

**Universität für Bodenkultur
INSTITUT FÜR PFLANZENSCHUTZ**

Basilikum und symbiontischer Mykorrhizapilz

Auswirkung der Mykorrhizierung auf die Produktion sekundärer
Pflanzenstoffe und die Pathogenität von *Fusarium oxysporum*

MASTERARBEIT

aus
Agrarbiologie

eingereicht von
Magdalena KRAML

Betreuung

Univ.Ass. Dipl.-Ing.Agr. Dr. habil. Horst VIERHEILIG

Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr. habil. Johannes NOVAK

Ass.Prof. Dipl.-Ing. Dr. Siegrid STEINKELLNER

Wien, Juli 2007

ABSTRACT

The symbiosis of plant roots and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) results in a number of changes in the metabolism of the host plant. In the present work in basil (*Ocimum basilicum*) the effect of mycorrhization on the production of secondary plant substances and on plant resistance towards *Fusarium oxysporum* was studied.

Five treatments with basil were performed and the plant mortality, root browning and the biomass production were determined. A protective effect of mycorrhiza against the soil-borne pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* was observed.

Analysis of the plant material gave information on the effect of mycorrhization on the production of secondary plant compounds. No significant enhancement of secondary plant compounds could be observed in mycorrhizal basil plants. However, the increase of biomass due to mycorrhiza resulted in a higher yield of these substances without affecting the quality of the substances.

The obtained data are interesting for plant protection in the production of basil. The use of mycorrhiza in plant production is not only of economic interest but could also result in additional ecological advantages.

KURZZUSAMMENFASSUNG

Die Symbiose zwischen Pflanzenwurzeln und Mykorrhizapilze bewirkt eine Anzahl von Veränderungen im Metabolismus der Wirtspflanze. In der vorliegenden Arbeit wurde die Auswirkung der Mykorrhizierung auf die Produktion sekundärer Pflanzenstoffe, sowie die Auswirkung der Mykorrhizierung auf die Pathogenität von *Fusarium oxysporum* bei Basilikum (*Ocimum basilicum*) untersucht.

Durch Anlegen einer Versuchsreihe mit fünf unterschiedlichen Behandlungsvarianten von Basilikum und anschließender Ermittlung der Pflanzensterblichkeit, der Wurzelverbräunung und der Biomasseproduktion konnte eine Schutzfunktion der Mykorrhiza gegen das Wurzelpathogen *Fusarium oxysporum* nachgewiesen werden.

Eine Analyse des Pflanzenmaterials gab Aufschluss über die Auswirkung der Mykorrhizierung auf die Produktion sekundärer Pflanzenstoffe. Durch die Mykorrhiza konnte keine signifikante Erhöhung sekundärer Pflanzenstoffen in den Basilikum-pflanzen erreicht werden, jedoch kam es durch die mykorrhizabedingte Steigerung der Biomasse insgesamt zu einem höheren Ertrag an diesen Substanzen, ohne dass die Qualität der Inhaltsstoffe beeinträchtigt wurde.

Die Ergebnisse der Arbeit sind für den Pflanzenschutz bei der Basilikumproduktion von Interesse. Der Einsatz von Mykorrhiza in der Pflanzenproduktion ist nicht nur von wirtschaftlichen Interesse sondern er könnte zusätzlich ökologische Vorteile mit sich bringen.

VORWORT

Da mein Interesse den Pflanzen und deren Inhaltsstoffen gilt wollte ich unbedingt in diesem Bereich meine Masterarbeit absolvieren.

Im Juni 2006 durfte ich einen Versuch von Herrn Jean-Patrick Toussaint der University of Adelaide, Australien mitbetreuen, in dem es um Basilikum und symbiotische Mykorrhizapilze und deren Auswirkungen auf die Produktion von sekundären Pflanzenstoffen sowie die Pathogenität von *Fusarium oxysporum* ging. Da der Versuch am Ende keine ausreichenden Ergebnisse lieferte, wiederholte ich im Rahmen meiner Masterarbeit den gesamten Versuch im September 2006.

Dies fand ich insofern spannend, da ich einen ganzen Versuch selbständig durchführen durfte. Vor allem waren die Tätigkeitsbereiche sehr vielfältig, angefangen von gärtnerischer Arbeit im Glashaus bis hin zu Labortätigkeiten.

Vor allem denke ich, dass die Forschung im Bereich symbiotischer Mykorrhizapilze von sehr großer Bedeutung ist. Durch sie könnte in Zukunft die Mykorrhizatechnologie in der Pflanzenproduktion erfolgreich eingesetzt werden, was eine effektivere, umweltfreundlichere und nachhaltigere Produktion bedeuten würde.

DANKSAGUNG

An dieser Stelle sei es mir erlaubt, meinen aufrichtigen Dank auszusprechen:

Herrn Dr. Horst Vierheilig für die hervorragende und freundliche Betreuung, sowie für seine fachkundige Unterstützung.

Herrn Dr. Johannes Novak für die Möglichkeit der Durchführung der Analytik am Inst. für Angewandte Botanik auf der Veterinärmedizinischen Universität Wien und für die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung.

Frau Dr. Siegrid Steinkellner möchte ich für ihre unterstützende Hilfe in Sachen Pathogen danken.

Weiters bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern des Institutes für Pflanzenschutz auf der Universität für Bodenkultur Wien, die am Zustandekommen dieser Arbeit beteiligt waren. Besonders möchte ich mich bei Frau Monika Nell bedanken, die mir stets in vielen Bereichen meiner Masterarbeit zu Hilfe stand.

Bei Frau Holub vom Institut für Pflanzenbau möchte ich mich für ihre Hilfe bei der P-Gehaltsmessung recht herzlich bedanken.

Ein herzliches Dankeschön gilt auch den Mitarbeitern des Institutes für Angewandte Botanik auf der Veterinärmedizinischen Universität Wien für ihre Hilfestellung und die angenehme Arbeitsumgebung.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir die Absolvierung des Studiums durch ihre vielseitige Unterstützung ermöglichten.

Bei meinem Freund Daniel und meiner Schwester Ursula möchte ich mich ebenfalls für ihre Unterstützung sehr herzlich bedanken.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	VERSUCHSPFLANZE – BASILIKUM	3
3	SYMBIONT UND PATHOGEN	4
3.1	Arbuskuläre Mykorrhiza (AM)	4
3.1.1	Etablierung der Symbiose	4
3.2	Fusarium oxysporum	7
3.2.1	Entwicklungszyklus	7
3.2.2	Symptomatik	8
4	VERSUCHSPLANUNG	9
5	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	10
5.1	Ansaat	10
5.2	Substratvorbereitung	10
5.3	Inokulation mit arbuskulärer Mykorrhiza	10
5.4	Überimpfung der Fusarium-Kultur	12
5.5	Herstellung der Konidien suspension	13
5.6	Inokulation mit <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>basilici</i> (Fob)	14
5.7	Pflanzenernte	14
5.8	Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades	16
5.9	Bestimmung des Wurzelverbräunungsgrades	17
6	ANALYTIK	18
6.1	Trockenmaterialaufbereitung	18
6.2	Extraktherstellung	19
6.2.1	Dichlormethanextrakt	19
6.2.2	Methanolextrakt	20
6.3	Messung von ätherischen Ölen mittels identifizierender und quantifizierender GC	21

6.3.1	Messprinzip	21
6.3.2	Gaschromatographie-MS	21
6.3.3	Gaschromatographie-FID	22
6.4	Messung von Rosmarinsäure und Kaffeesäure mittels HPLC	23
6.4.1	Messprinzip	23
6.4.2	High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	23
6.5	Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes („Total Phenolics“)	25
6.5.1	Messprinzip	25
6.5.2	Material und Methode	25
6.5.3	Spektralphotometer	26
6.6	Bestimmung der antioxidativen Aktivität mittels DPPH-Test	27
6.6.1	Messprinzip	27
6.6.2	Material und Methode	27
6.6.3	Spektralphotometer	28
6.7	Phosphorgehaltsmessung	28
6.7.1	Messprinzip	28
6.7.2	Material und Methode	28
6.7.3	Spektralphotometer	31
7	STATISTISCHE AUSWERTUNG	32
8	ERGEBNISSE	33
8.1	Pflanzenvitalität	33
8.1.1	Sterblichkeit	33
8.1.2	Mykorrhizierung	33
8.1.3	Wurzelverbräunung	34
8.2	Biomasseproduktion	35
8.2.1	Wurzeltrockenmasse	35
8.2.2	Sprosstrockenmasse	36
8.2.3	Gesamtrockenmasse	37
8.3	Inhaltsstoffe	38
8.3.1	Zusammensetzung des ätherischen Öles	38
8.3.2	Gehalt an ätherischen Öl	39
8.3.3	Gehalt an Rosmarinsäure und Kaffeesäure	40
8.3.4	Gehalt an phenolischen Verbindungen	42
8.3.5	Antioxidative Aktivität der Inhaltsstoffe	43
8.3.6	Phosphorgehalt	44
9	DISKUSSION	46

10 ZUSAMMENFASSUNG	49
11 DARSTELLUNGSVERZEICHNIS	52
12 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	55
13 LITERATURVERZEICHNIS	56
14 ANHANG	60

1 EINLEITUNG

Die Mykorrhiza ist von großer Bedeutung in der Pflanzenwelt. So gehen fast alle Pflanzenfamilien eine symbiontische Beziehung mit Mykorrhizapilzen ein (SMITH und READ 1997).

Die arbuskuläre Mykorrhiza (AM) ist eine Symbiose zwischen Pflanzenwurzeln und Bodenpilzen der Phylum Glomeromycota. Arbuskuläre Mykorrhizapilze (AMP) kolonisieren die Wurzeln und verbessern durch eine deutlich größere, resorbierende Oberfläche (Wurzel und Pilz) die Nährstoffversorgung der Pflanzen. Vor allem wird eine effizientere Ausnutzung des im Boden vorhandenen, häufig aber gebundenen Phosphates erreicht. Dadurch zeichnet sich die arbuskuläre Mykorrhiza in vielen Fällen durch einen fördernden Einfluss auf die Entwicklung und das Wachstum der Wirtspflanzen aus. Die Mykorrhiza spielt somit auch für das Überleben von Pflanzen auf Böden mit geringer Nährstoffverfügbarkeit eine große Rolle (BACKHAUS und FELDMANN 1997, S. 9f).

Die Bildung der Mykorrhiza bringt eine Anzahl von Änderungen morphologischer und physiologischer Art in der Wirtspflanze mit sich (ATKINSON 1994).

Bei der Etablierung der arbuskulären Mykorrhizasymbiose kommt es zu einem komplexen Signalaustausch zwischen dem Pilz und der Wirtspflanze. Hierbei wird der gesamte Metabolismus der kolonisierten Pflanze stark verändert (SMITH und READ 1997). Unter anderem kommt es auch zur Änderung der Gehalte einer Reihe von sekundären Pflanzenstoffen verschiedenster chemischer Wirkstoffgruppen. So werden z.B. die Gehalte verschiedenster bioaktiver Wirkstoffe erhöht, was eine Erhöhung der pharmakologischen Wirkung der Pflanzen bedeuten kann. Dies ist vor allem für die Arzneimittelproduktion bei der Gewinnung pharmazeutischer Inhaltsstoffe aus Arzneipflanzen von großer Bedeutung. Eine Erhöhung der Wirkstoffproduktion durch Mykorrhizierung von Arzneipflanzen ist somit bei einer wachsenden Nachfrage für Pflanzeninhaltsstoffe von wirtschaftlichem Interesse.

Darüber hinaus sind mykorrhizierte Pflanzen unempfindlicher gegenüber abiotischen und biotischen Stressfaktoren, wie sie z.B. von Versalzung, ungünstigen Temperaturen oder Wassermangel ausgehen (BACKHAUS und FELDMANN 1997, S. 12). Durch die Mykorrhizierung sind manche Pflanzen in der Lage auch auf Extremstandorten zu überleben. Zum anderen sind mykorrhizierte Pflanzen häufig resistenter gegenüber bodenbürtigen pilzlichen Krankheitserregern. Die für diese Resistenz verantwortlichen Mechanismen sind noch nicht geklärt.

Mehrere Wirkungsmechanismen sind vorstellbar:

- 1) Eine Besiedlung der Wurzeln mit einem AMP verbessert die allgemeine Nährstoffversorgung der Pflanzen, wodurch die Resistenz bzw. die Toleranz gegenüber Krankheitserregern erhöht wird.
- 2) Es kommt zu einer Konkurrenzsituation um Nährstoffe zwischen den AMP und Krankheitserregern d.h. sobald eine Pflanze ausreichend mit AMP besiedelt ist, stehen Krankheitserregern weniger Nährstoffe zur eigenen Entwicklung zur Verfügung.
- 3) Die Besiedlung der Wurzel mit AMP aktiviert die Abwehrmechanismen in der Pflanze.
- 4) Die Besiedlung der Wurzel durch AMP führt zu Veränderungen des pflanzlichen Metabolismus und damit verbunden zu einer quantitativ und/oder qualitativ veränderten Wurzelexudation. (VIERHEILIG et al. 2007)

Eine Nutzung der arbuskulären Mykorrhiza in der landwirtschaftlichen und gartenbaulichen Praxis bietet die Möglichkeit, die Pflanzengesundheit im Nutzpflanzenanbau zu erhalten und zu fördern (BACKHAUS und FELDMANN 1997, S. 14).

Bedeutung kann die Mykorrhizierung von Pflanzen somit auch im Pflanzenschutz erlangen. Hier könnte die Mykorrhiza als Instrumentarium zur biologischen Beeinflussung des Befalls durch Wurzelpathogene eingesetzt werden.

Im Zuge dieser Arbeit werden diese Aussagen anhand der Versuchspflanze Basilikum (*Ocimum basilicum*) überprüft. Es werden folgende Fragestellungen bearbeitet:

- Bietet die Mykorrhizierung der Basilikumpflanze Schutz vor dem Wurzelpathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* ?
- Welche Unterschiede in der Produktion sekundärer Pflanzenstoffe zwischen mykorrhizierten und nicht-mykorrhizierten Basilikumpflanzen gibt es?

Ziel der Arbeit ist es mit Hilfe eines Versuches die Fragestellungen zu beantworten und daraus Rückschlüsse zu ziehen.

Der Versuch besteht darin, Basilikumpflanzen während der Aufzucht verschiedener Behandlungsvarianten zu unterziehen, um anschließend durch die Ermittlung von Parametern für die Beurteilung der Pathogenität und durch analytische Messmethoden Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsvarianten feststellen zu können, um eine Aussage bezüglich der Fragestellungen zu treffen.

2 VERSUCHSPFLANZE – BASILIKUM

Basilikum (*Ocimum basilicum*) ist eine Gewürzpflanze aus der Familie der Lippenblütengewächse (*Lamiaceae*).

Der Name Basilikum stammt vom griechischen *basilikos* und bedeutet königlich. Der Gattungsname stammt ab vom griechischen *ozein*, was riechen bedeutet.

Basilikum ist eine einjährige, buschig wachsende Pflanze mit einer Höhe von bis zu 40 cm und dünnen, verzweigten Wurzeln. Die Blüten sind ährenartig und erscheinen von Juni bis September.



Das Herkunftsland des Basilikums ist Indien.

Abb. 1: Basilikum (*Ocimum basilicum*)

Quelle: <http://www.family.obrist.ch/media/Christa/Basilikum.jpg>

Die Artenvielfalt von Basilikum ist sehr hoch. Die einzelnen Arten unterscheiden sich in Blattfarbe, Blattgröße, Aroma, Wachstumsart und Ansprüchen.

Verwendung findet Basilikum als Küchengewürz, aber auch als Heilmittel in der alternativen Medizin. Der größte Verbrauch von Basilikum besteht in der Gewürzindustrie. In der Homöopathie wird die aus frischen Blättern bereitete Essenz verwendet. Innerlich wird Basilikum vor allem als Magenmittel, zur Verhinderung von Blähungen und zur Anregung der Milchsekretion eingesetzt (DACHLER M., PELZMANN H. 1999, S. 141).

Die angenehm aromatisch schmeckenden Blätter der Basilikumpflanze enthalten 0,3 bis 1,5 % ätherisches Öl. Das ätherische Öl ist von komplexer und sehr variabler Zusammensetzung und unterliegt genetisch, klimatisch, jahreszeitlich oder standörtlich bedingten Schwankungen. Basilikumöl kann daher verschiedene Substanzen in verschiedenen Mengen enthalten, die stark schwanken können. Die wichtigsten Aromakomponenten sind Estragol (Methylchavicol), Linalool, Cineol weiters Eugenol, Campher und Gerbstoffe. Öl aus europäischem Gewürzbasilikum (*Ocimum basilicum*) ist charakterisiert durch hohe Konzentrationen an Linalool (30-90%) und Estragol (50-90%). Andere Bestandteile sind 1,8-Cineol und Eugenol.

Weitere Monoterpene (Ocimen, Geraniol, Campher), Sesquiterpene (Bisabolen, Caryophyllen) und Phenylpropane (Zimtsäureester, Methyleugenol) sind in wechselnder Menge enthalten und beeinflussen den Geschmack erheblich.

Diese unterschiedlichen Inhaltsstoffe zeigen deutlich, dass Basilikum einen erstaunlich vielfältigen Sekundärstoffwechsel besitzt (KATZER 2001).

3 SYMBIONT UND PATHOGEN

3.1 Arbuskuläre Mykorrhiza (AM)

Als Mykorrhiza bezeichnet man eine Form der Symbiose zwischen den Wurzeln (gr. *rhiza* = Wurzel) höherer Pflanzen und Pilzen (gr. *mykes* = Pilz).

Die Mykorrhizapilze liefern der Pflanze Nährsalze und Wasser und erhalten dafür einen Teil der durch die Photosynthese der Pflanzen erzeugten Assimilate.

Nach Art der Ausbildung der Symbiose zwischen dem Wurzelsystem der höheren Pflanzen und der Mykorrhiza unterscheidet man fünf verschiedene Mykorrhiza-Typen:

- **Ektomykorrhiza (ECM)**
- **Ektendomykorrhiza**
- **Ericaceen-Mykorrhiza**
- **Orchideen-Mykorrhiza**
- **Arbuskuläre Mykorrhiza (AM)**

Da es sich in meinem Versuch um eine arbuskuläre Mykorrhiza (Gattung *Glomus mosseae*) handelt werde ich nur auf diesen Typ im Speziellen näher eingehen.

Die arbuskulären Mykorrhizapilze (AMP) treten in nahezu allen terrestrischen Ökosystemen auf und verfügen über ein sehr breites Wirtsspektrum. Mehr als 80 % aller Pflanzen gehen eine symbiontische Beziehung mit diesen Pilzen ein. Die arbuskulären Mykorrhizapilze sind die verbreitetsten und ältesten Mykorrhiza-Pilze (SMITH und READ 1997).

Die pilzlichen Partner einer arbuskulären Mykorrhiza lassen sich in drei Familien (Glomaceae, Acaulosporaceae und Gigasporaceae) der Phylum Glomeromycota einordnen. Verantwortlich für die Bildung der arbuskulären Mykorrhiza sind Pilze der Gattung *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus* und *Scutellospora* (DIÉDHIYOU 2001, S. 1).

3.1.1 Etablierung der Symbiose

Die Arbuskuläre Mykorrhiza ist eine besondere Form der Endomykorrhiza. Die Pilzhyphen wachsen in die Wirtszellen hinein.

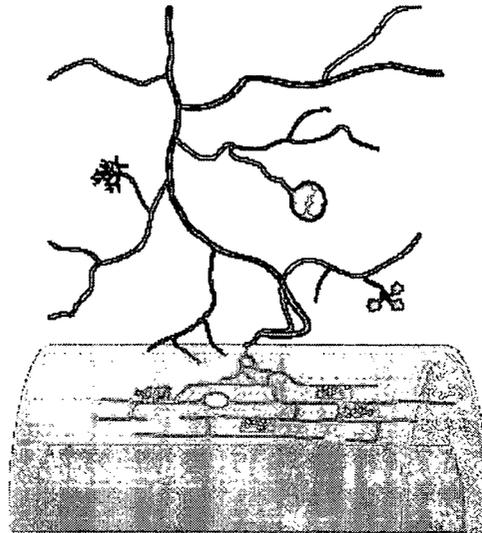


Abb. 2: Schematische Darstellung des AMP von der Penetration der Epidermis bis zur Bildung von Arbuskeln und Vesikeln in der Wurzel

Quelle: BRUNDRETT, <http://www.ffp.csiro.au/research/mycorrhiza/vam.html>

Zur Etablierung der Symbiose sind ein ausreichendes Inokulum-Potential und geeignete Wirtspflanzen Voraussetzung.

Der Entstehungszyklus lässt sich in drei Abschnitte unterteilen:

- Prä-Infektionsphase
- Infektionsphase
- Post-Infektionsphase

Die Prä-Infektionsphase umfasst die Keimung der Pilzspore im Boden sowie das zunächst ungerichtete Wachstum der Pilzhypen und das Aufeinandertreffen mit einer Wirtswurzel. In der darauffolgenden Infektionsphase kommt es zum ersten Kontakt des Pilzes mit der Wurzeloberfläche. Der Pilz bildet ein Apressorium, dessen Penetrationshyphen die Wurzelepidermis durchstoßen. Mit dem Eindringen der Penetrationshyphe durch die Epidermis der Wurzel wird die Entwicklung der Mykorrhiza, die Post-Infektionsphase eingeleitet. Die Pilzhyphe breitet sich vom Infektionspunkt interzellulär in beide Richtungen aus (WULFF 1996, S. 5). Während des gesamten Entwicklungsganges wird dabei das Plasmalemma der Wirtszellen niemals penetriert, sondern es kommt in den Rindenparenchymzellen nur zu einer Einstülpung der Wirtszellmembranen. Neben dem meist intensiven, intrazellulärem Wachstum ist auch eine interzelluläre Entwicklung im Wirtsgewebe möglich (BACKHAUS und FELDMANN 1997, S. 11).

