdigkeit sowie eine Veröffentlichung zur Interaktion der verschiedenen Ursachen und ein arbeitsgruppenübergreifendes Review zu Ursachen der Kleemüdigkeit weltweit. Zusätzlich zu bereits direkt verwendbaren Erkenntnissen wurden auch mögliche Zusammenhänge identifiziert, die zu weiterführenden Experimenten anregen und so weitere Schritte in Richtung eines vollen Verständnisses des Ursachenkomplexes der Kleemüdigkeit einleiten.

## 7.1 Arbeitsgruppenübergreifende Ziele

Kernfragen des Projektes waren, welche Faktoren als Ursachen von Kleemüdigkeit in der Praxis auftreten und ob es hierbei auffällige Faktorkombinationen gibt. Wir konnten einige Faktoren identifizieren, die häufig mit dem Auftreten von Kleemüdigkeitssymptomen assoziiert waren (z.B. Nährstoffmangelsituationen und Tendenzen zu geringen Gehalten organischer Bodensubstanz). Auch konnten wir Muster von Faktorkombinationen ausmachen, wie das vermehrte Überschreiten von Nematoden-Schadschwellenwerten bei niedrigen pH-Werten oder das Auftreten von starken Ausfallerscheinungen durch Kleekrebs (Sclerotinia trifoliorum) auf Böden mit ausgeprägtem Bormangel. Somit können Rückschlüsse auf Standort- und Bewirtschaftungsfaktoren gezogen werden, die das Auftreten begünstigen bzw. ihm vorbeugen können. Hinsichtlich der Frage, ob die Fruchtfolge und Wechselwirkungen mit großkörnigen Leguminosen und Zwischenfrüchten eine Rolle spielen, kann festgestellt werden, dass auf vielen der Standorte mit Kleemüdigkeitssymptomen sehr geringe zeitliche Abstände zwischen dem Anbau von großkörnigen Leguminosen oder Zwischenfrüchten und Rotklee oder Luzerne lagen. Überraschenderweise fanden sich jedoch auch häufig Symptome auf Flächen ohne vorherigen Leguminosenanbau sowie auch auf solchen mit größeren Anbaupausen.

Die Übertragung der Differenzialdiagnose auf Rotklee und Luzerne wurde erfolgreich überprüft.

# 7.2 Arbeitspaket 1: Auswahl der Flächen und Beschreibung der Symptome, Probensammlung, Anlage von Demonstrationsstreifen

Die geplante Anzahl von 70 zu untersuchenden Probenpaaren bestehend aus zwei kontrastierenden Proben wurde erreicht. Der Projektansatz, Flächen, die bereits als kleemüde galten, gezielt für die Untersuchungen auszuwählen, wurde durch Einbeziehung der Beratung und Aufrufe über verschiedene Kanäle wie Fachzeitschriften und Newsletter erreicht und konnte bundesweit umgesetzt werden.

Insgesamt wurden vier Demonstrationsanlagen angelegt. Da auf den meisten Anlagen keine Effekte sichtbar waren, wurden Felderbegehungen nur an einer Anlage in Zusammenarbeit mit dem Demonet-KleeLuzPlus in der Nähe zu einem weiteren Streifenversuch (Mischungen) durchgeführt. Der Wissenstransfer der Ergebnisse des laufenden Projektes erfolgte - auch aufgrund des großen Interesses und der Vielzahl der Anfragen - nicht an den

Demonstrationsanlagen, aber zu diversen Feldtagen und -begehungen bundesweit an anderen Standorten und in Online-Veranstaltungen (siehe Kapitel 11).

## 7.3 Arbeitspaket 2: Phytomedizinische Aspekte

Leguminosenmüde Standorte werden von jeher mit phytomedizinischen Problemen in Verbindung gebracht. Daher sollte in diesem Arbeitspaket überprüft werden, inwieweit sich die schwach wüchsigen Flächen hinsichtlich des Auftretens von Pflanzenkrankheiten und -schädlingen von den gut wüchsigen Flächen unterscheiden. Dabei wurden Pilzkrankheiten, Schadinsekten und pflanzenparasitische Nematoden untersucht. Es zeigte sich, dass Schadinsekten keinen erkennbaren Einfluss auf die Kleemüdigkeit der untersuchten Flächen hatten. Pflanzenparasitische Nematoden hatten auf einzelnen Flächen einen Einfluss auf die augenscheinliche Pflanzengesundheit und Pilzkrankheiten hatten einen erheblichen Einfluss auf die Wüchsigkeit der Klee- und Luzernepflanzen. Besonders deutlich stachen die Erreger der Fuß- und Brennfleckenkrankheit (Ascochyta medicaginicola, Didymella pinodella) sowie der Wurzelfäule (Fusarium avenaceum) hervor. Erst die Endauswertung aller untersuchten Faktoren wird zeigen, welchen Anteil die Krankheiten/Schädlinge an der Kleemüdigkeit haben. In den ersten zwei Jahren konnten wie geplant Mikrobiomanalysen der Rhizosphären der Kleebzw. Luzernepflanzen durchgeführt werden. Signifikante Unterschiede zwischen den Mikrobiomzusammensetzungen der wüchsigen und der weniger wüchsigen Flächen ergaben sich nicht. Als interessantes Ergebnis zeigte sich, dass sich die pilzlichen Mikrobiome der Flächen auf denen per klassischer Pilzisolierung die Pathogene Ascochyta medicaginicola, Didymella pinodella oder Leptosphaerulina trifolii identifiziert wurden, signifikant voneinander unterschieden.

## 7.4 Arbeitspaket 3: Abiotische Bodenparameter

In diesem Arbeitspaket sollten die Nährstoffversorgung (relevante pflanzenverfügbare Makround Mikronährstoffe) sowie die Gehalte des Bodens an Gesamt-Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel der betroffenen und augenscheinlich nicht betroffenen Kleeflächen untersucht werden. Geklärt werden sollte, ob die Makro- und Mikronährstoffversorgung der Kleeflächen inkl. deren pH-Wert für ein gesundes Pflanzenwachstum optimal ist. Entsprechende Untersuchungen wurden erfolgreich durchgeführt und es konnte festgestellt werden, dass die Versorgung mit Makro- aber insbesondere auch Mikronährstoffen sowie die pH-Werte an vielen Standorten suboptimal waren und so zum Auftreten von Kleemüdigkeitssymptomen

beigetragen haben können. Auch wurden Fälle von Nährstoffungleichgewichten (Nährstoffstöchiometrie) identifiziert.

Zusätzlich wurde in wuchsschwachen als auch wüchsigen Bereichen (Patches) vergleichend der Eindringwiderstand des Bodens erfasst, um Hinweise auf Schadverdichtungen aufzuspüren. Hierbei gab es für einzelne Standorte Anzeichen, dass Bodenverdichtungen vorlagen, die eine Ursache der Wuchsunterschiede darstellen könnten.

Gradienten des Wasserhaushaltes während der Vegetationsperiode wurden mit Hilfe von Messungen der Bodenfeuchte im Kontrast wüchsiger und wuchsschwacher Patches sowie im zeitlichen Verlauf betrachtet. Hierbei trugen vermutlich sowohl Deckungsgrade der Vegetation als auch bodenhydrologische Parameter zu den Unterschieden bei.

Die geplante Erfassung von VIS/NIR-Spektren der Kleepflanzen entlang eines Gradienten, ausgehend vom Befallszentrum hin zu gesunden Feldabschnitten, wurde technisch bedingt durch Spektralaufnahmen von Drohnenüberfliegungen ersetzt, sodass an Stelle des Gradienten eine Erfassung der großräumigen Verteilungen von Wuchsunterschieden möglich war.

Die Analyse gesammelten Pflanzenmaterials an einem stationären NIRS erfolgte planmäßig und konnte dazu beitragen die Effekte der Kleemüdigkeit auf den Futterwert der Pflanzen festzustellen. Zudem werden aktuell noch weitere Analysen durchgeführt, um die Einflüsse verschiedener Faktoren auf die beobachteten Phänomene der Kleemüdigkeit zu untersuchen. Entsprechend der Meilensteine 3.1 bis 3.3 wurden die Daten zu den abiotischen Faktoren fortlaufend ausgewertet und den anderen Projektpartnern zur Verfügung gestellt.

## 7.5 Arbeitspaket 4: Biotische Bodenparameter

In diesem Arbeitspaket sollte der Einfluss biotischer Bodenparameter der betroffenen und augenscheinlich nicht betroffenen Kleeflächen untersucht werden. Die Untersuchungen wurden erfolgreich durchgeführt und weisen darauf hin, dass eine mangelnde oder ggf. überhöhte und damit in Parasitismus umschlagende Symbiosebildung mit Mykorrhizapilzen oder N-fixierenden Rhizobien an den Wurzeln kein genereller Faktor der Kleemüdigkeit ist. Generell mangelnde Knöllchenbildung oder Mykorrhizierung war in der Gesamtheit der Untersuchung in keinem Fall nachzuweisen. Auf einzelnen Teilflächen kam es zu signifikanten Unterschieden in der Symbiosebildung, diese waren jedoch teilweise gegenläufig. Daher wird einer Schwächung der Symbiosebildung kein wesentlicher Beitrag zur Kleemüdigkeit zugeordnet. Die Anreicherung von Suberinen und Lipiden in den Wurzeln wuchsschwacher Pflanzen trägt zu einer Veränderung der Qualität der organischen Bodensubstanz bei und kann hierbei auch den Wasserhaushalt verändern (Oberflächenhydrophobie).

