

Mykorrhizierung bei Tomate und Porree in Co-Kultur: Einfluss auf Pflanzenentwicklung und Pathogenbefall

Masterarbeit
in
„Phytomedizin“
zur Erreichung des Titels „Diplomingenieur“
der Universität für Bodenkultur Wien.

Vorgelegt von
Mathias Reichl Bakk.techn.

Betreuung von
Dipl.-Ing. Dr. Karin Hage-Ahmed,
Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.nat.techn. Siegrid Steinkellner

Wien, 2015

DANKSAGUNG

Ich bedanke mich bei Frau Dipl.-Ing. Dr. Karin Hage-Ahmed für die gute fachliche Betreuung und ihre Anregungen während der Erstellung dieser Masterarbeit. Zusätzlich bedanke ich mich bei den MitarbeiterInnen der Abteilung Pflanzenschutz für die Bereitstellung von Raum und Material und ihre tatkräftige Unterstützung.

1. Einleitung	5
1.2. Arbeitshypothesen.....	6
2. Literaturüberblick	7
2.1. Die Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	7
2.1.1. Herkunft.....	7
2.1.2. Vegetative und generative Merkmale der Tomate	8
2.1.3. Ernährungsphysiologische Eigenschaften der Tomate.....	8
2.2. Porree (<i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>porrum</i>).....	9
2.3. Pflanzenkrankheiten an Tomate.....	9
2.3.1. <i>Fusarium</i>	10
2.3.2. <i>Fusarium oxysporum</i>	10
2.3.2. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (<i>Fol</i>).....	12
2.3.2.1. Gewinnung von <i>Fol</i> -Isolaten aus Boden und Wirtspflanze	12
2.3.2.2. Mikroskopische Identifikation von <i>Fol</i>	13
2.3.2.3. Ökologie und Entwicklungszyklus.....	14
2.3.2.4. Symptome bei <i>Fol</i> -Befall	15
2.3.2.5. Kontrolle.....	17
2.4. Arbuskuläre Mykorrhiza Pilze (AMP).....	18
2.4.1. Biologie und Entwicklung von AMP.....	19
2.5. Dualkulturen, Rhizoboxen und Wurzelexudate.....	21
3. Material und Methoden	23
3.1. Versuchspflanzen.....	23
3.1.1. Tomate- <i>Solanum lycopersicum</i>	23
3.1.2. Porree- <i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>porrum</i>	24
3.2. Pathogen	25
3.2.1. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (<i>Fol</i>).....	25
3.2.1.1. Herstellung von Czapek Dox Agar (CzD) und Czapek Dox Broth.....	26
3.3. Arbuskulärer Mykorrhizapilz- <i>Funneliformis mosseae</i>	26
3.4. Rhizoboxen.....	27
3.5. Anbau.....	28
3.6. Herstellung von –P Dünger	30
3.7. Ernte.....	31
3.8. WinRhizo- Wurzelparameter	34
3.9. Mykorrhizierung.....	34
3.10. Mikrokonidienkeimung von <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	36
3.11 Statistische Auswertung	39
4. Ergebnisse	42
4.1. Wachstumsvergleich.....	42
4.1.1 Sprossgewicht (trocken).....	42
4.1.2 Wurzelgewicht (trocken).....	43
4.1.3 Sprosslänge.....	44
4.2. WinRhizo: Optische Vergleich der Wurzelsysteme.....	45
4.2.1 Wurzellänge.....	45
4.2.2 Wurzeldurchmesser	46
4.2.3 Wurzeloberfläche.....	47
4.2.4 WinRhizo-Klasseneinteilung	48

4.3. Mykorrhizierungsgrad.....	49
4.4. <i>Fo</i> / Befallshäufigkeit und Befallsstärke.....	51
4.5. Mikrokonidienkeimung.....	53
5. Diskussion.....	54
6. Zusammenfassung.....	60
Begriffserklärungen	61
Abbildungsverzeichnis	62
Literaturverzeichnis	64

1. Einleitung

Die Tomate zählt zu den beliebtesten Gemüsepflanzen und ist daher von großer, wirtschaftlicher Bedeutung. Ursprünglich aus Süd- und Mittelamerika stammend, ist sie heute weltweit verbreitet (Blancard, 2012).

Eines der wichtigsten Pathogene der Tomate ist *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) welches vor allem in warmen Klimaregionen vorkommt und die Tomatenwelke hervorruft. Der bodenbürtige Pilz verstopft die Leitgefäße der Tomatenpflanzen, löst dadurch Vergilbungs-, und Welkeerscheinungen aus und kann bei starkem Befall zum Absterben der Tomatenpflanzen führen (Agrios, 1997). Die direkte Bekämpfung des Pathogens erweist sich als schwer, da in Österreich keine Pflanzenschutzmittel gegen diesen Organismus zugelassen sind. Durch den Mangel an Fungiziden und den zunehmenden Forderungen der Konsumenten biologisch zu produzieren müssen alternative Bekämpfungsstrategien entwickelt werden. Dies erfolgt durch Fruchtfolge, Resistenzzüchtung oder Einsatz von Mikroorganismen (Jarvis, 1988; Runia, 1995; Beckman, 1987; Brammall, et al., 1988a; Beckman, 2000; Tjamos, 1989). Eine wichtige Rolle hierbei nehmen die symbiontischen Organismen ein.

Die Erforschung von Symbiosen komplexer Organismen zeigt immer deutlicher, dass symbiontische Verbindungen eher die Regel als die Ausnahme sind. Symbiontische Partnerschaften, bei denen beide Organismen voneinander profitieren, spielen eine große Rolle im Leben von Pflanzen und deren Ökosystemen. So kommen diese Verbindungen zwischen Pilzen und Algen in Flechten, Pflanzen und Pilzen in den meisten Mykorrhizen und Bakterien und Pflanzen zur Stickstofffixierung vor (Smith und Read, 2010).

Die arbuskulären Mykorrhizapilze (AMP) bilden mit rund 80% der vaskulären Pflanzen eine mutualistische Symbiose aus. Darunter befinden sich viele Kulturpflanzen, die sowohl von der erhöhten Phosphorversorgung durch die AMP als auch durch eine höhere Toleranz gegen abiotische und biotische Schadfaktoren profitieren können (Smith und Read, 2010). Weiters ist bekannt, dass die AMP Kolonisierung in natürlichen Ökosystemen sowohl durch die vorkommenden Pflanzenarten als auch die Pflanzenartzusammensetzung beeinflusst wird.

Ein besonderes Augenmerk wurde in dieser Arbeit auf die Biokontrolleffekte der AMP gegen bodenbürtige Schaderreger in einem Mischkultursystem gelegt. Dabei wurde eine Tomate-Tomate und eine Tomate-Lauch Kombination auf ihre Anfälligkeit gegen das bodenbürtige Tomatenwelkepathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) unter AMP-Einsatz

(*Funneliformis mosseae*) untersucht. Dieser Versuch wurde in einem Rhizoboxensystem durchgeführt, in welchem die Wurzeln der Mischkulturpartner durch ein Netz (\varnothing 40 μ m) getrennt waren, aber die AMP frei passieren konnten. Nach 6 Wochen wurden die Biomasse, Befallshäufigkeit, Befallsstärke und Mykorrhizierungsgrad bestimmt und Wurzelexsudate gewonnen. In darauffolgenden *in-vitro* Versuchen wurde der Einfluss der Wurzelexsudation auf die *Fol* Entwicklung untersucht. Durch den Versuchsaufbau können Effekte auf die Tomate in Abhängigkeit vom Mischkulturpartner untersucht werden. Darüber hinaus bietet dieser Versuchsaufbau die Möglichkeit die Effizienz von AMP Inokulum gegen Pathogene zu testen.

1.2. Arbeitshypothesen

Hypothese 1: Der Mischpartner Porree wirkt sich positiv auf die Entwicklung der Tomatenpflanzen aus.

Hypothese 2: Die Widerstandskraft der Tomate gegen das bodenbürtige Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* wird durch Porree erhöht.

Hypothese 3: Die Höhe der Mykorrhizierung durch *Funneliformis mosseae* ist abhängig vom Kulturpartner.

Hypothese 4: Die Sporenkeimung von *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ist in Wurzelexsudaten nicht mykorrhizierter Pflanzen höher als bei mykorrhizierten.

2. Literaturüberblick

2.1. Die Tomate (*Solanum lycopersicum*)

2.1.1. Herkunft

Ursprünglich aus Südamerika stammend wurde die Tomate von den Azteken in Mexiko domestiziert. Sie wurde erst nach Entdeckung der neuen Welt in Europa bekannt. Die sechs Wildformen der Tomate *S. chilense*, *S. habrochaites*, *S. pennellii*, *S. peruvianum*, *S. arcanum* und *S. pimpinellifolium* haben ihren Ursprung entlang der Pazifikküste Südamerikas. Andere Arten kommen in den höheren Lagen der Anden vor. Die Habitate unterscheiden sich sehr stark voneinander und reichen von Meeressniveau bis auf 3600 m Seehöhe (Dillon, 2005; Peralta et al., 2008). In Abb.1 wird Herkunft und Ausbreitung der Tomate grafisch dargestellt.

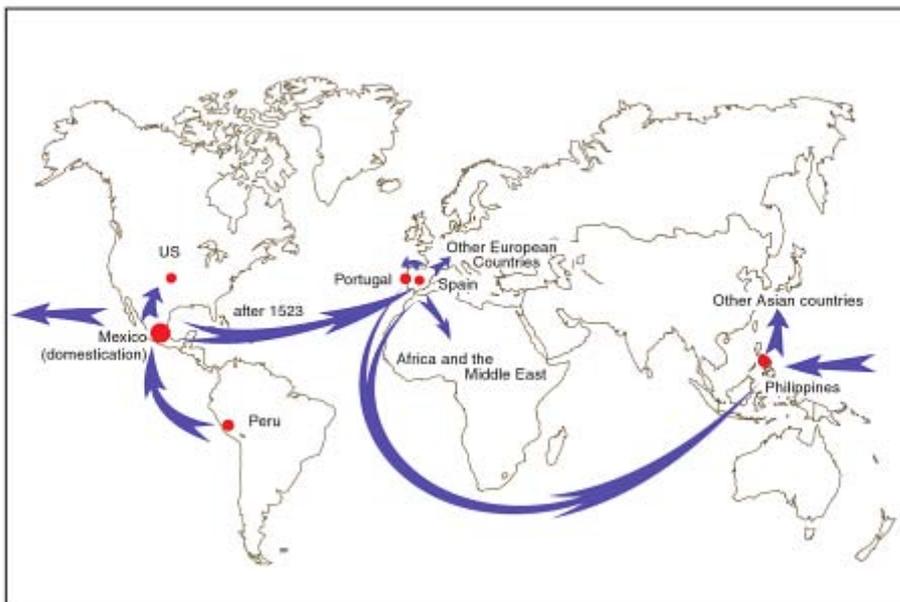


Abbildung 1: Verbreitungswege der Tomate (Blancard 2012).

Die Erstbeschreibung erfolgte durch den italienischen Botaniker Pietro Matthioli Andreas im Jahr 1544. Bis zum 19. Jahrhundert wurde sie jedoch nur vereinzelt kultiviert. Der Glaube an die Toxizität der Früchte, wie sie bei anderen *Solanaceae* Arten bekannt war, führte dazu, dass die Tomate großteils als Zierpflanze genutzt wurde. Erst nach und nach begannen die Menschen die Früchte zu essen. Der kommerzielle Anbau von Tomaten fand erst im zwanzigsten Jahrhundert statt (Blancard, 2012). Laut FAOSTAT Datenbank (2012) werden

jährlich etwa 162 mio t Frischtomaten auf einer Fläche von 4,8 mio ha produziert. Zu den größten Produzentenzahlen China, USA, Türkei, Indien und Ägypten. Der durchschnittliche Pro-Kopf-Verbrauch in Österreich liegt momentan bei 28 kg (Summe aus Frischtomaten und verarbeiteten). Heute zählt die Tomate zu den beliebtesten Gemüsesorten weltweit. (FAOSTAT, 2012; AMA, 2013)

2.1.2. Vegetative und generative Merkmale der Tomate

Tomaten sind krautige Pflanzen aus der Familie der *Solanaceae* (Nachtschattengewächse) die meist einjährig kultiviert werden. Sie wachsen anfangs aufrecht und legen sich mit der Zeit nieder, um sich kriechend weiterzuentwickeln. Der Stängel ist immergrün, behaart und hat etwa 10-14 mm Durchmesser. Davon ausgehend entwickeln sich zahlreiche Nebentriebe, die mehrere Meter im Jahr wachsen können. Von den Trieben ausgehend bilden sich sympodiale Einheiten mit meist drei Laubblättern. Diese sind auf beiden Seiten behaart und unterbrochen unpaarig gegliedert (Blancard, 2012).

Der Blütenstand ist bis zu 10 cm lang und wird als Wickel bezeichnet. Hierbei handelt es sich um eine Blütenstandsform bei der unter der endständigen Blüte eine Nebenachse abgeht die wiederum eine endständige Blüte trägt. Die Verzweigung erfolgt abwechselnd links und rechts wodurch die für Tomaten typische Blütenstandsform entsteht (Blancard, 2012).

Bei den Früchten handelt es sich botanisch betrachtet um Beeren, die je nach Sorte unterschiedlich groß ausgebildet werden (1,5-10 cm). Die Früchte sind meistens rund, in zwei oder mehr Kammern unterteilt und enthalten eine Vielzahl von Samen. Die Farbe der Frucht kann von gelb über rot bis hin zu schwarz reichen (Blancard, 2012).

2.1.3. Ernährungsphysiologische Eigenschaften der Tomate

Die Tomate besteht zu fast 95 % aus Wasser und etwa 4 % Kohlenhydraten. Was sie als Nahrungsmittel für die menschliche Ernährung so wertvoll macht, ist die Tatsache, dass sie einen hohen Gehalt an Antioxidantien, Vitaminen und Mineralien aufweist. Sie ist in der Lage schädliches LDL Cholesterin und Triglyceride im Blut zu minimieren (Silaste et al., 2007; Kim et al., 2010). Die Tomate hat einen positiven Effekt auf das Herzkreislaufsystem und die Funktion der Venen bzw. Arterien (Sesso et al., 2003). In der Literatur werden Inhaltsstoffe der Tomate als Blutdruck senkend, wirksam gegen Typ 2 Diabetes und Krebs beschrieben (Lazarus et al., 2004; Talvas et al., 2010).

Neben den vielen positiven Eigenschaften gibt es natürlich auch negative. Viele Menschen entwickeln eine Nahrungsmittelintoleranz gegen Tomaten. Dies liegt an hohen Histamin- und Histidingehalten. Bei Beifuß, Birke und Gräserpollen- Allergikern kann es zu Kreuzallergien kommen, wodurch eine Nahrungsmittelallergie auf Tomate entstehen kann (Henzgen et al., 2005). Der Verzehr von grünen Pflanzenteilen oder unreifen Früchten kann zu Übelkeit und Erbrechen führen. Der Auslöser dieser Reaktion ist das mäßig giftige Tomatidin.

2.2. Porree (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*)

Botanisch betrachtet gehört der Porree zur Familie der Liliengewächse (Liliaceae) und ist eng mit der Zwiebel und dem Knoblauch verwandt. Die ursprüngliche Form des Porree, der Ackerknoblauch (*Allium ampeloprasum*) stammt aus der Mittelmeerregion und wächst dort wild auf Äckern und anderen Freiflächen. Auf Grund seiner Herkunft hat der Lach relativ hohe Wärmeansprüche. Die Samen unterliegen keiner Dormanz und keimen eher langsam bei einem Temperaturoptimum von 18-22 °C. Für das optimale Wachstum sind Temperaturen über 18 °C erforderlich. Porree wächst in allen Bodentypen mit lockerer Textur (Van der Meer und Hanelt, 1989). Versuche Porree als Mischpartner in Tomatenkulturen einzusetzen führten zu einer signifikanten Steigerung der Mykorrhizierung und Wachstum von Tomatenpflanzen (Hage-Ahmed et al., 2013).

Als Mischpartner in diesem Versuch diente Porree. Dieser zeigte sich bereits in früheren Versuchen als optimaler Mischpartner für die Tomate (Hage-Ahmed et al., 2013b).

2.3. Pflanzenkrankheiten an Tomate

Pflanzenkrankheiten spielen in der Produktion von Tomaten eine sehr große Rolle, da sie in der Lage sind die Erträge erheblich zu schmälern. Grundsätzlich werden Krankheitssymptome in zwei Gruppen unterteilt. Mikroorganismen wie Pilze, Bakterien, Viren und Nematoden bilden die erste Gruppe. In der zweiten befinden sich die physiologischen Schädigungen hervorgerufen durch Nährstoffmangel, Umweltbedingungen und Herbizide.

Eine der wirtschaftlich bedeutendsten Krankheiten an der Tomate ist die Fusariumwelke verursacht durch *Fol*, die zum Verstopfen des Xylems führt, wodurch die Wasserversorgung unterbrochen wird.

Neben dieser Krankheit gibt es eine Vielzahl anderer Schadpilze und pilzähnliche Organismen die Welke oder Blattflecken verursachen können. Die wichtigsten sind *Alternaria solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Stemphyllium solani*, *Septoria lycopersici*, *Phytophthora infestans*.

Welkekrankheiten stellen jedoch nicht das gesamte Ausmaß der Bedrohung dar. So gibt es zusätzlich Fäuleerreger die die Frucht oder Wurzeln befallen. Darunter findet man Vertreter der Pilze wie auch der Bakterien (Damicone und Brandenberger, s.a).

2.3.1. *Fusarium*

Fusarium ist eine Gattung der Ascomyceten, welche Pflanzen- und Tierkrankheiten auslösen kann. Die Gattung umfasst eine Vielzahl von Arten, die so wirtsspezifisch sind, dass sie in sogenannte „formae speciales“ (f.sp.) unterteilt werden. An Pflanzen kann *Fusarium* die unterschiedlichsten Krankheitssymptome auslösen. Diese reichen von Wurzelfäule, Fruchtfäule, Blattflecken, Krebs bis hin zum Absterben der Pflanzen (Nelson, 1981).

Bei phytopathogenen *Fusarium*arten findet meist die wissenschaftliche Bezeichnung des Wirts Einzug in die Namensgebung der Art. Der Wirtspflanzenkreis bei *Fusarium* ist sehr groß und umfasst über 100 Pflanzenarten unter denen sich viele Nahrungsmittelpflanzen befinden. Viele Vertreter der Gattung *Fusarium* bilden Mykotoxine aus, die für Mensch und Tier gefährlich sein können. In der Lebens- und Futtermittelproduktion gibt es festgesetzte Grenzwerte für bestimmte *Fusarium*toxine. Neben der doch großteils negativen Einflüsse auf Mensch, Tier und Pflanzenwelt muss erwähnt werden, dass die Art *Fusarium sambucinum* industriell genutzt wird um großtechnisch Protein für Futtermittel (Produktbezeichnung Quorn) zu produzieren (Taylor, 2011).

2012 haben Dean et al. (2012) eine „Top 10“ Liste der Pilzpathogene in Molecular Plant Pathology veröffentlicht. Diese Liste ordnet Pathogene nach Anzahl an wissenschaftlichen Artikeln, Zitaten und Internetsuchanfragen für 15 landwirtschaftlich und medizinisch wichtige Pilzpathogene ein. Unter den Top 10 der Phytopathogene befinden sich gleich zwei Arten der Gattung *Fusarium*. Die Platzierungen vier und fünf für *F. graminearum* und *F. oxysporum* zeigen die hohe wissenschaftliche und ökonomische Bedeutung der Gattung als Pathogen.

2.3.2. *Fusarium oxysporum*

F. oxysporum ist ein chemoorganoheterotropher Pilz, der in den meisten Böden zu finden ist. Die Energiegewinnung des Pilzes erfolgt chemisch unter Verwendung organischer Substanzen wie zum Beispiel Lactat oder Acetat als Elektronendonator und stammt aus organischen Kohlenhydratquellen. Manche Arten sind in der Lage Mykotoxine zu produzieren. Diese haben mehrere Funktionen wie zu Beispiel das Herabsetzen der Pflanzenabwehr oder die Erhöhung der Konkurrenzkraft gegenüber anderen Pilzen und Pathogenen. *F. oxysporum* kann in Form von Dauersporen, den sogenannten

Chlamydosporen oder saprophytisch auf organischem Material überdauern (Olivain C. et al., 1999).

Fusarium oxysporum bildet sowohl pathogene als auch nicht pathogene Stämme aus. Isolate dieser Art sind für ihre enge Verbundenheit mit Pflanzenwurzeln bekannt. Nicht pathogene *Fusarium*stämme können als aggressive Besiedler der Kortex von Wurzeln auftreten. Das dabei keine Krankheiten ausgelöst werden liegt daran, dass von diesen Stämmen zum einen das vaskuläre Gewebe der Pflanze nicht geentert werden kann und zum anderen Abwehrreaktionen der Pflanze die Ausbreitung innerhalb des Gewebes begrenzen. Sowohl pathogene als auch nicht pathogene Stämme von *F. oxysporum* können weltweit in landwirtschaftlich genutzten Böden gefunden werden. *F. oxysporum* wurde aber auch in vielen natürlich vorkommenden Pflanzengesellschaften und Böden, die nie landwirtschaftlich genutzt wurden, gefunden. Aus diesem Grund wird *F. oxysporum* als Bestandteil der globalen Mykoflora angeführt (Olivain C. et al., 1999; 2006).

