

UNIVERSITÄT FÜR BODENKULTUR WIEN



***Serendipita indica*: Wirkung auf Sojabohne
(*Glycine max* (L.) Merr.) und *Sclerotinia
sclerotiorum***

Masterarbeit

Katharina Heiderer

November 2016

Betreuung durch Univ. Prof. DI Dr. Siegrid Steinkellner und

DI Dr. Karin Hage-Ahmed

Department für Nutzpflanzenwissenschaften

Abteilung Pflanzenschutz

INHALT

1	Abstract.....	1
2	Einleitung.....	2
2.1	Zieldefinition und Fragestellung.....	3
3	Pilzliche Endophyten.....	4
4	Serendipita Indica.....	8
4.1	Morphologie von <i>S. indica</i>	8
4.1.1	Hyphen.....	8
4.1.2	Myzel.....	8
4.1.3	Chlamydosporen.....	9
4.2	Wurzelkolonisation von <i>S. indica</i>	10
4.2.1	Interaktion mit Mykorrhiza-bildenden Pflanzen.....	11
4.3	Positive Effekte durch die Wurzelkolonisation von <i>S. indica</i>	12
4.3.1	Verbesserung der Nährstoffversorgung.....	12
4.3.2	Verbesserung des Pflanzenwachstums.....	13
4.3.3	Mechanismen gegen Salzstress.....	14
4.3.4	Toleranz gegen Pathogene.....	15
5	Sojabohne (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.).....	17
5.1	Standortansprüche der Sojabohne in Österreich.....	17
5.1.1	Tageslänge.....	17
5.1.2	Temperatur.....	18
5.1.3	Boden.....	18
5.1.4	Wasser.....	18
5.1.5	Düngung.....	19
5.1.6	Licht.....	19
5.2	Wichtigsten Schaderreger in Österreich.....	19
5.3	verwendete Sojabohnensorte „Gallec“.....	20
6	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	21
6.1	Lebenszyklus.....	21
6.2	Symptome an Sojabohnen.....	22
6.3	Bekämpfung.....	23
7	Material und Methoden.....	24
7.1	Glashausversuch.....	24

7.1.1	Versuchsaufbau	24
7.1.2	Pilzliches Versuchsmaterial	25
7.1.3	Versuchsverlauf	29
7.1.4	Versuchsauswertung	34
7.2	Dualkultur	39
7.3	Statistische Auswertung	40
8	Ergebnisse	41
8.1	Wachstumseffekte	41
8.1.1	Entwicklungsstadien	41
8.1.2	Pflanzenlänge und Internodienlänge	44
8.1.3	Blatt- und Seitensprossanzahl	46
8.1.4	Trockenmasse	48
8.1.5	Wurzellänge	51
8.2	<i>Sclerotinia</i> -Befall	53
8.2.1	Befallshäufigkeit	53
8.2.2	Befallsstärke	55
8.2.3	Area under the disease-progress curve (AUDPC)	57
8.3	Wurzelkolonisation von <i>S. indica</i>	58
8.4	Dualkultur	61
9	Diskussion	62
10	Zusammenfassung	68
11	Verzeichnisse	69
11.1	Abbildungsverzeichnis	69
11.2	Tabellenverzeichnis	72
12	Literaturverzeichnis	73
13	Anhang	88
13.1	Käfer Medium (Hill & Käfer, 2001) verändert nach Johnson, et al. (2011)	88
13.2	Nährlösungen	89



DANKSAGUNG

Ein besonderer Dank geht an Univ. Prof. Dipl.-Ing. Dr. Siegrid Steinkellner für die Bereitstellung dieses spannenden Themas und die hilfreichen Ratschläge während der Versuchsdurchführung.

Ein herzliches Dankeschön möchte ich Dipl.-Ing. Dr. Karin Hage-Ahmed aussprechen für die fachliche und persönliche Unterstützung während meiner Versuche und bei so manchen statistischen Fragen.

Außerdem danke ich Ing. Karin Baumgartner und Sabine Daxböck-Horvath für die Hilfe bei den Versuchen und bei der Lösung von diversen Problemen.

Ein großer Dank geht an Dipl.-Ing. Kathrin Rosner, Negar Ghezel Sefloo MSc. und Dipl.-Ing. Christina Schönhuber für die aufbauenden und motivierenden Worte und die Unterstützung beim Verfassen dieser Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Familie für den starken Rückhalt während meiner gesamten Studienzeit und für ausnahmslose Unterstützung in dieser Zeit.

1 ABSTRACT

The root endophyte *Serendipita indica* colonizes the roots of many mono- and dicotyledonous plants. Its positive effects include increasing plant growth and tolerances against biotic and abiotic stress factors. In this work, the growth-enhancing potential of *S. indica* on soybeans and the effect on the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (Scl) was tested. For this purpose, soybeans were inoculated directly with *S. indica* in the greenhouse and infected with *S. sclerotiorum* by inflorescence inoculation. The plants were watered with a nutrient solution with and without phosphorous (P). In addition, *S. indica* and the *Trichoderma* strain T39 were tested for their growth-inhibiting potential against *S. sclerotiorum* in a dual culture system. Significant effects due to root colonization with *S. indica* could be seen in the root and shoot dry weight at +P+*S. indica*. +P +*S. indica*+Scl tend to have an inhibitory effect on *S. sclerotiorum* infestation, while -P+*S. indica*+Scl resulted the greatest infestation. The dual culture system showed no direct inhibitory effect of *S. indica* on *S. sclerotiorum*. No influence of *S. indica* on root and plant length could be detected. In summary, *S. indica* has potential for biomass increase and as a control agent against *S. sclerotiorum*. Based on this study it can be assumed that *S. indica* has no direct effects on *S. sclerotiorum*. The potential to reduce *S. sclerotiorum* via should be elucidated in further studies.

2 EINLEITUNG

Der Pilz *Serendipita indica* (Sav. Verma, Aj. Varma, Rexer, G. Kost & P. Franken) M. Weiß, Waller, A. Zuccaro & Selosse (Weiß, et al., 2016) ist ein Wurzelendophyt, der 1998 aus einer *Funneliformis mosseae* Spore aus einem sandigen Wüstenboden in Nordwestindien isoliert wurde. Taxonomisch zählt er zu den Basidiomycota, aber bisher wurden weder Basidien noch andere sexuelle Fortpflanzungsorgane gefunden. Die Vermehrung erfolgt über das Myzel oder birnenförmige Chlamydosporen (Verma, et al., 1998). Als Endophyt besiedelt der Pilz die Wurzeln seiner Wirtspflanzen, wobei die Besiedelung nur auf die Wurzelcortex beschränkt ist. Er fügt dabei der Pflanze keinen Schaden zu (Wilson, 1995; Verma, et al., 1998).

Zuerst wurde *S. indica* für einen arbuskulären Mykorrhiza (AM)-Pilz gehalten, doch bei genauerer morphologischer Untersuchung wurden Unterschiede sichtbar. Der größte Unterschied zu den AMP besteht darin, dass *S. indica* auf verschiedensten synthetischen Medien kultiviert werden kann (Verma, et al., 1998). Weiters hat der Pilz einen großen Wirtspflanzenkreis zu dem auch Brassicaceae-Arten zählen (Peskan-Berghöfer, et al., 2004), die von Ektomykorrhiza- und AM-Pilzen nicht besiedelt werden (Newman & Reddell, 1987). Auch diverse Kulturpflanzen, wie Sojabohnen (*Glycine max* (L.) Merr.), Gerste (*Hordeum sativum* Pers.) und Mais (*Zea mays* L.) werden kolonisiert (Varma, et al., 2013).

Bei verschiedenen Studien, wurden die vielfältigen Vorteile durch die Kolonisation mit *S. indica* für die Wirtspflanzen entdeckt. Diese reichen von Steigerung der Wurzel- und Sprossbiomasse (Varma, et al., 2013), zu verbesserter Nährstoffversorgung, vor allem mit Phosphor und Stickstoff (Gosal, et al., 2013), bis hin zu Toleranzen gegen biotische und abiotische Stressfaktoren (Varma, et al., 2013). Aufgrund des vergleichsweise „jungen“ Alters von *S. indica* sind die Mechanismen und Wirkungsweisen hinter den positiven Effekten noch unergründet.

2.1 ZIELDEFINITION UND FRAGESTELLUNG

Weltweit stieg die Sojabohnenproduktion in den letzten Jahren von rund 115 Millionen Tonnen 1993 auf 308 Millionen Tonnen 2014. Die größten Produzenten sind dabei die USA, Brasilien, Argentinien, China und Indien (FAO, 2015). Das am Weltmarkt gehandelte Soja besteht fast zur Gänze aus gentechnisch veränderten Sojabohnen. Österreich steht dem als eines der wenigen Länder, die sich bewusst gegen gentechnisch veränderte Organismen (GVO) entschieden haben, gegenüber. Die Bevölkerung in der Europäischen Union und vor allem in Österreich ist gegen GVO-Soja insbesondere bei Lebensmitteln (Pistrich, et al., 2014). Daher ist es nicht verwunderlich, dass die Sojaproduktion in Österreich in den letzten Jahren deutlich zugenommen hat (Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, 2015).

Durch den steigenden Sojabohnenanbau treten aber auch verstärkt Krankheiten auf. Eine der wichtigsten ist die sogenannte Weißstängeligkeit, ausgelöst vom Pilz *Sclerotinia sclerotiorum* (Lembacher, et al., 2009). Dieses Pathogen ist schwer zu bekämpfen, weil es einen großen Wirtspflanzenkreis hat, zu dem wichtige Kulturpflanzen, wie Raps (*Brassica napus*) und Sonnenblume (*Helianthus annuus*) und darüberhinaus viele Unkräutern gehören (Boland & Hall, 1994). Die Ertragsverluste variieren, können jedoch bei günstigen Bedingungen 100 % erreichen (Purdy, 1979). Aufgrund dessen wird stark nach wirkungsvollen Bekämpfungsmöglichkeiten gesucht.

Da *S. indica* bekannt dafür ist Toleranzen gegen Pathogene zu induzieren und das Wachstum seiner Wirtspflanzen, zu denen auch Sojabohnen gehören, zu verbessern (Varma, et al., 2013), wäre der Pilz eine gute Bekämpfungsoption. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit das wachstumsverbesserende Potential von *S. indica* und dessen Wirkung auf die Infektion mit *S. sclerotiorum* getestet.

Die Forschungsfragen, die in dieser Arbeit beantwortet werden sollten, lauteten wie folgt:

1. Führt die Wurzelkolonisation von *S. indica* zu einer schnelleren Entwicklung bei Sojabohnen?
2. Führt die Wurzelkolonisation von *S. indica* bei Sojabohnen zu mehr Biomasse?
3. Kann die Wurzelkolonisation von *S. indica* die Infektion mit *S. sclerotiorum* reduzieren?

3 PILZLICHE ENDOPHYTEN

Endophytische Organismen, wie zum Beispiel *S. indica* sind hauptsächlich Pilze und Bakterien, die im Pflanzengewebe leben und ihren Wirtspflanzen keinen Schaden zufügen (Wilson, 1995). Rodriguez et al. (2009) haben 4 Endophyten-Klassen für Pilze definiert. Klasse 1 sind Clavicipitaceous Endophyten (C-Endophyten) und innerhalb der Nonclavicipitaceous Endophyten (NC-Endophyten) gibt es 3 Klassen, die sich im Wirtsbesiedlungsmuster, in den Übertragungsmechanismen zwischen den Wirtsgenerationen, in der *in planta* Artenvielfalt und ihren ökologischen Funktionen unterscheiden.

C-Endophyten zählen zur Familie der Clavicipitaceae und sind ausschließlich auf Süßgräser (Poaceae) und Sauergräsern (Cyperaceae) zu finden (Diehl, 1950). Sie können in 3 Typen unterteilt werden (White, 1988). Typ I sind pathogene Pilze, die Symptome hervorrufen, sich sexuell über Ascosporen vermehren und horizontal übertragen werden. Typ III wird vertikal über Samen übertragen und vermehrt sich klonal. Sie interagieren mutualistisch mit ihren Wirtsgräsern und bilden typische Gras-Endophyten-Verbände. Die Typ II-Pilze sind ein Mix aus Typ I und Typ III, da sie Symptome verursachen, aber auch symptomlos bleiben können. Außerdem können sie sich sexuell oder klonal vermehren und vertikal oder horizontal über Ascosporen oder Samen verbreiten (Clay & Schardl, 2002). Im Gegensatz zu Typ I bildet Typ III keine Stromata an den Blütenanlagen aus (Sampson, 1933). Bei Typ I bildet zuerst das Myzel an den Blütenanlagen auf einem Paarungstyp Stromata mit Konidien aus. Durch Insekten werden diese Konidien auf den anderen Paarungstyp mit Stroma transferiert (Bultman & White, 1988). Erst danach werden Perithezien gebildet, die Ascosporen zur Vermehrung ausbilden (Sampson, 1933). Man vermutet, dass Typ III die Fähigkeit zur sexuellen Vermehrung verloren hat (Clay & Schardl, 2002) und deshalb dringen Typ III-Pilze beim Beginn der Blüte in den Blütenstand ein und gelangen so in die Samen (Philipson & Christey, 1986). Die meisten Typ III-Endophyten bilden zudem Alkaloide, die eine große Rolle im Verteidigungssystem ihrer Wirtspflanzen spielen, aber für die Landwirtschaft ein Problem darstellen (Clay & Schardl, 2002). Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Vermehrung von Typ II mit dem asexuellen Zyklus, den auch Typ III benutzt und dem sexuellen Zyklus von Typ I.

Wirtspflanzen zu finden (Ernst, et al., 2003). Schnelles Wachstum auf alternden Pflanzenteilen und Sporulation auf diesen deuten darauf hin, dass einige der Pilze, wie zum Beispiel *Phoma medicaginis*, fähig sind ihre Lebensweise von endophytisch auf saprophytisch zu ändern (Weber, et al., 2004), während andere nicht fähig sind außerhalb ihrer Wirtspflanzen zu konkurrieren. Sicher ist jedoch, dass Klasse 2-Endophyten horizontal über Sporen im Boden (Rodriguez, et al., 2009), aber auch vertikal über die Samenschale übertragen werden können (Ernst, et al., 2003).

Im Gegensatz zu den anderen NC-Endophyten kommen Klasse 3-Endophyten nur im oberirdischen Pflanzengewebe vor, werden horizontal übertragen, bilden lokale Infektionen, können Vorteile für ihre Wirtspflanzen hervorrufen und haben eine extrem hohe *in planta* Artenvielfalt (Rodriguez, et al., 2009). Sie kommen in Blättern von tropischen Bäumen (Lodge, et al., 1996), aber auch im oberirdischen Gewebe von nichtvaskulären Pflanzen, samenlosen Gefäßpflanzen, Koniferen sowie holzigen und krautigen Angiospermen vor, deren Lebensräume von tropischen Regenwäldern bis hin zu borealen und arktischen Gegenden reichen (Carroll & Carroll, 1978; Fisher, et al., 1995; Davis, et al., 2003; Higgins, et al., 2007; Murali, et al., 2007; Davis & Shaw, 2008 & Del Olmo Ruiz, 2012). Klasse 3-Endophyten kommen nicht nur in Blättern vor, sondern auch in Blüten, der inneren Rinde und im Xylem-Gewebe (Kumar & Hyde, 2004 & Tejesvi, et al., 2005). Ein weiteres Phänomen der Klasse 3-Endophyten ist ihre hohe Diversität innerhalb ihres Wirtsgewebes und ihrer Wirtspflanzen (Lodge, et al., 1996). Das bedeutet, dass eine Pflanze von bis zu hundert Endophyten besiedelt sein kann. Vorteile, die durch sie hervorgerufen werden reichen von erhöhter Krankheitsresistenz und Abschreckung von Pflanzenfressern bis hin zu Änderungen in der Empfindlichkeit gegenüber Trockenheit und anderen abiotischen Stressfaktoren (Rodriguez, et al., 2009). Systematisch zählen die Klasse 3-Endophyten zu den Dikarya (Rodriguez, et al., 2009), mit einer starken Konzentration von Ascomycota. Der Großteil zählt zu den Pezizomycotina und nur ein kleiner Teil zu den Saccharomycotina (Higgins, et al., 2007). Bei den Basidiomycota zählen die Spezies zu den Agaricomycotina, den Pucciniomycotina und den Ustilaginomycotina, die generell mehr im holzigen Gewebe auftreten (Arnold, 2007). Die Verbreitung der Klasse 3-Endophyten erfolgt über Hyphenfragmentierung und bzw. oder über die Produktion von sexuellen oder asexuellen Sporen auf totem oder alternden Gewebe (Herre, et al., 2005). Hyphenfragmente und Sporen können entweder über den Fraß von Pflanzenfressern oder über Wind und Regen freigesetzt werden (Monk & Samuels, 1990). Eine schnelle Kolonisation findet nur dann statt, wenn sich Sporen in der Luft befinden und eine hohe relative Luftfeuchtigkeit herrscht bzw. wenn die Blattoberfläche durch Tau, Regen oder Dunst benetzt ist (Arnold & Herre, 2003).

Zur Klasse 4 der Endophyten zählen die „dark septated endophytes“ (DSE), die nur Pflanzenwurzeln kolonisieren und mit hoher Wahrscheinlichkeit zu den Ascomycota zählen. Definiert sind sie als dunkle, septierte, konidiale oder sterile Pilze, die weltweit vor allem in Umwelten mit hohem Stresspotential vorkommen. Sie haben einen großen Wirtspflanzenkreis bzw. keine Wirtsspezifizierung und kolonisieren die Wurzeln von knapp 600 Pflanzenspezies. Bisher wurden nur 5 anamorphe DSE-Spezies beschrieben, zu denen zählen: *Chloridium*

paucisporum, *Leptodontidium orchidicola*, *Phialocephala dimorphospora*, *Phialocephala fortinii* and *Phialophora finlandia*. Die DSE sind eine heterogene Gruppe, die sich mit anderen Bodenpilzen, wie Saprophyten, fakultativen und obligaten Pathogenen und Mykorrhizapilzen, überschneiden (Jumpponen & Trappe, 1998). Die Kolonisierung beginnt mit oberflächlichen Hyphen, die ein lockeres Netzwerk an der Wurzeloberfläche bilden (Stoyke & Currah, 1993). Einzelne Hyphen wachsen dann entlang der Hauptachse der Wurzel zwischen die Rindenzellen und epidermalen Zellen (Currah, et al., 1993). Es ist auch interzelluläres Wachstum möglich, wobei die DSE innerhalb der kortikalen Zellen einen Haufen aus dicht gepackten, dickwandigen Zellen bilden, die dann als „dicke pseudoparenchymatische Masse, Sklerotien oder Mikrosklerotien“ bezeichnet werden (Stoyke & Currah, 1993). Weiters können DSE Hartig-artige Netze oder labyrinthartiges Gewebe bilden (O'Dell, et al., 1993). Die DSE sind bis jetzt weder taxonomisch noch ökologisch gut untersucht sind, eine sexuelle Fortpflanzung kann nicht ausgeschlossen werden (Rodriguez, et al., 2009).

4 SERENDIPITA INDICA

4.1 MORPHOLOGIE VON *S. INDICA*

4.1.1 HYPHEN

Die dünnwandigen Hyphen von *S. indica* sind immer hyalin und nicht pigmentiert. Die Größe der Hyphen hängt stark vom verwendeten Medium ab. Bei geringem Nährstoffgehalt sind die Hyphenzellen lang und schmal, während bei komplexen Medien der Hyphendurchschnitt von 0,6 bis 3,5 µm reicht. Die Form der Hyphen ist schlauchförmig, doch treten sie auch oft moniliform auf. Die Septierung der Hyphen ist regelmäßig mit mehrkernigen Hyphenzellen jedoch ohne Klemmverbindungen an den Septen. Meistens sind zwischen 2 und 6 Nuclei pro Zelle zu finden, die innerhalb der Zelle regelmäßig verteilt sind. Manchmal sind die Hyphen in mehreren Schichten gewunden und durch verschiedene Anastomosen miteinander verbunden. Da bisher keine konjugierten Nuclei entdeckt wurden, wird davon ausgegangen, dass die Hyphenzellen haploid sind (Kost & Rexer, 2013).

4.1.2 MYZEL

S. indica kann auf verschiedenen synthetischen und komplexen Medien kultiviert werden, ebenso wie auf festem und in flüssigen Medien. Die Morphologie des Myzels hängt dabei stark von der Zusammensetzung des Mediums, was die Nährstoffe angeht, ab und auch ob flüssiges oder festes Medium verwendet wird. Auf festem Agar wächst das Myzel hauptsächlich in konzentrischen Kreisen und bedeckt das Medium homogen. Das Wachstum findet unter der Oberfläche statt mit nur wenigen Lufthyphen. Junge Myzelkulturen sind weiß (Abbildung 2), doch mit zunehmendem Alter ändert sich die Farbe in cremegelb (Abbildung 3). Die Struktur des Myzels ist homogen, das heißt es werden keine spezialisierten Hyphen gebildet, dennoch sind manche in Spiralen angeordnet. Die Hyphen-Verästelungen sind regelmäßig mit abrupten Verzweigungen von bis zu 90°. In flüssigen Medien, sammelt sich das Myzel zu kleinen watteartigen, kugeligen Bällen an (Kost & Rexer, 2013).

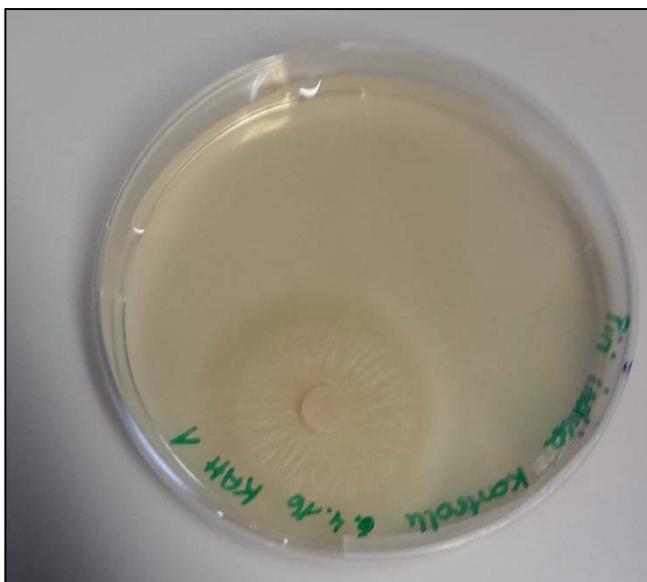


Abbildung 2: *S. indica* auf Kartoffeldextroseagar nach 10 Tagen.



Abbildung 3: *S. indica* auf Kartoffeldextroseagar nach 25 Tagen.

S. indica wächst in einem Temperaturbereich von 20-35 °C wobei die optimale Temperatur für das Pilzwachstum 30 °C bei einem pH Wert von 5,8 beträgt (Varma, et al., 2013). Das beste Medium für eine reichliche Myzelproduktion ist Käfer Medium (Kumar, et al., 2011).

Bisher sind alle Tests, um Basidien zu induzieren, fehlgeschlagen, deshalb gibt es nur eine anamorphe Phase von *S. indica* und kein Teleomorph. Die Vermehrung von *S. indica* erfolgt daher über Chlamydosporen oder Myzel (Kost & Rexer, 2013).

4.1.3 CHLAMYDOSPOREN

Die Chlamydosporen entstehen an den terminalen Hyphenspitzen (Abbildung 4). Am Beginn ihrer Entwicklung treten sie als geschwollene, dünnwandige Vesikel auf, die durch eine Zellwand abgetrennt sind. Oft werden am Ende von kurzen Verzweigungshyphen mehrere Sporen gebildet, die dann, in Gruppen angeordnet, zu finden sind. Während des Reifeprozesses verändert sich die Form der Sporen von keulenförmig zu birnenförmig (Abbildung 5). Ihre Größe variiert zwischen 14 und 33 µm in der Länge und 9 bis 20 µm in der Breite (Kost & Rexer, 2013).

Die Oberfläche der Chlamydosporen ist glatt und die Farbe ändert sich während des Reifeprozesses von farblos zu gelblich. Außerdem verdickt sich die Sporenwand mit zunehmendem Alter bis zu einem Maximum von 1,5 µm. Das Zytoplasma der Sporen ist komplett mit stark brechenden lipoiden Körnern gefüllt. Darüber hinaus enthalten die Chlamydosporen mehrere Nuclei (8-25) (Kost & Rexer, 2013).

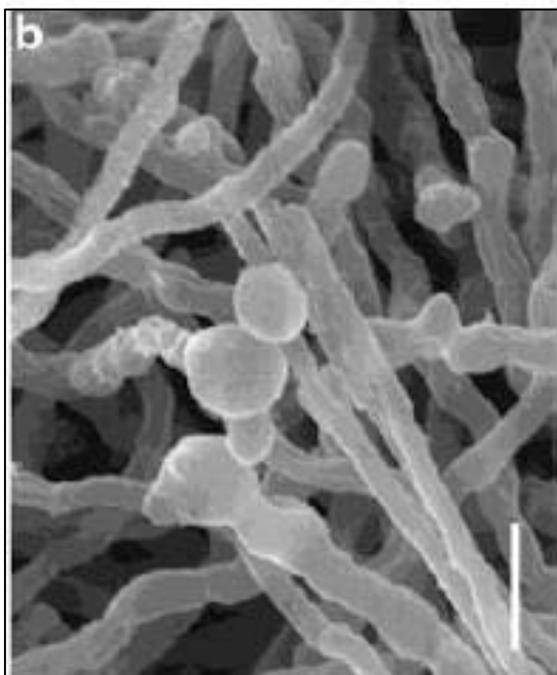


Abbildung 4: Entstehung von Chlamydosporen (Skala: 10 µm) (aus Kost & Rexer, 2013).

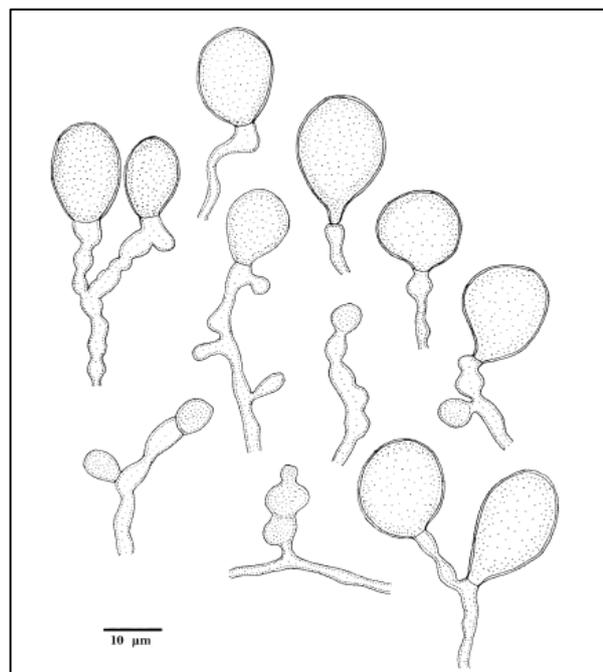


Abbildung 5: Chlamydosporen von *S. indica* (aus Verma, et al., 1998).

4.2 WURZELKOLONISATION VON *S. INDICA*

S. indica kann mit den Wurzeln verschiedenster Spezies, wie Moose, Farne, Gymnospermen und Angiospermen, interagieren, wobei die Morphologie der Interaktionsstrukturen von den involvierten Partnern abhängt. Bei den Angiospermen kann jede Pflanzenspezies, die eine der verschiedenen Mykorrhiza-Typen bilden kann, von *S. indica* kolonisiert werden. Der Pilz kann mit AM-bildenden Pflanzen genauso wie mit Ektomykorrhiza-bildenden Pflanzen, sowie mit Orchideen in Wechselbeziehung treten. Dabei sind die morphologischen Strukturen bei der Interaktion mit *S. indica*, den Strukturen bei einer Mykorrhizasymbiose sehr ähnlich. Prinzipiell kann *S. indica* entweder endophytisch und nekrotroph leben oder mit lebenden Pflanzenzellen biotroph interagieren (Kost & Rexer, 2013).

Biotroph interagiert *S. indica* mit den Wurzelzellen von Orchideen und Lebermoosen. In diesem Fall startet der Lebenszyklus mit der Keimung von Chlamydosporen im Boden. Danach wird ein Hyphennetz an der Wurzeloberfläche gebildet, aber im Gegensatz zur endophytisch und nekrotrophen Lebensweise werden die befallenen Zellen nicht von den Hyphen zerstört sondern der Pilz bildet nach der Penetration eine typische Mykorrhiza mit Orchideen oder einen Mycothallus mit Moosen. Diese Art von Interaktion kann als biotroph oder mutualistisch interpretiert werden (Kost & Rexer, 2013).

Die endophytisch und nekrotrophe Lebensweise beginnt ebenfalls mit der Keimung von Chlamydosporen im Boden. Danach wird ein Hyphennetz an der Wurzeloberfläche gebildet. Durch Hyphenverzweigungen startet das subepidermale, interzelluläre Wachstum, das an den antiklinalen Schnittstellen der Wurzel beginnt. Um intrazellulär wachsen zu können, kann der Pilz zellwandauflösende Enzyme bilden und den Zellinhalt saprophytisch auflösen. Junge, differenzierte Zellen werden zuerst komplett ausgefüllt bevor die Hyphen die Nachbarzellen besiedeln, während bei älteren Wurzelteilen eine uneingeschränkte, netzartige inter- und intrazelluläre Kolonisation erfolgt. Intrazelluläre Hyphen zeigen Verengungen (Hälse) an den Stellen, wo der Pilz die Zellwand durchwächst. Die Pilzbesiedelung steigt mit inter- und intrazellulären Befall des umliegenden Gewebes und steigt schrittweise mit der Gewebereifung. Eine starke Verbreitung von *S. indica* führt zur Bildung von Hyphen-„Matten“. In diesen Bereichen ist das Wurzelgewebe abgestorben, das durch das Fehlen von Nuclei nachweisbar ist. In den Wurzelbereichen mit weniger Myzelwachstum enthalten die Hyphenzellen Nuclei, was darauf hindeutet, dass sie noch leben. Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass starkes Wachstum von *S. indica* Wirtszellen umprogrammiert und zum Zelltod beiträgt. Außerdem findet das invasive Wachstum des Pilzes nur im älteren Gewebe der Wurzelkappe und im Rindengewebe der Differenzierungszone statt, da in jungem Gewebe die Gene für den programmierten Zelltod nur in geringer Menge vorhanden sind. Auch die basalen Teile der Wurzelhaarzellen werden befallen und stark verzweigte Hyphen bilden in diesen Bereichen eine große Anzahl an Chlamydosporen, die die Wurzelhaare von der Basis her komplett ausfüllen. Chlamydosporen werden sonst üblicherweise in den abgestorbenen Wurzelbereichen gebildet, aber auch in den Myzel-„Matten“ an der Wurzeloberfläche. Das zentrale meristematische Gewebe ist immer frei von *S. indica* (Abbildung 6) (Deshmukh, et al., 2006),

ebenso die oberflächlichen Pflanzenteile, wie Stamm und Blätter (Waller, et al., 2005). Da *S. indica* ein Endophyt ist, kommt es nach der Penetration zu einem starkem Wachstumsanstieg, danach zu einem Rückgang des Pilzwachstums und schlussendlich einem Gleichgewichtszustand zwischen Wurzelwachstum und Pilzvermehrung (Deshmukh, et al., 2006).

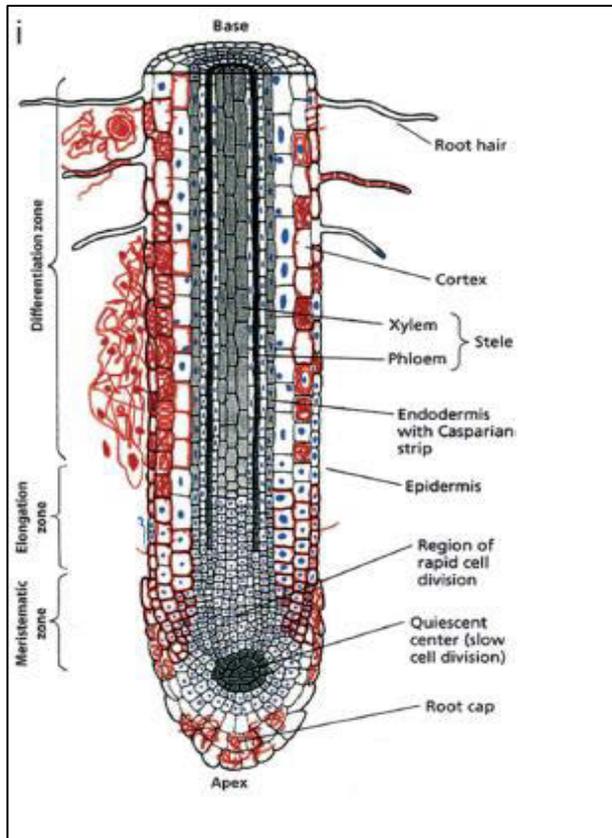


Abbildung 6: Schematische Darstellung einer mit *S. indica* befallenen Wurzel mit den verschiedenen Gewebe-Arten und dem damit verbundenen Kolonisationsmuster. Hyphen sind rot dargestellt und die noch lebenden Nuclei blau (aus Deshmukh, et al., 2006).

4.2.1 INTERAKTION MIT MYKORRHIZA-BILDENDEN PFLANZEN

Bei der Interaktion mit Ektomykorrhiza-bildenden Pflanzen, zu denen viele Waldbäume zählen (Haselwandter, 1986), bildet *S. indica* an der Wurzeloberfläche ein Hyphennetz, aber keine für Ektomykorrhiza typischen Hyphenstrukturen, wie ein Hartig-Netz oder Palmetti-Strukturen. Außerdem wachsen nur wenige Hyphen interzellulär und die Wurzelzellen bekommen verdickte Zellwände als Reaktion auf den Pilz (Kost & Rexer, 2013).

Bei Mykorrhiza mit Orchideen ist die Morphologie und die Anatomie des Entwicklungsprotocorms bei der Interaktion mit *S. indica* ident mit dem Protocorm bei Mycorrhizapilzen. Die Orchideenzellen sind vollständig mit Hyphen gefüllt, doch der Kern bleibt erhalten und dehnt sich während der höheren Zellaktivität aus. An den Invasionsstellen bilden sich kleine verholzte Knollen (Lignotuber), die nur dann gebildet

werden, wenn die infizierte Pflanzenzelle lebt und aktiv ist während der ersten Phase der Invasion (Kost & Rexer, 2013).