Die Demoanlage Friedland (Mecklenburg-Vorpommern) belegt, dass eine Zufuhr organischen Materials (insbesondere Pilzkompost) zu einer Förderung der Symbiosebildung beitragen kann und diese mit einer erhöhten Vitalität des Bestandes verbunden sein kann.

## 7.6 Arbeitspaket 5: Prüfung der Eignung der Methode der Differenzialdiagnose für den Einsatz bei feinsamigen Leguminosen

Geplant war es, in Anlehnung an die für Leguminosendecline (Körnererbse) entwickelte Differenzialdiagnose eine ähnliche Methode zu entwickeln, die es Praktikerinnen und Praktikern ermöglicht, einen Standort hinsichtlich der Kleemüdigkeit selbst einzuschätzen. Die Differenzialdiagnose wurde erfolgreich für Rotklee und Luzerne erarbeitet. In Gewächshausund Freilandtests zeigten sich je nach Vorbehandlung klare Unterschiede im Wachstum, die Rückschlüsse auf Schadfaktoren zuließen. Somit erwies sich dieser Test als geeignet für Landwirtinnen und Landwirte zur unabhängigen Beurteilung ihrer Flächen hinsichtlich kleemüder Gegebenheiten.

## 7.7 Arbeitspaket 6: Erstellung einer Praxishandreichung zur Differenzialdiagnose bei feinsamigen Leguminosen

Die Handreichung zur Differenzialdiagnose wird in Zusammenarbeit mit AP5 erstellt und steht als Praxismerkblatt zu Projektende zur Verfügung.

## 7.8 Arbeitspaket 7: Koordination des Verbundvorhabens

Die ÖBG koordinierte das Verbundvorhaben und war zuständig für die Sicherstellung des Gesamtablaufes, die Einberufung und Organisation von Projekttreffen und Treffen der Projektbegleitenden Arbeitsgruppe sowie die Koordination der Berichte. Ein abschließendes, drittes Treffen der Projektbegleitenden Arbeitsgruppe wird nach Vorliegen der vollständigen Auswertungen im Januar 2025 stattfinden.

## 8 Zusammenfassung

Kleemüdigkeit entsteht selten durch eine einzelne Ursache, sondern in aller Regel liegen verschiedene Ursachen, auch in Kombination, dem Phänomen zugrunde.

Hierbei scheinen Schadpilze eine gewisse Bedeutung zu haben, ebenso bestimmte Nematoden, Schadinsekten jedoch kaum.

Mangel oder auch Ungleichgewichte in der Nährstoffversorgung können das Wachstum negativ beeinflussen und erhöhte Krankheitsanfälligkeit hervorrufen, besonderes Augenmerk liegt auf Schwefel und Bor. Auch der pH-Wert scheint relevant zu sein, insbesondere für Luzerne und in Kombination mit anderen Faktoren wie dem Befall mit Nematoden oder spezifischen Pilzkrankheiten.

Für die Applikation von Komposten sowie generell für gesteigerte Anteile organischer Bodensubstanz konnten Tendenzen zu positiven Effekten festgestellt werden.

Hinsichtlich des Einflusses der Knöllchenbildung und Mykorrhizierung wird eine ursächliche Beteiligung einer veränderten Symbiosebildung als Ursache der Kleemüdigkeit ausgeschlossen, da trotz einer im Mittel signifikant reduzierten Mykorrhizierungsrate der wuchsschwachen Pflanzen auch gegenläufige Verhältnisse auf einigen Standorten gemessen wurden und niemals fehlende und drastisch reduzierte Symbiosebildung bei wuchsschwachen Pflanzen diagnostiziert wurde.

Bekannte Maßnahmen (Anpassungen der Fruchtfolge, Anbaupausen und Verwendung resistenter oder toleranter Sorten) bleiben weiterhin sinnvoll. Jedoch sollten angesichts des Auftretens von Symptomen auf Flächen ohne vorherigen Leguminosenanbau auch weitere Maßnahmen getroffen werden, um dem Auftreten von Kleemüdigkeit vorzubeugen.

Sinnvolle Maßnahmen umfassen die Untersuchung der Boden-Mikronährstoffgehalte sowie die Beachtung der Schwefelversorgung. Da die Feststellung eines Schwefelmangels anhand von Messwerten schwierig ist, kann ein Mangel zum Beispiel anhand der Anlage eines Schwefelfensters festgestellt werden.

Es sollte das Erreichen und Aufrechterhalten des empfohlenen pH-Wert-Bereiches (pH-Klasse C) angestrebt werden; für zu saure Standorte bedeutet dies regelmäßige Kalkung bei erhöhtem Bedarf an organischer Substanz.

Zudem sollte eine Steigerung der organischen Bodensubstanz angestrebt werden, hierbei kann der Einsatz organischer Dünger, insbesondere von Kompost, vorteilhaft sein.

## 9 Literaturverzeichnis

Al-Falih AMK (2002) Factors affecting the efficiency of symbiotic nitrogen fixation by *Rhizobium*. Pakistan Journal of Biological Sciences 5(11), 1277-1293.

Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology 215, 403-410.

Barbetti MJ, Riley IT, You MP, Li H, Sivasithamparam K (2006) The association of necrotrophic fungal pathogens and plant parasitic nematodes with the loss of productivity of annual medic-based pastures in Australia and options for their management. Australasian Plant Pathology 35, 691-706.

Barbetti MJ (2007) Resistance in annual *Medicago* spp. to *Phoma medicaginis* and *Leptosphaerulina trifolii* and its relationship to induced production of a phytoestrogen. Plant Disease 91(3), 239-244.

Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S (2014) Ime4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4 (Version 1.0-6) [R package] Available from <a href="http://CRAN">http://CRAN</a>. Rproject.org/package= Ime4.

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (2016) Luzerne, Anbau – Konservierung - Verfütterung. LfL-Information. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Freising-Weihenstephan, Germany, 16 pp

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (2021) Gruber Tabelle zur Fütterung der Milchkühe, Zuchtrinder, Schafe, Ziegen, 47.

https://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/publikationen/daten/informationen/gruber\_tabelle\_fuetterung\_milchkuehe\_zuchtrinder\_schafe\_ziegen\_lfl-information.pdf

Becker K, Riffel A, Leithold G (2016) Sicherung des Ertragspotentials von Luzerne-Kleegrasbeständen durch Verbesserung des aktuellen Schwefelversorgungszustandes ökologisch bewirtschafteter Flächen – Situation und Bedeutung unter Praxisbedingungen. Abschlussbericht zum Projekt 100E104.

Berendsen RL, Pieterse CM, Bakker PA (2012) The rhizosphere microbiome and plant health. Trends in plant science 17(8), 478-486.

Bergmann W (1993) Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen, Gustav Fischer Verlag, Jena/Stuttgart.

Bhantana P, Rana MS, Sun X et al. (2021) Arbuscular mycorrhizal fungi and its major role in plant growth, zinc nutrition, phosphorous regulation and phytoremediation. Symbiosis 84, 19–37.

BÖLW (2018) Forschungsbedarf im Ökologischen Pflanzenbau aus Sicht der Praxis. https://www.boelw.de/forschungsbedarf

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (Hrsg.) (2023) Anbau und Verwertung kleinkörniger Leguminosen. Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), Bonn.

Bundessortenamt (2000) Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen. Landbuch-Verlag, Hannover. ISSN 1431 – 1089 <a href="https://www.bundessortenamt.de/bsa/media/Files/Richtlinie\_LW2000.pdf">https://www.bundessortenamt.de/bsa/media/Files/Richtlinie\_LW2000.pdf</a>

Cale NL, Walker PL, Sankar S, Robertson SM, Wilkins O, Belmonte MF (2024) Global mRNA profiling reveals the effect of boron as a crop protection tool against *Sclerotinia sclerotiorum*. AoB Plants 16 (6), https://doi.org/10.1093/aobpla/plae056.

Chapelle E, Mendes R, Bakker PA, Raaijmakers JM (2016) Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. The ISME journal 10(1), 265-268.