F. oxysporum wird in natürlichen Ökosystemen nicht als Pathogen bezeichnet, da es sich in den meisten Fällen um nichtpathogene Stämme des Pilzes handelt. Dies liegt daran, dass die Pflanzen keine Wirtspflanzen sind oder eine nicht pathogene Beziehung zwischen Pflanze und Pilz besteht. Dieser Umstand lässt darauf schließen, dass sich pathogene Stämme im Laufe der Evolution aus nicht pathogen entwickelt haben müssen. Um pathogen zu werden muss es dem Pilz gelingen die Kortex zu durchdringen und das Xylem zu besiedeln. Im Xylem angelangt werden Konidien gebildet, die über den Massenstrom im gesamten Xylem verteilt werden. Dies führt zur Verstopfung des Xylems und den typischen Welkeerscheinungen vieler *F. oxysporum*-Stämme. Die Ausbreitung ist bei den meisten Stämmen auf das Xylem begrenzt. Erst wenn andere Pflanzenteile nekrotisch werden können sie besiedelt werden. Im absterbenden Gewebe werden Dauersporen gebildet, die in den Boden entlassen werden. Um die Kortex zu durchbrechen benötigt es genetischer Anpassung des Pilzes, welche wiederum nur durch coevolutionäre Existenz und Spezialisierung des Pilzes auf wenige Wirte möglich ist. Die Spezialisierung führt bei *F. oxysporum* zur Bildung unzähliger formae speciales und Rassen. Die Zuordnung der formae speciales erfolgt in der modernen Analytik durch Vergleiche von konservierten Nucleotidsequenzen mitochondrialer DNA (Attitalla et al., 2004). Diese Vergleiche haben gezeigt, dass es innerhalb der formae speciales zur Bildung von Rassen kommt. Die Identifizierung der *Fol* Rassen 1-3 erfolgt durch PCR (Polymerase Chain Reaction). Als molekulare Marker dienen mehrere *SIX* Gene die spezifisch für die einzelnen Rassen sind (Lievens et al., 2008). Zur Identifikation von Rasse 1 wird zum Beispiel der Marker *SIX4* verwendet (Lievens et al., 2009a).

Rassen werden durch ihre unterschiedliche Interaktion mit Wirtsgenotypen unterschieden. Diese extreme Form der Spezialisierung wird daher in natürlichen Pflanzengesellschaften niemals zu einem Problem heranwachsen, da selbst innerhalb einer Pflanzenart viele unterschiedliche Genotypen vorhanden sind (Gordon, 1997; Yadeta und Thomma, 2003). In landwirtschaftlichen Kulturen ist die genetische Vielfalt stark reduziert. Weltweit werden immer weniger Sorten einer Kulturpflanze kultiviert, was dramatische Auswirkungen auf die Pathogenanfälligkeit und die damit verursachten Ernteverlusten hat. Ein Lösungsansatz besteht darin, sogenannte Resistenzgene zu finden und diese in bestehende Sorten einzukreuzen oder gentechnisch zu induzieren. Bereits die Veränderung eines Gens kann zur Resistenz gegen diese hochspezialisierten Rassen reichen (monogene Resistenz). Diese Resistenzen können jedoch leicht überwunden werden und sind daher nur kurzfristige Lösungen. Eine weitere Lösung ist der Einsatz nicht pathogener *Fusarium*-Stämme. Diese haben suppressive Wirkung auf pathogene Stämme und könnten in Zukunft zur biologischen Bekämpfung eingesetzt werden. Ein Beispiel dafür ist der nicht pathogene Stamm Fo47, der als Konkurrent um Nährstoffe im Boden und Kolonialisierung der Wurzeln auftritt und systemisch induzierte Resistenz in Pflanzen auslösen kann (Olivain C. et al., 2006).

2.3.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol)

Bei *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* handelt es sich um einen Pilz, der speziell an Tomaten vorkommt und Fusariumwelke verursacht. Das Pathogen wurde erstmals 1895 von G.E. Mossee in England beschrieben. Heute ist *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* weltweit in Tomatenkulturen zu finden. Momentan sind drei unterschiedliche Rassen des Pilzes bekannt. Rasse 1 hat die größte Ausbreitung und kommt weltweit in fast allen Gebieten vor. Rasse 2 wurde erstmals 1940 in Ohio (USA) entdeckt und konnte sich anfangs nur langsam ausbreiten. Heute gibt es bereits Berichte aus Ländern aller Kontinente. Das Ausbreitungsgebiet von Rasse 3 beschränkt sich auf Brasilien, USA und Australien (Wong, 2003). Eine Infektion der Tomaten mit *Fol* führt nicht nur im Freiland zu erheblichen Schäden sondern kann genauso in erdlosen Systemen im Glashaus auftreten (Borrero et al., 2004).

2.3.2.1. Gewinnung von *Fol*-Isolaten aus Boden und Wirtspflanze

Um Isolate aus dem Boden zu gewinnen wird eine Verdünnungsreihe einer Bodenprobe angesetzt (Abb.3). Die Verdünnungen werden danach auf selektivem Nährmedium kultiviert. Inkubiert werden die Platten unter fluoreszierendem Licht. *F. oxysporum* erscheint rötlich, lila gefärbt und wird von einem rosa, weißen Luftmyzel überwachsen. Im nächsten Schritt wird

Fol auf neue Platten überimpft und versucht Reinkulturen zu schaffen (Davet und Rouxel, 2000).

Die Isolation aus Pflanzenmaterial erfolgt aus infizierten Wurzel-, oder Stammbereichen. Hierbei werden betroffene Organe in Längsrichtung aufgeschnitten um große Teile des Xylems freizulegen. Um die Oberfläche zu sterilisieren werden die Pflanzenteile für 5 Minuten in 10 % Natriumhypochlorit getaucht. Danach werden die Pflanzenteile abgetrocknet und unter sterilen Bedingungen in schmale Spalten geschnitten. 5-6 Spalten werden auf PDA Platten platziert und bei fluoreszierendem Licht inkubiert. Ist der Pilz gut angewachsen (10-14 Tage) werden die Kulturen überimpft (Carroll, 2003).

2.3.2.2. Mikroskopische Identifikation von *Fol*

Der Pilz bildet drei Arten von asexuellen Sporen aus (Agrios 1997):

- **Mikrokonidien** sind oval bis elliptisch, gerade bis leicht gekrümmt, 5-12 x 2,2-3,5 µm groß und unseptiert. Gebildet werden sie an kurzen Mikrokonidiophoren im Luftmyzel. Sie dienen zur Ausbreitung des Pilzes im Xylem.
- **Makrokonidien** sind oval bis sichelförmig, 3-5 mal septiert und dünnwandig. Sie werden meistens an Konidiophoren, in Sporodochien gebildet, können aber auch einzeln in einem Luftmyzel gebildet werden. Die Bildung von Makrokonidien findet an der Oberfläche abgestorbener Pflanzenteile statt.
- **Chlamydosporen** sind dickwandig, ein- oder zweizellig und stellen die Überdauerungsform von *Fol* dar. Gebildet werden sie in den Hyphen oder Makrokonidien und können über Jahre hinweg im Boden überdauern.

Mikro- und Makrokonidien werden sowohl an der Oberfläche der Pflanzen, im Xylem als auch in Pilzkulturen (Labor) gebildet. Chlamydosporen werden gegen Ende des Krankheitsverlaufes in abgestorbenem Gewebe gebildet (Beckman et al. 1981).

2.3.2.3. Ökologie und Entwicklungszyklus

Fol ist eine Welkekrankheit an Tomaten, die vor allem in warmen Klimaregionen auf sauren (pH-Werte unter 6,5) und sandigen Böden vorkommt. Das Pathogen ist bodenbürtig und sehr persistent. Chlamydosporen können bis zu zehn Jahre im Boden überdauern. Die optimale Entwicklung des Pilzes findet bei Boden- und Lufttemperaturen um 28 °C statt. Temperaturen über 34 °C oder unter 20 °C können die Entwicklung verzögern (Jones et al. 1981). Wenn die Bodentemperatur im Optimum liegt und die Lufttemperatur außerhalb dessen entwickelt sich der Pilz eher im unteren Bereich des Stammes. In diesem Fall entstehen meistens keine Welkesymptome (Snyder, 2003).

Jones et al. (1991) beschreiben die optimale *Fol*-Entwicklung bei Boden- und Lufttemperaturen von 28 °C, Bodenfeuchte im Bereich des Pflanzenoptimums, niedrigem pH-Wert, wenig Stickstoff und Phosphor, viel Kalium, Kurztagbedingungen und geringer Lichtintensität.

Die Entwicklung von *Fol* beginnt mit einer saprophytischen Phase auf abgestorbenen Pflanzenteilen oder im Boden. Der Pilz überdauert diese Phase in den meisten Fällen durch Chlamydosporen kann aber auch in Form von Mikro-, Makrokonidien oder Myzel überdauern. Die Sporenkeimung wird durch chemische Signale der Wurzeln (Wurzelexudate) ausgelöst. Die Infektion mit *Fol* erfolgt direkt über Keimschläuche oder Myzel, die in Wunden oder Risse am Ansatz von Seitenwurzel eindringen können. Nach Eindringen in die Wurzel wird das Xylem vom Myzel besiedelt. Die Ausbreitung erfolgt nach oben und unten. Benachbarte Xylemtracheen können über Tüpfel geentert werden. Innerhalb dieses Myzels werden dann Mikrokonidien gebildet, die sich mit dem Massenstrom im gesamten Xylem verteilen. Bleiben die Mikrokonidien an einer Stelle des Xylems haften, so keimen sie aus, verstopfen die Tracheen und sorgen dafür, dass der Wasserstrom unterbrochen wird. Dies führt zu Welkeerscheinungen und Absterben der Pflanze. Die abgestorbenen Pflanzenteile bilden das Inokulum für die nächste Infektion. (Agrios, 2005)

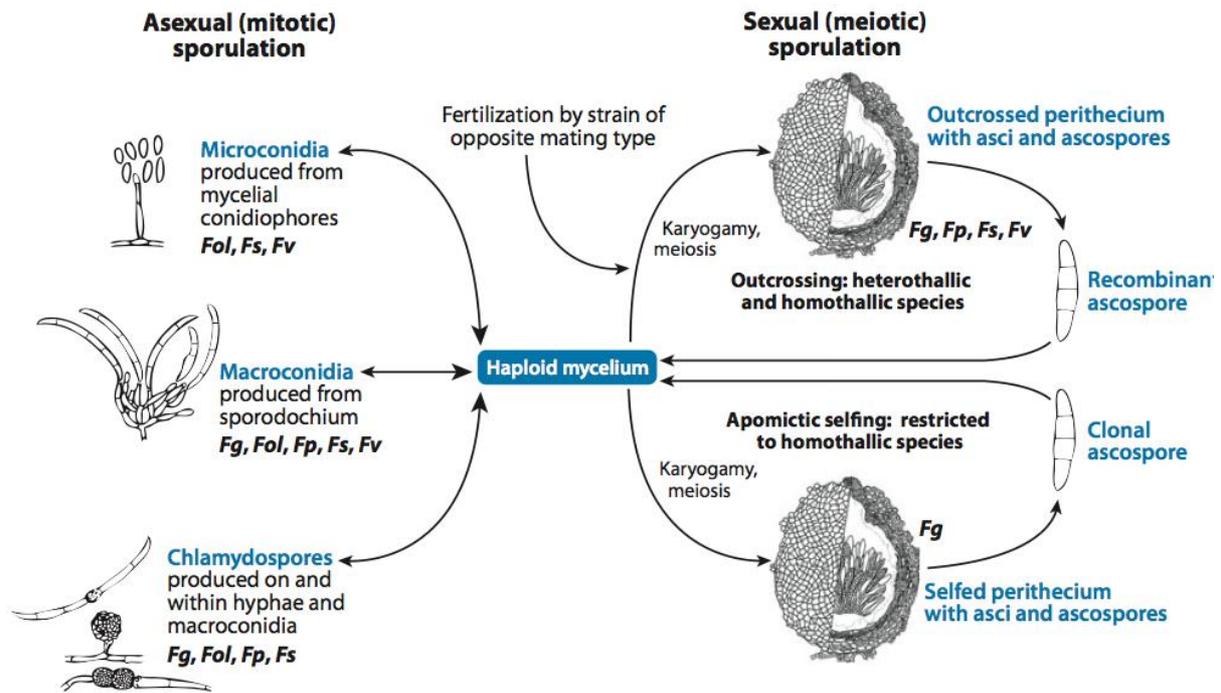


Abbildung 2: Allgemeiner Entwicklungszyklus von *Fusarium*. Die Abkürzungen *Fol*, *Fs*, *Fv*, *Fg*, *Fp* stehen für unterschiedliche *Fusarium*-Arten (Ma et al. 2013). In dieser Arbeit wurde allerdings ausschließlich mit *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (*Fol*) gearbeitet.

2.3.2.4. Symptome bei *Fol*-Befall

Anfangs zeigt sich ein Befall durch *Fol* durch Vergilben der Blätter. Die Ausbreitung der Symptome erfolgt von der Stammbasis aufwärts. Durch Verstopfen des vaskulären Systems der Pflanze wird die Wasserversorgung der Blätter reduziert. Vor allem an heißen Tagen welken die Blätter und fallen ab. Oftmals ist eine einseitige oder auf wenige Seitentriebe begrenzte Ausbreitung zu beobachten. Befallene Pflanzen sind in ihrer Entwicklung stark gehemmt und erreichen selten ihr Erwachsenenalter. Die Bildung von Früchten wird reduziert oder komplett unterbunden. Werden die Früchte später befallen, beginnen sie zu faulen oder abzufallen (Jones et al., 1991), schneidet man den Stamm auf, so kommt das braun verfärbte Xylem zum Vorschein (Jarvis, 1988). Die Länge der Xylemverfärbung ist ein wichtiger Faktor der *Fol*-Bonitur.



Abbildung 3: Bei der Fol-Bonitur in Längsrichtung aufgeschnittener Spross. Die Infektion mit *Fol* zeichnet sich durch eine Verbräunung des Xylems ab. Die Infektion breitet sich von der Stammbasis nach oben hin aus und verstopft das Xylem. Die untersten Blätter beginnen zu welken und fallen kurz nach der Infektion ab.



Abbildung 4: Ausfall (links) und Wachstumsdepressionen (Mitte) ausgelöst durch eine Infektion mit *Fol*.

2.3.2.5. Kontrolle

Da in Österreich keine Fungizide zur direkten Bekämpfung von *Fol* zugelassen sind, liegt das Hauptaugenmerk auf kulturtechnischen Maßnahmen, Resistenzzüchtung und biologischer Kontrolle.

Die Düngung spielt eine sehr wichtige Rolle in der Vermeidung von Infektionen mit *Fol*. Einsatz von Nitratdüngern reduziert die *Fol*-Entwicklung und Ammonium bewirkt genau das Gegenteil (Woltz et al., 1973; Jones et al., 1993). Mengel et al. (2001) sehen den Effekt in einer Veränderung des pH-Werts durch den Dünger.

Fruchtfolge mit Nichtwirtspflanzen kann die Überdauerung der Sporen nicht verhindern aber das Infektionspotential reduzieren. Dabei gilt es darauf zu achten, dass keine Wirtspflanzen oder Pflanzen die als symptomlose Überträger dienen verwendet werden (Jarvis, 1988).

Die Bewässerung der Flächen stellt ein weiteres Gefahrenpotential dar, da Sporen über das Wasser übertragen werden können. Die Bewässerung von Glashausflächen bietet hierbei eine Vielzahl von Möglichkeiten das Wasser *Fol* frei zu halten. Die Reinigung der Wassers kann chemisch oder nicht chemisch erfolgen. Hierbei wird das Wasser zum Beispiel Hitze, UV-C Licht oder Membranfiltration gereinigt. Chemische Reinigung kann mit Ozon, Hydrogen Peroxid oder anderen Chemikalien erfolgen (Runia, 1995).

Eine weitere Methode um *Fol* Infektionen zu verhindern, ist die Züchtung resistenter Sorten. Die Pflanze kann sich durch physikalische Barrieren oder biochemische Reaktionen gegen die Infektion lokal oder systemisch wehren (Beckman, 1987; Brammall, et al., 1988a; Beckman, 2000; Tjamos, 1989).

Als Alternative zu den herkömmlichen Methoden werden Mikroorganismen zur biologischen Kontrolle eingesetzt. Antagonistische Pilze oder Bakterien haben sich bereits in mehreren Studien als effektive Biokontrollagenzien erwiesen (Larkin et al., 1998; Larena et al., 2002; Shishido et al., 2005). Nicht pathogene *Fusarium* Stämme können ebenfalls eingesetzt werden, um Infektionen mit pathogenen Stämmen zu verhindern (Shishido et al., 2005).

2.4. Arbuskuläre Mykorrhiza Pilze (AMP)

Die arbuskuläre Mykorrhiza ist der am meisten verbreitetste Mykorrhizotyp. Diese Form der Mykorrhiza wird durch obligat symbiotische Pilze ausgebildet und umfasst einen enormen Wirtspflanzenkreis. Die systematische Zuordnung erfolgte durch Schüßler et al. (2001) auf Basis von DNA Sequenzen (Abb.7).

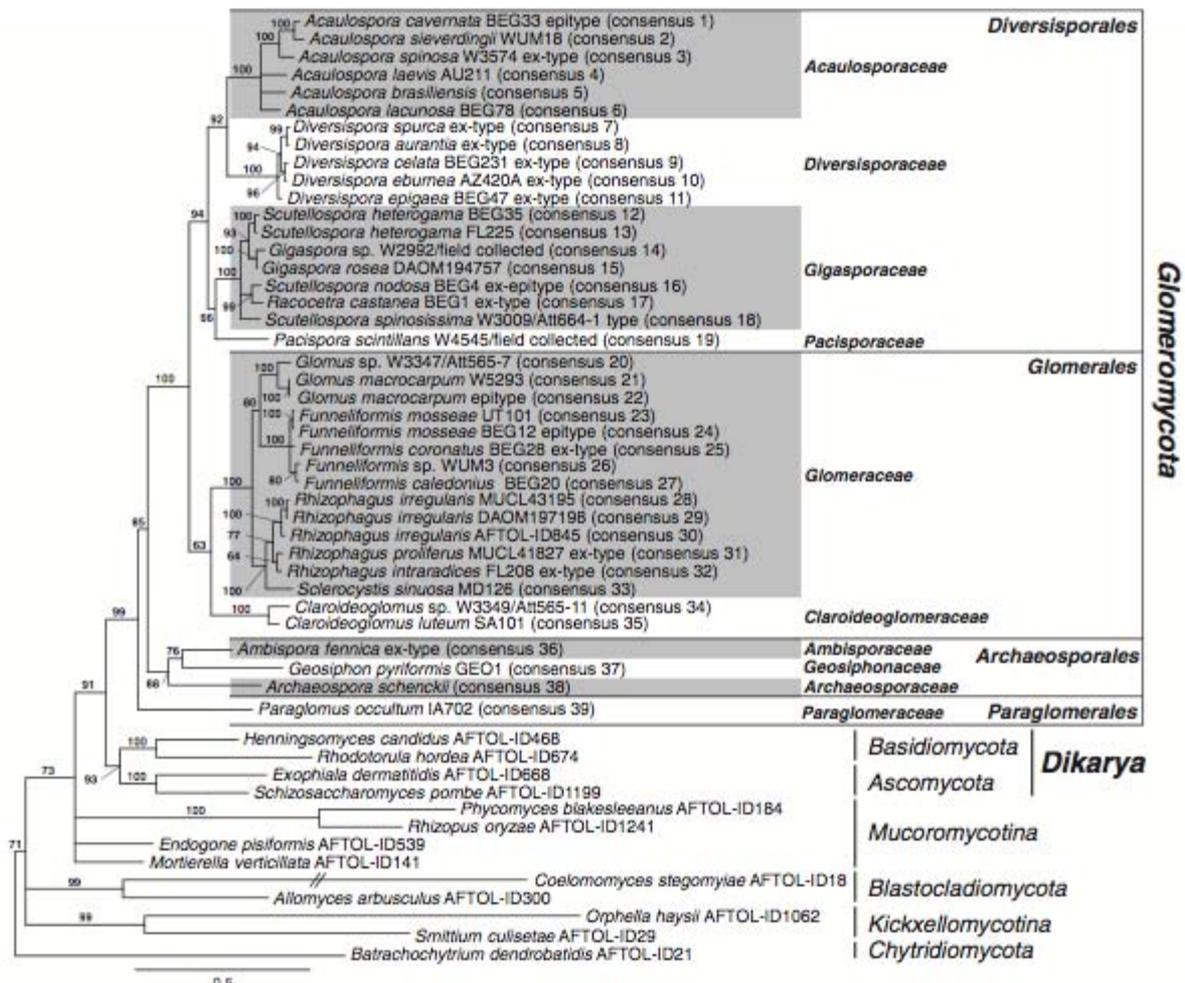


Abbildung 5: Polygenetischer Artenbaum der Glomeromycota (Schüßler 2011)

Seit Schüßlers Zuordnung bilden die AMP eine eigene Abteilung, die sogenannten *Glomeromycota*. Der Ursprung dieser Pilze liegt nach momentanen Erkenntnissen über 1000 Millionen Jahre zurück. AMP spielten eine wichtige Rolle bei der Landbesiedelung durch Pflanzen. Sie dienten zur Unterstützung der Nährstoffversorgung (Simon et al., 1993). Die Bezeichnung arbuskuläre Mykorrhiza Pilze entstand durch die Ausbildung charakteristischer Strukturen, den sogenannten Arbuskeln, die in Kortezellen von Wurzeln gebildet werden (Dickson et al., 2004). Arbuskuläre Mykorrhiza besteht aus drei wichtigen Komponenten:

- Der Wurzel

- Pilzstrukturen innerhalb und zwischen den Wurzelzellen
- Myzel im Boden

AMP spielen eine wichtige Rolle in natürlichen Ökosystemen und beeinflussen Produktivität, Nährstoffversorgung und die Widerstandskraft der Pflanzen gegen Pathogene (Demir et al., 2007). Die positiven Effekte entstehen durch wachstumsregulierende Substanzen, erhöhte Fotosyntheseleistung, osmotische Anpassung bei Trockenheit und Salzstress, erhöhte Resistenz gegen Schädlinge und bodenbürtige Pathogene (Al-Karaki, 2006). Die Mykorrhizierung wird durch Pflanzenart und Sorte beeinflusst. Steinkellner et al. (2011) konnten in ihrer Arbeit zum Vergleich von Tomaten Wildtypen und modernen Züchtungen keinen Unterschied in der AMP Besiedelung bezogen auf das Alter der Sorte feststellen. Sowohl Wildtypen als auch moderne Sorten zeigten große Sortenunterschiede.