S. indica kann mit AM-bildenden Pflanzen interagieren (Kost & Rexer, 2013), zu denen wichtige Nutzpflanzen wie Mais (*Zea mays* L.), Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.) und Gerste (*Hordeum sativum* Pers.) zählen (Vogt-Kaute, 2011). Die Hyphen des Pilzes innerhalb und außerhalb der Wurzel erinnern dabei an die typischen Arbuskeln von AMP (Abbildung 7). Weiters sterben die meisten befallenen Wurzelzellen ab, aber der zentrale Zylinder der Wurzel bleibt vom Pilz unberührt (Kost & Rexer, 2013).

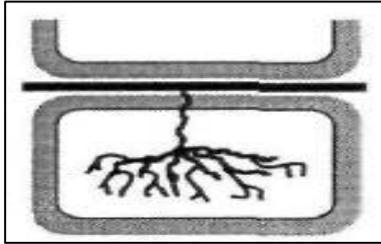


Abbildung 7: Typische Arbuskeln von vesikulär-arbuskulären Mykorrhizapilzen (aus Smith & Smith, 1997).

4.3 POSITIVE EFFEKTE DURCH DIE WURZELKOLONISATION VON *S. INDICA*

Pflanzen, deren Wurzeln von *S. indica* kolonisiert wurden, zeigen eine erhöhte Nährstoffaufnahme, ein verbessertes Pflanzenwachstum, eine frühere Blüte, einen höheren Ertrag sowie Änderungen in den sekundären Metaboliten. Außerdem können die Pflanzen unter Wasser-, Temperatur- und Salzstress überleben und es werden Resistenzen gegen Toxine, Schwermetalle und Pathogene induziert (Varma, et al., 2013).

4.3.1 VERBESSERUNG DER NÄHRSTOFFVERSORGUNG

Wie auch AMP kann *S. indica* die wichtigsten zwei Makronährstoffe, Stickstoff und Phosphor, und einige Mikronährstoffe aus dem Boden extrahieren, mobilisieren und transportieren, sowie diese aktiv zu den kolonisierten Wirtspflanzen transferieren (Gosal, et al., 2013).

4.3.1.1 MAKRONÄHRSTOFFE

S. indica produziert große Mengen an saurer Phosphatase, um unlöslichen, kondensierten oder komplexen Phosphor zu mobilisieren und für die Wirtspflanze verfügbar zu machen (Singh, et al., 2000). Außerdem erreichen die Hyphen Bereiche des Bodens, in die Pflanzenwurzeln nicht vordringen (Gosal, et al., 2010). Weiters werden Phosphorreserven indirekt über die Interaktion mit Rhizobakterien mobilisiert (Singh, et al., 2009), die anorganischen Phosphor durch organische Säuren löslich machen (Archana, et al., 2012). Die Fähigkeit des Pilzes auf verschiedenen Phosphorquellen, wie anorganischer, organischer Phosphor oder Polyphosphate, wachsen zu können, deutet daraufhin, dass er aktiv Phosphor löslich machen kann (Gosal, et al., 2013).

Der *S. indica*-spezifische Phosphattransporter zählt zur Familie der hochaffinen Phosphattransporter, der an den externen Hyphen bei *S. indica*-kolonisierten Wirtspflanzenwurzeln sitzt. Er bildet den ersten Schritt bei der Phosphataufnahme aus dem Boden. Wie der Phosphortransfer vom Pilz in die Pflanze abläuft, wurde bisher noch nicht untersucht, aber es wird spekuliert, dass Pflanzen-Pilz-Schnittstellen darin involviert sind (Yadav, et al., 2010). Bei aktuellen Studien an *Zea mays* L., *Solanum lycopersicum* L. und *Chlorophytum sp.* fanden Yadav et al. (2010), Andrade-Linares et al. (2013) und Gosal et al. (2010), dass die Verbesserung des Pflanzenwachstums am besten bei geringen Phosphorkonzentrationen stattfindet.

S. indica kann Stickstoff vom Boden in Form von Nitrat in die Pflanze transferieren (Sherameti, et al., 2005), was im Gegensatz zu AMP steht, denn diese absorbieren Stickstoff hauptsächlich als Ammonium (Boukcim & Plassard, 2003). Die Vorteile von *S. indica* gegenüber AM sind, dass die Stickstoffaufnahme durch *S. indica* effizienter ist und nicht vom Phosphorgehalt oder dem Grad der Wurzelkolonisation beeinflusst wird (Cruz, et al., 2013). Desweiteren stimuliert der Pilz die NADH-abhängige Nitratreduktase indem die Transkription der korrespondierenden Pflanzengene erhöht wird (Sherameti, et al., 2005) und somit die Stickstoffversorgung ebenfalls verbessert wird.

4.3.1.2 MIKRONÄHRSTOFFE

S. indica verbessert die Versorgung seiner Wirtspflanzen mit Mikronährstoffen, vor allem mit Zink, Eisen, Mangan und Kupfer entweder durch die Interaktion mit Rhizobakterien oder indem die Hyphen des Pilzes in Bereiche des Bodens vordringen, die von den Pflanzenwurzeln nicht erreicht werden (Gosal, et al., 2010).

4.3.2 VERBESSERUNG DES PFLANZENWACHSTUMS

S. indica verbessert das Pflanzenwachstum schon bevor er die Wirtspflanzenwurzeln besiedelt, was auf die verbesserte Nährstoffverfügbarkeit, vor allem von Phosphor, zurückzuführen ist und den daraus resultierenden massiven Transfer dieser Nährstoffe in die oberflächlichen Teile der Wirtspflanzen. Bisher ist noch nicht klar, wie die frühe Erkennung ohne physikalischen Kontakt zwischen Wirtspflanze und dem Pilz erfolgt (Shahollari, et al., 2005).

Das verbesserte Pflanzenwachstum zeigt sich als stimulierte Samenkeimung bei *Nicotiana attenuata* Steud. (Barazani, et al., 2005), gesteigerte Spross- und Wurzellänge und mehr Spross- und Wurzelbiomasse bei *Coleus forskohlii* Briq. (Das, et al., 2012), *Spilanthes calva* DC., *Withania somnifera* (L.) Dunal (Rai, et al., 2001), *Solanum lycopersicum* L. (Fakhro, et al., 2010), *Nicotiana tabacum* L., *Artemisia annua* L. oder *Bacopa monnieri* (L.) Pennell (Varma, et al., 1999). Bei *Coleus forskohlii* Briq. sahen Das et al. (2012) an den mit *S. indica* infizierten Pflanzen eine um zumindest 7 Tage frühere und kräftigere Blüte, ebenso wie eine höhere Anzahl und Länge der Blütenanlagen. Genauso fanden Bajaj et al. (2015) um 75% mehr Blüten bei ihrem Experiment mit *Glycine max* (L.) Merr.

Diese Wachstumseffekte können bei *Nicotiana attenuata* Steud. nicht mit der verbesserten Nährstoffversorgung erklärt werden, sondern haben andere Gründe (Barazani, et al., 2005). Einer dieser Gründe ist die Bildung von Phytohormonen von *S. indica* selbst oder die gesteigerte Synthese von Phytohormonen durch die Wirtspflanzen. *S. indica* produziert das Auxin Indoleessigsäure (Sirrenberg, et al., 2007) und auch die Auxin-regulierenden Gene wurden in Chinakohl (*Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis*) (Lee, et al., 2011) und *Hordeum sativum* Pers. durch die Wurzelkolonisation induziert (Schäfer, et al., 2009), was somit das Wachstum fördert (Franken, 2012). Außerdem scheint der Pilz die Ethylensignalisierung zu hemmen, was ebenfalls das Pflanzenwachstum fördern kann (Barazani, et al., 2007). Andere Phytohormone, wie Cytokine, Gibbereline, Abscisinsäure (Vadassery, et al., 2008) oder Brassinosteroide können ebenfalls durch den Wurzelendophyten manipuliert und synthetisiert werden (Schäfer, et al., 2009).

Ferner kann das Pflanzenwachstum durch die Coinokulation von *S. indica* mit Pflanzenwachstum-fördernden Rhizobakterien verbessert werden. Prajapati et al. (2008) fanden bei ihrem Versuch mit *Azotobacter chroococcum* und Reis, dass die Coinokulation signifikante Effekte bei der Spross- und Wurzellänge, der Spross- und Wurzelfrischmasse sowie der Trockenmasse und der Anzahl der Rispen verursacht.

4.3.3 MECHANISMEN GEGEN SALZSTRESS

Salinität ist die Konzentration von gelösten Mineralsalzen, also Elektrolyte von Anionen und Kationen in der Bodenlösung und in Gewässern. In salinen Böden treten an Kationen hauptsächlich Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} und K^+ auf während an Anionen Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , CO_3^{2-} und NO_3^- auftreten. B, Sr_2^+ , SiO_2 , Mo, Ba^{2+} und Al^{3+} tragen ebenfalls zur Salinität in hypersalinen Böden und Gewässern bei (Hu & Schmidhalter, 2002). Salzstress beeinflusst das Pflanzenwachstum indem auf der einen Seite ein osmotische Unausgewogenheit entsteht und auf der anderen Seite die Ionen in hoher Konzentration physiologisch toxisch wirken können. Durch osmotischen Stress brauchen Pflanzen mehr Energie für die Wasseraufnahme und das führt zu reduziertem Wachstum (Ben-Gal, et al., 2009). Außerdem kann Salzstress zu Nährstoffmangel führen, da zum Beispiel die Mobilität und der Transport von Kalium in die Pflanze behindert wird (Kohler, et al., 2009) oder die Phosphortranslokation reduziert wird (Martinez & Lächli, 1991). Weiters sind die nichtstrukturellen Kohlenhydrate in den Blättern reduziert (Kohler, et al., 2009), was darauf hindeutet, dass der Kohlehydratstoffwechsel durch Salzstress beeinträchtigt ist (Sharma, et al., 1990) und als Konsequenz daraus sinkt die Photosyntheseaktivität (Goicoechea, et al., 2005). Die Mechanismen von *S. indica* gegen Salzstress werden im Folgenden beschreiben.

S. indica unterstützt die Pflanzen bei der Biosynthese-Aktivierung von Prolin (Zarea, et al., 2012) und antioxidativen Enzymen, die reaktive Sauerstoffspezies (ROS) abfangen (Kumar, et al., 2009). Superoxid-Dismutase (SOD), Peroxidasen (POXs) und Katalase (CAT) sind Enzyme, die hauptsächlich für die Entgiftung von ROS beitragen (Mittler, 2002) und die SOD- und CAT-Aktivität steigt signifikant in *S. indica*-kolonisierten Pflanzen (Kumar, et al., 2009). Außerdem verhindert die gesteigert Enzymaktivität die Bildung von ROS, die

Gewebeschäden hervorrufen können indem der Abbau von mehrfach ungesättigten Fettsäuren verhindert wird (Sun, et al., 2010).

Da Salinität zu einem niedrigen Wasserpotential führt (Parida & Das, 2005), muss die Pflanze gelöste organische Stoffe, wie Prolin und gelöste Zucker, einlagern (Khatkar & Kuhad, 2000). Durch *S. indica* wird die Prolin-Konzentration in den Blättern erhöht (Zarea, et al., 2012), was der Pflanze ermöglicht die osmotische Balance, trotz niedrigem Wasserpotential, zu erhalten (Stewart & Lee, 1974).

Desweiteren greift *S. indica* in die Synthese von Phytohormonen ein, vor allem von Ethylen und Auxin. Ethylen ist involviert in der Übertragung von Salinität-induziertem Stress und wird durch seinen Vorläufer 1- Aminocyclopropan-1-Carboxylat (ACC) und dem Enzym ACC-Oxidase gebildet (O'Donnell, et al., 1996). Der Pilz steigert die Menge an Methionin-Synthase (Peskan-Berghöfer, et al., 2004), das eine wichtige Rolle bei Biosynthese von Polyaminen und Ethylen spielt (Ravanel, et al., 1998). Ebenso kann *S. indica* Indolessigsäure abgeben (Sirrenberg, et al., 2007), die entweder von der Pflanze aufgenommen wird und zur Zellstreckung und Zellvermehrung beiträgt oder sie induziert die Synthese von ACC-Synthase, das aus Methionin ACC bildet, welches dann mit ACC-Oxidase zu Ethylen umgewandelt wird (Yu & Yang, 1979).

Salzstress kann zu einer Reduktion der Photosynthese führen (Downton, 1977), da hohe Salzkonzentrationen Änderungen der Chlorophyll-Fluoreszenz verursachen (Belkhadja, et al., 1994). Mit *S. indica* kolonisierte Pflanzen weisen einen verzögerten Rückgang der Photosynthese und des Abbaus von Chlorophyll und Thylakoid-Proteinen auf, weil mit Hilfe von *S. indica* die Verringerung des Protein-Levels von Thylakoid-Membran-Komponenten und Enzymen im Plastid-Stroma vermindert wird (Sun, et al., 2010).

4.3.4 TOLERANZ GEGEN PATHOGENE

S. indica induziert Resistenzen oder Toleranzen vor allem gegen bodenbürtige Pilzpathogene (Ghahfarokhi & Goltapeh, 2010), aber auch gegen Blattpathogene (Waller, et al., 2005) und Nematoden (Bajaj, et al., 2015). Um das zu erreichen, hat der Pilz verschiedene Mechanismen, die im Folgenden beschrieben werden.

S. indica kann systemische Resistenzen vermitteln indem er, wie zum Beispiel bei *Hordeum sativum* Pers. die Expression von speziellen Abwehrgenen steigert und sich dadurch in diesem Fall *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* nicht entwickeln konnte (Waller, et al., 2008). Außerdem kann der Pilz den Oberflächen-pH-Wert der kolonisierten primären Wurzeln ändern, was Auswirkungen auf den pH-Wert in den Apoplasten der Blätter hat. Bei einer Attacke durch *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* an *Hordeum sativum* Pers. kam es zu Anstieg des pH-Wertes um 2,0. Dieselbe Reaktion wurde an resistenten Gerstenblättern oder bei Behandlung mit chemischen Resistenzinduktoren gesehen. Das deutet darauf hin, dass der pH-Anstieg die systemische Reaktion auf *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* durch *S. indica* unterstützt und verstärkt hat (Felle, et al., 2009). Außerdem kann der Pilz einen unspezifischen physikalischen Weg nehmen, um seine Wirtspflanzen zu schützen, indem bei

starker Infektion des Wurzelgewebes die Rezeptoren für die Bindung und die Adsorption des Pflanzenschädling blockiert werden (Gosal, et al., 2013).

Desweiteren wird durch die Inokulation mit *S. indica* der Gehalt an pflanzeigenen antimikrobiellen Komponenten erhöht, wie Rai, et al. (2004) bei *Spilanthes calva* DC. gegen *Fusarium oxysporum* und *Trichophyton mentagrophytes* entdeckt haben. Waller, et al. (2005) fanden bei ihrem Experiment mit dem nekrotrophen Pathogen *Fusarium culmorum*, dass der Pilz in den Gluthation-Ascorbat-Zyklus eingreift und dadurch mehr Antioxidantien (Ascorbinsäure) in den Wurzeln vorhanden sind, die die Pflanze schützen.

Der Wurzelendophyt kann auch in die Synthese von Pflanzenhormonen eingreifen, um somit die Signalisierung innerhalb der Pflanze und die Pflanzenabwehr zu manipulieren (Gosal, et al., 2013). Bei Penetration durch Pathogene wird die Synthese von Gibberelinen induziert, während die üblichen stressbedingten Moleküle, wie zum Beispiel Salicylsäure, kaum beeinflusst werden (Schäfer, et al., 2009).

5 SOJABOHNE (*GLYCINE MAX* (L.) MERR.)

Sojabohnen (*Glycine max* (L.) Merr.) zählen zu den Leguminosen (Geisler, 1988) und sind aufgrund der an den Wurzeln haftenden Knöllchenbakterien nahezu stickstoffautark (Vest, et al., 1973; Diepenbrock et al., 1999). Eigentlich zählt die Pflanze zu den Ölsaaten (Krumphuber, et al., 2013), jedoch ist der Ölgehalt mit rund 20 % relativ gering. Dennoch ist die Bedeutung der Sojabohne sehr hoch, da sie mit einem durchschnittlichen Eiweißgehalt von 30 bis 40 % eine gute Eiweiß-Fett-Kombination darstellt (Salunkhe, et al., 1983; Lembacher, et al., 2009).

Da Österreich eines der wenigen Länder mit einem Anbauverbot für GVO ist, ist es nicht verwunderlich das die österreichischen Sojabohnenanbauflächen stetig steigen. Allein von 2010 bis 2014 hat sich die Anbaufläche um 27,5 % gesteigert (Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, 2015) von ca. 6.000 ha 2010 auf 56.000 ha 2015 (Agrar Markt Austria, 2016).

5.1 STANDORTANSPRÜCHE DER SOJABOHNE IN ÖSTERREICH

Sojabohnen sind einjährige Kulturpflanzen, die bis zu ca. 200 cm groß werden können, je nach Standort und Sorte. Der Stängel ist dünn und stark behaart mit langstieligen, dreiteiligen Blättern (Abbildung 8). Die vorherrschend selbstbefruchtenden Blüten sind weiß oder lila (Abbildung 9) und aus ihnen entwickeln sich borstig behaarte 3 bis 7 cm lange Hülsen mit 1 bis 6 Samen (Abbildung 10) (Diepenbrock, et al., 1999).



Abbildung 8: Langstielige, dreiteilige Sojabohnenblätter (aus Bauer Willi, 2016).



Abbildung 9: Sojabohnen-Blüte (aus Delley Samen und Pflanzen AG, 2016).



Abbildung 10: Hülsen der Sojabohnen (aus Hausgarten.net, 2011).

5.1.1 TAGESLÄNGE

Ein großes Problem für den Sojabohnenanbau in Österreich ist die Tageslänge, da Sojabohnen Kurztagpflanzen sind (Pistrich, et al., 2014). Die kritische Tageslänge, die unterschritten werden muss, damit die Pflanzen blühen, hängt von der Reifegruppe ab, liegt aber durchschnittlich zwischen 13 und 14 Stunden (Board & Hall, 1984). Bei 12 Stunden ist die Zeit vom Anbau bis zur Blüte bei allen Reifegruppen ungefähr gleich (Majo, et al., 1975). Umso mehr die kritische Länge überschritten wird, desto länger dauert die Zeit bis zur Blüte bzw. bis zur Hülsenbildung. Ebenso steigt die Pflanzenlänge mit längerer Photoperiode. Im Allgemeinen sind frühreife Sorten weniger anfällig auf photoperiodische Effekte als Spätreife

(Criswell & Hume, 1972). Insgesamt gibt es 13 Reifegruppen bei den Sojabohnen von 000 (sehr früh) bis X (tropisch) (von Beesten, 2014a), wobei in Österreich nur 000 bis 0 Sorten angebaut werden können. Die 000-Sorten werden hauptsächlich in Oberösterreich, im Westbaugebiet und in den Grenzlagen des Sojaanbaus angebaut, während 00-Sorten im Burgenland, Weinviertel, Kärnten und der Steiermark vorkommen. 0-Sorten können nur in begünstigten Gebieten angebaut werden und haben daher wenig Bedeutung in Österreich. Üblicherweise werden Sojabohnen in Österreich von Mitte April bis Anfang Mai angebaut, um die kritische Tageslänge für die Blütenbildung zu unterschreiten (Krumphuber, et al., 2013). Die Vegetationszeit beträgt 150 bis 180 Tage (Kolbe, et al., 2002).

5.1.2 TEMPERATUR

Da Sojabohnen wärmeliebend und frostempfindlich sind, sollten Standorte, wo häufig Spätfrösten auftreten, vermieden werden. Während der Keimphase tolerieren die Pflanzen Temperaturen von -2 bis -4 °C (Diepenbrock, et al., 1999), doch in späteren Entwicklungsstadien können Nachttemperaturen von weniger als 8 °C zum Abwerfen der Blüten führen (Schäfer, 2011). Für ein rasches Auflaufen sollte die Bodentemperatur in 5 cm Tiefe ungefähr 10 °C betragen (Krumphuber, et al., 2013) und die optimale Wachstumstemperatur liegt zwischen 20 und 25°C (Soldati, 1999). Die höchste Blütenbildung wird bei Temperaturen zwischen 24 und 28°C erreicht, sinkt aber bei Temperaturen über 32 °C und unter 20 °C (Robacker, et al., 1983). Prinzipiell sind feucht-warme Standorte geeignet für den Sojaanbau. In Österreich wären das der feucht-warme Südosten und der warme Osten sowie die Gunstlagen des niederösterreichischen Westbaugebietes und der Zentralraum Oberösterreichs (Lembacher, et al., 2009).

5.1.3 BODEN

Am besten geeignet für den Sojabohnenanbau sind tiefgründige, mittelschwere, humose Böden mit guter Wasserführung, damit sich schnell ein großes Wurzelsystem entwickeln und die Knöllchenbildung stattfinden kann (Soldati, 1999; Diepenbrock, et al., 1999). Auch auf seichtgründigen Böden wachsen die Pflanzen, erfordert aber aus wirtschaftlichen Gründen eine Beregnung (Lembacher, et al., 2009). Staunässe, verdichtete, steinige oder flachgründige Böden sind wenig geeignet, weil die Wurzelbildung und die Ausbildung der Knöllchen zur Stickstofffixierung behindert werden. Außerdem sind Verschlammungen oder Verkrustungen in den obersten Bodenschichten zu vermeiden, da sie sich negativ auf das Wachstum und die Ertragsfähigkeit auswirken (Schäfer, 2011; Soldati, 1999). Beim Anbau ist es wichtig, dass die Samen einen guten Anschluss an die feuchten Bodenschichten haben, das eventuell durch Anwalzen erreicht werden kann, aber die Samen sollten nicht zu tief im Boden sein (max. 5 cm), da die Sojabohne epigäisch keimt (KeShun, 1997; Krumphuber, et al., 2013). Die Böden sollten einen schwach sauren bis neutralen Reaktionsbereich haben mit einem pH-Wert von 6,5 bis 7,5 (Diepenbrock, et al., 1999; Soldati, 1999).

5.1.4 WASSER

Sojabohnen haben eine relativ hohe Trockenresistenz und können deshalb kurze Trockenperioden gut überstehen (Kolbe, et al., 2002). Insgesamt haben die Pflanzen einen

Wasserbedarf von etwa 500 mm, wobei ca. 300 mm während der Blüte und der Kornausfüllung benötigt werden. Aus diesem Grund muss gerade in diesen Entwicklungsstadien für reichlich Wasserversorgung gesorgt sein, um verminderten Kornansatz, geringe Tausendkornmasse sowie reduzierten Proteingehalt zu vermindern (Diepenbrock, et al., 1999; Hoefl, et al., 2000). Im Gegenzug dazu führt länger anhaltende Staunässe zu verminderten Wurzel- und Sprosswachstum und kann in den frühen Entwicklungsstadien die Knöllchenbildung komplett verhindern (Sallam & Scott, 1987).

5.1.5 DÜNGUNG

Normalerweise brauchen Sojabohnen keine Stickstoffdüngung, da ihr Stickstoffbedarf durch Knöllchenbakterien, die Luftstickstoff binden, gedeckt wird. Auf schlechten Böden oder nach hohen Niederschlägen, wenn der Bodenstickstoff ausgewaschen wurde, kann eine Startdüngung von ca. 30 kg Reinstickstoff aufgebracht werden, um den Stickstoffbedarf bis zur Wurzelknöllchenbildung zu decken. Dabei ist darauf zu achten, die die Stickstoffgabe nicht zu hoch ist, denn ansonsten wird die Tätigkeit der Knöllchenbakterien beeinträchtigt. Damit die Stickstofffixierung erfolgreich ist, sollte man „gebeiztes“ Saatgut verwenden, bei dem die Rhizobien am Saatgut aufgebracht sind. Phosphor- und Kaliumdüngung sollten sich nach dem Bodenvorrat richten und hängen auch von Ertragslage ab (Krumphuber, et al., 2013) (Tabelle 1).

Tabelle 1: Düngeempfehlung für Sojabohnen abhängig von der Ertragslage in Anlehnung an die „Richtlinien für die sachgerechte Düngung, 6. Auflage“ (aus Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, 2006).

Ertragslage [t/ha]	P ₂ O ₅ * [kg/ha]	K ₂ O* [kg/ha]
<1,5	60	80
1,5-2,5	65	90
>2,5	75	100

*bei Versorgungsstufe C

5.1.6 LICHT

Da Sojabohnen üblicherweise im Freiland angebaut werden, ist das Licht kaum steuerbar. Dennoch kann der Ertrag durch engere Reihenabstände verbessert werden, weil die Lichtaufnahme gesteigert wird. Dieser Effekt hat nur Wirkung in den vegetativen und frühen generativen Entwicklungsstadien (Board, et al., 1992). Desweiteren benötigen Sojabohnen, vor allem bei Glashausversuchen, eine gewisse Menge an UV-Licht von bis zu 30 µmol/m²/s im Lichtspektrum, da es sonst zu abnormalen Längenwachstum kommt. Problematisch sind Hochdruck-Natrium-Lampen oder andere Lampen, die wenig UV-Licht im Spektrum haben und meistens in Glashäusern verwendet werden. Diese verursachen bei niedrigen bis moderaten Photonenfluss dieses abnormalen Wachstum (Wheeler, et al., 1991). UV-Licht hemmt die Zellteilung und führt zu kürzeren Internodien (Dougher & Bugbee, 2004).

5.2 WICHTIGSTEN SCHADERREGER IN ÖSTERREICH

Prinzipiell ist die Sojabohne selbstverträglich, aber es werden trotzdem Anbaupausen von 4 bis 5 Jahren empfohlen, wegen der Pilzkrankheit Sclerotinia-Weißstängeligkeit. Da der Erreger *Sclerotinia sclerotiorum* auch andere Kulturpflanzen, wie Raps (*Brassica napus* L.)

oder Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.), befällt, müssen auch zu diesen Kulturen entsprechende Anbaupausen eingehalten werden (Schäfer, 2011; Soldati, 1999). Weiters können Falscher Mehltau (*Peronospora manshurica*) (Krumphuber, et al., 2013), Bakterienflecken durch *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* und *Xanthomonas axonopodis* (syn. *campestris*) pv. *glycines* (Giesler, 2011) oder Virose (Sojabohnenmosaikvirus und Gelber Bohnenmosaikvirus) auftreten (Proplanta GmbH & Co. KG, 2016). Diese sind jedoch in den meisten Fällen nicht ertragsrelevant (Krumphuber, et al., 2013). Bei kühl, feuchten Bedingungen können auch Wurzelerkrankungen durch *Pythium* sp., *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Phytophthora sojae* und *Rhizoctonia solani* vorkommen (OMAFRA Staff, 2009).

Als tierischen Schaderregern treten neben Bodenschädlingen, wie Drahtwürmer oder Engerlingen, vermehrt Blattrandkäfer, Blattläuse, Spinnmilben und die Raupen des Distelfalters auf. Letztere können in Befallsjahren einen beträchtlichen Schaden verursachen (Lembacher, et al., 2009). In der Jugendphase können Tauben, Rehe und Hasen den Keimling bzw. die jungen Blätter abfressen. Dieses Problem spielt aber nur regional eine Rolle (Soldati, 1999; Diepenbrock, et al., 1999).

5.3 VERWENDETE SOJABOHNENSORTE „GALLEC“

Für den Versuch wurde die Sojabohnensorte „Gallec“ verwendet. Die in der Schweiz gezüchtete Sorte ist seit 2003 in Österreich zugelassen und zählt zur Reifegruppe 000. Das bedeutet, dass die Sojabohnen sehr früh bis früh reifen (Bundesamt für Ernährungssicherheit, 2016) und dass die Sorte für das gesamte österreichische Sojaanbaugesamt geeignet ist ("Unser Lagerhaus" Warenhandelsgesellschaft m.b.H., 2014). Die Pflanzen haben eine rasche Jugendentwicklung und erreichen eine mittlere Wuchshöhe. Gallec hat eine mittlere Lagerneigung mit einem sehr geringen bis geringen Kornausfall. Die Samen haben eine hohe Tausendkornmasse (Bundesamt für Ernährungssicherheit, 2016) und einen hohen Kornertrag jedoch nur einen mittleren Ölgehalt ("Unser Lagerhaus" Warenhandelsgesellschaft m.b.H., 2014). Die Anfälligkeit für *Peronospora* und Bakteriosen ist mittel, wohingegen die Anfälligkeit für *Sclerotinia* sehr gering bis gering ausfällt. Virose spielen eine geringe bis mittlere Rolle. Samenflecken treten nur gering auf (Bundesamt für Ernährungssicherheit, 2016), spielen aber eine große Rolle für die Sorte, da Flecken die Ästhetik der Samen stören und sie deshalb für die Lebensmittelindustrie nicht mehr zu verwenden sind (Schori, et al., 2003). Außerdem sind Samenflecken ein Symptom des Sojabohnenmosaikvirus (SMV) (Hobbs, et al., 2003).

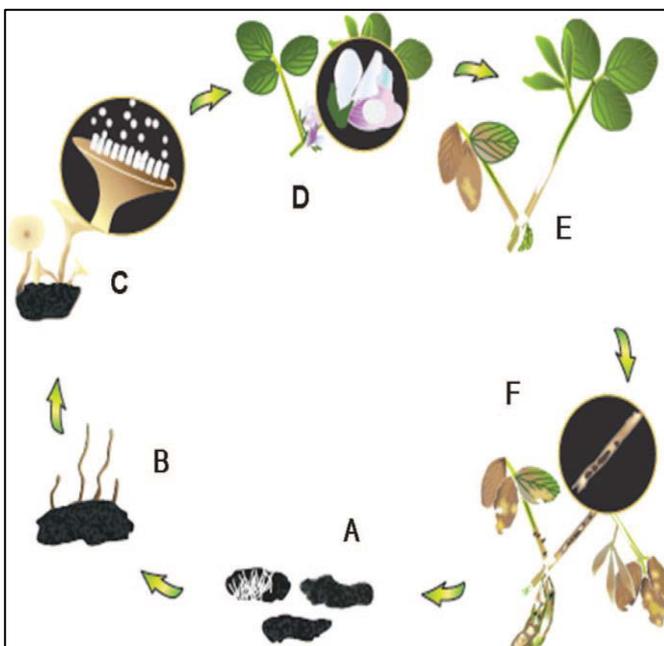
Laut Sortenpass ("Unser Lagerhaus" Warenhandelsgesellschaft m.b.H., 2014) sollten der Sorte Gallec ca. 65 kg/ha P₂O₅ und 90 kg/ha K₂O im Boden zu Verfügung stehen. Das entspricht bei 600.000 Pflanzen pro Hektar 0,11 g P₂O₅ pro Pflanze und 0,15 g K₂O pro Pflanze. Eine Stickstoffdüngung ist üblicherweise nicht nötig, da das Saatgut mit Rhizobien inokuliert ist und über die Symbiose mit den Rhizobien wird die Pflanze mit Stickstoff versorgt. In diesem Versuch ist dennoch eine Stickstoffdüngung notwendig, da Saatgut ohne Rhizobienbehandlung verwendet wurde.

6 SCLEROTINIA SCLEROTIORUM

Der Pilz *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary ist ein wichtiges und unspezifisches Pflanzenpathogen, das weltweit und unter verschiedensten Bedingungen vorkommt. Der Wirtspflanzenkreis umfasst über 360 Pflanzenarten in 64 Pflanzenfamilien (Purdy, 1979) zu denen wichtige Kulturpflanzen wie Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.), Raps (*Brassica napus* L.) oder Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.) zählen (Boland & Hall, 1994). Prinzipiell bevorzugt *S. sclerotiorum* kühle, feuchte Klimabedingungen, dennoch ist der Pilz in nahezu allen Ländern zu finden, da er in den heißeren und trockeneren Jahreszeiten seine Aktivität vermindert und so überlebt, bis bessere klimatische Bedingungen eintreten (Purdy, 1979).

Ertragsverluste durch *S. sclerotiorum* variieren zwischen 0 und 100 % und hängen von den vorherrschenden Bedingungen ab (Purdy, 1979). Der weltweite Schaden, der durch den Pilz verursacht wird, beträgt über 100 Millionen Dollar jährlich (Saharan & Mehta, 2008). Der Schaden entsteht einerseits durch die Ertragsreduktion und andererseits durch die schlechtere Qualität des Erntegutes, da durch befallenen Samen Lagerinfektionen entstehen können (Purdy, 1979). Die Sklerotien – die Überdauerungsform von *S. sclerotiorum* – können bis zu 10 Jahren im Boden überleben (Saharan & Mehta, 2008) und stellen daher für andere Wirtspflanzen eine potentielle Befallsgefahr und damit ein ökonomisches Risiko dar.

6.1 LEBENSZYKLUS



Erläuterung zu Abbildung 11: (A) Sklerotien von *S. sclerotiorum* überleben im Boden. (B) Die Sklerotien keimen und produzieren Apothecien. (C) Apothecien produzieren Ascosporen, die explosionsartig an die Luft abgegeben werden. (D) Ascosporen besiedeln alternde Blüten und infizieren gesundes Nachbargewebe. (E) Symptome von *S. sclerotiorum* werden sichtbar. (F) Sklerotien, die innerhalb und außerhalb des Stängels gebildet wurden, fallen während der Ernte auf den Boden (Peltier, et al., 2012).

Abbildung 11: Lebenszyklus von *S. sclerotiorum* an der Sojabohne (aus Peltier, et al., 2012).

Der Lebenszyklus von *S. sclerotiorum* (Abbildung 11) beginnt mit der Keimung von Sklerotien im Boden unter kühlen bis warmen Bedingungen. Danach sind zwei verschiedene Infektionswege möglich. Entweder bilden Sklerotien ein Myzel, das die Pflanzen direkt penetriert oder die Infektion erfolgt über Apothecien und Ascosporen. Apothecien sind

fleischfarbene, pilzartige Strukturen, die aus Keimschläuchen an die Oberfläche wachsen (Abbildung 12). Die in den Apothezien gebildeten Ascosporen werden regelmäßig freigesetzt und benötigen ebenso, wie das Myzel zur Besiedelung benötigen totes oder alterndes Pflanzengewebe bzw. Blüten (Schwartz, et al., 2011) als Energiequelle, um danach in gesundes Gewebe eindringen zu können (Saharan & Mehta, 2008). Bei einer geglückten Infektion ist als typisches Symptom weißes Myzel an den infizierten Pflanzenteilen sichtbar (Abbildung 13), in dem sich Sklerotien für den Start eines neuen Zyklus bilden (Peltier, et al., 2012). Innerhalb eines Feldes bzw. von Feld zu Feld können sich Sporen, Myzel und Sklerotien durch ablaufendes Oberflächenwasser verbreiten (Schwartz, et al., 2011).



