

**Universität für Bodenkultur Wien**  
**Institut für Pflanzenschutz**

**„Veränderung der Inhaltsstoffe von Tomatenblättern  
nach Inokulation mit bodenbürtigen pathogenen Pilzen und  
ihren biologischen Gegenspielern“**

**MASTERARBEIT**

Studienrichtung: Angewandte Pflanzenwissenschaften

eingereicht von  
**Daniel KRANZ**

**Betreuung:**

Ao. Univ. Prof. Dipl.-Ing. Dr. Johannes Novak  
Ao. Univ. Prof. Dipl.-Ing. Dr. Siegrid Steinkellner

Wien, August 2009

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	iii
Abbildungsverzeichnis	iv
Tabellenverzeichnis	v
Abstract	vi
Zusammenfassung	viii
<b>1. Einleitung und Problemstellung</b>	<b>1</b>
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>3</b>
2.1 Tomatensorten	3
2.2 Pilze	3
2.3 Versuchsdurchführung	4
2.3.1 Tomatenanzucht	4
2.3.2 Herstellung der Pilzsporen-Suspensionen	4
2.3.3 Pikieren und Inokulieren der Pflanzen	5
2.3.4 Kulturführung	6
2.3.5 Probenahme	6
2.4 Datenerhebung	7
2.4.1 Wachstumsstadium	7
2.4.2 Bonitur der Befallsstärke	7
2.4.3 Rückisolierung der inokulierten Pilze	7
2.4.4 Bestimmung des Sprossgewichts	8
2.4.5 Bestimmung des Gehalts an Gesamtphenolen und Gesamtflavonoiden sowie der antioxidativen Aktivität	8
2.4.5.1 Probenaufbereitung	8
2.4.5.2 Extraktion	9
2.4.5.3 Messung des Gesamtphenolgehalts	9
2.4.5.4 Messung des Gesamtflavonoidgehalts	11
2.4.5.5 Bestimmung der antioxidativen Aktivität mittels DPPH	12
2.4.5.6 Bestimmung der antioxidativen Aktivität mittels FRAP-Methode	13
2.4.6 Messung und Identifizierung spezifischer Blattinhaltsstoffe	15
2.4.6.1 Aufbereitung des Trockenmaterials	15
2.4.6.2 Herstellung des Extraktes	
2.4.6.3 Messung der Mengenanteile spezifischer Blattinhaltsstoffe im Extrakt	16
2.4.6.4 Identifizierung spezifischer Blattinhaltsstoffe im Extrakt	16
2.5 Statistische Auswertungen	17
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>19</b>
3.1 Feststellung des Befalls	19
3.1.1 Bonitierung der Befallssymptome	19
3.1.2 Sprossgewicht	19
3.1.3 Rückisolierungsrate der inokulierten Pilze	20
3.2 Veränderungen von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität	23
3.2.1 Gesamtphenolgehalt	23
3.2.2 Gesamtflavonoidgehalt	24

3.2.3	Antioxidative Aktivität: Gehalt an DPPH-reduzierenden Inhaltsstoffen	25
3.2.4	Antioxidative Aktivität: Redoxpotenzial (FRAP-Methode)	26
3.2.5	Korrelation von Phenolgehalt, Flavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität	27
3.3	Identifizierung von bodenbürtigen Pilzen mittels spezifischer Blatinhaltsstoffe	28
3.3.1	Mengenanteile und Identifikation spezifischer Blatinhaltsstoffe	28
3.3.2	Überprüfung der Eignung spezifischer Blatinhaltsstoffe zur Identifikation Bodenbürtiger Pilze	29
3.3.2.1	Auswertungen mittels Varianzanalyse	29
3.3.2.2	Auswertungen mittels Diskriminanzanalyse	29
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>36</b>
4.1	Befall der Tomatenpflanzen durch die inokulierten Pilze	36
4.2	Veränderungen von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität	37
4.3	Identifizierung von bodenbürtigen Pilzen mittels spezifischer Blatinhaltsstoffe	41
<b>5.</b>	<b>Schlussfolgerungen</b>	<b>44</b>
<b>6.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>45</b>
<b>7.</b>	<b>Dank</b>	<b>48</b>
Anhang		

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
ANOVA	Analysis of Variance (Varianzanalyse)
APX	Ascorbatperoxidase
BBCH	Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie
CA	Catechin
CAT	Katalase
CI	Konfidenzintervall
cm	Zentimeter
dest.	destilliert
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FCR	Folin-Ciocalteu-Reagenz
Fo	<i>Fusarium oxysporum</i>
Fol	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
Forl	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-lycopersici</i>
FRAP	ferric reducing ability of plasma
g	Gramm
GC-MS	Gaschromatografie kombiniert mit Massenspektroskopie
GC-FID	Gaschromatografie kombiniert mit Flammenionisationsdetektor
KS	Kaffeensäure
l	Liter
M	Mol
m	Meter
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter
mM	Millimol
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
µl	Mikroliter
n	Umfang an Messwiederholungen
N	Versuchsumfang
PAL	Phenylalaninammonium-Lyase
POX	Peroxidase
PPO	Polyphenoloxidase
P	Wahrscheinlichkeit
P1	Trichoderma atroviride Stamm P1
PCR	Polymerase Kettenreaktion
RI	Rückisolierung
ROS	reaktive Sauerstoffspezies (engl. reactive oxygen species)
SAR	systemisch akquirierte Resistenz
S	Substanz
Scler	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
SOD	Superoxiddismutase
Temp.	Temperatur
Tb	<i>Thielaviopsis basicola</i>
TS	Trockensubstanz