2.4.1. Biologie und Entwicklung von AMP

Durch AMP geformte Sporen sind bis zu 500 µm groß und enthalten reichlich Lipide und einige Kohlenhydrate. Die Zellwände sind dick und enthalten Chitin, manchmal auch β (1-3) Glucan (Gianinazzi-Pearson et al., 1994). Keimen die Sporen aus kommt es zur Bildung von Hyphen die mehrfach verzweigt sein können und in Richtung Wirtspflanze wachsen. AMP bilden bäumchenartige Strukturen (Arbuskeln) zwischen und innerhalb der Wurzelzellen aus. Diese Arbuskeln erhöhen die Oberfläche des Pilzes und sorgen für besseren Stoffaustausch mit der Pflanze. Ist die Symbiose etabliert, wird das Myzelwachstum in der Pflanze und im Boden forciert und neue Sporen werden gebildet. Das weit verzweigte Myzelnetz im Boden ist in der Lage Nährstoffe und Wasser aus weit entfernten Quellen zu beziehen. AMP sind ohne Symbiose nicht in der Lage ihren Lebenszyklus vollständig abzuschließen (Frey und Lösch, 2004).

Die Mykorrhizierung von Pflanzenwurzeln ist ein Prozess, der mehrere Schritte erfordert. Anfangs kommt es zu einer chemischen Reaktion zwischen Wirtspflanze und AMP. In den nächsten Schritten ändern sich die morphologische Struktur im Cytoskelett der AMP Hyphen die Gen-Expression beider Partner und der Hormonhaushalt der Pflanze (Frey und Lösch, 2004). Die Abb.6 zeigt die einzelnen Schritte dieses Prozesses genauer.

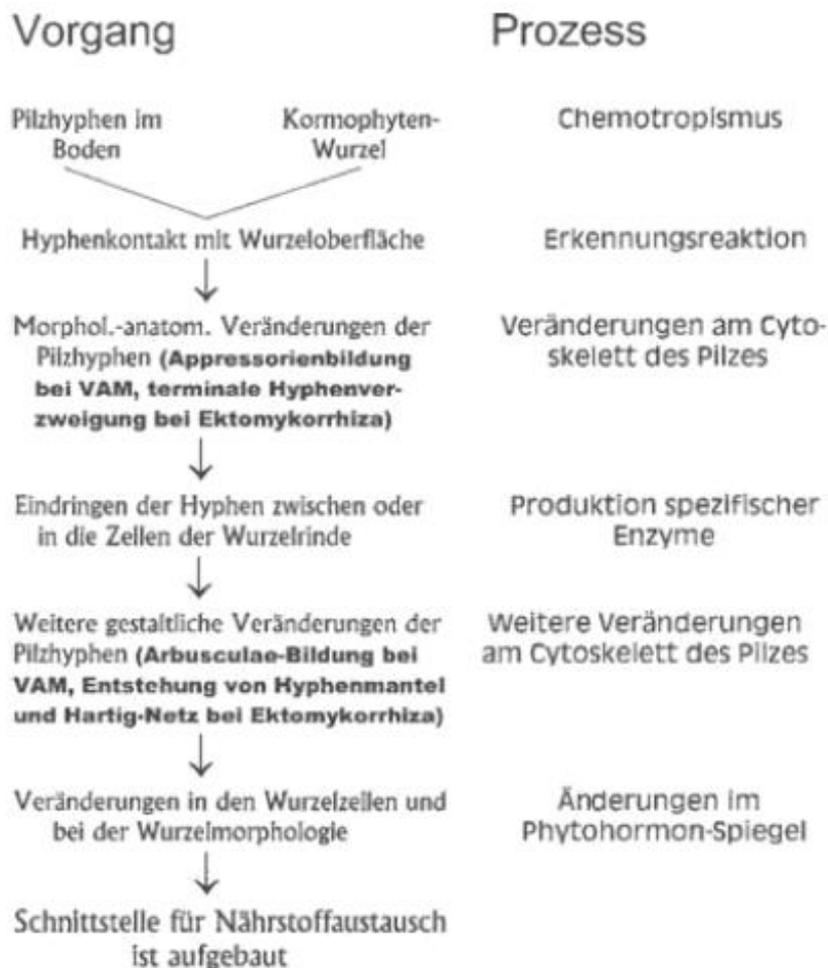


Abbildung 6: Vorgänge während der Mykorrhizierung von Pflanzen (Frey und Lösch, 2004)

Eine Vielzahl an Studien beschäftigte sich bereits mit der Wirt-AMP-Interaktion. Dabei konnte gezeigt werden, dass das pflanzliche Abwehrsystem während der frühen Besiedelungsphase der Wurzel durch AMP anfangs aktiviert und anschließend unterdrückt wird (Garcia Garrido et al., 2002). Eine wichtige Art der Pflanzenabwehr ist die Bildung einer systemisch aktivierten Resistenz (SAR). Sie entwickelt sich entweder lokal oder systemisch als Reaktion auf Pathogene. Eine entscheidende Rolle hierbei spielt das Molekül Salizylsäure (SA) das als Signalüberträger wirkt und bei Pathogenbefall in erhöhten Konzentrationen vorkommt (Metraux et al., 1990). Herrera Medina et al. (2003) konnten in ihrer Arbeit einen Zusammenhang zwischen Kolonialisierungsrate der Wurzeln durch AMP und dem Salizylsäuregehalt der Pflanzen nachweisen. Je geringer der Salizylsäuregehalt, desto geringer war die Kolonialisierungsrate durch AMP. Weiters ist Mykorrhiza in der Lage Pflanzenwurzeln durch ihr Myzel zu verbinden. Es entsteht ein gemeinschaftliches Mykorrhizanetzwerk (CMNs). Dieses Netzwerk ist in der Lage sowohl artgleiche als auch artfremde Pflanzen miteinander zu verbinden (Selosse et al., 2006). Ein einziges

Mykorrhizaindividuum der Art *Glomus* kann hierbei eine Länge von über 10m erreichen (Rosendahl et al., 2004). Möglicherweise werden auf diese Weise Nährstoffe von einer Pflanze zur nächsten transportiert. Stickstoff wird über CMNs von Leguminosen zu Pflanzen mit Stickstoffbedarf transportiert (He et al., 2003; Meding et al., 2008). Song et al. (2014) untersuchten in ihrer Arbeit die Kommunikation von Tomatenpflanzen über ein unterirdisches CMN. Sie fanden in ihrer Studie heraus, dass die Aktivität des Enzyms Peroxidase (POD) in gesunden Tomatenpflanzen, die durch *Glomus* CMN mit infizierten Pflanzen verbunden waren, signifikant höher ist. POD ist bekannt als Abwehrenzym.

2.5. Dualkulturen, Rhizoboxen und Wurzelexsudate

Als Rhizosphäre bezeichnet man einen Bereich der Bodenmatrix, der sich in unmittelbarer Nähe der Pflanzenwurzeln befindet. In dieser Zone von 0 bis 2 mm Entfernung zur Wurzeloberfläche wird der Boden sehr stark von den lebenden Wurzeln beeinflusst. Hier findet Wurzelwachstum, Exsudatproduktion und Interaktion mit Mikroorganismen statt (Uren, 2000). Das Studieren der Rhizosphäre unter Laborbedingungen bringt gegenüber Freilandversuchen folgende Vorteile mit sich: Standardisierte Bedingungen sorgen für Vergleichbarkeit der Daten. Das Wurzelwachstum und die Wurzelmorphologie können einfacher beobachtet werden. Um Vorgänge in der Rhizosphäre und zwischenpflanzliche Beziehungen untersuchen zu können hat sich der Einsatz von Rhizoboxen etabliert. Auf Grund des begrenzten Platzangebotes eignen sich Rhizoboxen in der in diesem Versuch verwendeten Größe nur zur Untersuchung von jungen Pflanzen. Es gibt jedoch bereits Versuche an größeren Bäumen bei denen das gleiche Prinzip zur Anwendung kommt (Dinkelaker et al., 1997). Hawkins und George (1999) beschreiben die Verwendung von Rhizoboxen zum Studium der Mykorrhizakolonisierung. Die Boxen können dabei entweder als Dualkultur angelegt werden (Pflanzen getrennt durch ein Netz) oder als Split-Root-System. Hierbei wird der Wurzelballen einer Pflanze auf zwei Kammern aufgeteilt und Wurzelentwicklung, Mykorrhizierung oder andere Wurzelsymbiosen beobachtet (Hacin et al., 1997).

Neben den Hauptfunktionen, wie Wasser- und Nährstoffaufnahme, besitzen Wurzeln die Fähigkeit nieder- und hochmolekulare Substanzen an die Rhizosphäre abzugeben um auf biotischen und abiotischen Stress reagieren zu können. Diese Wurzelexsudate beinhalten neben Ionen, Wasser und Sauerstoff hauptsächlich kohlenstoffhaltige Komponenten. Niedermolekulare Substanzen die von den Wurzeln abgegeben werden sind Zucker und einfache Polysaccharide, organische Säuren, Aminosäuren und Phenole. Die Wurzeln geben auch hochmolekulare Substanzen wie Fettsäuren, Enzyme, Flavonoide, Tannine,

Wachstumsregulatoren, Nukleotide, Steroide, Kohlenhydrate, Terpene, Alkaloide und Vitamine an die Rhizosphäre ab. Viele dieser Substanzen spielen eine wichtige Rolle in der pflanzlichen Abwehr von Pathogen. Vor allem Phenole üben einen starken Einfluss auf Mikroorganismen aus. Die abgegebene Exsudatmenge ist abhängig von Pflanzenart, Alter, Sorte und Stressfaktoren (Uren, 2000; Rovira, 1969; Curl und Truelove, 1986; Fan et al., 1997; Hale et al., 1978).

Die Abgabe von Wurzelexudaten wird durch biotische und abiotische Faktoren beeinflusst. Die wichtigsten abiotischen Faktoren sind Temperatur, Lichtintensität und damit verbundener Fotosyntheseleistung, Nährstoffversorgung und mechanische Einflüsse. Als biotische Faktoren spielen Mikroorganismen eine große Rolle. Diese können sowohl positiv als auch negativ auf die Pflanzenentwicklung wirken. Die Interaktion zwischen Pflanzen oder zwischen Pflanzen und Mikroorganismen über Wurzelexsudate bezeichnet man als Allelopathie (Inderjit und Weston, 2003; Pramanik et al., 2000).

Die Gewinnung von Wurzelexsudaten kann durch Extraktion der Substanzen unter Verwendung einer Pufferlösung erfolgen oder lokal durch Probenahme von Wurzelsegmenten (Neumann und Römheld, 2007).

Die Analyse der Exsudate erfolgt chemische durch HPLC, HPLC-MS oder enzymatisch (Neumann und Römheld, 2007).

3. Material und Methoden

3.1. Versuchspflanzen

3.1.1. Tomate- *Solanum lycopersicum*

Für diesen Versuch wurden am 24.02.2014 200 Tomatensamen der Sorte „Tiny Tim“ (*Solanum lycopersicum* L. cv. Tiny Tim, B&T World Seeds, Aigues Vives, France) ausgewählt und deren Oberfläche sterilisiert. Die Sterilisation erfolgte mit Dan Klorix (3,8 % NaOCl). Die Samen wurden für 10 Minuten in eine 50 %ige Dan-Klorix-Lösung eingelegt und anschließend 4x für jeweils 5 min in dH₂O eingelegt, um Dan-Klorix Rückstände abzuwaschen.



Abbildung 7: Oberflächensterilisation von Tomatensamen



Abbildung 8: Vorkultivierung der Samen in Perlite

Nach der Oberflächensterilisation wurden die Samen in Perlit (Peligran 0-6, Knauf Perlite GmbH, Wien, Österreich) vorkultiviert. Hierzu wurden je 25 Samen in einen Topf mit 8 cm Durchmesser gesät. Die Tomatensamen wurden anschließend ausreichend gewässert und im Klimaschrank bei 24 °C und einer Photoperiode von 16 h Licht und 8 h Dunkelheit für 3 Wochen vorkultiviert.



Abbildung 9: 3 Wochen vorkultivierte Tomatensamen zum Zeitpunkt der Pflanzung

3.1.2. Porree- *Allium ampeloprasum* var. *porrum*

Die Porreepflanzen der Sorte „De Carentan“ (Spar Natur pur, Salzburg) wurden nach dem gleichen Protokoll wie die Tomaten angezogen. Nach der Oberflächensterilisation wurden sie 5 Wochen in Perlit vorgezogen.

3.2. Pathogen

3.2.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol)

Als Pathogen wurde für diese Arbeit *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) verwendet. Hierzu wurde das Isolat Fol007 (Rasse 2) auf Czapek Dox Agar bei 24 °C und Dunkelheit kultiviert. Die Fol-Kulturen mussten alle 2 Wochen überimpft werden. Dafür wurde ein Stanzwerkzeug verwendet und das ausgestanzte Stück Agar mit darauf befindlichem Myzel auf neue CzDox Agarplatten überführt. Für die Inokulation der Versuchspflanzen wurden 2 Wochen alte Fol Kulturen verwendet.

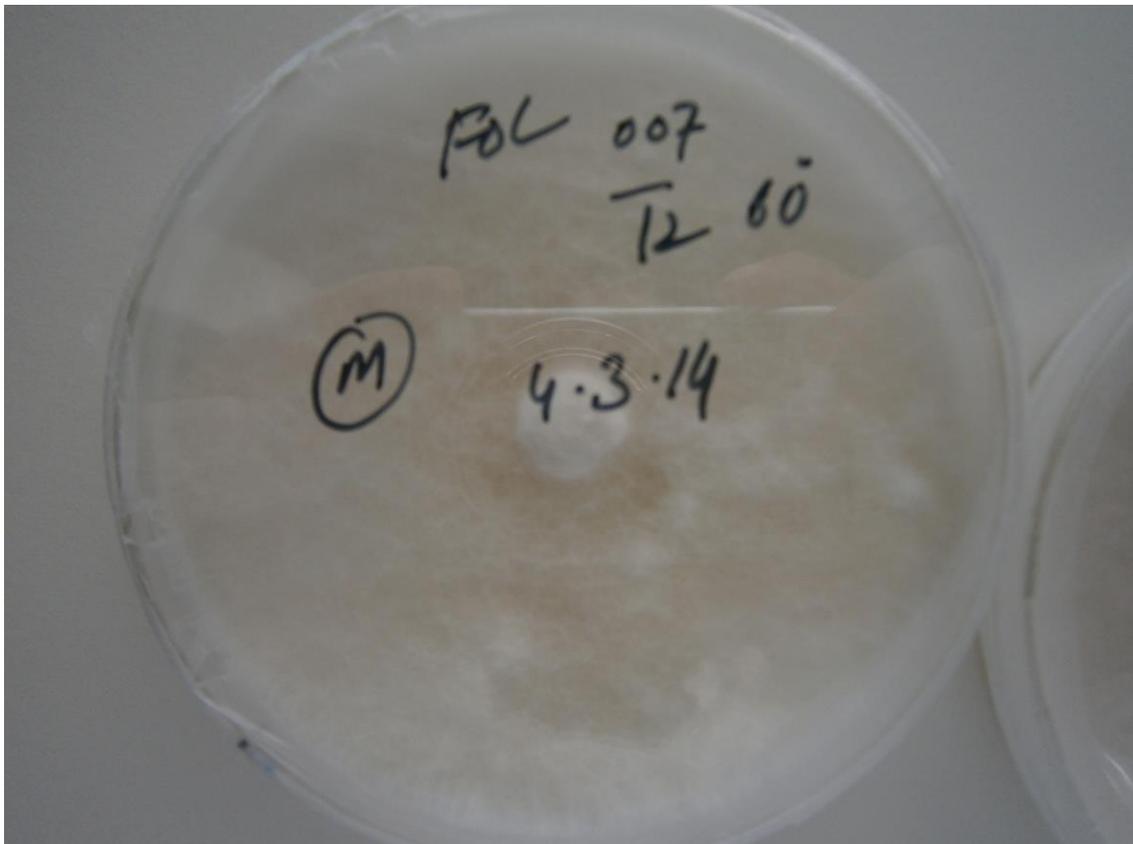


Abbildung 10: Fol Rasse 007 Kultur auf CzDox- Agar zwei Wochen nach Überimpfung.

3.2.1.1. Herstellung von Czapek Dox Agar (CzD) und Czapek Dox Broth

CzD:		
Komponenten	Menge	Einheit
ddH ₂ O	800	ml
NaNO ₃ (Sodium Nitrat)	2,40	g
K ₂ HPO ₄ (Dikaliumhydrogenphosphat)	0,80	g
MgSO ₄ ·7H ₂ O (Magnesiumsulfat)	0,40	g
KCl (Kaliumchlorid)	0,40	g
FeSO ₄ ·7H ₂ O (Eisen-III-Sulfat)	0,10	g
Saccharose	24,00	g
Agar	12,00	g

CzD Broth:		
Komponenten	Menge	Einheit
ddH ₂ O	800	ml
CzD Broth	26,72	g
Agar	12,00	g

Für diesen Versuch wurde größtenteils fertiger CzD Broth (Duchefa Biochemie, NL) verwendet. Dieser enthielt 0,013 g/l NaFeEDTA; 0,5 g/l Magnesium Glycerophosphat; 0,5 g/l Kalium Chlorid; 0,5 g/l Kalium Sulfat; 2,0 g/l Sodium Nitrat und 30 g/l Saccharose. Diese Angaben beziehen sich auf eine Konzentration von 33,4 g CzD Broth gelöst in 1 l ddH₂O. Alle pulverförmigen Komponenten wurden abgewogen und in circa 500 ml vorgelegtem ddH₂O, unter rühren, aufgelöst. Waren die Stoffe in Lösung so wurden die restlichen 300 ml ddH₂O zugegeben und der fertige Agar autoklaviert.

3.3. Arbuskulärer Mykorrhizapilz- *Funneliformis mosseae*

In diesem Versuch wurde *Funneliformis mosseae* (BEG 12) als Vertreter der arbuskulären Mykorrhiza (AMP) ausgewählt. Das Inokulum war ein kommerziell erhältliches Produkt (BIORIZE/Agrauxine, Quimper, Frankreich). Dieses Produkt enthielt sowohl getrocknete Bodenanteile, Steine als auch Pflanzenwurzeln. In dieser Mischung befanden sich sowohl Mykorrhizasporen als auch infizierte Pflanzenwurzeln, die für die Inokulation benötigt wurden. Gelagert wurde das Inokulum im Kühlschrank bei etwa 6-8 °C.

3.4. Rhizoboxen

Dieser Versuch wurde als Dualkultur in Rhizoboxen angelegt. Eine Rhizobox bestand aus 12 Einzelkammern wobei jeweils 2 Kammern miteinander verbunden waren, die nur durch ein engmaschiges Kunststoffnetz (Nylon, Maschenweite $\text{\O} = 40 \mu\text{m}$) unterteilt wurden. Fol und AMF waren in der Lage dieses Netz zu durchdringen, die Wurzeln der Pflanze jedoch nicht. Die Abmessungen des gesamten Systems betragen $39,5 \times 12,0 \times 12,5 \text{ cm}$. Eine Einzelkammer kam mit $5,0 \times 5,0 \times 10,0 \text{ cm}$ auf ein Volumen von 250 cm^3 (250 ml). Die Versuche wurden mit Tomate und Porree als Mischpartner durchgeführt. In den Varianten T/T teilten sich zwei Tomatenpflanzen eine Doppelkammer. In T/L waren es eine Tomatenpflanze und eine Porreepflanze.



Abbildung 11: Zusammenbau der Rhizoboxen. Feines, weißes Trenngewebe zwischen den Kammern.

3.5. Anbau

Der Anbau erfolgte in Rhizoboxen und wurde in zwei Serien unterteilt. Diese unterschieden sich durch zeitversetzten Versuchsstart. Serie I startete am 21. März 2014 und Serie II am 17. April 2014. Jede Serie bestand aus 8 Boxen.

Als Pflanzsubstrat diente eine Mischung aus Sand:Leca:Pflanzerde im Verhältnis 1:1:1 (v/v/v). Die Pflanzerde wurde autoklaviert (20 min bei 121 °C), um ungewünschte Pathogen auszuschalten. Das Substrat wurde gut durchmischt und in Rhizoboxen gefüllt. Der Versuch fand im Glashaus unter natürlichen Bedingungen statt. Die Bewässerung erfolgte je nach Bedarf der Pflanzen mit Leitungswasser.

Die Anbauvarianten waren:

1. Kontrolle
2. Fol
3. AMP
4. AMP+Fol

In jeder Variante gab es zwei Rhizoboxen: Die erste wurde ausschließlich mit Tomaten bepflanzt (T/T). Die zweite mit 6 Tomaten- und 6 Porreepflanzen (T/L). Tomate und Porree wurden in Dualkultur kultiviert. Dies bedeutet, dass sich je eine Tomatenpflanze und eine Porreepflanze eine große Kammer teilten. Sie waren nur durch ein Kunststoffnetz voneinander getrennt.

Vor dem Pikieren musste für die Varianten Fol und AMP+Fol Sporensuspension hergestellt werden. Hierzu wurden 2 Wochen alte Fol Kulturen (2 Platten) unter sterilen Bedingungen mit je 10 ml ddH₂O geflutet, die Sporen mit einem Spatel aus dem Myzel gelöst und die Flüssigkeit filtriert. Im nächsten Schritt werde die Sporenkonzentration mittels Thomakammer (Thoma neu, Marienfeld-Superior, Deutschland) errechnet. Hierzu wurden 4 Gruppenquadrate zu je 16 Kleinquadraten ausgezählt und die Sporenkonzentration mit Hilfe einer Formel (Gesamtanzahl der ausgezählten Sporen / die Anzahl der Kleinquadrate (64) x 4000000) errechnet. Das Ergebnis gibt die Anzahl der Sporen pro ml an. Die Sporenkonzentration wurde auf Basis dessen mit ddH₂O auf 10⁵ Sporen ml⁻¹ eingestellt.