Abbildung 12: Apothezien, die aus Sklerotien entstehen (aus Peltier, et al., 2012).



Abbildung 13: Symptome einer Infektion mit *S. sclerotiorum* (aus Peltier, et al., 2012).

Prinzipiell kann *S. sclerotiorum* durch Myzel auf Ernterückständen, durch Samen am Feld und durch Sklerotien überleben. Durch Sklerotien sichert der Pilz sein Überleben unter ungünstigen Umweltbedingungen. Die schwarzen, circa 0,3 cm großen, aus gehärtetem Myzel bestehenden Überdauerungsformen werden auf infiziertem Pflanzengewebe gebildet und enthalten Nahrungsreserven, um ungünstige Perioden überdauern zu können (Schwartz, et al., 2011). Die Überlebensfähigkeit der Sklerotien hängt von äußeren Einflüssen ab und kann unter optimalen Temperatur- und Feuchtebedingungen (Ćosić, et al., 2012) bis zu 10 Jahre erreichen (Saharan & Mehta, 2008).

6.2 SYMPTOME AN SOJABOHNEN

Bei Sojabohnen löst *S. sclerotiorum* die sogenannte Weißstängeligkeit aus. Üblicherweise sind die ersten Blattsymptome während der frühen Hülsenentwicklungsstadien sichtbar. Chlorosen, Welkeerscheinungen und grau-grünes Gewebe zwischen den Blattadern, während die Adern grün bleiben sind die ersten Infektionszeichen. Im Laufe der Zeit werden die Blätter völlig nekrotisch, zerfetzt und gekräuselt, fallen aber dennoch bis zur Reife nicht ab. Mit fortschreitender Infektion bilden sich an den Nodien Läsionen, die zuerst grau und wassergetränkt erscheinen. Der Pilz breitet sich dann weiter im Stängelgewebe über und

unter den Nodien aus, sodass die Läsionen 6 bis 30 cm lang werden und den kompletten Stängel umfassen können. Weißes, flauschiges Myzel bedeckt die Läsionen, vor allem bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit und Sklerotien werden an der Oberfläche gebildet. Die Läsionen werden nach und nach weiß und bilden einen scharfen Kontrast zum sonst grünen Gewebe (Saharan & Mehta, 2008). Durch die Stängelschädigung können die Pflanzen umknicken (von Beesten, 2014b). Zum Zeitpunkt der Fruchtreife ist das befallene Stängelgewebe weiß, zerfetzt und zum Teil sind die Läsionen am Rand rötlich verfärbt ebenso das Innere des befallenen Gewebes. Bei der Ernte können die infizierten Pflanzen durch schlechte Hülsenentwicklung und eine weiße Markröhre mit Sklerotien charakterisiert werden. Erkrankte Hülsen sind außen weiß und innen können Myzel und Sklerotien beobachtet werden. Die befallenen Samen erscheinen weiß und schimmelig. Sklerotien können im Erntegut beobachtet werden und können Samen-Fäulnis bei feuchter Lagerung verursachen. Samen von befallenen Pflanzen sind ca. ein Viertel kleiner als normale, gesunde Samen und zum Teil ist die Samenschale faltig oder rissig (Saharan & Mehta, 2008).

6.3 BEKÄMPFUNG

Zur Bekämpfung von *S. sclerotiorum* gibt es verschiedene Möglichkeiten. Fungizide können das Wachstum oder eine Infektion durch den Pilz auf unterschiedliche Weise hemmen, je nach Art des Fungizids (Peltier, et al., 2012). Eine Fruchtfolge, bei der mindestens 2 bis 3 Jahre keine Wirtspflanze angebaut wird, bewirkt einen Rückgang an Sklerotien im Boden (Gracia-Garza, et al., 2002) während durch leichten Trockenstress die Apothezienproduktion verhindert wird (Grogan & Abawi, 1975).

Durch Pflügen werden Sklerotien in tieferen Bodenschicht vergraben, allerdings sind sie in 20 bis 25 cm Tiefe bis zu drei Jahre lebensfähig. Außerdem gelangen sie durch erneutes Pflügen wieder in die Krumenschicht und können keimen (Peltier, et al., 2012). Bei Minimalbodenbearbeitung werden weniger Apothezien gebildet (Gracia-Garza, et al., 2002), da die Sklerotien in Oberflächennähe bleiben (Peltier, et al., 2012) und leichter von Mikroorganismen abgebaut werden (Gracia-Garza, et al., 2002). Ein wichtiges Mittel zur Bekämpfung von *S. sclerotiorum* ist die Unkrautkontrolle, da viele Unkräuter zum Wirtspflanzekreis zählen (Saharan & Mehta, 2008).

Eine weitere Bekämpfungsmöglichkeit ist der Anbau von resistenten Wirtspflanzensorten (Grau, et al., 1982). Das Problem dabei besteht darin, dass es laut österreichischer beschreibender Sortenliste bei Sojabohnen derzeit keine gänzlich resistente Sorte gibt (Bundesamt für Ernährungssicherheit, 2016).

Biologische Kontrolle ist ebenfalls eine Möglichkeit zur Bekämpfung von *S. sclerotiorum*. Antagonistische Pilze, wie *Paraconiothyrium minitans*, *Talaromyces flavus* oder *Pythium oligandrum* wurden schon erfolgreich auf ihre unterdrückende Wirkung getestet (McLaren, et al., 1994 & Madsen & de Neergaard, 1999). Ebenso können diverse Bodenbakterien zum Abbau von Sklerotien im Boden eingesetzt werden (Duncan, et al., 2006). Die Larven von *Bradysia coprophila* konnten ebenfalls wirksam auf Kontrolle von *S. sclerotiorum* getestet werden, da sie Sklerotien fressen (Anas & Reeleder, 1988).

7 MATERIAL UND METHODEN

7.1 GLASHAUSVERSUCH

Der Versuch wurde im Zeitraum von 4. März 2015 bis 30. April 2015 und von 1. März 2016 bis 21. April 2016 am Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Pflanzenschutz im Universitäts- und Forschungszentrum Tulln (UFT) der Universität für Bodenkultur durchgeführt.

7.1.1 VERSUCHSAUFBAU

Der Versuch wurde als Spaltanlage angelegt und enthielt dabei folgende Faktoren: Düngung (-P; +P), Endosymbiont (+*S. indica*; -*S. indica*) und Pathogen (+*S. sclerotiorum*; -*S. sclerotiorum*). Für die Düngung wurde einerseits eine Nährlösung mit wenig Phosphor (-P) und andererseits eine Nährlösung mit mehr Phosphor (+P) verwendet (genaue Zusammensetzung der Düngelösungen siehe Tabelle 10 im Anhang). Pro Düngung wurde eine Variante mit *S. indica*, eine mit *S. sclerotiorum* und eine mit beiden Pilzen, sowie eine Kontrollvariante angelegt. Insgesamt wurden je Variante wurden 15 Töpfe vorbereitet. Einen besseren Überblick über die Varianten und deren Abkürzungen gibt Tabelle 2.

Tabelle 2: Überblick über die Varianten

+P-Varianten	-P-Varianten
<ul style="list-style-type: none"> • +P + <i>S. indica</i> • +P + <i>S. indica</i>+Scl • +P + Scl • +P-Kontrolle 	<ul style="list-style-type: none"> • -P + <i>S. indica</i> • -P + <i>S. indica</i>+Scl • -P+ Scl • -P-Kontrolle

Um das Gießen zu erleichtern wurden die Töpfe in 2 Blöcke geteilt. Ein Block mit allen +P-Varianten und der andere mit den -P-Varianten. Innerhalb dieser Blöcke wurden die Töpfe randomisiert und in drei Reihen zu je 20 Töpfen aufgestellt. Um Randeffekte und Pflanzen-Pflanzen-Interaktionen zu vermeiden wurden wöchentlich die oberste und unterste Reihe um einen Topf nach rechts verschoben und die mittlere Reihe nach links.

7.1.2 PILZLICHES VERSUCHSMATERIAL

Für die Herstellung der Nährmedien wurden zuerst Stocklösungen hergestellt. Für die Makronährstoffmix Stocklösung wurden 12 g NaNO₃, 10,4 g KCl (Merck, Darmstadt, Deutschland), 10,4 g MgSO₄*7H₂O (Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Deutschland) und 30,4 g KH₂PO₄ (AppliChem. GmbH, Darmstadt, Deutschland) in 1 Liter destilliertem Wasser aufgelöst und anschließend autoklaviert. Die Mikronährstoffmix Stocklösung wurde aus 2,2 g ZnSO₄*7H₂O, 0,16 g CuSO₄*5H₂O (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) 0,5 g MnSO₄*4H₂O, 0,11 g (NH₄)₆Mo₇O₂₄*4H₂O, 0,16 g CoCl₂*5H₂O (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) und 1,1 g H₃BO₃ (Merck, Darmstadt, Deutschland) hergestellt, die ebenfalls in einem Liter destilliertem Wasser aufgelöst und autoklaviert wurden. Für die Fe-EDTA Stockkultur wurde 2,5 g FeSO₄*7H₂O (Merck, Darmstadt, Deutschland) in 400 ml destilliertem Wasser aufgelöst. Danach wurden 3,36 g Na₂EDTA*2H₂O (Duchefa, Haarlem, Niederlande) hinzugefügt und die Lösung wurde in einer Mikrowelle zum Kochen gebracht. Dann wurde ca. 30 min gerührt bis die Lösung abgekühlt war und das Volumen wurde auf 450 ml eingestellt. Alle drei Stockkulturen wurden nach der Vorbereitung bei 4°C gelagert. Für 100 ml Vitaminmix Stocklösung wurden 0,1 g Thiamin, 0,01 g Nikotinsäure (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz), 0,01 g Pyridoxin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) und 0,04 g Glycin (Carl Roth GmbH & Co. KG) in 100 ml sterilem Wasser aufgelöst und danach Filter-sterilisiert. Die Stocklösung wurde dann in Portionen von 1 ml in 1,5-ml-Eppendorf-Tubes bei -20°C gelagert.

Für das *S. indica*-Inokulum wurde modifiziertes Käfer Medium-Bouillon (Hill & Käfer, 2001) nach Johnson, et al. (2011) in 2-Liter-Erlenmeyerkolben hergestellt (siehe Tabelle 9 im Anhang). Für einen Liter Bouillon wurden 20 g D-Glucose, 2 g Pepton (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland), 1 g Hefe-Extrakt (Duchefa, Haarlem, Niederlande) und 1 g Casein Hydrolysat (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz) eingewogen. Danach wurden 50 ml Makronährstoffmix, 10 ml Mikronährstoffmix und 1 ml Fe-EDTA unter dem Abzug hinzugefügt. Im nächsten Schritt wurde der pH-Wert mit 10N KOH (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) auf 6,5 adjustiert und die Lösung anschließend autoklaviert (20 min, 121°C, 1,2 bar, Varioklav Dampfsterilisator, Herstellnr. 56790295). Nachdem die Lösung abgekühlt war, wurde 1 ml Vitaminmix hinzugefügt.

Nach der Herstellung der Bouillon wurde in jeden der Erlenmeyerkolben 10 *S. indica*-Myzel-Stücke mit einem Durchmesser von 1 cm gegeben. Die Käfer Medium Platten, von denen die Myzel-Plugs entnommen wurden, konnten zuvor 2 Wochen lang im Klimaschrank bei 24°C und Dunkelheit wachsen. Die Käfer Medium Platten wurden nach derselben Anleitung, wie die Bouillon hergestellt mit der Ausnahme, dass zu Beginn 10 g Agar (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) hinzugefügt wurden, damit das Medium fest wird. Nachdem das Inokulum in den Erlenmeyerkolben vorbereitet worden war, hatte *S. indica* 3 Wochen lang Zeit im Klimaraum bei 24°C und Dunkelheit am Schüttler bei ca. 150 Umdrehungen/min zu wachsen (Abbildung 14). Nach drei Wochen wurde das Myzel mittels Wasserstrahlpumpe (Abbildung 15) durch 3 Lagen autoklaviertem Kannenvlies-Filter von der übriggebliebenen Bouillon getrennt (Abbildung 16). Das Myzel-Volumen wurde mit Hilfe eines 1000 ml-

Becherglases bestimmt und danach wurde das Myzel 1:3 mit autoklaviertem Fugensand der Firma „Casafino“ (natur, feuergetrocknet; Körnung: 0,5 – 2,0 mm) gemischt. Das benötigte Gesamt-Inokulum-Volumen betrug 360 ml, da pro Topf 3 ml Inokulum verwendet werden. Die Hälfte des fertigen Inokulum, also mindestens 180 ml, wurde für die Varianten ohne *S. indica* autoklaviert. Die Menge an *S. indica* pro 3 ml Inokulum betrug bei einem Mischungsverhältnis zwischen Pilz und Sand von 1:3 25 Prozent.

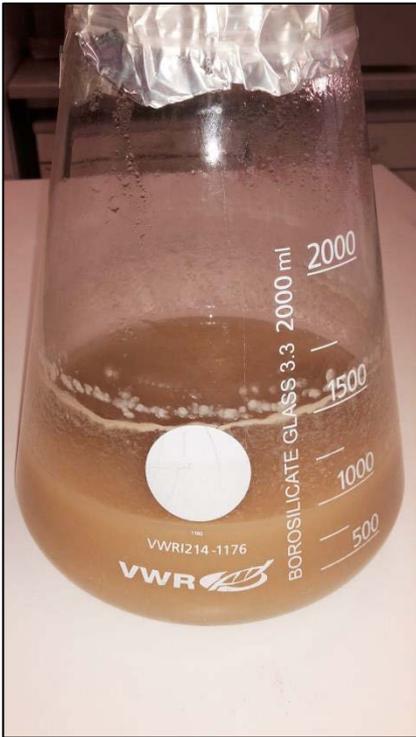


Abbildung 14: *S. indica*-Myzel nach 3 Wochen in Kaefers Medium Boullion.



Abbildung 15: Wasserstrahlpumpe zum Myzel-Filterieren.



Abbildung 16: *S. indica*-Myzel beim Filterieren durch 3 Lagen Kannenvlies-Filter.

Für die Herstellung des Inokulums wurden 200 ml Myzel (Abbildung 17) mit den Händen mit 600 ml Sand gemischt. Das ergab ein Inokulum von insgesamt 800 ml (Abbildung 18). Die Hälfte (400 ml) wurde in einem Becherglas autoklaviert (20 min, 125°C, 2 bar, Certoklav Sterilizer GmbH, Typ: CV-EL 18L).

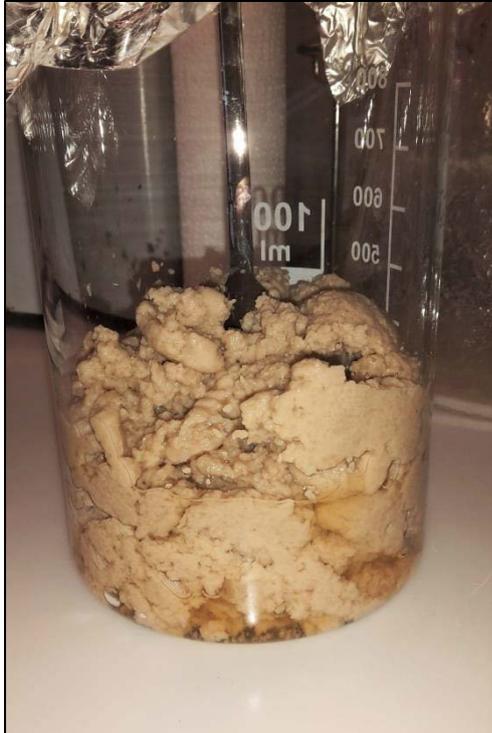


Abbildung 17: Gesamtes *S. indica*-Myzel nach dem Filtrieren.



Abbildung 18: Fertiges *S. indica*-Inokulum.

Für das *S. sclerotiorum*-Inokulum wurde eine Methode von Bastien, et al. (2012) herangezogen, die aufgrund geänderten Bedingungen modifiziert wurde. Für den Versuch wurde eine *S. sclerotiorum*-Stammkultur von der Sojabohne verwendet, von der zuerst ein 0,8 cm-großer Myzelplug auf eine Kartoffelextrakt-Dextrose-Agar (PDA)-Platte gesetzt wurde. Danach wurde die Platte bei 24°C und Dunkelheit im Klimaschrank für 6 Tage aufbewahrt. Für die Herstellung des Agars wurden 39 g PDA (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) in einem Liter destilliertem Wasser gelöst, autoklaviert und in 9 cm-Durchmesser-Platten gegossen. Nach 6 Tagen wurde in zwei 2-Liter-Erlenmeyerkolben jeweils 1 Liter Kartoffel-Dextrose-Boullion (PDB) hergestellt indem 39 g PDB (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) in einem Liter destilliertem Wasser gelöst und autoklaviert wurde. Einer der Kolben wurde mit einem 0,8 cm großen *S. sclerotiorum*-Myzelplug inokuliert, während der andere nur mit reinem PDB verblieb. Der 2. Kolben wurde als „Kontroll-Inokulum“ für die Varianten ohne *S. sclerotiorum* (+P+S. *indica*, -P+S. *indica*, +P-Kontrolle und -P-Kontrolle) verwendet und wurde daher nicht inokuliert. Beide Kolben wurden dann im Klimaraum bei 24°C und Dunkelheit am Schüttler bei ca. 100 U/min gelagert.

8 Tage nach Herstellung des Inokulums wurden die Pflanzen am inokuliert. Zum Zeitpunkt der Infektion befand sich der Großteil der Pflanzen im BBCH-Stadium 59 (Erste Blütenblätter sichtbar; Blüte noch geschlossen). Vor der Inokulation wurde das Inokulum 30 sec im „pbibrand Sterilmixer“ (VWR, Seriennr. 66693) homogenisiert (Abbildung 19). Danach wurde die Blüte am 4. Nodium mit einem scharfen Skalpell entfernt (Abbildung 20) und ein im Inokulum getränktes, halbes Wattepad wurde mit Hilfe einer Pinzette an der Schnittstelle mit einem Tacker fixiert (Abbildung 21). Für die Kontrollpflanzen wurden die Wattepads in reinem PDB getränkt.



Abbildung 19: *S. sclerotiorum*-Inokulum nach dem Mixen.



Abbildung 20: Am 4. Nodium abgeschnittene Blüte.



Abbildung 21: Im Inokulat getränktes halbes Wattepad, am 4. Nodium fixiert.

In den Kontroll-Varianten wurde autoklaviertes *S. indica*- und *S. sclerotiorum*-Inokulum verwendet. Autoklaviertes *S. sclerotiorum*-Inokulum wurde ebenso in den Varianten nur mit *S. indica* verwendet genauso wie autoklaviertes *S. indica*-Inokulum in den Varianten nur mit *S. sclerotiorum* verwendet wurde.

7.1.3 VERSUCHSVERLAUF

7.1.3.1 ANBAU

Der Versuch wurde im Glashaus in Töpfen mit 14 cm Durchmesser und Untersetzern, die ca. bis zur Mitte der Töpfe reichten, durchgeführt. Bei der ersten Wiederholung dieses Versuchs wurden die Töpfe auf Saatkistchen angeordnet, für die Wiederholung des Versuchs wurden Untersetzer verwendet.

Am Tag vor dem Anbau wurden die Töpfe mit einem 1:1:1 gemischtem Substrat aus „Gramoflor Sondermischung“-Kultursubstrat (Gramoflor GmbH & Co. KG) zweifach autoklaviert im „Varioklav“ für jeweils 20 min, Fugensand (natur, feuergetrocknet, Körnung: 0,5 – 2,0 mm) und Blähton für Ausgleichsschüttung (Körnung: 1-4 mm; Lias Österreich GmbH) befüllt. Danach wurde das Substrat mit Leitungswasser eingegossen.

Beim Anbau wurden zuerst mit einem Pikierstab Pflanzlöcher mit ca. zwei cm Tiefe gemacht (Abbildung 22). Das Inokulum wurde mit einem Falcon Tube, welches bei 3 ml abgeschnitten und autoklaviert wurde, in die Löcher gefüllt (Abbildung 23). Danach wurden pro Topf zwei oberflächendesinfizierte Sojabohnensamen auf das Inokulum gelegt (Abbildung 24). Für die Samendesinfektion wurden die Sojabohnen zuerst für 5 min in 50 % verdünntem „DanKlorix Hygiene Reiniger“ eingelegt und danach dreimal 20 sec mit sterilem Wasser gespült. Als nächster Schritt wurden die Pflanzlöcher wieder mit Substrat bedeckt und jeder Topf wurde mit 200 ml Phosphor-Dünger eingegossen. Um Kontaminationen zu vermeiden wurden als erstes die Varianten ohne *S. indica*, bei denen das autoklavierte Inokulum verwendet wurde, angebaut.



Abbildung 22: Topf mit Untersetzer und 1:1:1 gemischtem Substrat sowie einem 2 cm tiefen Pflanzloch.



Abbildung 23: Bei 3 ml abgeschnittenes Falcon Tube.



Abbildung 24: Topf mit 3 ml *S. indica*-Inokulum und 2 oberflächendesinfizierten Sojabohnen-Samen.

7.1.3.2 KULTIVIERUNGSMABNAHMEN

2 Wochen nach dem Anbau wurden die Pflanzen vereinzelt, sodass in jedem Topf nur mehr eine gesunde Sojapflanze übrig war. Dafür wurden alle deformierten oder im Wachstum zurückgebliebenen Pflanzen aus den Töpfen entfernt. (Abbildung 25 bis Abbildung 27).



Abbildung 25: Sojabohnen-Keimling mit deformiertem Keimblatt.



Abbildung 26: Sojabohnen-Keimling mit nur einem Keimblatt.



Abbildung 27: Sojabohnen-Keimling mit 3 ersten Blättern.

Ebenfalls 2 Wochen nach dem Anbau wurden die Pflanzen auf Holzstäbe mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 0,5 cm und einer Länge von rund 60 cm hochgebunden. Zum Fixieren wurden Nelkenringe mit einem Durchmesser von 25 mm verwendet. Über den gesamten Versuchsverlauf hinweg wurden die Sojapflanzen immer wieder mit den Ringen auf den Stäben fixiert, um Umknicken und Ineinanderwachsen der Pflanzen zu vermeiden.

Zu Beginn des Versuchs wurde zweimal wöchentlich mit 200 ml Nährlösung gedüngt und gegossen. Da sich herausgestellt hat, dass diese Menge zu viel ist, wurde nach 3 Wochen die Düngermenge auf 100 ml Nährlösung reduziert. Außerdem wurde die überschüssige Nährlösung, die sich im Übertopf gesammelt hat, noch am selben Tag ca. 4 Stunden nach dem Gießen abgegossen, um Staunässe zu vermeiden. Aufgrund der geringen Düngermengen in den beiden Nährlösungen +P und -P konnten beide unbedenklich zum Gießen verwendet werden.

Die verwendeten Nährlösungen unterscheiden sich im Phosphorgehalt. Eine genaue Zusammensetzung der Nährlösungen, sowie die Reinnährstoffgehalte befinden sich im Anhang in Tabelle 10 und Tabelle 11. Für die Nährlösungen wurden zuerst Stammlösungen

hergestellt. Diese wurden dann in der angegebenen Reihenfolge von Tabelle 10 im Anhang in 100 l Vollentsalztem (VE) Wasser gelöst und dazwischen wurde gut durchgemischt. Die jeweils 100 l Nährlösungen wurden in Tonnen im Glashaus des UFT Tulln, Abteilung Pflanzenschutz gelagert und bei Bedarf wiederhergestellt. Vor dem Gießen wurden die Lösungen nochmals umgerührt, um eine gleichmäßige Verteilung der Ionen zu gewährleisten.

1 Woche vor Versuchsende wurden die Pflanzen bei Bedarf zusätzlich mit Leitungswasser gegossen, da sie aufgrund ihrer Größe mehr Wasser benötigten.

7.1.3.3 BEDINGUNGEN IM GLASHAUS

Während der gesamten Versuchsdauer wurden Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Tageslänge im Glashaus konstant gehalten. Der Temperatur-Soll-Wert betrug 23,6 °C und die relative Luftfeuchtigkeit sollte konstant auf 60 % gehalten werden indem VE-Wasser in der Luft zerstäubt wurde. Die zusätzliche Beschattung im Glashaus hatte einen Schichtpunkt von 30 klux, damit die Temperatur im Glashaus nicht zu hoch wird und die Lichteinstrahlung auf die Pflanzen nicht zu stark.

Aus Abbildung 28 geht hervor, dass die Temperatur im Glashaus im Durchschnitt über die komplette Versuchsdauer hinweg nur 21 °C betragen hat anstatt der gewollten 23,6 °C. Während der Nachtstunden sank die Temperatur bis auf ein Minimum von 17,6 °C und am Tag stieg die Temperatur im Glashaus auf ein Maximum von 27 °C. Wie aus Abbildung 28 hervorgeht stieg die Temperatur kontinuierlich mit fortschreitendem Jahresverlauf. Die Ausreißer nach unten sind Tage mit schlechtem Wetter und wenig Sonnenschein, die Peaks nach oben waren Tage mit starkem Sonnenschein.

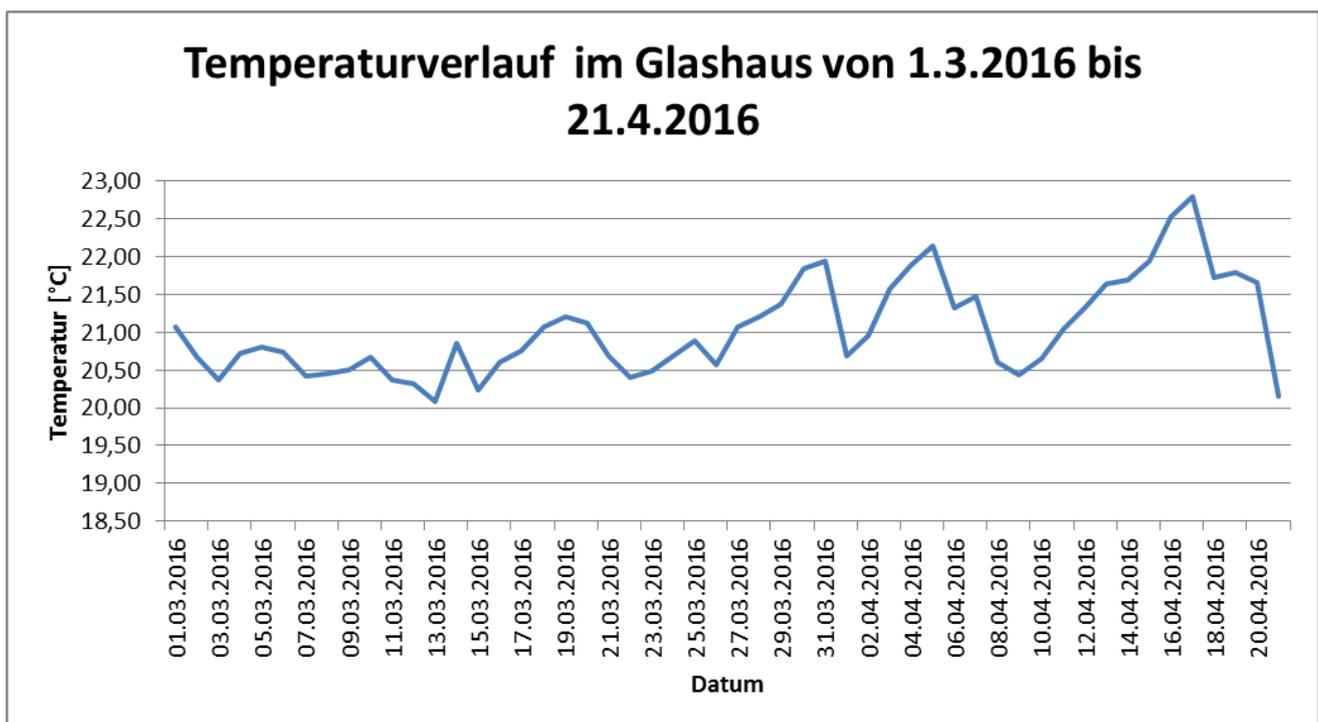


Abbildung 28: Temperaturverlauf im Glashaus während des Versuchs (Mittelwert) von 1. März 2016 bis 21. April 2016.

Abbildung 29 zeigt den Verlauf der relativen Luftfeuchtigkeit während des Versuchs und auch hier ist zu sehen, dass die relative Luftfeucht im Mittel über den gesamten Versuch hinweg nur rund 57 % betrug. An heißen Tagen war die Luftfeuchtigkeit geringer, als an Tagen mit schlechtem Wetter. Generell war die Luftfeuchtigkeit in der Nacht höher im Vergleich zum Tag.

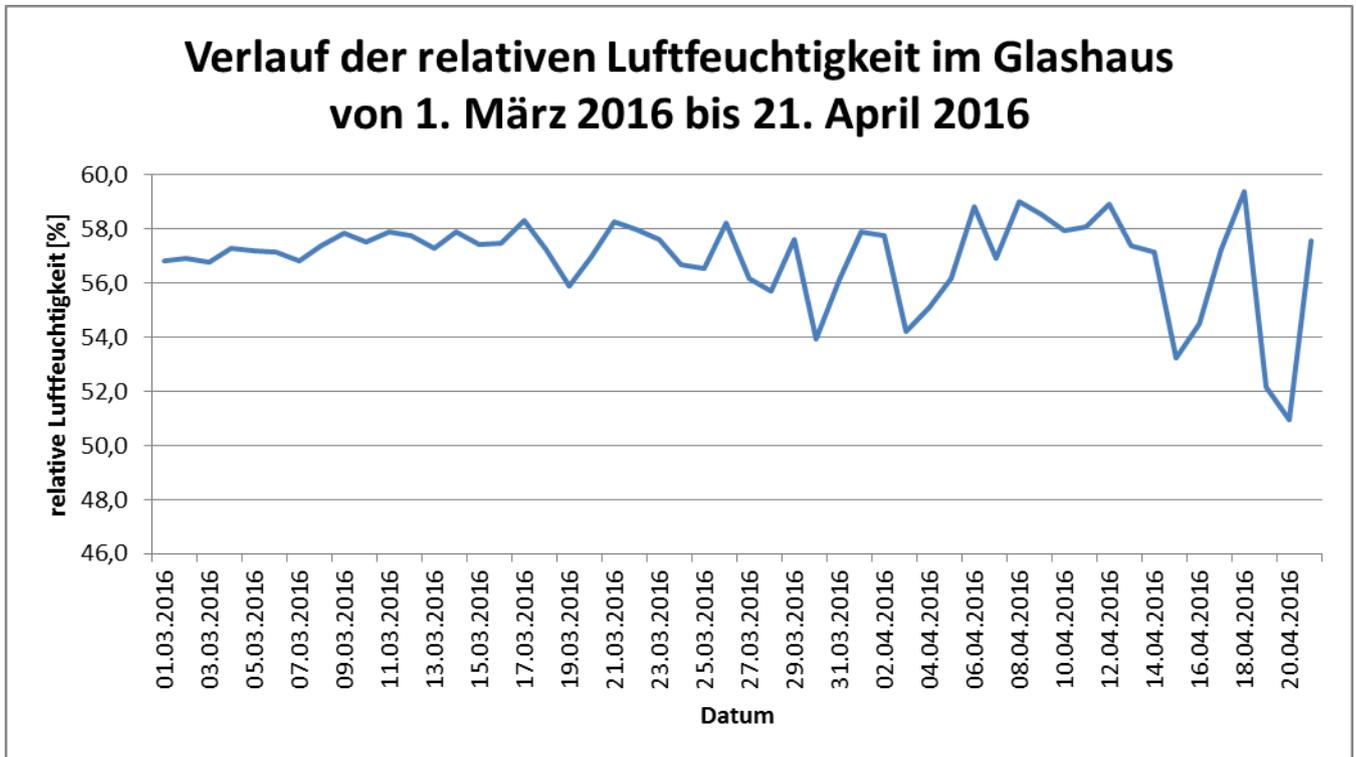


Abbildung 29: Verlauf der relativen Luftfeuchtigkeit im Glashaus während des Versuchs (Mittelwert) von 1. März 2016 bis 21. April 2016.

Die Tageslänge betrug 14 Stunden von 7:00 Uhr morgens bis 21:00 Uhr abends. Um die Tageslänge zu regulieren und um für genügend Licht für die Sojapflanzen zu sorgen wurden 4 Philips IP65 Strahler verwendet, die genau in der Mitte des Tisches, auf dem die Sojabohnen standen, hingen. Der Schalterpunkt der Strahler lag in den ersten 3 Wochen nach dem Anbau bei einer Beleuchtungsstärke von 20 klux, danach liefen die Strahler durchgehend 14 Stunden am Tag, da die Sojabohnen mit der bisherige Einstellung zu wenig Licht für ein rasches Wachstum hatten.

2 verschieden Leuchten wurden für die 4 Strahler verwendet. In 2 Strahlern wurden Metall-Halogen Leuchten (Philips MASTER HPI-T Plus 400W/645 E40 1SL/12) verwendet und in den anderen beiden Hochdruck-Natriumdampf-Leuchten (Philips MASTER Agro 400W E40 1SL/12). Die beiden Leuchten waren abwechselnd in den Strahlern eingebaut. Das bläulich-weiße Licht der MASTER HPI-T Plus Leuchte hat eine Wellenlänge von 520 bis 600 nm (Abbildung 30) während das orange-gelbe Licht der MASTER Agro Leuchte eine Wellenlänge von 560 bis 640 nm hat (Abbildung 31). Die Hochdruck-Natriumdampf-Lampe hat einen PPF Wert von 660 $\mu\text{mol/s}$ und die Metall-Halogen-Lampe einen PPF-Wert von 530 $\mu\text{mol/s}$. PPF gibt die Menge an Photonen im Wellenlängen-Spektrum von 400 bis 700 nm an. Je höher der Wert umso besser unterstützt das Licht das Pflanzenwachstum (Philips Lighting Holding B.V., 2010).