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Einzelne Tomatenpflanzen in Pflanztöpfchen in Anzucht-kistchen aufgestellt – zur Vermeidung der Kreuzinokulation nach Varianten getrennt. ....6
- Abbildung 2:** Rückisolierung des Pathogens Fol 007 und des biologischen Gegenspielers P1 aus demselben Pflanzenmaterial (Variante „Fol 007 + P1“, Sorte Moneymaker, Woche 6 nach Inokulation). ....8
- Abbildung 3:** Filtersystem in Pasteurpipette bestehend aus 3 Schichten: ca. 4 mm Wolle, ca. 4 mm wasserfreies Natriumsulfat, ca. 4 mm synthetische Wolle. ....16
- Abbildung 4:** Bonitur der Befallssymptome von Tomatenpflanzen aus den verschiedenen Varianten (0 = kein Befall; 15 = abgestorbene Pflanze) zu den Kontrollterminen in Woche 3, Woche 6 und Woche 9 nach der Inokulation (Mittelwerte aus N = 300, n = 10). ....19
- Abbildung 5:** Uneinheitliche Entwicklung der mit Forl 873.95 inokulierten Pflanzen links, im Vergleich zur einheitlichen Entwicklung der Kontrollpflanzen rechts (Sorte: Moneymaker, Woche 6 nach Inokulation). ....20
- Abbildung 6:** Die Kontrollpflanzen rechts zeigen eine wesentlich bessere Entwicklung als die mit Fol 004 inokulierten Pflanzen links (Sorte: Moneymaker, Woche 9 nach Inokulation). ....21
- Abbildung 7:** Mittelwerte des Sprossgewichtes (in g TS) der Tomatenpflanzen aus den verschiedenen Varianten zu den Beprobungsterminen in Woche 3, Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation. Die Gruppierung der Mittelwerte (aus N = 300, n = 10) mittels Tukey-Test ( $p < 0,05$ ) erfolgte zum Kontrolltermin in Woche 9 .....21
- Abbildung 8:** Vergleich der Rückisolierungsrate der Varianten. Bei Mischinokulationen mit zwei unterschiedlichen Pilzen wurde bei der Rückisolierung nicht zwischen den beiden Pilzen unterschieden. ....22
- Abbildung 9:** Korrelation von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt, Gehalt an Radikalfängern (DPPH) und Redoxstatus (FRAP) der Blattproben von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen (Korrelation nach Pearson, N = 160) .....27
- Abbildung 10:** Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten. Die Werte der Faktoren Tomatensorte und Beprobungstermin wurden zusammengefasst (je Substanz: N = 223, n = 20–24). Substanzen mit signifikanten Unterschieden zwischen den Varianten (ANOVA;  $p < 0,05$ ) sind mit (\*) markiert. ....29
- Abbildung 11:** Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den beiden Tomatensorten. Die Werte der Faktoren Variante und Beprobungstermin wurden zusammengefasst (je Substanz: N = 223, n = 113 bzw. 110). Substanzen mit signifikanten Unterschieden zwischen den Tomatensorten (ANOVA;  $p < 0,05$ ) sind mit (\*) markiert. ....30
- Abbildung 12:** Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den drei Beprobungsterminen. Die Werte der Faktoren Variante und Tomatensorte wurden zusammengefasst (je Substanz: N = 223, n = 72, 73 bzw. 78). Substanzen mit signifikanten Unterschieden zwischen den Beprobungsterminen (ANOVA;  $p < 0,05$ ) sind mit (\*) markiert. ....30