Chen A, Liu T, Wang Z, Chen X (2022) Plant root suberin: A layer of defence against biotic and abiotic stresses. Front. Plant Sci. 13:1056008. doi: 10.3389/fpls.2022.1056008

Cooley D (2024) \_sfheaders: Converts Between R Objects and Simple Feature Objects\_. R package version 0.4.4, <a href="https://CRAN.R-project.org/package=sfheaders">https://CRAN.R-project.org/package=sfheaders</a>>

Dobosz R, Krawczyk R (2021) Precrop Effect of Red Clover (*Trifolium pratense* L.) and Alfalfa (*Medicago sativa* L.) on the Population Development of the Northern Root-Knot Nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949 and on Succeeding Crops—A Pot Study. Agronomy 11(4), 722.

Dokwal D, Romsdahl TB, Kunz DA, Alonso AP, Dickstein R (2021) Phosphorus deprivation affects composition and spatial distribution of membrane lipids in legume nodules, Plant Physiology 185, Issue 4, 1847–1859.

Du J, Yu FH, Alpert P, Dong M (2009) Arbsucular mycorrhizal fungi reduce effects of physiological integration in *Trifolium repens*. Annals of Botany 104, 335-343.

Eder R, Kiewnick S, Grünland B (2019) Nematoden im Freilandgemüsebau. Agroscope Transfer Nr. 271 / 2019.

Faria M R, Costa LSAS, Chiaramonte JB, Bettiol W, Mendes R (2021) The rhizosphere microbiome: functions, dynamics, and role in plant protection. Tropical Plant Pathology 46, 13-25.

Frame J, Laidlaw AS (2013) Improved grassland management. Crowood.

Frayssinet S (2008) *Colletotrichum destructivum*: a new lucerne pathogen in Argentina. Australasian Plant Disease Notes 3(1), 68-68.

Fuchs JG, Thuerig B, Brandhuber R, Bruns C, Finckh MR, Fließbach A, Mäder P, Schmidt H, Vogt-Kaute W, Wilbois KP, Tamm L (2014) Evaluation of the causes of legume yield depression syndrome using an improved diagnostic tool. Applied Soil Ecology 79, 26-36. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.02.013

Fuchs J, Bruns C, Mäder P, Schmidt H, Thürig B, Wilbois KP, Tamm L (2013) Differenzialdiagnose: Eine Methode zur Ursacheneingrenzung bei Bodenmüdigkeit. Beiträge zur 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 14-15.

http://orgprints.org/21452/1/21452 Fuchs.pdf

Gardes M, Bruns TD (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular ecology 2(2), 113-118.

Ghasemi-Fasaei R, Ronaghi A (2008) Interaction of iron with copper, zinc, and manganese in wheat as affected by iron and manganese in a calcareous soil. Journal of Plant Nutrition 31(5), 839-848.

Głąb T (2013) Effect of tractor traffic and N fertilization on the root morphology of grass/red clover mixture. Soil and Tillage Research 134, 163-171.

Griffin GD (2015) Alfalfa. In: Barker KR, Pederson GA, Windham GL, Bartels JM (eds) Plant and Nematode Interactions. Wiley. 381–397.

Hancock JG (1996) Fungal and bacterial diseases of North American forage crops. Pasture and forage crop pathology, 163-186.

Hartemink AE, Barrow NJ (2023) Soil pH-nutrient relationships: the diagram. Plant and Soil 486(1), 209-215.

Hartig F (2017) Package 'DHARMa' residual diagnostics for hierarchical (multi-level/mixed) regression models. Version 0.1.5.

https://cran.r-project.org/web/packages/DHARMa/DHARMa.pdf

Hwang S F, Wang H, Gossen BD, Chang KF, Turnbull GD, Howard RJ (2006) Impact of foliar diseases on photosynthesis, protein content and seed yield of alfalfa and efficacy of fungicide application. European Journal of Plant Pathology 115, 389-399.

Jacob I, Hartmann S (2012) Sicherung und Verbesserung der Verfügbarkeit von ökologisch erzeugtem Rotkleesaatgut durch die Entwicklung von Selektionsverfahren gegenüber samenund bodenbürtigen Pilzkrankheiten zur Züchtung nachhaltig resistenter Sorten. Abschlussbericht zum BÖLN-Projekt 06OE161. http://orgprints.org/21664/

Jarvis SC, Robson AD (1982) Absorption and distribution of copper in plants with sufficient or deficient supplies. Annals of Botany 50, 151-160.

Kahle D, Wickham H (2013) ggmap: Spatial Visualization with ggplot2. The R Journal 5(1), 144-161. http://journal.r-project.org/archive/2013-1/kahle-wickham.pdf

Kape HE, Wacker K, Nawotke C, Pöplau R, Korten K, Kastell S (2019) Richtwerte für die Untersuchung und Beratung zur Umsetzung der Düngeverordnung vom 26. Mai 2017 in Mecklenburg-Vorpommern. Ministerium für Landwirtschaft und Umwelt Mecklenburg-Vorpommern.

https://www.lms-beratung.de/export/sites/lms/de/.galleries/Downloads LFB/DueV/DueV-Richtwerte-MV190114.pdf

Kassambara A (2023) \_ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots\_. R package version 0.6.0, <a href="https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr">https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr</a>

Köpke U, Rauber R, Schmidtke K (2016) Optimierungsstrategien zum Anbau von Körnerleguminosen mit temporären Mulch- und Direktsaatverfahren. Abschlussbericht des Verbundprojektes (FKZ 28110E087, 28110E088, 28110E089).

Koppenhöfer AM, Fuzy EM (2006) Effect of soil type on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis zealandica*, and *Heterorhabditis bacteriophora*. Journal of invertebrate Pathology 92(1), 11-22.

Lareen A, Burton F, Schäfer P (2016) Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes. Plant Mol Biol 90, 575–587.

Latunde-Dada AO, Bailey JA, Lucas JA (1997) Infection process of *Colletotrichum destructivum* O'Gara from lucerne (*Medicago sativa* L.). European Journal of Plant Pathology 103, 35-41.

Leath KT (2015) General Diseases. In: Taylor NL (ed) Clover Science and Technology - Agronomy Monographs. 205–233.

Lenth R (2024) \_emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.10.6, <a href="https://CRAN.R-project.org/package=emmeans">https://CRAN.R-project.org/package=emmeans</a>.

Liu L, Wang S, Guo X, Wang H (2019) Comparison of the effects of different maturity composts on soil nutrient, plant growth and heavy metal mobility in the contaminated soil. Journal of Environmental Management, Volume 250, 2019, 109525.

Liu Q, Xu R, Yan ZQ, Jin H, Cui HY, Lu LQ, Zhang DH, Qin B (2013) Phytotoxic allelochemicals from roots and root exudates of *Trifolium pratense*. J Agr Food Chem 61, 6321-6327.

Lowendorf HS (1980) Factors affecting survival of *Rhizobium* in soil. In: Alexander M (ed): Advances in Microbial Ecology. Plenum Press, New York.

Marangi M, Szymanska S, Eckhardt KU, Beske F, Jandl G, Hrynkiewicz K, Pétillon J, Baum C, Leinweber P (2024) Abundance of Human Pathogenic Microorganisms in the Halophyte Salicornia europaea L.: Influence of the Chemical Composition of Shoots and Soils. Agronomy 14, 2740.

Massicotte P, South A (2023) \_rnaturalearth: World Map Data from Natural Earth\_. R package version 1.0.1, <a href="https://CRAN.R-project.org/package=rnaturalearth">https://CRAN.R-project.org/package=rnaturalearth</a>>

Matute MM (2013) Soil nematodes of *Brassica rapa*: influence of temperature and pH. Advances in Natural Science 6(4), 20-26.

McGonigle TP, Miller MH, Evans DG, Fairchild GL, Swan JA (1990) A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol, 115 (3), 495-501.

Moon K (2020) \_webr: Data and Functions for Web-Based Analysis\_. R package version 0.1.5, <a href="https://CRAN.R-project.org/package=webr">https://CRAN.R-project.org/package=webr</a>

Murashige T, Skoog F (1962) A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum 15 (3), 473–497.

Murphy B (2015) Key soil functional properties affected by soil organic matter - evidence from published literature. IOP conference series: Earth and Environmental Science 25, 012008. IOP Publishing.

Natural Earth (2021a) Admin 0 – Boundary Lines: Land Boundaries, Version 4.1.0. <a href="https://www.naturalearthdata.com/downloads/10m-cultural-vectors/10m-admin-0-boundary-lines/">https://www.naturalearthdata.com/downloads/10m-cultural-vectors/10m-admin-0-boundary-lines/</a>

Natural Earth (2021b) Cross Blended Hypso with Shaded Relief, Water, and Drainages: Version 2.1.0. <a href="https://www.naturalearthdata.com/downloads/10m-cross-blend-hypso/cross-blended-hypso">https://www.naturalearthdata.com/downloads/10m-cross-blend-hypso/cross-blended-hypso</a>

Niewiadomska A, Klama J (2005) Pesticide Side Effect on the Symbiotic Efficiency and Nitrogenase Activity of *Rhizobiaceae* Bacteria Family. Pol J Microbiol 54, 43-48.