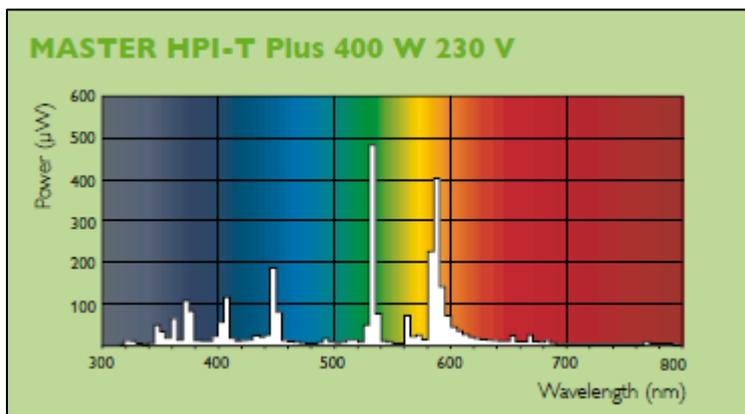


Abbildung 30: Wellenlänge-Spektrum der Philips MASTER HPI-T Plus 400W/645 E40 1SL/12 Leuchte (aus Philips Lighting Holding B.V., 2010).

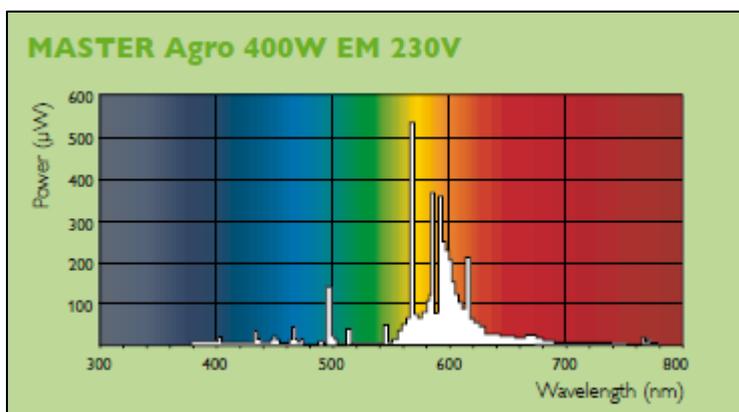


Abbildung 31: Wellenlängen-Spektrum der Philips MASTER Agro 400W E40 1SL Leuchte (aus Philips Lighting Holding B.V., 2010).

7.1.4 VERSUCHSAUSWERTUNG

Während der gesamten Versuchsdauer wurde zweimal wöchentlich das BBCH-Stadium der Pflanzen nach Munger et al. (1997) bestimmt. Außerdem wurde 3 Wochen nach dem Anbau damit begonnen die Gesamtpflanzenlänge, die Epikotyl-Länge und die Internodien-Länge der einzelnen Pflanzen zu messen. Dazu wurde ein handelsübliches Maßband verwendet. Die Gesamtpflanzenlänge wurde von der Substratoberfläche bis zur obersten Knospe gemessen während die Internodien-Länge zwischen allen voll entfalteten Blättern gemessen wurde.

7.1.4.1 ERHEBUNG DES *SCLEROTINIA*-BEFALLS

Nach der Inokulation wurde eine Woche lang täglich der Befall der einzelnen Pflanzen mit einer Skala von 0 bis 4 bewertet (siehe Tabelle 3). Außerdem wurde die Läsionslänge der einzelnen Pflanzen mit einem Maßband gemessen.

Tabelle 3: Bewertungsskala *S. sclerotiorum*-Infektion.

Bewertungsskala	
0	Pflanze gesund
1	Leichte Läsion aber Pflanze gesund (Läsion max. 5 cm)
2	Läsionen \geq 5 cm
3	Welk, aber untere 2 Blätter grün (unterhalb der Inokulationsstelle grün)
4	Pflanze abgestorben

Mit den erhobenen Daten wurden pro Tag die Befallshäufigkeit (BH) für alle Pflanzen einer Variante im Bestand, also der %-Anteil der befallenen Pflanzen im Bestand, und die Befallstärke in Prozent (BS) pro Tag für jede Pflanze mit folgenden Formeln berechnet. Für die Befallstärke wurde der Prozentanteil der Läsionslänge an der Gesamtpflanzenlänge kalkuliert.

$$BH \% = \frac{\text{Anzahl der erkrankten Pflanzen}}{\text{Anzahl aller Pflanzen}} * 100$$

$$BS \% = \frac{100}{\text{Gesamtpflanzenlänge}} * \text{Läsionslänge}$$

Um die Stärke des *S. sclerotiorum*-Befalls darzustellen wurde die „Area under the disease-progress curve“ (AUDPC) berechnet. Dazu wurde eine Formel von Shaner & Finney (1977) verwendet.

$$\sum_{i=1}^n [(Y_{i+1} + Y_i)/2][X_{i+1} - X_i]$$

Y_i ist die Befallstärke von *S. sclerotiorum* bei der i -ten Beobachtung, X_i die Tage bei der i -ten Beobachtung und n die Gesamtanzahl an Beobachtungen. In diesem Falle konnte der 2. Teil der Formel $[X_{i+1}-X_i]$ mit der Berechnung der Zeit vernachlässigt werden, da eine Woche lang täglich bonitiert wurde.

7.1.4.2 ERNTE

Die Ernte fand am 30. April und 1. Mai 2015, sowie am 20. und 21. April 2016 statt. Von insgesamt 120 Töpfen wurden nur 96 geerntet, um gleiche Gruppengrößen der unterschiedlichen Varianten zu erhalten –P + *S. indica* + *S. sclerotiorum* (Topf 11), –P + *S. indica* (Topf 13), +P + *S. sclerotiorum* (Topf 2) und +P-Kontrolle (Topf 2) wurden ausgeschieden, da sie deformierte Blätter hatten und daher eine Infektion über das Saatgut sehr wahrscheinlich war. –P + *S. indica* + *S. sclerotiorum* (Topf 15) wurde bei der *S. sclerotiorum*-Infektion verletzt und konnte daher bei der Ernte nicht verwendet werden. Pro Variante wurden insgesamt 12 Töpfe geerntet.

Bei der Ernte selbst wurden zuerst die Wurzeln von Substratresten befreit und danach gewaschen. Danach wurden Spross und Wurzel mit einer Schere auseinandergeschnitten und Spross-Frischmasse und Wurzelfrischmasse separat gewogen. Außerdem wurde die Wurzellänge mit einem Maßband bestimmt. Für die Wurzelfärbung wurde aus der Mitte jeder Wurzel ein ca. 2 cm breites Stück herausgeschnitten und in einem 50-ml-Falcon Tube in 30%igen Ethanol bei 3 °C gelagert. Der Spross und die restlichen Wurzeln wurden getrennt in Papiersäcke verpackt und bei 105 °C 24 h getrocknet. Danach wurden die Spross- und Wurzeltrockenmasse bestimmt.

7.1.4.3 WURZELKOLONISATION MIT *S. INDICA*

Die Wurzeln wurden mit einer Methode von Koske & Gemma (1989) gefärbt, die auf die Wurzelstruktur der Sojabohnen angepasst wurde. Zuerst wurde der 30%ige Ethanol entfernt und die Wurzeln wurden mit Hilfe eines feinen Siebes mit Leitungswasser gespült. Danach wurden die Wurzeln mit 10%iger KOH (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) bedeckt und für 8 min bei 90 °C im Wasserbad gekocht, um das Gewebe zu klären. Im nächsten Schritt wurden die Wurzeln dreimal mit Leitungswasser gespült bevor sie mit 1%iger HCl (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) bedeckt wurden und für 1 h bei Raumtemperatur gelagert wurden. Dann wurde die HCl abgegossen und die Wurzeln wurden mit Trypan Blau bedeckt und 5 min bei 90 °C im Wasserbad gekocht. 1 Liter Trypan Blau wurde aus einem Liter Säureglycerol und 0,5 g Trypan Blau (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz) hergestellt. Für einen Liter Säureglycerol wurden 500 ml Glycerin (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) mit 450 ml VE-Wasser und 50 ml 1%iger HCl vermischt. Nach den 5 min wurden die Wurzeln 3-mal mit Leitungswasser gespült und danach wieder in 30%igen Ethanol gelagert. Aufgrund der Sicherheitseinstufung von Trypan Blau wurde das Färben und auch die spätere Auswertung unter dem Abzug vorgenommen, sowie die Abfälle gesondert gesammelt.

Die Wurzeln wurden nach einer Methode für AMP von Trouvelot et al. (1986) ausgewertet. Die Methode wurde modifiziert, um sie für *S. indica* anwenden zu können. Zuerst wurden die gefärbten Wurzeln mit einem scharfen Skalpell in ca. 1 cm große Stücke geschnitten (Abbildung 32). 15 Stücke wurden auf einen Objektträger gelegt und dann wurden sie mit dem Deckglas leicht gequetscht, um das Mikroskopieren zu erleichtern (Abbildung 33). Mit einem Olympus BX 53 Forschungsmikroskop (Olympus Cooperation, Tokio) wurden die blau gefärbten Chlamydosporen ausgezählt. Es wurden nur jene Chlamydosporen gezählt, die unter dem Mikroskop komplett sichtbar waren und einen Durchmesser von 7 bis 15 μm aufwiesen. Mikroskopiert wurde mit 20- und 40-facher Vergrößerung und von jeder gezählten Chlamydospore wurde mittels „cellSens Standard“-Programm der Durchmesser bestimmt und ein Foto gemacht (Abbildung 34 bis Abbildung 37).



Abbildung 32: Mit Trypanblau gefärbte Sojabohnenwurzeln nach dem Kleinschneiden.



Abbildung 33: Fertige vorbereiteter Objektträger zum Auszählen von *S. indica* Chlamydosporen.



Abbildung 34: Chlamydosporen in Pflanze 9, Wurzel 10 +P+S. *indica*+Scl.



Abbildung 35: Chlamydosporen in Pflanze 7, Wurzel 9 +P+S. *indica*.

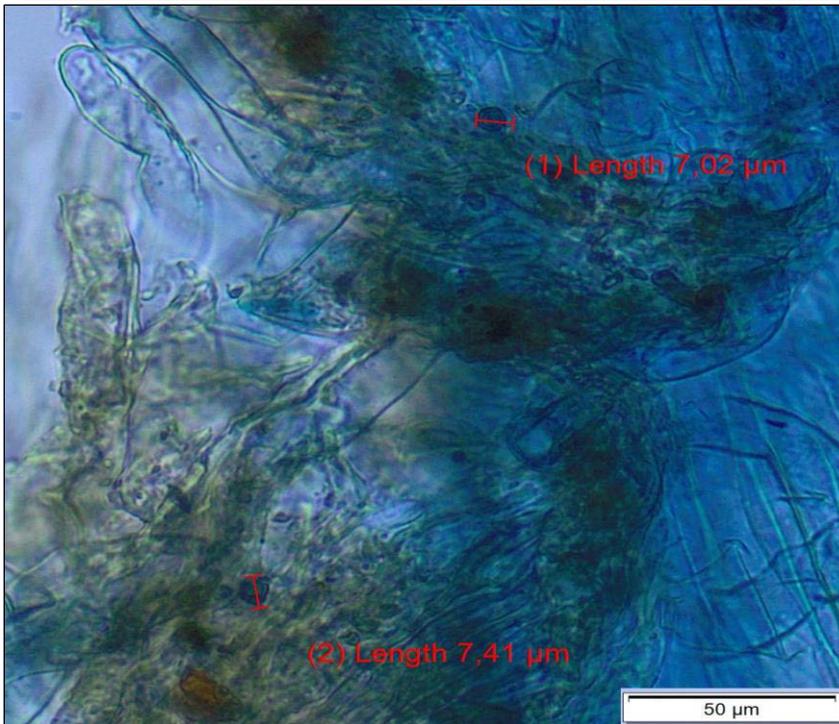


Abbildung 36: Chlamydozooiden in Pflanze 3, Wurzel 9 –P+S. *indica*.

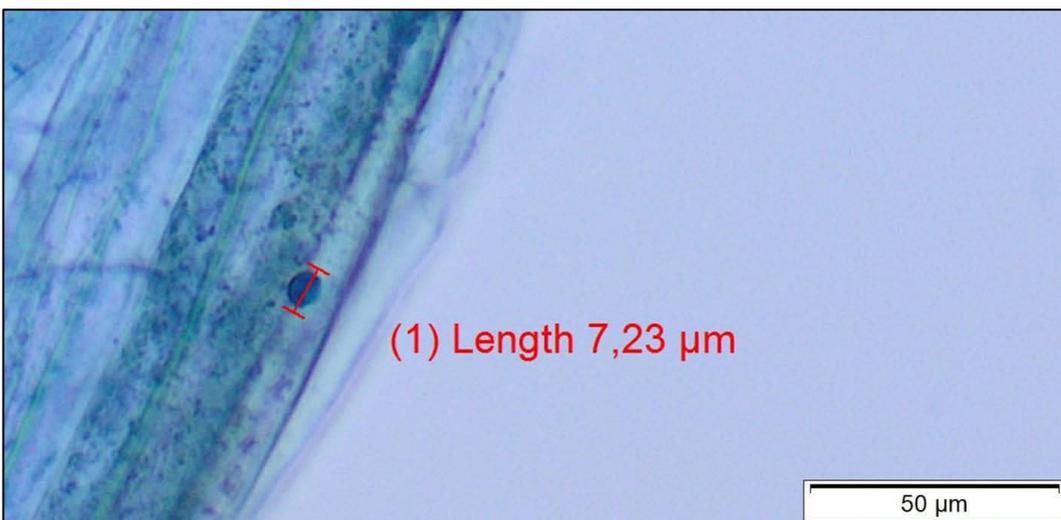


Abbildung 37: Chlamydozooid in Pflanze 1, Wurzel 15 –P+S. *indica*+Scl.

Nach dem Auszählen wurden die Wurzelfragmente je nach Anzahl an Chlamydozooiden in Klassen unterteilt (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Skala für die Einteilung der Chlamydozooiden in Klassen, verändert nach Trouvelot et al. (1986).

Anzahl der Chlamydozooiden im Wurzelstück	Klasse
1	1
2-9	2
<50	3
50-90	4
>90	5

Mit den erhobenen Daten wurde die Frequenz (F%) von *S. indica* im Wurzelsystem in Prozent berechnet. Außerdem wurde die Intensität (I%) der *S. indica*-Kolonisation im Wurzelsystem in Prozent und die Intensität (i%) der *S. indica*-Kolonisation in den Wurzelstücken in Prozent berechnet. Dazu wurden folgende Formeln von Trouvelot et al. (1986) verwendet.

$$F\% = \frac{\text{Anzahl an Wurzelstücken mit } P. \textit{indica}}{\text{Gesamtanzahl an Wurzelstücken}} * 100$$

$$I\% = \frac{95 * n_5 + 70 * n_4 + 30 * n_3 + 5 * n_2 + n_1}{\text{Gesamtanzahl an Wurzelstücken}}$$

Wobei n5 für die Anzahl an Wurzelstücken steht, die mit Klasse 5 bewertet wurden, n4 für die Anzahl an Wurzelstücken, die mit Klasse 4 bewertet wurden usw.

$$i\% = M\% * \frac{\text{Gesamtanzahl an Wurzelstücken}}{\text{Anzahl an Wurzelstücken mit } P. \textit{indica}}$$

7.2 DUALKULTUR

Um zu testen, ob *S. indica* eine antagonistische Wirkung auf *S. sclerotiorum* hat, wurden Dual-Kulturen nach einer modifizierten Methode von Rahman et al. (2009) durchgeführt. Dazu wurden in 3 Wiederholungen jeweils 5 PDA Platten mit *S. indica* und *S. sclerotiorum* und jeweils 5 Platten mit *S. sclerotiorum* und *Trichoderma harzianum* (T39) angelegt. Als Kontrollen wurden ebenfalls jeweils 5 PDA Platten nur mit *S. indica*, *S. sclerotiorum* und *Trichoderma T39* vorbereitet. *Trichoderma T39* wurde in den Versuch miteinbezogen, da der Pilz *S. sclerotiorum* bekämpfen kann (Elad, 2000) und er daher als Vergleich zu den *S. indica*-Dualkulturen herangezogen werden kann.

Zuerst wurden von den jeweiligen Stammkulturen 0,8 cm-große Myzelplugs auf PDA-Platten gesetzt. Nach 2 Wochen bei 24 °C und Dunkelheit im Klimaschrank wurden von den vorbereiteten Platten 0,8-cm große Myzel-Plugs auf neue PDA Platten, 2 cm vom Rand weg, gesetzt. Bei den Dualkulturen wurde der zweite Pilz genau auf der gegenüberliegenden Seite ebenfalls 2 cm vom Rand auf die Platte gesetzt. Zuerst wurden die *S. indica*-Dualkultur-Platten und *S. indica*-Kontroll-Platten vorbereitet und für eine Woche im Klimaschrank bei 24 °C und Dunkelheit gelagert, um *S. indica* Zeit für die Entwicklung zu geben, da er langsam wächst. Nach 1 Woche wurde *S. sclerotiorum* auf den *S. indica*-Dualkulturplatten gesetzt und alle anderen Dualkulturen und Kontrollplatten wurden ebenfalls vorbereitet. Danach wurden die Platten im Klimaschrank bei 24 °C und Dunkelheit aufbewahrt. Bevor *S. sclerotiorum* auf die Dualkultur mit *S. indica* gesetzt wurde, wurde das radiale Wachstum der *S. indica*-Kulturen in den Dualkulturen und in den Kontrollplatten gemessen (Abbildung 38 und Abbildung 39).

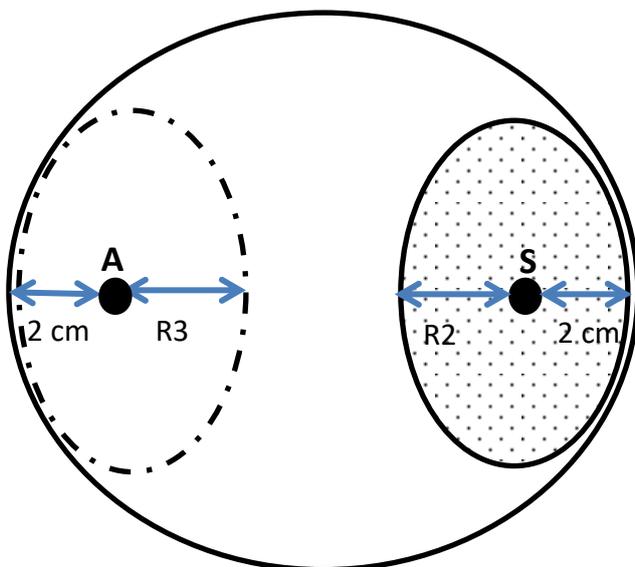


Abbildung 38: Messung des Radialen Wachstums der Pilz-Kolonien auf den Dual-Kulturen und das Aufbau-Schema der Dualkulturen. A = Antagonisten *S. indica* oder *Trichoderma T39*, S = *S. sclerotiorum*, R2 = Radiales Wachstum der Antagonisten, R3 = Radiales Wachstum von *S. sclerotiorum*

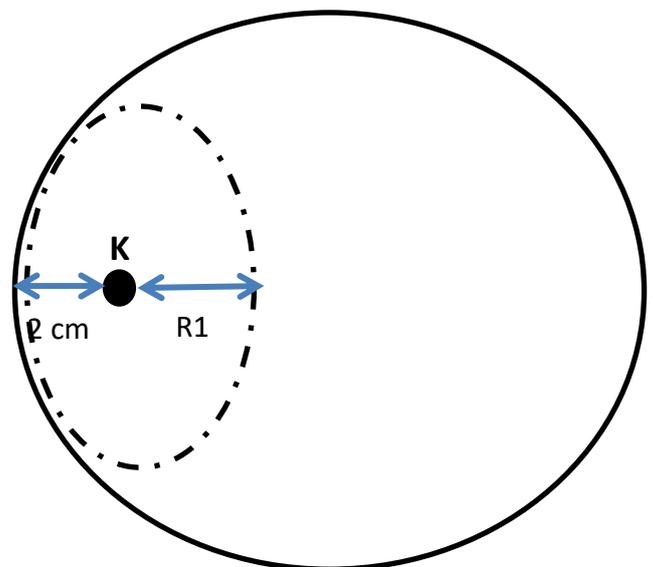


Abbildung 39: Messung des Radialen Wachstums der Kontroll-Varianten sowie das Aufbau-Schema. K = Myzelplug der Kontrollvarianten *S. indica*, *S. sclerotiorum* oder *Trichoderma T39*, R1 = Radiales Wachstum der Kontroll-Pilz-Kolonien

Nachdem die Dualkulturen und die Kontrollvarianten vorbereitet waren, wurde jeden Tag das radiale Wachstum der Pilzkulturen gemessen, solange bis die Antagonisten - *S. indica* und *Trichoderma T39* - *S. sclerotiorum* überwachsen haben bzw. umgekehrt. Die Kontrollplatten wurden dann dazu verwendet, die Wiederholungen anzulegen.

Für die Auswertung wurde die Prozentuale Hemmung des radialen Wachstums (PIRG) mit folgender Formel von Rahman et al. (2009) berechnet.

$$PIRG = \frac{R_1 - R_2}{R_1} * 100$$

R_1 ist das radiale Wachstum der *S. sclerotiorum* Kontrollkolonie während R_2 der Radius der *S. sclerotiorum*-Kolonie auf den Dualkulturen mit *Trichoderma T39* und *S. indica* ist.

7.3 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die statistische Auswertung aller Daten erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel 2010 und dem Statistikprogramm „SPSS“ bei einem Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$.

Zuerst wurde ein Levene's Test durchgeführt, um die Homogenität der Daten zu überprüfen. Wenn die Daten homogen waren, wurden sie mittels Varianzanalyse (ANOVA) ausgewertet. Bei Spross- und Wurzeltrockenmasse, sowie der Wurzellänge wurde darüberhinaus auch eine 2-faktorielle ANOVA durchgeführt. Die Dualkultur-Werte waren nicht homogen und wurden daher mit dem nichtparametrischen Kruskal-Wallis-Test ausgewertet.

Für die Auswertung der Blatt- und Seitensprossanzahl wurden die Daten in einer Kreuztabelle dargestellt, um erwartete und beobachtete Häufigkeiten zu ermitteln. Diese wurden danach mittels Chi-Quadrat-Test auf Unterschiede getestet.

Die Entwicklungsstadien, Internodienlänge und Befallshäufigkeit wurden nur grafisch/deskriptiv aufbereitet.

8 ERGEBNISSE

8.1 WACHSTUMSEFFEKTE

8.1.1 ENTWICKLUNGSSTADIEN

Die folgenden Abbildung 40 und Abbildung 41 zeigen den Anteil der Entwicklungsstadien an der Gesamtpflanzenanzahl von Beginn des Versuchs am 8. März 2016 bis zum Ende am 19. April 2016. Für die Darstellung wurden die Varianten mit *S. indica* und *S. sclerotiorum* mit +P+S. *indica* bzw. –P+S. *indica* zusammengefasst und die *S. sclerotiorum*-Varianten mit den Kontrollvarianten. Zu Beginn der Bonitur befanden sich beinahe alle Pflanzen im BBCH-Stadium 9, also das Hypokotyl mit den Kotyledonen erreicht die Bodenoberfläche. Am Ende des Versuchs waren der Großteil der Pflanzen im BBCH-Stadium 69, also am Ende der Blüte mit ersten sichtbaren Hülsen und ein kleiner Teil im Stadium 70 (erste Hülsen haben endgültige Länge erreicht). Die Entwicklung der Pflanzen aller Varianten verlief nahezu ident. Unterschiede sind nur bei der Bildung von Seitensprossen sichtbar (BBCH-Stadium 21). Die +P-Varianten haben früher Seitensprosse entwickelt als die Pflanzen, die –P-Dünger erhalten haben. Bei den Pflanzen der –P-Kontrolle wurden 2 Tage später Seitensprosse bonitiert und die –P+S. *indica*-Pflanzen haben erst eine Woche nach den +P-Varianten Seitensprosse gebildet. Insgesamt hat die +P+S. *indica*-Variante die meisten Seitensprosse entwickelt und am Ende des Versuchs waren mehr Pflanzen im BBCH-Stadium 70 im Vergleich zu den anderen Varianten. Die Entwicklung der +P+S. *indica*-Variante war dennoch nur geringfügig schneller als die Entwicklung aller anderen Varianten.

Innerhalb der gesamten Versuchsdauer konnten keine offenen Blüten im Bestand beobachtet werden, daher der Sprung vom BBCH-Stadium 59 auf 69. Im Stadium 59 waren erste Blütenblätter sichtbar, aber die Blüten waren zu diesem Zeitpunkt noch geschlossen.

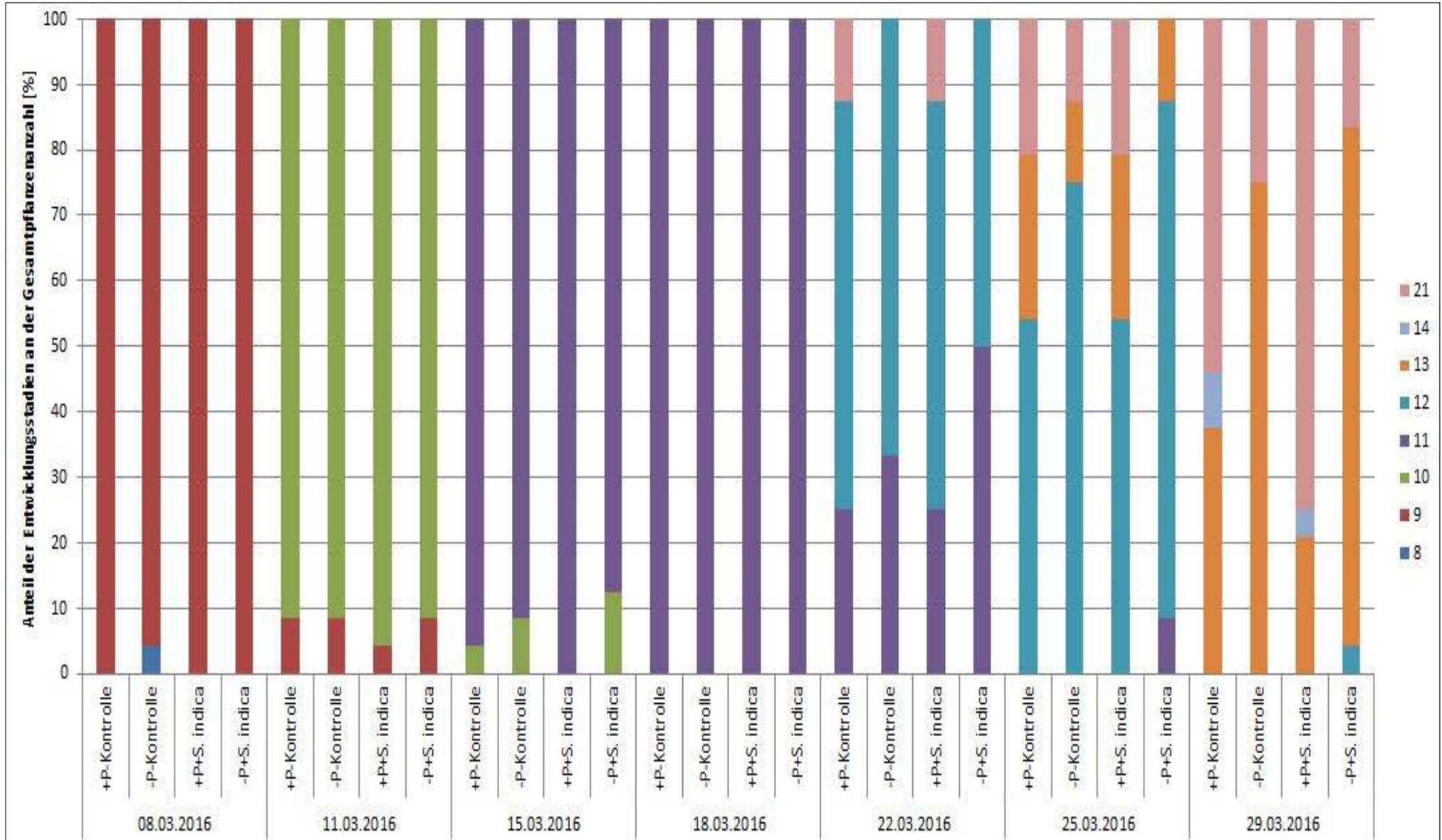


Abbildung 40: Anteil der BBCH-Stadien an der Gesamtpflanzenanzahl in % von 8.3.2016 bis 29.3.2016

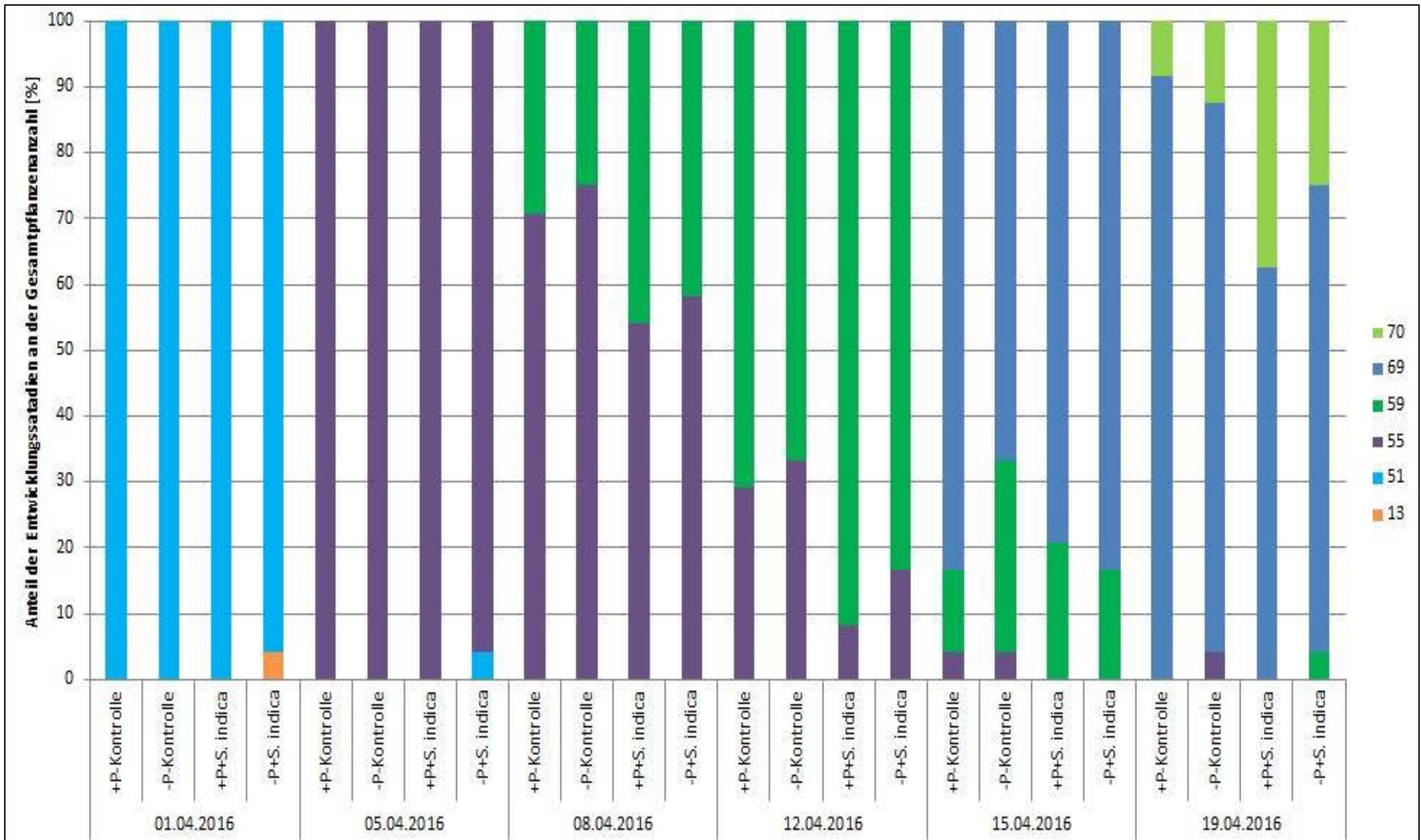


Abbildung 41: Anteil der BBCH-Stadien an der Gesamtpflanzenzahl in % von 1.4.2016 bis 19.4.2016

8.1.2 PFLANZENLÄNGE UND INTERNODIENLÄNGE

Abbildung 42 zeigt die Pflanzenlänge jeder Variante. –P-Kontrolle und +P+S. *indica* weisen die höchste Pflanzenlänge auf während –P+Scl die geringste zeigt. Die +P-Varianten sind höher als die –P mit Ausnahme der Kontroll-Varianten, wobei hier der Unterschied nur geringfügig ist. Die geringste Pflanzenlänge bei den +P-Varianten hatte +P+S. *indica*+Scl. Zwischen den Varianten konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

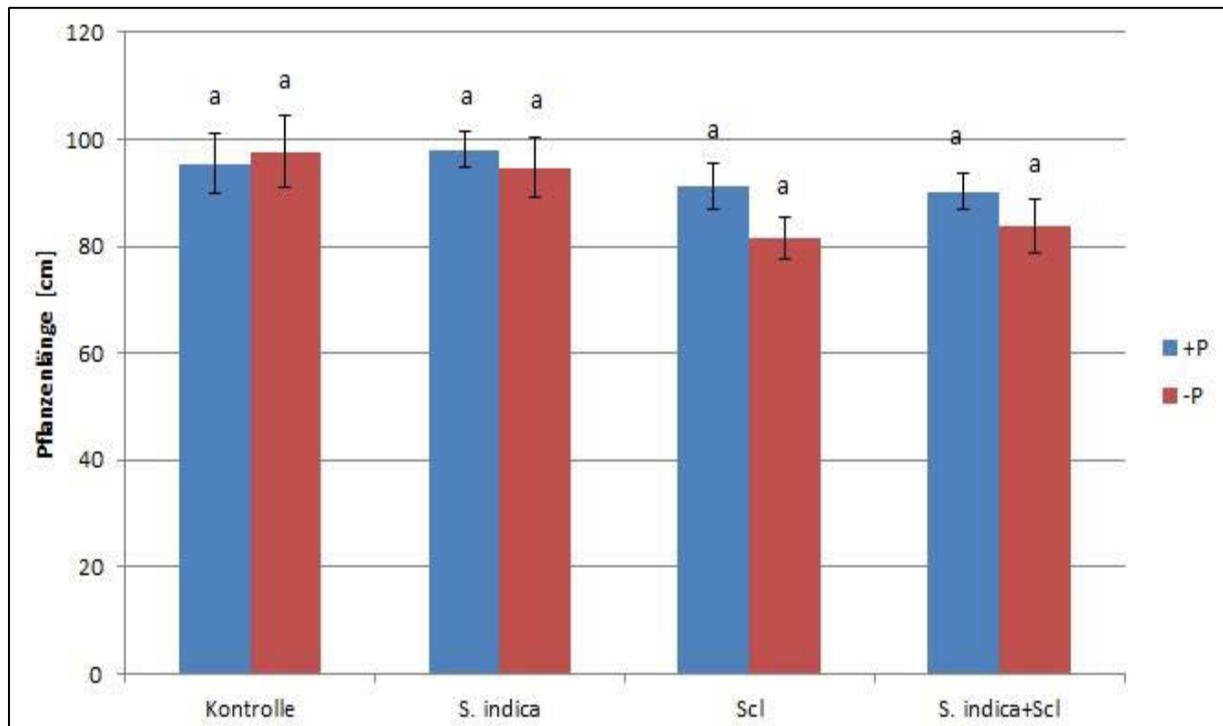


Abbildung 42: Pflanzenlänge in cm (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=1,608$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)

Wie in Abbildung 43 zu sehen ist, sind Unterschiede in der Internodienlänge erst zwischen Blatt 5 und 6 sichtbar. Davor ist die Internodienlänge bei allen Varianten fast gleich. Bei den Varianten ohne *S. sclerotiorum* haben die -P-Varianten längere Internodien zwischen Blatt 5 und 6 als die +P-Varianten. Bei den Varianten mit *S. sclerotiorum* ist es genau umgekehrt und auch zwischen Blatt 6 und 7 sind die +P-Varianten höher. Ein Düngeeffekt ist bei der Anzahl der Blätter sichtbar. Die +P-Varianten hatten am Ende des Versuchs 8 Blätter während die -P-Varianten nur 7 bzw. -P+S. *indica*+Scl nur 6 Blätter hatten.