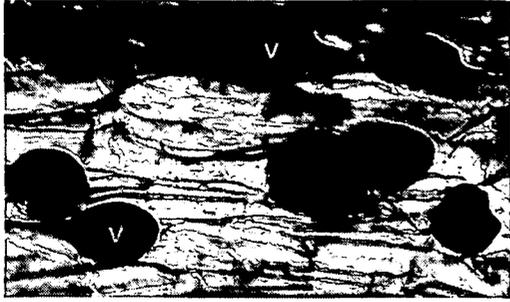


Abb. 3: Vesikeln in der Wurzel



Abb. 4: Arbuskeln in der Wurzelzelle
(Bar = 10µm)

Quelle: BRUNDRETT, <http://www.ffp.csiro.au/research/mycorrhiza/vam.html>

Typisch für diese Mykorrhizaart ist die Bildung von Vesikeln und Arbuskeln. Vesikeln sind dickwandige Pilzzellen, die sich im Wurzelgewebe der Partnerpflanze bilden und als Speicherorgane des Pilzes fungieren. Die Arbuskeln sind bäumchenartige Verzweigungen innerhalb der Wurzelzellen, die der Oberflächenvergrößerung dienen. Sie sind die Verbindungsstelle für den Stoffaustausch zwischen der Wirtspflanze und dem Pilz (SYLVIA 1999).



Abb. 5: Hyphen (→) mit Sporen (S) von *Glomus mosseae* (Bar = 100 µm)

Quelle: BRUNDRETT, <http://www.ffp.csiro.au/research/mycorrhiza/vam.html>

Außerhalb der Wurzel wird ein lockeres Hyphennetz gebildet, dort können sich Sporen bilden, die der Fortpflanzung dienen. Die Sporen sind asexuell, d.h. sie sind durch Differenzierung von vegetativen Hyphen entstanden. Sie sind auch die wichtigsten Überdauerungsstrukturen mit der der Mykorrhizapilz ungünstige Bedingungen überstehen kann. Die Größe der Sporen variiert von 10 µm bis über 1000 µm im Durchmesser. Auch in der Farbe und Oberflächenbeschaffenheit gibt es Unterschiede (vgl. BRUNDRETT et al. 1996, S. 148f). Mit der Sporenbildung ist der Entwicklungszyklus des Pilzes abgeschlossen.

3.2 Fusarium oxysporum

Fusarium oxysporum ist ein wurzelpathogener Pilz, der Bestandteil von natürlichen Ökosystemen auf der ganzen Welt ist. Durch den sehr großen Wirtspflanzenkreis und der Ausbildung vieler spezifischer Formen, nimmt *Fusarium oxysporum* bei den Pflanzen unter den Erregern der Welkekrankheiten eine wichtige Stellung ein. Die Schäden, verursacht durch dieses Pathogen, nehmen weltweit an Bedeutung zu (NELSON 1981).



Abb. 6: Krankheitssymptom bei *Fus. oxy.*-Infektion bei Basilikum

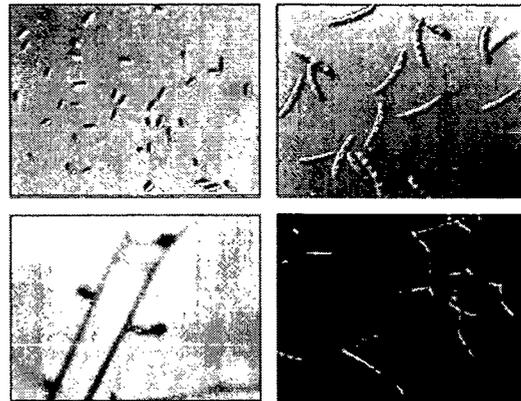


Abb. 7: Mikro-, Makrokonidien und Myzel mit Sporenbildung von *Fus. oxy.*

Quelle: http://www.anbg.gov.au/cpbr/program/sc/path_vari.htm

3.2.1 Entwicklungszyklus

Dieses Pathogen verursacht die sogenannte Fusariumwelke. Der bodenbürtige Pilz dringt über Wunden oder im Bereich der Wurzelspitze bzw. Wurzelhaarzone auch über gesundes Gewebe in die Pflanzenwurzel ein. Die Infektion geht vor allem von den Chlamydosporen (Dauersporen) aber auch von den überdauernden Myzelresten im Boden aus. Die reichlich mit Nährstoffen versehenen Chlamydosporen beginnen durch den Reiz von Wurzelexsudaten zu keimen und wachsen zu den Wurzeln. Das Pathogen breitet sich über Pilzhypen vor allem zwischen den Zellen der Wurzelrinde aus und dringt bis in den Zentralzylinder vor, von wo aus die Leitgefäße befallen werden. Das Pilzmyzel in den Gefäßen führt zusammen mit den vom Pilz gebildeten Sporen und dem von der Pflanze gebildeten Wundgummi zu deren Verstopfung (NELSON, 1981). Des weiteren induziert die Pilzinfektion das den Gefäßen anliegende Parenchymgewebe zur Teilung, welche ebenfalls zu einer Verengung des Gefäßlumens führt. Die Versorgung der oberen Pflanzenteile mit Wasser ist somit unterbunden und es kommt zur Ausbildung der typischen Welkeerscheinungen. Mit fortschreitender Pilzinfektion ist die ausreichende Versorgung der Pflanze nicht mehr gegeben und sie stirbt ab. Durch das Absterben der Pflanze werden dann schließlich

Chlamydosporen und Konidien gebildet die im Boden überdauern bzw. andere Pflanzen befallen (BECKMAN, 1987).

3.2.2 Symptomatik

Jungpflanzen sind durch den Befall von *Fusarium oxysporum* in ihrem Wachstum gehemmt, die Blätter hängen nach unten und sind teilweise gelb verfärbt. Die Leitgefäße sind braun gefärbt und die Stängel aufgebrochen, sodass die Pflanzen absterben (CRÜGER et al., 2002, S. 56-58).

4 VERSUCHSPLANUNG

Datum	Behandlung	Alter der Pflanzen
04. Sep.	Ansaat / Substratvorbereitung	0 Tage
18. Sep.	Topfen / Inokulation mit AM	14 Tage
02. Okt.	Überimpfung der <i>Fus.</i> -Kultur	28 Tage
09./10. Okt.	Beurteilung der Mykorrhizierung / Vorbereitung der Konidiensuspension / Umtopfen / Inokulation mit <i>Fus. oxysporum</i>	5 Wochen
13./14. Nov.	Pflanzenernte	10 Wochen (5 Wochen mit <i>Fus.</i>)

Tab. 1: Versuchszeitplan

Der Versuch von der Ansaat bis zur Ernte der Basilikumpflanzen erstreckt sich über 10 Wochen. Die Ansaat erfolgt am 4. September. 14 Tage später werden die Basilikumpflanzen mit AMP (*Glomus mosseae*) inokuliert und getopft. Eine Woche vor der Inokulation mit *Fusarium* wird die Pilzkultur neu überimpft, damit frische Konidien für die Suspension zur Verfügung stehen. Im Alter von 5 Wochen wird ein Teil der Basilikumpflanzen mit *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* (*Fob*) inokuliert. 5 Wochen später im Pflanzenalter von 10 Wochen wird die Ernte durchgeführt.

Bei der Ernte werden folgende Daten erhoben:

- Bestimmung der Sterblichkeitsrate der verschiedenen Versuchsvarianten
- Bestimmung des Frischgewichtes von Spross und Wurzel
- Bestimmung des Trockengewichtes von Spross und Wurzel
- Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades
- Bestimmung des Wurzelverbräunungsgrades

Aus dem Pflanzentrockenmaterial werden die folgenden analytischen Analysen durchgeführt:

- Messung ätherischer Öle mittels identifizierender und quantifizierender GC (Gaschromatographie)
- Messung von Rosmarinsäure (RS) u. Kaffeesäure (KS) mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography)
- Messung des Gesamtphenolgehaltes („Total Phenolics“) mittels spektroskopischer Methode nach Folin-Denis
- Messung der antioxidativen Aktivität mittels DPPH-Test
- Phosphorgehaltsmessung mittels Ammonium-Vanadat-Molybdat Methode nach Gericke und Kurmies

5 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

5.1 Ansaat

Vor der Aussaat werden die Samen mittels DanChlor sterilisiert damit sichergestellt ist, dass keine Mikroorganismen auf den Samen haften. Dazu werden in einem Becherglas 50 %iges DanChlor und 1 Tropfen Spülmittel, zur Herabsetzung der Oberflächenspannung, gegeben.

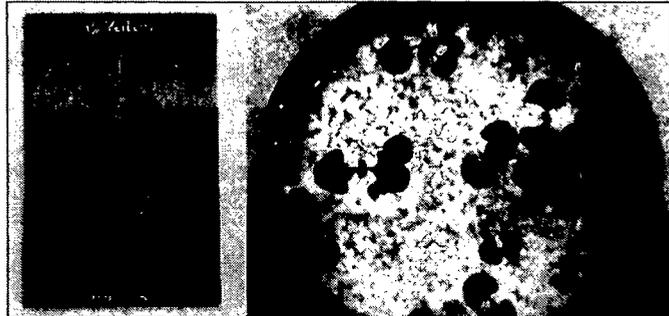


Abb. 8: Samenpäckchen und Basilikum-Keimpflanzen

Die Samen verbleiben dann ca. 2 Minuten lang in dieser Lösung. Anschließend werden die Samen gründlich mit Wasser abgespült. Die Aussaat erfolgt in Schälchen, die mit Perlit gefüllt sind und bereits angegossen sind: Insgesamt wurden 190 Samen ausgesät. Die Schälchen werden mit einer Abdeckung als Verdunstungsschutz für die ersten paar Tage bei 28 °C in den Wärmeschrank gegeben. Danach werden die Keimpflanzen ans Licht gestellt. Das Substrat sollte immer genügend Feuchtigkeit haben. In ca. 14 Tagen werden die Keimpflanzen einzeln in Töpfe gepflanzt.

5.2 Substratvorbereitung

Zum Topfen wird ein neues Substrat benötigt, das zunächst gemischt werden muss.

Es besteht zu gleichen Teilen aus:

- feinen Blähton
- feinen Quarzsand
- gesiebter Erde

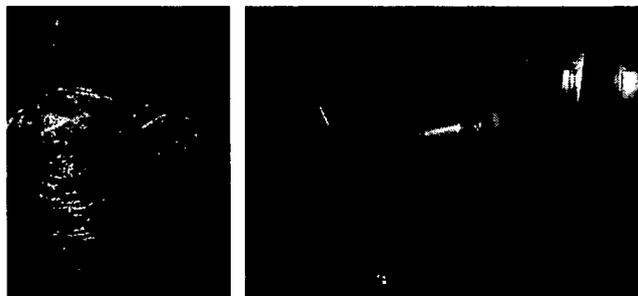


Abb. 9: Substratsäcke und Autoklav

Das gemischte Substrat wird in Säcke gefüllt und im Autoklaven autoklaviert und damit keimfrei gemacht.

5.3 Inokulation mit arbuskulärer Mykorrhiza

Von 190 Samen sind ca. 173 Samen gekeimt. Das ergibt eine hohe Keimungsrate von ca. 91 %.

Die folgende Tabelle zeigt die Aufteilung der Pflanzen auf die fünf verschiedenen Behandlungsvarianten:

Variante	Behandlung	Anzahl der Pflanzen
K	Kontrolle (keine Behandlung)	15
K + P	Kontrolle + Phosphor (wird mit P gedüngt)	15
AM	Arbuskuläre Mykorrhiza	20
AM + F	Arbus. Mykorrhiza + <i>Fusarium oxy.</i>	15
F	<i>Fusarium oxy.</i>	15
Gesamt		80

Tab. 2: Behandlungsvarianten

Insgesamt wurden 80 Pflanzen für den Versuch herangezogen. Jeweils 15 Versuchspflanzen pro Variante, mit Ausnahme bei der AM-Variante, hier sind es 20 Pflanzen, da 5 Pflanzen für die Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades bereits vor der Ernte benötigt werden. Variante K, die Kontrollvariante wird keiner Behandlung ausgesetzt. Bei der K+P-Variante werden die Basilikumpflanzen mit Phosphor gedüngt. Die AM-Variante wird mit dem AMP *Glomus mosseae* inokuliert. Variante AM+F wird zusätzlich zur Mykorrhizierung auch mit dem Wurzelpathogen *Fusarium oxy. f. sp. basilici* (*Fob*) inokuliert. Und die F-Variante wird nur mit *Fob* inokuliert.

Zunächst werden die Töpfe (ø 8 cm) mit dem autoklavierten Substrat befüllt und angegossen. Die Keimpflanzen werden einzeln in die Töpfe pikiert. Bei 35 der 80 Töpfe wird zusätzlich vor dem Einsetzen der Pflanze in eine Grube ein Teelöffel mit AM-Inokulum gegeben. Inokuliert wurde mit dem AMP *Glomus mosseae*, der von der französischen Firma Biorize bezogen wurde.

Nach dem Topfen werden die Töpfe, versehen mit den Labels der verschiedenen Behandlungsvarianten, ins Glashaus gestellt.

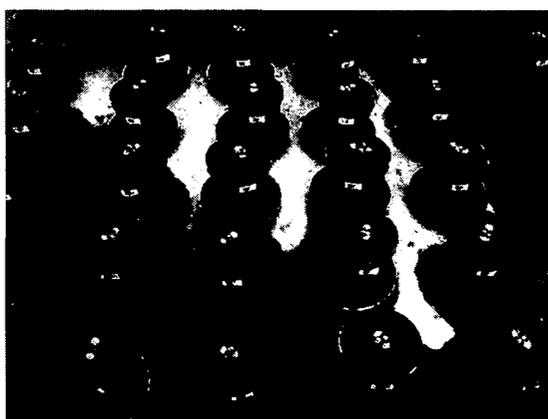


Abb. 10: mit AMP *Glomus mosseae* inokulierte 14 Tage alte Basilikumpflanzen

5.4 Überimpfung der Fusarium-Kultur

Die Versuche wurde mit *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* (*Fob*) einer basilikum-spezifischen Spezies durchgeführt, die freundlicherweise von Dr. Matias Pasquali der Universität Turin/Italien zur Verfügung gestellt wurde.

Um die *Fob*-Kultur zu überimpfen, benötigt man Platten mit Potato-Dextrose-Agar Medium. Dazu wird in eine Glasflasche 31,2 g Potato-Dextrose-Agar Pulver eingewogen mit 800 ml dest. Wasser aufgegossen, gemischt und anschließend im Autoklaven bei 121 °C 60 min lang sterilisiert. Nach dem Autoklavieren muss die Flasche mit dem Medium bei 55 °C im Wärmeschrank gelagert werden, damit das Medium nicht fest wird.

Das Gießen der Platten erfolgt in der Sterilbank. Das Medium wird dabei 3-4 mm dick in sterile Petrischalen (ø 9 cm) gegossen. Diese werden noch kurz offengelassen, damit bei der Abkühlung des Mediums entstehender Wasserdampf entweichen kann und kein Kondenswasser entsteht. Nach 5-10 min ist das Medium fest, die Platten werden zugedeckt, verkehrt herum gestapelt, gekennzeichnet und in eine sterile PE-Tüte eingeschweißt. Ab dem nächsten Tag sind sie bereit zur Verwendung.

Das Überimpfen erfolgt ebenfalls in der Sterilbank. Unter sterilen Bedingungen (Desinfektion der Arbeitsfläche, der Hände und Sterilisation der Arbeitsgeräte durch Abflammen) werden aus dem Randgebiet des *Fob*-Kultur Myzels (Stammkultur) kleine ca. 1 cm² große Quadrate ausgestochen, die anschließend jeweils auf eine neue sterile Agar-Platte überimpft werden. Die Platten werden mit Parafilm verschlossen, beschriftet, in Alufolie gewickelt und in einen 24 °C warmen Wärmeschrank gestellt, wo die neuen Kolonien in Dunkelheit wachsen können.



Abb. 11: Sterilbank

5.5 Herstellung der Konidiensuspension

Zur Vorbereitung der Konidiensuspension für die spätere Inokulation werden zwei Agarplatten mit frischen *Fob*-Kulturen benötigt, die vor einer Woche neu überimpft worden sind. Unter der Sterilbank gibt man etwas dest. Wasser auf das Myzel auf der Agarplatte und schabt vorsichtig mit einer Dreiecksspachtel um die Sporen zu lösen. Anschließend wird die Flüssigkeit durch ein Filterpapier abfiltriert.

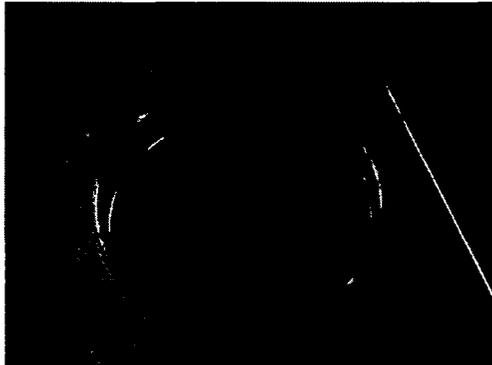


Abb. 12: frisches Myzel von *Fob*-Kultur auf Potato-Dextrose-Agar Medium

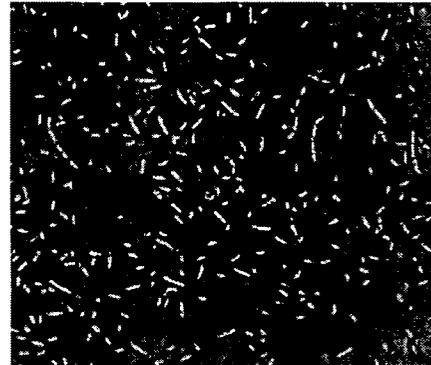


Abb. 13: Makro- und Mikrokonidien von *Fus. oxysporum*

Quelle: http://www.inta.gov.ar/myza/info/gal/conidios_fusarium.htm

Bevor die Suspension zur Inokulation herangezogen werden kann, muss die Sporenkonzentration ermittelt und eventuell eingestellt werden. Unter dem Mikroskop werden die Sporen mittels einer Thomakammer ausgezählt. Diese besteht aus einem Objektträger mit mehreren Ablaufrinnen und ein oder zwei eingravierten Vierecken von je 1 mm Seitenlänge und 0,1 mm Tiefe, die wiederum durch Längs- und Querstriche in 400 gleiche Kästchen unterteilt sind. Es werden einige Tropfen Sporensuspension auf den Objektträger aufgebracht und mit einem Deckglas abgedeckt, überschüssige Suspension läuft dabei durch die Rinnen ab. Nun wird die Sporendichte bestimmt, indem die Anzahl der im gesamten Viereck vorhandenen Sporen ermittelt wird. Es werden von 100 Kästchen jeweils die enthaltenen Sporen gezählt. Das Raster beinhaltet jedoch insgesamt 400 Kästchen. Auf diese werden dann die ausgezählten Sporen der 100 Kästchen hochgerechnet. Anschließend ist noch mit 10.000 zu multiplizieren um die Konzentration auf das Volumen bezogen (pro 1 ml Sporensuspension) zu bekommen. Man zählt mindestens 3 Thomakammern aus und gibt dann den Mittelwert an. (MÜHLE et al. 1983, S. 87)

In meinem Fall lag die Sporenkonzentration bei $2,1 \times 10^6$. Ich beschloss mit einer Konzentration von 10^6 zu inokulieren und musste daher die Suspension nicht verdünnen. Zudem war sie mengenmäßig auch für die Inokulation ausreichend.

5.6 Inokulation mit *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* (Fob)

Bevor die Basilikumpflanzen mit *Fob* inokuliert werden, wird der Mykorrhizierungsgrad anhand von 3 mykorrhizierten Pflanzen festgestellt. Die Durchführung der Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades im Labor wird im nachfolgenden Kapitel 5.8 „Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades“ näher erläutert.

Die Pflanzen hatten folgende Mykorrhizierungsgrade: 64 %, 52 % und 63 %, was eine durchaus hohe durchschnittliche Mykorrhizierung von ca. 60 % bedeutet.

Zum Umtopfen werden zunächst 77 Töpfe (ø 12 cm) befüllt mit autoklaviertem Substrat vorbereitet, etikettiert und angegossen. Zuerst werden alle nicht zu inokulierenden Basilikumpflanzen umgetopft. Deren Wurzeln werden ebenfalls unter Wasser vom Substrat befreit bevor sie neu getopft werden, da diese die gleiche Behandlung erhalten müssen wie die zu inokulierenden.

Die Inokulation bei den restlichen Pflanzen erfolgt vor dem Topfen durch kurzes Einlegen der ausgewaschenen Wurzeln in die vorbereitete Konidien suspension. Anschließend werden alle Basilikumpflanzen zurück ins Glashaus gestellt damit sie weiterwachsen können.



Abb. 14: mit *Fusarium oxysporum* inokulierte 5 Wochen alte Basilikumpflanzen

5.7 Pflanzenernte

Bevor die Pflanzen geerntet werden, wird eine Bestandeskontrolle durchgeführt und die Mortalität der einzelnen Varianten bestimmt.