Öhberg, H, Ruth, P & Bang, U (2008) Differential responses of red clover cultivars to *Sclerotinia trifoliorum* under diverse natural climatic conditions. Plant Pathology 57, 459-466.

Oksanen J, Simpson GL, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O'Hara RB, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner H, Barbour M, Bedward M, Bolker B, Borcard D, Carvalho G, Chirico M, De Caceres M, Durand S, Evangelista HBA,

FitzJohn R, Furneaux B, Hannigan G, Hill MO, Lahti L, McGlinn D, Ouellette MH, Cunha ER, Smith T, Stier A, ter Braak CJF, Weedon J (2022) vegan: Community ecology package (2.6-4)

Olorunfemi I, Fasinmirin J, Ojo A (2016) Modeling cation exchange capacity and soil water holding capacity from basic soil properties. Eurasian Journal of Soil Science 5(4), 266-274.

Pebesma E (2018) Simple Features for R: Standardized Support for Spatial Vector Data. The R Journal 10 (1), 439-446. <a href="https://doi.org/10.32614/RJ-2018-009">https://doi.org/10.32614/RJ-2018-009</a>

Pebesma E, Bivand R (2023) Spatial Data Science: With Applications in R. Chapman and Hall/CRC. <a href="https://doi.org/10.1201/9780429459016">https://doi.org/10.1201/9780429459016</a>

Pederson GA, Quesenberry KH (2015) Clovers and Other Forage Legumes. In: Barker KR, Pederson GA, Bartels JM (eds) Plant and Nematode Interactions. Wiley. 399–425.

Pflughöft O, Merker C, von Tiedemann A, Schäfer BC (2012) Incidence and Importance of Fungal Infection in Field Peas (*Pisum sativum* L.) in Germany. Gesunde Pflanzen 64, 39-48.

Primieri S, Santos JCP, Antunes PM (2021) Nodule-associated bacteria alter the mutualism between arbuscular mycorrhizal fungi and N2 fixing bacteria. Soil Biology and Biochemistry154, 108149.

R Core Team (2024) \_R: A Language and Environment for Statistical Computing\_. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <a href="https://www.R-project.org/">https://www.R-project.org/</a>

Reed KFM (2016) Fertility of herbivores consuming phytoestrogen-containing *Medicago* and *Trifolium* species. Agriculture 6(3), 35.

Roberts R, Jackson RW, Mauchline TH, Hirsch PR, Shaw LJ, Döring TF, Jones HE (2017) Is there sufficient *Ensifer* and *Rhizobium* species diversity in UK farmland soils to support red clover (*Trifolium pratense*), white clover (*T. repens*), Lucerne (*Medicago sativa*) and black medic (*M. lupulina*)? Applied Soil Ecology 120, 35-43.

Rousk J, Brookes PC, Bååth E (2010) Investigating the mechanisms for the opposing pH relationships of fungal and bacterial growth in soil. Soil Biology and Biochemistry 42(6), 926-934.

Schmidt H, Fuchs J, Möller D, Wolf D (2014) Schlagauswahl. In: Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (Hrsg.): Körnerleguminosen und Bodenfruchtbarkeit. Strategien für einen erfolgreichen Anbau.

Schubiger FX, Streckeisen P, Boller B (2003) Resistance to southern anthracnose (*Colletotrichum trifolii*) in cultivars of red clover (*Trifolium pratense*). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 39 (Special Issue), 309-312.

Schütz L, Gattinger A, Meier M, Müller A, Boller T, Mäder P, Mathimaran N (2018): Improving crop yield and nutrient use efficiency via biofertilization – a global meta-analysis. Front Plant Sci 8, 2204.

Serikstad GL, de Boer A, Magnusson C (2013) Clover fatigue – a reason for precaution in organic farming? In: Løes AK, Askegaard M, Langer V, Partanen K, Pehme S, Rasmussen IA, Salomon E, Sørensen P, Ullvén K, Wivstad M (Eds.) Organic farming systems as a driver for change. NJF Report 9 (3), 59-60. http://orgprints.org/24545/

## Literaturverzeichnis

Sherrell CG (1983) Boron deficiency and response in white and red clovers and lucerne. New Zealand Journal of Agricultural Research 26, 197-203.

Šišić A, Baćanović-Šišić J, Schmidt H, Finckh MR (2020) First report of *Fusarium flocciferum* causing root rot of pea (*Pisum sativum*) and faba bean (*Vicia faba*) in Germany. Plant Disease 104(1), 283-283.

Šišić A, Baćanović-Šišić J, Schmidt H, Finckh MR (2022) Farming system effects on root rot pathogen complex and yield of faba bean (*Vicia faba*) in Germany. Frontiers in Plant Science 13, 1009906.

Silva WMD, Bianchini A, Cunha CAD (2016) Modeling and correction of soil penetration resistance for variations in soil moisture and soil bulk density. Engenharia Agrícola 36(3), 449-459.

Soegaard K, Moller K (2006) Can higher legume diversity reduce clover soil fatigue? Poster at: Joint Organic Congress, Odense, Denmark, May 30-31 2006.

South A, Michael S, Massicotte P (2024) \_rnaturalearthhires: High Resolution World Vector Map Data from Natural Earth used in rnaturalearth\_. R package version 1.0.0.9000, https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires, <a href="https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires">https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires</a>, <a href="https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires">https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires</a>, <a href="https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires">https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires</a>, <a href="https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires">https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires</a>, <a href="https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires">https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires</a>, <a href="https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires">https://github.com/ropensci/rnaturalearthhires</a>,

Stoltz E, Wallenhammar AC (2012): Micronutrients reduce root rot in red clover (*Trifolium pratense*). J Plant Dis Protect 119, 92-99.

Tennekes M (2018) tmap: Thematic Maps in R. \_Journal of Statistical Software\_, \*84\*(6), 1-39. doi:10.18637/jss.v084.i06 <a href="https://doi.org/10.18637/jss.v084.i06">https://doi.org/10.18637/jss.v084.i06</a>

Therneau T, Atkinson B (2022) \_rpart: Recursive Partitioning and Regression Trees\_. R packageversion 4.1.19, <a href="https://CRAN.R-project.org/package=rpart">https://CRAN.R-project.org/package=rpart</a>

Tucak M, Popović S, Čupić T, Španić V, Meglič V (2013) Variation in yield, forage quality and morphological traits of red clover (*Trifolium pratense L*.) breeding populations and cultivars. Zemdirbyste-Agriculture 100(1), 63-70.

Unkovich M, Baldock J, Farquharson R (2018) Field measurements of bare soil evaporation and crop transpiration, and transpiration efficiency, for rainfed grain crops in Australia – A review. Agricultural water management 205, 72-80.

Urbatzka P, Schlagenhaufer M, Schönherr J, Jobst F, Hess M, Jacob I (2017) Prüfung der Ursachen für Bodenmüdigkeit bei Erbsen. Beiträge zur 14. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 18-19.

van der Heijden MGA, Wagg C, Lukasiewicz K, Olbrecht L (2013) Bedeutung von Mykorrhiza-Pilzen für Rotklee-Gras-Mischungen. In: D. Neuhoff, C. Stumm, S. Ziegler, G. Rahmann, U. Hamm & U. Köpke (Hrsg.): Ideal und Wirklichkeit - Perspektiven Ökologischer Landbewirtschaftung. Beiträge zur 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Bonn, 5. - 8. März 2013. Verlag Dr. Köster, Berlin.

Vleugels T, Baert J, Bockstaele van E (2013) Morphological and pathogenic characterization of genetically diverse *Sclerotinia* isolates from European red clover crops (*Trifolium pratense* L.). Journal of Phytopathology 161, 254-262.

#### Literaturverzeichnis

Volenec J, Johnson K (2004) Managing Alfalfa Autotoxicity. Agronomy Guide, Purdue University Cooperative Extension Service.

Wickham H (2016) ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag, New York.

Warden BT, Reisenauer HM (1991) Manganese-iron interactions in the plant-soil system. Journal of plant nutrition 14(1), 7-30.

White TJ (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: A guide to methods and applications/Academic Press, Inc.

Willis CB, Thompson LS (1969) Effect of the root-lesion nematode on yield of four forage legumes under greenhouse conditions. Can J Plant Science 49, 5.

Yuan J, Zhao J, Wen T, Zhao M, Li R, Goossens P, Huang Q, Bai Y, Vivanco JM, Kowalchuk GA, Berendsen RL, Shen Q (2018) Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection. Microbiome 6, 1-12.