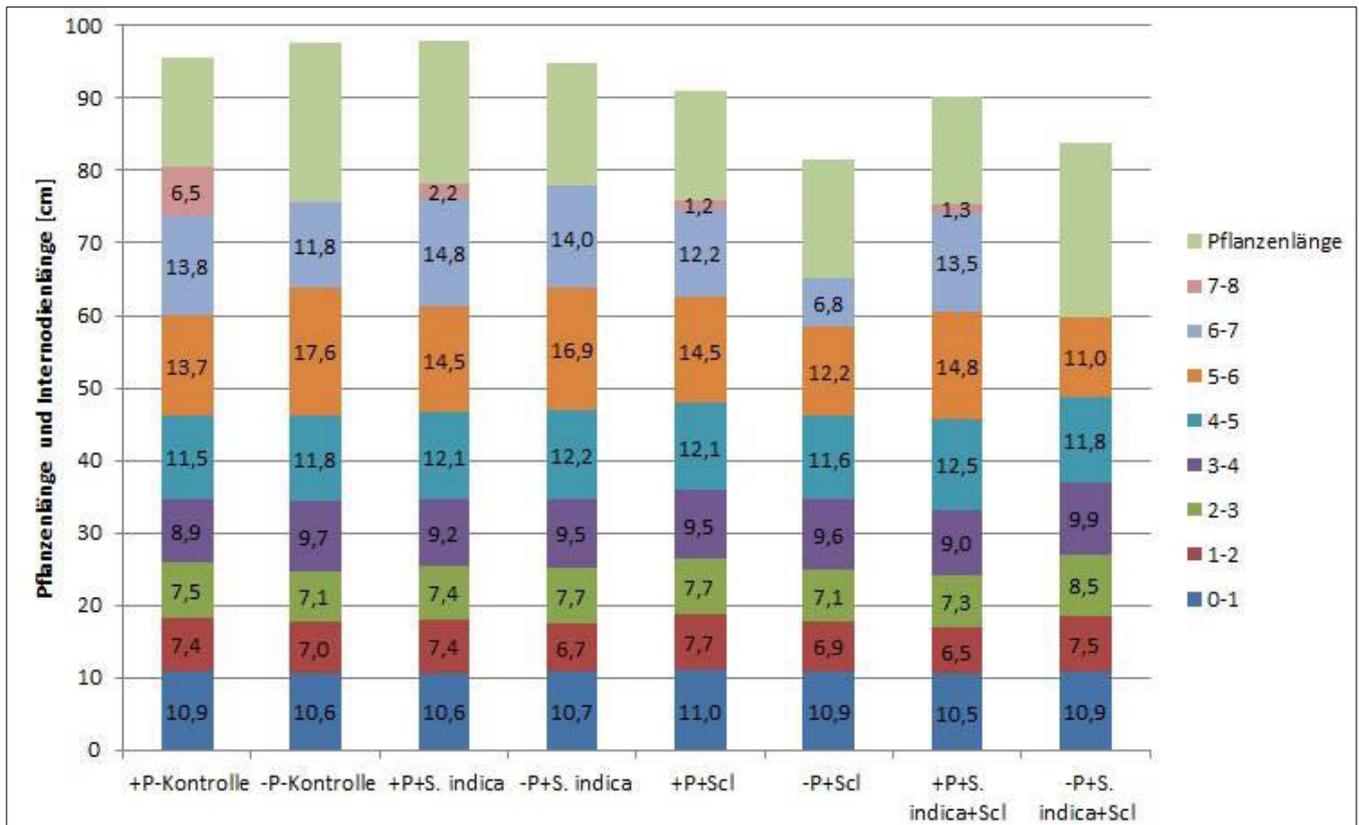


Abbildung 43: Pflanzenlänge und Internodienlänge in cm (Mittelwert); die Säulen stellen die Pflanzenlänge dar und die jeweiligen Abschnitte die Internodienlänge

8.1.3 BLATT- UND SEITENSPROSSANZAHL

In der folgenden Abbildung 44 sind die erwarteten und beobachteten Häufigkeiten für die BBCH-Stadien 11, 12, 13, 14 und 21 dargestellt. Stadium 11 bis 14 stehen für die entfalteten Laubblätter, wobei 11 für das erste Laubblattpaar und 14 für das 4. Laubblatt steht. BBCH-Stadium 21 repräsentiert die Bildung von ersten Seitensprossen. Der Einfachheit halber wurden die Varianten, wie bei den Entwicklungsstadien, zusammengefasst.

Bei allen 3 Zeitpunkten konnte bei den +P-Varianten und bei den –P-Varianten kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Variante und der Anzahl an Pflanzen im jeweiligen Entwicklungsstadium festgestellt werden. Die standardisierten Residuen zu den jeweiligen Entwicklungsstadien sind in Tabelle 5 dargestellt, wo kein Wert ≥ 2 vorkommt. Erst ab einem Wert von 2 kann ein signifikanter Zusammenhang bestätigt werden.

Die erwarteten und beobachteten Häufigkeiten sind bei den +P-Varianten nahezu ident, nur beim 3. Zeitpunkt (29.3.2016) gibt es Abweichungen, da die +P+S. *indica*-Pflanzen mehr Seitensprosse gebildet haben. Auch bei den –P-Varianten weichen die erwarteten und die beobachteten Häufigkeiten kaum voneinander ab. Unterschiede zwischen +P- und –P-Varianten bestehen in der Bildung und in der Anzahl ersten Seitensprossen. Die +P-Varianten haben früher und mehr Seitensprosse gebildet als die –P.

Tabelle 5: Darstellung der standardisierten Residuen für das jeweilige Entwicklungsstadium und die jeweilige Variante zu allen 3 Zeitpunkten.

Datum	Variante	Entwicklungsstadien				
		11	12	13	14	21
22.03.2016	+P-Kontrolle	0,0	0,0			0,0
	-P-Kontrolle	-0,6	0,5			
	+P+S. <i>indica</i>	0,0	0,0			0,0
	-P+S. <i>indica</i>	0,6	-0,5			
25.03.2016	+P-Kontrolle		0,0	0,0		0,0
	-P-Kontrolle	-1,0	-0,1	0,0		1,2
	+P+S. <i>indica</i>		0,0	0,0		0,0
	-P+S. <i>indica</i>	1,0	0,1	0,0		-1,2
29.03.2016	+P-Kontrolle			0,8	0,4	-0,6
	-P-Kontrolle		-0,7	-0,1		0,4
	+P+S. <i>indica</i>			-0,8	-0,4	0,6
	-P+S. <i>indica</i>		0,7	0,1		-0,4

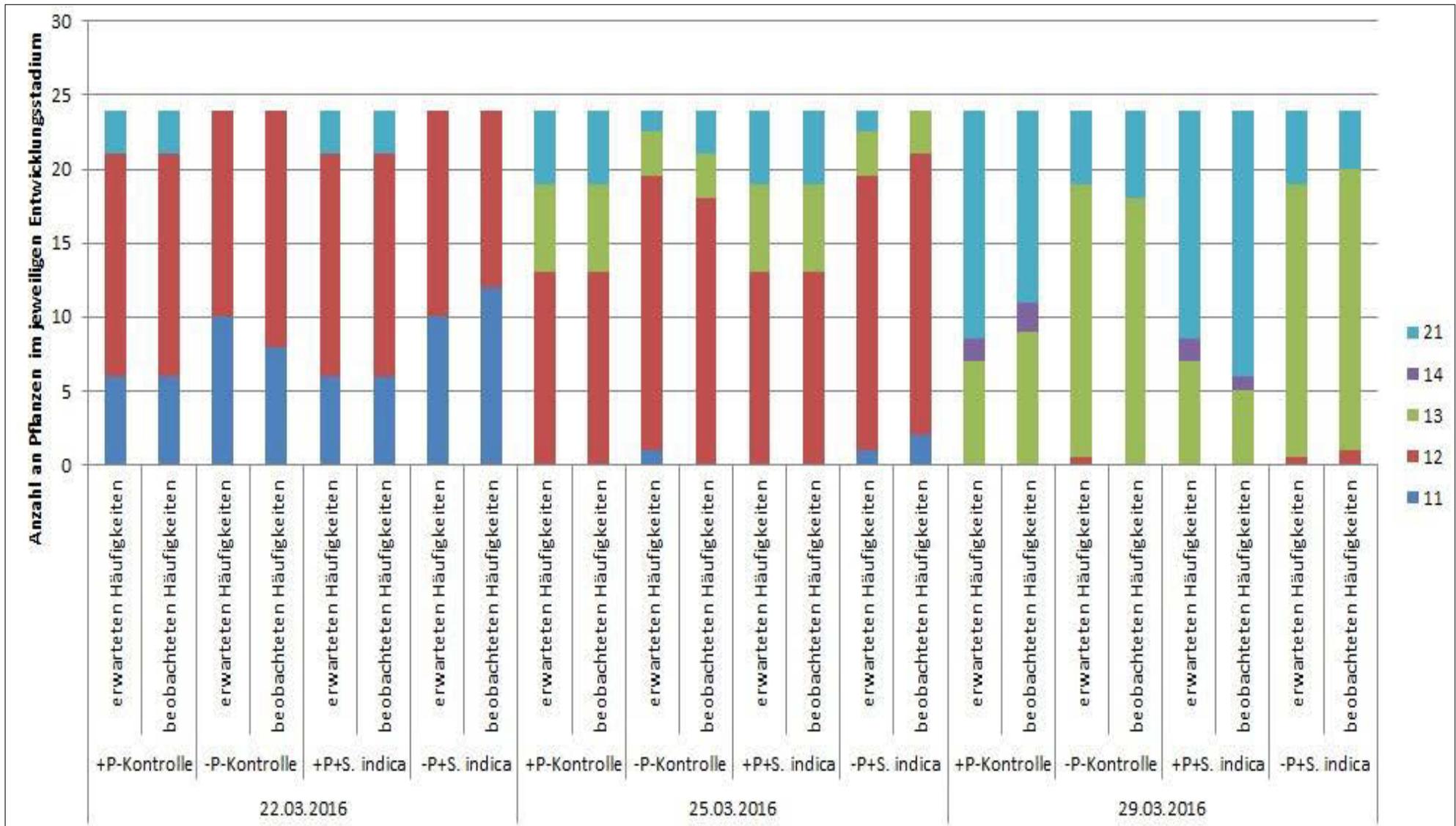


Abbildung 44: Erwarteten und beobachteten Häufigkeiten der BBCH-Stadien 11, 12, 13, 14 und 21 zu 3 Zeitpunkten (Chi-Quadrat-Test, $\chi^2=0,000; 1,371; 0,000; 5,027; 2,283; 1,427$)

8.1.4 TROCKENMASSE

Die folgende Abbildung 45 zeigt die Sprosstrockenmasse in Gramm. Signifikante Unterschiede sind zwischen +P+S. *indica* und +P+Scl und -P+S. *indica*+Scl zu sehen. Tendenziell haben die Kontroll-Varianten und die Varianten nur mit *S. indica* eine höhere Trockenmasse als die Varianten mit *S. sclerotiorum*. Abbildung 46 und Tabelle 6 zeigen signifikante Wechselwirkungen zwischen Düngung und der Variante *S. indica*+Scl sowie der Kontrolle.

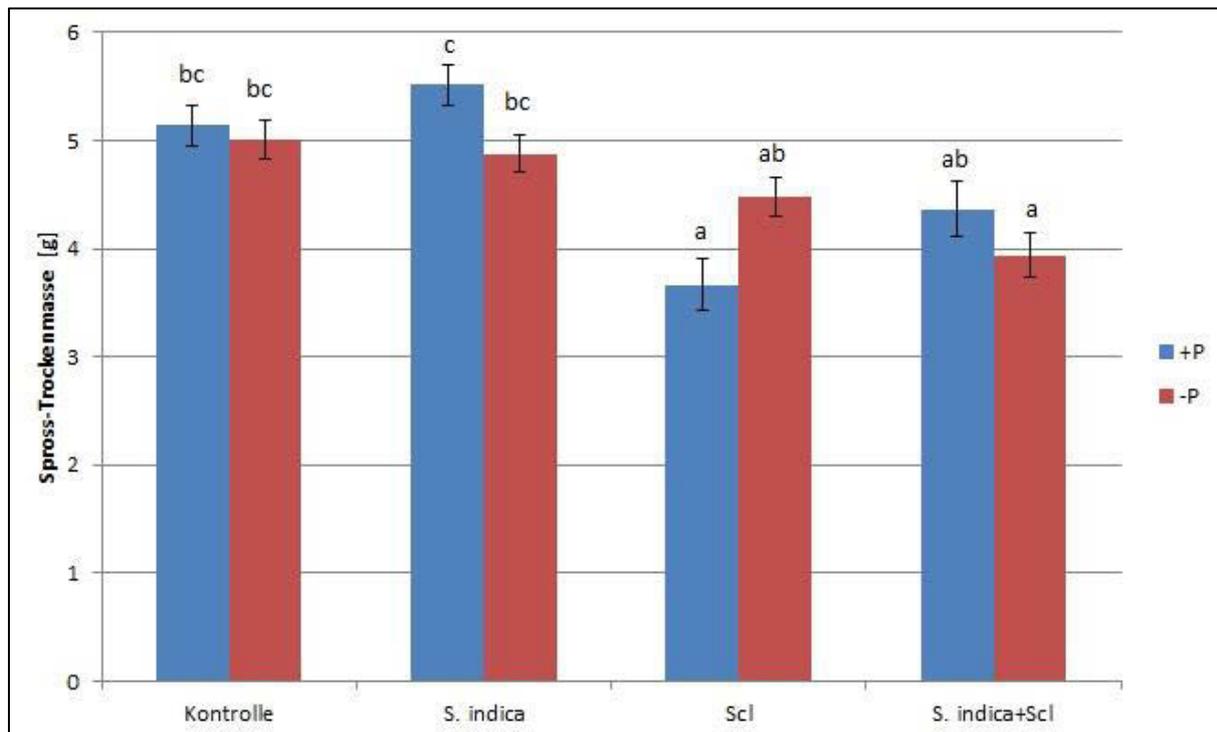


Abbildung 45: Spross-Trockenmasse in g (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=9,618$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\alpha=0,05$)

Tabelle 6: Ergebnisse der 2-faktoriellen ANOVA dargestellt als Freiheitsgrade (df), F-Werte, Signifikanzlevel der Hauptfaktoren (Düngung und Variante) und ihre Interaktion (Variante x Düngung) auf die Spross-Trockenmasse.

	df	F	p
Variante	3	17,326	0,000
Düngung	1	0,430	0,514
Variante x Düngung	3	4,972	0,003
Fehler df	88		

Signifikante p-Werte ($p < 0,005$) sind fett dargestellt

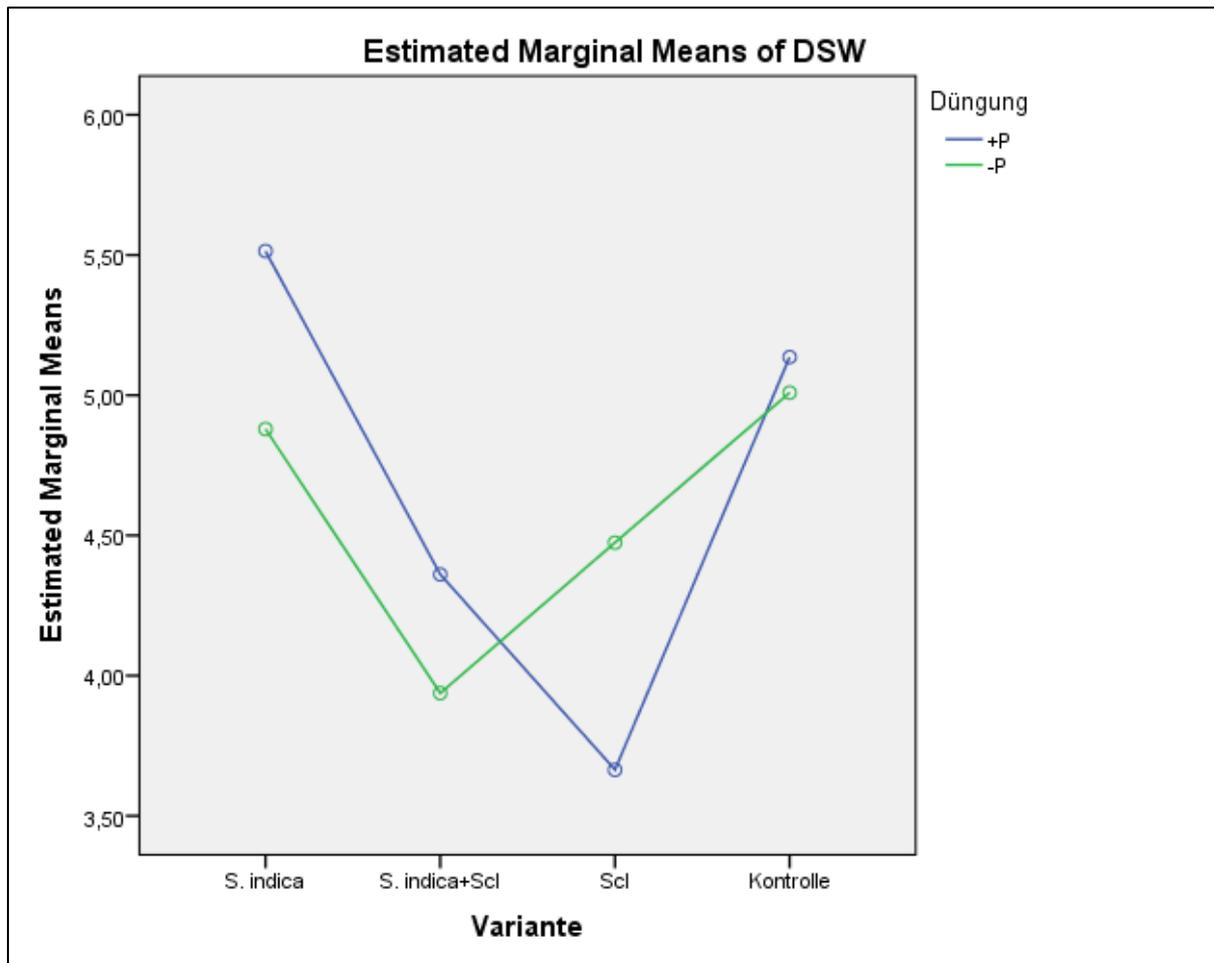


Abbildung 46: Interaktionsdiagramm zwischen Düngung und Varianten der Spross-Trockenmasse in g (Mittelwert); (2-faktorielle ANOVA, $F=4,972$) Linien, die sich überschneiden weisen Wechselwirkungen auf

In der Wurzelrockenmasse gibt es signifikante Düngeeffekte zwischen den +P- und -P-Varianten bei *S. indica*, wie Tabelle 7 und Abbildung 47 zeigen. Außerdem unterscheiden sich die Kontrollvarianten und die *S. sclerotiorum*-Varianten signifikant von den *S. indica*-Variante, während *S. indica*+Scl keinen Unterschiede zu den anderen Varianten aufweist.

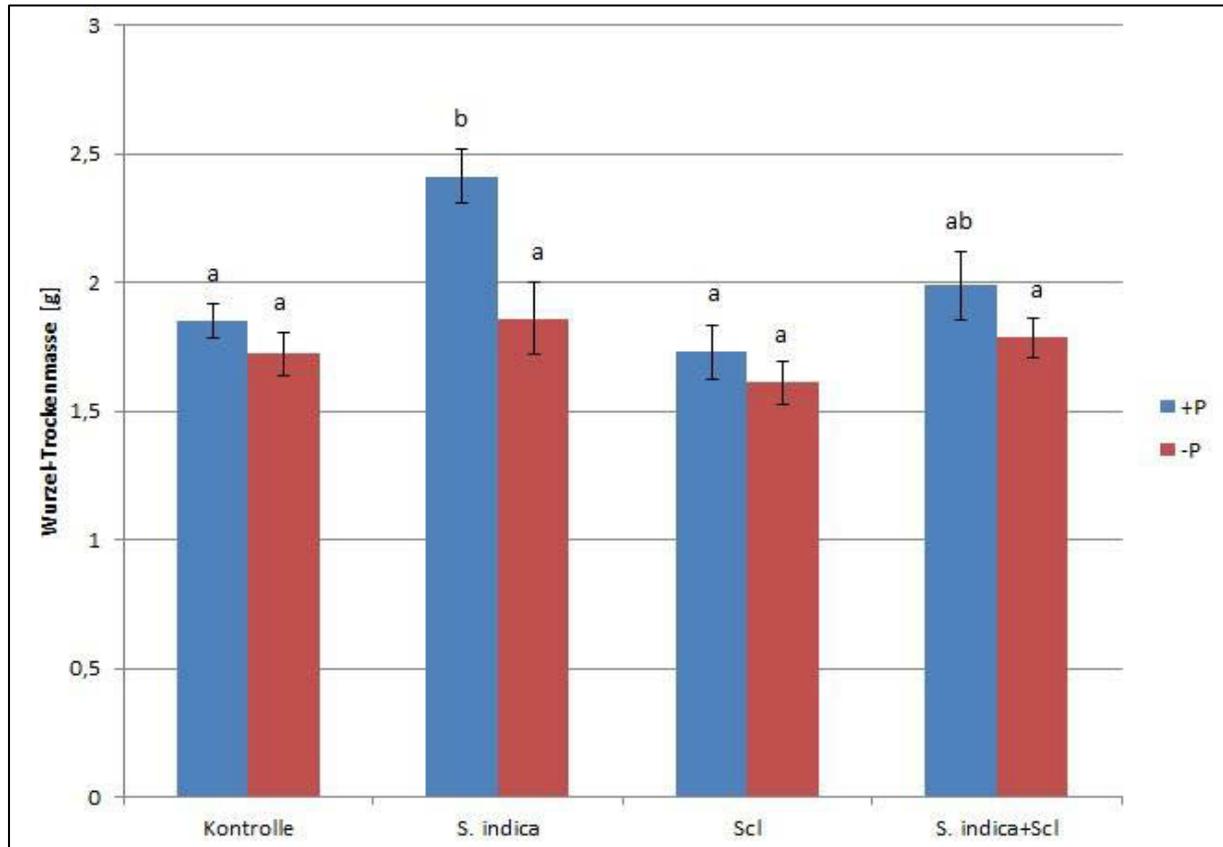


Abbildung 47: Wurzelrockenmasse in g (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=5,872$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)

Tabelle 7: Ergebnisse der 2-faktoriellen ANOVA dargestellt als Freiheitsgrade (df), F-Werte, Signifikanzlevel der Hauptfaktoren (Düngung und Variante) und ihre Interaktion (Variante x Düngung) auf die Wurzelrockenmasse.

	df	F	p
Variante	3	0,948	0,000
Düngung	1	1,508	0,001
Variante x Düngung	3	0,253	0,115
Fehler df	88		

Signifikante p-Werte ($p < 0,005$) sind fett dargestellt

8.1.5 WURZELLÄNGE

Signifikante Unterschiede aufgrund der Düngung sind zwischen der –P-Kontrolle und –P+Scl zu sehen, die eine höhere Wurzellänge aufweisen als +P+S. *indica*+Scl. Abbildung 49 zeigt die Wechselwirkung zwischen Düngung und *S. indica* bei der *S. indica*-Variante.

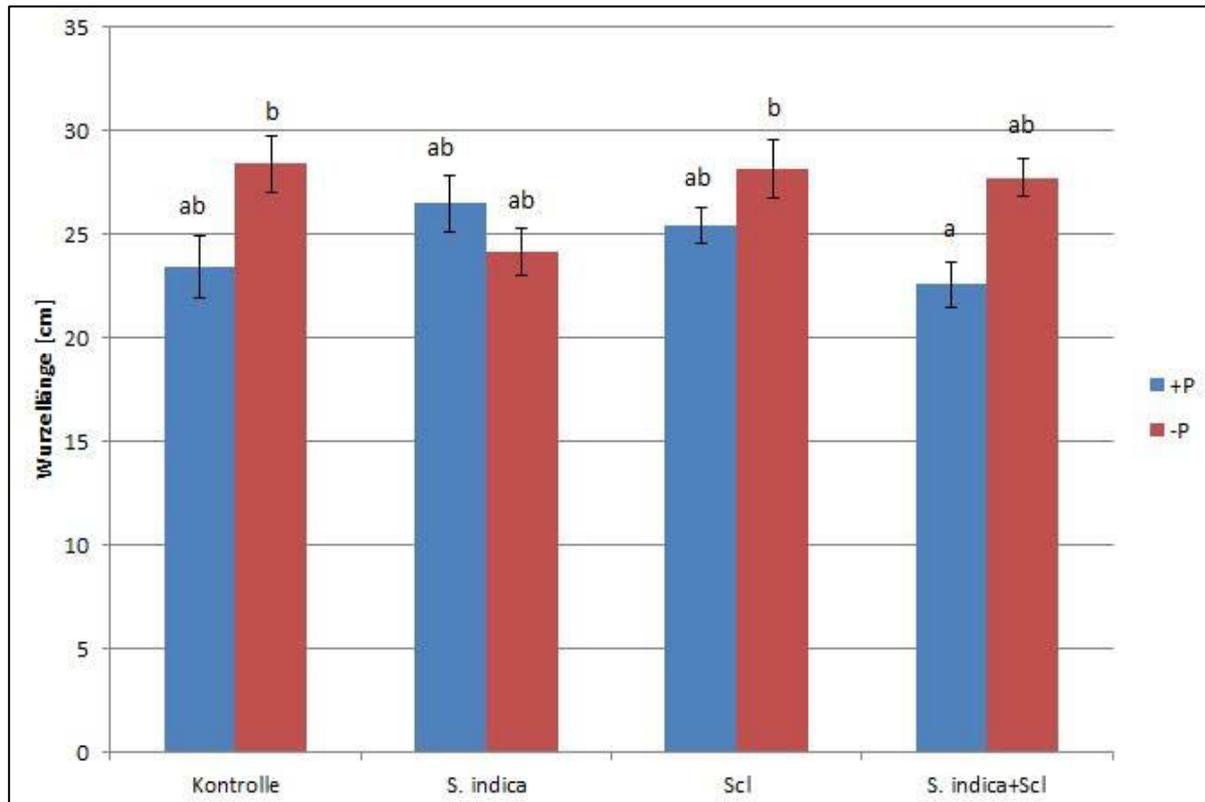


Abbildung 48: Wurzellänge in cm (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=3,384$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)

Tabelle 8: Ergebnisse der 2-faktoriellen ANOVA dargestellt als Freiheitsgrade (df), F-Werte, Signifikanzlevel der Hauptfaktoren (Düngung und Variante) und ihre Interaktion (Variante x Düngung) auf die Wurzel-Länge.

	df	F	p
Variante	3	12,927	0,544
Düngung	1	168,010	0,003
Variante x Düngung	3	73,399	0,009
Fehler df	88		

Signifikante p-Werte ($p < 0,005$) sind fett dargestellt

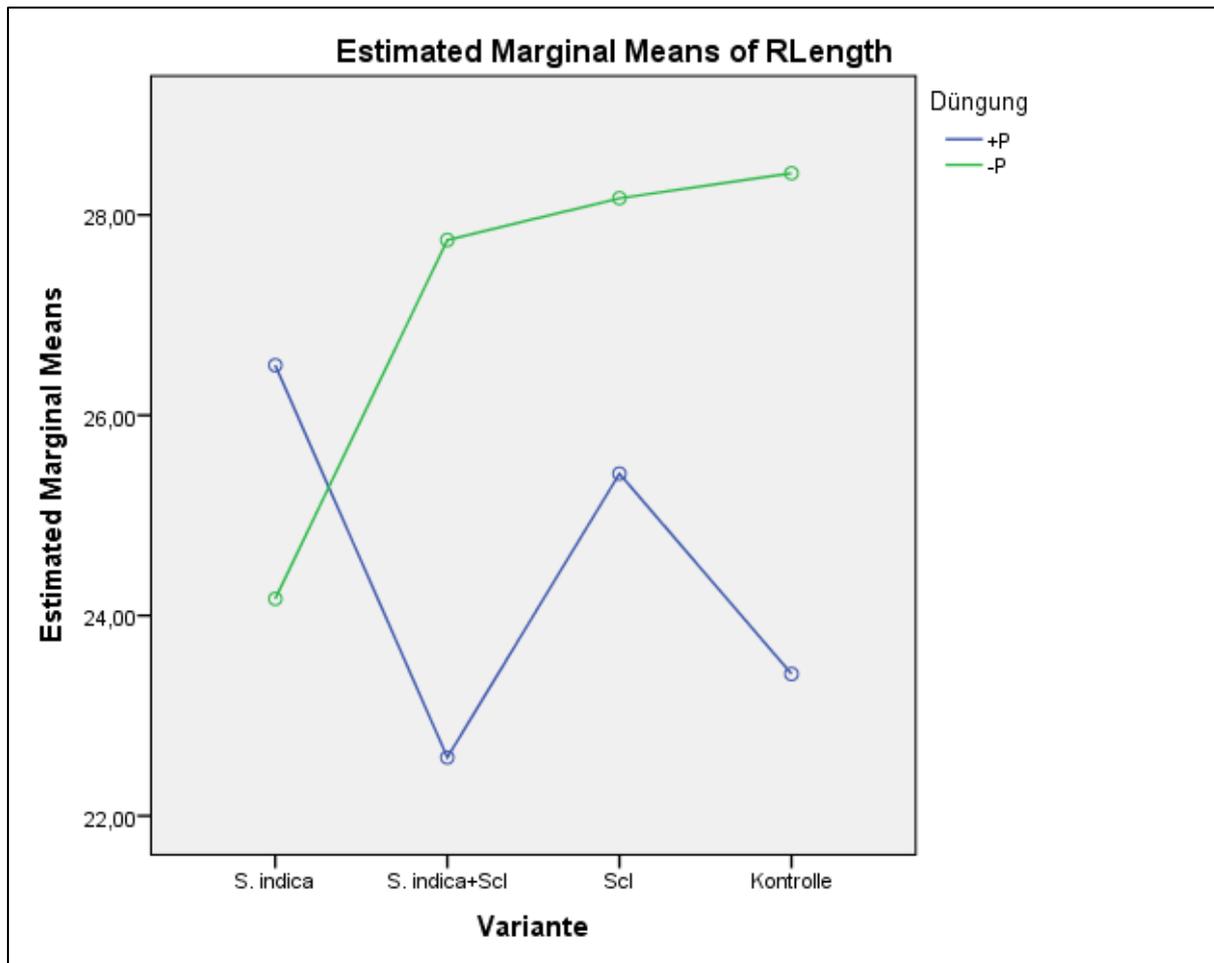


Abbildung 49: Interaktionsdiagramm zwischen Düngung und Varianten Wurzellänge in cm (Mittelwert); (2-faktorielle ANOVA, $F=4,072$) Linien, die sich überschneiden weisen Wechselwirkungen auf

8.2 SCLEROTINIA-BEFALL

8.2.1 BEFALLSHÄUFIGKEIT

In der nachfolgenden Abbildung 50 ist der Verlauf der Befallshäufigkeit aller Varianten mit *S. sclerotiorum* innerhalb einer Woche zu sehen. Am ersten Tag nach der Infektion (13.4.2016) konnte bei keiner Pflanze ein Befall festgestellt werden. Erst am zweiten Tag (14.4.2016) wurden bei +P+Scl-Pflanzen leichte Läsionen sichtbar, während bei den anderen Varianten noch keine Symptome sichtbar waren. 3 Tage nach der Infektion, am 15.4.2016, war bei allen Varianten eine Infektion feststellbar. Bei -P+S. *indica*+Scl war der Befall am höchsten mit 91,7% und dieser hat sich vom Zeitpunkt der ersten sichtbaren Symptome bis zum Ende der Bonitur nicht verändert. Bei +P+Scl entwickelte sich der Befall sehr rasch vom 14.4.2016 auf 15.4.2016. Dann ging die Entwicklung langsamer aber stetig weiter bis am 5. Tag nach der Infektion (17.4.2016) der Höhepunkt erreicht war mit 83,3%. Danach gab es keine Änderung der Befallshäufigkeit mehr. -P+Scl zeigte einen höheren Befall als +P+Scl am 3. und am 4. Tag nach der Infektion und erreichte seinen Höhepunkt schon am 4. Tag nach der Infektion (16.4.2016) und veränderte sich auch nicht mehr bis zum Ende des Versuchs. Den langsamsten Befallsverlauf zeigte +P+S. *indica*+Scl. Der Befallshöhepunkt war erst am 6. Tag nach der Infektion erreicht (18.4.2016), aber die Befallshäufigkeit war ident mit den Werte von +P+Scl und -P+Scl, die alle bei 83,3% lagen. Da die Befallshäufigkeit für alle Pflanze pro Variante berechnet wurde, konnte keine statistische Auswertung vorgenommen werden.