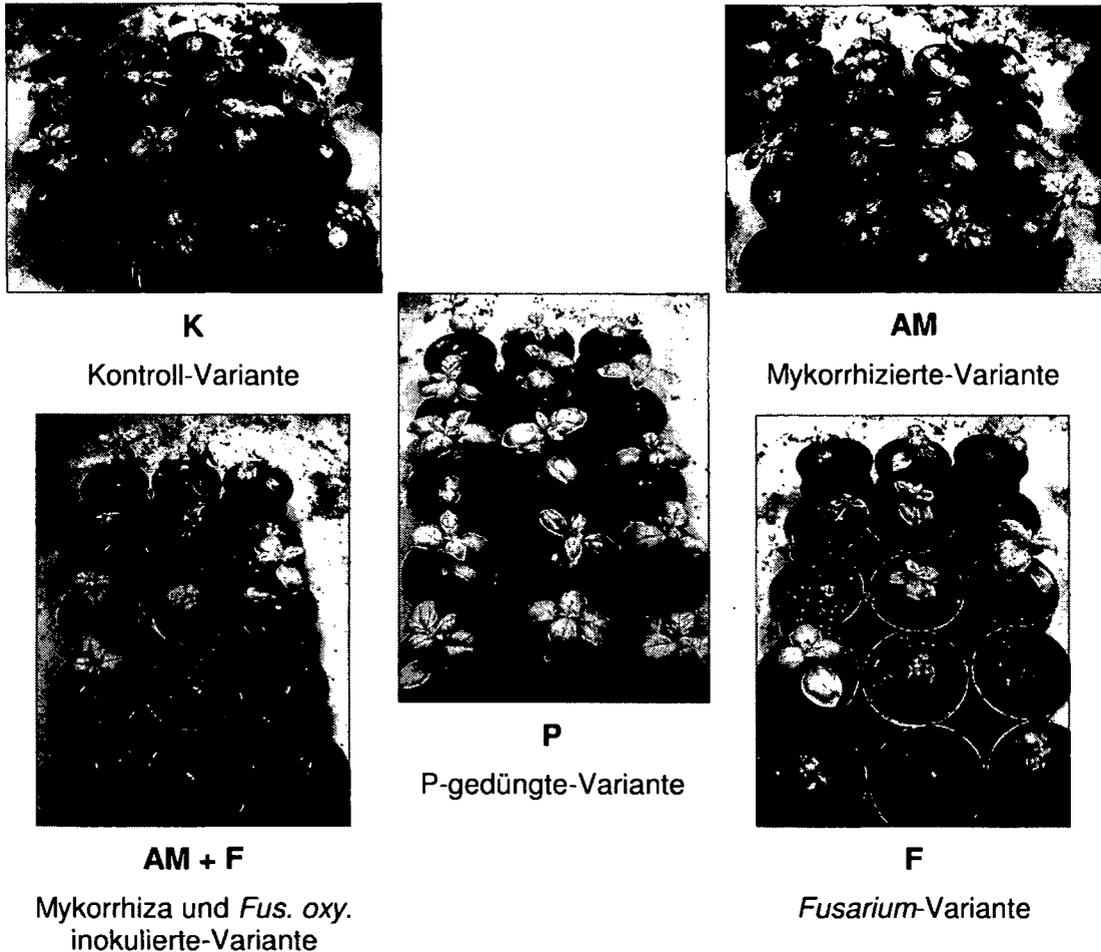


Abb. 15: Pflanzenbestand der verschiedenen Varianten im Alter von 10 Wochen



Abb. 16: Erntevorgang

Bei der Ernte werden jeweils die Wurzeln aller Pflanzen unter dem fließenden Wasser vorsichtig vom Substrat befreit. Anschließend wird das Frischgewicht der Wurzel und des Sprosses jeder Pflanze bestimmt. Von jeweils 4 Pflanzen der mykorrhizierten Varianten (AM und AM+F) und 2 Pflanzen der restlichen Varianten (K, K+P, F) wird eine Wurzelprobe aus dem oberen Teil der Wurzel entnommen und jeweils in ein Reagenzglas mit etwas dest. Wasser gegeben, um später im Labor den Mykorrhizierungsgrad bzw. den Wurzelverbräunungsgrad zu bestimmen.

Für diese Pflanzen ist auch der Wurzelteil ohne dieser Probe abzuwiegen, damit später auf die Gesamtwurzeltrockenmasse gerechnet werden kann. Sprosse und Wurzeln werden einzeln in Papiertüten gegeben und zum Trocknen bei 35 °C ein paar Tage lang in die Wärmekammer gelegt. Das getrocknete Pflanzenmaterial wird anschließend abgewogen um das Trockengewicht zu ermitteln.

5.8 Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades

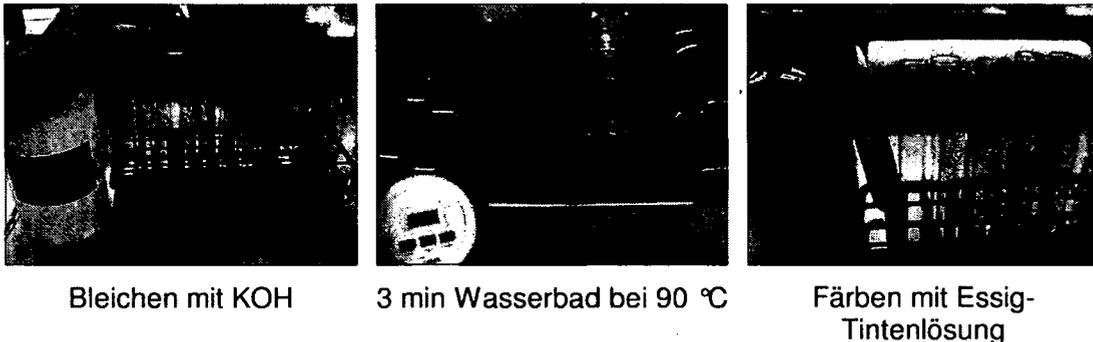


Abb. 17: Färbevorgang

Zur Beurteilung der Mykorrhizierung werden die bei der Ernte entnommenen Wurzelproben in Reagenzröhrchen gegeben. Das Anfärben der Wurzeln erfolgt gemäß der Methode von VIERHEILIG et al (1998). Bevor die Wurzeln angefärbt werden können, müssen sie gebleicht werden. Dazu gibt man KOH (Kalilauge) zu den Wurzeln hinzu und stellt diese 3 Minuten lang bei 90 °C ins Wasserbad. Die Wurzeln werden anschließend mit dest. Wasser abgespült. Dann wird Essig-Tintenfarbe (5 % Tinte: Schaeffer; black und Haushaltsessig: 5 % Essigsäure) zu den Wurzeln hinzugegeben und sie werden wieder bei 90 °C ca. 4 Minuten lang ins Wasserbad gestellt. Danach werden die Wurzeln ebenfalls mit dest. Wasser abgespült.

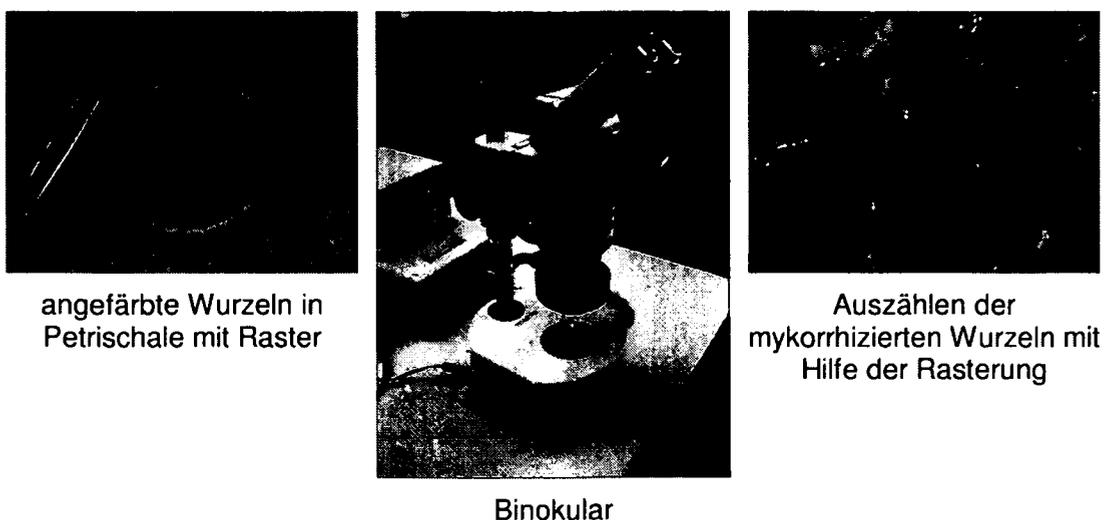


Abb. 18: Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades

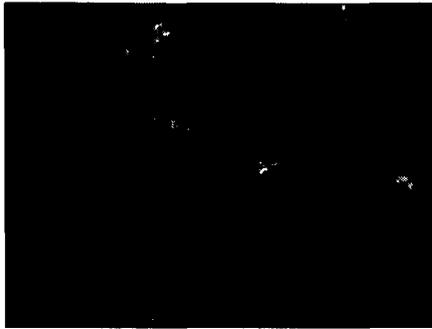


Abb. 19: eingefärbte Pilzstrukturen in den Wurzeln

Die angefärbten Wurzeln werden mit etwas dest. Wasser in eine Petrischale mit Raster gegeben. Unter dem Binokular werden nun die mykorrhizierten Wurzeln mit Hilfe der Rasterung ausgezählt. Jede Wurzel die eine Rasterlinie kreuzt wird gezählt. Mykorrhizierte Wurzeln erkennt man an den Blau eingefärbten Arbuskeln in der Wurzel. Insgesamt werden 100 Wurzeln ausgezählt. Das Verhältnis von mykorrhizierten Wurzeln zu den 100 ausgezählten Wurzeln ergibt den Mykorrhizierungsgrad in %. Die Feststellung des Prozentsatzes der Wurzelkolonisation entspricht der Methode von NEWMAN (1966).

Mykorrhizierungsgrad (%) = Zahl der mykorrhizierten Wurzeln/100 ausgezählte Wurzeln

5.9 Bestimmung des Wurzelverbräunungsgrades

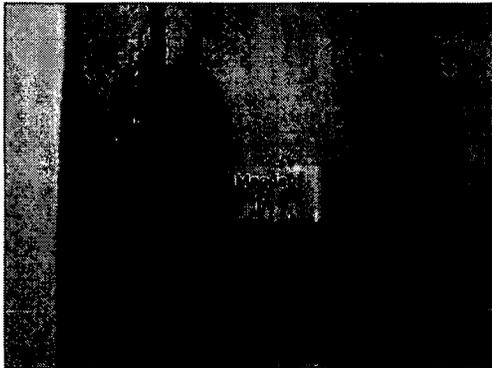


Abb. 20: teilweise verbräunte Wurzeln



Abb. 21: vereinzelt verbräunte Wurzeln unter dem Binokular

Die Beurteilung der Wurzelverbräunung wird vor der Bleichung und Färbung der Wurzeln für die Beurteilung der Mykorrhizierung durchgeführt. Verbräunte Wurzeln sind bereits mit bloßem Auge gut sichtbar. Unter dem Binokular werden die verbräunten Wurzeln wie bei der Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades mit Hilfe des Rasters ausgezählt und anschließend der Verbräunungsgrad bestimmt.

Wurzelverbräunungsgrad (%) = Zahl der verbräunten Wurzeln/100 ausgezählte Wurzeln

6 ANALYTIK

Vom getrockneten Pflanzenmaterial wurden die folgenden analytischen Analysen durchgeführt:

- Bestimmung des ätherischen Öles mittels identifizierender (GC-MS) und quantifizierender (GC-FID) Gaschromatographie
- Messung von Rosmarinsäure u. Kaffeesäure mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography)
- Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes („Total Phenolics“) mittels spektroskopischer Methode nach Folin-Denis
- Bestimmung der antioxidativen Aktivität mittels DPPH-Test
- Phosphorgehaltsmessung mittels Ammonium-Vanadat-Molybdat Methode nach Gericke und Kurmies

Alle Analysen, bis auf die P-Gehaltsmessung, die am Institut für Pflanzenbau/BOKU gemacht wurde, wurden auf der Veterinärmedizinischen Universität am Institut für Angewandte Botanik durchgeführt.

6.1 Trockenmaterialaufbereitung

Die Blätter werden von den Stängeln getrennt und abgewogen, da nur diese zur Analyse herangezogen werden. Aufgrund des geringen Probenmaterials werden die jeweiligen Pflanzen der Varianten zu Dreiergruppen gepoolt. Dies erfolgt mittels Zufallsprinzips.

Pool	Einzelpflanzen
K ₁	K 2/ 9/13
K ₂	K 7/10/14
K ₃	K 3/6/15
K ₄	K 1/4/8
K ₅	K 5/11/12
P ₁	K+P 4/9/12
P ₂	K+P 2/5/8
P ₃	K+P 1/7/10
P ₄	K+P 6/11/13
P ₅	K+P 3/14/15
M ₁	AM 3/4/11

M ₂	AM 7/12/15
M ₃	AM 2/6/10
M ₄	AM 1/9/14
M ₅	AM 5 /8/13
MF ₁	AM+F 5/11/12
MF ₂	AM+F 3/9/13
MF ₃	AM+F 1/14/15
MF ₄	AM+F 4/8/10
F ₁	F 5/10/11
F ₂	F 3/8/15
F ₃	F 1/7/9/12

Tab. 3: Zusammensetzung der Pools

Für die spätere Gewinnung eines Pflanzenextraktes, der die Basis für die Analysen darstellt, muss das Trockenmaterial vermahlen werden. Vor der Vermahlung werden jedoch 0,1 g des Pflanzenmaterials für die Bestimmung des ätherischen Öles, die von einer unvermahlenden Probe gemacht wird, beiseite gegeben. Das restliche Trockenmaterial wird anschließend fein vermahlen, um daraus den gewünschten Extrakt für die weiteren Analysen zu gewinnen. Dies geschieht mit Hilfe einer Culatti-Schlagmühle. Nach jedem Mahlvorgang muss das Mahlwerk gründlich von der Vorprobe gereinigt werden.

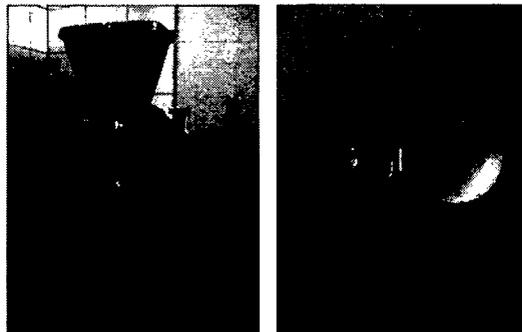


Abb. 22: Culatti-Schlagmühle

6.2 Extrakterstellung

6.2.1 Dichlormethanextrakt

Der Dichlormethanextrakt dient der Gewinnung und Analyse des ätherischen Öles. Der Extrakt wird aus dem unvermahlenden Pflanzenmaterial gemacht, dafür wird zunächst 0,1 g (ca. 2 Blätter; 2. Blattstadium) jeder Probe (Pool) in eine Epruvette eingewogen. Anschließend wird das Lösungsmittel mit dem Standard versetzt, dabei werden 5 µl Carvon (Reinstoff = Standard) mit Dichlormethan auf 50 ml aufgefüllt.

Von diesem Lösungsmittel werden jeweils 2 ml zu jeder Probe in die Epruvette pipettiert, sodass das Pflanzenmaterial überschichtet ist. Dann werden die Proben 30 min lang ins Ultraschallbad gestellt, damit die Komponenten des ätherischen Öles quantitativ in das Lösungsmittel übergehen.

Danach werden die Extrakte, mit selbstgebauten Filtern bestehend aus Glaspipetten, die an der Pipettenspitze mit Watte umwickelt sind, gefiltert und in GC-Probenfläschchen pipettiert. Die Fläschchen mit den Extrakten werden bis zur Messung im Gaschromatographen tiefgefroren.

6.2.2 Methanolextrakt

Der Methanolextrakt dient der Bestimmung des Gehaltes an Rosmarinsäure (RS) und Kaffeesäure (KS), der Gesamtphenole sowie der Bestimmung der antioxidativen Aktivität.

Der Extrakt wird aus der vermahlene Pflanzenprobe hergestellt. Zunächst wird von jeder Probe 0,1 g fein vermahlene Pflanzenmaterial in Schraubgläser eingewogen. Anschließend werden 16 ml von 50 %igen Methanol als Lösungsmittel zugesetzt. Die Schraubgläser werden verschlossen und für 1 Stunde zur Extraktion ins Ultraschallbad gestellt. Während dieser Zeit sind die Proben alle 15 Minuten aufzuschütteln (insgesamt 4 mal). Die Extrakte werden anschließend jeweils abfiltriert. Dazu werden Glasgefäße mit einem Glastrichter und einem 595 ½ Faltenfilter (Whatman; Schleicher & Schuell) vorbereitet. Der Inhalt der Schraubgläser wird auf das Filterpapier gegossen. Die Proben lässt man ca. 30 Minuten filtrieren und anschließend werden die Glasgefäße mit einem Schnappdeckel verschlossen.



Abb. 23: Extraktaufschluss im Ultraschallbad

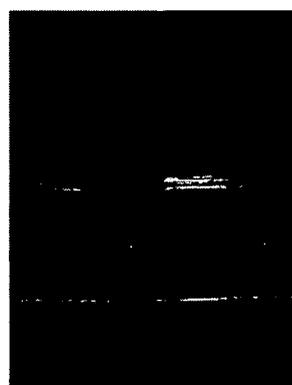


Abb. 24: Abfiltrieren des Extraktes

Der Extrakt ist nun fertig und kann für die verschiedenen Analysen herangezogen werden. Bis zur Verwendung, sollte der Extrakt tiefgefroren werden.

6.3 Messung von ätherischen Ölen mittels identifizierender und quantifizierender GC

6.3.1 Messprinzip

Die chromatographische Auftrennung eines Stoffgemisches in einem Gaschromatographen in die einzelnen Komponenten erfolgt im einfachsten Falle ausschließlich aufgrund der unterschiedlichen Siedepunkte der Einzelsubstanzen in dem Gemisch, wobei keine spezielle Wechselwirkung mit der stationären Phase erfolgt, sondern „nur“ eine zehntausendfache wiederholte Verteilung.

Für eine vereinfachte Vorgehensweise sind die Zeiten, die eine Substanz von Zeitpunkt der Einspritzung bis zum Passieren des Detektors benötigt (=Retentionszeit), geeignet um eine Substanz zu identifizieren. Das Integral des Peaks, den die Substanz liefert, ist ein Maß für die Massenanteile der Substanz in der Probe (NAUMER und HELLER 2002, S. 21f).

6.3.2 Gaschromatographie-MS

Die Gaschromatographie und Massenspektroskopie dient der Identifizierung der Komponenten des ätherischen Öles. Für die Analyse wurde ein HP 6890 gekoppelt mit HP 5972 MSD (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) verwendet.

Es galten folgende Bedingungen:

- Trennsäule: DB-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm Schichtdicke; Agilent, Palo Alto, CA, USA)
- Trägergas: Helium
- Injektortemperatur: 250 °C
- Split: 20:1
- Temp.-Programm: 60 °C für 4 min, Erhöhung auf 100 °C mit 5 °C / min, 100-280 °C mit 5 °C / min, 280 °C für 3 min

Die Identifikation der Komponenten erfolgte durch Vergleich der jeweiligen Retentionszeiten mit denen der reinen Standards (Kovats Index) mit Hilfe der MS-Analyse. Für Komponenten, für die keine Referenzsubstanz verfügbar war, erfolgte die Identifikation durch Abstimmung ihrer Massenspektren mit jenen der Massenspektroskopie-Datenbank (MCLAFFERTY, 1989) und mit Daten der Literatur (ADAMS, 2001).

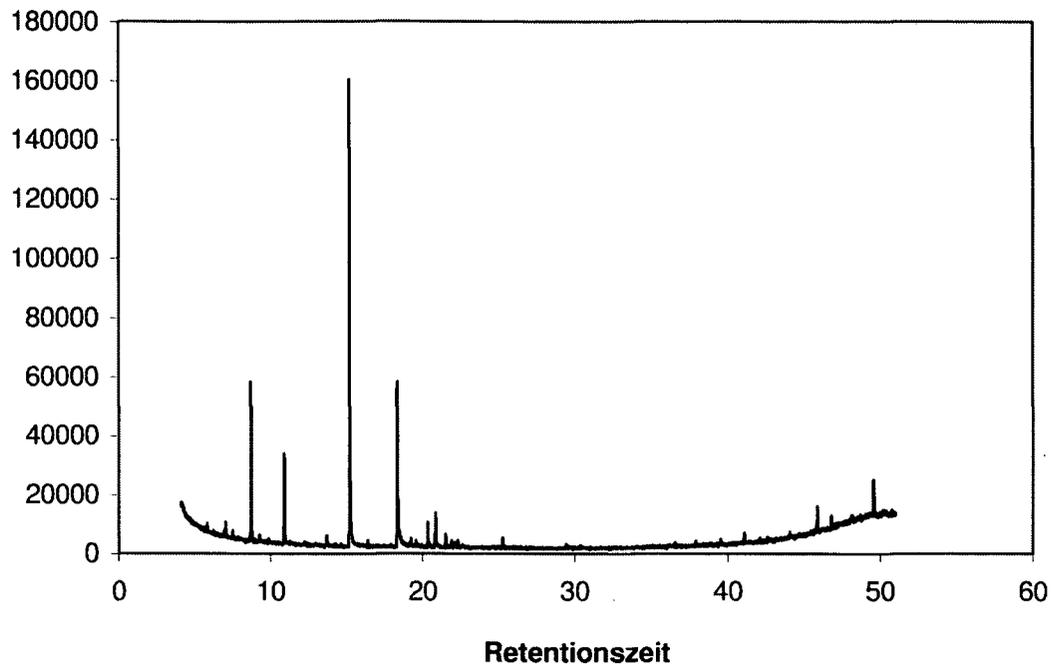


Abb. 25: MS-Chromatogramm des ätherischen Öles einer Probe

Jeder Peak des Chromatogrammes stellt eine detektierte Substanz dar. Der höchste Peak ist der interne Standard (Carvon), der für die Berechnung der Massenanteile der Komponenten mitgeführt wurde.

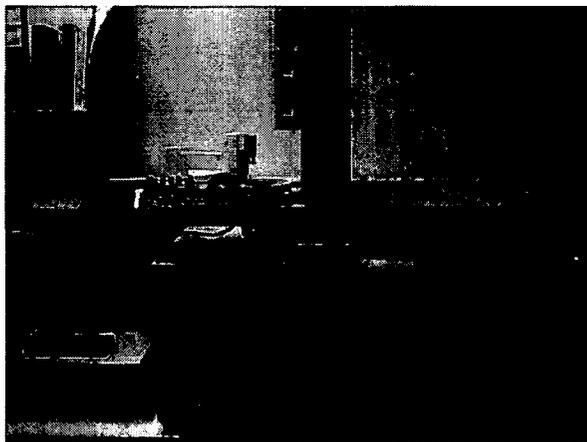


Abb. 26: GC / MS von HP

6.3.3 Gaschromatographie-FID

FID steht für Flammen-Ionisations-Detektor. Die GC-FID dient der Quantifizierung der Komponenten des ätherischen Öles. Für die Analyse wurde ein Agilent 6890 GC-FID verwendet.