## 10 Danksagung

Wir danken herzlich allen Personen, die am Projekt mitgewirkt und unser Vorhaben unterstützt haben: Besonders danken wir allen teilnehmenden Betrieben für ihr Interesse, ihre Auskünfte und den fruchtbaren Austausch mit uns. Ein sehr großer Dank geht an alle Berater:innen und Multiplikator:innen, die uns Kontakte zu Betrieben vermittelt und so maßgeblich dazu beigetragen haben, unser Projekt bekannt zu machen und die Sammlung von Proben bundesweit auf verschiedenen Standorten und Betriebstypen zu ermöglichen. Wir danken außerdem allen Mitgliedern der Projektbegleitenden Arbeitsgruppe für den fachlichen Austausch.

## 11 Veröffentlichungen

## 11.1 Vorträge und Poster

## 2021

Jacob I (2021) Untersuchungen zur Leguminosenmüdigkeit in Klee- und Luzernebeständen (TriSick – Trifolium Sickness). Doktorand:innen-Seminar Phytomedizin der Universität Rostock, AUF, 1.7.2021, online.

Jacob I (2021) Untersuchungen zur Leguminosenmüdigkeit in Klee- und Luzernebeständen (TriSick – Trifolium Sickness) Leguminosentag Ost der Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern und des Sächsischen Landesamtes für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie, 8.12.2021, online.

## 2022

Baum C (2022) Ursachen der Leguminosenmüdigkeit in Klee- und Luzernebeständen aufdecken. 2. Leguminosentag Ost, 06.12.2022 bis 07.12.2022, Onlineveranstaltung, Veranstalter: LFA MV und LfULG Sachsen.

Bremer J (2022) Untersuchungen zur Rolle der Wurzelsymbionten beim Auftreten von Kleemüdigkeit. Jahrestagung der AGGF 2022: Grünland im Spannungsfeld Forschung, Wissenstransfer und öffentliche Wahrnehmung, 26.08.2022, Soest. Posterbeitrag.

Bremer J (2022) Ist der Wechsel von Mutualismus zu Parasitismus durch Symbionten eine Ursache der Kleemüdigkeit? DBG-Jahrestagung, 07.09.2022, Trier.

Müller J (2022) Krankheiten bei kleinkörnigen Leguminosen. Praxistag Grünland und Kleegras im Ökolandbau, Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft u. Fischerei MV, 10.05.2022, Güstrow.

Kühnl A, Struck C, Müller J, Baum C, Vogt L, Jacob I (2022): Krankheiten und Schädlinge auf kleemüden Flächen. Jahrestagung der AGGF 2022: Grünland im Spannungsfeld Forschung, Wissenstransfer und öffentliche Wahrnehmung 26. August 2022, Soest. Poster

Steinfurth K (2022) Ursachen der Leguminosenmüdigkeit in Klee- und Luzernebeständen aufdecken – der holistische Erhebungsansatz im Verbundprojekt "TriSick". GFPi Sommertagung Futterpflanzen 2022, 27.04.2022, Göttingen.

Steinfurth K (2022) Ursachen von Kleemüdigkeit bei Rotklee und Luzerne. Jahrestagung der AGGF 2022: Grünland im Spannungsfeld Forschung, Wissenstransfer und öffentliche Wahrnehmung, 26.08.2022, Soest.

## 2023

Baum C (2023) Stickstofffixierleistung – Potenziale und Kontrollgrößen Faktoren der Bodenmüdigkeit in der organischen Bodensubstanz 2023: Biopark-Stammtisch Thema Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne, 27.09.2023, Broderstorf.

Jacob I (2023) Leguminosenmüdigkeit bei groß- und kleinkörnigen Leguminosen: Mögliche Ursachen, Symptome, Maßnahmen. Veranstaltung des Landratsamt Biberach, online, 6.2.2023.

Jacob I, Baum C, Bremer J, Kühnl A, Müller J, Ohlwaerter A, Steinfurth K, Struck C, Vogt L (2023) Erste Erkenntnisse zu Ursachen der Kleemüdigkeit bei Rotklee und Luzerne. 16. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 7. bis 10. März 2023, Frick (CH).

Jacob I (2023) Leguminosenmüdigkeit bei groß- und kleinkörnigen Leguminosen: Mögliche Ursachen, Symptome, Maßnahmen. Interne Schulung des LeguNet, online, 28.08.2023.

Jacob I (2023) Leguminosenmüdigkeit bei groß- und kleinkörnigen Leguminosen: Mögliche Ursachen, Symptome, Maßnahmen. LeguNet-Veranstaltung "Leguminosenmüdigkeit - Diagnose und Gegenmaßnahmen", online, 13.12.2023.

Kühnl A (2023) Ursachen von Kleemüdigkeit: Krankheiten und Schädlinge auf kleemüden Flächen. 63. Deutsche Pflanzenschutztagung, Georg-August-Universität Göttingen, 28.09.2023.

Müller J (2023) Leguminosenmüdigkeit im Rotklee- und Luzerneanbau. Leguminosentag Ost 2023, 06.12.2023, online.

Steinfurth K (2023) Deficiencies of selected micronutrients as factors of red clover and lucerne decline. EGF Symposium 2023, 11.-14.06.2023, Vilnius. Posterbeitrag.

Steinfurth K (2023) Typische Krankheiten und Schädlinge bei Rotklee und Luzerne / Einfluss der Nährstoffversorgung auf das Auftreten von Leguminosenmüdigkeit. Biopark - Stammtisch, Thema Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne, 27.09.2023, Broderstorf.

## 2024

Jacob I (2024) Kleemüdigkeit – wo stehen wir? Workshop der EPS "Anbau von Leguminosen", 4.7.2024, Kassel-Wilhelmshöhe.

Jacob I (2024) Ursachen der Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne - aktuelle Ergebnisse. Große Versuchsfeldführung auf dem Öko-LSV Maßhalderbuch, 10.7.2024, Hohenstein.

Jacob I (2024) Ursachen der Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne - aktuelle Ergebnisse. Feldtag des LLH und Demonet-KleeLuzPlus auf dem Öko-Versuchsfeld, 17.9.2024, Ober-Erlenbach.

Jacob I (2024) Ursachen der Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne - aktuelle Ergebnisse. Austausch der Projekte zur Nachhaltigkeit Bioland Beratung GmbH und Öko-BeratungsGesellschaft mbH im Rahmen des Organic Advice Network. 15.11.2024, online.

Kühnl A, Menezes BF, Struck C, Müller J, Baum C, Jacob I (2024) Differentialdiagnose: Ein Versuch zur Ursachenforschung von Kleemüdigkeit. 17. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 5. - 8.03.2024, Gießen. Posterbeitrag.

Steinfurth K, Müller J (2024) Unterschiede zwischen den Mikronährstoffgehalten verschiedener Pflanzenkompartimente des Rotklees. 17. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 5.–8.03.2024, Gießen. Posterbeitrag.

Müller J (2024) Kleemüdigkeit - ein Phänomen näher betrachtet. Netzwerktreffen Demonet-KleeLuzPlus, 24.09.2024, Todendorf.

Steinfurth K, Müller J (2024) Verringerte Rohproteingehalte in Rotklee und Luzerne bei Leguminosenmüdigkeit. 2. Nationaler Leguminosen-Kongress, 7.–10.10.2024, Leipzig. Posterbeitrag.

Steinfurth K (2024) Aktuelle Ergebnisse zur Kleemüdigkeit. Öko-Ackerbautag, 03.12.2024, Biendorf.

## 11.2 Veröffentlichungen

#### 2022

Bremer J, Eckhardt KU, Müller J, Struck C, Jacob I, Baum C, Leinweber P (2022) Untersuchungen zur Rolle der Wurzelsymbionten beim Auftreten von Kleemüdigkeit. In: Wolf M. (Ed.), Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft Grünland und Futterbau - Grünland im Spannungsfeld Forschung, Wissenstransfer und öffentliche Wahrnehmung. Tagungsband zur 65. Jahrestagung am 25. - 27. August 2022 in Soest. AGGF, 42-45.

Kühnl A, Struck C, Müller J, Baum C, Vogt L, Jacob I (2022) Krankheiten und Schädlinge auf kleemüden Flächen. In: Wolf M. (Ed.), Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft Grünland und Futterbau - Grünland im Spannungsfeld Forschung, Wissenstransfer und öffentliche Wahrnehmung. Tagungsband zur 65. Jahrestagung am 25. - 27. August 2022 in Soest. AGGF, 127-130.

Steinfurth K, Bremer J, Kühnl A, Jacob I (2022). Ursachen von Kleemüdigkeit bei Rotklee und Luzerne. In: Wolf M. (Ed.), Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft Grünland und Futterbau - Grünland im Spannungsfeld Forschung, Wissenstransfer und öffentliche Wahrnehmung. Tagungsband zur 65. Jahrestagung am 25. - 27. August 2022 in Soest. AGGF, 42-45.

## 2023

Baum C (2023) Stickstofffixierleistung – Potenziale und Kontrollgrößen Faktoren der Bodenmüdigkeit in der organischen Bodensubstanz 2023: Biopark-Stammtisch Thema Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne, 27.09.2023, Broderstorf.