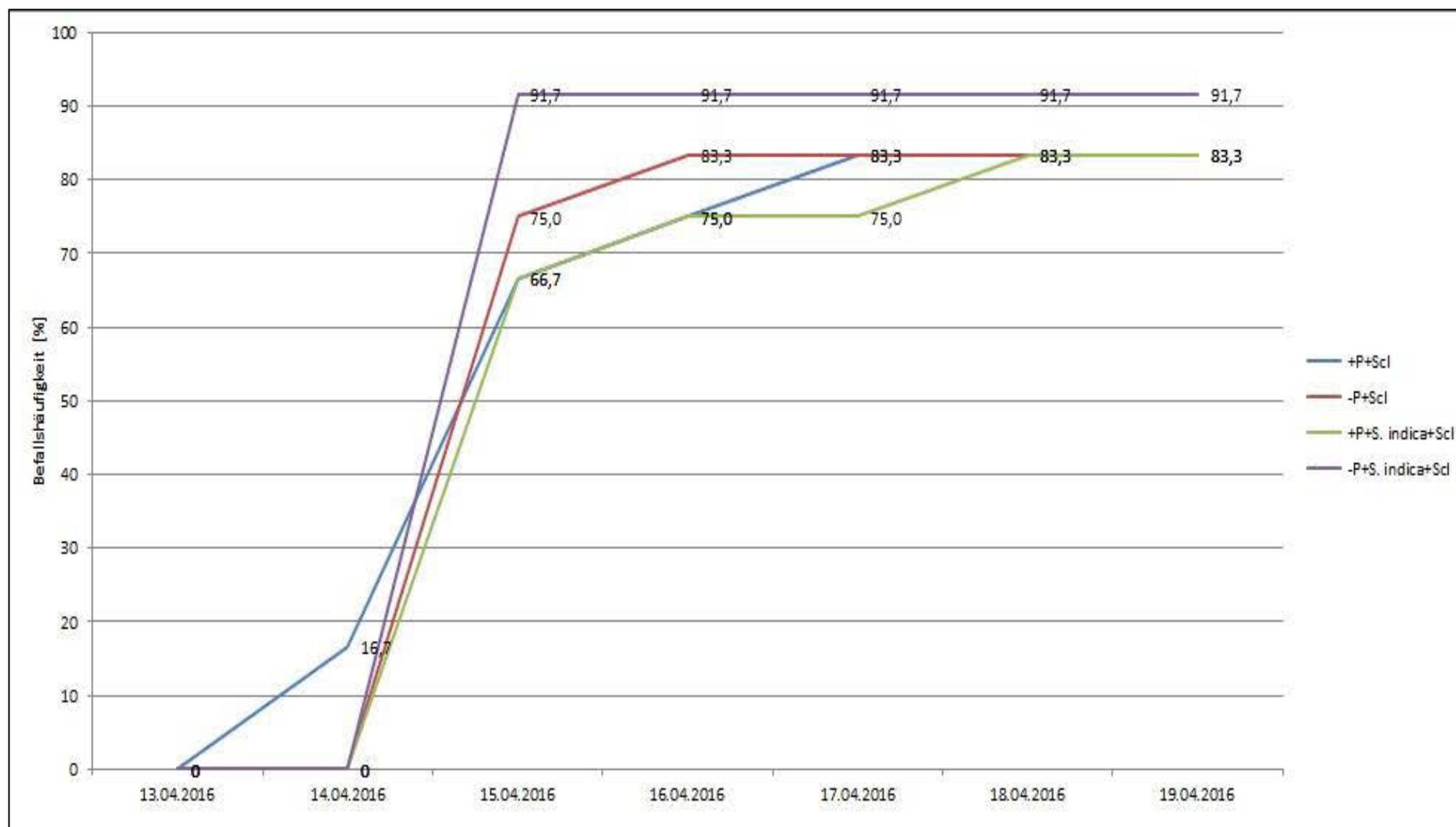


Abbildung 50: Befallshäufigkeit in % der Varianten, die mit *S. sclerotiorum* infiziert wurden.

8.2.2 BEFALLSSTÄRKE

Die folgende Abbildung 51 zeigt die Befallsstärke aller Varianten mit *S. sclerotiorum* innerhalb einer Woche. Statistisch konnte kein signifikanter Unterschied in der Befallsstärke zwischen den Varianten zu den unterschiedlichen Zeitpunkten gefunden werden. Tendenziell zeigt $-P+S. indica+Scl$ eine höhere Befallsstärke als die anderen Varianten zu jedem Boniturzeitpunkt während $+P+S. indica+Scl$ von allen Varianten den geringsten Befall aufwies. Bei $+P+Scl$ hat der Befall schon früher begonnen als bei allen anderen.

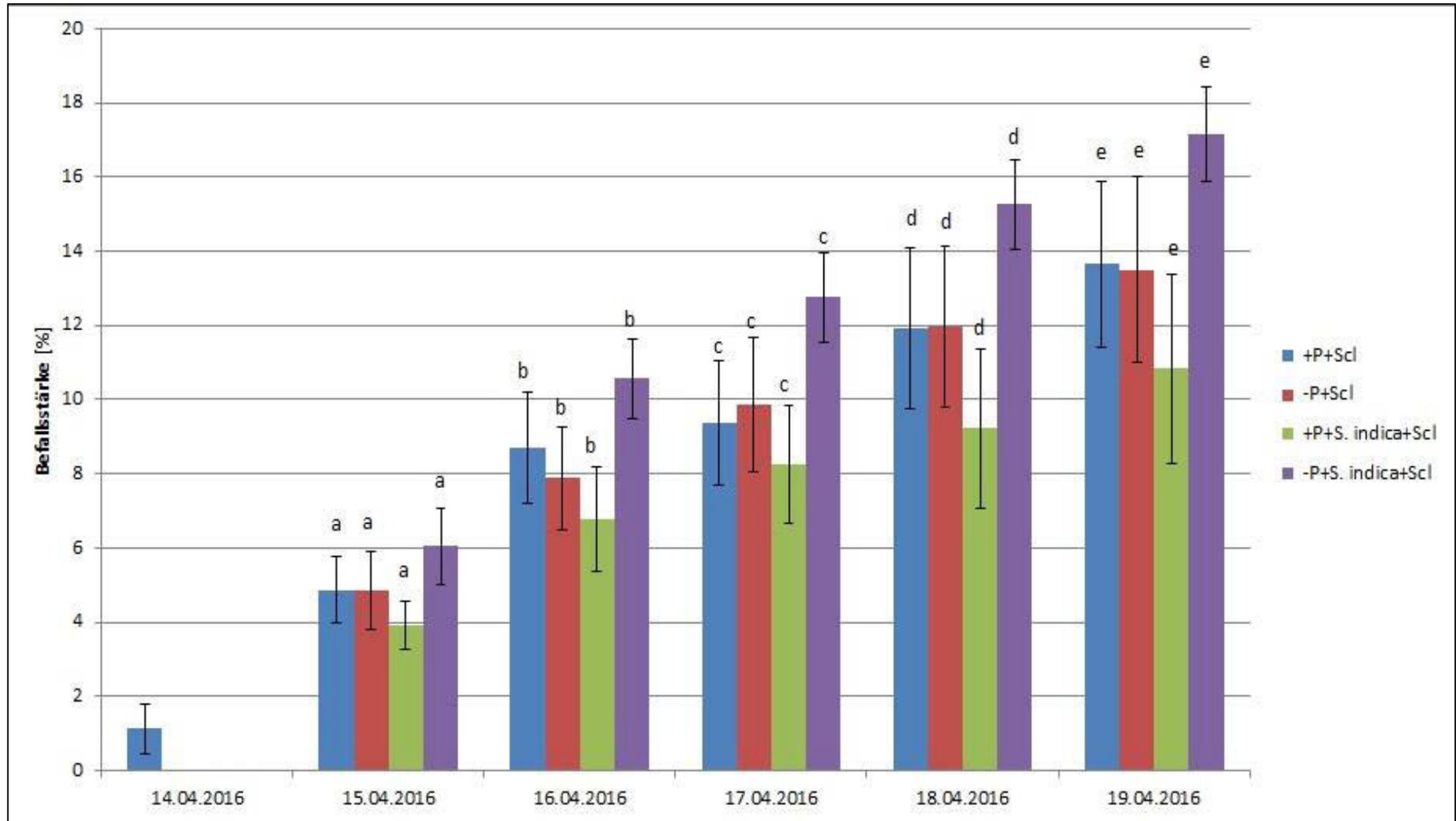


Abbildung 51: Befallsstärke in % innerhalb einer Woche (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=0,876; 1,492; 1,546; 1,678; 1,466$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)

8.2.3 AREA UNDER THE DISEASE-PROGRESS CURVE (AUDPC)

Bei der Area under the disease-progress curve konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten festgestellt werden. Tendenziell zeigt -P+S. *indica*+Scl einen höheren Befall, also eine größere Fläche, als die anderen Varianten. +P+S. *indica*+Scl weist die kleinste Fläche auf. Zwischen +P+Scl und -P+Scl gibt es nur einen sehr geringen Unterschied in der AUDPC.

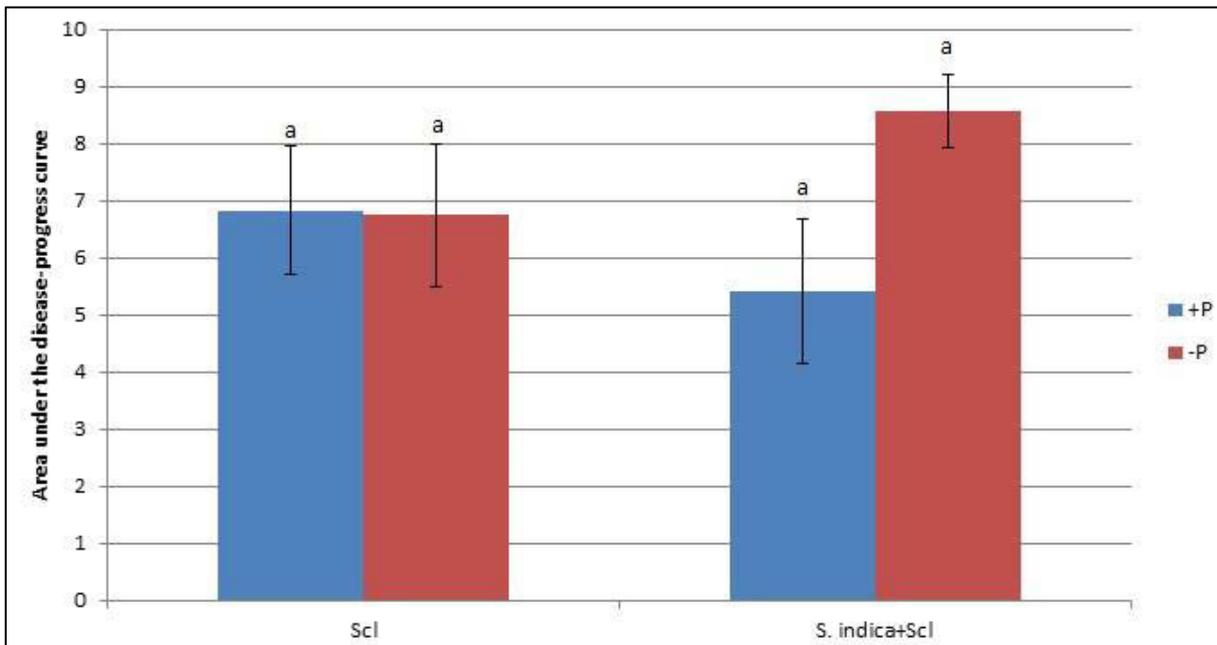


Abbildung 52: Area under the disease-progress curve (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=1,467$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)

8.3 WURZELKOLONISATION VON *S. INDICA*

Die folgenden Daten zeigen nur die Varianten mit *S. indica* und *S. indica* und *S. sclerotiorum*, da in den Kontrollvarianten und in den Varianten nur mit *S. sclerotiorum* keine Chlamydosporen gefunden wurden.

Abbildung 53 zeigt die Frequenz an Chlamydosporen im Wurzelsystem in Prozent. Tendenziell haben die *S. indica*-Varianten eine höhere Frequenz, aber statistisch konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten gefunden werden. –P+*S. indica* weist die höchste Frequenz auf. Zwischen –P+*S. indica*+Scl und +P+*S. indica*+Scl konnte nur in geringfügiger Unterschied festgestellt werden.

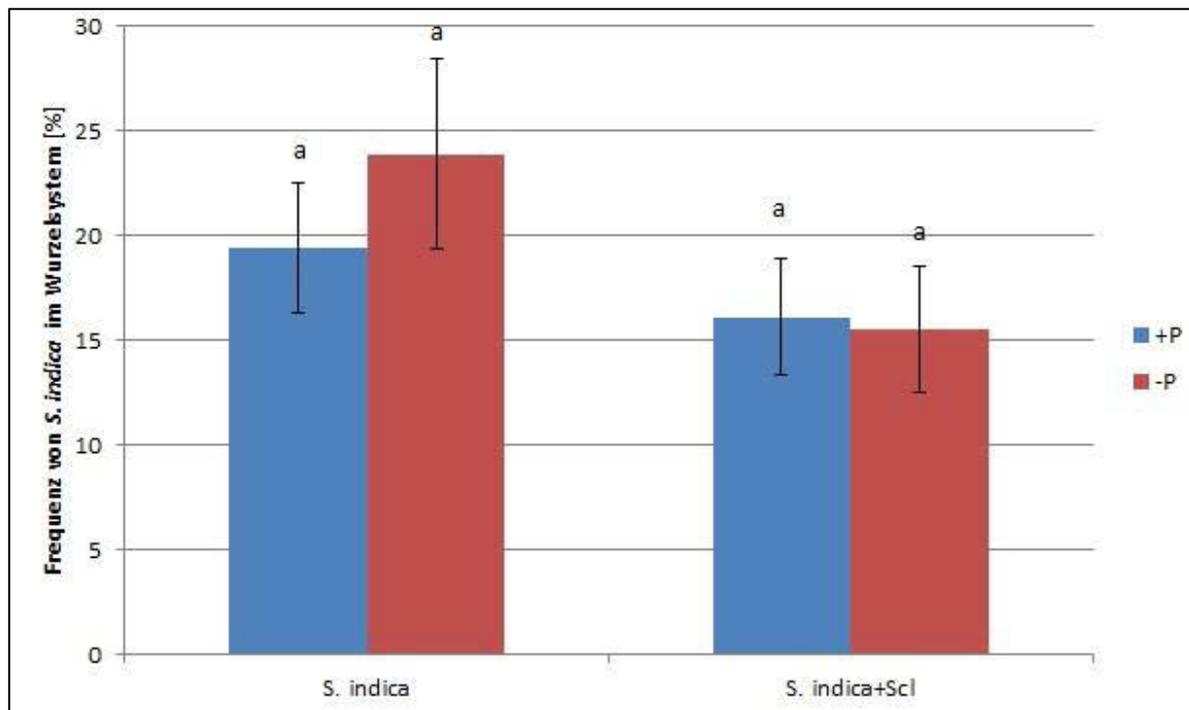


Abbildung 53: Frequenz von *S. indica*-Chlamydosporen im Wurzelsystem in % (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=1,252$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\alpha=0,05$)

In Abbildung 54 ist die Intensität der *S. indica*-Kolonisation im Wurzelsystem in Prozent ersichtlich. -P+S. *indica*+Scl hat das am intensivsten kolonisierte Wurzelsystem während +P+S. *indica* am wenigsten besiedelt war. Die leichten Differenzen zwischen den Varianten sind nicht signifikant, da die Variabilität innerhalb der Daten vor allem bei den *S. indica*+Scl-Varianten sehr hoch ist.

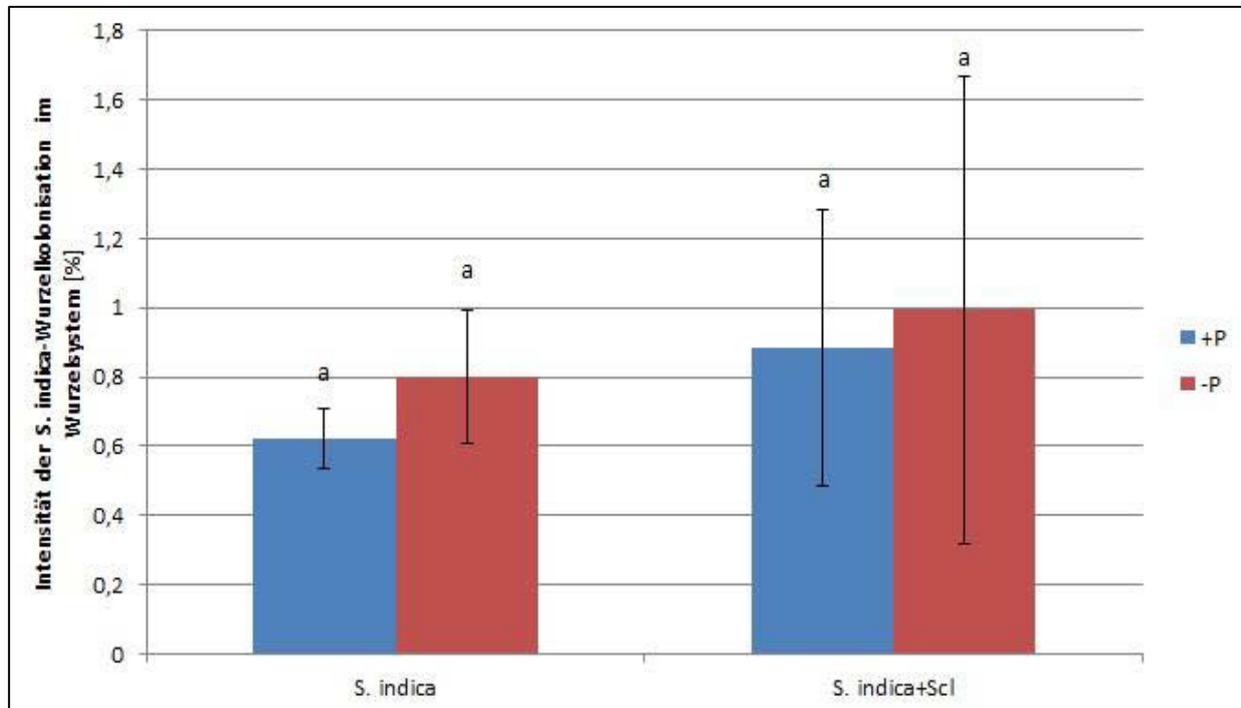


Abbildung 54: Intensität der *S. indica*-Wurzelkolonisation im Wurzelsystem in % (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=0,149$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)

Abbildung 55 zeigt die Intensität der Wurzelkolonisation in den Wurzelfragmenten in Prozent. In den Wurzelfragmenten hat +P+S. *indica*+Scl die höchste Kolonisations-Intensität gefolgt von -P+S. *indica*. +P+S. *indica* weist die geringste Kolonisation in den Wurzelfragmenten auf. Die Variabilität der Ergebnisse ist relativ hoch, daher konnte zwischen den Varianten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden.

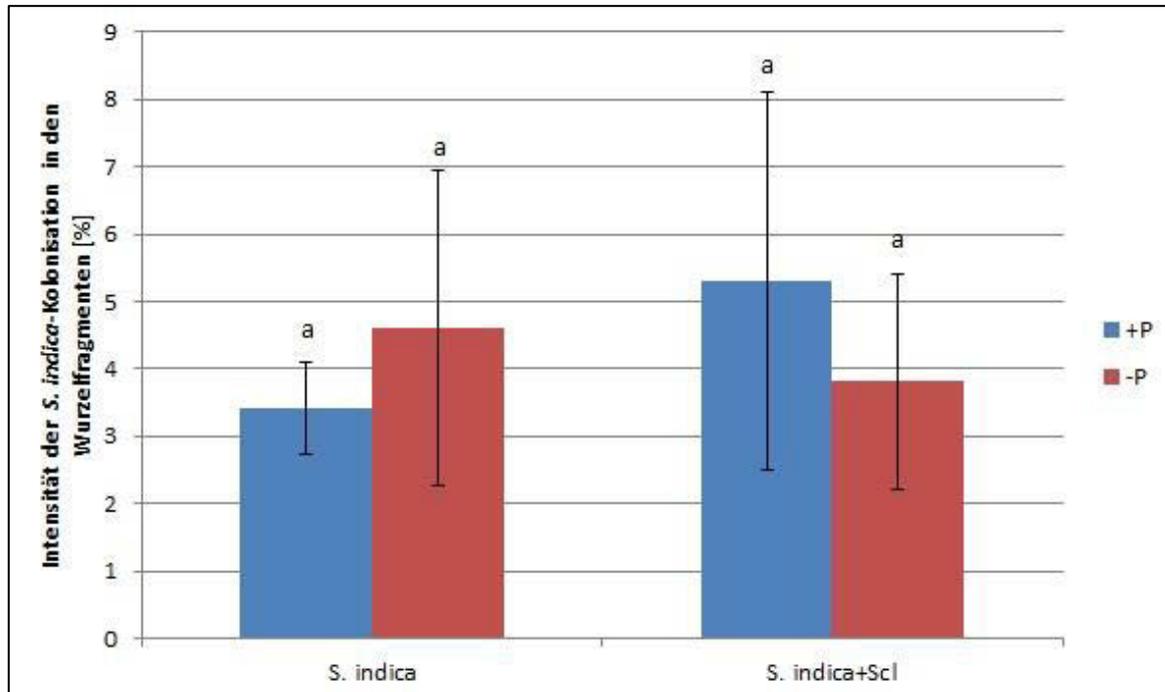


Abbildung 55: Intensität der *S. indica*-Wurzelkolonisation in den Wurzelfragmenten in % (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=0,915$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)

8.4 DUALKULTUR

Abbildung 56 zeigt die Prozentuale Hemmung des radialen Wachstums (PIRG) am Beginn der Dualkultur und am Ende, wenn *Trichoderma* T39 *S. sclerotiorum* überwachsen hat bzw. *S. sclerotiorum* *S. indica*. 2 Tage und 9 Tage nach Beginn der Dualkultur sind signifikante Unterschiede zwischen der *Trichoderma* T39- und der *S. indica*-Dualkultur zu sehen. *S. indica* konnte *S. sclerotiorum* nur wenig im radialen Wachstum hemmen und wurde am Ende sogar von *S. sclerotiorum* überwachsen. *Trichoderma* T39 weist einen Anstieg in der Wachstumshemmung von Beginn zum Ende hin auf, während die Wachstumshemmung von *S. indica* sinkt.

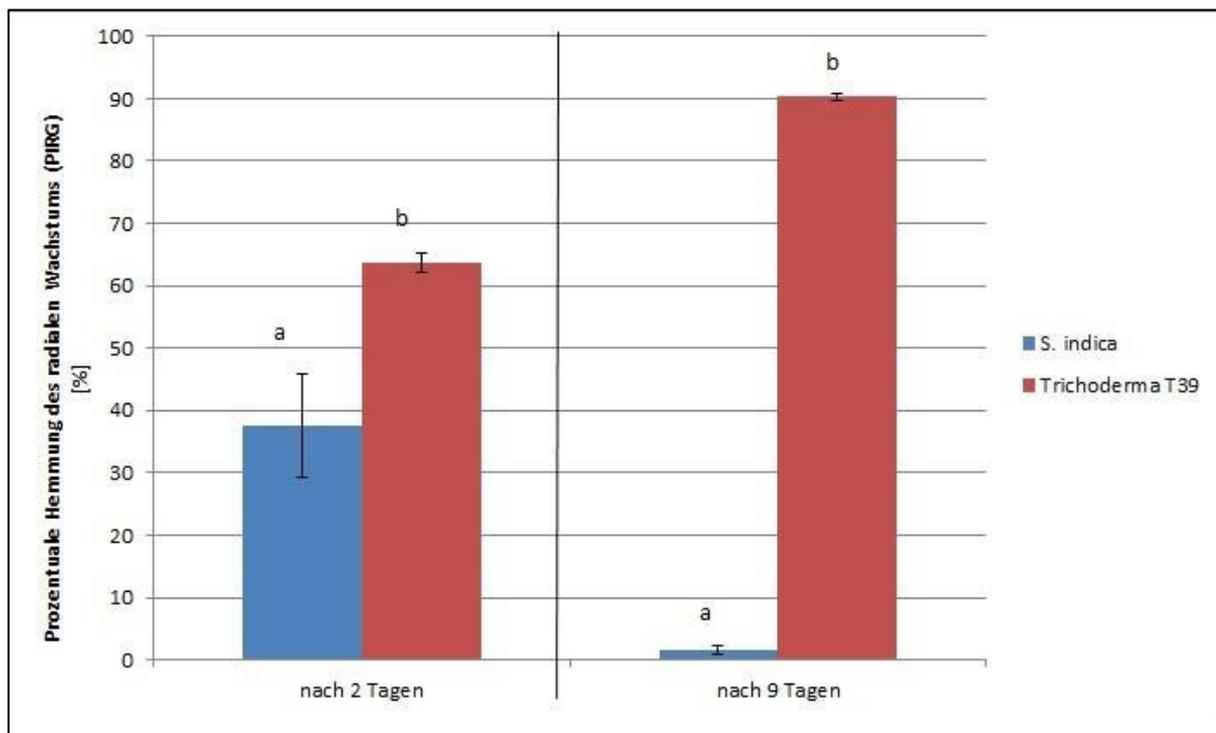


Abbildung 56: Prozentuale Hemmung des radialen Wachstums (PIRG) der Dualkulturen mit *S. indica* und *Trichoderma* T39 (Mittelwert \pm Standardfehler), (Kruskal-Wallis-Test, $\chi^2=6,842$; 21,872) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Alpha=0,05)

9 DISKUSSION

S. indica kolonisiert als Endophyt die Wurzeln vieler Pflanzen (Wilson, 1995; Verma, et al., 1998) und verursacht durch die Kolonisation vielfältige Vorteile für die Wirtspflanzen. Steigerung der Wurzel- und Sprossbiomasse (Varma, et al., 2013), verbesserte Nährstoffversorgung (Gosal, et al., 2013), Toleranzen gegen abiotische und biotische Stressfaktoren (Varma, et al., 2013) oder verbessertes bzw. schnelleres Wachstum (Bajaj, et al., 2015) zählen zu diesen Vorteilen.

Insgesamt betrachtet haben sich in diesem Versuch die +P-Varianten ein bisschen schneller entwickelt und daher waren im Vergleich mehr Pflanzen in den nächsthöheren Entwicklungsstadien als bei den –P- Varianten. Außerdem haben die +P-Varianten mehr Blätter gebildet. Dieses Ergebnis durch eine optimale Phosphorversorgung der +P-Varianten und daraus resultierend einer optimalen Versorgung der Pflanze interpretiert werden.

In diesem Versuch konnte keine frühere Blüte bei den mit *S. indica* kolonisierten Pflanzen beobachtet werden. Das widerspricht den Ergebnissen von Bajaj et al. (2015), Barazani et al. (2005) und Das et al. (2012) die bei *Glycine max* (L.) Merr., *Nicotiana attenuata* Steud. und *Coleus forskohlii* Briq. eine früher einsetzende Blüte gesehen haben. Der Grund, für diese Diskrepanzen liegt darin, dass in diesem überhaupt keine offenen Blüten im Bestand beobachtet werden konnten. Das kann durch die Nachttemperaturen, die teilweise auf rund 18 °C sanken, erklärt werden. Nach Robacker et al. (1983) hängt die Offenheit der Blüten von den Nachttemperaturen ab und ist am höchsten bei 22-26 °C im Gegensatz zu 14-18 °C.

Ein weiterer Unterschied im Entwicklungsverlauf besteht in der Bildung und Anzahl von Seitensprossen. +P+S. *indica* und +P-Kontrolle haben früher und mehr Seitentriebe angesetzt, was darauf hindeutet, dass es sich um einen Düngungseffekt handelt durch die verbesserte Phosphorversorgung. Dieses Resultat stimmt mit den Ergebnissen von Shahid et al. (2009) überein, die herausgefunden haben, dass eine bessere Phosphordüngung zu mehr Seitensprossen führt.

+P+S. *indica* weist eine signifikant höhere Sprosstrockenmasse als +P+Scl und –P+S. *indica*+Scl und ist im Gegensatz zu den anderen Varianten ebenso höher. Da bei einer 2-faktoriellen ANOVA keine Wechselwirkungen gefunden wurden, ist die deutlich höhere Sprosstrockenmasse bei +P+S. *indica* allein auf *S. indica* zurückzuführen. Dieses Ergebnis stimmt mit denen von Bajaj et al. (2015) und Rai et al. (2001) überein, die bei mit *S. indica* inokulierten *Glycine max* (L.) Merr., sowie bei *Spilanthes calva* DC. und *Withania somnifera* L. Dunal eine höhere Spross-Trockenmasse beobachten konnten. Der starke Unterschied zwischen +P+S. *indica* bzw. –P+S. *indica* und –P+S. *indica*+Scl ist auf den starken Befall von –P+S. *indica*+Scl mit *S. sclerotiorum* zurückzuführen. Diese Variante war von allen am meisten befallen und war daher dem stärksten Stress ausgesetzt. Da außerdem nach der *S. sclerotiorum*-Infektion kaum bzw. kein Wachstum mehr aufgetreten ist, erklärt das den Unterschied aller *S. sclerotiorum*-Varianten zu den Kontroll- und *S. indica*-Varianten. Ferner

besteht eine Wechselwirkung zwischen Düngung und der Variante bei den *S. indica*+Scl-Varianten, was ebenso für die Unterschiede verantwortlich ist.

Eine signifikante Steigerung der Wurzelrockenmasse konnte bei +P+S. *indica* beobachtet werden, die sich von allen anderen Varianten außer +P+S. *indica*+Scl unterscheidet. Der Unterschied zu den –P-Varianten kann durch einen signifikanten Düngeeffekt erklärt werden. Somit sind bei +P+S. *indica* signifikante und bei +P+S. *indica*+Scl tendenziell positive Effekte von *S. indica* zu sehen. –P+S. *indica* und –P+S. *indica*+Scl sind ebenfalls tendenziell höher als –P+Scl und –P-Kontrolle, auch durch die Kolonisation mit *S. indica*. In der Literatur konnte eine signifikante Steigerung der Wurzelrockenmasse durch die Wurzelkolonisation mit *S. indica* nur von Rai et al. (2001) beobachtet werden. Gosal et al. (2010) konnte keine signifikante Steigerung finden, während Bajaj et al. (2015) und Das et al. (2012) eine geringere Trockenmasse bei den mit *S. indica* kolonisierten Wurzeln vorfanden.

Die Wurzellänge betreffend sind in diesem Versuch signifikant längere Wurzeln bei der –P-Kontrolle und –P+Scl zu beobachten. Insgesamt ist ein Düngeeffekt zu sehen, da die –P-Varianten höhere Wurzellängen gezeigt haben im Gegensatz zu den +P-Varianten. Einzige Ausnahme ist –P+S. *indica*, da hier +P+S. *indica* längere Wurzeln hat. Diese Beobachtung ist auf eine Wechselwirkung zwischen *S. indica* und der Düngung zurückzuführen, wie bei einer 2-faktoriellen ANOVA bestätigt wurde. Diese Beobachtung steht im Kontrast zu den Ergebnissen von Rai et al. (2001), Gosal et al. (2010) und Das et al. (2012), die bei ihren Versuchen längere Wurzeln bei den mit *S. indica* kolonisierten Pflanzen gefunden haben.

Die *S. indica*- und Kontrollvarianten haben in diesem Versuch dieselbe Pflanzenlänge aufgewiesen, während die *S. sclerotiorum*-Varianten kürzer waren. Dieses Resultat deutet darauf hin, dass die Kolonisation mit *S. indica* keinen Einfluss auf die Pflanzenlänge der Sojabohnen hat, was gegen den Versuch von Bajaj et al. (2015) spricht, die bei ihrem Versuch mit Sojabohnen eine gesteigerte Pflanzenlänge beobachten konnten. Die Unterschiede zwischen dem Versuch von Bajaj et al. (2015) und diesem Versuch kommen vom Versuchsaufbau. Laut Hicks et al. (1968) führt geringer Pflanzenabstand zu einer gesteigerten Pflanzenlänge und bei Bajaj et al (2015) waren 5 Pflanzen pro Topf angebaut und in diesem Versuch nur 1. Der Grund für die kürzeren Sclerotinia-Varianten hängt mit der *S. sclerotiorum*-Infektion zusammen. Ab dem Zeitpunkt der Infektion haben sich Pflanzenlänge sowie Internodienlänge der Varianten mit *S. sclerotiorum* kaum bis gar nicht mehr verändert. Aufgrund des starken Befalls der infizierten Pflanzen und dem dadurch verursachten Stress haben sie sich vermutlich nicht weiterentwickelt, was den Unterschied zu den anderen Varianten erklärt.