Es galten folgende Bedingungen:

- Trennsäule: DB-5 (10 m x 0,1 mm; 0,17 µm Schichtdicke; Agilent, Palo Alto, CA, USA)
- Trägergas: Helium
- Injektortemperatur: 250 °C
- Split: 15:1
- Temp.-Programm: 60 °C für 30 sec, Erhöhung auf 85 °C mit 6 °C / min, 85-300 °C mit 10 °C / min, 300 °C für 3 min

Die Bestimmung der Massenanteile der Komponenten im ätherischen Öl erfolgte durch Flächenberechnung der identifizierten Peaks und mit Hilfe eines Standards (0,01 % Carvon).

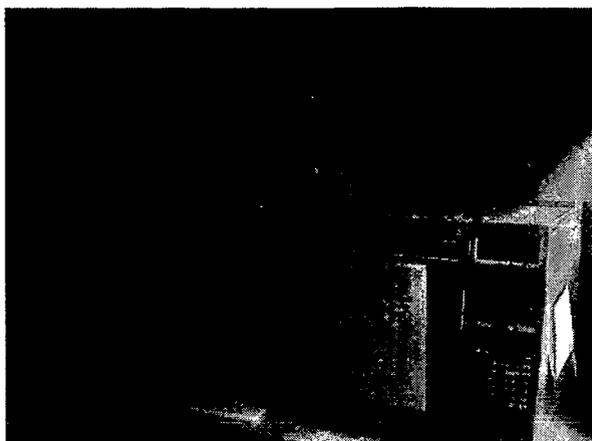


Abb. 27: GC / FID von Agilent

6.4 Messung von Rosmarinsäure und Kaffeesäure mittels HPLC

6.4.1 Messprinzip

Die Auftrennung eines Stoffgemisches in die einzelnen Komponenten und die Identifizierung mittels HPLC erfolgt aufgrund der unterschiedlich starken Wechselwirkungen der Bestandteile der Substanz mit der stationären Phase.

Die chemische Verbindung kann mittels Vergleich mit einem Standard (bekannte Substanz) identifiziert und quantifiziert werden (NAUMER und HELLER 2002, S. 48f).

6.4.2 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC steht für High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie). Für die Messung der Rosmarinsäure und Kaffeesäure mittels HPLC wird der gewonnene Methanolextrakt nochmals durch einen Spritzenfilter (RC 25; 0,2 µm) filtriert und in HPLC-Probenfläschchen (HPLC-Vials mit caps) für Autosampler gefüllt.

Die Analyse wurde mit einem Waters modular System (626 Pump, mit Heizstation für Säule, In-Line Degasser AF, Autosampler 717 plus, Photodiode Array Detektor PDA996) durchgeführt.

Es galten folgende Bedingungen:

- HPLC-Säule: Symmetry C18; 5,0 μm ; 4,6 x 150 mm
- Injektionsvolumen: 20 μl
- Solvent D: 2,5 l Schottenflasche (1%ige HAc : Acetonitril = 85 : 15)
- Solvent C: 1 l Schottenflasche (Methanol)
- Fluss: 1,5 ml/min
- Temperatur: 25 $^{\circ}\text{C}$
- Detektion: 330 nm
- Datastart: 1 min
- Laufzeit: 35 min
- Processing: Inhibit Integration von 0-2 min, 5-9 min und 12-35 min

Vor jeder Probe wird 5 min mit einem Gemisch von 90 % D : 10 % C (Laufzeitbedingungen) equilibriert.

Der Rosmarinsäure Peak ist bei diesen Konditionen bei einer Laufzeit (RT) von ca. 9 min und der Kaffeesäure Peak bei einer Laufzeit (RT) von ca. 3 min zu erwarten.

Die Ermittlung des Gehaltes an Kaffee- und Rosmarinsäure erfolgte durch Vergleich mit Standards.



Abb. 28: HPLC-Apparatur von Waters

6.5 Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes („Total Phenolics“)

6.5.1 Messprinzip

Polyphenole ergeben im alkalischen Milieu mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz eine Blaufärbung, die photometrisch ausgewertet wird.

6.5.2 Material und Methode

Die Ermittlung des Gehaltes an phenolischen Verbindungen erfolgte nach der spektroskopischen Methode nach Folin-Denis.

Material

250 ml Erlenmeyer-Schliffkolben mit Stöpsel (Teflonhülse!)

25 ml Messkolben mit Stöpsel (für Doppelbestimmung)

25 ml Messkolben mit Stöpsel (für Leerwert; ein Leerwert pro „Durchgang“)

Bechergläser

Pasteurpipetten

Chemikalien

0,5 ml Folin-Ciocalteu-Reagenz

1 ml gesättigte Na_2CO_3 -Lösung (Herstellung: 35 g Na_2CO_3 + 100 ml Aqua. dest. in einen Erlenmeyerkolben im Wasserbad bei 70 °C auf dem Magnetrührer lösen. Nach dem Erkalten mit einem Stöpsel mit Teflonhülse verschließen.)

Durchführung

- 1) 10 ml Aqua. dest. in jeden 25 ml Messkolben pipettieren
- 2) 200 µl Extrakt jeweils hinzupipettieren und kurz vortexen
- 3) 500 µl Folin-Ciocalteu-Reagenz hinzugeben und gut vermischen (vortexen) → Blaufärbung
- 4) 3 min warten
- 5) 1 ml gesättigte Na_2CO_3 hinzugeben und gut vermischen (vortexen)
- 6) mit Aqua. dest. auf 25 ml auffüllen mit Pasteurpipette; mit dem Stöpsel verschließen und 3 mal über Kopf schütteln
- 7) 1 Stunde im Dunkeln stehen lassen
- 8) 2 mal über Kopf schütteln; Proben einzeln in Küvetten leeren und sofort
- 9) Absorption mittels Spektralphotometer bei 725 nm messen
- 10) Berechnung der Konzentrationen mittels einer bereits vorliegenden Eichgerade von Kaffeesäure

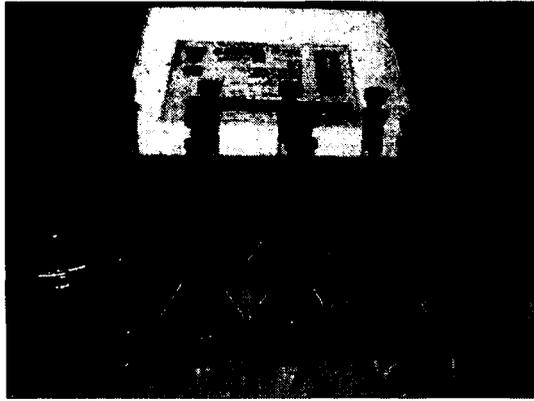


Abb. 29: Probenansatz für die Messung des Gesamtphenolgehaltes

6.5.3 Spektralphotometer

Der Gehalt an phenolischen Verbindungen wurde 60 Minuten nach Herstellung der Probe mit einem Spektralphotometer über die Absorption gemessen.

Es galten folgende Bedingungen:

- Gerät: Hitachi 150-20 Spektrophotometer
- Wellenlänge: 725 nm
- Response: Medium
- Mode: Absorbance

Die Werte des Spektralphotometers wurden auf mg Kaffeesäure-Äquivalente / g Probentrockenmaterial [mg KS / g TM] umgerechnet.

Die Analysen wurden in Serien durchgeführt. Eine Serie bestand aus fünf Einzelproben mit Doppelbestimmung und einer Blindprobe als Leerprobe zum Messausgleich.



Abb. 30: Spektralphotometer von Hitachi



Abb. 31: Probenraum mit Probenhalterung

6.6 Bestimmung der antioxidativen Aktivität mittels DPPH-Test

6.6.1 Messprinzip

Die antioxidative Aktivität wird mit Hilfe von DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil), einem Farbstoff, gemessen. Das DPPH reagiert mit antioxidativ wirkenden Substanzen und wird dadurch farblos. Die Färbung wird photometrisch ausgewertet und die antioxidative Aktivität kann mittels Trolox (Antioxidant) als Standard berechnet werden.

6.6.2 Material und Methode

Material

50 ml Messkolben + Stöpsel + Magnetknochen + Alufolie

50 ml Messkolben + Stöpsel

kurze Epruvetten mit Lamellenstopfen (Doppelbestimmung)

kurze Epruvetten mit Lamellenstopfen (Eichreihe)

Bechergläser

Chemikalien

MeOH (conc.)

Trolox (0,0314 g / 50 ml EtOH)

DPPH (7,5 mg / 50 ml MeOH); mit Alufolie abdecken (lichtempfindlich) und am Magnetrührer lösen; bei jedem Ansatz frisch zubereiten – wird rasch abgebaut!

Durchführung

Probenansatz: max. 10 Proben (Doppelbestimmung – Zeitmanagement!)

- 1) 50 µl Extrakt in Epruvetten pipettieren
- 2) 950 µl MeOH (conc.) hinzupipettieren und vortexen
- 3) folgende Eichreihe pipettieren und anschließend vortexen

Eichreihe:	Trolox	MeOH (conc.)
Referenz (Leer)	500 µl	500 µl
0	0 µl	1000 µl
10	10 µl	990 µl
20	20 µl	980 µl
40	40 µl	960 µl
60	60 µl	940 µl
80	80 µl	920 µl

Tab. 4: Trolox-Eichreihe

- 4) 1 ml DPPH zu Probenansatz und Eichreihe hinzugeben und vortexen
- 5) 30 min im Dunkeln stehen lassen
- 6) Proben einzeln in Küvetten leeren und sofort
- 7) Absorption mittels Spektralphotometer bei 515 nm messen (zuerst Eichreihe, dann Proben)
- 8) Berechnung der Konzentrationen mittels der Trolox-Eichgerade der jeweiligen pro Durchgang mitgeführten Eichreihe

6.6.3 Spektralphotometer

Die antioxidative Aktivität wurde 30 Minuten nach Herstellung der Probe mit einem Spektralphotometer über die Absorption gemessen.

Es galten folgende Bedingungen:

- Gerät: Hitachi 150-20 Spektrophotometer
- Wellenlänge: 515 nm
- Response: Medium
- Mode: Absorbance

Die Werte des Spektralphotometers wurden auf mg Trolox-Äquivalente / g Proben-trockenmaterial [mg Trolox / g TM] umgerechnet.

Die Analysen wurden in Serien durchgeführt. Eine Serie bestand aus fünf Einzelproben mit Doppelbestimmung und einer Blindprobe als Leerprobe zum Messausgleich, sowie einer mitgeführten Trolox-Eichreihe.

6.7 Phosphorgehaltsmessung

6.7.1 Messprinzip

Die Phosphorbestimmung erfolgt durch einen nassen Säureaufschluss, bei dem Nährelemente wie Fe, Mn, Cu, Zn, K, Ca, Mg und P aus dem Pflanzenmaterial gelöst werden. Die Zugabe eines Reaktionsgemisches mit Ammonium-Vanadat-Molybdat, das mit Phosphor reagiert, bewirkt einen Farbumschlag, der photometrisch ausgewertet wird. Mit Hilfe von mitgeführten Phosphorstandards kann der P-Gehalt ermittelt werden.

6.7.2 Material und Methode

Der Phosphorgehalt in den getrockneten Blättern wurde durch die Ammonium-Vanadat-Molybdat Methode (GERICKE und KURMIES, 1952) bestimmt.

Poolen

Da bei der Phosphoranalyse 1 g Pflanzenmaterial (Doppelbestimmung) benötigt wird, wurden wegen Materialmangel die Varianten folgendermaßen gepoolt.

Bei der Variante AM+F und F hat das Trockenmaterial nur für eine einfache Wiederholung gereicht.

Wiederholung	neue Pools	Pools
1.	K _{1/2/3}	K ₁ , K ₂ , K ₃
2.	K _{4/5}	K ₄ , K ₅
1.	P _{1/2/3}	P ₁ , P ₂ , P ₃
2.	P _{4/5}	P ₄ , P ₅
1.	M _{1/2/3}	M ₁ , M ₂ , M ₃
2.	M _{4/5}	M ₄ , M ₅
1.	MF _{1/2/3/4}	MF ₁ , MF ₂ , MF ₃ , MF ₄
1.	F _{1/2/3}	F ₁ , F ₂ , F ₃

Tab. 5: Zusammensetzung der Pools für die P-Gehaltsbestimmung

Material

50 ml Kölbchen

kurze Epruvetten

Chemikalien

3-Säuregemisch:

1l HNO₃ (conc. 65 %) = Salpetersäure

100 ml H₂SO₄ (conc. 95-97 %) = Schwefelsäure

50 ml HClO₄ (conc. 60 %) = Perchlorsäure

P-Reaktionsgemisch:

300 ml Ammonvanadat (50 g in heißem Wasser lösen und auf 1l auffüllen)

300 ml Ammonmolybdat (2,5 g in heißem Wasser lösen und auf 1l auffüllen)

100 ml HNO₃ (conc. 65 %)

200 H₂O dest.

Durchführung

- 1) Pflanzenmaterial bei 103 °C 4 Stunden lang im Wärmeschrank trocknen
- 2) Anschließend im Exikator 30 min abkühlen lassen
- 3) ca. 500 mg vermahlenes Pflanzenmaterial in Kölbchen einwiegen
- 4) 10 ml Dreisäuregemisch zugeben

- 5) über Nacht im Abzug stehen lassen
- 6) am nächsten Tag erfolgt der Aufschluss auf der Heizplatte unter dem Abzug
- 7) ein Heizprogramm, bei dem auf ca. 300 °C erhitzt wird, wird gefahren
- 8) auskühlen lassen
- 9) 1 ½ Stunden bei 100 °C kochen
- 10) auskühlen lassen
- 11) mit dest. Wasser auffüllen und gut schütteln

Probenansatz:

- 12) die Proben werden im Verhältnis 1:1 mit dest. Wasser verdünnt
- 13) 7 ml Probe und 3 ml P-Reaktionsgemisch werden in eine Eprovette pipettiert und gut gemischt

Eichreihe:

- 14) die Standards für die Eichreihe werden ebenso behandelt (7 ml + 3 ml P-Reaktionsgemisch)

Stammlösung: Primäres K-Phosphat KH_2PO_4 4 Stunden bei 103 °C trocknen (Mol. Gew. 136,09) und davon 1,0984 g in einer HNO_3 der Dichte 1,005 auf 1 l auflösen (HNO_3 Dichte 1,005 = 25 ml HNO_3 / 2 l H_2O).

Phosphorstandards:	Stammlösung in 500 ml (250 ppm)
0 ppm	
2,5 ppm	5 ml mit HNO_3 (D=1,005 auffüllen)
5 ppm	10 ml -,-
10 ppm	20 ml -,-
20 ppm	40 ml -,-
30 ppm	60 ml -,-

Tab. 6: Zusammensetzung der Phosphorstandards

- 15) über Nacht stehen lassen
- 16) am nächsten Tag die Absorption mittels Spektralphotometer bei 436 nm messen (zuerst Eichreihe, dann Proben)
- 17) Berechnung der Konzentrationen mittels Eichgerade von der mitgeführten Eichreihe mit P-Standards.

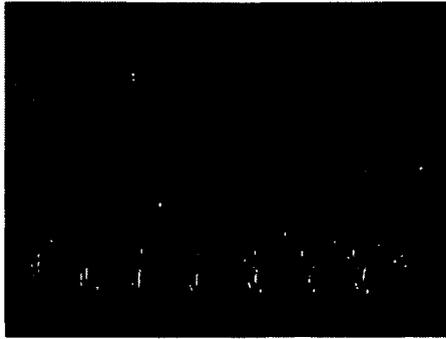


Abb. 32: Säureaufschluss auf der Heizplatte

6.7.3 Spektralphotometer

Der Phosphorgehalt wurde mit einem Spektralphotometer über die Absorption gemessen.

Es galten folgende Bedingungen:

- Gerät: Varian DMS 200 Spektrophotometer
- Wellenlänge: 436 nm
- Response: Medium
- Mode: Absorbance

Die Werte des Spektralphotometers wurden auf die Phosphorkonzentration in ppm / g Pflanzenpool [ppm P / g Pool] umgerechnet und in [% P / g Pool] ausgedrückt.

Die Analyse wurden in einer Serie durchgeführt. Diese bestand aus 8 Einzelproben (von neuen Pools), mit jeweiliger Doppelbestimmung und einer Blindprobe als Leerprobe zum Messausgleich, sowie einer mitgeführten P-Standard-Eichreihe. Zusätzlich wurde die Extinktion jeder Probe zweimal gemessen.

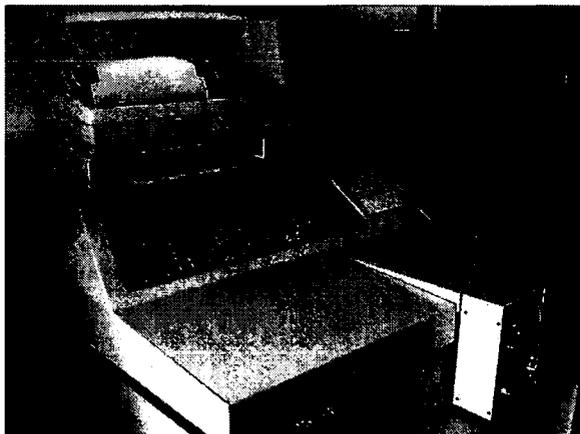


Abb. 33: Spektralphotometer von Varian

7 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Das Datenmaterial der Messungen und Analysen wurde mit Hilfe des Statistikprogrammes „SPSS für Windows, Version 14.0“ ausgewertet.

Die statistische Auswertung erfolgte jeweils mittels einfaktorieller Varianzanalyse.

Unterschiede zwischen den Behandlungen wurden durch Mehrfachvergleiche mittels Tukey-Test durchgeführt.

Die ermittelten Unterschiede wurden als signifikant bezeichnet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $p \leq$ dem Wert 0,05 war.

Die Berechnung der Mittelwerte erfolgte jeweils mit der Anzahl der bei der Ernte lebenden Pflanzen.

Die Ergebnisse wurden in Säulendiagramme mit Angabe zu Standardabweichung und Signifikanz veranschaulicht dargestellt.

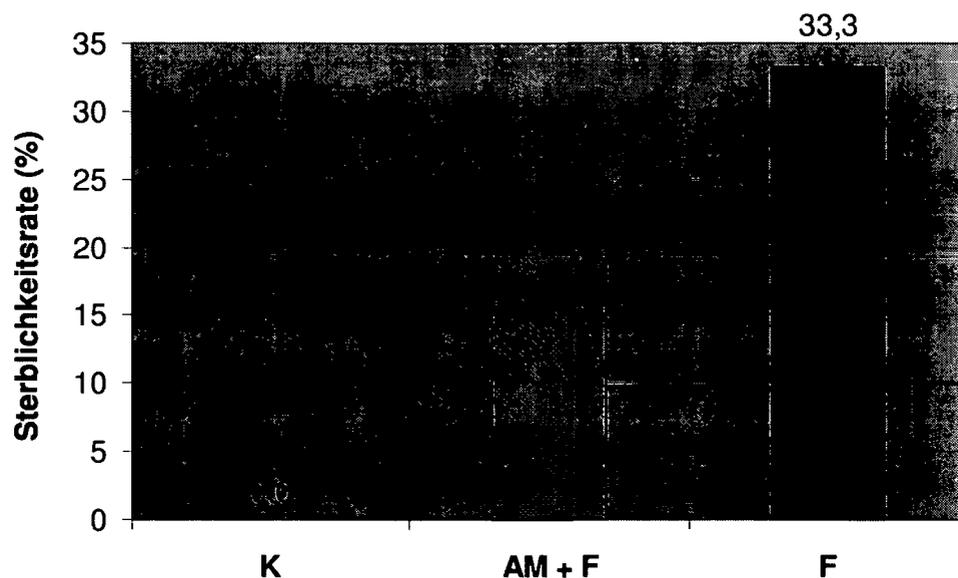
8 ERGEBNISSE

8.1 Pflanzenvitalität

8.1.1 Sterblichkeit

Es wurde die Mortalitätsrate der einzelnen Versuchsvarianten festgestellt.

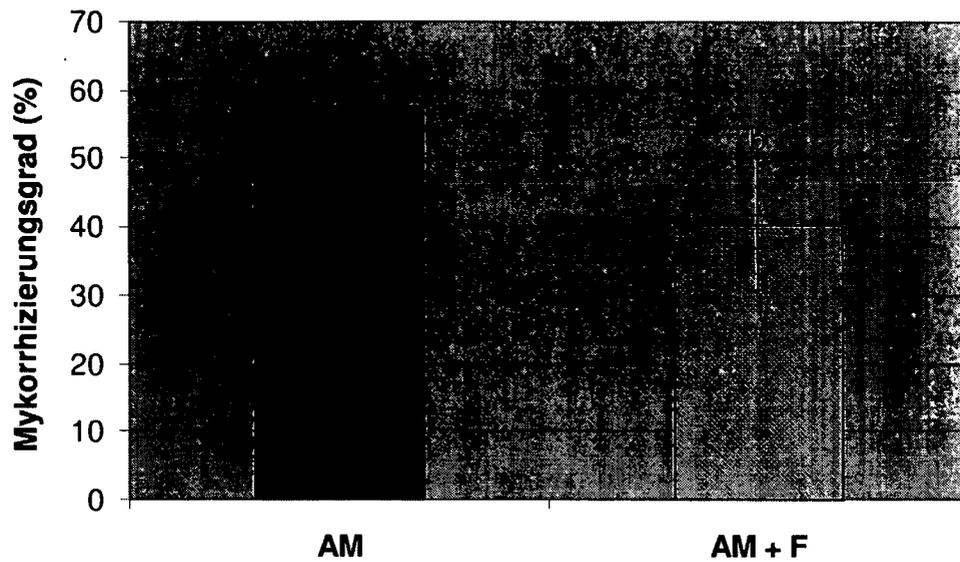
Es gab nur bei den beiden Varianten, die mit dem *Fus.*-Pathogen inokuliert wurden Ausfälle. Die *Fus.*-Variante zeigt eine Sterblichkeitsrate von 33,3 %, d.h. 5 von 15 Versuchspflanzen starben. Im Gegensatz dazu, weist die AM+F-Variante, die zum Zeitpunkt der Inokulation mit dem Pathogen bereits mykorrhiziert war, eine geringere Sterblichkeitsrate von 20 % auf, was soviel heißt wie, es sind 3 von 15 Versuchspflanzen gestorben. Daraus lässt sich schließen, dass die Mykorrhizierung einen positiven Einfluss auf den Krankheitsverlauf nimmt.