Jacob I, Baum C, Bremer J, Kühnl A, Müller J, Ohlwaerter A, Steinfurth K, Struck C, Vogt L (2023) Erste Erkenntnisse zu Ursachen der Kleemüdigkeit bei Rotklee und Luzerne. In: One Step Ahead - einen Schritt voraus! Beiträge zur 16. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Frick (CH), 7. bis 10. März 2023, Verlag Dr. Köster, Berlin. https://orgprints.org/id/eprint/50695/1/Beitrag 323 final b.pdf

Jacob I (2023) Ergebnisse & Bericht aus dem Projekt TriSick - Untersuchungen zur Leguminosenmüdigkeit in Klee- und Luzernebeständen. Feldbegehung der LWK NRW im Rahmen des Demonet-KleeLuzPlus und der WRRL, 4.10.2023, Harsewinkel.

Kühnl A, Struck C, Müller J, Baum C, Jacob I (2023) Ursachen von Kleemüdigkeit: Krankheiten und Schädlinge auf kleemüden Flächen. In: Julius Kühn-Institut (Hrsg.): Julius-Kühn-Archiv 475, 509-510.

Steinfurth K & Müller J (2023) Deficiencies of selected micronutrients as factors of red clover and lucerne decline. In: Grassland Science in Europe - The future role of ley-farming in cropping systems, 261-263.

## 2024

Kühnl A, Menezes BF, Struck C, Müller J, Baum C, Jacob I (2024) Differentialdiagnose: Ein Versuch zur Ursachenforschung von Kleemüdigkeit. In: Bruder et al. (Hrsg.) Landwirtschaft und Ernährung - Transformation macht nur gemeinsam Sinn. 17. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 5.-8. März 2024, Gießen.

## Veröffentlichungen

Steinfurth K, Müller J (2024) Unterschiede zwischen den Mikronährstoffgehalten verschiedener Pflanzenkompartimente des Rotklees. In: Bruder et al. (Hrsg.), Landwirtschaft und Ernährung – Transformation macht nur gemeinsam Sinn. Tagungsband 17. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 5.–8.3.2024, Gießen.

Steinfurth K, Müller J (2024). Verringerte Rohproteingehalte in Rotklee und Luzerne bei Leguminosenmüdigkeit. In: Perspektiven für Landwirtschaft und Ernährung, Kongressband 2. Nationalen Leguminosen-Kongress, 7.–10.10.2024, Leipzig.

## 11.3 Vorträge und Veröffentlichungen geplant bzw. in Vorbereitung

## 2025

Jacob I. Neue Erkenntnisse zur Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne. Öko-Ackerbautagung Süd, 22.01.2025, Erdweg.

Jacob I. Neue Erkenntnisse zur Leguminosenmüdigkeit bei Rotklee und Luzerne. Öko-Ackerbautagung Ost, 23.01.2025, Seddin.

Kühnl A, Steinfurth K, Jacob I, Müller J, Baum C & Struck C. The myco-pathobiome of clover and alfalfa in low-growing stands.

Menezes BF, Kühnl A, Steinfurth K, Hakl U, Jacob I, Müller J, Baum C & Struck C. A diagnostic tool for identifying the causes of clover decline.

## Anlagen

Tabelle A1: Liste der beprobten Standorte. Zusätze wie "\_A" und "\_B" weisen auf unterschiedliche Schläge desselben Betriebs hin.

Jahr	Jahreszeit (Kampagne )	e Standort	Breiten- grad	Längengra d	Datum	Art	Zustand	Bewirt- schaftung	Versuchs- fläche?
2021	Herbst	Gischow_A	53.42422 5	12.020198	18.08.2021	Rotklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Gischow_A	53.42416 8	12.020467	18.08.2021	Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
2021	Herbst	Ziegendorf	53.29264 9	11.846883	11.08.2021	Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Ziegendorf	53.29274 6	11.846788	11.08.2021	Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2021	Herbst	Bentfeld	54.15777 4	10.874779	31.08.2021	Rotklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Bentfeld	54.15773 2	10.874821	31.08.2021	Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
2021	Herbst	Friedland	53.64923 3	13.370433	30.09.2021	Rotklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Friedland	53.65005 9	13.370158	30.09.2021	Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
2021	Herbst	Nußloch_A	49.32147	8.73192	02.09.2021	Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Nußloch_B	49.32033 2	8.731225	02.09.2021	Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2021	Herbst	Waizenbach_A	50.15178 9	9.781164	09.09.2021	Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Waizenbach_B	50.13391 5	9.770499	09.09.2021	Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2021	Herbst	Honsbronn_A	49.4654	9.902717	17.09.2021	Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Honsbronn_A	49.46518 3	9.90285	17.09.2021	Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2021	Herbst	Sauldorf_A	47.91640	9.101854	21.09.2021	Rotklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Sauldorf_B	47.91566	9.104337	21.09.2021	Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
2021	Herbst	Bräunlingen	47.89856 7	8.454233	21.09.2021	Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Bräunlingen	47.8988 48.47656	8.453467	21.09.2021	Luzerne	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2021	Herbst	Kumhausen	40.47030	12.194467	28.09.2021	Rotklee	h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Kumhausen	48.47685 48.42958	12.19475	28.09.2021	Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2021	Herbst	Vilsbiburg	3 48.42938	12.338883	28.09.2021	Luzerne	h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Vilsbiburg	3 48.98235	12.3385	28.09.2021	Luzerne	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2021	Herbst	Unterrot_A	8	9.781738	14.10.2021	Luzerne	h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Unterrot_B	48.98171 49.02568	9.781138	14.10.2021	Luzerne	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2021	Herbst	Steppach	6	9.75843	15.10.2021	Luzerne	h	ökologisch	nein
2021	Herbst	Steppach	49.02578 48.75208	9.757878	15.10.2021	Luzerne	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2021	Herbst	Birenbach	3 48.75181	9.6539	25.10.2021	Rotklee	h	konventionell	nein
2021	Herbst	Birenbach	7	9.654017	25.10.2021	Rotklee	wüchsig wuchsschwac	konventionell	nein
2021	Herbst	Hohenacker	48.87565 48.87571	9.309617	26.10.2021	Luzerne	h	ökologisch	nein
	Herbst	Hohenacker	7 51.05548	9.30935	26.10.2021	Luzerne	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
	Frühjahr	Nossen_A	3 51.05521				h	konventionell	
2022	Frühjahr	Nossen_B	7				wüchsig wuchsschwac	konventionell	•
2022	Frühjahr	Harsewinkel_A	51.9949 51.99488	8.26235			h	ökologisch	nein
2022	•	Harsewinkel_A	9 52.17396	8.262361			wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Melle	7	8.336117	27.04.2022	Rotklee	h	ökologisch	nein

## Anlagen

			52.17406					
2022	Frühjahr	Melle	7 49.60706	8.336533	27.04.2022 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Biedesheim_A	7	8.0983	03.05.2022 Luzerne	h	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Biedesheim_B	49.60465	8.100783	03.05.2022 Luzerne	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Broderstorf_A	54.08485 54.08478	12.2542	11.05.2022 Rotklee	h	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Broderstorf_A	3	12.254767	11.05.2022 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Vorderbollhagen	54.1319	11.859133	16.05.2022 Rotklee	h	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Vorderbollhagen	54.13175 53.40313	11.859033	16.05.2022 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Dammsee	9 53.40308	13.627389	17.05.2022 Rotklee	h	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Dammsee	3	13.627183	17.05.2022 Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Dorfen_A	48.28506	12.092183	17.05.2022 Rotklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Dorfen_B	48.27998 3	12.11195	17.05.2022 Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Kobrow_A	53.67178 3	11.806167	25.05.2022 Rotklee und Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Kobrow_A	53.67221 7	11.80675	25.05.2022 Rotklee und Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Friedland	53.64842 1	13.369817	07.07.2022 Rotklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2022	Frühjahr	Friedland	53.64851 7	13.3704	07.07.2022 Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
	Herbst	Wokern	53.757	12.323233	07.09.2022 Luzerne	wuchsschwac h	konventionell	nein
	Herbst	Wokern	53.75708	12.325583	07.09.2022 Luzerne	wüchsig	konventionell	
						wuchsschwac		
	Herbst	Gottin	53.8548 53.85498	12.4769	07.09.2022 Luzerne	h	konventionell	nein
	Herbst	Gottin	3	12.4777	07.09.2022 Luzerne	wüchsig wuchsschwac	konventionell	nein
	Herbst	Kobrow_A		11.806667	12.09.2012 Luzerne	h	ökologisch	nein
2022	Herbst	Kobrow_A	53.67225	11.806983	12.09.2012 Luzerne	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2022	Herbst	Gischow_B	53.4338 53.43388	12.014267	19.09.2022 Rotklee	h	ökologisch	nein
2022	Herbst	Gischow_B	3	12.014117	19.09.2022 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2022	Herbst	Lindern	53.21995 53.21981	7.879933	21.09.2022 Luzerne	h	konventionell	nein
2022	Herbst	Lindern	7	7.879933	21.09.2022 Luzerne	wüchsig wuchsschwac	konventionell	nein
2022	Herbst	Friedland	53.6484	13.369867	04.10.2022 Rotklee	h	ökologisch	nein
2022	Herbst	Friedland	53.64845 49.45543	13.370083	04.10.2022 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2022	Herbst	Honsbronn_B	3	9.90025	05.10.2022 Luzerne	h	ökologisch	nein
2022	Herbst	Honsbronn_C	49.4553	9.899733	05.10.2022 Luzerne	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2022	Herbst	Arnstein	49.97395	10.018967	06.10.2022 Luzerne	h	ökologisch	nein
2022	Herbst	Arnstein	49.97313	10.01835	06.10.2022 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2022	Herbst	Biedesheim_B	49.60265	8.09625	11.10.2022 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2022	Herbst	Biedesheim_B	49.60455	8.100933	11.10.2022 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2022	Herbst	Broderstorf_A	54.08476 7	12.254767	13./27.10.2022 Rotklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2022	Herbst	Broderstorf_A	54.08471 7	12.254767	13./27.10.2022 Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
2022	Herbst	Dornstadt	48.47508 3	9.903833	18.10.2022 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2022	Herbst	Dornstadt	48.4749	9.903933	18.10.2022 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2022	Herbst	Poel_A	53.9907	11.4743	01.12.2022 Rotklee	wuchsschwac h	konventionell	ja
	Herbst	Poel B	53.99051 7	11.47405	01.12.2022 Rotklee	wüchsig	konventionell	•
2023	Frühjahr	Hamburg	53.71001	10.160117	12.04.2023 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Hamburg	53.7101	10.159217	12.04.2023 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
_0_0			23 101			9		