Die Kontroll- und *S. indica*-Varianten waren in diesem Versuch deutlich länger als 80 cm, wie Vergara et al. (2013) im konventionellen Anbau beobachtet haben. Laut „Österreichischer beschreibender Sortenliste“ hat die Sorte Gallec eine mittlere Pflanzenhöhe (Bundesamt für Ernährungssicherheit, 2016). Diese konträren Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Pflanzen in diesem Versuch unter Stress standen. Die Pflanzenhöhe hängt von der Internodienlänge ab, die unter normalen Umständen <5 cm an den unteren Internodien und

an den oberen Internodien rund 10 cm ist (Soldati, 1976). Die stärksten Abweichungen von den Normalwerten sind am untersten Internodium und zwischen Blatt 5 und 6 bzw. 6 und 7 zu sehen. Die Internodienlänge ist hier bis zur Hälfte höher. Grund dafür ist vermutlich die falsche Lichtquelle. Wheeler et al. (1991) zufolge brauchen Sojabohnen UV-Licht für ihr Wachstum, ansonsten kommt es zu unnatürlichen Längenwachstum. Dougher & Bugbee (2004) fanden bei ihrem Versuch, dass eine Steigerung des UV-Anteils im Lichtspektrum von 0,1% auf 26% die Zelldehnung und damit die Internodienlänge deutlich verringern kann. Daher sollte für zukünftige Versuche mit Sojabohnen zusätzliches UV-Licht mit einer Stärke von 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ eingesetzt werden, da die verwendeten Hochdruck-Natrium und Metall-Halogen Lampen zu wenig davon in ihrem Lichtspektrum enthalten (Wheeler, et al., 1991).

In diesem Versuch war $-P+S. indica+Scl$ von allen infizierten Varianten am meisten befallen. Das beweisen die Daten der Befallshäufigkeit, mit 91,7% Befall im Bestand im Gegensatz zu 83,3 % bei den anderen Varianten. Auch Befallsstärke und AUDPC zeigen einen stärksten Befall von $-P+S. indica+Scl$, während $+P+S. indica+Scl$ bei diesen beiden Kennwerten die geringste Infektion aufweist. Da diese Beobachtung nur durch Kombination aus Düngung und Pathogen entstanden sein kann, weil der Befall von $-P+Scl$ ident mit dem Befall von $+P+Scl$ ist, sollten weitere Tests zur Bestätigung durchgeführt werden.

$+P+Scl$ und $-P+Scl$ zeigten sowohl bei der Befallshäufigkeit sowie bei der Befallsstärke und AUDPC nahezu idente Werte, vor allem zum Ende der Bonitur hin. Das widerspricht dem Ergebnis von Laughlin & Munro (1983), die eine stärkere *S. sclerotiorum*-Infektion bei besserer Phosphor-Versorgung gefunden haben. Das Resultat von Laughlin & Munro (1983) erklärt aber die frühere Infektion um einen Tag von $+P+Scl$, im Gegensatz zu allen anderen Varianten.

Die AUDPC-Werte von $+P+Scl$ und $-P+Scl$ von rund 6,8 stimmen mit dem von Barros et al. (2015) überein. Barros et al. (2015) berechneten für ihren Versuch mit Sojabohnen und *S. sclerotiorum* eine AUDPC von 7,4. Aufgrund dieser Übereinstimmung ist davon auszugehen, dass optimale Bedingungen für die Infektion geherrscht haben.

So wie bei $+P+S. indica+Scl$ eine Befallsreduktion gesehen wurde, konnten auch Fakhro et al. (2010) bei ihrem Versuch mit Tomaten und *Verticillium dahliae* eine 32%ige Symptom-Reduktion durch die Kolonisation mit *S. indica* sehen. Ebenso wurden die Symptome des typischen Blattpathogens *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, des Stammbasis-Krankheitserregers *Pseudocercospora herpotrichoides* und des Wurzelpathogens *Fusarium culmorum* reduziert durch die Kolonisation mit *S. indica* (Serfling, et al., 2007). Doch die Ergebnisse der Dualkultur, bei der keine direkten Effekte von *S. indica* auf *S. sclerotiorum* gesehen wurden, deuten darauf hin, dass der Wurzelendophyt indirekten Einfluss auf *S. sclerotiorum* im Glashausversuch genommen hat. Zu Beginn der Dualkultur konnte *S. indica* das Wachstum von *S. sclerotiorum* noch hemmen, doch im Laufe des Versuchs hat sich *S. sclerotiorum* durchgesetzt und zum Schluss *S. indica* überwachsen. Außerdem konnte kein Hemmhof

beobachtet werden, der auf eine Reaktion von *S. indica* auf *S. sclerotiorum* hindeutet. Solche indirekten Effekte können induzierte Resistenzen und Toleranzen sein, welche durch die erhöhte Expression spezieller Abwehrgene sichtbar wird, wie Waller et al. (2008) bei *Hordeum sativum* Pers. entdeckten. Außerdem kann der Endophyt den Oberflächen-pH-Wert der kolonisierten primären Wurzeln ändern und somit den pH-Wert in den Apoplasten. Eine Reaktion, die auch bei resistenten Pflanzen oder bei der Behandlung mit chemischen Resistenzinduktoren erkannt wurde (Felle, et al., 2009). Desweiteren haben Gosal et al. (2013) bemerkt, dass der Pilz die Rezeptoren für die Bindung und Adsorption von Pflanzenschädlingen, bei starken Infektionen des Wurzelgewebes, blockieren und somit die Wirtspflanzen schützen kann. Ferner wird durch die Inokulation mit *S. indica* der Gehalt an pflanzeigenen antimikrobiellen Komponenten erhöht (Rai, et al., 2004) und die Pflanzen produzieren mehr Antioxidantien in den Wurzeln, da der Pilz in den Gluthation-Ascorbat-Zyklus eingreift (Waller, et al., 2005). Überdies kann der Wurzelendophyt die Signalisierung innerhalb der Pflanze und die Pflanzenabwehr manipulieren, durch Eingriff in die Synthese von Pflanzenhormonen (Gosal, et al., 2013).

Für die indirekten Effekte von *S. indica* gegen *S. sclerotiorum* spricht auch das Ergebnis von Rai et al. (2004), die bei *Spilanthes calva* DC. eine Erhöhung der antimyketischen Aktivität gegen *Fusarium oxysporum* nach der Kolonisation mit dem Wurzelendophyten gefunden haben.

Bei der Frequenz von *S. indica* in den Wurzeln sind die Varianten nur mit *S. indica* tendenziell höher, während bei der Intensität an *S. indica* im Wurzelsystem die Varianten mit *S. indica* und *S. sclerotiorum* höhere Werte zeigen. Bei der Intensität an *S. indica* in den Wurzelfragmenten zeigten -P+S. *indica* und +P+S. *indica*+Scl höhere Werte. Daraus resultiert, dass die Pflanzen der *S. indica*-Varianten stärker kolonisiert waren, als die anderen Varianten, aber die Anzahl an gefundenen Chlamydosporen in den Varianten mit *S. indica* und *S. sclerotiorum* höher ist. Um die Beobachtung zu bestätigen, dass durch die *S. sclerotiorum*-Infektion mehr Chlamydosporen in den Wurzeln zu finden sind, sollte ein weiterer Versuch vorgenommen werden. Bei diesem sollten Proben vor und nach der *Sclerotinia*-Infektion genommen, die dann miteinander verglichen werden.

In diesem Versuch konnte bei einer Versuchsdauer von 50 Tagen ein Frequenz an Chlamydosporen im Wurzelsystem von 15 bis 23 % kalkuliert werden. Verglichen mit anderen Versuchen ist das relativ wenig, denn Bajaj et al. (2015) fanden bei *Glycine max* (L.) Merr. eine Kolonisation zwischen 45 und 60 %. Ein möglicher Grund für die Unterschiede in der Wurzelkolonisation können unterschiedliche Versuchszeiträume sein. Laut Deshmukh et al. (2006) ändert sich das *S. indica*/Pflanzen-DNA-Verhältnis, also somit die Menge an Pilzstrukturen in der Wurzel, im Laufe der Interaktion. Zu Beginn der Kolonisation kommt es zu einem Anstieg in der Pilz/Pflanzen-Relation, gefolgt von einem Rückgang bis sich schlussendlich ein Gleichgewichtszustand einstellt. Der Versuch von Bajaj et al. (2015) dauerte 60 Tage. Gosal et al. (2010) fanden bei *Chlorophytum* sp. nach 30 Tagen 75 % und

nach 90 Tagen 81 % kolonisierte Wurzeln, während Rai et al. (2001) nach 90 Tagen eine Wurzelkolonisation von 62 % bei *Spilanthes calva* DC. und 73 % bei *Withania somnifera* (L.) Dunal gefunden haben. Das et al. (2012) berechneten eine ähnliche Wurzelkolonisation, wie in diesem Versuch, von 26 % bei *Coleus forskohlii* Briq. nach 6 Monaten Versuchsdauer. Da nur Das et al. (2012) ein ähnliches Ergebnis, wie in diesem Versuch erreichen konnten, bei einer erheblich längeren Versuchsdauer von 6 Monaten und die Wurzelkolonisationen sowohl bei geringeren als auch bei längeren Versuchszeiträumen größer sind als bei diesem Versuch, können die Unterschiede nicht mit der Versuchsdauer begründet werden. Eine mögliche Erklärung für die Diskrepanzen innerhalb der Wurzelkolonisation von *S. indica* könnten unterschiedliche Pflanzenarten sein. Bis auf Bajaj et al. (2015) haben alle oben genannten Autoren andere Pflanzen in ihren Versuchen verwendet, wodurch Unterschiede entstanden sein könnten. Der Grund für die Unterschiede zwischen Bajaj et al. (2015) und diesem Versuch können an der *S. indica*-Menge im Substrat liegen. In diesem Versuch wurde eine Myzel-Sand-Mischung mit 0,2 % *S. indica* im Substrat verwendet und Bajaj et al. (2015) 2,5 % bzw. 5 % Myzel im gesamten Substrat verwendeten.

Für die Unterschiede zwischen den Frequenzen könnten auch die Probleme beim Auszählen der Chlamydosporen verantwortlich sein. Da die Sojabohnenwurzeln unterschiedlich dick sind, wurden die dünnen Stücke zu stark gefärbt und dadurch waren die Sporen nicht gut zu sehen und konnten daher nicht gezählt werden. Auf der anderen Seite waren die dicken Wurzeln ebenso schwer auszuzählen, da es trotz Änderung der Ebene am Mikroskop nicht möglich war klare und scharfe Bilder zu bekommen. Außerdem waren in manchen Wurzelfragmenten viele Chlamydosporen, die kleiner als 7 µm im Durchmesser waren und nicht gezählt wurden. Somit besteht die Möglichkeit, dass mehr Chlamydosporen in den Wurzeln vorhanden waren, die aufgrund der beschriebenen Probleme nicht ausgewertet werden konnten. Deshalb sollten für zukünftige Versuche andere Methode zur Färbung und Bestimmung der Kolonisation verwendet werden. Aufgrund der kleinen Strukturen von *S. indica* könnte eine qPCR aufschlussreicher sein. Wie zum Beispiel Banhara, et al. (2015), die die Pilzkolonisation mittels „Real-time qPCR“ ermittelten.

Verglichen mit AM ist die Frequenz an *S. indica* in den Wurzeln deutlich geringer mit 15 % bei -P+S. *indica*+Scl bis 23 % bei -P+S. *indica*. Schenck & Kinloch (1980) fanden bei ihrem Versuch mit Sojabohnen eine Frequenz von rund 50 % an AMP. Die Diskrepanzen zwischen *S. indica* und AMP können durch Unterschiede in ihren Wurzelstrukturen entstanden sein. Während *S. indica* Hyphen und Chlamydosporen in den Wurzeln bildet (Deshmukh, et al., 2006), können AMP neben Hyphen auch Arbuskeln entwickeln (Brundrett & Kendrick, 1988). Außerdem sind sowohl die Hyphen als auch die Sporen der AMP größer als die Strukturen von *S. indica* und sind somit unter dem Mikroskop besser zu sehen. Die Hyphen der AMP sind 1 bis 10 Tausendstel mm breit (Soil Health, 2016) und die Sporen zwischen 30 und 400 µm groß (Daniels, et al., 1981), während die Chlamydosporen von *S. indica* 9 bis 20 µm groß und die Hyphen 0,6 bis 3,5 µm im Durchschnitt sind (Kost & Rexer, 2013).

Trichoderma T39 hat bei der Dualkultur das Wachstum von *S. sclerotiorum* um 90 % reduziert. Elad (2000) haben in ihrem Versuch eine 64%ige Wachstumsreduktion von *S. sclerotiorum* entdeckt. Da Elad (2000) die hemmende Wirkung von *Trichoderma* T39 in einem Glashaushausversuch getestet haben, erklärt das den Unterschied zu diesem Versuch. Diese hemmende Wirkung von *Trichoderma* spp. konnte auch in diversen anderen Dualkulturversuchen mit verschiedensten Pilzen erfolgreich getestet werden (Ghahfarokhi & Goltapeh, 2010)

Insgesamt betrachtet hat *S. indica* Potential im Sojabohnenanbau zur Biomassesteigerung und als alternative Bekämpfungsmöglichkeit gegen *S. sclerotiorum* eingesetzt zu werden. Es konnte zwar kein schnelleres Wachstum durch die Kolonisation mit *S. indica* erreicht werden. Die schnellere und vermehrte Bildung von Seitentrieben, sowie die etwas schnellere Entwicklung von +P+S. *indica* und +P-Kontrolle sind einem Düngeeffekt der +P-Düngung zuzuschreiben. Dafür konnten sowohl bei der Sprosstrockenmasse, als auch bei Wurzeltrockenmasse durch die Kolonisation mit *S. indica* höhere Werte bei +P+S. *indica* erzielt werden. Außerdem war die Wurzeltrockenmasse bei +P+S. *indica*+Scl tendenziell höher. Wurzellänge und Pflanzenlänge wurden nicht durch *S. indica* beeinflusst. +P+S. *indica*+Scl zeigte tendenziell eine bessere Hemmung der Sclerotinia-Infektion, während -P+S. *indica*+Scl den höchsten Befall zeigte. Aufgrund der Ergebnisse der Dualkultur, bei der *S. indica* keine direkten hemmenden Effekte auf *S. sclerotiorum* zeigte, ist davon auszugehen, dass bei +P+S. *indica* indirekte Effekte die *Sclerotinia*-Infektion gebremst haben. Deshalb sollten die tendenziellen Effekte von *S. indica* auf die *S. sclerotiorum*-Infektion in weiteren Versuchen näher untersucht werden.

10 ZUSAMMENFASSUNG

Der Wurzelendophyt *Serendipita indica* kolonisiert die Wurzel vieler mono- und dikotyle Pflanzen. Seine positiven Wirkungen beinhalten Steigerung des Pflanzenwachstums und Toleranzen gegen biotische und abiotische Stressfaktoren. In dieser Arbeit wurde das wachstumsteigernde Potential von *S. indica* bei Sojabohnen und die Wirkung auf das Pflanzenpathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (Scl) getestet. Dafür wurden im Glashaus Sojabohnen direkt beim Anbau mit *S. indica* inokuliert und mittels Blütenansatzinokulation mit *S. sclerotiorum* infiziert. Die Pflanzen wurden weiters mit einer Nährlösung mit bzw. ohne Phosphor (P) behandelt. Außerdem wurden in einer Dualkultur *S. indica* und ein Trichodermastamm (T39) auf ihr wachstumhemmendes Potential gegen *S. sclerotiorum* getestet. Signifikante Effekte durch die Wurzelkolonisation mit *S. indica* konnten bei der Wurzel- und Sprosstrockenmasse bei +P+S. *indica* erreicht werden. Die Variante +P+S. *indica*+Scl zeigte tendenziell eine hemmende Wirkung auf den *S. sclerotiorum*-Befall, während –P+S. *indica*+Scl den größten Befall aufwies. Die Dualkultur zeigte keine direkte hemmende Wirkung von *S. indica* auf *S. sclerotiorum*. Es konnte weder ein schnelleres Wachstum noch ein Einfluss von *S. indica* auf Wurzel- und Pflanzenlänge nachgewiesen werden. Zusammenfassend hat *S. indica* ein Potential zur Biomassesteigerung und als Gegenspieler von *S. sclerotiorum*. Aufgrund der vorliegenden Studie ist davon auszugehen, dass *S. indica* keine direkten Effekte auf *S. sclerotiorum* hat. Das Potential zur Befallsverringering aufgrund indirekter Effekte, sollte in weiterführenden Studien näher untersucht werden.

11 VERZEICHNISSE

11.1 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Typ II C-Endophyten Lebenszyklus von <i>Epichloë festucae</i> mit sexuellen und asexuellen Entwicklungszyklus (aus Clay & Schardl, 2002).....	5
Abbildung 2: <i>S. indica</i> auf Kartoffeldextroseagar nach 10 Tagen.	8
Abbildung 3: <i>S. indica</i> auf Kartoffeldextroseagar nach 25 Tagen.	8
Abbildung 4: Entstehung von Chlamydosporen (Skala: 10 µm) (aus Kost & Rexer, 2013).....	9
Abbildung 5: Chlamydosporen von <i>S. indica</i> (aus Verma, et al., 1998).	9
Abbildung 6: Schematische Darstellung einer mit <i>S. indica</i> befallenen Wurzel mit den verschiedenen Geweben-Arten und dem damit verbundenen Kolonisationsmuster. Hyphen sind rot dargestellt und die noch lebenden Nuclei blau (aus Deshmukh, et al., 2006).....	11
Abbildung 7: Typische Arbuskeln von vesikulär-arbuskulären Mykorrhizapilzen (aus Smith & Smith, 1997).	12
Abbildung 8: Langstielige, dreiteilige Sojabohnen-Blätter (aus Bauer Willi, 2016).	17
Abbildung 9: Sojabohnen-Blüte (aus Delley Samen und Pflanzen AG, 2016).....	17
Abbildung 10: Hülsen der Sojabohnen (aus Hausgarten.net, 2011).....	17
Abbildung 11: Lebenszyklus von <i>S. sclerotiorum</i> an der Sojabohne (aus Peltier, et al., 2012).	21
Abbildung 12: Apothezien, die aus Sklerotien entstehen (aus Peltier, et al., 2012).	22
Abbildung 13: Symptome einer Infektion mit <i>S. sclerotiorum</i> (aus Peltier, et al., 2012).	22
Abbildung 14: <i>S. indica</i> -Myzel nach 3 Wochen in Kaefers Medium Boullion.	26
Abbildung 15: Wasserstrahlpumpe zum Myzel-Filtrieren.	26
Abbildung 16: <i>S. indica</i> -Myzel beim Filtrieren durch 3 Lagen Kannenvlies-Filter.	26
Abbildung 17: Gesamtes <i>S. indica</i> -Myzel nach dem Filtrieren.	27
Abbildung 18 Fertiges <i>S. indica</i> -Inokulum.....	27
Abbildung 19: <i>S. sclerotiorum</i> -Inokulum nach dem Mixen.	28
Abbildung 20: Am 4. Nodium abgeschnittene Blüte.....	28
Abbildung 21: Im Inokulat getränktes halbes Wattepad, am 4. Nodium fixiert.....	28
Abbildung 22: Topf mit Untersetzer und 1:1:1 gemischtem Substrat sowie einem 2 cm tiefen Pflanzloch.	29
Abbildung 23: Bei 3 ml abgeschnittenes Falcon Tube.	29
Abbildung 24: Topf mit 3 ml <i>S. indica</i> -Inokulum und 2 oberflächendesinfizierten Sojabohnen-Samen.....	29
Abbildung 25: Sojabohnen-Keimling mit deformiertem Keimblatt.	30
Abbildung 26: Sojabohnen-Keimling mit nur einem Keimblatt.	30
Abbildung 27: Sojabohnen-Keimling mit 3 ersten Blättern.	30
Abbildung 28: Temperaturverlauf im Glashaus während des Versuchs (Mittelwert) von 1. März 2016 bis 21. April 2016.....	31
Abbildung 29: Verlauf der relativen Luftfeuchtigkeit im Glashaus während des Versuchs (Mittelwert) von 1. März 2016 bis 21. April 2016.....	32

Abbildung 30: Wellenlänge-Spektrum der Philips MASTER HPI-T Plus 400W/645 E40 1SL/12 Leuchte (aus Philips Lighting Holding B.V., 2010).	33
Abbildung 31: Wellenlängen-Spektrum der Philips MASTER Agro 400W E40 1SL Leuchte (aus Philips Lighting Holding B.V., 2010).....	33
Abbildung 32: Mit Trypanblau gefärbte Sojabohnenwurzeln nach dem Kleinschneiden.	36
Abbildung 33: Fertige vorbereiteter Objektträger zum Auszählen von <i>S. indica</i> Chlamydosporen.	36
Abbildung 34: Chlamydosporen in Pflanze 9, Wurzel 10 +P+S. <i>indica</i> +Scl.....	36
Abbildung 35: Chlamydosporen in Pflanze 7, Wurzel 9 +P+S. <i>indica</i>	36
Abbildung 36: Chlamydosporen in Pflanze 3, Wurzel 9 –P+S. <i>indica</i>	37
Abbildung 37: Chlamydospore in Pflanze 1, Wurzel 15 –P+S. <i>indica</i> +Scl.	37
Abbildung 38: Messung des Radialen Wachstums der Pilz-Kolonien auf den Dual-Kulturen und das Aufbau-Schema der Dualkulturen. A = Antagonisten <i>S. indica</i> oder <i>Trichoderma T39</i> , S = <i>S. sclerotiorum</i> , R2 = Radiales Wachstum der Antagonisten, R3 = Radiales Wachstum von <i>S. sclerotiorum</i>	39
Abbildung 39: Messung des Radialen Wachstums der Kontroll-Varianten sowie das Aufbau-Schema. K = Myzelplug der Kontrollvarianten <i>S. indica</i> , <i>S. sclerotiorum</i> oder <i>Trichoderma T39</i> , R1 = Radiales Wachstum der Kontroll-Pilz-Kolonien.....	39
Abbildung 40: Anteil der BBCH-Stadien an der Gesamtpflanzenanzahl in % von 8.3.2016 bis 29.3.2016.....	42
Abbildung 41: Anteil der BBCH-Stadien an der Gesamtpflanzenanzahl in % von 1.4.2016 bis 19.4.2016.....	43
Abbildung 42: Pflanzenlänge in cm (Mittelwert ± Standardfehler), (ANOVA, F=1,608) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, Alpha=0,05).....	44
Abbildung 43: Pflanzenlänge und Internodienlänge in cm (Mittelwert); die Säulen stellen die Pflanzenlänge dar und die jeweiligen Abschnitte die Internodienlänge	45
Abbildung 44: Erwarteten und beobachteten Häufigkeiten der BBCH-Stadien 11, 12, 13, 14 und 21 zu 3 Zeitpunkten (Chi-Quadrat-Test, $\chi^2=0,000$; 1,371; 0,000; 5,027; 2,283; 1,427)	47
Abbildung 45: Spross-Trockenmasse in g (Mittelwert ± Standardfehler), (ANOVA, F=9,618) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, Alpha=0,05).....	48
Abbildung 46: Interaktionsdiagramm zwischen Düngung und Varianten der Spross-Trockenmasse in g (Mittelwert); (2-faktorielle ANOVA, F=4,972) Linien, die sich überschneiden weisen Wechselwirkungen auf	49
Abbildung 47: Wurzeltrockenmasse in g (Mittelwert ± Standardfehler), (ANOVA, F=5,872) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, Alpha=0,05).....	50
Abbildung 48: Wurzellänge in cm (Mittelwert ± Standardfehler), (ANOVA, F=3,384) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, Alpha=0,05).....	51

Abbildung 49: Interaktionsdiagramm zwischen Düngung und Varianten Wurzellänge in cm (Mittelwert); (2-faktorielle ANOVA, $F=4,072$) Linien, die sich überschneiden weisen Wechselwirkungen auf.....	52
Abbildung 50: Befallshäufigkeit in % der Varianten, die mit <i>S. sclerotiorum</i> infiziert wurden.	54
Abbildung 51: Befallsstärke in % innerhalb einer Woche (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=0,876$; 1,492; 1,546; 1,678; 1,466) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)..	56
Abbildung 52: Area under the disease-progress curve (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=1,467$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)	57
Abbildung 53: Frequenz von <i>S. indica</i> -Chlamydosporen im Wurzelsystem in % (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=1,252$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)..	58
Abbildung 54: Intensität der <i>S. indica</i> -Wurzelkolonisation im Wurzelsystem in % (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=0,149$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)..	59
Abbildung 55: Intensität der <i>S. indica</i> -Wurzelkolonisation in den Wurzelfragmenten in % (Mittelwert \pm Standardfehler), (ANOVA, $F=0,915$) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf (Tukey's Honestly Significant Difference Test, $\text{Alpha}=0,05$)	60
Abbildung 56: Prozentuale Hemmung des radialen Wachstums (PIRG) der Dualkulturen mit <i>S. indica</i> und <i>Trichoderma</i> T39 (Mittelwert \pm Standardfehler), (Kruskal-Wallis-Test, $\chi^2=6,842$; 21,872) Säulen mit gleichen Buchstaben weisen keine signifikanten Unterschiede auf ($\text{Alpha}=0,05$)	61

11.2 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Düngeempfehlung für Sojabohnen abhängig von der Ertragslage in Anlehnung an die „Richtlinien für die sachgerechte Düngung, 6. Auflage“ (aus Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, 2006).....	19
Tabelle 2: Überblick über die Varianten	24
Tabelle 3: Bewertungsskala <i>S. sclerotiorum</i> -Infektion.....	34
Tabelle 4: Skala für die Einteilung der Chlamydosporen in Klassen, verändert nach Trouvelot et al. (1986).	37
Tabelle 5: Darstellung der standardisierten Residuen für das jeweilige Entwicklungsstadium und die jeweilige Variante zu allen 3 Zeitpunkten.....	46
Tabelle 6: Ergebnisse der 2-faktoriellen ANOVA dargestellt als Freiheitsgrade (df), F-Werte, Signifikanzlevel der Hauptfaktoren (Düngung und Variante) und ihre Interaktion (Variante x Düngung) auf die Spross-Trockenmasse.	48
Tabelle 7: Ergebnisse der 2-faktoriellen ANOVA dargestellt als Freiheitsgrade (df), F-Werte, Signifikanzlevel der Hauptfaktoren (Düngung und Variante) und ihre Interaktion (Variante x Düngung) auf die Wurzel-Trockenmasse.	50
Tabelle 8: Ergebnisse der 2-faktoriellen ANOVA dargestellt als Freiheitsgrade (df), F-Werte, Signifikanzlevel der Hauptfaktoren (Düngung und Variante) und ihre Interaktion (Variante x Düngung) auf die Wurzel-Länge.....	51
Tabelle 9: Anleitung modifiziertes Käfer Medium verändert nach Johnson, et al. (2011).	88
Tabelle 10: Zusammensetzung der Düngung sowie die Mischanleitung und die Gehalte der einzelnen Komponenten in 100 l sowie in Gramm pro Liter. Gelb hinterlegt ist die Komponente, die zusätzlich für die +P-Nährlösung verwendet wird.	89
Tabelle 11: Gesamt-Reinnährstoffgehalt der Düngelösungen in Gramm pro Liter und mMol pro Liter.	89

12 LITERATURVERZEICHNIS

- "Unser Lagerhaus" Warenhandelsgesellschaft m.b.H. (2014). *Sojabohnen Gallec (000) Sortenpass*. <http://www.unser-lagerhaus.at/soja-ertragssieger-von-die-saat+2500+2206336>, (Letzter Zugriff: 9. März 2016).
- Achatz, B., von Rüden, S., Andrade, D., Neumann, E., Pons-Kühnemann, J., Kogel, K.-H., Franken, P., & Waller, Frank. (2010). Root colonization by *Piriformospora indica* enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. *Plant Soil*, 333, 59–70.
- Agrar Markt Austria. (2016). *Getreideanbauflächen in Österreich 2005 bis 2015 (inkl. Bioflächen)*. <https://www.ama.at/Marktinformationen/Getreide-und-Olsaaten/Aktuelle-Informationen/2015/AMA-Flachenauswertung-2015>, (Letzter Zugriff: 10. Juni 2016).
- Anas, O., & Reeleder, R. D. (1988). Consumption of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* by larvae of *Bradysia coprophila*: Influence of soil factors and interaction between larvae and *Trichoderma viride*. *Soil Biology and Biochemistry*, 20(5), 619-624.
- Andrade-Linares, D. R., Müller, A., Fakhro, A., Schwarz, D., & Franken, P. (2013). Impact of *Piriformospora indica* on tomato. In A. Varma, G. Kost, & R. Oelmüller (Hrsg.), *Piriformospora indica - Sebacinales and their biotechnological applications* (Bd. 33). Berlin Heidelberg: Springer, 107-117.
- Archana, G., Buch, A., & Naresh Kumar, G. (2012). Pivotal role of organic acid secretion by rhizobacteria in plant growth promotion. In T. Satyanarayana, B. Johri, & A. Prakash (Hrsg.), *Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology*. Dordrecht Heidelberg London New York: Springer, 35-53.
- Arnold, A. E. (2007). Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. *Fungal Biology Reviews*, 21(2-3), 51-66.
- Arnold, A. E., & Herre, E. A. (2003). Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes. *Mycologia*, 95(3), 388-398.
- Bajaj, R., Hu, W., Huang, Y., Chen, S., Prasad, R., Varma, A., & Bushley, K. E. (2015). The beneficial root endophyte *Piriformospora indica* reduces egg density of the soybean cyst nematode. *Biological Control*, 90, 193–199.
- Banhara, A., Ding, Y., Kühner, R. Zuccaro, A., & Parniske, M. (2015). Colonization of root cells and plant growth promotion by *Piriformospora indica* occurs independently of plant common symbiosis genes. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1-11.
- Barazani, O., Benderoth, M., Groten, K., Kuhlemeier, C., & Baldwin, I. T. (2005). *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* increase growth performance at the expense of herbivore resistance in *Nicotiana attenuata*. *Oecologia*, 146, 234–243.

- Barazani, O., von Dahl, C. C., & Baldwin, I. T. (2007). *Sebacina vermifera* promotes the growth and fitness of *Nicotiana attenuata* by inhibiting ethylene signaling. *Plant Physiology*, *144*, 1223–1232.
- Barros, D. C., de Batista Fonseca, I. C., Balbi-Peña, M. I., Pascholati, S. F., & Peitl, D. C. (2015). Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* and white mold of soybean using saprobic fungi from semi-arid areas of Northeastern Brazil. *Summa Phytopathologica*, *41*(4), 251-255.
- Bastien, M., Thanh Huynh, T., Giroux, G., Iqura, E., Rioux, S., & Belzile, F. (2012). A reproducible assay for measuring partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. *Canadian Journal of Plant Science*, *92*, 279-288.
- Bauer Willi. (2016). *Soja – aus Deutschland*. <http://www.bauerwilli.com/soja-aus-deutschland/>, (Letzter Zugriff: 10. Juni 2016).
- Belkhodja, R., Morales, F., Abadia, A., Gómez-Aparisi, J., & Abadia, J. (1994). Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiology*, *104*, 667-673.
- Ben-Gal, A., Borochoy-Neori, H., Yermiyahu, U., & Shani, U. (2009). Is osmotic potential a more appropriate property than electrical conductivity for evaluating whole-plant response to salinity? *Environmental and Experimental Botany*, *65*, 232–237.
- Board, J. E., & Hall, W. (1984). Premature flowering in soybean yield reductions at nonoptimal planting dates as influenced by temperature and photoperiod. *Agronomy Journal*, *76*, 700-704.
- Board, J. E., Kamal, M., & Harville, B. G. (1992). Temporal importance of greater light interception to increased yield in narrow-row soybean. *Agronomy Journal*, *84*, 575-579.
- Boland, G. J., & Hall, R. (1994). Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, *16*, 93-108.
- Boukcim, H., & Plassard, C. (2003). Juvenile nitrogen uptake capacities and root architecture of two openpollinated families of *Picea abies*. Effects of nitrogen source and ectomycorrhizal symbiosis. *Journal of Plant Physiology*, *160*, 1211–1218.
- Brundrett, M. C., & Kendrick, B. (1988). The mycorrhizal status, root anatomy, and phenology of plants in sugar maple forest. *Canadian Journal of Botany*, *66*, 1153-1173.
- Bultman, T. L., & White, J. F. (1988). "Pollination" of a fungus by a fly. *Oecologia*(75), 317-319.

- Bundesamt für Ernährungssicherheit. (2016). *Auszug aus der Österreichischen Beschreibenden Sortenliste* 2016. <http://www.baes.gv.at/pflanzensorten/oesterreichische-beschreibende-sortenliste/mittel-und-grosssamige-leguminosen/sojabohne/>, (Letzter Zugriff: 9. März 2016).
- Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft. (2006). *Richtlinien für die sachgerechte Düngung, 6. Auflage*. Wien: Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft.
- Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft. (2015). *Grüner Bericht 2015*. Wien: Republik Österreich.
- Campanile, G., Ruscilli, A., & Luisi, N. (2007). Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by in vitro and in planta tests. *European Journal of Plant Pathology*, 117, 237–246.
- Carroll, G. C., & Carroll, F. E. (1978). Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. *Canadian Journal of Botany*, 56, 3034-3043.
- Clay, K., & Schardl, C. (2002). Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *The American Naturalist* (160), 99-127.
- Ćosić, J., Jurković, D., Vrandečić, K., & Kaučić, D. (2012). Survival of buried *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia in undisturbed soil. *Helia*, 35(56), 73-78.
- Criswell, J. G., & Hume, D. J. (1972). Variation in sensitivity to photoperiod among early maturing soybean strains. *Crop Science*, 12, 657-660.
- Cruz, C., Fegghi, Z., Martins-Loucao, M. A., & Varma, A. (2013). Plant nitrogen use efficiency may be improved thorough symbiosis with *Piriformospora indica*. In A. Varma, G. Kost, & R. Oelmüller (Hrsg.), *Piriformospora indica - Sebacinales and their biotechnological applications* (Bd. 33). Berlin Heidelberg: Springer, 285-293.
- Currah, R. S., Tsuneda, A., & Murakami, S. (1993). Morphology and ecology of *Phialocephala fortinii* in roots of *Rhododendron brachycarpum*. *Canadian Journal of Botany*, 71, 1639- 1644.
- Daniels, B. A., McCool, P. M., & Menge, J. A. (1981). Comparative inoculum potential of spores of six vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 89, 385-391.
- Danielsen, S., & Jensen, D. F. (1999). Fungal endophytes from stalks of tropical maize and Grasses: Isolation, identification, and screening for antagonism against *Fusarium verticillioides* in maize stalks. *Biocontrol Science and Technology*, 9, 545-553.