Diagr. 1: Sterblichkeitsrate von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz *Glomus mosseae* und dem Wurzelpathogen *Fusarium oxysporum*

8.1.2 Mykorrhizierung

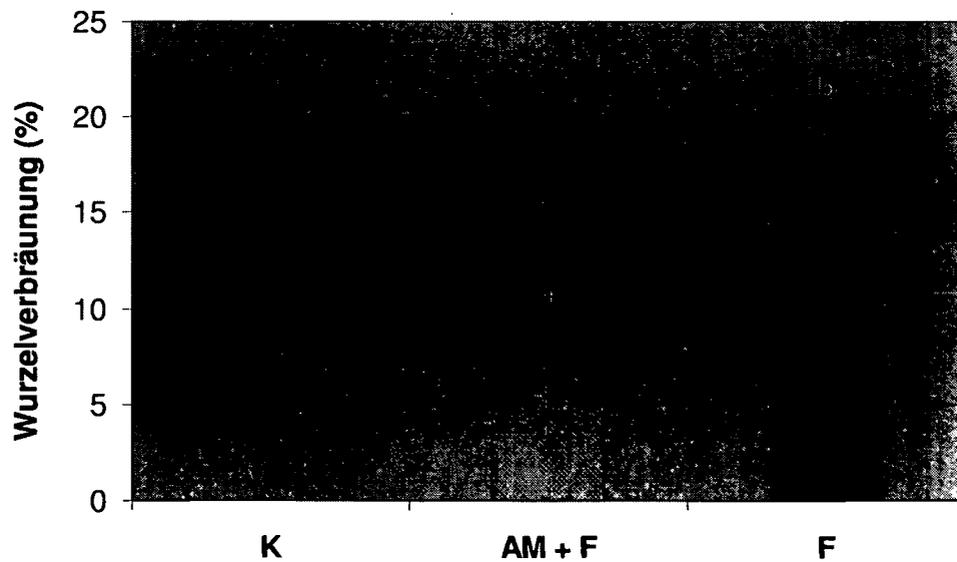
Der Mykorrhizierungsgrad der Wurzeln beträgt bei der Mykorrhiza-Variante ca. 58 % und ist somit etwa gleich hoch dem Mykorrhizierungsgrad vor der Inokulation mit *Fusarium* von ca. 60 %. Die AM+F-Variante zeigt einen niedrigeren Grad der Mykorrhizierung von rund 40 %, was vermuten lässt, dass das *Fus.*-Pathogen den Mykorrhizapilz in seiner Ausbreitung negativ beeinflusst.



Diagr. 2: Mykorrhizierungsgrad von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz *Glomus mosseae* und dem Wurzelpathogen *Fusarium oxysporum*

8.1.3 Wurzelverbräunung

Der Grad der Wurzelverbräunung beträgt bei der AM+F-Variante rund 6 %, die Wurzelverbräunung der F-Variante ist um einiges höher und beläuft sich auf 19 %. Auch hier ist ein positiver Effekt der Mykorrhiza bezüglich der Ausbreitung des Wurzelpathogens zu erkennen. Die anderen Varianten hatten keine Wurzelverbräunung.



Diagr. 3: Wurzelverbräunung von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz *Glomus mosseae* und dem Wurzelpathogen *Fusarium oxysporum*

8.2 Biomasseproduktion

Es wurde das Trockengewicht als Trockensubstanz der Wurzeln und Sprosse aller Pflanzen einer Behandlung ermittelt.

Bei der Biomasseproduktion gibt es deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Varianten, wie man auf diesen Fotos sehr gut erkennen kann.

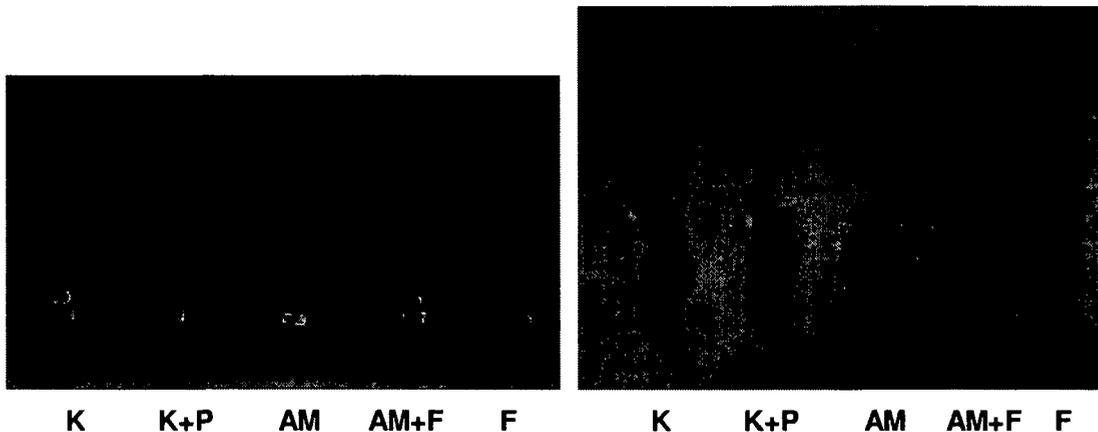


Abb. 34: Unterschiede in der Biomasseproduktion zwischen den einzelnen Varianten

Statistisch gesehen sieht das Ganze folgendermaßen aus:

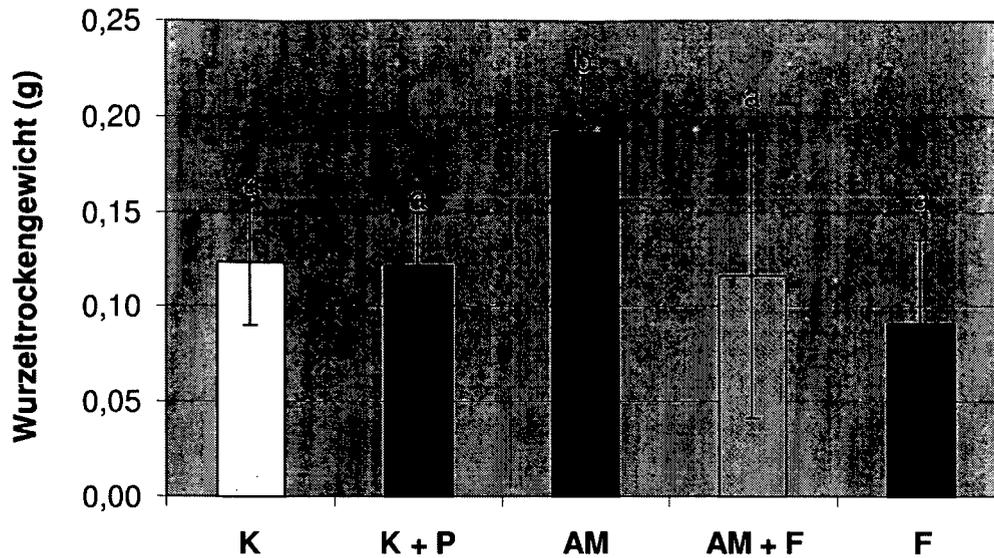
8.2.1 Wurzelrockenmasse

Das mittlere Wurzelrockengewicht der verschiedenen Behandlungen:

Die Variante mit der höchsten Wurzelrockensubstanz ist die mykorrhizierte Variante mit rund 0,19 g. Die Kontroll- und Phosphor-Variante haben etwa das gleiche mittlere Wurzelrockengewicht von ca. 0,12 g. Die beiden Varianten mit *Fusarium* haben etwas weniger mittlere Wurzelrockensubstanz, wobei die mykorrhizierte-Variante davon einen höheren Mittelwert des Wurzelrockengewichtes zeigt, als die nicht-mykorrhizierte *Fus.*-Variante.

Die Buchstaben über den Säulen geben Auskunft über die Signifikanz zu den Versuchsvarianten untereinander. Gleicher Buchstabe bedeutet nicht signifikant.

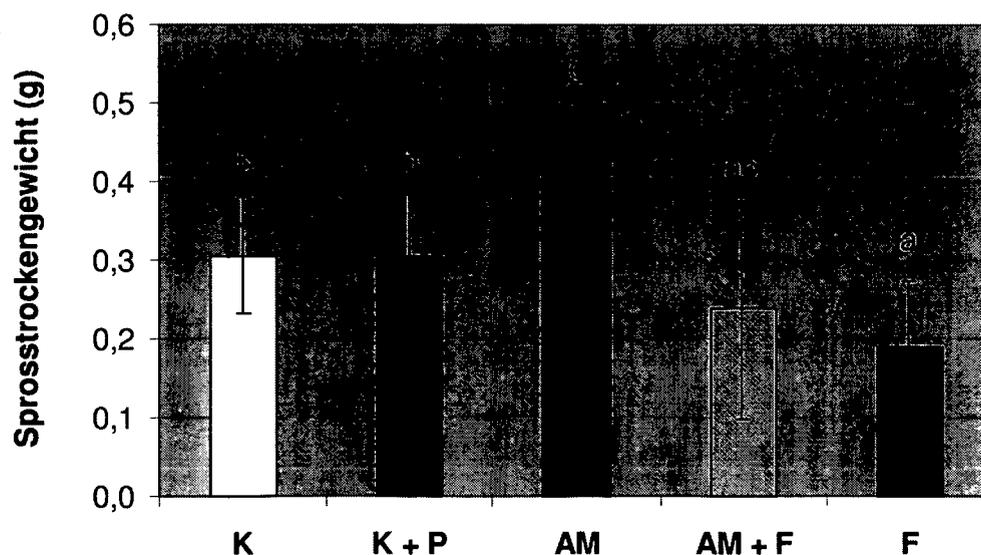
Wie man in diesem Säulendiagramm sieht, ist nur der Wert der AM-Variante zu allen anderen signifikant unterschiedlich.



Diagr. 4: Mittelwert des Wurzelrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

8.2.2 Sprosstrockenmasse

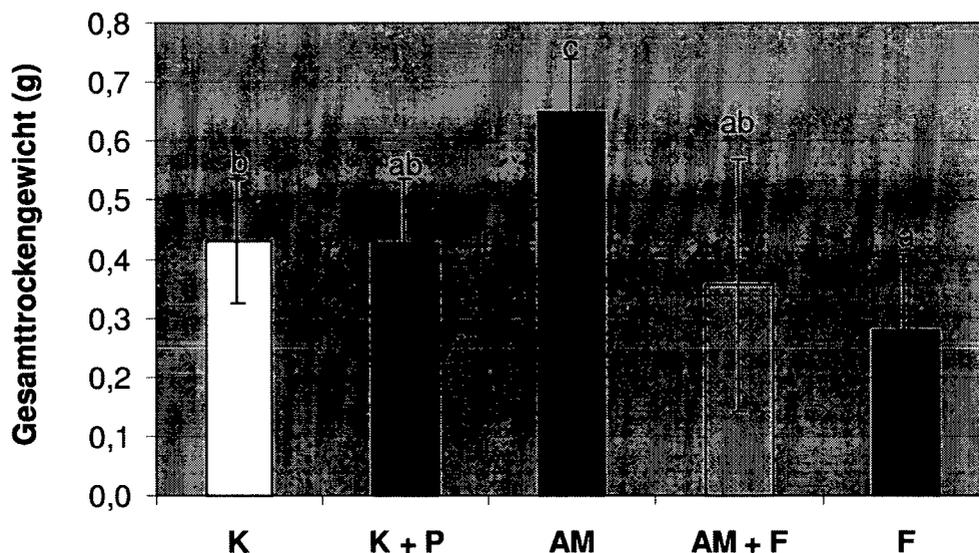
Die Mittelwerte der Sprosstrockengewichte korrelieren zu den Wurzelrockengewicht-Mittelwerten. Wiederum hat die AM-Variante die höchste Sprossmasse von 0,46 g, gefolgt von der Kontroll- und P-gedüngten-Variante von ca. 0,3 g. Die mit *Fus.* inokulierten Varianten zeigen wieder die niedrigsten Werte bezüglich des mittleren Sprosstrockengewichtes. Die AM+F-Variante mit einem Mittelwert von 0,24 g, die F-Variante mit einem Wert von 0,19 g. Wiederum ist der AM-Mittelwert signifikant unterschiedlich zu allen anderen Mittelwerten. Zusätzlich ist jedoch noch der Mittelwert der F-Variante signifikant unterschiedlich zum Wert der Kontroll- und P-Variante.



Diagr. 5: Mittelwert des Sprosstrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

8.2.3 Gesamttrockenmasse

Das mittlere Gesamttrockengewicht der einzelnen Varianten zeigt ebenfalls ein zu den anderen Diagrammen korrelierendes Bild. Die Mykorrhiza-Variante hat insgesamt die meiste mittlere Biomasse produziert mit einem Gesamttrockengewicht von 0,65 g. Das mittlere Gesamttrockengewicht der Kontroll- und Phosphor-Variante liegt wiederum eng beisammen bei ca. 0,43 g. Bei der AM+F-Variante liegt der Mittelwert des Gesamttrockengewichtes bei 0,36 g. Noch weniger mittleres Gesamttrockengewicht und somit mit 0,28 die wenigste Biomasse hat die *Fus.*-Variante. Der Wert der AM-Variante ist wiederum signifikant unterschiedlich zu allen anderen Werten der Versuchsreihe. Einen ebenfalls signifikanten Unterschied zeigt der Wert der F-Variante zum Wert der Kontroll-Variante.



Diagr. 6: Mittelwert des Gesamttrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

Aus den ermittelten Wurzeltrockengewichten, Sprosstrockengewichten und Gesamttrockengewichten der Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten lässt sich eine eindeutig erhöhte Biomasseproduktion bei der Mykorrhiza-Variante im Vergleich zur Kontroll-Variante feststellen. Sowohl Wurzel- als auch Sprossmasse zeigen bei der mykorrhizierten Variante einen deutlich höheren Wert. Daraus kann auf einen positiven Einfluss der Mykorrhiza auf das Wachstum der Basilikumpflanzen geschlossen werden.

8.3 Inhaltsstoffe

8.3.1 Zusammensetzung des ätherischen Öles

Folgende Komponenten wurden im ätherischen Öl der Basilikumpflanzen identifiziert, wobei vier Substanzen (Eugenol, Linalool, Methyleugenol und 1,8-Cineol) mengenmäßig als Hauptkomponenten hervorgehen.

Identifizierte Komponenten:	Hauptkomponenten:
alpha-Pinen	Eugenol
Sabinen	Linalool
beta-Pinen	Methyleugenol
Myrcen	1,8-Cineol
1,8-Cineol	
trans-beta-Ocimen	
Linalool	
Campher	
Borneol	
alpha-Terpineol	
Bornylacetat	
Eugenol	
beta-Elementen	
Methyleugenol	
beta-Caryophyllen	
alpha-trans-Bergamoten	
alpha-Humulen	
trans-beta-Farnesen	
Germacran D	
gamma-Cadinen	
tau Cadinol	

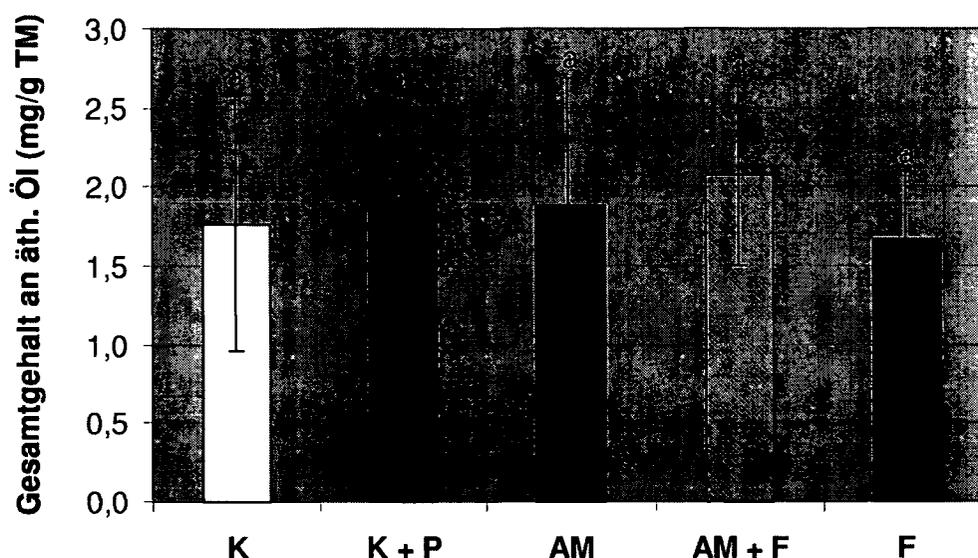
Tab. 7: Komponenten des ätherischen Öles

Insgesamt konnten 21 Komponenten identifiziert werden. Die quantitativ am höchsten enthaltenden Komponenten, Eugenol, Linalool, Methyleugenol und 1,8-Cineol, stellen die Hauptinhaltsstoffe des ätherischen Öles dar. Die Hauptkomponenten Eugenol und Methyleugenol sind Phenylpropane, Linalool und 1,8-Cineol gehören den Monoterpenen an, genauso wie die Substanzen alpha- und beta-Pinen, trans-beta-Ocimen, Campher, Borneol, alpha-Terpineol u.v.a. Neben Monoterpene und Phenylpropane sind unter anderem auch etliche Komponenten der Stoffklasse der Sesquiterpene wie alpha-Humulen, beta-Caryophyllen, alpha-trans-Bergamoten, trans-beta-Farnesen, Germacran D und gamma-Cadinen im Basilikumöl enthalten.

In allen Behandlungen wurden die gleichen Komponenten identifiziert. Es gab daher keine Veränderungen im Muster dieser Substanzen in den einzelnen Behandlungen.

8.3.2 Gehalt an ätherischen Öl

Der mittlere Gesamtgehalt an ätherischen Öl wurde für jede Versuchsvariante berechnet. Er liegt im Bereich zwischen 1,7 und 2,1 mg/g TM. Eine Erhöhung des Gehaltes an ätherischen Öl lässt sich durch die Mykorrhizierung nicht beobachten. Insgesamt sind die Gehalte ausgesprochen niedrig und nicht signifikant unterschiedlich.



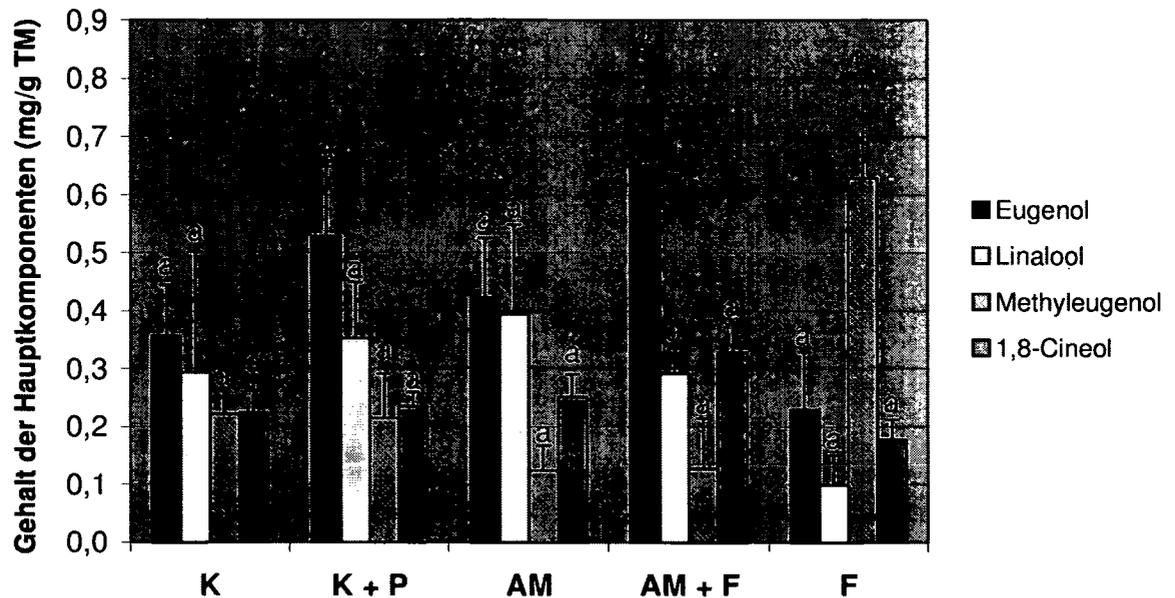
Diagr. 7: Mittelwert des Gesamtgehaltes an ätherischen Öl von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

Zusätzlich zum Gesamtgehalt wurde der Mittelwert der Gehalte der vier Hauptinhaltsstoffe des ätherischen Öles (Eugenol, Linalool, Methyleugenol und 1,8-Cineol) ermittelt. Als Fehlerindikator wurde hier der Standardfehler angegeben.

Der mittlere Gehalt der vier Hauptkomponenten im ätherischen Öl bewegt sich im Bereich von 0,1 bis 0,65 mg/g TM. Die Substanz Eugenol zeigt in allen Varianten bis auf die *Fus.*-Variante den höchsten Gehalt. Auffallend ist der hohe Methyleugenolgehalt der *Fusarium*-Variante. Er ist ca. 3 mal so hoch wie der Gehalt an Methyleugenol in den anderen Versuchsvarianten und ist daher signifikant unterschiedlich zu diesen. Erklären kann man sich dies vielleicht dadurch, dass Methyleugenol als Phenylpropan eine wichtige Rolle in der Abwehr von Krankheitserregern spielt.

Auch kann man sehen, dass durch den Anstieg des Methyleugenolgehaltes in der F-Variante ein Rückgang des Gehaltes an Eugenol zu verzeichnen ist, was jedoch statistisch nicht abgesichert ist.