Die Pflanzen der Varianten Fol und AMP+Fol wurden vor dem Pikieren für 5 Minuten in die Sporensuspension getaucht. Die Varianten Kontrolle und AMP wurden für 5 Minuten in dH₂O getaucht. Bei den Varianten AMP und AMP+Fol wurde die AMP *Funneliformes mosseae* in das Pflanzloch zugegeben bevor die Pflanzen pikiert wurden. Nach der Pflanzung wurden alle Pflanzen eingegossen und die Rhizoboxen ins Glashaus gestellt.

Am 24.03.2014 mussten 5 Pflanzen nachpikiert werden da sie den Anbau nicht überstanden.

Bereits am 03.04.2014 waren erste Symptome von Nährstoffmangel zu erkennen. Der Grund dafür lag im verwendeten Substrat, welches sehr nährstoffarm war. Um diesen Mangel auszugleichen wurde wöchentlich -P Dünger zugegeben. Es wurden jeweils 50 ml dieser Düngelösung pro Pflanze und Woche verabreicht. Bereits nach einer Woche waren die Symptome stark reduziert.

In den 6 Wochen bis zur Ernte wurden die Pflanzen regelmäßig gegossen, begutachtet und gedüngt



Abbildung 12: Violett verfärbte Blätter und Stammbasis als Reaktion auf Nährstoffmangel

3.6. Herstellung von –P Dünger

Der flüssige –P Dünger wurde in einem 10 l Kanister angemischt um ausreichend Dünger für die Wachstumsperiode bzw. Versuchsdauer zu haben. Der Kanister wurde zu ungefähr zwei Drittel mit VE-Wasser gefüllt und anschließend mit den einzelnen Komponenten des –P Dünger versetzt. Die Komponenten lagen alle in flüssiger Form als Stammlösungen vor und wurden direkt in den 10 l Kanister pipettiert. Nach jeder Komponente wurde der Kanister verschlossen und gut durchmischt. Am Ende wurde der Kanister mit VE-Wasser aufgefüllt.

Der Dünger setzt sich aus folgenden Inhaltsstoffen zusammen:

Komponenten	g/l Stammlösung	ml Stammlsg./l -P
Calciumnitrat	0,57000	2,0
Kaliumsulfat	0,26175	5,0
Kalium-di-Hydrogenphosphat	0,01222	0,1
Magnesiumsulfat	0,36972	1,5
Ammoniumnitrat	0,00800	0,2
Lösung A		0,5
Fertilon	0,05000	
Lösung B		0,5
Natriumtetraborat	0,00130	
Lösung C		0,5
Mangansulfat	0,00150	
Zinksulfat	0,00060	
Kupfersulfat	0,00045	
Lösung D		0,5
Aluminiumsulfat	0,00003	
Nickelsulfat	0,00003	
Kobaltnitrat	0,00003	
Titandioxid	0,00003	
Lithiumchlorid	0,00001	
Zinnchlorid	0,00001	
Kaliumjodid	0,00001	
Kaliumbromid	0,00001	
Lösung E		0,5
Molybdänoxid	0,00007	

3.7. Ernte

Die Ernte der Pflanzen erfolgte sechs Wochen nach dem Anbau an zwei Terminen. Serie I wurde am 29. und 30. April 2014 geerntet und Serie II am 27. und 28. Mai. Vor Erntebeginn wurde eine Codierung entwickelt, um alle Proben ausnahmslos rückverfolgen zu können. Dieser Code war in allen Experimenten gleich und kann daher einer bestimmten Pflanze zugeordnet werden.

Bei der Ernte mussten die Rhizoboxen sorgfältig demontiert werden um das Wurzelsystem nicht zu schädigen. Im nächsten Schritt wurden die Wurzeln händisch unter dem Wasserhahn abgespült, um alle an den Wurzeln anhaftenden Substratreste zu entfernen. Bei dieser Arbeit galt es darauf zu achten, die Wurzeln nicht zu beschädigen.



Abbildung 13: Abbildung einer *FoI* Rhizobox. Sehr dichtes Wurzelgeflecht trotz Infektion. Die Pflanze in der Mitte zeigt deutliche Wachstumsdepressionen



Abbildung 14: Gleichmäßiger Wuchs bei Porree und sehr feine Wurzelstrukturen

Anschließend wurden die Wurzelsysteme der Pflanzen für 6 Stunden in Acetatpuffer gelagert um Wurzelexsudate zu gewinnen. Je zwei Pflanze pro Exsudat wurde separat behandelt und in dunklen Gläsern gelagert. Für Tomaten wurden 60 ml Puffer pro Exsudat benötigt um alle Wurzeln zu bedecken. Bei Porreepflanzen waren es 5 ml pro Exsudat. Ein Exsudat setzte sich immer aus zwei Tomaten- oder Porreepflanzen zusammen.



Abbildung 15: Extraktion der Wurzelexudate durch einen Acetat-Puffer in dunklen Gläsern

Nach Ablauf der 6 stündigen Extraktionszeit wurde bei allen Pflanzen Wurzel- und Sprossgewicht, Wurzel- und Sprosslänge, Fol Infektion und BBCH Stadium bestimmt. Die Fol Infektion wurde optisch mit Hilfe einer Boniturskala nach Wellman (1939) beurteilt und die Länge der Verbräunung gemessen. Daraus ergibt sich sowohl eine Boniturnote als auch eine quantifizierbare, gemessene Länge, die in Relation zur Gesamtlänge der Pflanze gesetzt werden kann.



Abbildung 16: Visuelle *Fusarium* Bonitur. Verbräunte Leitungsbahnen (Xylem) einer infizierten Pflanze.

Um den visuellen Fol Nachweis zu bestätigen wurde ein circa 1 cm langes Stück des untersten Teiles des Sprosses herausgeschnitten, in 70 % Ethanol getaucht, abgeflämmt und auf PDA Platten inkubiert. Die PDA Platten enthielten 10 mg/l Streptomycinsulfat um die Selektivität des Mediums für *Fol* zu erhöhen und unerwünschte Kontaminationen auszuschließen. Die Auswertung der Platten erfolgte am 22.05.2014 und am 13.06.2014.

Zur Bestimmung der Mykorrhizierung wurden etwa 2 cm lange Wurzelstücke aus dem oberen Bereich geschnitten und in 30%igem Ethanol gelagert. Die verbleibenden Spross- und Wurzelteile wurden getrennt voneinander in Papiersäcke verpackt, um sie anschließend zu trocknen. Die Bestimmung der Trockengewichte erfolgte mittels einer Feinwaage (Denver Instrument SI-4002 A, Satorius Corporation, Buhemia, NY, USA).

Für die Weiterverarbeitung der Wurzelexsudate mussten diese auf eine Verdünnung von 1:10 eingestellt werden. Hierzu wurden die Wurzelgewichte der beiden im Puffer befindlichen Pflanzen addiert und mit dem Faktor 10 multipliziert. Die errechnete Menge musste nun von den vorhandenen 60 ml pro Exsudat abgemessen werden. Im nächsten Schritt wurde das Exsudat durch 50 ml Steriflips (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) gefiltert, bei -80 °C eingefroren und bis zur weiteren Verwendung gelagert.

3.8. WinRhizo- Wurzelparameter

WinRhizo (Regent Instruments Inc., Kanada) ist eine Software mit deren Unterstützung digitale Bilder von Wurzeln vermessen werden können. Hierzu wird eine Wurzelprobe entweder direkt oder in einer durchsichtigen, mit Wasser gefüllten Schale auf einem Flachbettscanner platziert und anschließend vermessen. Mit diesem System können morphologische Merkmale (Länge, Durchmesser, Oberfläche) der Wurzeln, Wurzelarchitektur oder Farbunterschiede analysiert werden.

3.9. Mykorrhizierung

Um die Mykorrhizierungsrate der Pflanzen zu bestimmen wurden die Wurzeln nach der Methode von Vierheilig et al. (1998) in 10 % KOH gebleicht und anschließend mit 5% Essigtintenlösung eingefärbt. Die genaue Kochzeit in KOH ist abhängig von der Pflanzenart und dem Wurzeldurchmesser. Die optimale Kochzeit wurde in einem Vorversuch ermittelt und betrug für Tomatenwurzeln 4 min und für Porreeurzeln 3 min. Hierzu wurden die in 30 % Ethanol gelagerten Wurzelproben vorsichtig mit Wasser gespült und anschließend 10 % KOH hinzugefügt. Die Proben wurden bei 90 °C für die oben beschriebene Zeit im Wasserbad (Julabo 13, Julabo Inc., Allentown, PA, USA) gekocht. Die Proben befanden sich zu diesem Zeitpunkt in 15 ml Röhrchen, deren Verschlüsse während des Kochens geöffnet waren. Nach Ablauf der Kochzeit wurden die Proben abermals mit Wasser gespült. Die Wurzeln waren nun gebleicht und daher durchsichtig. Um Pilzstrukturen der Mykorrhiza sichtbar zu machen, wurden die Wurzeln im nächsten Schritt mit 5 % Essigtinte gefärbt. Diese bestand aus Sheaffer®-Tinte (A. T. Cross Company, Lincoln, RI, USA) der Farbe blauschwarz und Haushaltsessig mit 5 % Essigsäure. Nach diesem Vorgang wurden die Proben ein letztes Mal mit Wasser gewaschen und wieder in 30 % Ethanol bis zu deren Auswertung gelagert.

Die Mykorrhizierungsrate wurde nach der Methode von McGonigle (1990) bestimmt. Hierzu musste eine gefärbte Wurzelprobe in eine spezielle Petrischale überführt und zerkleinert werden. Die Petrischale zeichnet sich durch ein eingeritztes Raster aus und ermöglicht die Bestimmung der Mykorrhizierungsrate. Bei dieser Methode werden alle Wurzelstücke, die Linien kreuzen gezählt. Dabei wird mit den waagerechten Linien begonnen und 100 Wurzelstücke gezählt. Ergeben sich bei den waagerechten zu wenige Schnittpunkte wird mit den vertikalen Linien fortgefahren (Zählschema siehe Abb.19). Unterschieden wird zwischen mykorrhiziert und nicht mykorrhiziert. Durch die Auszählung von 100 Wurzeln ergibt das Ergebnis automatisch den %-Anteil der Mykorrhizierung.

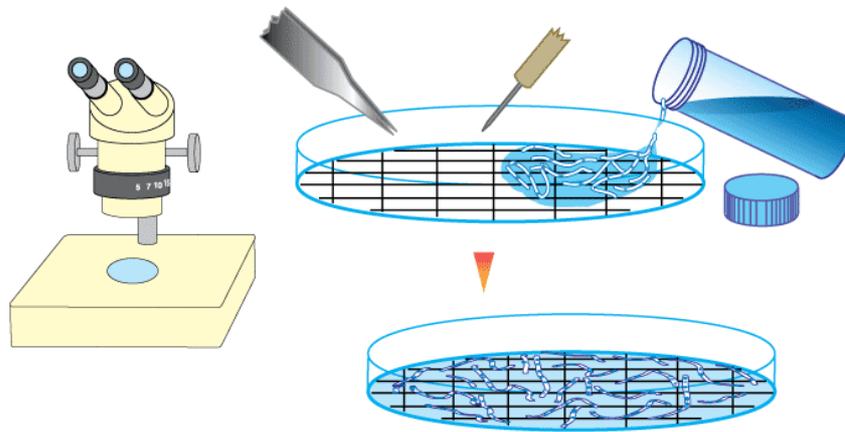


Abbildung 17: Verteilung der kleingeschnittenen Wurzelteile auf einer Petrischale

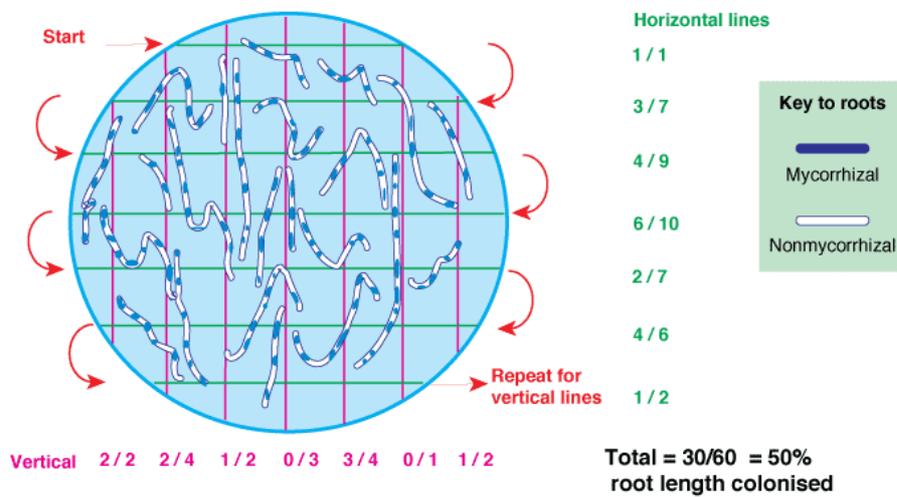


Abbildung 18: Zählschema bei der Auswertung des Mykorrhizierungsgrades

<http://mycorrhizas.info/roles.html> (16.12.2014, 11:04)

3.10. Mikrokonidienkeimung von *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Vor Beginn der Exsudattests mussten alle Wurzelexsudate aliquotiert und dabei auf eine Verdünnung von 1:20 eingestellt werden. Zur Aliquotierung mussten die 50 ml Falcontubes aufgetaut und in je 5 Eppies (1,5 ml Inhalt) und ein 15 ml Falcontube pro Exsudat pipettiert werden. Die Proben, bei denen die passende Verdünnung von 1:20 durch Zugabe von dH₂O nicht möglich war, mussten sublimiert werden. Als Sublimation bezeichnet man den Prozess der Gefriertrocknung. Hierzu wurde eine Anlage von Christ (Beta 2-4 LDplus LT, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Deutschland) verwendet. Bei diesem System handelte es sich um ein Gerät, dass mit zwei Kammern arbeitet. In der oberen Acrylglaskammer, der Trockenkammer befanden sich die tiefgefrorenen Proben (-80 °C) in einem Vakuum. In der unteren Kammer steckte der Kondensator, der die Temperatur im unteren Bereich des Gerätes auf -105 °C absenkte. Die Leistung des Eiskondensators betrug 2 kg/24 h. Die Gefriertrocknung wird zur schonenden Trocknung von temperaturempfindlichen Proben eingesetzt. Die Trocknung der Probe erfolgt direkt aus dem Eiszustand der Probenflüssigkeit unter Umgehung der flüssigen Phase. Der kritische Punkt an dem eine Flüssigkeit in allen drei Phasen gleichzeitig auftritt wird als Tripelpunkt (für H₂O p=6,1 hPa, T=0 °C) bezeichnet. Dieser Punkt muss bei der Gefriertrocknung unterschritten werden. Dazu müssen sowohl Temperatur als auch Druck abgesenkt werden. In dem Verwendetem Gerät herrschte ein Druck von p=0,0010 hPa und eine Temperatur von ca. – 75 °C in der oberen Kammer.



Abbildung 19: Gefriertrocknung bei der Trocknung zweier Proben

Um die Wurzelexsudate auf eine vorhandene Biokontrollwirkung zu testen, wurden diese einem sogenannten Sporenkeimtest unterzogen. Hierbei handelt es sich um eine quantitative Bestimmung der gekeimten Sporen pro Zeiteinheit. Dieser Versuch fand unter sterilen Bedingungen statt. Zu Beginn des Experimentes musste eine Fol Sporensuspension hergestellt werden. Dazu wurden 1- 2 Fol Kulturen (Je nach Sporenkonzentration) mit 10 ml dH₂O geflutet, die Sporen mittels Spatel aus dem Myzel gelöst und durch drei Lagen Filterpapier gefiltert (Vliesscheiben für Kannenfilter, Laporte Ges.m.b.H., Wels, Österreich). Anschließend wurde die Sporenkonzentration unter Zuhilfenahme einer Zählkammer (Thoma-Kammer) bestimmt. Die Sporenkonzentration wurde mit dH₂O auf die gewünschte Konzentration von 1,0x10⁷ eingestellt werden. Die fertige Sporensuspension wurde danach bis zu deren Verwendung im Kühlschrank bei 6 °C gelagert.

Nach Ansatz der Sporensuspension wurde der eigentliche Versuch durchgeführt. Um die Sporenkeimung zu überprüfen wurden Tests in sterilen 24 Well-Platten (Greiner bio-one, No. 662160, Frickenhausen, Deutschland) durchgeführt. Die Belegung der Platten erfolgte nach folgendem Schema:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand
B	Rand	CzDox	dH ₂ O	Blank	Probe	Rand						
C	Rand	CzDox	dH ₂ O	Blank	Probe	Rand						
D	Rand	CzDox	dH ₂ O	Blank	Probe	Rand						
E	Rand	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Rand
F	Rand	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Rand
G	Rand	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Probe	Rand
H	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand	Rand

Abbildung 19: Plattenbelegung eines Sporenkeimtests. Abstoppen des Sporenwachstums bei allen Proben, +Kontrolle (CzDox), –Kontrolle (dH₂O) und Blank (Acetat-Puffer) nach 20 Stunden durch 10 µl 1:10 Lactophenolblau.

Inhalt der einzelnen Kammern:

- CzD: 175 µl CzD + 35 µl Sporensuspension
- dH₂O: 175 µl dH₂O + 35 µl Sporensuspension
- Blank: 175 µl Acetat-Puffer + 35 µl Sporensuspension
- Proben: 175 µl Probe + 35 µl Sporensuspension
- Rand: 210 µl dH₂O

Die Belegung erfolgte in dreifacher Wiederholung. Dies bedeutet, dass jede Probe 3 Wells belegt, die anschließend ausgezählt wurden. Die belegten Platten wurden verschlossen und bei Dunkelheit und Raumtemperatur für 20 h inkubiert. Dabei wurden die Proben durch einen Schüttler (Edmund Bühler GmbH., Hechingen, Deutschland) mit 150 U/min bewegt. Nach Ablauf der 20 h wurde das Sporenwachstum durch Zugabe von 10 µl 10% Lactophenolblau abgestoppt und Sporen blau eingefärbt. Die Zugabe erfolgte unter einem Abzug.

Die Auszählung der Platten erfolgt mikroskopisch (Olympus BX53, Tokio, Japan). Hierzu wurde jedes Well dreifach ausgezählt, wodurch man pro Probe auf neun Werte bekommt. Zur Mikroskopierung wurde die Probe in dreifacher Wiederholung auf einen Objektträger aufgebracht und anschließend mikroskopiert. Ausgezählt wurden 200 Sporen pro Probe. Unterschieden wurde dabei zwischen gekeimt und nicht gekeimt wobei Sporen, deren Keimschlauch kleiner als die Spore selbst war, als nicht gekeimt bezeichnet wurden.

3.11 Statistische Auswertung

Alle Daten wurden in Microsoft Excel 2010 gesammelt und für die statistische Auswertung aufbereitet. Die statistische Auswertung erfolgte durch PASW Statistics 18 (IBM Corporation, USA). Die Grafiken wurden im SigmaPlot™ 12.5 (Systat Software Inc., USA) gefertigt.

Bevor die Daten mit statistischen Tests ausgewertet wurden, mussten sie auf Varianzhomogenität geprüft werden. Für die Anwendung parametrischer Testverfahren (t-Test, ANOVA,...) sind Varianzhomogenität und Normalverteilung der Messwerte Grundvoraussetzung. Die Überprüfung der Werte erfolgte durch Anwendung des Levene Tests (Levene, 1960). Bei einem p-Wert über 0,5 (Levene) sind die Varianzen homogen und die Auswertung kann durch parametrische Testverfahren erfolgen. Levene Ergebnisse unter $p=0,5$ deuten auf ungleiche Varianzen hin. Die Auswertung muss durch nichtparametrische Testverfahren erfolgen (Welch-ANOVA).

Für **Sprosslänge, Sprossgewicht und Wurzelgewicht** ergaben die Levene Tests mit jeweils Werten von 0,000 ($p<0,5$) signifikant unterschiedliche Varianzen, wobei die Werte in allen untersuchten Parametern asymptotisch F-verteilt sind. Anhand dieser Ergebnisse mussten für die Auswertung der Daten nichtparametrische Testverfahren verwendet werden. Es wurde eine Welch-ANOVA mit anschließendem Games-Howell Post Hoc Test durchgeführt.

Das **WinRhizo** Bildanalysesystem wurde eingesetzt um das Wurzelsystem zu vermessen. Wurzellänge und Wurzeloberfläche sowie durchschnittlicher Wurzeldurchmesser und Durchmesserklassen-Verteilung wurden durch die Software berechnet. Die Auswertung der WinRhizo Daten erfolgte auf Grund der ungleichen Varianzen durch Welch-ANOVA mit anschließendem Games-Howell Post Hoc Test.

Die Auswertung von **Mykorrhizierungshäufigkeit und -stärke** erfolgte mit Microsoft Excel unter Verwendung der unten angegebenen Formeln. Um Befallshäufigkeit und Befallsstärke errechnen zu können mussten die Boniturdaten in Klassen eingeteilt werden. Insgesamt entstanden so 5 Klassen:

1. 0% Mykorrhiza
2. 1-5% Mykorrhiza
3. 6-25% Mykorrhiza
4. 26-50% Mykorrhiza
5. >50% Mykorrhiza

Für die Berechnung der Mykorrhizierungshäufigkeit wurde folgende Formel verwendet (abgeleitet von Hage-Ahmed et al. 2013):

$$\text{Mykorrhizierungshäufigkeit} = \frac{\text{Anzahl der mykorrhizierter Pflanzen}}{\text{Gesamtanzahl der Pflanzen}} \times 100$$

n= die Anzahl an Pflanzen

g= Boniturklasse

Die Mykorrhizierungsstärke errechnet sich mit folgender Formel (abgeleitet von Hage-Ahmed et al. 2013):

$$\text{Mykorrhizierungsstärke} = \frac{5 \times (ng1 + 2ng2 + 5ng3 + 10ng4 + 20ng5)}{n \text{ mykorrhizierter Pflanzen}}$$

Bei der Mykorrhizierung waren die Daten ungleich verteilt. Die Auswertung wurde mit Welch-ANOVA und anschließendem Games-Howell Post Hoc Test durchgeführt.