- Das, A., Kamal, S., Shakil, N. A., Sherameti, I., Oelmüller, R., Dua, M., Tuteja, N., Johri, K. A., & Varma, A. (2012). The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant, *Coleus forskohlii*. *Plant Signaling & Behavior*, 7(1), 1-10.
- Davis, E. C., & Shaw, A. J. (2008). Biogeographic and phylogenetic patterns in diversity of Liverwort-associated endophytes. *American Journal of Botany*, 95(8), 914-924.
- Davis, E. C., Frankling, J. B., Shaw, A. J., & Vilgalys, R. (2003). Endophytic Xylaria (Xylariaceae) among liverworts and angiosperms: phylogenetics, distribution and symbiosis. *American Journal of Botany*, 90(11), 1661–1667.
- Del Olmo-Ruiz, M. (2012). *Diversity, distributions, and host affiliations of fungal endophytes associated with seedless vascular plants*. The University of Arizona: <http://arizona.openrepository.com/arizona/handle/10150/243097>, (Letzter Zugriff: 3. November 2016).
- Delley Samen und Pflanzen AG. (2016). *Delley Samen und Pflanzen AG - Saatgut-unsere Leidenschaft*. http://www.dsp-delley.ch/de/kulturen/soja_aktivitaten.php, (Letzter Zugriff: 10. Juni 2016).
- Deshmukh, S., Hückelhoven, R., Schäfer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F., & Kogel, K.-H. (2006). The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(49), 18450-18457.
- Diehl, W. W. (1950). *Balansia and the Balansiae in America* (Agriculture Monograph No. 4 Ausg.). Washington D.C.: United States Department of Agriculture.
- Diepenbrock, W., Fischbeck, G., Heyland, K., & Knauer, N. (1999). *Spezieller Pflanzenbau* (3. Ausg.). Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag.
- Dougher, T. A., & Bugbee, B. (2004). Long-term blue light effects on the histology of lettuce and soybean leaves and stems. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(4), 467-472.
- Downton, W. J. (1977). Photosynthesis in salt-stressed grapevines. *Australien Journal of Plant Physiology*, 4, 183-192.
- Duncan, R. W., Dilantha Fernando, W. G., & Rashid, K. Y. (2006). Time and burial depth influencing the viability and bacterial colonization of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 275–284.
- Elad, Y. (2000). Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection*, 19, 709-714.

- Ernst, M., Mendgen, K. W., & Wirsel, S. G. (2003). Endophytic fungal mutualists: seed-borne *Stagonospora* spp. enhance reed biomass production in axenic microcosms. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *16*(7), 580-587.
- Fakhro, A., Andrade-Linares, D. R., von Bargen, S., Bandte, M., Büttner, C., Grosch, R., Schwarz, D., & Franken, P. (2010). Impact of *Piriformospora indica* on tomato growth and on interaction with fungal and viral pathogens. *Mycorrhiza*, *20*, 191–200.
- FAO. (2015). FAOSTAT. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>, (Letzter Zugriff: 20. Juni 2016).
- Felle, H. H., Waller, F., Molitor, A., & Kogel, K.-H. (2009). The mycorrhiza fungus *Piriformospora indica* induces fast root-surface pH signaling and primes systemic alkalization of the leaf apoplast upon powdery mildew infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *22*(9), 1179–1185.
- Fisher, P. J., Graf, F., Petrini, L. E., Sutton, B. C., & Wookey, P. A. (1995). Fungal endophytes of *Dryas octopetala* from a high arctic polar semidesert and from the Swiss Alps. *Mycologia*, *87*(3), 319-323.
- Franken, P. (2012). The plant strengthening root endophyte *Piriformospora indica*: potential application and the biology behind. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *96*, 1455–1464.
- Gao, K., & Mendgen, K. (2006). Seed-transmitted beneficial endophytic *Stagonospora* sp. can penetrate the walls of the root epidermis, but does not proliferate in the cortex, of *Phragmites australis*. *Canadian Journal of Botany*, *84*, 981-988.
- Geisler, G. (1988). *Pflanzenbau. Ein Lehrbuch – Biologische Grundlagen und Technik der Pflanzenproduktion* (2. Ausg.). Berlin & Hamburg: Paul Parey.
- Ghahfarokhi, R. M., & Goltapeh, M. E. (2010). Potential of the root endophytic fungus *Piriformospora indica*; *Sebacina vermifera* and *Trichoderma* species in biocontrol of take-all disease of wheat *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in vitro. *Journal of Agricultural Technology*, *6*(1), 11-18.
- Giesler, L. J. (2011). *Bacterial diseases of soybean*. <http://extensionpublications.unl.edu/assets/pdf/g2058.pdf>, (Letzter Zugriff: 14. Juni 2016).
- Goicoechea, N., Merino, S., & Sánchez-Díaz, M. (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi can contribute to maintain antioxidant and carbon metabolism in nodules of *Anthyllis cytisoides* L. subjected to drought. *Journal of Plant Physiology*, *162*, 27–35.

- Gosal, S. K., Kalia, A., & Varma, A. (2013). Piriformospora indica: Perspectives and retrospectives. In A. Varma, G. Kost, & R. Oelmüller (Hrsg.), *Piriformospora indica - Sebaciales and their biotechnological applications* (Band 33). Berlin Heidelberg: Springer, 53-77.
- Gosal, S. K., Karlupia, A., Gosal, S. S., Chhibba, I. M., & Varma, A. (2010). Biotization with Piriformospora indica and Pseudomonas fluorescens improves survival rate, nutrient acquisition, field performance and saponin content of micropropagated Chloropytum sp. *Indian Journal of Biotechnology*, 9, 289-297.
- Gracia-Garza, J. A., Neumann, S., Vyn, T. J., & Boland, G. J. (2002). Influence of crop rotation and tillage on production of apothecia by Sclerotinia sclerotiorum. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24, 137-143.
- Grau, C. R., Radke, V. L., & Gillespie, F. L. (1982). Resistance of soybean cultivars to Sclerotinia sclerotiorum. *Plant Disease*, 66, 506-508.
- Grogan, R. G., & Abawi, G. S. (1975). Influence of water potential on growth and survival of Whetzelinia sclerotiorum. *Phytopathology*, 65, 122-128.
- Haselwandter, K. (1986). Mykorrhiza-Forschung unter besonderer Berücksichtigung alpiner Ökosysteme. *Berichte des naturwissenschaftlichen-medizinischen Verein Innsbruck*, 73, 223 - 22.
- Hausgarten.net. (2011). *Sojabohnen im Garten anbauen*. <http://www.hausgarten.net/blog/5819-sojabohnen-im-garten-anbauen/>, (Letzter Zugriff: 10. Juni 2016).
- Herre, E. A., Van Bael, S. A., Maynard, Z., Robbins, N., Bischoff, J., Arnold, A. E., Rojas, E., Mejia, L. C., Codero, R. A., Woodward, C. & Kylo, D. A. (2005). Tropical plants as chimera: some implications of foliar endophytic fungi for the study of host plant defense, physiology, and genetics. In D. Burslem, M. Pinard, & S. Hartley (Hrsg.), *Biotic interactions in the tropics*. Cambridge: Cambridge University Press, 226-240.
- Hicks, D. R., Pendleton, J. W., Bernard, R. L., & Johnston, T. J. (1968). Response of soybean plant types to planting patterns. *Agronomy Journal*, 61(2), 290-293.
- Higgins, K. L., Arnold, A. E., Miadlikowska, J., Sarvate, S. D., & Lutzoni, F. (2007). Phylogenetic relationships, host affinity, and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42, 543–555.
- Hill, T. W., & Käfer, E. (2001). Improved protocols for Aspergillus medium: trace elements and minimum medium salt stock solutions. *Fungal Genetics Newsletter*, 48, 20-21.

- Hobbs, H. A., Hartman, G. L., Wang, Y. H., Hill, C. B., Bernard, R. L., Pedersen, W. L., & Domier, L. L. (2003). Occurrence of seed coat mottling in soybean plants inoculated with Bean pod mottle virus and Soybean mosaic virus. *Plant Disease*, *87*(11), 1333-1336.
- Hoefl, R. G., Nafziger, E. D., Johnson, R. R., & Aldrich, S. R. (2000). *Modern corn and soybean production*. Yorkshire, Champaign: MCSP Publications.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2002). Limitation of salt stress to plant growth. In B. Hock, & C. F. Elstner (Hrsg.), *Plant toxicology*. New York: Dekker, 91–224.
- Johnson, J. M., Sherameti, I., Ludwig, A., Nongbri, P. L., Sun, C., Lou, B., Varma, A., & Oelmüller, R. (2011). Method paper: Protocols for *Arabidopsis thaliana* and *Piriformospora indica* co-cultivation – A model system to study plant beneficial traits. *Journal of Endocytobiosis and Cell Research*, *21*, 101-113.
- Jumpponen, A., & Trappe, J. M. (1998). Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytologist*, *140*, 295-310.
- Kaldorf, M., Koch, B., Rexer, K.-H., Kost, G., & Varma, A. (2005). Patterns of interaction between *Populus Esch5* and *Piriformospora indica*: A transition from mutualism to antagonism. *Plant Biology*, *7*, 210–218.
- KeShun, L. (1997). *Soybeans: chemistry, technology, and utilization*. Dordrecht: Springer Science + Business Media.
- Khatkar, D., & Kuhad, M. S. (2000). Short-term salinity induced changes in two wheat cultivars at different growth stages. *Biologia Plantarum*, *43*(4), 629-632.
- Kohler, J., Hernández, J. A., Caravaca, F., & Roldán, A. (2009). Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, *65*, 245–252.
- Kolbe, H., Karalus, W., Hänsel, M., Grünbeck, A., Gramm, M., Arp, B., & Krelling, B. (2002). *Körnerleguminosen im Ökologischen Anbau*. Dresden: Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft.
- Koske, R. E., & Gemma, J. N. (1989). A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*, *92*(4), 486-488.
- Kost, G., & Rexer, K.-H. (2013). Morphology and ultrastructure of *Piriformospora indica*. In A. Varma, G. Kost, & R. Oelmüller (Hrsg.), *Piriformospora indica - Sebaciales and their biotechnological applications* (Bd. 33). Berlin Heidelberg: Springer, 25-36.

- Krumphuber, C., Bäck, M., Köppl, H., Köppl, P., Wallner, T., Lembacher, F., Schally, H., & Wasner, J. (2013). *Soja – Eine Kulturpflanze mit Geschichte und Zukunft*. Linz: Landwirtschaftskammer Niederösterreich & Landwirtschaftskammer Oberösterreich.
- Kumar, D. S., & Hyde, K. D. (2004). Biodiversity and tissue-recurrence of endophytic fungi in *Tripterygium wilfordii*. *Fungal Diversity*, *17*, 69-90.
- Kumar, V., Sahai, V., & Bisaria, V. S. (2011). High-density spore production of *Piriformospora indica*, a plant growth-promoting endophyte, by optimization of nutritional and cultural parameters. *Bioresource Technology*, *102*, 3169–3175.
- Kumar, M., Yadav, V., Tuteja, N., & Johri, A. K. (2009). Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. *Microbiology*, *155*, 780–790.
- Laughlin, J. C., & Munro, D. (1983). The effect of *Sclerotinia* stem infection on morphine production and distribution in poppy (*Papaver somniferum* L.) plants. *Journal of Agricultural Science*, *100*(2), 299-303.
- Lee, Y.-C., Johnson, J. M., Chien, C.-T., Sun, C., Cai, D., Lou, B., Oelmüller, R., & Yeh, K.-W. (2011). Growth promotion of chinese cabbage and *Arabidopsis* by *Piriformospora indica* is not stimulated by mycelium-synthesized auxin. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *24*(4), 421–431.
- Lembacher, F., Schmiedl, J., & Wasner, J. (2009). *Sojabohne (Glycine max.)*. St. Pölten: NÖ Landes-Landwirtschaftskammer.
- Lodge, D. J., Fisher, P. J., & Sutton, B. C. (1996). Endophytic fungi of *Manilkara bidentata* leaves in Puerto Rico. *Mycologia*, *88*(5), 733-738.
- Madsen, A. M., & de Neergaard, E. (1999). Interactions between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and sclerotia of the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. *European Journal of Plant Pathology*, *105*, 761–768.
- Major, D. J., Johnson, D. R., Tanner, J. W., & Anderson, I. C. (1975). Effects of daylength and temperature on soybean development. *Crop Science*, *15*, 174-179.
- Martinez, V., & Lächli, A. (1991). Phosphorus translocation in salt-stressed cotton. *Physiologia Plantarum*, *83*(4), 627-632.
- McLaren, D. L., Huang, H. C., Kozub, G. C., & Rimmer, S. R. (1994). Biological control of *Sclerotinia* wilt of sunflower with *Talaromyces flavus* and *Coniothyrium minitans*. *Plant Disease*, *78*, 231-235.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, *7*(9), 405-410.
- Molitor, A., & Kogel, K.-H. (2009). Induced resistance triggered by *Piriformospora indica*. *Plant Signaling & Behavior*, *4*(3), 215-216;.

- Monk, K. A., & Samuels, G. J. (1990). Mycophagy in grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) in Indo-Malayan rain forests. *Biotropica*, 22(1), 16-21.
- Munger, P., Bleiholder, H., Hack, H., Hess, M., Stauss, R., van den Boom, T., & Weber, E. (1997). Phenological growth stages of the Soybean plant (*Glycine max* L. MERR.): Codification and description according to the BBCH Scale. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 209-217.
- Murali, T. S., Suryanarayanan, T. S., & Venkatesa, G. (2007). Fungal endophyte communities in two tropical forests of southern India: diversity and host affiliation. *Mycological Progress*, 6, 191-199.
- Narisawa, K., Kawamata, H., Currah, R. S., & Hashiba, T. (2002). Suppression of Verticillium wilt in eggplant by some fungal root endophytes. *European Journal of Plant Pathology*, 108, 103-109.
- Newman, E. I. (1966). A method of estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology*, 8, 265.
- Newman, E. I., & Reddell, P. (1987). The distribution of Mycorrhizas among families of vascular plants. *The New Phytologist*, 106, 745-751.
- Oberwinkler, F., Riess, K., Bauer, R., & Garnica, S. (2014). Morphology and molecules: the Sebaciales, a case study. *Mycological Progress*, 13, 445-470.
- O'Dell, T. E., Massicotte, H. B., & Trappe, J. M. (1993). Root colonization of *Lupinus latifolius* Agardh. and *Pinus contorta* Dougl. by *Phialocephala fortinii* Wang & Wilcox. *New Phytologist*, 124, 93-100.
- O'Donnell, P. J., Calvert, C., Atzorn, R., Wasternack, C., Leyser, H. M., & Bowles, D. J. (1996). Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *ProQuest Natural Science Collection*, 274, 1914-1917.
- OMAFRA Staff. (2009). *Diseases of Field Crops: Soybean Diseases*. <http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/pub811/14soybean.htm>, (Letzter Zugriff: 14. Juni 2016).
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
- Peltier, A. J., Bradley, C. A., Chilvers, M. I., Malvick, D. K., Mueller, D. S., & Wise, K. A. (2012). Biology, yield loss and control of Sclerotinia stem rot of soybean. *Journal of Pest Management*, 3(2), 1-7.

- Peskan-Berghöfer, T., Bationa Shahollari, B., Giong, P. H., Hehl, S., Markert, C., Blanke, V., Kost, G., Varma, A., & Oelmüller, R. (2004). Association of Piriformospora indica with Arabidopsis thaliana roots represents a novel system to study beneficial plant–microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmic reticulum and at the plasma membrane. *Physiologia Plantarum*, *122*, 465–477.
- Philips Lighting Holding B.V. (2010). *Growing your profits-Horticultural lighting*. http://www.lighting.philips.com/b-dam/b2b-li/en_AA/products/Horticulture/Horticulture-products/overview_growing_your_profits-hid-en.pdf, (Letzter Zugriff: 29. März 2016).
- Philipson, M. N., & Christey, M. C. (1986). The relationship of host and endophyte during flowering, seed formation, and germination of Lolium perenne. *New Zealand Journal of Botany*, *24*, 125-134.
- Pistrich, K., Wendtner, S., & Janetschek, H. (2014). *Versorgung Österreichs mit pflanzlichem Eiweiß –Fokus Sojakomplex*. Wien: Bundesanstalt für Agrarwirtschaft.
- Prajapati, K., Yami, K. D., & Singh, A. (2008). Plant growth promotional effect of Azotobacter chroococcum, Piriformospora indica and vermicompost on rice Plant. *Nepal Journal of Science and Technology*, *9*, 85-90.
- Proplanta GmbH & Co. KG. (2016). *proplanta - Das Informationszentrum für die Landwirtschaft*. http://www.proplanta.de/Sojabohne/Virosen-Krankheiten-Sojabohne_Pflanze1147510524.html, (Letzter Zugriff: 14. Juni 2016).
- Purdy, L. H. (1979). Sclerotinia sclerotiorum: History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. *Phytopathology*, *69*(8), 875-880.
- Rahman, M. A., Begum, M. F., & Alam, M. F. (2009). Screening of Trichoderma isolates as a biological control against Ceratocystis paradoxa causing Pineapple Disease of sugarcane. *Mycobiology*, *37*(4), 277-285.
- Rai, M. K., Varma, A., & Pandey, A. K. (2004). Antifungal potential of Spilanthes calva after inoculation of Piriformospora indica. *Mycoses*, *47*, 479–481.
- Rai, M., Acharya, D., Singh, A., & Varma, A. (2001). Positive growth responses of the medicinal plants Spilanthes calva and Withania somnifera to inoculation by Piriformospora indica in a field trial. *Mycorrhiza*, *11*, 123–128.
- Ravanel, S., Gakière, B., Job, D., & Douce, R. (1998). The specific features of methionine biosynthesis and metabolism in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*, 7805–7812.

- Robacker, D. C., Flottum, P. K., Sammataro, D., & Erickson, E. H. (1983). Effects of climatic and edaphic factors on soybean flowers and on the subsequent attractiveness of the plants to honey bees. *Field Crops Research*, 6, 267-278.
- Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Tansley review - Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 1-16.
- Saharan, G. S., & Mehta, N. (2008). *Sclerotinia diseases of crop plants: Biology, ecology and disease management*. Berlin: Springer.
- Sallam, A., & Scott, H. D. (1987). Effects of prolonged flooding on soybeans during early vegetative growth. *Soil Science*, 144, 61-66.
- Salunkhe, D. K., Jadhav, S. J., Kadam, S. S., Chavan, J. K., & Luh, B. S. (1983). Chemical, biochemical, and biological significance of polyphenols in cereals and legumes. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 17, 227-305.
- Sampson, K. (1933). The systemic infection of grasses by *Epichloe typhina* (Pers.) Tul. *Transactions of the British Mycological Society*, 18, 30-47.
- Samuels, G. J., Pardo-Schultheiss, R., Hebbar, K. P., Lumsden, R. D., Bastos, C. N., Costa, J. C., & Bezerra, J. L. (2000). *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches broom pathogen. *Mycological Research*, 104(6), 760 - 764.
- Schäfer, B. C. (2011) Körnerleguminosen. In N. Lütke Entrup, & B. C. Schäfer, *Lehrbuch des Pflanzenbaues* (3. Ausg., Bd. 2: Kulturpflanzen). Bonn: AgroConcept, 626-654.
- Schäfer, P., Pfiffi, S., Voll, L. M., Zajic, D., Chandler, P. M., Waller, F., Scholz, U., Pons-Kühnemann, J., Sonnewald, S., Sonnewald, U., & Kogel, K.-H. (2009). Manipulation of plant innate immunity and gibberellin as factor of compatibility in the mutualistic association of barley roots with *Piriformospora indica*. *The Plant Journal*, 59, 461-474.
- Schenck, N. C., & Kinloch, R. A. (1980). Incidence of mycorrhizal fungi on six field crops in monoculture on a newly cleared woodland site. *Mycologia*, 72(2), 445-455.
- Schori, A., Charles, R., & Peter, D. (2003). Sojabohne: Züchtung, Agronomie und Produktion. *Agrarforschung*, 10(4), I-VIII.
- Schulz, B., Römmert, A.-K., Dammann, U., Aust, H.-J., & Strack, D. (1999). The endophyte-host interaction: a balanced antagonism? *Mycological Research*, 103(10), 1275-1283.
- Schwartz, H. F., Harveson, R. M., & Steadman, J. R. (2011). White mold of dry beans. *Colorado State University Extensions*, 2.918, 1-3.
- Serfling, A., Wirsal, S. G., Lind, V., & Deising, H. B. (2007). Performance of the biocontrol fungus *Piriformospora indica* on wheat under greenhouse and field conditions. *Phytopathology*, 97, 523-531.

- Shahid, M. Q., Saleem, M. F., Khan, H. Z., & Anjum, S. A. (2009). Performance of soybean (*Glycine mal L.*) under different phosphorus levels and inoculation. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 46(4), 237-241.
- Shahollari, B., Varma, A., & Oelmüller, R. (2005). Expression of a receptor kinase in *Arabidopsis* roots is stimulated by the basidiomycete *Piriformospora indica* and the protein accumulates in Triton X-100 insoluble plasma membrane microdomains. *Journal of Plant Physiology*, 162, 945-958.
- Shaner, G., & Finney, R. E. (1977). The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*, 67, 1051-1056.
- Sharma, K. D., Datta, K. S., & Verma, S. K. (1990). Effect of chloride and sulphate type of salinity on some metabolic drifts in chickpea (*Cicer arietinum L.*). *Indian Journal of Experimental Biology*, 28(9), 890–892.
- Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma, A., & Oelmüller, R. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme Glucan-water Dikinase in Tobacco and *Arabidopsis* Roots through glucan-water dikinase in tobacco and *Arabidopsis* roots through a homeodomain transcription factor that binds to a conserved motif in their promoters. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(28), 26241–26247.
- Singh, A., Sharma, J., Rexer, K.-H., & Varma, A. (2000). Plant productivity determinants beyond minerals, water and light: *Piriformospora indica* – A revolutionary plant growth promoting fungus. *Current Science*, 79(11), 1548-1554.
- Singh, G., Singh, N., & Marwaha, T. S. (2009). Crop genotype and a novel symbiotic fungus influences the root endophytic colonization potential of plant growth promoting rhizobacteria. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 15(1), 87-92.
- Sirrenberg, A., Cornelia Göbel, C., Grond, S., Czempinski, N., Ratzinger, A., Karlovsky, P., Santos, P., Feussner, I., & Pawlowski, K. (2007). *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Physiologia Plantarum*, 131, 581–589.
- Smith, F. A., & Smith, S. E. (1997). Tansley Review No. 96: Structural diversity in (vesicular)—arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 137, 373-388.
- Soil Health. (2016). *Mycorrhizal fungi*. <http://www.soilhealth.com/soil-health/biology/beneficial/fungi/index.htm#4>, (Letzter Zugriff: 3. Oktober 2016).
- Soldati, A. (1999). Sojabohne. In E. R. Keller, H. Hanus, & K.-U. Heyland, *Handbuch des Pflanzenbaus* (Bd. 3: Knollen- und Wurzelfrüchte, Körner- und Futterleguminosen). Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag, 659-688.

- Soldati, A. (1976). Abklärung von Komponenten des Ertragsaufbaues bei der Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.) unter verschiedenen klimatischen Bedingungen in der Schweiz. Zürich: Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich.
- Stewart, G. R., & Lee, J. A. (1974). The role of proline accumulation in halophytes. *Planta*, *120*, 279-289.
- Stoyke, G., & Currah, R. S. (1993). Resynthesis in pure Culture of a common subalpin fungus-root association using *Phialocephala fortinii* and *Menziesia ferruginea* (Ericaceae). *Arctic and Alpine Research*, *25*(3), 189-193.
- Sun, C., Johnson, J. M., Cai, D., Sherameti, I., Oelmüller, R., & Lou, B. (2010). Piriformospora indica confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. *Journal of Plant Physiology*, *167*, 1009–1017.
- Tejesvi, M. V., Mahesh, B., Nalini, M. S., Prakash, H. S., Kini, K. R., Subbiah, V., et al. (2005). Endophytic fungal assemblages from inner bark and twig of *Terminalia arjuna* W. & A. (Combretaceae). *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, *21*, 1535-1540.
- Trouvelot, A., Kough, J. L., & Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In V. Gianinazzi-Pearson, & S. Gianinazzi (Hrsg.), *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. Paris: INRA Press, 217-221.
- Tudzynski, B., & Sharon, A. (2002). Biosynthesis, biological role and application of fungal phyto-hormones. In H. D. Osiewacz (Hrsg.), *The mycota X. Industrial applications*. Berlin, Deutschland: Springer-Verlag, 183–212.
- Vadassery, J., Ritter, C., Venus, Y., Camehl, I., Varma, A., Shahollari, B., Novák, O., Strnad, M., Ludwig-Müller, J., & Oelmüller, R. (2008). The role of auxins and cytokinins in the mutualistic interaction between *Arabidopsis* and *Piriformospora indica*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *21*(10), 1371–1383.
- Varma, A., Chordia, P., Bakshi, M., & Oelmüller, R. (2013). Introduction to Sebacinales. In A. Varma, G. Kost, & R. Oelmüller, *Piriformospora indica - Sebacinales and their biotechnological applications* (Bd. 33). Berlin Heidelberg: Springer, 3-24.
- Varma, A., Verma, S., Sudha, Sahay, N., Bütchorn, B., & Franken, P. (1999). *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(6), 2741–2744.

- Vergara, M., Hüsing, B., Zurheide, T., Schön, H. G., & Trautz, D. (2013). Charakterisierung von Sojabohnensorten hinsichtlich Pflanzenhöhe und Hülsenansatz und deren Einfluss auf den Mähdruschertrag. In D. Neuhoff, C. Stumm, S. Ziegler, G. Rahmann, U. Hamm, & U. Köpke (Hrsg.), *Ideal und Wirklichkeit - Perspektiven Ökologischer Landwirtschaft. Beiträge zur 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Bonn, 5. - 8. März 2013*. Berlin: Verlag Dr. Köster, 126-129.
- Verma, S., Varma, A., Rexer, K.-H., Hassel, A., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Bütehorn, B., & Franken, P. (1998). Piriformospora indica, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia*, *90*(5), 896-903.
- Vest, G., Wever, D. F., & Sloger, C. (1973). Nodulation and nitrogen fixation. In B. E. Caldwell, *Soybeans: improvement, production, and uses*. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, 353-390.
- Vogt-Kaute, W. (2011). *Thema des Monats 08/2011: Mykorrhiza – faszinierende Lebensgemeinschaft im Boden*. www.bodenfruchtbarkeit.org: <http://www.bodenfruchtbarkeit.org/504.html>, (Letzter Zugriff: 20. Mai 2016).
- von Beesten, F. (2014a). *Einteilung der Sojasorten in Reifegruppen*. <https://www.sojafoerderring.de/anbauratgeber/sojaklima-in-deutschland/reifegruppen/>, (Letzter Zugriff: 13. Juni 2016).
- von Beesten, F. (2014b). *Sklerotinia*. <https://www.sojafoerderring.de/anbauratgeber/krankheiten-und-schaedlinge/sklerotinia/>, (Letzter Zugriff: 16. Juni 2016).
- Vu, T., Hauschild, R., & Sikora, R. A. (2006). Fusarium oxysporum endophytes induced systemic resistance against Radopholus similis on banana. *Nematology*, *8*(6), 847-852.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heler, T., Hückelhoven, R., Neumann, C., von Wettstein, D., Franken, P., & Kogel, K.-H. (2005). The endophytic fungus Piriformospora indica reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(38), 13386–13391.
- Waller, F., Mukherjee, K., Deshmukh, S. D., Achatz, B., Sharma, M., Schäfer, P., & Kogel, K.-H. (2008). Systemic and local modulation of plant responses by Piriformospora indica and related Sebaciniales species. *Journal of Plant Physiology*, *165*, 60-70.
- Weber, R. W., Stenger, E., & Meffert, A. (2004). Brefeldin A production by Phoma medicaginis in dead pre-colonized plant tissue : a strategy for habitat conquest? *Mycological Research*, *108*(4), 662-671.

- Weiß, M., Waller, F., Zuccaro, A., & Selosse, M.-A. (2016). Sebacinales – one thousand and one interactions with land plants. *New Phytologist*, 21(1), 20-40.
- Wheeler, R. M., Mackowiak, C. L., & Sager, J. C. (1991). Soybean stem growth under high-pressure sodium with supplemental blue lighting. *Agronomy Journal*, 83, 903-906.
- White, J. F. (1988). Endophyte-host associations in forage grasses. XI. A proposal concerning origin and evolution. *Mycologia*, 80(4), 442-446.
- Wilson, D. (1988). Endophyte – the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *OIKOS*, 73(2), 274-276.
- Yadav, V., Kumar, M., Deep, D. K., Kumar, H., Sharma, R., Tripathi, T., Tuteja, N., Saxena, A. K., & Johri, A. K. (2010). A phosphate transporter from the root endophytic fungus *Piriformospora indica* plays a role in phosphate transport to the host plant. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(34), 26532–26544.
- Yu, Y.-B., & Yang, S. F. (1979). Auxin-induced ethylene production and its inhibition by aminoethoxyvinylglycine and cobalt ion. *Plant Physiology*, 64, 1074-1077.
- Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Goltapeh, E. M., Rejali, F., & Varma, A. (2012). Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology & Biochemistry*, 45, 139-146.

13 ANHANG

13.1 KÄFER MEDIUM (HILL & KÄFER, 2001) VERÄNDERT NACH JOHNSON, ET AL. (2011)

Tabelle 9: Anleitung modifiziertes Käfer Medium verändert nach Johnson, et al. (2011).

Komponenten für 1 Liter	Mengen
D-Glucose	20,0 g
Pepton/Trypton	2,0 g
Hefeextrakt	1,0 g
Casein Hydrolysat	1,0 g
Makronährstoffmix	50,0 ml
Mikronährstoffmix	10,0 ml
Fe-EDTA	1,0 ml
Agar	10,0 g
<ul style="list-style-type: none"> pH auf 6,5 mit 10N KOH adjustieren autoklavieren bei 121 °C für 20 min 1 ml/l filtersterilisierten Vitaminmix hinzufügen bevor das Medium (Temperatur 45 - 50 °C) in Petrischalen gegossen wird 	
Makronährstoffmix in 1 Liter Stocklösung 12 g NaNO ₃ ; 10,4 g KCl; 10,4 g MgSO ₄ ·7H ₂ O; 30,4 g KH ₂ PO ₄ . Alle Komponenten in sterilen H ₂ O lösen und dann bei 4 °C lagern.	
Mikronährstoffmix in 1 Liter Stocklösung 2,2 g ZnSO ₄ ·7H ₂ O; 1,1 g H ₃ BO ₃ ; 0,5 g MnSO ₄ ·4H ₂ O; 0,16 g CoCl ₂ ·5H ₂ O; 0,16 g CuSO ₄ ·5H ₂ O; 0,11 g (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O (Ammoniummolybdat-Tetrahydrat). Alle Komponenten in sterilen H ₂ O lösen und dann bei 4 °C lagern.	
Fe-EDTA <ul style="list-style-type: none"> 2,5 g FeSO₄·7H₂O zu 400 ml sterilem Wasser geben 3,36 g Na₂EDTA·2H₂O hinzufügen in der Mikrowelle zum Kochen bringen beim Abkühlen ungefähr 30 min rühren auf ein finales Volumen von 450 ml bringen 	
Vitaminmix in 100 ml Stocklösung 0,11 g Thiamin; 0,04 g Glycin; 0,01 g Nikotinsäure; 0,01 g Pyridoxin. Alle Komponenten in sterilem Wasser lösen, dann filtersterilisieren und als Aliquoten von 1 ml bei -20 °C lagern.	

13.2 NÄHRLÖSUNGEN

Tabelle 10: Zusammensetzung der Düngung sowie die Mischanleitung und die Gehalte der einzelnen Komponenten in 100 l sowie in Gramm pro Liter. Gelb hinterlegt ist die Komponente, die zusätzlich für die +P-Nährlösung verwendet wird.

Komponenten	g/l Stamm- lösung	ml Stammlösung pro 100 ml Nährlösung	g pro Liter
Calciumnitrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	410,150	200	0,82030
Kaliumsulfat (K_2SO_4)	52,350	500	0,26175
Kalium-di-hydrogenphosphat (KH_2PO_4)	122,200	10	0,01222
Magnesiumsulfat (MgSO_4)	246,480	150	0,36972
Ammoniumnitrat (NH_4NO_3)	40,020	20	0,00800
Natriumdihydrogenphosphat (NaH_2PO_4) * 2H ₂ O	129,500	100	0,12950
Fetrilon ($\text{Fe}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$)	100,000	50	0,05000
Natriumtetraborat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 10 \text{H}_2\text{O}$)	3,630	50	0,00182
Zinksulfat ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$)	1,200	50	0,00060
Kupfersulfat ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$)	0,900		0,00045
Manganchlorid ($\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$)	1,500	50	0,00075
Molybdänoxid (MoO_3)	0,140	50	0,00007

Tabelle 11: Gesamt-Reinnährstoffgehalt der Düngelösungen in Gramm pro Liter und mMol pro Liter.

Makronährstoffe	Reinnährstoff g/l	mM/l
Stickstoff (N)	$1,00 \times 10^{-1}$	3,57
Phosphor (P) -P	$2,78 \times 10^{-3}$	$9,0 \times 10^{-2}$
Phosphor (P) +P	$2,85 \times 10^{-2}$	$9,2 \times 10^{-1}$
Kalium (K)	$1,21 \times 10^{-1}$	1,59
Schwefel (S)	$1,47 \times 10^{-1}$	$1,47 \times 10^{-1}$
Calcium (Ca)	$1,39 \times 10^{-1}$	3,47
Magnesium (Mg)	$7,46 \times 10^{-2}$	3,07
Mikronährstoffe		
Eisen (Fe)	$3,31 \times 10^{-2}$	$9,9 \times 10^{-1}$
Zink (Zn)	$1,37 \times 10^{-4}$	2,08
Kupfer (Cu)	$1,15 \times 10^{-4}$	1,80
Mangan (Mn)	$2,08 \times 10^{-4}$	3,78
Molybdän (Mo)	$4,67 \times 10^{-5}$	$4,9 \times 10^{-1}$
Chlor (Cl)	$2,69 \times 10^{-4}$	3,78
Bor (Bo)	$2,87 \times 10^{-4}$	6,64