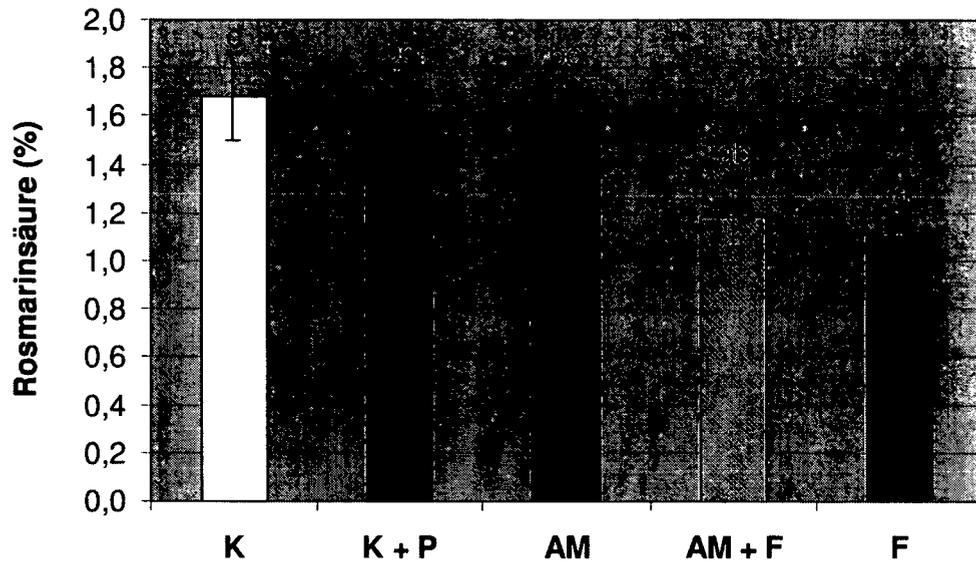
Die mykorrhizierte Variante zeigt keine signifikanten Veränderungen in der mengenmäßigen Zusammensetzung der vier Hauptkomponenten des ätherischen Öles im Vergleich zur Kontroll-Variante. Was auch bedeutet, dass eine durch die Mykorrhizierung hervorgerufene Erhöhung der Biomasseproduktion keine qualitative und quantitative Minderung des ätherischen Öles mit sich bringt.



Diagr. 8: Mittelwerte des Gehaltes der 4 Hauptkomponenten des ätherischen Öles in Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten (Fehlerindikator = Standardfehler)

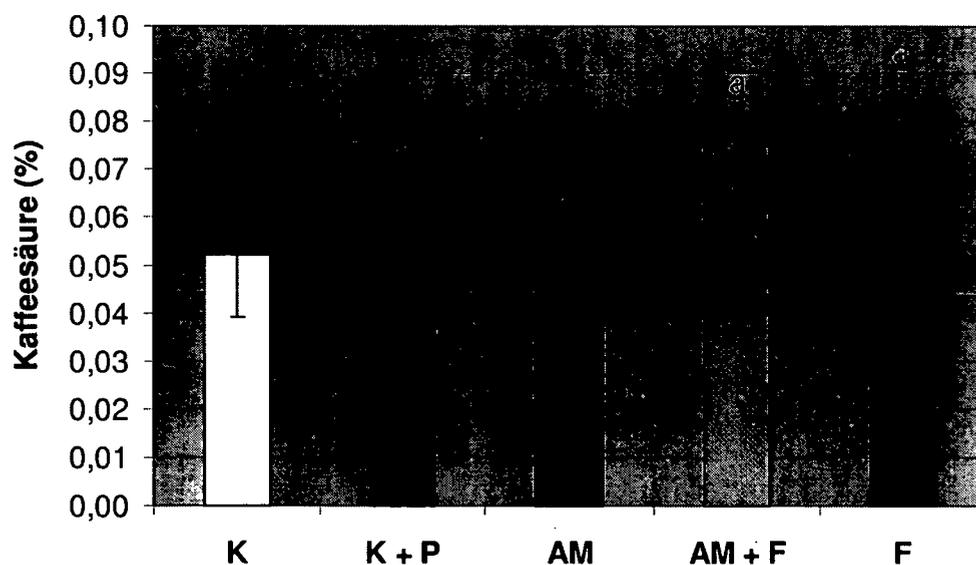
8.3.3 Gehalt an Rosmarinsäure und Kaffeesäure

Der Gehalt an Rosmarinsäure in den Basilikumblättern liegt im Bereich zwischen 1 und 1,8 %. Von allen Varianten enthält die Kontroll-Variante die meiste Rosmarinsäure von 1,68 %. Dieser Wert ist signifikant unterschiedlich zu den Gehalten der mit *Fusarium* inokulierten Varianten. Diese zeigen niedrigere mittlere Rosmarinsäuregehalte. Die AM+F-Variante mit einem Gehalt von 1,18 % und die F-Variante mit 1,1 %. Die AM-Variante zeigt einen mittleren Gehalt an Rosmarinsäure von ca. 1,57 %, gefolgt von der P-gedüngten Variante mit einem Gehalt von ca. 1,52 %. Diese Werte zeigen einen signifikanten Unterschied zur F-Variante.



Diagr. 9: Mittelwert des Rosmarinsäuregehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

Die Gehalte an Kaffeesäure in den Basilikumblättern sind im allgemeinen sehr niedrig. Die verschiedenen Varianten zeigen eng beieinander liegende Werte, die nicht signifikant unterschiedlich zueinander sind. Die zwei Varianten, die mit *Fusarium* inokuliert wurden zeigen Werte im Bereich von 0,07 %. Der Gehalt an Kaffeesäure in den restlichen Varianten liegt bei ca. 0,05 %.



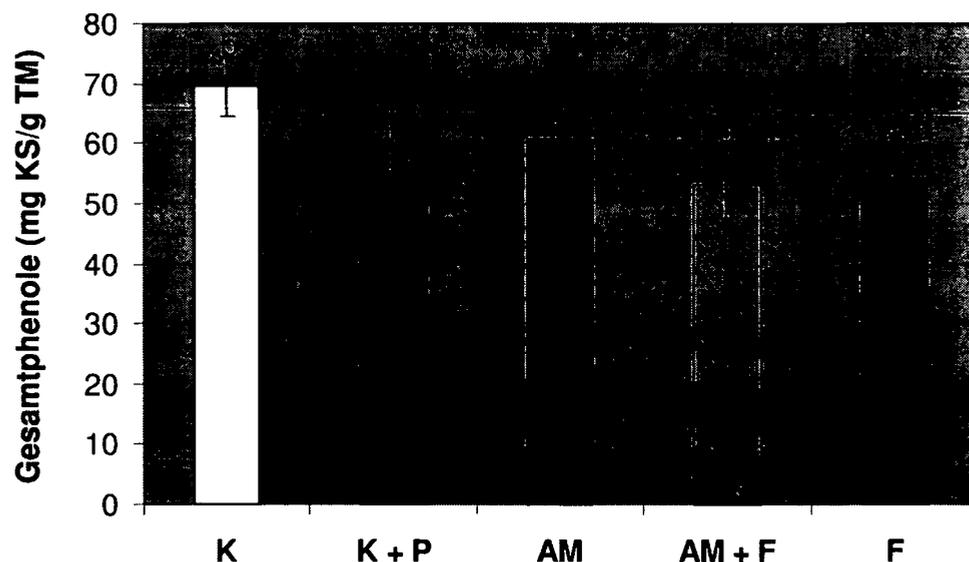
Diagr. 10: Mittelwert des Kaffeesäuregehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

Aus den beiden Diagrammen geht hervor, dass der Gehalt an Rosmarinsäure und Kaffeesäure in den Basilikumpflanzen durch die Mykorrhizierung nicht signifikant zur Kontroll-Variante verändert wird. Dennoch gibt es Unterschiede im Rosmarinsäuregehalt bei den mit *Fusarium* inokulierten Varianten. So weisen diese Varianten eine Minderung des Gehaltes an Rosmarinsäure auf.

8.3.4 Gehalt an phenolischen Verbindungen

Die Menge der gesamten phenolischen Verbindungen in den Basilikumblättern wird in Kaffeesäureäquivalenten (mg KS/g TM) ausgedrückt.

Den höchsten Anteil an Phenolen weist die Kontroll-Variante auf, mit einem Gehalt von fast 70 mg KS/g TM. Dieser Wert ist signifikant unterschiedlich zu den Phenolgehalten der K+P-, AM+F- und der F-Variante. Die AM-Variante zeigt den zweithöchsten Gehalt von etwas mehr als 60 mg KS/g TM. Dieser Wert ist jedoch statistisch nicht abgesichert. Der mittlere Phenolgehalt der Phosphor-Variante liegt bei 55 mg KS/g TM. Die beiden Varianten mit *Fusarium* haben einen mittleren Phenolgehalt von etwas über 50 mg KS/g TM.

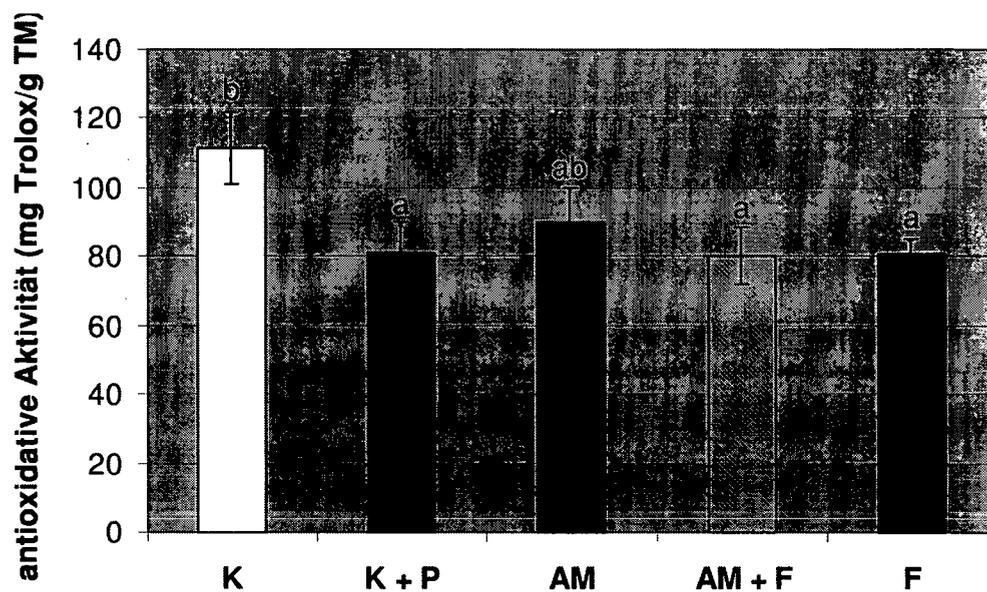


Diagr. 11: Mittelwert des Gesamtphenolgehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

Der Gehalt an Gesamtphenolen ändert sich durch die Symbiose mit Mykorrhizapilzen nicht signifikant zur Kontroll-Variante. Jedoch ist eine Verringerung des Gehaltes bei den mit *Fus.*-inokulierten Varianten sowie bei der Phosphor-Variante zu verzeichnen.

8.3.5 Antioxidative Aktivität der Inhaltsstoffe

Die antioxidative Aktivität wird in mg Trolox/g TM ausgedrückt. Die höchste antioxidative Aktivität zeigt die Kontroll-Variante mit 112 mg Trolox/g TM. Bei den restlichen Varianten liegt die antioxidative Aktivität bei etwa 80 mg Trolox/g TM, nur die mykorrhizierte Variante zeigt eine etwas höhere antioxidative Aktivität von ca. 90 mg Trolox/g TM. Die Signifikanz der Versuchsvarianten untereinander sieht folgendermaßen aus: nur die Kontroll-Variante ist signifikant unterschiedlich zur P-gedüngten Variante, der AM+F-Variante und der *Fusarium*-Variante.

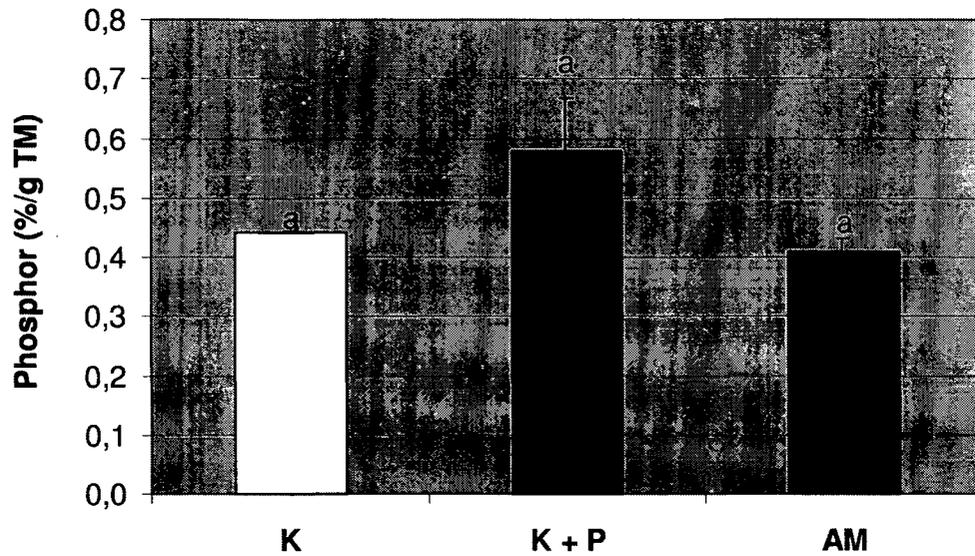


Diagr. 12: Mittelwert der antioxidativen Aktivität von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

Die Ergebnisse der antioxidativen Aktivität der verschiedenen Versuchsvarianten korrelieren mit denen des Gesamtphenolgehaltes, da die antioxidative Aktivität vom Gehalt an phenolischen Verbindungen abhängig ist. Wiederum ist keine signifikante Veränderung der antioxidativen Aktivität durch die Mykorrhizierung gegeben. Die Varianten mit *Fusarium* und die Phosphor-Variante zeigen eine geringere antioxidative Aktivität als die Kontroll-Variante.

8.3.6 Phosphorgehalt

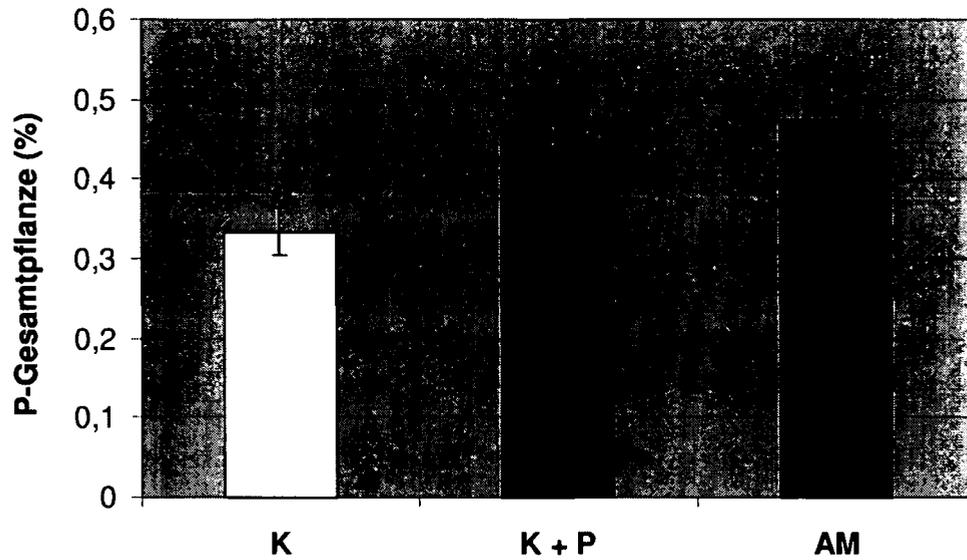
Der mittlere Phosphorgehalt in % pro Gramm Trockenmaterial in den Basilikumblättern liegt bei den drei Varianten eng beisammen, sodass diese nicht signifikant unterschiedlich sind. Die P-gedüngte Variante enthält den meisten Phosphor pro g TM, nämlich 0,58 %. Die Kontroll-Variante und die mykorrhizierte Variante zeigen etwa den gleichen P-Gehalt von etwas über 0,4 % pro g TM.



Diagr. 13: Mittelwert des Phosphorgehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

Berechnet man den Phosphorgehalt pro g TM auf die durchschnittlich produzierte Biomasse jeder Variante, so ergibt sich ein anderes Bild.

Der P-Gehalt bezogen auf die Gesamtpflanze ist bei der mykorrhizierten-Variante am höchsten und beläuft sich auf ca. 0,48 %. Der P-Gehalt der Gesamtpflanze der phosphorgedüngten-Variante liegt bei 0,44 %. Die K-Variante zeigt einen auf die Gesamtpflanze bezogenen P-Gehalt von 0,33 %. Aber diese Werte sind statistisch nicht signifikant unterschiedlich.



Diagr. 14: Mittelwert des Phosphorgehaltes der Gesamtpflanze von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten

Durch die Mykorrhizierung kam es zu keinem signifikanten Anstieg des Phosphorgehaltes in den Basilikumblättern im Vergleich zur Kontrolle. Der Phosphorgehalt pro g TM ist in der phosphorgedüngten-Variante am höchsten. Bezieht man jedoch den P-Gehalt auf die jeweils mittlere produzierte Biomasse der Variante, so erhält man den Phosphorgehalt der Gesamtpflanze und der liegt bei der mykorrhizierten Variante etwas höher als bei den beiden anderen Varianten.

9 DISKUSSION

Die Etablierung der AM in Wurzeln bewirkt eine Vielzahl von physiologischen und morphologischen Änderungen in der Wirtspflanze. Die Bedeutung vieler dieser Veränderungen ist noch immer unklar. Als bekannteste Wirkung der Mykorrhizierung ist die erhöhte Nährstoffaufnahme der Wirtspflanze zu nennen (SMITH and READ, 1997), und ein biologischer Schutzeffekt der Mykorrhizierung gegen bodenbürtige Pathogene. Viele Daten über die Schutzfunktion der Mykorrhizierung gegen bodenbürtige Pathogene sind bereits verfügbar. Einige Studien zeigen einen klar lokalisierten Schutzeffekt (SINGH et al. 2000; AZCÓN et al. 2002; XAVIER and BOYETCHKO 2004), aber auch von einem systemischen Schutzeffekt mit verschiedenen bodenbürtigen Pilzpathogenen wird berichtet (CORDIER et al. 1998; POZO et al. 2002). In meiner Studie bestätigt sich diese biologische Schutzfunktion der Mykorrhizierung gegen Bodenpathogene. Unter den mit *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* (*Fob*) infizierten Basilikumpflanzen zeigten jene, die mit AMP *Glomus mosseae* mykorrhiziert wurden eine um 13 % niedrigere Sterberate. Der Grad der Wurzelverbräunung, die durch *Fob* verursacht wird, lag bei den mykorrhizierten Basilikumpflanzen wesentlich niedriger und konnte im Vergleich zu den nicht-mykorrhizierten Basilikumpflanzen ebenfalls um 13 % gesenkt werden. Eine leicht erhöhte Biomasseproduktion konnte ebenfalls bei den mykorrhizierten Pflanzen im Vergleich zu den nicht-mykorrhizierten Pflanzen unter den mit *Fob* infizierten Basilikumpflanzen festgestellt werden. Dies alles deutet darauf hin, dass die Mykorrhizierung von Basilikumpflanzen eine biologische Schutzfunktion gegen das *Fusarium*-Pathogen aufweist.

In Bezug auf das Pathogen *Fob* konnte in meiner Studie auch eine beträchtliche Erhöhung von Methyleugenol, einer Komponente des ätherischen Öles, in der *Fusarium*-Variante festgestellt werden. Der Anstieg dieser Substanz, die zu den Phenylpropanen gehört, dürfte mit der Abwehr des *Fusarium*-Pathogens in Zusammenhang stehen. Die mykorrhizierte *Fusarium*-Variante zeigt keinen erhöhten Methyleugenolgehalt, was bedeuten kann, dass die Mykorrhiza den *Fusarium*-Befall abfangen kann.

Mögliche Mechanismen dieses mykorrhizavermittelten Schutzes wurden in Kapitel 1 „Einleitung“ näher erläutert. Bestimmte Faktoren beeinflussen jedoch den von der Mykorrhizierung hervorgerufenen Schutzeffekt. Neben abiotischen Faktoren, die die biologische Wirksamkeit der AMP beeinträchtigen, wie z.B. Temperatur, Bodenfeuchte und Bodenphosphorgehalt, scheint der biologische Schutzeffekt gegen bodenbürtige

Pathogene von mehreren biotischen Faktoren, wie den Wirtsgenotyp, dem AMP und dem Mykorrhizierungsgrad abhängig zu sein (VIERHEILIG et al. 2007). Etliche Studien wurden zu diesem Thema bereits gemacht.

Eine allgemeine Verbesserung der Nährstoffaufnahme und eine damit verbundene Erhöhung der Biomasseproduktion bei mykorrhizierten Pflanzen, konnte ebenfalls in meinem Versuch festgestellt werden. Eine Phosphorgehaltsanalyse zeigt jedoch, dass pro g Trockenmaterial kein erhöhter P-Gehalt bei der mykorrhizierten Variante vorliegt. Der auf die Gesamtpflanze bezogene P-Gehalt ist aber bei der AM-Variante etwas höher im Vergleich zur Kontrolle, jedoch nicht signifikant unterschiedlich zu dieser. Das Wurzel- und Sprosstrockengewicht der mykorrhizierten Variante zeigt stattdessen eine deutlich erhöhte Biomasseproduktion. Somit bestätigt sich auch diese Aussage, die von zahlreichen Studien anhand unterschiedlichen Pflanzenmaterials bereits untersucht wurde (u.a. KHAOSAAD et al. 2006).