Die Auswertung von **Fol-Befallshäufigkeit und Befallsstärke** erfolgte mit Microsoft Excel unter Verwendung der unten angegebenen Formeln. Um Befallshäufigkeit und Befallsstärke errechnen zu können, mussten die Boniturdaten in Klassen eingeteilt werden. Insgesamt entstanden so 5 Klassen:

1. Boniturnote 1
2. Boniturnote 2
3. Boniturnote 3 und 4
4. Boniturnote 5 und 6
5. Boniturnote ≥ 7

Für die Berechnung der Befallshäufigkeit wurde folgende Formel verwendet (Hage-Ahmed et al. 2013):

$$\text{Befallshäufigkeit} = \frac{\text{Anzahl der infizierten Pflanzen}}{\text{Gesamtanzahl der Pflanzen}} \times 100$$

n= die Anzahl an Pflanzen

g= Boniturklasse

Die Befallsstärke errechnet sich mit folgender Formel (Hage-Ahmed et al. 2013):

$$\text{Befallsstärke} = \frac{5 \times (ng1 + 2ng2 + 5ng3 + 10ng4 + 20ng5)}{n \text{ kranker Pflanzen}}$$

Bei der Auswertung der *FoI* Boniturklassen ergab sich beim Levene Test ein Wert $p < 0,5$ woraus sich ergab, dass die Daten ungleich verteilt waren. Die Auswertung wurde mit Welch-ANOVA und anschließendem Games-Howell Post Hoc Test durchgeführt.

Die Daten der **Sporenkeimtests** zeigten sich ebenfalls inhomogen. Hier wurde eine Welch-ANOVA und anschließendem Games-Howell Post Hoc Test verwendet um die Daten auszuwerten.

4. Ergebnisse

4.1. Wachstumsvergleich

4.1.1 Sprossgewicht (trocken)

Die statistische Auswertung des Sprossgewichtes (trocken) durch Welch-ANOVA mit anschließendem Games-Howell Post-Hoc Test ergab mit $p=0,002$ signifikante Unterschiede zwischen den Varianten (Abbildung 21). In der Variante AMP_TL_T konnte eine signifikante Zunahme des Sprossgewichtes beobachtet werden. Die Nullhypothese ist daher zu verwerfen und die Alternativhypothese anzunehmen. Es besteht ein Unterschied zwischen den unterschiedlichen Versuchsvarianten hinsichtlich der Trockengewichte des Sprosses. Um den Einfluss des Mischpartners Porree zu testen wurden TT und TL_T innerhalb der Varianten miteinander verglichen. Tendenzen hinlänglich des Mischpartnereinflusses konnten nur in Variante AMP_TL_T signifikant untermauert werden.

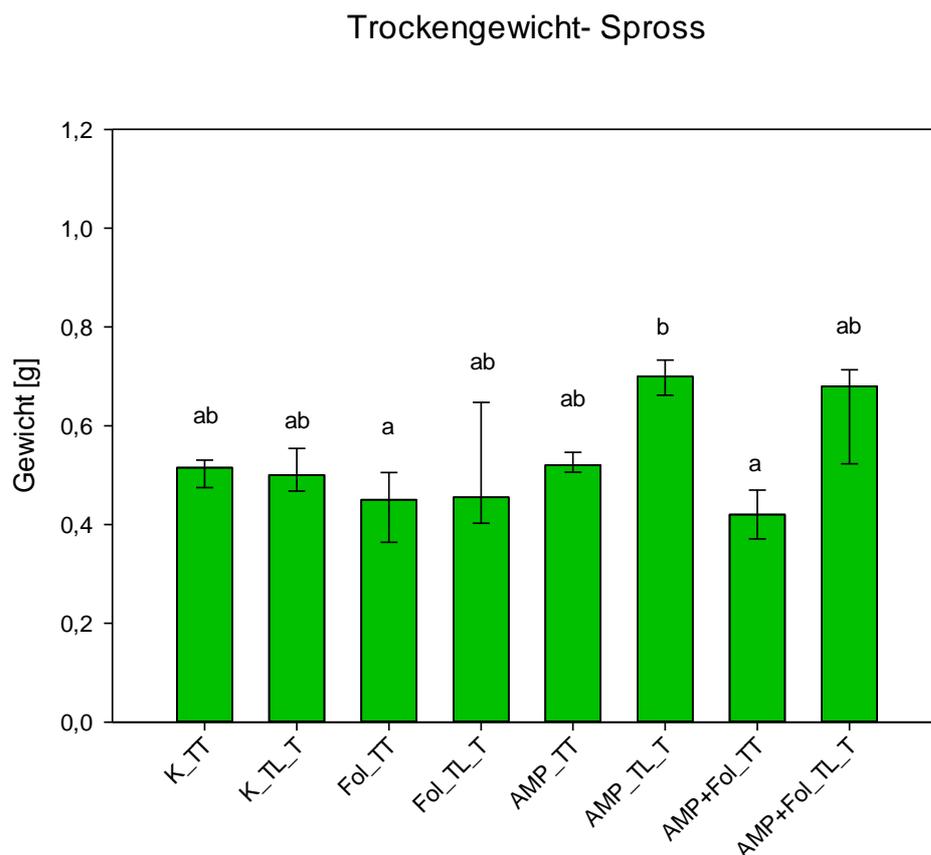


Abbildung 20: Säulenendiagramm der Mittelwerte des Spross-Trockengewichts ($MW \pm S.E.$) der Tomatenvarianten. Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet (Welch-ANOVA, $p < 0,05$).

4.1.2 Wurzelgewicht (trocken)

Tendenziell verhielt sich der Verlauf des Wurzelrockengewichts ähnlich dem Trockengewicht des Sprosses. Statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich zwischen den Varianten nach Anwendung einer Welch-ANOVA ($p=0,71$) mit anschließendem Games-Howell Post Hoc Test jedoch keine (Abbildung 22). Der Vergleich innerhalb der Varianten ergab keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Mischpartners. Porree hatte keinen Einfluss auf das Wurzelgewicht der Tomatenpflanzen.

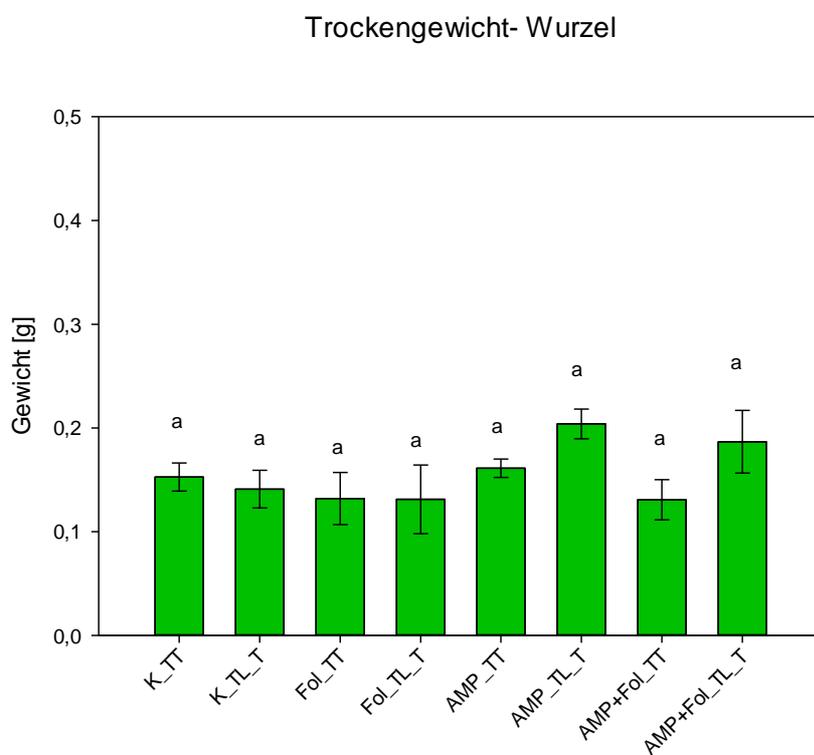


Abbildung 21: Säulendiagramm der Mittelwerte des Wurzel-Trockengewichts ($MW \pm S.E.$). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet (Welch-ANOVA, $p < 0,05$).

4.1.3 Sprosslänge

Die statistische Auswertung durch Welch-ANOVA mit anschließendem Games-Howell Post Hoc Test der Sprosslänge ergab signifikante ($p=0,000$) Ergebnisse (Abbildung 23). Es konnte eine Abnahme der Sprosslänge in den Varianten Fol_TT und AMP+Fol_TT festgestellt werden. In der Variante AMP_TL_T waren die Sprosslängen hingegen signifikant erhöht. Es besteht ein Unterschied zwischen den unterschiedlichen Versuchsvarianten bezüglich der Sprosslänge. Der Mischpartner Porree konnte die Sprosslänge in Variante AMP+Fol_TL_T im Vergleich zu AMP+Fol_TT signifikant erhöhen. AMP konnte die Abnahme der Sprosslänge in den Fol Varianten nicht unterbinden. Porree war jedoch in der Lage die Sprosslänge der Tomaten auf Niveau der Kontrollpflanzen zu halten.

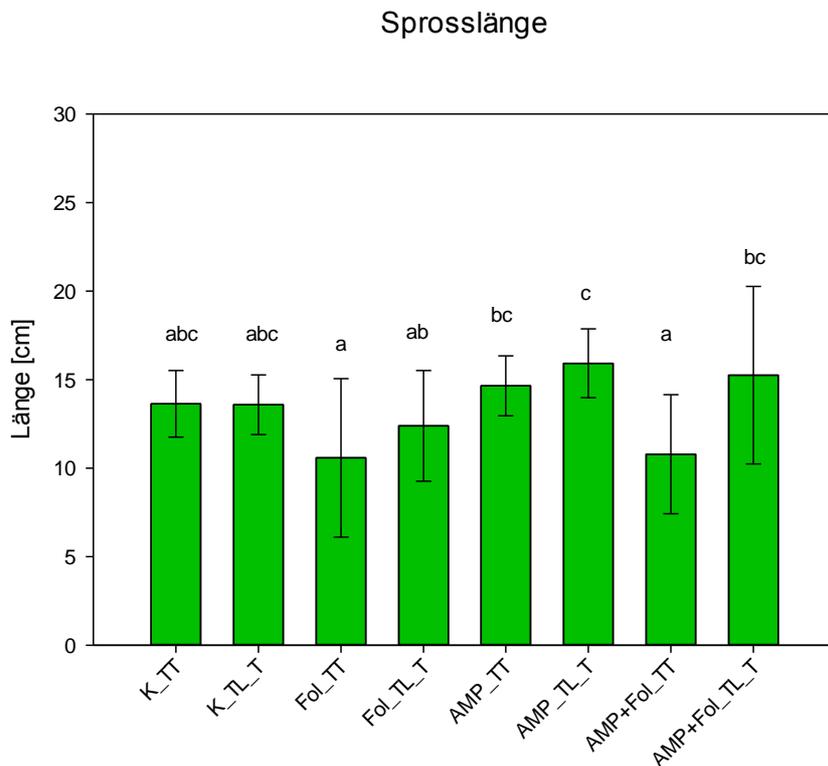


Abbildung 22: Säulendiagramm der Mittelwerte des Sprosslänge (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet (Welch-ANOVA, $p<0,05$).

4.2. WinRhizo: Optische Vergleich der Wurzelsysteme

4.2.1 Wurzellänge

Tendenzen in Abbildung 24 bei denen in den Porreevarianten die Wurzellänge gesteigert wurde, konnten statistisch nicht nachgewiesen werden. Die Auswertung der Daten durch Welch-ANOVA ergab mit $p=0,207$ keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsvarianten. In Abbildung 23 wurden die Fol Varianten und jene ohne Fol zusammengefasst, um den Einfluss des Mischungspartners Porree zu verdeutlichen.

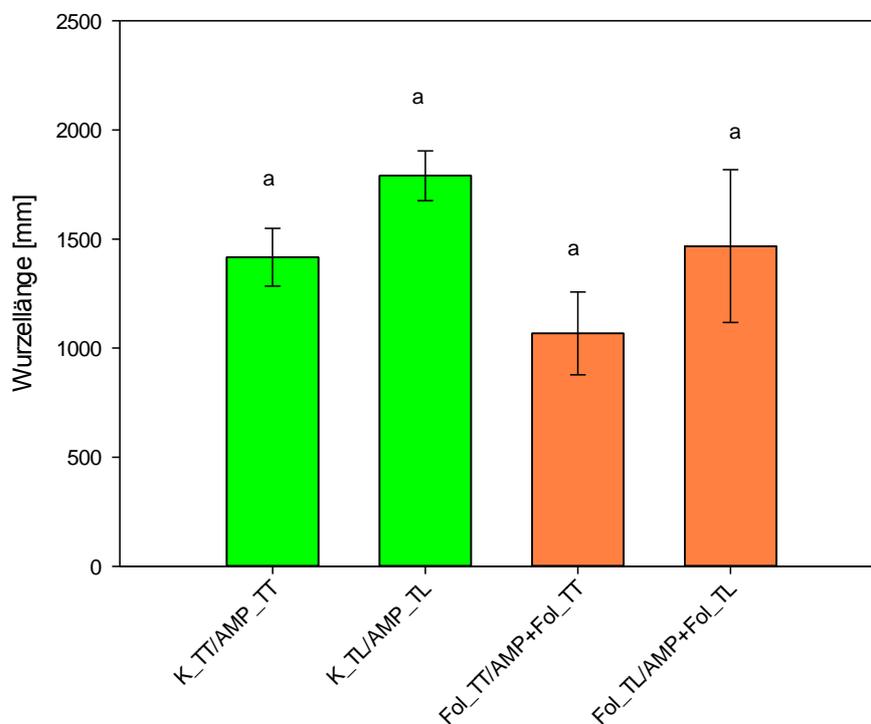


Abbildung 23: Säulendiagramm der Mittelwerte der Wurzellänge (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet (Welch-ANOVA, $p<0,05$).

4.2.2 Wurzeldurchmesser

Die Auswertung des Wurzeldurchmessers zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten (Abbildung 25). Der p-Wert der Welch-ANOVA lag bei $p=0,140$. Die Faktoren AMP und *Fol* hatten keinen Einfluss auf den Wurzeldurchmesser. In Abbildung 24 wurden die *Fol* Varianten und jene ohne *Fol* zusammengefasst, um den Einfluss des Mischungspartners Porree zu verdeutlichen.

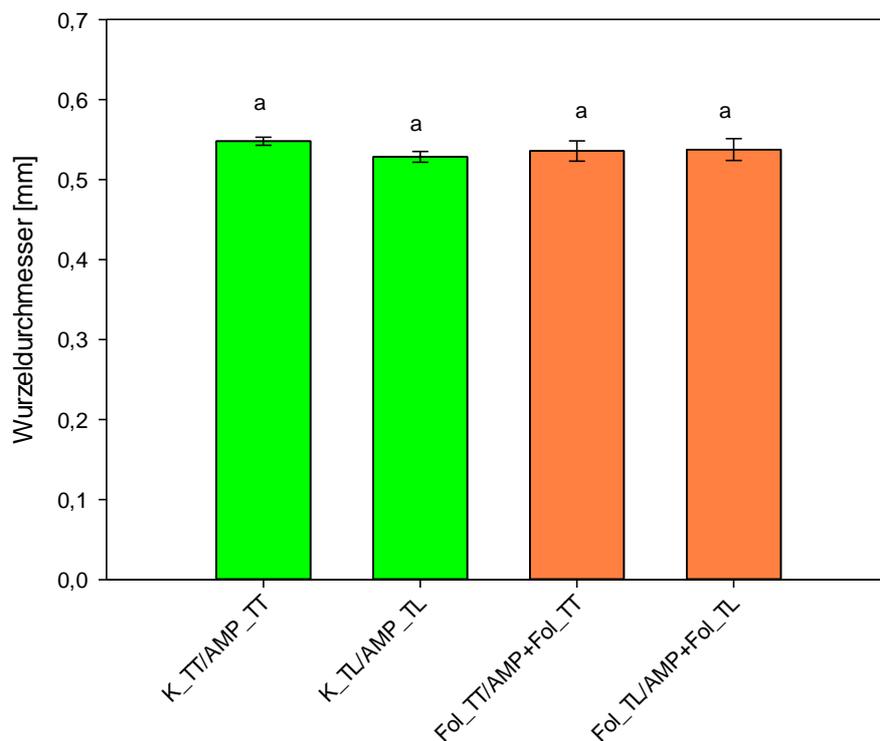


Abbildung 24: Säulendiagramm der Mittelwerte des Wurzeldurchmessers (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet (Welch-ANOVA, $p<0,05$).

4.2.3 Wurzeloberfläche

Die statistische Auswertung der Wurzeloberfläche zeigt Tendenzen, dass Porree die Wurzeloberfläche steigern kann (Abbildung 26). Diese Tendenzen konnten jedoch statistisch nicht nachgewiesen werden (Welch-ANOVA, $p=0,138$). In Abbildung 25 wurden die Fol Varianten und jene ohne Fol zusammengefasst um den Einfluss des Mischungspartners Porree zu verdeutlichen.

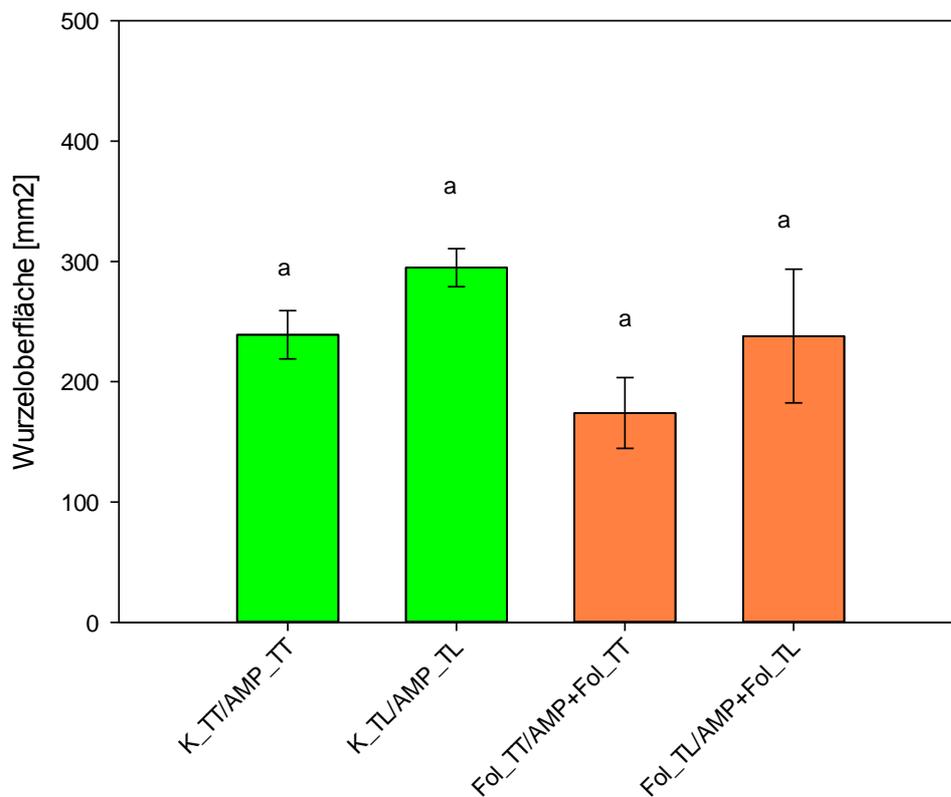


Abbildung 25: Säulendiagramm der Mittelwerte der Wurzeloberfläche (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet (Welch-ANOVA, $p<0,05$).

4.2.4 WinRhizo-Klasseneinteilung

Bei dieser Methode wurde der Wurzeldurchmesser in Klassen eingeteilt und in Beziehung zur gesamten Wurzellänge gesetzt. Abbildung 27 zeigt die größten Wurzelanteile in den Klassen 2 und 3 zwischen 0,2 und 0,6 mm.

Die in Abbildung 27 dargestellten WinRhizo-Klassen unterscheiden sich bis auf Klasse 3 (0,4-0,6mm) nicht signifikant voneinander. In Klasse 3 konnte ein signifikanter Unterschied festgestellt werden (Welch-ANOVA, $p=0,005$). In Klasse 3 unterscheiden sich die Varianten K_TT/AMP_TT und K_TL_T/AMP_TLT signifikant voneinander. Porree als Mischpartner hat in diesem Versuch einen signifikanten Einfluss auf die Durchmesserklasse 3 von Tomatenwurzeln.