2022	Frühighe	Haraquinkal D	51.99456	0.0504	40.04.2022 Policies	wuchsschwac	#Icala mia ah	nain
2023	Frühjahr	Harsewinkel_B	7 51.99476	8.2591	19.04.2023 Rotklee	h 	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Harsewinkel_B	7	8.257567	19.04.2023 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Treuchtlingen_A	48.9378	11.141817	25.04.2023 Rotklee und Luzerne		ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Treuchtlingen_A	48.93705 53.99058	11.143533	25.04.2023 Rotklee und Luzerne	wuchsschwac	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Poel_A	3 53.99046	11.474517	26.04.2023 Rotklee	h	konventionell	ja
2023	Frühjahr	Poel_B	7 53.64843	11.474167	26.04.2023 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	konventionell	ja
2023	Frühjahr	Friedland	3 53.64833	13.3698	03.05.2023 Rotklee	h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Friedland	3 49.08078	13.370067	03.05.2023 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Beratzhausen_A	3 49.08028	11.811	03.05.2023 Rotklee und Luzerne		ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Beratzhausen_B	3	11.815	03.05.2023 Rotklee und Luzerne	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Gischow_A	53.4241	12.0202	08.05.2023 Rotklee	h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Gischow_A	53.4243 49.97981	12.020367	08.05.2023 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Stadelhofen_A		11.183117	09.05.2023 Luzerne	h	konventionell	nein
2023	Frühjahr	Stadelhofen_A	7 54.08461	11.18315	09.05.2023 Luzerne	wüchsig wuchsschwac	konventionell	nein
2023	Frühjahr	Broderstorf_A	7	12.25405	10.05.2023 Rotklee	h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Broderstorf_A	54.08468 3	12.254117	10.05.2023 Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Broderstorf_B	54.08115	12.24585	10.05.2023 Rotklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Broderstorf_B	54.08113	12.245733	10.05.2023 Rotklee	wüchsig	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Wokern	53.75713	12.325983	22.05.2023 Luzerne	wuchsschwac h	konventionell	nein
2023	Frühjahr	Wokern	53.75705	12.325617	22.05.2023 Luzerne	wüchsig	konventionell	nein
2023	Frühjahr	Kobrow_B	53.6761	11.8604	17.05.2023 Rotklee und Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Kobrow_B		11.859867	17.05.2023 Rotklee und Luzerne	Ü	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Arendsee	52.87906 7	11.349767	31.05.2023 Inkarnatklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Arendsee	52.8791	11.34945	31.05.2023 Inkarnatklee	wüchsig	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Biedesheim_C	49.60243	8.096633	07.06.2023 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Biedesheim_B	49.60451	8.10075	07.06.2023 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Arnstein	49.97353	10.018467	15.05.2023 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Arnstein	49.97316	10.018383	15.05.2023 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Jesewitz		12.527533	03.07.2023 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Jesewitz	51.43753 3	12.527483	03.07.2023 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2023	Frühjahr	Villmar_A	50.39685	8.250667	06.07.2023 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	ja
2023	Frühjahr	Villmar_A	50.39626 7	8.2509	06.07.2023 Luzerne	wüchsig	ökologisch	ja
2023	Herbst	Bad Vilbel	50.1946	8.75755	15.08.2023 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2023	Herbst	Bad Vilbel	50.19441 7	8.75775	15.08.2023 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2023	Herbst	Hamburg	53.71051 7	10.15925	21.09.2023 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
2023	Herbst	Hamburg	53.71048 3	10.159083	21.09.2023 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2023	Herbst	Arnstein	49.97356 7	10.01845	20.09.2023 Luzerne	wuchsschwac h	ökologisch	nein
	Herbst	Arnstein	49.97326 7	10.018283	20.09.2023 Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein
2023		Stadelhofen_A	49.97843	11.183017	21.09.2023 Luzerne	wuchsschwac h	konventionell	nein
2023	Herbst	Stadelhofen_A		11.183233	21.09.2023 Luzerne	wüchsig	konventionell	nein
2023	Herbst	Harsewinkel B	51.99456 7	8.2591	05.10.2023 Rotklee	wuchsschwac h	ökologisch	nein
-		_					J	