Die Mykorrhiza nimmt auch Einfluss auf den Metabolismus der Wirtspflanze. Die Analysen in meiner Studie über die in den Basilikumblättern enthaltenen sekundären Pflanzenstoffe ergab folgendes:

Die Zusammensetzung des ätherischen Öles in den Blättern der Basilikumpflanzen war in allen Behandlungen gleich. Insgesamt wurden 21 Komponenten identifiziert. In jeder Versuchsvariante gingen die Substanzen Eugenol, Linalool, Methyleugenol und 1,8-Cineol als Hauptkomponenten des ätherischen Öles hervor.

Es konnten keine mykorrhizabedingten Veränderungen im Muster der Komponenten festgestellt werden. Dies deutet darauf hin, dass die Mykorrhizierung keinen Einfluss auf die Zusammensetzung des ätherischen Öles nimmt. Dies widerspricht der Aussage einer Studie mit *Ocimum basilicum*, in der gezeigt wurde, dass die Kolonisation von Wurzeln durch AMP eine Veränderung in der Zusammensetzung des ätherischen Öles bewirkt (COPETTA et al. 2006).

Der Gesamtgehalt an ätherischen Öl in den Basilikumblättern der verschiedenen Behandlungen war ausgesprochen niedrig und zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Varianten. Das bedeutet, dass eine durch die Mykorrhiza erhöhte Biomasseproduktion keine qualitative und quantitative Minderung des ätherischen Öles mit sich bringt. Eine Erhöhung an ätherischen Öl durch die Mykorrhizierung konnte jedoch nicht bestätigt werden.

Diese Daten scheinen gegensätzlich zu einer anderen Untersuchungen zu sein (KHAOSAAD et al. 2006), in der die Konzentration an ätherischen Öl dreier verschiedener Genotypen von Oregano (*Origanum* sp.) in mykorrhizierten und nicht-mykorrhizierten Pflanzen ermittelt wurde. In zwei der drei untersuchten Oreganosorten wurde eine Erhöhung der Konzentration an ätherischen Öl durch die Mykorrhizierung festgestellt.

Die Ergebnisse meiner Studie bezüglich der Gehalte von Rosmarin- und Kaffeesäure in den Basilikumblättern zeigen, dass die Mykorrhizierung keine signifikante Veränderung in der Produktion dieser Antioxidantien bewirkt.

In einer anderen Studie, bei der die Produktion von Antioxidantien (RS und KS) anhand von mit drei unterschiedlichen Mykorrhizaarten der Gattung *Glomus* mykorrhizierten Basilikumpflanzen untersucht wurde, konnte jedoch eine Erhöhung dieser Substanzen bei zwei Mykorrhizaarten ermittelt werden (TOUSSAINT et al. 2006).

Die Analyse des Gehaltes an phenolischen Verbindungen sowie die Bestimmung der antioxidativen Aktivität der Inhaltsstoffe ergab, dass die Mykorrhizierung diese Parameter nicht signifikant beeinflusst.

Eine mykorrhizabedingte Änderung in der Produktion sekundärer Pflanzenstoffe in Basilikum, konnte ich in meiner Studie somit nicht bestätigen.

Der Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen in mykorrhizierten Basilikumpflanzen wird aber durch die gesteigerte Biomasseproduktion indirekt erhöht.

Der Vergleich der Ergebnisse meines Versuches mit anderen Studien gestaltet sich sehr schwierig, da in diese zum Großteil unterschiedliches Pflanzenmaterial und/oder unterschiedliche AM-Pilze herangezogen wurden.

Der Chemotyp der Basilikumpflanze gibt nämlich im Großen und Ganzen die Produktion an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen in Basilikum vor. Er ist vor allem sortenabhängig und somit genetisch festgelegt (MAROTTI et al. 1996). Weiters können abiotische und biotische Faktoren, wie z.B. auch die Mykorrhiza, Einfluss auf die Produktion von Phytochemikalien nehmen (KINDL 1991). Ein möglicher positiver Effekt der Mykorrhiza auf die Basilikumpflanze in Hinsicht auf die Produktion sekundärer Pflanzenstoffe hängt jedoch stark vom Genotyp des Pflanzenmaterials ab. Auch die verwendete Mykorrhizapilzgattung bzw. -art spielt eine große Rolle, in der Auswirkung der Symbiose auf den Metabolismus der Wirtspflanze.

Die Phosphor-Variante wurde bei den Behandlungsvarianten mitgeführt, um jeweilige Mykorrhizaeffekte auf die Symbiose AMP – Basilikum rückführen zu können und nicht als Effekt der erhöhten Phosphoraufnahme in mykorrhizierten Basilikumpflanzen. Ein Phosphoreffekt ist somit bei meinem Versuch auszuschließen.

10 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden folgende Fragestellungen in Bezug auf Basilikum und symbiontischer Mykorrhizapilz bearbeitet:

- Bietet die Mykorrhizierung der Basilikumpflanze Schutz vor dem Wurzelpathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* ?
- Welche Unterschiede in der Produktion sekundärer Pflanzenstoffe zwischen mykorrhizierten und nicht-mykorrhizierten Basilikumpflanzen gibt es?

Um folgende Fragestellungen anhand der Versuchspflanze Basilikum zu untersuchen wurde eine Versuchsreihe mit fünf verschiedenen Behandlungsvarianten angelegt:

Variante	Behandlung
K	Kontrolle (keine Behandlung)
K + P	Kontrolle + Phosphor (wird mit P gedüngt)
AM	Arbuskuläre Mykorrhiza (<i>Glomus mosseae</i>)
AM + F	Arbus. Mykorrhiza + <i>Fusarium oxysporum</i>
F	<i>Fusarium oxysporum</i>

Im Pflanzenalter von 10 Wochen wurde die Ernte der Basilikumpflanzen durchgeführt.

Bei der Ernte wurden folgende Daten erhoben:

- Sterblichkeitsrate
- Frischgewicht von Spross und Wurzel
- Trockengewicht von Spross und Wurzel
- Mykorrhizierungsgrad
- Wurzelverbräunungsgrad

Aus dem Pflanzentrockenmaterial wurden die folgenden analytischen Analysen durchgeführt:

- Messung ätherischer Öle mittels GC
- Messung von Rosmarinsäure (RS) u. Kaffeesäure (KS) mittels HPLC
- Messung des Gesamtphenolgehaltes „Total Phenolics“ mittels spektroskopischer Methode nach Folin-Denis
- Messung der antioxidativen Aktivität mittels DPPH-Test
- Phosphorgehaltsmessung mittels Ammonium-Vanadat-Molybdat Methode nach Gericke und Kurmies

Laut den Versuchsergebnissen komme ich zu folgenden Schlussfolgerungen:

Zunächst möchte ich auf die Ergebnisse in Bezug auf die Beurteilung der Auswirkung der Mykorrhizierung auf die Pathogenität von *Fob* eingehen.

Die Symbiose zwischen der Basilikumpflanze und dem AMP *Glomus mosseae* bewirkt ein verstärktes Wachstum der Pflanze. Die Biomasseproduktion der mykorrhizierten Pflanzen ist deutlich erhöht.

Die geringere Sterblichkeitsrate und die verminderte Wurzelverbräunung der mykorrhizierten *Fus.*-Variante lässt auf eine positive Wirkung der Mykorrhizierung gegen das *Fus.*-Pathogen schließen.

Zusammenfassend zeigen meine Untersuchungen, dass die Mykorrhizierung der Basilikumpflanze einen gewissen Schutz vor dem Pathogen *Fob* bietet.

Nun zu den Ergebnissen der Analytik und somit zur Aussage bezüglich der Auswirkung der Mykorrhizierung auf die Produktion sekundärer Pflanzenstoffe.

Laut den Analysen der Inhaltsstoffe der Basilikumblätter der verschiedenen Versuchsvarianten gibt es keinen eindeutigen Hinweis auf eine vermehrte Produktion sekundärer Pflanzenstoffe bei mykorrhizierten Basilikumpflanzen.

Das ätherische Öl mykorrhizierter und nicht-mykorrhizierter Pflanzen zeigt keine signifikanten Unterschiede in der mengenmäßigen Zusammensetzung der vier Hauptkomponenten. Eine Beeinträchtigung der Quantität und Qualität des ätherischen Öles bei mykorrhizierten Basilikumpflanzen ist durch die mykorrhizabedingte Erhöhung der Biomasseproduktion somit nicht gegeben. Der Gehalt an ätherischen Öl in Basilikumpflanzen kann daher indirekt über die erhöhte Biomasseproduktion mykorrhizierter Pflanzen gesteigert werden.

Der Gehalt an Rosmarinsäure und Kaffeesäure in mykorrhizierten Pflanzenmaterial zeigt keinen signifikanten Unterschied zum Gehalt von nicht-mykorrhizierten Pflanzen bezüglich dieser Inhaltsstoffe.

Ebenso die Produktion an Phenolen, diese ist bei mykorrhizierten Pflanzen im Vergleich zu den Kontroll-Pflanzen nicht signifikant verändert. Wie auch die antioxidative Aktivität, die mit dem Gesamtphenolgehalt in Zusammenhang steht. Sowohl beim Gesamtphenolgehalt als auch bei der antioxidativen Aktivität, geht der Wert der Kontroll-Variante als höchster hervor.

Meine Studie ergab somit, dass eine Mykorrhizierung der Basilikumpflanzen keine eindeutigen Unterschiede in der Produktion sekundärer Pflanzenstoffe gegenüber nicht-mykorrhizierten Basilikumpflanzen zeigt. Lediglich durch die von der Mykorrhiza hervorgerufene gesteigerte Biomasseproduktion kann indirekt der Gehalt an sekundären Pflanzenstoffen in der Gesamtpflanze erhöht werden.

Aufgrund der Ergebnisse meines Versuches bin ich der Meinung, dass der Einsatz von Mykorrhizapilzen im Pflanzenbau in Zukunft von sehr großer Bedeutung sein wird.

Vorteile einer pflanzenbaulichen Nutzung von Mykorrhizasymbiosen werden auf ökologischer und ökonomischer Ebene gesehen. So kommt besonderes Interesse der Verminderung von Abfall und Emissionen zu.

Durch eine bessere Nährstoffversorgung der Pflanzen und eine Erhöhung der Pflanzenvitalität aufgrund der Mykorrhizierung könnte man mit reduzierten Mengen an Mineraldünger und Pflanzenschutzmitteln in der Pflanzenproduktion auskommen.

Einsparungen könnten auch bei der energieaufwendigen Methode des Unterglasanbaus durch die Reduzierung von Standzeiten von Pflanzen unter Glas durch eine erhöhte Biomasseproduktion mykorrhizierter Pflanzen gemacht werden.

Ebenso kann durch die erhöhte Biomasseproduktion bei mykorrhizierten Arzneipflanzen ohne Qualitätsminderung eine höhere Ausbeute an sekundären Pflanzenstoffen zur Erzeugung von Phytopharmaka erzielt werden.

Die Mykorrhizierung könnte auch im Bereich der *in vitro* Vermehrung von Pflanzen bei der Akklimatisierung der *in vitro* Kultur, die ebenfalls unter sehr energieaufwendigen Maßnahmen stattfindet, zur Verringerung der Verluste an Pflanzenmaterial, sowie zur Einsparung von Energie beitragen. Somit könnten einige Pflanzenarten mit großer wirtschaftlicher Bedeutung auch kommerziell *in vitro* vermehrbar sein, die bisher aufgrund ökologischer und ökonomischer Gründe nicht kommerziell *in vitro* vermehrt wurden. Arbuskuläre Mykorrhizapilze könnten daher auch im Labormaßstab bei einer Reihe von *in vitro* vermehrten Pflanzen zur Verbesserung dieser Situation beitragen.

Eine derart umweltschonende Pflanzenanzucht ist zur Zeit im konventionellen Gartenbau nicht gegeben. Das zunehmende Umweltbewusstsein der Verbraucher unterstreicht aber den steigenden Bedarf an umweltgerecht produzierter Verbrauchsgüter.

Die zukünftige Einbindung der Mykorrhizatechnologie in die Pflanzenproduktion erfordert noch einige Forschungsarbeiten. Sie stellen den ersten Schritt bei der Prüfung der Umsetzbarkeit der innovativen Technologie in der Praxis dar und sind die Basis für ihre spätere Einführung in großem Maßstab.

11 DARSTELLUNGSVERZEICHNIS

ABBILDUNGEN

Abb. 1: Basilikum (<i>Ocimum basilicum</i>)	3
Abb. 2: Schematische Darstellung des AMP von der Penetration der Epidermis bis zur Bildung von Arbuskeln und Vesikeln in der Wurzel.....	5
Abb. 3: Vesikeln in der Wurzel	6
Abb. 4: Arbuskeln in der Wurzelzelle (Bar = 10 µm)	6
Abb. 5: Hyphen (→) mit Sporen (S) von <i>Glomus mosseae</i> (Bar = 100 µm).....	6
Abb. 6: Krankheitssymptom bei <i>Fus. oxy.</i> -Infektion bei Basilikum	7
Abb. 7: Mikro-, Makrokonidien und Myzel mit Sporenbildung von <i>Fus. oxy.</i>	7
Abb. 8: Samenpäckchen und Basilikum-Keimpflanzen.....	10
Abb. 9: Substratsäcke und Autoklav.....	10
Abb. 10: mit AMP <i>Glomus mosseae</i> inokulierte 14 Tage alte Basilikumpflanzen.....	11
Abb. 11: Sterilbank.....	12
Abb. 12: frisches Myzel von <i>Fob</i> -Kultur auf Potato-Dextrose-Agar Medium.....	13
Abb. 13: Makro- und Mikrokonidien von <i>Fus. oxysporum</i>	13
Abb. 14: mit <i>Fusarium oxysporum</i> inokulierte 5 Wochen alte Basilikumpflanzen.....	14
Abb. 15: Pflanzenbestand der verschiedenen Varianten im Alter von 10 Wochen.....	15
Abb. 16: Erntevorgang	15
Abb. 17: Färbevorgang.....	16
Abb. 18: Bestimmung des Mykorrhizierungsgrades.....	16
Abb. 19: eingefärbte Pilzstrukturen in den Wurzeln	17
Abb. 20: teilweise verbräunte Wurzeln	17
Abb. 21: vereinzelt verbräunte Wurzeln unter dem Binokular	17
Abb. 22: Culatti-Schlagmühle	19
Abb. 23: Extraktaufschluss im Ultraschallbad	20
Abb. 24: Abfiltrieren des Extraktes	20
Abb. 25: MS-Chromatogramm des ätherischen Öles einer Probe	22
Abb. 26: GC / MS von HP.....	22

Abb. 27: GC / FID von Agilent	23
Abb. 28: HPLC-Apparatur von Waters	24
Abb. 29: Probenansatz für die Messung des Gesamtphenolgehaltes	26
Abb. 30: Spektralphotometer von Hitachi	26
Abb. 31: Probenraum mit Probenhalterung	26
Abb. 32: Säureaufschluss auf der Heizplatte	31
Abb. 33: Spektralphotometer von Varian	31
Abb. 34: Unterschiede in der Biomasseproduktion zwischen den einzelnen Varianten	35

TABELLEN

Tab. 1: Versuchszeitplan	9
Tab. 2: Behandlungsvarianten	11
Tab. 3: Zusammensetzung der Pools	19
Tab. 4: Trolox-Eichreihe	27
Tab. 5: Zusammensetzung der Pools für die P-Gehaltsbestimmung	29
Tab. 6: Zusammensetzung der Phosphorstandards	30
Tab. 7: Komponenten des ätherischen Öles	38

DIAGRAMME

Diagr. 1: Sterblichkeitsrate von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz <i>Glomus mosseae</i> und dem Wurzelpathogen <i>Fusarium oxysporum</i>	33
Diagr. 2: Mykorrhizierungsgrad von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz <i>Glomus mosseae</i> und dem Wurzelpathogen <i>Fusarium oxysporum</i>	34
Diagr. 3: Wurzelverbräunung von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz <i>Glomus mosseae</i> und dem Wurzelpathogen <i>Fusarium oxysporum</i>	34
Diagr. 4: Mittelwert des Wurzeltrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	36
Diagr. 5: Mittelwert des Sprosstrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	36
Diagr. 6: Mittelwert des Gesamttrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	37

Diagr. 7: Mittelwert des Gesamtgehaltes an ätherischen Öl von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	39
Diagr. 8: Mittelwerte des Gehaltes der 4 Hauptkomponenten des ätherischen Öles in Basilikum-pflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten (Fehlerindikator = Standardfehler).....	40
Diagr. 9: Mittelwert des Rosmarinsäuregehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	41
Diagr. 10: Mittelwert des Kaffeesäuregehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	41
Diagr. 11: Mittelwert des Gesamtphenolgehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	42
Diagr. 12: Mittelwert der antioxidativen Aktivität von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	43
Diagr. 13: Mittelwert des Phosphorgehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten.....	44
Diagr. 14: Mittelwert des Phosphorgehaltes der Gesamtpflanze von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten.....	45

12 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter (10 ⁻⁶)
µm	Mikrometer (10 ⁻⁶)
Abb.	Abbildung
AM	Arbuskuläre Mykorrhiza
AMF	arbuscular mycorrhizal fungus
AMP	Arbuskuläre Mykorrhiza Pilze
cm	Zentimeter (10 ⁻²)
dest.	destilliert
Diagr.	Diagramm
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil
FID	Flammen-Ionisations-Detektor
<i>Fob</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>basilici</i>
g	Gramm
gr.	griechisch
GC	Gaschromatografie
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
KOH	Kalilauge
KS	Kaffeensäure
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter (10 ⁻³)
mm	Millimeter
MS	Massenspektroskopie
nm	Nanometer
P	Phosphor
PE	Polyethylen
ppm	parts per million
RS	Rosmarinsäure
RT	Retentionszeit
Tab.	Tabelle
TM	Trockenmaterial
x	mal (multipliziert)

13 LITERATURVERZEICHNIS

ADAMS R. P. (2001): Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Published Corporation, Carol Stream, Illinois.

ATKINSON D., BERTA G. and HOOKER J. E. (1994): Impact of mycorrhizal colonization on root architecture, root longevity and the formation of growth regulations. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.

AZCÓN C., JAIZME-VEGA M. C., CLAVET C. (2002): The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. In: Gianinazzi S., Schüepp H., Barea J. M., Haselwandter K. (eds) Mycorrhizal technology in agriculture. Switzerland: Birkhäuser Verlag. pp 187-197.

BACKHAUS G. F. und FELDMANN F. (1997): Anwendung arbuskulärer Mykorrhizapilze im Pflanzenbau. Heft 332. Berlin: Parey Buchverlag Berlin.

BACKHAUS G. F. und FELDMANN F. (1999): Arbuskuläre Mykorrhiza in der Pflanzenproduktion: Praxisbeispiele und Perspektiven. Heft 363. Berlin: Parey Buchverlag Berlin.

BAUGH P. J. (1997): Gaschromatographie: Eine anwenderorientierte Darstellung. Braunschweig/Wiesbaden: Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH.

BECKMAN C. H. (1987): The Nature of Wilt Diseases of Plants. St. Paul, Minnesota: APS Press.

BOZIN B., MIMICA-DUKIC N., SIMIN N. and ANACKOV G. (2006): Characterization of the Volatile Composition of Essential Oils of Some Lamiaceae Spices and the Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 1822-1828.

BRUNDRETT M., BOUGHER N., DELL B., GROVE T. and MALAJCZUK N. (1996): Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research, GPO Box 1571, Canberra, ACT 2601.

CARLE R. (1993): Ätherische Öle – Anspruch und Wirklichkeit. Paperback APV, Band 34. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart.

COPETTA A., LINGUA G., BERTA G. (2006): Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. *Genovese*. Mycorrhiza DOI 10.1007/s00572-006-0065-6.

CORDIER C., POZO M. J., BAREA J. M., GIANINANZZI S., GIANINANZZI-PEARSON V. (1998): Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus Mol Plant-Microbe Interact 11, 1017-1028.

CRÜGER G., BACKHAUS G. F., HOMMES H., SMOLKA S. und VETTEN H. S. (2002): Pflanzenschutz im Gemüsebau. Stuttgart: EUV GmbH & Co.

DACHLER M., PELZMANN H. (1999): Arznei- und Gewürzpflanzen. Anbau – Ernte – Aufbereitung. 2., aktualisierte und erw. Auflage. Klosterneuburg: Österr. Agrarverlag.

DEVI M. C., REDDY M. N. (2002): Phenolic acid metabolism of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) plants inoculated with VAM fungus and Rhizobium. Plant Growth Regul 37, 151-156.

DIÉDHIU P. M. (2001): Untersuchungen zum Auftreten und zur Bedeutung der arbuskulären Mykorrhizapilze für die Pflanzengesundheit und –vitalität. Bonn: Dissertation Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

DINGERMANN T., HILLER K., SCHNEIDER G., ZÜNDORF I. (2004): Schneider Arzneidrogen. 5. Auflage. München: Spektrum Akademischer Verlag.

GERICKE S., KURMIES B. (1952): Die kolorimetrische Phosphorsäurebestimmung mit Ammonium – Vanadat – Molybdat und ihre Anwendung in der Pflanzenanalyse. Z Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde, 59; 235-247.

GRANDMAISON J., OLAH G. M., VAN CALSTEREN M. R., FURLAN V. (1993): Characterization and localization of plant phenolics likely involved in the pathogen resistance expressed by endomycorrhizal roots. Mycorrhiza 3, 155-164.

KATZER G. (2001): Gernot Katzers Gewürzseiten. Online im Internet: URL: http://www.uni-graz.at/~katzger/germ/Ocim_bas.html?style=flow#const (aktualisiert am: 05.09.2001; Zugriff am: 22.02.2007).

KHAOSAAD T., VIERHEILIG H., NELL M., ZITTERL-EGLESEER K. and NOVAK J. (2006): Arbuskular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza* 16, 443-446.

KINDL H. (1991): Biochemie der Pflanzen. 3. Auflage. Berlin: Springer Verlag.

MAROTTI M., PICCAGLIA R. and GIOVANELLI E. (1996): Differences in Essential Oil Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian Cultivars Related to Morphological Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3926-3929.

MCLAFFERTY F. W. (1989): Wiley Registry of Mass Spectral Data. New York: Wiley.

MÜHLE E., WETZEL T., FRAUENSTEIN K. und FUCHS E. (1983): Praktikum zur Biologie und Diagnostik der Krankheitserreger und Schädlinge unserer Kulturpflanzen. Leipzig: S. Hirzel Verlag.