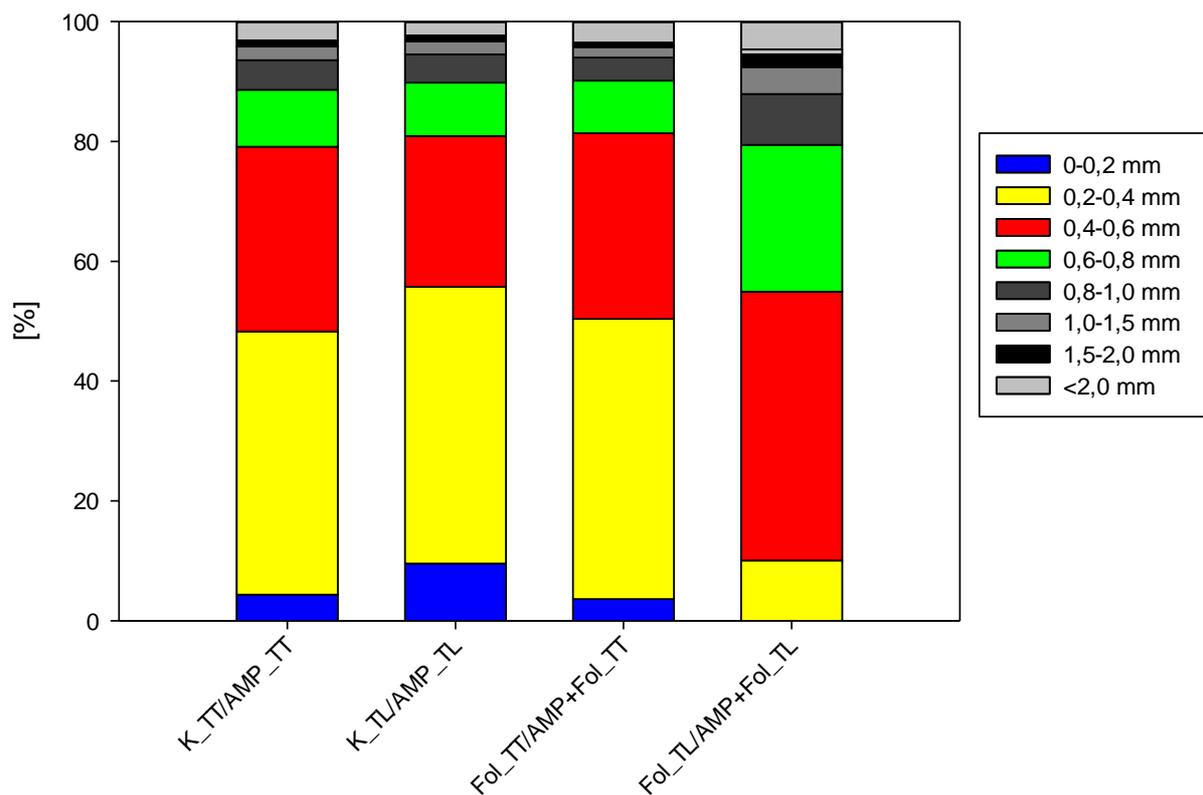


Abbildung 26: Anteil der Durchmesserklassen 1 bis 8 an der gesamten Wurzellänge in %. Werte aus einfaktorieller ANOVA mit dem Faktor Behandlung (Welch-ANOVA, $p<0,05$).

4.3. Mykorrhizierungsgrad

In den Abbildungen 28 und 29 sind Mykorrhizierungsstärke und Mykorrhizierungshäufigkeit dargestellt. Die Häufigkeit zeigt die Anzahl der kolonisierten im Verhältnis zu den nicht kolonisierten Pflanzen während die Stärke einen Eindruck über die Höhe der Mykorrhizierung vermittelt.

In Abbildung 28 ist die Stärke der Mykorrhizierung dargestellt. Die Auswertung zeigt deutliche Tendenzen, ist statistisch jedoch nicht signifikant. Die Mykorrhizierungsstärke liegt in den beiden Porreevarianten höher als in den Tomaten Varianten. Die durchgeführte Welch-ANOVA ($p=0,211$) konnte allerdings keine Unterschiede aufzeigen. Die Mykorrhizierung der Tomaten- und Porreepflanzen unterscheidet sich nur tendenziell.

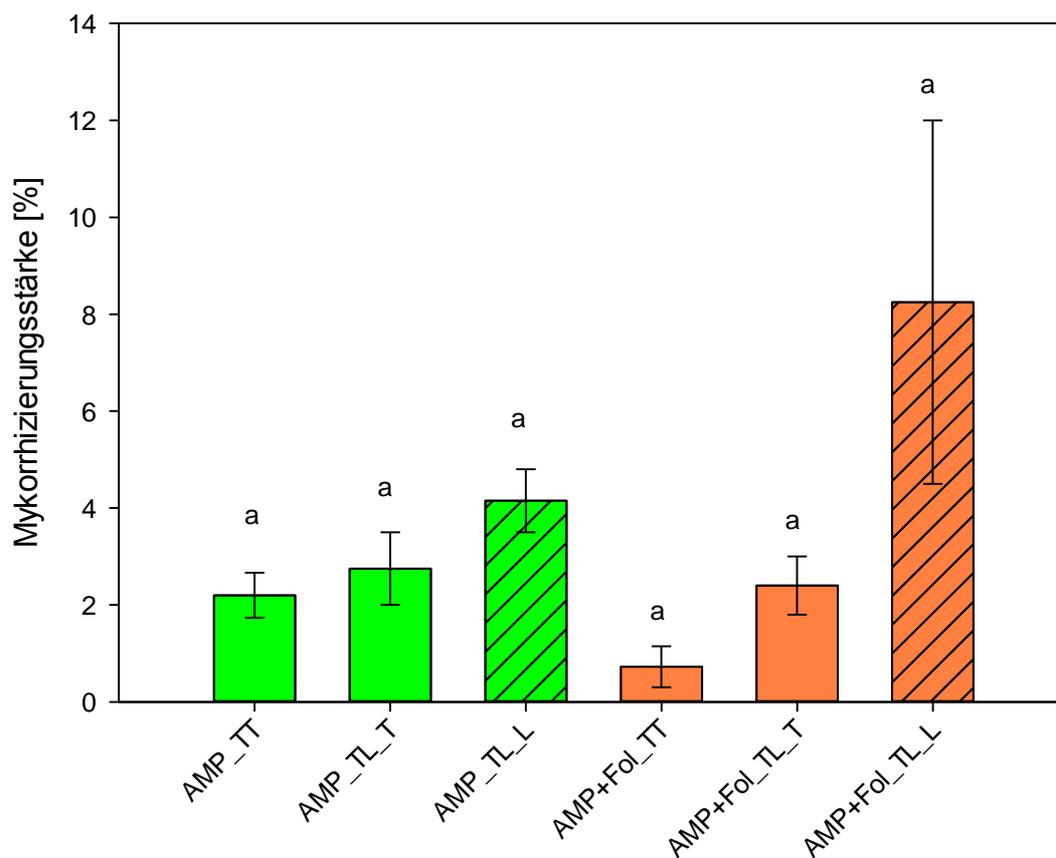


Abbildung 27: Mykorrhizierungsstärke (%) aller AMP Varianten (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet (Welch-ANOVA, $p<0,05$). Porree ist durch schraffierte Säulen gekennzeichnet.

Die Auswertung der Mykorrhizierungshäufigkeit bezieht sich auf das Verhältnis von mykorrhizierten und nicht-mykorrhizierten Pflanzen. In Abbildung 29 zeigt AMP+Fol_TL_L die geringste Häufigkeit und AMP_TL_L die höchste. Die statistische Auswertung der Mykorrhizierungshäufigkeit zeigt signifikante Unterschiede ($p=0,027$; Welch-ANOVA). Lauch wird in Verbindung mit *Fusarium* signifikant seltener mykorrhiziert als Tomate.

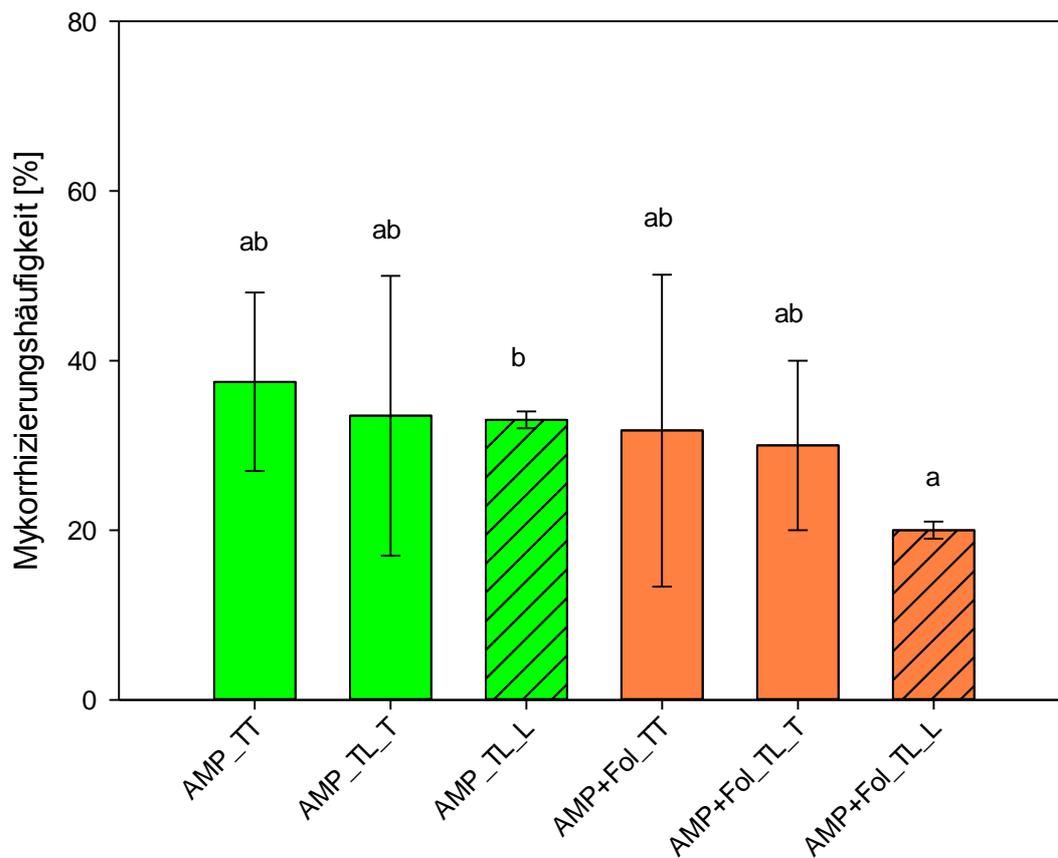


Abbildung 28: Mykorrhizierungshäufigkeit (%) aller AMP Varianten (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet (Welch-ANOVA, $p<0,05$). Porree ist durch schraffierte Säulen gekennzeichnet.

4.4. Fol Befallshäufigkeit und Befallsstärke

Befallshäufigkeit und Befallsstärke sind gängige Begriffe um die Wirkung eines Pathogens auf die Pflanzenentwicklung darzustellen. Die Werte zu den Abbildungen wurden mit den in Material und Methode beschriebenen Formeln errechnet.

In diesem Versuch lag die Befallshäufigkeit zwischen 42 % in Variante AMP+Fol_TL und 75 % in Variante Fol_TL (Abbildung 29). Die Auswertung mittels einfaktorieller ANOVA ($p=0,085$) brachte keine signifikanten Ergebnisse. Tendenzen sind in Abbildung 29 zu erkennen. In diesem Versuch wurden die Tomatenpflanzen der Porreevariante ohne AMP am häufigsten von Fol befallen, die Tomaten der Porreevariante mit AMP hingegen am seltensten.

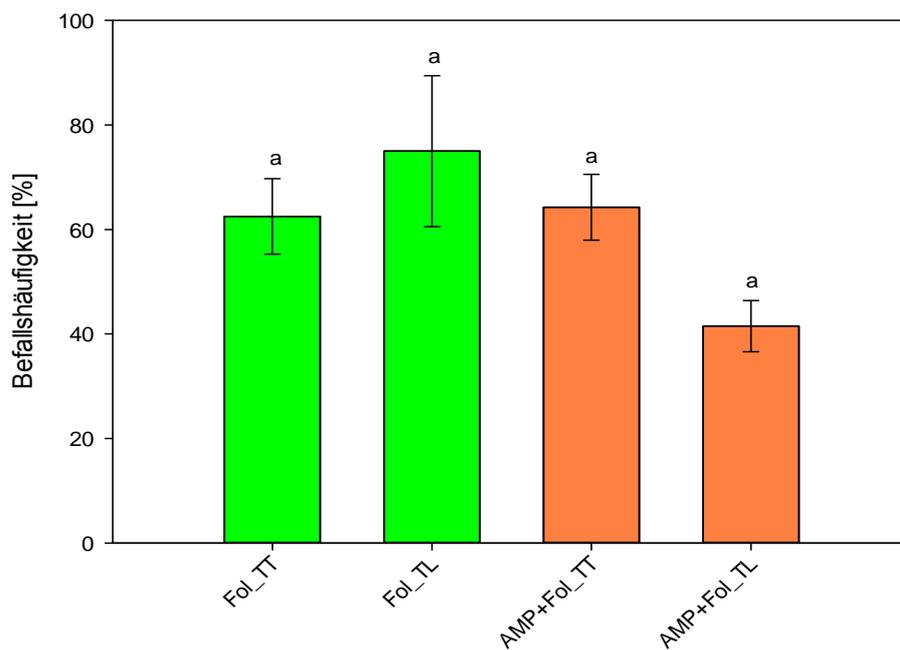


Abbildung 29: Befallshäufigkeit (%) der Pflanzen nach *Fol* Inokulation (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet (Welch-ANOVA, $p<0,05$).

Die Befallsstärke lag zwischen 23 % in Variante FoI_TL und 31 % in Variante AMP+FoI_TL (Abbildung 30). Die Befallsstärke in der Variante AMP+FoI_TL war tendenziell höher ausgeprägt, mittels einfaktorieller ANOVA konnten diese Daten aber statistisch nicht abgesichert werden ($p=0,725$).

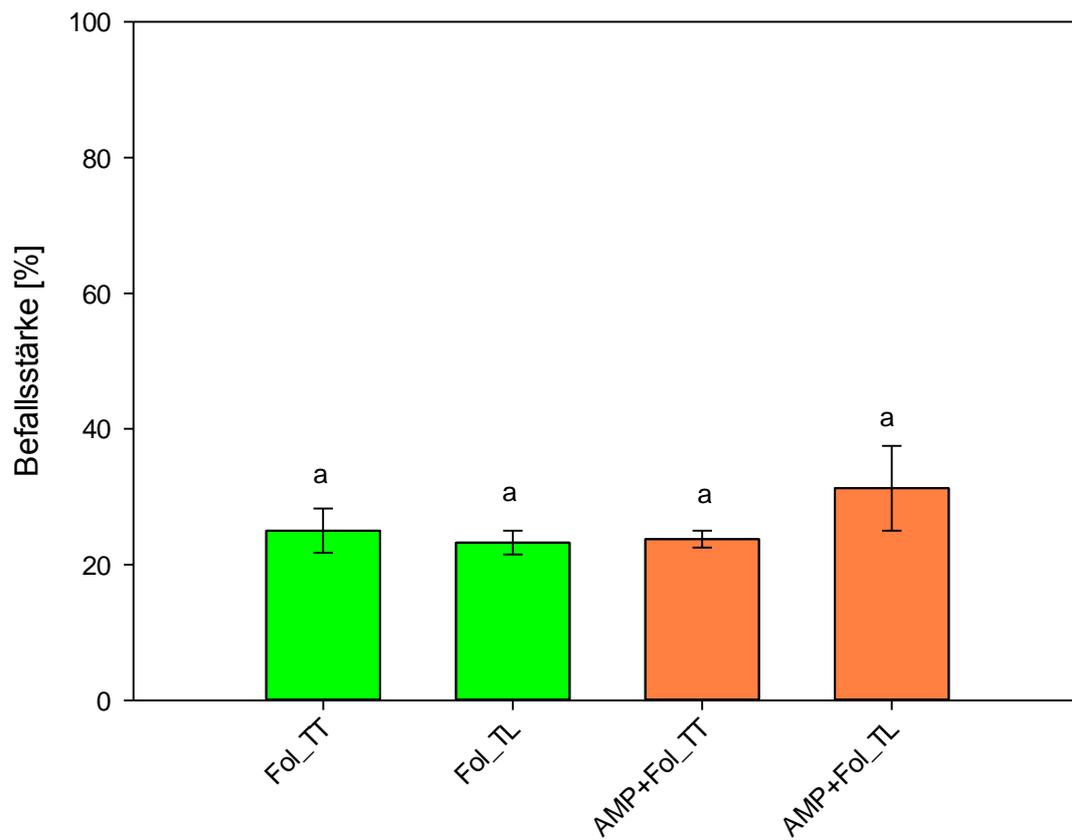


Abbildung 30: Angabe der Befallsstärke (%) in den FoI Varianten

4.5. Mikrokonidienkeimung

In Abbildung 33 wird die Wirkung der unterschiedlichen Behandlungsvarianten auf die Mikrokonidienkeimung dargestellt. Die Sporenkeimtests wurden mittels Welch-ANOVA und anschließend Games-Howell Post-Hoc-Test ausgewertet.

Bei der Auswertung ergaben sich signifikante Unterschiede (Welch-ANOVA, $p=0,000$). Hierbei ergaben sich signifikante Abnahmen bei AMP_TT, AMP+Fol_TT, und AMP+Fol_TL_L. Weiters war die Sporenkeimung in den beiden Negativkontrollen dH₂O und Acetat-Puffer signifikant erniedrigt. Als Positivkontrolle wurde CzDox verwendet, das sich nicht signifikant von den Kontrollvarianten unterscheidet.

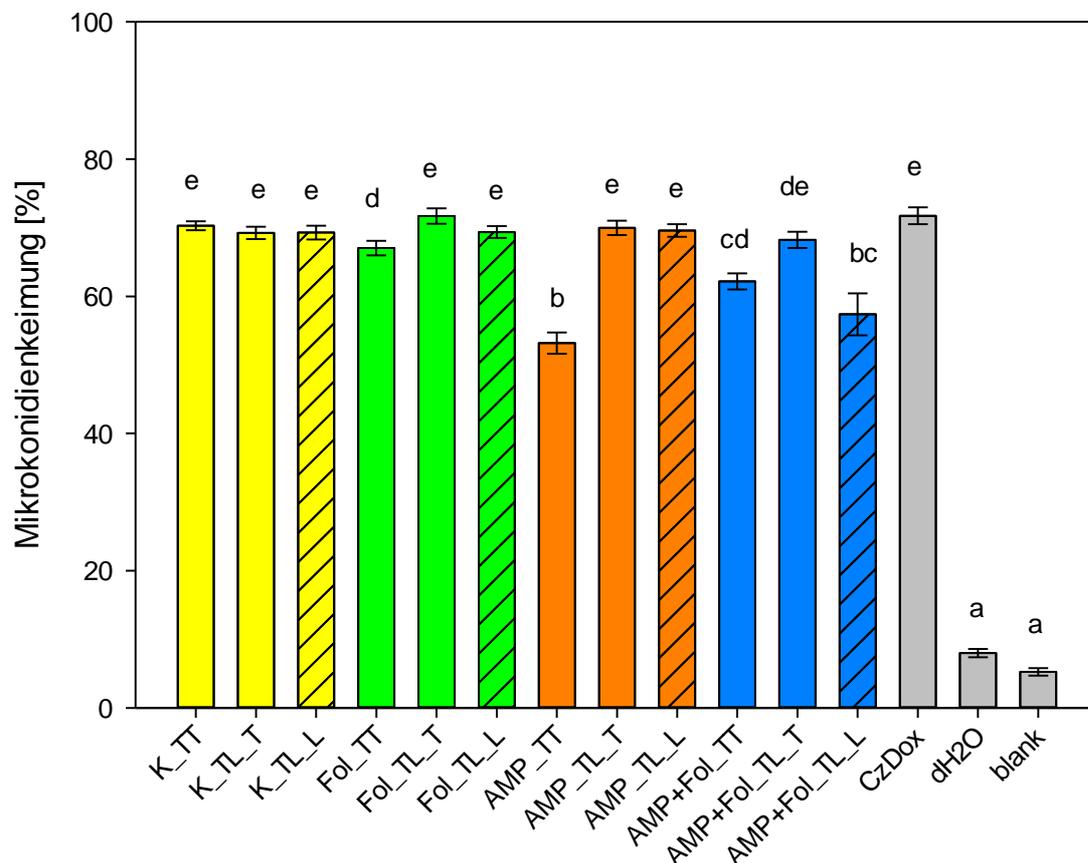


Abbildung 31: Fo/Mikrokonidienkeimung in den Wurzelexsudaten (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede werden durch Buchstaben markiert. Porree ist durch schraffierte Säulen gekennzeichnet.

5. Diskussion

Ziel dieser Masterarbeit war es, einen Beitrag in der Erforschung von arbuskulären Mykorrhizapilzen als natürliche Gegenspieler zu *Fol* zu liefern. Die Forschung bezog sich auf den Einfluss arbuskulärer Mykorrhiza auf die Pflanzenentwicklung und den Pathogenbefall von Tomaten durch *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. In der Regel besteht kommerziell erhältliches Mykorrhizainokulum aus einer Vielzahl unterschiedlichster Mykorrhizaarten. Für diese Arbeit wurde allerdings ausschließlich Inokulum von *Funneliformis mosseae* eingesetzt. Weiters wurde in dieser Arbeit ein neues Rhizoboxsystem getestet.

Im **Wachstumsversuch** wurden die Daten bei der Ernte erfasst und anschließend ausgewertet. Bis auf wenige Ausnahmen konnten in der vorliegenden Untersuchung keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Varianten festgestellt werden. Mykorrhiza und Lauch hatten keinen Einfluss auf das Wurzelgewicht. Das Sprossgewicht konnte nur in Verbindung mit Mykorrhiza und dem Mischpartner Porree in der Variante AMP_TL_T signifikant gesteigert werden. Die Sprosslänge wurde hingegen in der Variante mit Mykorrhiza und Porree (AMP_TL_T) signifikant erhöht und in Variante mit Mykorrhiza, *Fusarium* und dem Mischpartner Tomate (AMP+Fol_TT) signifikant gesenkt. Der Einfluss des Mischpartners Porree war zu erkennen, konnte aber nur für das Sprossgewicht zwischen AMP_TT und AMP_TL_T statistisch nachgewiesen werden. Ein möglicher Biokontrolleffekt durch AMP konnte aus den Wachstumsversuchen nur unzureichend abgeleitet werden. Die geringen Einflüsse von *Funneliformis mosseae* auf die Entwicklung der Pflanzen müssen im Zusammenhang mit der Mykorrhizierung betrachtet werden. Bei diesem Versuch konnten nur geringe Mykorrhizierungsraten erreicht werden wodurch die Pflanzenentwicklung kaum Unterschiede zwischen mykorrhizierten Pflanzen und Kontrollpflanzen aufwies. In der Literatur wird *Funneliformis mosseae* BEG 12 mehrfach in Verbindung mit erhöhtem Sprosswachstum erwähnt (Berta et al., 2002; Gamalero et al., 2002; Berta et al., 2005). Sprosslänge und Wurzelgewicht wurden in diesem Versuch jedoch nur in Verbindung mit Lauch in Variante AMP_TL_T signifikant erhöht. In der Literatur wird die erhöhte Nährstoffaufnahme als einer der größten Effekte von AMP beschrieben. Die höhere Nährstoffaufnahme resultiert aus der erhöhten, effektiven Wurzeloberfläche, die durch das Mykorrhizanetzwerk entsteht und dadurch einen vermehrten Kontakt zum Boden ermöglicht (Smith und Read, 2010). Mykorrhizierte Pflanzen weisen ein höheres Gewicht auf und sind länger als nichtmykorrhizierte Pflanzen (Hetrick et al., 1988). Im vorliegenden Versuch konnten diese Effekte nur vereinzelt beobachtet werden. Garcia-Garrido und Ocampo (1988) untersuchten die Wirkung von *G. mosseae* auf die Pflanzenentwicklung von mit *E. carotovora* infizierten Tomaten. Dabei fanden sie heraus, dass weder das Gewicht der

Pflanzen, noch die Wurzellänge durch *E. carotovora* in mykorrhizierten Pflanzen gesenkt werden konnten, in nicht mykorrhizierten Pflanzen hingegen schon. Davis und Menge (1981) untersuchten diesen Effekt mit anderen, pathogenen Organismen. Sie konnten zeigen, dass die Wirkung arbuskulärer Mykorrhiza gegen Pathogene abhängig von der Höhe der Pathogenpopulation ist. Hohe Populationen können die Schutzwirkung von AMP überwinden. Die Ergebnisse des vorliegenden Versuchs zeigten keine Schutzwirkung von AMP gegenüber *Fol*. Die *Fol*-Varianten unterschieden sich statistisch nicht von den Varianten mit *Fol* und AMP.