## Anlagen

				51.99476		05 40 0000 B #1				
Standard	2023	Herbst	Harsewinkel_B	7 54.08111	8.257567	05.10.2023 Rotklee	wüchsig wuchsschwac	ökologisch	nein	
Nerbast   Bridge   Bridge   Singhofen   50.2437   50.2437   50.2437   70.223   Nerbast   Singhofen   50.2437   70.223   Nerbast   Singhofen   50.2437   70.2337	2023	Herbst	Broderstorf_B	-	12.24545	23.10.2023 Rotklee	h	ökologisch	nein	
Person	2023	Herbst	Broderstorf_B	3	12.245733	23.10.2023 Rotklee	•	ökologisch	nein	
	2023	Herbst	Singhofen	7	7.856383	25.10.2023 Luzerne		konventionell	nein	
	2023	Herbst	Singhofen	7	7.855767	25.10.2023 Luzerne	•	konventionell	nein	
Frühjahr   Villmar_B	2023	Herbst	Jesewitz		12.527233	01.11.2023 Luzerne		ökologisch	nein	
2024   Frühjahr   Villmar_B   NA	2023	Herbst	Jesewitz		12.527483	01.11.2023 Luzerne	•	ökologisch	nein	
Prühjahr   Lutheran   Frühjahr   Lutheran   Frühjahr   Lutheran   Frühjahr   Lutheran   Frühjahr   Lutheran   Frühjahr   Jesewitz   S1.43728   12.00465   12.04.2024 Luzerne   Wüchsig wuchsschwac wuchsschwac schwac sch	2024	Frühjahr	Villmar_B		8.237283	11.04.2024 Luzerne		ökologisch	nein	
2024   Frühjahr   Lutheran   7   12.0051   12.04.2024 Luzerne   N   Okologisch   nein	2024	Frühjahr	Villmar_B		NA	11.04.2024 Luzerne	•	ökologisch	nein	
Prühjahr   Jesewitz   51.43725   12.527278   17.04.2024 Luzerne   Nuchsig wichsig wi	2024	Frühjahr	Lutheran		12.0051	12.04.2024 Luzerne		ökologisch	nein	
Prühjahr   Jesewitz	2024	Frühjahr	Lutheran	53.4028	12.00465	12.04.2024 Luzerne	•	ökologisch	nein	
Prühjahr   Jesewitz   3   12.5274   17.04.2024 Luzerne   wüchsig wuchsschwach   wüchsig wüchsschwach   h   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   h   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   h   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   h   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   h   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   h   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   h   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   h   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsschwach   h   wüchsig wüchsig wüchsig wüchsig wüchsig wüchsig wüchsschwach   wüchsig wüchsi	2024	Frühjahr	Jesewitz		12.527278	17.04.2024 Luzerne		ökologisch	nein	
Prühjahr   Honsbronn_D   3   9.897617   24.04.2024 Luzerne   h   Ökologisch   nein   49.45393   49.45393   49.45393   24.04.2024 Luzerne   wüchsig   Wüchs	2024	Frühjahr	Jesewitz	3	12.5274	17.04.2024 Luzerne	•	ökologisch	nein	
2024         Frühjahr         Honsbronn_C         3         9.898217         24.04.2024 Luzerne         wüchsig wuchsschwac wuchsschwac h         ökologisch         nein           2024         Frühjahr         Broderstorf_B         54.0814         12.24465         26.04.2024 Rotklee         wüchsig wuchsschwac	2024	Frühjahr	Honsbronn_D	3	9.897617	24.04.2024 Luzerne		ökologisch	nein	
Prühjahr   Broderstorf_B   54.08145   12.244657   26.04.2024 Rotklee   h   ökologisch   nein	2024	Frühjahr	Honsbronn_C		9.898217	24.04.2024 Luzerne	•	ökologisch	nein	
2024   Frühjahr   Stadelhofen_B   49.96878   3   11.162483   06.05.2024 Luzerne   h   konventionell   nein   49.96888   49.96888   49.96888   3   11.162467   06.05.2024 Luzerne   wüchsig   konventionell   nein   49.96888   49.96888   3   11.162467   06.05.2024 Luzerne   wüchsig   konventionell   nein   wuchsschwac   okologisch   nein   wuchsschwac   wuchsschwac   okologisch   nein   okologisch   nein   okologisch   nein   okologisch   nein   okologisch   nein   okologisch   nein   okologis	2024	Frühjahr	Broderstorf_B	54.08145	12.244567	26.04.2024 Rotklee		ökologisch	nein	
Stadelhofen_B	2024	Frühjahr	Broderstorf_B		12.24465	26.04.2024 Rotklee		ökologisch	nein	
2024 Frühjahr Rottenburg 7 12.036383 22.05.2024 Schwedenklee h ökologisch nein 48.68476 2024 Frühjahr Rottenburg 7 12.036683 22.05.2024 Schwedenklee wüchsig wuchsschwac okologisch nein 48.68476 2024 Frühjahr Rottenburg 7 12.036683 22.05.2024 Schwedenklee wüchsig wuchsschwac wuchsschwac h ökologisch nein 2024 Frühjahr Treuchtlingen_B 48.9242 48.92426 48.92426 7 10.91485 23.05.2024 Rotklee h ökologisch nein 2024 Frühjahr Emmendingen_A 48.1234 7.891683 11.06.2024 Rotklee und Luzerne h ökologisch nein 2024 Frühjahr Emmendingen_B 3 7.88835 11.06.2024 Rotklee und Luzerne h ökologisch nein 2024 Frühjahr Emmendingen_B 3 7.88835 11.06.2024 Rotklee und Luzerne wüchsig ökologisch nein 2024 Frühjahr Emmendingen_B 3 7.88835 11.06.2024 Rotklee und Luzerne wüchsig ökologisch nein 2024 Herbst Mulfingen 49.385 9.803133 10.05.2022 Luzerne h ökologisch nein 6 ökologisch nein 11.10.2022 Luzerne h h ökologisch nein 6 ökologisch 6 ökologisch 6 ökologisch 6 ökologisch 6 ökologisch 7 ökologisch	2024	Frühjahr	Stadelhofen_B	3	11.162483	06.05.2024 Luzerne		konventionell	nein	
2024 Frühjahr Rottenburg 7 12.036383 22.05.2024 Schwedenklee h ökologisch nein 48.68476 2024 Frühjahr Rottenburg 7 12.036683 22.05.2024 Schwedenklee wüchsig wuchsschwac wuchsschwac h ökologisch nein 2024 Frühjahr Treuchtlingen_B 48.9242 10.91485 23.05.2024 Rotklee h ökologisch nein 48.92426 48.92426 7 10.9148 23.05.2024 Rotklee wüchsig wuchsschwac k8.12523 7.891683 11.06.2024 Rotklee und Luzerne h ökologisch nein 48.12523 7.88835 11.06.2024 Rotklee und Luzerne wüchsig ökologisch nein 2024 Frühjahr Emmendingen_B 3 7.88835 11.06.2024 Rotklee und Luzerne wüchsig ökologisch nein 2024 Rotklee einzelne Standorte  Zusätzliche einzelne Standorte  2022 Herbst Mulfingen 49.385 9.803133 10.05.2022 Luzerne h ökologisch nein wuchsschwac h wuchsschwac ökologisch nein 53.70978	2024	Frühjahr	Stadelhofen_B	3	11.162467	06.05.2024 Luzerne	•	konventionell	nein	
2024 Frühjahr Rottenburg 7 12.036683 22.05.2024 Schwedenklee wüchsig wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac h ökologisch nein wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac h ökologisch nein wuchsschwac h ökologisch nein wuchsschwac h wuchsschwac ökologisch nein h wuchsschwac bein wuchsschwac okologisch nein h wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac okologisch nein wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac okologisch nein h wuchsschwac wuchschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchschwac w	2024	Frühjahr	Rottenburg	7	12.036383	22.05.2024 Schwedenklee		ökologisch	nein	
2024         Frühjahr         Treuchtlingen_B         48.9242 48.92426 48.92426 48.92426 48.92426         23.05.2024 Rotklee         h         ökologisch         nein           2024         Frühjahr         Treuchtlingen_C         7         10.914         23.05.2024 Rotklee         wüchsig wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsig         ökologisch         nein           2024         Frühjahr         Emmendingen_B         48.1234 48.12523         7.88835         11.06.2024 Rotklee und Luzerne wüchsig         ökologisch         nein           Zusätzliche einzelne Standorte           2022         Herbst         Mulfingen Biedesheim_B (gemulcht)         49.385 NA	2024	Frühjahr	Rottenburg		12.036683	22.05.2024 Schwedenklee	· ·	ökologisch	nein	
2024 Frühjahr Treuchtlingen_C 7 10.914 23.05.2024 Rotklee wüchsig wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac wuchsschwac rein wuchsig rein rein wuchsig rein rein wuchsschwac hein wuchsschwac rein rein wuchsschwac rein wuchsschwac rein wuchsschwac rein wuchsschwac rein wuchsschwac rein wuchsschwac rein standorte wuchsschwac rein wuchsschwac rein standorte wuchsschwac rein rein rein wuchsschwac rein rein rein wuchsschwac rein rein wuchsschwac rein rein rein wuchsschwac rein rein rein wuchsschwac rein rein rein rein rein rein rein rein	2024	Frühjahr	Treuchtlingen_B		10.91485	23.05.2024 Rotklee		ökologisch	nein	
2024 Frühjahr Emmendingen_A 48.1234 7.891683 11.06.2024 Rotklee und Luzerne h ökologisch nein  2024 Frühjahr Emmendingen_B 3 7.88835 11.06.2024 Rotklee und Luzerne wüchsig ökologisch nein  2024 Frühjahr Emmendingen_B 3 10.06.2024 Rotklee und Luzerne wüchsig ökologisch nein  2025 Herbst Mulfingen 49.385 9.803133 10.05.2022 Luzerne h ökologisch nein  2026 Herbst Biedesheim_B (gemulcht) NA	2024	Frühjahr	Treuchtlingen_C		10.914	23.05.2024 Rotklee	•	ökologisch	nein	
Zusätzliche einzelne Standorte  Zusätzliche einzelne Standorte  Mulfingen 49.385 9.803133 10.05.2022 Luzerne wuchsig ökologisch nein okologisch nein okologisch nein hein okologisch nein okologisch nein okologisch nein hein okologisch nein hein wuchsschwac standorte  Zusätzliche einzelne Standorte  Wuchsschwac ökologisch nein hein okologisch nein hein wuchsschwac okologisch nein hein wuchsschwac bei nein hein okologisch nein hein wuchsschwac bei nein hein wuch wuch wuch wuch wuch wuch wuch wuch	2024	Frühjahr	Emmendingen_A		7.891683	11.06.2024 Rotklee und Luzerne		ökologisch	nein	
2022 Herbst Mulfingen 49.385 9.803133 10.05.2022 Luzerne h ökologisch nein 2022 Herbst Biedesheim_B (gemulcht)	2024	Frühjahr	Emmendingen_B		7.88835	11.06.2024 Rotklee und Luzerne	wüchsig	ökologisch	nein	
2022HerbstMulfingen49.3859.80313310.05.2022 Luzernehökologischnein2022HerbstBiedesheim_B (gemulcht)NANA11.10.2022 Luzernewuchsschwacökologischneinhhwuchsschwacwuchsschwac	Zusät									
2022 Herbst Biedesheim_B NA NA 11.10.2022 Luzerne wuchsschwac ökologisch nein h wuchsschwac 53.70978	2022	Herbst	Mulfingen	49.385	9.803133	10.05.2022 Luzerne		ökologisch	nein	
53.70978 wuchsschwac			Biedesheim_B				wuchsschwac	0		
	2023	Frühjahr	,		10.126133	12.04.2023 Luzerne		ökologisch	nein	