NAUMER H. und HELLER W. (2002): Untersuchungsmethoden in der Chemie: Einführung in die moderne Analytik. 3. erw. und überarb. Auflage. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH.

NELSON P. E. (1981): Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: Mace M. C., Bell A. A. and Beckman C. H. Fungal wilt diseases of plants; American Press, New York, 51-80.

NEWMAN E. (1966): A method of estimating the total length of root in a sample. *J. Appl. Ecol.* 3, 139-145.

POZO M. J., CORDIER C., DUMAS-GAUDOT E., GIANINANZZI S., BAREA J. M., AZCÓN C. (2002): Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *J. Exp. Bot.* 53, 525-534.

SMITH S. and READ D. (1997): Mycorrhizal symbiosis. 2. edition. Academic Press, London.

STEINER G. (2003): Ätherische Öle und phenolische Verbindungen bei verschiedenen Oregano –Herkünften. Wien: Diplomarbeit Universität für Bodenkultur.

SYLVIA D. M. (1999): Mycorrhizal symbiosis. In: Sylvia D. M., Fuhrmann J. J., Hartel P. G. and Zuberer D. A. (eds.). Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 408-426.

TOUSSAINT J. P., SMITH F. A., SMITH S. E. (2006): Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. Mycorrhiza DOI 10.1007/s00572-006-0104-3.

VIERHEILIG H., COUGHLAN A., WYSS U. and PICHÉ Y. (1998): Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. Appl. Environ. Microbiol. 64, 5004-5007.

VIERHEILIG H., STEINKELLNER S., KHAOSAAD T. and GARCIA-GARRIDO J.M. (2007): The biocontrol effect of mycorrhization on soil-borne fungal pathogens and the autoregulation of the AM symbiosis: one mechanism, two effects?. im Druck.

WULFF K. (1996): Einfluss von Kulturmaßnahmen auf die arbuskuläre Mykorrhiza in landwirtschaftlichen Nutzflächen. Stuttgart: Verlag Ulrich E. Grauer.

Abb. 27: GC / FID von Agilent	23
Abb. 28: HPLC-Apparatur von Waters.....	24
Abb. 29: Probenansatz für die Messung des Gesamtphenolgehaltes.....	26
Abb. 30: Spektralphotometer von Hitachi	26
Abb. 31: Probenraum mit Probenhalterung	26
Abb. 32: Säureaufschluss auf der Heizplatte.....	31
Abb. 33: Spektralphotometer von Varian	31
Abb. 34: Unterschiede in der Biomasseproduktion zwischen den einzelnen Varianten	35

TABELLEN

Tab. 1: Versuchszeitplan.....	9
Tab. 2: Behandlungsvarianten.....	11
Tab. 3: Zusammensetzung der Pools.....	19
Tab. 4: Trolox-Eichreihe	27
Tab. 5: Zusammensetzung der Pools für die P-Gehaltsbestimmung	29
Tab. 6: Zusammensetzung der Phosphorstandards	30
Tab. 7: Komponenten des ätherischen Öles.....	38

DIAGRAMME

Diagr. 1: Sterblichkeitsrate von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz <i>Glomus mosseae</i> und dem Wurzelpathogen <i>Fusarium oxysporum</i>	33
Diagr. 2: Mykorrhizierungsgrad von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz <i>Glomus mosseae</i> und dem Wurzelpathogen <i>Fusarium oxysporum</i>	34
Diagr. 3: Wurzelverbräunung von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz <i>Glomus mosseae</i> und dem Wurzelpathogen <i>Fusarium oxysporum</i>	34
Diagr. 4: Mittelwert des Wurzeltrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	36
Diagr. 5: Mittelwert des Sprosstrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	36
Diagr. 6: Mittelwert des Gesamttrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	37

Diagr. 7: Mittelwert des Gesamtgehaltes an ätherischen Öl von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	39
Diagr. 8: Mittelwerte des Gehaltes der 4 Hauptkomponenten des ätherischen Öles in Basilikum-pflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten (Fehlerindikator = Standardfehler)	40
Diagr. 9: Mittelwert des Rosmarinsäuregehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	41
Diagr. 10: Mittelwert des Kaffeesäuregehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	41
Diagr. 11: Mittelwert des Gesamtphenolgehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	42
Diagr. 12: Mittelwert der antioxidativen Aktivität von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	43
Diagr. 13: Mittelwert des Phosphorgehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	44
Diagr. 14: Mittelwert des Phosphorgehaltes der Gesamtpflanze von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	45

12 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter (10 ⁻⁶)
µm	Mikrometer (10 ⁻⁶)
Abb.	Abbildung
AM	Arbuskuläre Mykorrhiza
AMF	arbuscular mycorrhizal fungus
AMP	Arbuskuläre Mykorrhiza Pilze
cm	Zentimeter (10 ⁻²)
dest.	destilliert
Diagr.	Diagramm
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil
FID	Flammen-Ionisations-Detektor
<i>Fob</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>basilici</i>
g	Gramm
gr.	griechisch
GC	Gaschromatografie
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
KOH	Kalilauge
KS	Kaffeesäure
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter (10 ⁻³)
mm	Millimeter
MS	Massenspektroskopie
nm	Nanometer
P	Phosphor
PE	Polyethylen
ppm	parts per million
RS	Rosmarinsäure
RT	Retentionszeit
Tab.	Tabelle
TM	Trockenmaterial
x	mal (multipliziert)

13 LITERATURVERZEICHNIS

ADAMS R. P. (2001): Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Published Corporation, Carol Stream, Illinois.

ATKINSON D., BERTA G. and HOOKER J. E. (1994): Impact of mycorrhizal colonization on root architecture, root longevity and the formation of growth regulations. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.

AZCÓN C., JAIZME-VEGA M. C., CLAVET C. (2002): The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. In: Gianinazzi S., Schüepp H., Barea J. M., Haselwandter K. (eds) Mycorrhizal technology in agriculture. Switzerland: Birkhäuser Verlag. pp 187-197.

BACKHAUS G. F. und FELDMANN F. (1997): Anwendung arbuskulärer Mykorrhizapilze im Pflanzenbau. Heft 332. Berlin: Parey Buchverlag Berlin.

BACKHAUS G. F. und FELDMANN F. (1999): Arbuskuläre Mykorrhiza in der Pflanzenproduktion: Praxisbeispiele und Perspektiven. Heft 363. Berlin: Parey Buchverlag Berlin.

BAUGH P. J. (1997): Gaschromatographie: Eine anwenderorientierte Darstellung. Braunschweig/Wiesbaden: Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH.

BECKMAN C. H. (1987): The Nature of Wilt Diseases of Plants. St. Paul, Minnesota: APS Press.

BOZIN B., MIMICA-DUKIC N., SIMIN N. and ANACKOV G. (2006): Characterization of the Volatile Composition of Essential Oils of Some Lamiaceae Spices and the Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 1822-1828.

BRUNDRETT M., BOUGHER N., DELL B., GROVE T. and MALAJCZUK N. (1996): Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research, GPO Box 1571, Canberra, ACT 2601.

CARLE R. (1993): Ätherische Öle – Anspruch und Wirklichkeit. Paperback APV, Band 34. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart.

COPETTA A., LINGUA G., BERTA G. (2006): Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. *Genovese*. Mycorrhiza DOI 10.1007/s00572-006-0065-6.

CORDIER C., POZO M. J., BAREA J. M., GIANINANZZI S., GIANINANZZI-PEARSON V. (1998): Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus Mol Plant-Microbe Interact 11, 1017-1028.

CRÜGER G., BACKHAUS G. F., HOMMES H., SMOLKA S. und VETTEN H. S. (2002): Pflanzenschutz im Gemüsebau. Stuttgart: EUV GmbH & Co.

DACHLER M., PELZMANN H. (1999): Arznei- und Gewürzpflanzen. Anbau – Ernte – Aufbereitung. 2., aktualisierte und erw. Auflage. Klosterneuburg: Österr. Agrarverlag.

DEVI M. C., REDDY M. N. (2002): Phenolic acid metabolism of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) plants inoculated with VAM fungus and Rhizobium. Plant Growth Regul 37, 151-156.

DIÉDHIU P. M. (2001): Untersuchungen zum Auftreten und zur Bedeutung der arbuskulären Mykorrhizapilze für die Pflanzengesundheit und –vitalität. Bonn: Dissertation Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

DINGERMANN T., HILLER K., SCHNEIDER G., ZÜNDORF I. (2004): Schneider Arzneidrogen. 5. Auflage. München: Spektrum Akademischer Verlag.

GERICKE S., KURMIES B. (1952): Die kolorimetrische Phosphorsäurebestimmung mit Ammonium – Vanadat – Molybdat und ihre Anwendung in der Pflanzenanalyse. Z Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde, 59; 235-247.

GRANDMAISON J., OLAH G. M., VAN CALSTEREN M. R., FURLAN V. (1993): Characterization and localization of plant phenolics likely involved in the pathogen resistance expressed by endomycorrhizal roots. Mycorrhiza 3, 155-164.

- KATZER G. (2001):** Gernot Katzers Gewürzseiten. Online im Internet: URL: http://www.uni-graz.at/~katzer/germ/Ocim_bas.html?style=flow#const (aktualisiert am: 05.09.2001; Zugriff am: 22.02.2007).
- KHAOSAAD T., VIERHEILIG H., NELL M., ZITTERL-EGELSEER K. and NOVAK J. (2006):** Arbuskular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza* 16, 443-446.
- KINDL H. (1991):** Biochemie der Pflanzen. 3. Auflage. Berlin: Springer Verlag.
- MAROTTI M., PICCAGLIA R. and GIOVANELLI E. (1996):** Differences in Essential Oil Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian Cultivars Related to Morphological Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3926-3929.
- MCLAFFERTY F. W. (1989):** Wiley Registry of Mass Spectral Data. New York: Wiley.
- MÜHLE E., WETZEL T., FRAUENSTEIN K. und FUCHS E. (1983):** Praktikum zur Biologie und Diagnostik der Krankheitserreger und Schädlinge unserer Kulturpflanzen. Leipzig: S. Hirzel Verlag.
- NAUMER H. und HELLER W. (2002):** Untersuchungsmethoden in der Chemie: Einführung in die moderne Analytik. 3. erw. und überarb. Auflage. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH.
- NELSON P. E. (1981):** Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: Mace M. C., Bell A. A. and Beckman C. H. *Fungal wilt diseases of plants*; American Press, New York, 51-80.
- NEWMAN E. (1966):** A method of estimating the total length of root in a sample. *J. Appl. Ecol.* 3, 139-145.
- POZO M. J., CORDIER C., DUMAS-GAUDOT E., GIANINANZI S., BAREA J. M., AZCÓN C. (2002):** Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *J. Exp. Bot.* 53, 525-534.
- SMITH S. and READ D. (1997):** Mycorrhizal symbiosis. 2. edition. Academic Press, London.

STEINER G. (2003): Ätherische Öle und phenolische Verbindungen bei verschiedenen Oregano –Herkünften. Wien: Diplomarbeit Universität für Bodenkultur.

SYLVIA D. M. (1999): Mycorrhizal symbiosis. In: Sylvia D. M., Fuhrmann J. J., Hartel P. G. and Zuberer D. A. (eds.). Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 408-426.

TOUSSAINT J. P., SMITH F. A., SMITH S. E. (2006): Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. Mycorrhiza DOI 10.1007/s00572-006-0104-3.

VIERHEILIG H., COUGHLAN A., WYSS U. and PICHÉ Y. (1998): Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. Appl. Environ. Microbiol. 64, 5004-5007.

VIERHEILIG H., STEINKELLNER S., KHAOSAAD T. and GARCIA-GARRIDO J.M. (2007): The biocontrol effect of mycorrhization on soil-borne fungal pathogens and the autoregulation of the AM symbiosis: one mechanism, two effects?. im Druck.

WULFF K. (1996): Einfluss von Kulturmaßnahmen auf die arbuskuläre Mykorrhiza in landwirtschaftlichen Nutzflächen. Stuttgart: Verlag Ulrich E. Grauer.

Abb. 27: GC / FID von Agilent	23
Abb. 28: HPLC-Apparatur von Waters.....	24
Abb. 29: Probenansatz für die Messung des Gesamtphenolgehaltes.....	26
Abb. 30: Spektralphotometer von Hitachi	26
Abb. 31: Probenraum mit Probenhalterung	26
Abb. 32: Säureaufschluss auf der Heizplatte.....	31
Abb. 33: Spektralphotometer von Varian.....	31
Abb. 34: Unterschiede in der Biomasseproduktion zwischen den einzelnen Varianten	35

TABELLEN

Tab. 1: Versuchszeitplan.....	9
Tab. 2: Behandlungsvarianten.....	11
Tab. 3: Zusammensetzung der Pools.....	19
Tab. 4: Trolox-Eichreihe	27
Tab. 5: Zusammensetzung der Pools für die P-Gehaltsbestimmung	29
Tab. 6: Zusammensetzung der Phosphorstandards	30
Tab. 7: Komponenten des ätherischen Öles.....	38

DIAGRAMME

Diagr. 1: Sterblichkeitsrate von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz <i>Glomus mosseae</i> und dem Wurzelpathogen <i>Fusarium oxysporum</i>	33
Diagr. 2: Mykorrhizierungsgrad von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz <i>Glomus mosseae</i> und dem Wurzelpathogen <i>Fusarium oxysporum</i>	34
Diagr. 3: Wurzelverbräunung von Basilikumpflanzen nach Inokulation mit dem arbuskulären Mykorrhizapilz <i>Glomus mosseae</i> und dem Wurzelpathogen <i>Fusarium oxysporum</i>	34
Diagr. 4: Mittelwert des Wurzeltrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	36
Diagr. 5: Mittelwert des Sprosstrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	36
Diagr. 6: Mittelwert des Gesamttrockengewichtes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	37

Diagr. 7: Mittelwert des Gesamtgehaltes an ätherischen Öl von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	39
Diagr. 8: Mittelwerte des Gehaltes der 4 Hauptkomponenten des ätherischen Öles in Basilikum-pflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten (Fehlerindikator = Standardfehler)	40
Diagr. 9: Mittelwert des Rosmarinsäuregehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	41
Diagr. 10: Mittelwert des Kaffeesäuregehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	41
Diagr. 11: Mittelwert des Gesamtphenolgehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	42
Diagr. 12: Mittelwert der antioxidativen Aktivität von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	43
Diagr. 13: Mittelwert des Phosphorgehaltes von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	44
Diagr. 14: Mittelwert des Phosphorgehaltes der Gesamtpflanze von Basilikumpflanzen der verschiedenen Versuchsvarianten	45

12 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter (10 ⁻⁶)
µm	Mikrometer (10 ⁻⁶)
Abb.	Abbildung
AM	Arbuskuläre Mykorrhiza
AMF	arbuscular mycorrhizal fungus
AMP	Arbuskuläre Mykorrhiza Pilze
cm	Zentimeter (10 ⁻²)
dest.	destilliert
Diagr.	Diagramm
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil
FID	Flammen-Ionisations-Detektor
<i>Fob</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>basilici</i>
g	Gramm
gr.	griechisch
GC	Gaschromatografie
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
KOH	Kalilauge
KS	Kaffeesäure
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter (10 ⁻³)
mm	Millimeter
MS	Massenspektroskopie
nm	Nanometer
P	Phosphor
PE	Polyethylen
ppm	parts per million
RS	Rosmarinsäure
RT	Retentionszeit
Tab.	Tabelle
TM	Trockenmaterial
x	mal (multipliziert)

13 LITERATURVERZEICHNIS

ADAMS R. P. (2001): Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Published Corporation, Carol Stream, Illinois.

ATKINSON D., BERTA G. and HOOKER J. E. (1994): Impact of mycorrhizal colonization on root architecture, root longevity and the formation of growth regulations. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.

AZCÓN C., JAIZME-VEGA M. C., CLAVET C. (2002): The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. In: Gianinazzi S., Schüepp H., Barea J. M., Haselwandter K. (eds) Mycorrhizal technology in agriculture. Switzerland: Birkhäuser Verlag. pp 187-197.

BACKHAUS G. F. und FELDMANN F. (1997): Anwendung arbuskulärer Mykorrhizapilze im Pflanzenbau. Heft 332. Berlin: Parey Buchverlag Berlin.

BACKHAUS G. F. und FELDMANN F. (1999): Arbuskuläre Mykorrhiza in der Pflanzenproduktion: Praxisbeispiele und Perspektiven. Heft 363. Berlin: Parey Buchverlag Berlin.

BAUGH P. J. (1997): Gaschromatographie: Eine anwenderorientierte Darstellung. Braunschweig/Wiesbaden: Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH.

BECKMAN C. H. (1987): The Nature of Wilt Diseases of Plants. St. Paul, Minnesota: APS Press.

BOZIN B., MIMICA-DUKIC N., SIMIN N. and ANACKOV G. (2006): Characterization of the Volatile Composition of Essential Oils of Some Lamiaceae Spices and the Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 1822-1828.

BRUNDRETT M., BOUGHER N., DELL B., GROVE T. and MALAJCZUK N. (1996): Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research, GPO Box 1571, Canberra, ACT 2601.

CARLE R. (1993): Ätherische Öle – Anspruch und Wirklichkeit. Paperback APV, Band 34. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart.

COPETTA A., LINGUA G., BERTA G. (2006): Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. *Genovese*. Mycorrhiza DOI 10.1007/s00572-006-0065-6.

CORDIER C., POZO M. J., BAREA J. M., GIANINANZZI S., GIANINANZZI-PEARSON V. (1998): Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus Mol Plant-Microbe Interact 11, 1017-1028.

CRÜGER G., BACKHAUS G. F., HOMMES H., SMOLKA S. und VETTEN H. S. (2002): Pflanzenschutz im Gemüsebau. Stuttgart: EUV GmbH & Co.

DACHLER M., PELZMANN H. (1999): Arznei- und Gewürzpflanzen. Anbau – Ernte – Aufbereitung. 2., aktualisierte und erw. Auflage. Klosterneuburg: Österr. Agrarverlag.

DEVI M. C., REDDY M. N. (2002): Phenolic acid metabolism of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) plants inoculated with VAM fungus and Rhizobium. Plant Growth Regul 37, 151-156.

DIÉDHIU P. M. (2001): Untersuchungen zum Auftreten und zur Bedeutung der arbuskulären Mykorrhizapilze für die Pflanzengesundheit und –vitalität. Bonn: Dissertation Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

DINGERMANN T., HILLER K., SCHNEIDER G., ZÜNDORF I. (2004): Schneider Arzneidrogen. 5. Auflage. München: Spektrum Akademischer Verlag.

GERICKE S., KURMIES B. (1952): Die kolorimetrische Phosphorsäurebestimmung mit Ammonium – Vanadat – Molybdat und ihre Anwendung in der Pflanzenanalyse. Z Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde, 59; 235-247.

GRANDMAISON J., OLAH G. M., VAN CALSTEREN M. R., FURLAN V. (1993): Characterization and localization of plant phenolics likely involved in the pathogen resistance expressed by endomycorrhizal roots. Mycorrhiza 3, 155-164.

- KATZER G. (2001):** Gernot Katzers Gewürzseiten. Online im Internet: URL: http://www.uni-graz.at/~katzger/germ/Ocim_bas.html?style=flow#const (aktualisiert am: 05.09.2001; Zugriff am: 22.02.2007).
- KHAOSAAD T., VIERHEILIG H., NELL M., ZITTERL-EGELSEER K. and NOVAK J. (2006):** Arbuskular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza* 16, 443-446.
- KINDL H. (1991):** Biochemie der Pflanzen. 3. Auflage. Berlin: Springer Verlag.
- MAROTTI M., PICCAGLIA R. and GIOVANELLI E. (1996):** Differences in Essential Oil Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian Cultivars Related to Morphological Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3926-3929.
- MCLAFFERTY F. W. (1989):** Wiley Registry of Mass Spectral Data. New York: Wiley.
- MÜHLE E., WETZEL T., FRAUENSTEIN K. und FUCHS E. (1983):** Praktikum zur Biologie und Diagnostik der Krankheitserreger und Schädlinge unserer Kulturpflanzen. Leipzig: S. Hirzel Verlag.
- NAUMER H. und HELLER W. (2002):** Untersuchungsmethoden in der Chemie: Einführung in die moderne Analytik. 3. erw. und überarb. Auflage. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH.
- NELSON P. E. (1981):** Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: Mace M. C., Bell A. A. and Beckman C. H. *Fungal wilt diseases of plants*; American Press, New York, 51-80.
- NEWMAN E. (1966):** A method of estimating the total length of root in a sample. *J. Appl. Ecol.* 3, 139-145.
- POZO M. J., CORDIER C., DUMAS-GAUDOT E., GIANINANZZI S., BAREA J. M., AZCÓN C. (2002):** Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *J. Exp. Bot.* 53, 525-534.
- SMITH S. and READ D. (1997):** Mycorrhizal symbiosis. 2. edition. Academic Press, London.

STEINER G. (2003): Ätherische Öle und phenolische Verbindungen bei verschiedenen Oregano –Herkünften. Wien: Diplomarbeit Universität für Bodenkultur.

SYLVIA D. M. (1999): Mycorrhizal symbiosis. In: Sylvia D. M., Fuhrmann J. J., Hartel P. G. and Zuberer D. A. (eds.). Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 408-426.

TOUSSAINT J. P., SMITH F. A., SMITH S. E. (2006): Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. Mycorrhiza DOI 10.1007/s00572-006-0104-3.

VIERHEILIG H., COUGHLAN A., WYSS U. and PICHÉ Y. (1998): Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. Appl. Environ. Microbiol. 64, 5004-5007.

VIERHEILIG H., STEINKELLNER S., KHAOSAAD T. and GARCIA-GARRIDO J.M. (2007): The biocontrol effect of mycorrhization on soil-borne fungal pathogens and the autoregulation of the AM symbiosis: one mechanism, two effects?. im Druck.

WULFF K. (1996): Einfluss von Kulturmaßnahmen auf die arbuskuläre Mykorrhiza in landwirtschaftlichen Nutzflächen. Stuttgart: Verlag Ulrich E. Grauer.