Die gemessenen Wurzelparameter und deren Auswertung wurden durch eine optische **WinRhizo** Analyse ergänzt. Bei dieser Methode werden die Wurzeln optisch gescannt und miteinander verglichen. Caldwell (1987) beschreibt, dass die Bedeutung morphologischer Parameter, wie Wurzellänge und Wurzeldurchmesser für die Nährstoffaufnahme wesentlich größer sind als die physiologischen Aufnahmekapazitäten. Dies liegt daran, dass die Nährstoffnachlieferung im Boden durch Diffusion und Massenstrom limitierender ist als die Aufnahmerate der Wurzeln. Insbesondere betroffen sind dabei immobile Nährstoffe wie Phosphor (Caldwell 1987). Der in dieser Studie verwendete arbuskuläre Mykorrhizapilz *Funneliformis mosseae* ist dafür bekannt, die Gesamtwurzellänge, Wurzeloberfläche und die Anzahl der Wurzelspitzen von Tomatenpflanzen zu erhöhen (Gamalero et al., 2002). Dies steht im Widerspruch zur vorliegenden Arbeit, in der keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen mykorrhizierten und nicht mykorrhizierten Pflanzen nachweisbar waren. Die veränderte Wurzelmorphologie ausgelöst durch AMP hat einen Einfluss auf die Anfälligkeit gegenüber Wurzelfäule (Berta et al., 2002). Ein stärker verzweigtes Wurzelsystem von AMP-kolonisierten Pflanzen, eine Zunahme des Wurzeldurchmessers und der spezifische Wurzellänge sind dokumentiert (Schellenbaum et al., 1991; Berta et al., 1993). Schönbeck (1979) beschreibt ein verstärktes vaskuläres System bei AM inokulierten Pflanzen, das durch seine höhere mechanische Belastbarkeit das Eindringen von Pathogenen erschwert. Die Auswertung dieses Versuches ergab keine signifikanten Unterschiede in Wurzellänge, Wurzeldurchmesser und Wurzeloberfläche. Die drei gemessenen Parameter konnten also durch AMP und *Fol* nicht signifikant beeinflusst werden. Die Wurzellänge wurde durch *Fol* tendenziell reduziert und durch Lauch tendenziell erhöht, konnte statistisch aber nicht nachgewiesen werden. Vor allem in den *Fol*-Varianten waren die Daten sehr weit gestreut, was den Nachweis von Unterschieden deutlich erschwerte. Die Auswertung der Wurzeloberfläche verhielt sich gleich der Wurzellänge. Die Auswertung des Wurzeldurchmessers zeigte keine Unterschiede oder Tendenzen. Weiter wurden Wurzeldurchmesserklassen gebildet und miteinander verglichen. Bei dieser Methode

wurde der Wurzeldurchmesser in Klassen eingeteilt und in Beziehung zur gesamten Wurzellänge gesetzt. In Klasse 3 (0,4-0,6 mm Wurzeldurchmesser) unterscheiden sich die Varianten K_TT/AMP_TT und K_TL_T/AMP_TLT signifikant voneinander. Porree als Mischpartner hat in diesem Versuch einen signifikanten Einfluss auf die Durchmesserklasse 3 von Tomatenwurzeln. Dieses Ergebnis zeigt sich in einer signifikanten Abnahme der Tomaten-Wurzelmasse der Klasse 3 in der Variante Kontrolle/Mykorrhiza mit Porree zu Gunsten einer deutlichen aber nicht signifikanten Zunahme der Wurzelmasse in Klasse 1 dieser Variante. Dies bedeutet einen höheren Anteil an sehr feinen Wurzeln in der Variante mit Lauch im Vergleich zur Variante mit Tomate in Reinkultur. Der höhere Anteil an Feinstwurzeln kann einen wesentlichen Unterschied bei der Nährstoffbereitstellung darstellen und somit die Pflanzengesundheit und deren Widerstandskraft gegenüber Pathogenen positiv beeinflussen.

Die Höhe der **Mykorrhizierung** der einzelnen Pflanzen wurde manuell ausgezählt. Die Ergebnisse der Mykorrhizierung zeigen deutlich, dass es bei diesem Versuch eine geringe Kolonisierung der Pflanzen durch *Funneliformis mosseae* gab. Trotz ausreichender Zugabe des Inokulums in jedes Pflanzloch konnten nur geringe Mykorrhizierungsgrade erreicht werden. Ein großer Teil der Pflanzen (60 %) wurde nicht mykorrhiziert und die durchschnittliche Mykorrhizierung der Tomaten lag bei unter 4 %. Der Lauch wurde besser mykorrhiziert. Statistisch nachweisbar war dieser Trend jedoch nicht. Die geringe Mykorrhizierung lag mit hoher Wahrscheinlichkeit an der Qualität des zugekauften Inokulums. Die geringe Mykorrhizierung durch *Funneliformis mosseae* kann neben der Qualität des Inokulums noch weitere Gründe haben. Pinior et al. (1999) fanden heraus das Exudate von *Funneliformis mosseae* kolonisierten Gurken-Wurzeln Moleküle enthalten, die hemmend auf weitere Kolonisierung durch AMP wirken. Eine entscheidende Rolle in der Mykorrhizierung von Pflanzen spielt die Nährstoffversorgung. Niedrige Kohlenhydratkonzentrationen im Boden führen unter Verhältnissen mit wenig Licht zu verringerten Mykorrhizierungsraten. Weiters fungieren die bereits etablierten AMP in den Wurzeln als Sink wodurch für nachfolgende Arten weniger Kohlenhydrate zur Verfügung stehen (Hayman, 1983; Smith and Read, 1997). Unter normalen Wachstumsbedingungen sollten die Kohlenhydrate keinen limitierenden Faktor für die Kolonisierung durch AMP darstellen (Vierheilig et al., 2000). Die Qualität eines Inokulums wird durch das sogenannte Inokulum Potential (IP) ausgedrückt. Diamond und Horsfall (1960) definierten das IP als Potential einer bestimmten Inokulummenge, Wurzelinfektionen unter standardisierten Bedingungen auslösen zu können. Besonders in den ersten 30 Tagen nach Inokulation wird die Mykorrhizierung durch IP beeinflusst (Menge et al., 1985). Kommerziell erhältliches

Inokulum enthält in den meisten Fällen ein Gemisch aus Erde, infizierten Wurzelstücken, Myzel und Sporen, was eine genaue Dosierung unmöglich macht (Liu et al., 1994). Eine Möglichkeit die Mykorrhizierungsrate zu erhöhen wäre es, *Funneliformis mosseae* selbst zu kultivieren oder AMP Chlamydosporen aus dem Inokulum auszuwaschen und die Pflanzen durch eine Sporensuspension zu infizieren. Diese Sporensuspension könnte auf eine definierte Sporenkonzentration eingestellt werden und entspräche somit immer dem gleichen Standard. Das Inokulum sollte vor Versuchsbeginn auf dessen Potential getestet werden.

Um den **Fusarium-Befall** zu bestimmen wurde bei der Ernte eine *Fusarium*-Bonitur durchgeführt. Diese Bonitur wurde durch Daten der Rückisolation ergänzt und ausgewertet. Befallshäufigkeit und Befallsstärke wurden errechnet. Interessanterweise verhalten sich die Ergebnisse genau gegenläufig. Die geringste Befallshäufigkeit mit 41 % konnte in AMP+Fol_TL nachgewiesen werden und die höchste mit 75 % in Fol_TL. Bei der Befallsstärke hingegen lagen die Werte zwischen 23 % in Fol_TT und 31 % in AMP+Fol_TL. Die statistische Auswertung zeigte keine Signifikanzen. Der mittlere Boniturwert in Variante AMP+Fol_TL_T liegt zwar tendenziell niedriger, auf Grund der großen Streuung der Daten ist das Ergebnis jedoch nicht signifikant. Die Inokulation mit *Fol* erfolgte durch Einlegen der Wurzeln in eine Sporensuspension und war höchst erfolgreich. Bei den meisten Pflanzen war eine *Fol* Infektion bereits von außen zu erkennen. Diese waren im Wachstum gehemmt, verloren ihre Blätter oder welkten bereits. Einige Pflanzen verhielten sich entgegen dieser Symptombeschreibung. Es handelte sich dabei um infizierte Pflanzen deren Wachstum sich nicht von dem der Kontrolle unterscheiden ließ obwohl deren Xylem so stark verbräunt war, dass sie eine hohe Boniturnote erhielten. Eine Reduktion der *Fusarium* Infektion durch Einsatz von AMP wie bei (Dehne und Schönbeck, 1979; Akköprü und Demir, 2005; Steinkellner et al., 2012), konnte in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der Sporenkeimtestes zeigten eine signifikante Abnahme der Mikrokonidienkeimung von *Fol* in den Varianten mit AM und Tomate als Mischpartner. In der Literatur finden sich unterschiedliche Ergebnisse zu diesem Thema. So konnten bereits in mehreren Studien Biokontrolleffekte von AM und damit verbundene Abnahmen der *Fol*-Sporenkeimung nachgewiesen werden (Akköprü und Demir, 2005). Ergebnisse von Scheffknecht et al. (2006) zeigten hingegen eine deutliche Zunahme der *Fol*-Mikrokonidienkeimung in Wurzelexsudaten von mykorrhizierten Tomaten feststellen. Zu deren Überraschung konnten Scheffknecht et al. (2006) in der gleichen Studie gegenteilige

Beobachtungen bei Wurzelexsudaten von nicht mykorrhizierten Wurzeln, mykorrhizierter Tomatenpflanzen machen. In diesen Fällen war die Mikrokonidienkeimung im Vergleich zu den nicht mykorrhizierten Kontrollpflanzen signifikant geringer. Interessant sind diese Ergebnisse im Zusammenhang mit der vorliegenden Studie. Die geringe Mykorrhizierung führte demnach dazu, dass die Mikrokonidienkeimung signifikant reduziert wurde. Dieser Effekt ist wahrscheinlich auf die veränderte Mikroorganismenzusammensetzung der Rhizosphäre zurückzuführen. Marschner und Baumann (2003) konnten diese Veränderung der Mikroorganismengesellschaft zwischen mykorrhiziertem und nicht mykorrhiziertem Mais nachweisen. Neben den Mikroorganismen und deren Stoffwechselprodukten spielen chemische Signale beziehungsweise Abwehrstoffe der Pflanzen eine wichtige Rolle bei der Etablierung von Pathogenen. Mykorrhizapilze sind in der Lage physiologische und biochemische Veränderungen in Pflanzen und der Rhizosphäre auszulösen. Sylvia und Sinclair (1983) konnten eine erhöhte Produktion von phenolischen Substanzen nach erfolgreicher Mykorrhizierung feststellen. Phenole dürften eine wichtige Rolle in der Resistenz gegenüber Pathogenen spielen (Morandi, 1987). Dehne et al. (1978) berichten über zunehmende Konzentration an Chitinase in mykorrhizierten Wurzeln. Chitinase ist für seine fungizide Wirkung bekannt. Die Rhizosphäre und vor allem die mikrobiologische Gemeinschaft wird ebenfalls durch AMP beeinflusst (Marschner et al., 2001). Harrier und Watson (2004) berichten über eine unterschiedliche Anzahl an Pseudomonaden, anaeroben Bakterien, *Streptomyces* Arten und Chitinase produzierenden *Actinomyceten* in Abhängigkeit vom verwendeten AMP Isolat und der Wirtspflanze. Die Interaktionen zwischen AMP und anderen pathogenen als auch nicht pathogenen Bodenorganismen ist sehr komplex und bedarf einer vermehrten Forschung um diese Zusammenhänge genauer verstehen zu können.

Rhizoboxsysteme erleichtern die Untersuchung der Interaktionen zwischen Wurzeln und Mikroorganismen, Mykorrhizapilzen beziehungsweise Nährstoffen durch Einschränkung des Wurzelwachstums (Hylander, 2002; Neumann et al., 2009). Die einzelnen Abteile der Rhizobox können unterschiedlichsten Versuchsaufbauten dienen. Als System mit Wurzel, die auf zwei Kammern aufgeteilt werden (Split root System) wird dieses bereits in der Erforschung von Rhizobien eingesetzt. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit ist die Belegung zweier durch ein Nylonnetz getrennter Kammern durch unterschiedliche Pflanzenarten. Dies wird als Mischkulturführung (Intercropping) bezeichnet (Neumann et al., 2009). Der vorliegende Versuch wurde als Mischkultur in Rhizoboxen angelegt um die Kulturführung als Rhizobox-System zu untersuchen. Das System zeigte Stärken und Schwächen. Der Wurzelraum sollte im Gegensatz zu Topfversuchen durch das Netz

zwischen zwei Pflanzen klar voneinander abgetrennt sein. Die Wurzeln waren jedoch teilweise in der Lage durch feinste Rillen zwischen den einzelnen Kammern durchzuwachsen. Wird dieses Problem behoben, stellt dieses System eine gute Möglichkeit dar Interaktionen zwischen Pflanzen beziehungsweise Mykorrhiza und Pflanzen zu untersuchen. Obwohl Rhizobox-Systeme eine wiederholte, zerstörungsfreie Messung der Wurzelentwicklung und Rhizosphärenprozesse erlauben dürfen die Nachteile gegenüber Gefäßversuchen nicht außer Auge gelassen werden (Neumann et al., 2009). Vor allem der begrenzte Wurzelraum stellt ein Problem dar.

Die Erforschung der genauen Prozesse vor, beziehungsweise nach erfolgter AMP Infektion der Pflanze sollte zum besseren Verständnis der Wirkung von AMP eines der Hauptziele der Mykorrhizaforschung sein. Das Potential arbuskulärer Mykorrhizapilze als Biokontrollagenzien zu werden ist durchaus vorhanden und kann in Zukunft durch besseres Verständnis hoffentlich gezielter eingesetzt werden.

6. Zusammenfassung

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* ist einer der weltweit bedeutsamsten Tomatenkrankheiten und verursacht jährlich enorme wirtschaftliche Schäden. Bei starkem Befall kann es zu totalem Ernteverlust kommen. Daher muss die Erforschung dieser Krankheit und in weiterer Folge die Entwicklung von Behandlungsmöglichkeiten, ein vordringliches Ziel der Wissenschaft sein.

Ziel dieser Arbeit war es, den arbuskulären Mykorrhiza Pilz *Funneliformis mosseae* auf dessen Biokontrollwirkung zu testen. Der Versuch wurde als Dualkultur in Rhizoboxen angelegt und in doppelter Wiederholung durchgeführt. Getestet wurden Tomaten in Reinkultur und Tomaten mit dem Mischpartner Porree. Bei diesem Versuch handelte es sich um einen Glashausversuch, der als Rhizobox-System angelegt wurde. Die Pflanzen wurden über einen Zeitraum von sechs Wochen kultiviert und anschließend hinsichtlich Fusariumbefall, Wurzelgewicht, Sprossgewicht und Sprosslänge untersucht. Gleichzeitig wurden Wurzelproben entnommen und auf deren Mykorrhizierungsgrad untersucht. Der zweite Aufgabenbereich bestand darin Wurzelexsudate auf deren Wirkung gegen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* zu testen.

Die Ergebnisse zu den Wachstumsvergleichen ergaben nur geringe Unterschiede zwischen den Varianten. Signifikanzen konnten jedoch vereinzelt festgestellt werden.

Signifikante Ergebnisse gab es bei den Sporenkeimtests. Hier konnte die Keimung von *Fol* Mikrokonidien in den Varianten Tomate/Tomate mit Mykorrhiza, Tomate/Tomate mit Mykorrhiza und *Fol*, und Tomate/Porree mit Mykorrhiza und *Fol* signifikant reduziert werden. Die Reduktion der Mikrokonidienkeimung in der Variante Tomate/Porree wurde in Wurzelexudaten des Porree gemessen. In der Literatur finden sich unterschiedliche Ergebnisse bei Sporenkeimtests mit *Fol*. Um den Auslöser dieser Reduktion zu finden bedarf es weiterer Studien. Möglicherweise findet man Substanzen in den Wurzelexsudaten, die in Zukunft zur biologischen Kontrolle eingesetzt werden können.

Das Thema wird auch noch in Zukunft die Wissenschaft herausfordern und bis zuverlässige Antagonisten oder Stoffwechselprodukte dieser in der biologischen Kontrolle Einzug finden, wird noch ein weiter Weg zurückzulegen sein.

Begriffserklärungen

<i>Fol</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
<i>Fs</i>	<i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>lisi</i>
<i>Fv</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>
<i>Fg</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
<i>Fp</i>	<i>Fusarium pseudograminearum</i>
AMP	arbuskuläre Mykorrhiza Pilz(e)
CMNs	gemeinschaftliches Mykorrhizanetzwerk
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDA	Potato Dextrose Agar
CzD	Czapek Dox Agar
UV-C	elektromagnetische Strahlung kürzer als 280 nm
SAR	systemisch aktivierte Resistenz
-P Dünger	Dünger ohne Phosphor
T/T	Tomate mit Tomate als Mischpartner
T/L	Tomate mit Lauch als Mischpartner
BBCH	Skala die Auskunft über das morphologische Entwicklungsstadium einer Pflanze gibt

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verbreitungswege der Tomate (Blancard 2012).	7
Abbildung 2: Allgemeiner Entwicklungszyklus von <i>Fusarium</i> . Die Abkürzungen <i>Fol</i> , <i>Fs</i> , <i>Fv</i> , <i>Fg</i> , <i>Fp</i> stehen für unterschiedliche <i>Fusarium</i> -Arten (Ma et al. 2013). In dieser Arbeit wurde allerdings ausschließlich mit <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (<i>Fol</i>) gearbeitet.	15
Abbildung 3: Bei der <i>Fol</i> -Bonitur in Längsrichtung aufgeschnittener Spross. Die Infektion mit <i>Fol</i> zeichnet sich durch eine Verbräunung des Xylems ab. Die Infektion breitet sich von der Stammbasis nach oben hin aus und verstopft das Xylem. Die untersten Blätter beginnen zu welken und fallen kurz nach der Infektion ab.....	16
Abbildung 4: Ausfall (links) und Wachstumsdepressionen (Mitte) ausgelöst durch eine Infektion mit <i>Fol</i>	16
Abbildung 5: Polygenetischer Artenbaum der <i>Glomeromycota</i> (Schüßler 2011).....	18
Abbildung 6: Vorgänge während der Mykorrhizierung von Pflanzen (Frey und Lösch, 2004)	20
Abbildung 7: Oberflächensterilisation von Tomatensamen.....	23
Abbildung 8: Vorkultivierung der Samen in Perlite	23
Abbildung 9: 3 Wochen vorkultivierte Tomatensamen zum Zeitpunkt der Pflanzung.....	24
Abbildung 10: <i>Fol</i> Rasse 007 Kultur auf CzDox- Agar zwei Wochen nach Überimpfung.	25
Abbildung 11: Zusammenbau der Rhizoboxen. Feines, weißes Trenngewebe zwischen den Kammern.....	27
Abbildung 12: Violett verfärbte Blätter und Stammbasis als Reaktion auf Nährstoffmangel .29	
Abbildung 13: Abbildung einer <i>Fol</i> Rhizobox. Sehr dichtes Wurzelgeflecht trotz Infektion. Die Pflanze in der Mitte zeigt deutliche Wachstumsdepressionen.....	31
Abbildung 14: Gleichmäßiger Wuchs bei Porree und sehr feine Wurzelstrukturen.....	32
Abbildung 15: Extraktion der Wurzelexudate durch einen Acetat-Puffer in dunklen Gläsern	32
Abbildung 16: Visuelle <i>Fusarium</i> Bonitur. Verbräunte Leitungsbahnen (Xylem) einer infizierten Pflanze.	33
Abbildung 17: Verteilung der kleingeschnittenen Wurzelteile auf einer Petrischale.....	35
Abbildung 18: Zählschema bei der Auswertung des Mykorrhizierungsgrades	35
Abbildung 19: Plattenbelegung eines Sporenkeimtests. Abstoppen des Sporenwachstums bei allen Proben, +Kontrolle (CzDox), –Kontrolle (dH ₂ O) und Blank (Acetat-Puffer) nach 20 Stunden durch 10µl 1:10 Lactophenolblau.	37

Abbildung 20: Säulendiagramm der Mittelwerte des Spross-Trockengewichts (MW±S.E.) der Tomatenvarianten. Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet. Welch-ANOVA ($p < 0,05$).	42
Abbildung 21: Säulendiagramm der Mittelwerte des Wurzel-Trockengewichts (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet. Welch-ANOVA ($p < 0,05$).	43
Abbildung 22: Säulendiagramm der Mittelwerte des Sprosslänge (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet. Welch-ANOVA ($p < 0,05$).....	44
Abbildung 23: Säulendiagramm der Mittelwerte der Wurzellänge (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet. Welch-ANOVA ($p < 0,05$).....	45
Abbildung 24: Säulendiagramm der Mittelwerte des Wurzeldurchmessers (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet. Welch-ANOVA ($p < 0,05$).	46
Abbildung 25: Säulendiagramm der Mittelwerte der Wurzeloberfläche (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet. Welch-ANOVA ($p < 0,05$).	47
Abbildung 26: Anteil der Durchmesserklassen 1 bis 8 an der gesamten Wurzellänge in %. Werte aus einfaktorieller ANOVA mit dem Faktor Behandlung (4 Faktorstufen).	48
Abbildung 27: Mykorrhizierungsstärke (%) aller AMP Varianten (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet. Welch-ANOVA ($p < 0,05$). Porree ist durch schraffierte Säulen gekennzeichnet.....	49
Abbildung 28: Mykorrhizierungshäufigkeit (%) aller AMP Varianten (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet. Welch-ANOVA ($p < 0,05$). Porree ist durch schraffierte Säulen gekennzeichnet.....	50
Abbildung 29: Befallshäufigkeit (%) der Pflanzen nach <i>Fol</i> Inokulation (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede sind durch Buchstaben gekennzeichnet. Welch-ANOVA ($p < 0,05$).	51
Abbildung 30: Angabe der Befallsstärke (%) in den <i>Fol</i> Varianten	52
Abbildung 31: <i>Fol</i> Mikrokonidienkeimung in den Wurzelexsudaten (MW±S.E.). Signifikante Unterschiede werden durch Buchstaben markiert. Porree ist durch schraffierte Säulen gekennzeichnet.....	53

Literaturverzeichnis

Agrios, G. N. (2005). Plant pathology. Elsevier Academic Press. Burlington, MA, USA.

Akhtar, M. S., Siddiqui, Z. A. (2008). Arbuscular mycorrhizal fungi as potential bioprotectants against plant pathogens. *Mycorrhizae: Sustainable agriculture and forestry*, Springer: 61-97.

Akköprü, A., & Demir, S. (2005). Biological control of Fusarium wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria. *Journal of Phytopathology*, 153(9), 544-550.

Al-Karaki, G. N. (2006). Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. *Scientia Horticulturae* 109(1): 1-7.

Attitalla, I. H., Fatehi, J., Levenfors, J., & Brishammar, S. (2004). A rapid molecular method for differentiating two special forms (*lycopersici* and *radicis-lycopersici*) of *Fusarium oxysporum*. *Mycological Research*, 108(07), 787-794.

Beckman, C. H. (1987). The nature of wilt diseases of plants. APS press. St. Paul, MN, USA.

Beckman, C. H. (2000). Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? *Physiological and Molecular Plant Pathology* 57(3): 101-110.

Beckman, C. H., Bell, A. A., Mace, M. E., (1981). Fungal wilt diseases of plants. Academic Press, NY, USA.

Berta, G., Fusconi, A., & Trotta, A. (1993). VA mycorrhizal infection and the morphology and function of root systems. *Environmental and Experimental Botany*, 33(1), 159-173.

Berta, G., Fusconi, A., & Hooker, J. E. (2002). Arbuscular mycorrhizal modifications to plant root systems: scale, mechanisms and consequences. In *Mycorrhizal technology in agriculture* (pp. 71-85). Birkhäuser Basel.

Blancard, D. (2012). *Tomato Diseases: Identification, Biology and Control: A Colour Handbook*. CRC Press.

Borrero, C., Ordovás, J., Trillas, M. I., & Avilés, M. (2006). Tomato Fusarium wilt suppressiveness. The relationship between the organic plant growth media and their microbial communities as characterised by Biolog®. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(7), 1631-1637.

- Brammall, R., & Higgins, V. (1988). A histological comparison of fungal colonization in tomato seedlings susceptible or resistant to *Fusarium* crown and root rot disease. *Canadian Journal of Botany* 66(5): 915-925.
- Caldwell, M. M. (1987). Competition between root systems in natural communities. In: Gregory, P. J., Lake, J. V. and Rose, D. A. (eds.) *Root development and function*, 167-185, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Curl, E. A., & Truelove, B. (1986). *The rhizosphere*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, DE.
- Damicone, J. P., Conway, K. E., & Brandenberger, L. (2007). *Common Diseases of Tomatoes*. Oklahoma Cooperative Extension Service EPP7625, Oklahoma State University, USA.
- Davet, P., & Rouxel, F. (1997). *Detecting and isolating soil fungi*. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), FR.
- Davis, R. M., & Menge, J. A. (1981). *Phytophthora parasitica* inoculation and intensity of vascular-arbuscular mycorrhizae in citrus. *New Phytologist*, 87(4), 705-715.
- de Bary, A. (1879). *Die Erscheinung der Symbiose*. Vortrag gehalten auf der Versammlung Deutscher Naturforscher und Aerzte zu Cassel, Trübner, DE.
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430.
- Dehne, H. W., & Schönbeck, F. (1979). Untersuchungen zum Einfluß der endotrophen Mycorrhiza auf Pflanzenkrankheiten. *Journal of Phytopathology*, 95(1), 105-110.
- Dehne, H. W., Schönbeck, F., & Baltruschat, H. (1978). Untersuchungen zum Einfluss der endotrophen Mykorrhiza auf Pflanzenkrankheiten. 3. Chitinase-Aktivität und Ornithinzyklus. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 8: 666-678.
- Demir, S., Akkopru, A., Chincholkar, S. B., & Mukerji, K. G. (2007). *Use of arbuscular mycorrhizal fungi for biocontrol of soilborne fungal plant pathogens*. Biological Control of Plant Diseases. The Haworth Press, Inc., New York, 17-46.
- Dickson, S. (2004). The Arum–Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 163(1): 187-200.
- Dillon, M. O. (2005). *The Solanaceae of the Lomas formations of coastal Peru and Chile*. *Monographs in Systematic Botany* 104: 131.

- Dinkelaker, B., Hengeler, C., Neumann, G., Eltrop, L., & Marschner, H. (1997). Root exudates and mobilization of nutrients. *Trees: contributions to modern tree physiology*. AGRIS, FAO, United Nations, Rom, I.
- Fan, T. W. M., Lane, A. N., Pedler, J., Crowley, D., & Higashi, R. M. (1997). Comprehensive analysis of organic ligands in whole root exudates using nuclear magnetic resonance and gas chromatography–mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 251(1), 57-68.
- Frey, W., & Lössch, R. (2014). *Geobotanik: Pflanze und Vegetation in Raum und Zeit*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, DE.
- Gamalero, E., Martinotti, M. G., Trotta, A., Lemanceau, P., & Berta, G. (2002). Morphogenetic modifications induced by *Pseudomonas fluorescens* A6RI and *Glomus mosseae* BEG12 in the root system of tomato differ according to plant growth conditions. *New Phytologist*, 155(2), 293-300.
- García- Garrido, J. M., & Ocampo, J. A. (1988). Interaction between *Glomus mosseae* and *Erwinia carotovora* and its effects on the growth of tomato plants. *New Phytologist*, 110(4), 551-555.
- García- Garrido, J. M., & Ocampo, J. A. (2002). Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 53(373), 1377-1386.
- Gianinazzi-Pearson, V., Lemoine, M. C., Arnould, C., Gollotte, A., & Morton, J. B. (1994). Localization of β (1→3) glucans in spore and hyphal walls of fungi in the Glomales. *Mycologia*, 478-485.
- GIOVANNETTI, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84(3), 489-500.
- Gordon, T. R., & Martyn, R. D. (1997). The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual review of phytopathology*, 35(1), 111-128.
- Gräfenhan, T., Schroers, H. J., Nirenberg, H. I., & Seifert, K. A. (2011). An overview of the taxonomy, phylogeny, and typification of nectriaceous fungi in *Cosmospora*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, and *Volutella*. *Studies in Mycology*, 68, 79-113.
- Hacin, J. I., BOHLOOL, B., & Singleton, P. W. (1997). Partitioning of ¹⁴C- labelled photosynthate to developing nodules and roots of soybean (*Glycine max*). *New phytologist*, 137(2), 257-265.

- Hage- Ahmed, K., Krammer, J., & Steinkellner, S. (2013). The intercropping partner affects arbuscular mycorrhizal fungi and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* interactions in tomato. *Mycorrhiza*, 23(7), 543-550.
- Hage- Ahmed, K., Moyses, A., Voglgruber, A., Hadacek, F., & Steinkellner, S. (2013). Alterations in root exudation of intercropped tomato mediated by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and the soilborne pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Journal of Phytopathology*, 161(11-12), 763-773.
- Hale, M. G., Moore, L. D., & Griffin, G. J. (1978). Root exudates and exudation. Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants 163-203, Elsevier, Amsterdam, NL.
- Harrier, L. A., & Watson, C. A. (2004). The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil - borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Management Science*, 60(2), 149-157.
- Hawkins, H. J., & George, E. (1999). Effect of plant nitrogen status on the contribution of arbuscular mycorrhizal hyphae to plant nitrogen uptake. *Physiologia Plantarum*, 105(4), 694-700.
- Hayman, D. (1983). The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Canadian Journal of Botany* 61(3): 944-963.
- He, X. H., Critchley, C., & Bledsoe, C. (2003). Nitrogen transfer within and between plants through common mycorrhizal networks (CMNs). *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(6), 531-567.
- Henzgen, M., Vieths, S., Reese, I., Erdmann, S., Fuchs, T., Jäger, L., ... & Werfel, T. (2005). Nahrungsmittelallergien durch immunologische Kreuzreaktionen: Leitlinie der Arbeitsgruppe Nahrungsmittelallergie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAI) und des Ärzteverbandes Deutscher Allergologen (ÄDA). *Allergologie*, 28(5), 177-190.
- Hetrick, B. D., Kitt, D. G., & Wilson, G. T. (1988). Mycorrhizal dependence and growth habit of warm-season and cool-season tallgrass prairie plants. *Canadian Journal of Botany*, 66(7), 1376-1380.
- Hylander, L. D. (2002). Improvements of rhizoboxes used for studies of soil–root interactions. *Communications in soil science and plant analysis* 33(1-2): 155-161.
- Jarvis, W. (1988). *Fusarium* crown and root rot of tomatoes. *Phytoprotection* 69(2): 49-64.

- Jones, J. P., & Woltz, S. S. (1981). Fusarium-incited diseases of tomato and potato and their control. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Penn. State Univ. Press, Univ. Park, PA, USA, 157-168.
- Kim, Y. I., Hirai, S., Takahashi, H., Goto, T., Ohyan, C., Tsugane, T., & Kawada, T. (2011). 9 - oxo - 10 (E), 12 (E) - octadecadienoic acid derived from tomato is a potent PPAR α agonist to decrease triglyceride accumulation in mouse primary hepatocytes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(4), 585-593.
- Larena, I., Melgarejo, P., & De Cal, A. (2002). Production, survival, and evaluation of solid-substrate inocula of *Penicillium oxalicum*, a biocontrol agent against Fusarium wilt of tomato. *Phytopathology*, 92(8), 863-869.
- Larkin, R. P., & Fravel, D. R. (1998). Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Disease*, 82(9), 1022-1028.
- Lazarus, S. A., Bowen, K., & Garg, M. L. (2004). Tomato juice and platelet aggregation in type 2 diabetes. *JAMA*, 292(7), 805-806.
- Leunis, J. (Ed.). (1877). *Synopsis der Pflanzenkunde*. Hahn, Hannover, DE
- Levene, H. (1960). Robust tests for equality of variances¹. *Contributions to probability and statistics: Essays in honor of Harold Hotelling 2*: 278-292.
- Lievens, B., Houterman, P. M., & Rep, M. (2009). Effector gene screening allows unambiguous identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races and discrimination from other formae speciales. *FEMS microbiology letters*, 300(2), 201-215.
- Lievens, B., Rep, M., & Thomma, B. P. (2008). Recent developments in the molecular discrimination of formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Pest Management Science*, 64(8), 781-788.
- LIU, R. J., & LUO, X. S. (1994). A new method to quantify the inoculum potential of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 128(1), 89-92.
- Ma, L. J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., & Kazan, K. (2013). Fusarium pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, 67, 399-416.
- Marschner, P., Crowley, D., & Lieberei, R. (2001). Arbuscular mycorrhizal infection changes the bacterial 16 S rDNA community composition in the rhizosphere of maize. *Mycorrhiza*, 11(6), 297-302.

- Marschner, P., & Baumann, K. (2003). Changes in bacterial community structure induced by mycorrhizal colonisation in split-root maize. *Plant and Soil*, 251(2), 279-289.
- McGonigle, T. P., Evans, D. G., & Miller, M. H. (1990). Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiments. *New Phytologist*, 116(4), 629-636.
- Medina, J. H., Gagnon, H., Piché, Y., Ocampo, J. A., Garcí, J. M., & Vierheilig, H. (2003). Root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi is affected by the salicylic acid content of the plant. *Plant Science*, 164(6), 993-998.
- Meding, S. M., & Zasoski, R. J. (2008). Hyphal-mediated transfer of nitrate, arsenic, cesium, rubidium, and strontium between arbuscular mycorrhizal forbs and grasses from a California oak woodland. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 126-134.
- Menge, J. A., Steirle, D., Bagyaraj, D. J., Johnson, E. L. V., & Leonard, R. T. (1978). Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. *New Phytologist*, 80(3), 575-578.
- Menge, J. A., Tinker, P. B., Stribley, D., & Snellgrove, R. (1985). Inoculum potential: its role in early infection and mycorrhizal efficiency. In 6th North American Conference on Mycorrhizae, Bend, Oregon (USA), 25-29 Jun 1984. Oregon State University. Forest Research Laboratory.
- Mengel, K., Kosegarten, H., Kirkby, E. A., & Appel, T. (Eds.). (2001). Principles of plant nutrition. Springer Science & Business Media, Berlin, Heidelberg, DE
- Métraux, J. P., Signer, H., Ryals, J., Ward, E., & Wyss-Benz, M. (1990). Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science*, 250(4983), 1004.
- Mikkelsen, B. L., Rosendahl, S., & Jakobsen, I. (2008). Underground resource allocation between individual networks of mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 180(4), 890-898.
- Morandi, D. (1987). VA mycorrhizae, nematodes, phosphorus and phytoalexins on soybean. *Mycorrhizae in the next decade, Practical application and Research Priorities*.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Cook, R. J. (1981). *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park, Pa., USA.
- Neumann, G., George, T. S., & Plassard, C. (2009). Strategies and methods for studying the rhizosphere -the plant science toolbox. *Plant and Soil*, 321(1-2), 431-456.

- Neumann, G., & Römheld, V. (2007). The release of root exudates as affected by the plant physiological status. *The Rhizosphere Biochemistry and Organic Substances at the Soil–Plant Interface*, 2nd edn. CRC Press/Taylor and Francis: New York: 23-72.
- Olivain, C., & Alabouvette, C. (1999). Process of tomato root colonization by a pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in comparison with a non- pathogenic strain. *New Phytologist* 141(3): 497-510.
- Olivain, C., Humbert, C., Nahalkova, J., Fatehi, J., L'Haridon, F., & Alabouvette, C. (2006). Colonization of tomato root by pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strains inoculated together and separately into the soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(2), 1523-1531.
- Peralta, I. E., Knapp, S., & Spooner, D. M. (2006). Nomenclature for wild and cultivated tomatoes. *Report of the Tomato Genetics Cooperative*, 56, 6-12.
- Peralta, I. E. S., Knapp, D. M., Peralta, S. I. E., Spooner, D. M., & Knapp, S. (2008). Taxonomy of wild tomatoes and their relatives: *Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; *Solanaceae*. *American Society of Plant Taxonomists, Systematic Botany Monographs* 151-160.
- Piniór, A., Wyss, U., Piché, Y., & Vierheilig, H. (1999). Plants colonized by AM fungi regulate further root colonization by AM fungi through altered root exudation. *Canadian Journal of Botany*, 77(6), 891-897.
- Pramanik, M. H. R., Nagai, M., Asao, T., & Matsui, Y. (2000). Effects of temperature and photoperiod on phytotoxic root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) in hydroponic culture. *Journal of Chemical Ecology*, 26(8), 1953-1967.
- Rosendahl, S., & Stukenbrock, E. H. (2004). Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in undisturbed vegetation revealed by analyses of LSU rDNA sequences. *Molecular Ecology* 13(10): 3179-3186.
- Rovira, A. D. (1969). Plant root exudates. *The Botanical Review* 35(1): 35-57.
- Scheffknecht, S., Mhammerler, R., Steinkellner, S., & Vierheilig, H. (2006). Root exudates of mycorrhizal tomato plants exhibit a different effect on microconidia germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* than root exudates from non-mycorrhizal tomato plants. *Mycorrhiza*, 16(5), 365-370.

- Schellenbaum, L., Berta, G., Ravolanirina, F., Tisserant, B., Gianinazzi, S., & Fitter, A. H. (1991). Influence of endomycorrhizal infection on root morphology in a micropropagated woody plant species (*Vitis vinifera* L.). *Annals of Botany*, 68(2), 135-141.
- Schmidt, A. (2010). Begriffsbestimmung von Symbiosen und Mutualismen. Atelier Symbiota, Aus der Diplomarbeit von Schmidt, A. (2005)
- Schönbeck, F. (1979). Endomycorrhiza in relation to plant diseases. *Soil Borne Plant Pathogens*. Academic Press, New York: 271-292.
- SCHÜßLER, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105(12), 1413-1421.
- Selosse, M. A., Richard, F., He, X., & Simard, S. W. (2006). Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses?. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(11), 621-628.
- Sesso, H. D., Liu, S., Gaziano, J. M., & Buring, J. E. (2003). Dietary lycopene, tomato-based food products and cardiovascular disease in women. *The Journal of Nutrition*, 133(7), 2336-2341.
- Shishido, M., Miwa, C., Usami, T., Amemiya, Y., & Johnson, K. B. (2005). Biological control efficiency of Fusarium wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo-B2 in different environments. *Phytopathology*, 95(9), 1072-1080.
- Silaste, M. L., Alfthan, G., Aro, A., Antero Kesäniemi, Y., & Hörkkö, S. (2007). Tomato juice decreases LDL cholesterol levels and increases LDL resistance to oxidation. *British Journal of Nutrition*, 98(06), 1251-1258.
- Simon, L., Bousquet, J., Lévesque, R. C., & Lalonde, M. (1993). Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature* 363, 67-69
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press, Elsevier, Amsterdam, NL.
- Snyder, W. C., & Hans, H. N. (2003). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.). Prepared by Mui-Yun Wong. PP728 Soilborne Plant Pathogen Class Project, Spring 2003, NC State University, NC, USA.
- Song, Y. Y., Ye, M., Li, C., He, X., Zhu-Salzman, K., Wang, R. L., & Zeng, R. S. (2014). Hijacking common mycorrhizal networks for herbivore-induced defence signal transfer between tomato plants. *Scientific Reports*, 4.

- Song, Y. Y., Zeng, R. S., Xu, J. F., Li, J., Shen, X., & Yihdego, W. G. (2010). Interplant communication of tomato plants through underground common mycorrhizal networks. *PLoS One*, 5(10), e13324.
- St-Arnaud, M., & Vujanovic, V. (2007). Effect of the arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant diseases and pests. *Mycorrhizae in Crop Production*. New York: Haworth: 67-122.
- Steinkellner, S., Hage-Ahmed, K., García-Garrido, J. M., Illana, A., Ocampo, J. A., & Vierheilig, H. (2012). A comparison of wild-type, old and modern tomato cultivars in the interaction with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Mycorrhiza*, 22(3), 189-194.
- Sylvia, D., & Sinclair, W. (1983). Phenolic compounds and resistance to fungal pathogens induced in primary roots of Douglas-fir seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata*. *Phytopathology* 73: 390-397.
- Tahat, M. M., Kamaruzaman, S., & Othman, R. (2010). Mycorrhizal fungi as a biocontrol agent. *Plant Pathology Journal*, 9(4), 198-207.
- Talvas, J., Caris-Veyrat, C., Guy, L., Rambeau, M., Lyan, B., Minet-Quinard, R., & Rock, E. (2010). Differential effects of lycopene consumed in tomato paste and lycopene in the form of a purified extract on target genes of cancer prostatic cells. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(6), 1716-1724.
- Taylor, J. W. (2011). One fungus= one name: DNA and fungal nomenclature twenty years after PCR. *IMA Fungus: The Global Mycological Journal* 2(2): 113.
- Tjamos, E., & Beckman, C. H. (1989). *Vascular wilt diseases of plants. Basic studies and control*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, DE.
- Uren, N. C. (2007). Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. *The rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. Marcel Dekker, New York: 1-21.
- Van der Meer, Q., & Hanelt, P. (1989). LEEK (*Allium ampeloprasum*). *Onions and Allied Crops: Biochemistry Food Science Minor Crops* 3: 179.
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piché, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12), 5004-5007.

Vierheilig, H., Garcia-Garrido, J. M., Wyss, U., & Piché, Y. (2000). Systemic suppression of mycorrhizal colonization of barley roots already colonized by AM fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(5), 589-595.

Vierheilig, H., Schweiger, P., & Brundrett, M. (2005). An overview of methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhizal fungi in roots. *Physiologia Plantarum*, 125(4), 393-404.

Weberling, F. (1981). *Morphologie der Blüten und der Blütenstände*. E. Ulmer, Stuttgart, DE.

Welch, B. L. (1947). The generalization of student's' problem when several different population variances are involved. *Biometrika*: 28-35.

Wellman, F. L. (1939). A technique for studying host resistance and pathogenicity in tomato Fusarium wilt. *Phytopathology* 29: 945-956.

Weston, L. (2003). Root exudates: an overview. *Root ecology, Ecological Studies* 168: 235-255, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Whipps, J. M. (2004). Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany* 82(8): 1198-1227.

Woltz, S., & Jones, J. P. (1973). Tomato Fusarium wilt control by adjustments in soil fertility. *Proc Fla State Hortic Soc.*

Yadeta, K. A., & Thomma, B. P. (2013). "The xylem as battleground for plant hosts and vascular wilt pathogens." *Frontiers in Plant Science* 4.