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Auflistung der im Versuch verwendeten Pilze, deren Kurzbezeichnung und Herkunft. ....	3
<b>Tabelle 2:</b> Gesamtphenolgehalt der Blätter von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen. ....	23
<b>Tabelle 3:</b> Gesamtflavonoidgehalt der Blätter von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen. ....	24
<b>Tabelle 4:</b> Antioxidative Aktivität (DPPH-Reduktion) der Blatinhaltsstoffe von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen. ....	25
<b>Tabelle 5:</b> Antioxidative Aktivität (FRAP-Methode) der Blatinhaltsstoffe von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen. ....	26
<b>Tabelle 6:</b> Sechzehn Substanzen (S1 – S 16) deren Mengenanteile im Versuch zur Zuordnung der einzelnen Proben zu den Varianten ihrer Herkunft verwendet wurden. ....	28
<b>Tabelle 7:</b> Anteil positiver Zuordnungen der Proben zu den Varianten ihrer Herkunft anhand 16 spezifischer Blatinhaltstoffen unter Anwendung der Diskriminanzanalyse. ....	32
<b>Tabelle 8:</b> Zuordnung von Blattproben von Kontrollpflanzen und von Pflanzen mit positiver Rückisolierung des inokulierten Pilzes mittels 16 spezifischer Blatinhaltstoffen unter Anwendung der Diskriminanzanalyse. Die Tabelle zeigt die Prozentanteile der Proben von Kontrollpflanzen, welche korrekt den Kontrollpflanzen zugeteilt wurden sowie die Prozentanteile der Proben von infizierten Pflanzen, welche irrtümlich den Kontrollpflanzen zugeteilt wurden. ....	33
<b>Tabelle 9:</b> Zuordnung der einzelnen Proben zu den Tomatensorten ihrer Herkunft mittels 16 spezifischer Blatinhaltstoffen unter Anwendung der Diskriminanzanalyse. Die Tabelle zeigt die Prozentanteile korrekter Zuordnungen. ....	34
<b>Tabelle 10:</b> Zuordnung zu den Beprobungsterminen, an denen die Entnahmen stattfanden, mittels 16 spezifischer Blatinhaltstoffen unter Anwendung der Diskriminanzanalyse. Die Analyse wurde sowohl unter Einbezug aller Proben als auch unter alleinigem Einbezug von Proben aus Kontrollpflanzen durchgeführt. Die Tabelle zeigt die Prozentanteile korrekter Zuordnungen. ....	35

## Abstract

Over the past years modifications in the composition of plant compounds due to plant-pathogen interactions have received increasing attention. In the present work the influence of soil borne pathogenic fungi and biocontrol agents on the antioxidant activity and the content of phenols in tomato leaves were studied. In addition, the question of a possible specific change of the chemical composition, induced by different fungi, was examined. In future, diagnostic methods based upon such fungi specific changes could be useful for the identification of attacking soil born phytopathogens.

In this study the tomato varieties "Kremser Perle" and "Moneymaker" were inoculated with nine different treatments using the soil borne pathogenic fungi *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, *Thielaviopsis basicola*, *Sclerotinia sclerotiorum* as well as bioprotective strains of *Fusarium oxysporum* and *Trichoderma atroviride*. Mock-inoculated plants were used as control treatments. After inoculation sampling of plant material took place in three points of times (every third week). Methanol extracts of tomato leaves were prepared and the antioxidant activity was determined with two assays (DPPH and FRAP). The content of total phenolics was quantified according to the Folin-Ciocalteu method, the content of total flavonoids by the use of an adapted Dowd method. Examinations regarding to fungi specific modifications in the composition of plant compounds were carried out after extraction of dried tomato leaves with Dichlormethan. The extracts were analysed using gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID) respectively mass spectrometry (GC-MS).

Not all of the fungi inoculated to the plants were able to colonize their hosts. High infestation rate could be observed within variants containing *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, lower in variants with *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* and very low infestation rate in variants with *T. basicola*. No infestation at all took place after inoculations with *S. sclerotiorum*. The different infestation rates were partly reflected in the results concerning antioxidant activity, total phenolics and total flavonoids. By trend, in leaves of mock-inoculated plants stronger antioxidant activity and higher contents of total phenolic and total flavonoids were found than in plants inoculated with soil borne fungi. According to mock-inoculated plants, significant lower values were measured in variants with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Until now, the complex plant physiological procedures behind the findings are not fully understood.

By means of GC-FID and GC-MS the alkanes Nonacosan, Triacontan and Hentriacontan were detected and identified in the Dichlormethan extracts. These alkanes and presumably all the other 13 unidentified substances in the extracts are possibly epicuticular waxes.

Applying the discriminant analysis to the individual composition of epicuticular waxes of samples from the different variants, in 98.6% (with cross validation 19.6%) of the cases a correct allocation of the samples to their variant of origin was possible. This study indicates fungi specific changes in the composition of epicuticular waxes of leaves under the influence of soil born fungi. Concerning such connections no reports are published yet.

## Zusammenfassung

In den letzten Jahren wurde der Veränderung von Pflanzeninhaltsstoffen infolge von Interaktionen zwischen Pflanzen und Pilzen resp. Bakterien vermehrt Beachtung geschenkt. Die gegenständliche Arbeit untersuchte die Auswirkungen der Inokulation von Tomatenwurzeln mit bodenbürtigen Pilzen auf die antioxidative Aktivität und den Gehalt an Gesamtphenolen sowie Gesamtflavonoiden von Tomatenblättern. Zudem wurde der Frage nachgegangen, ob diese Pilze befähigt sind, spezifische Veränderungen der Blatinhaltsstoffe herbeizuführen und damit deren Identifizierung mittels Blatinhaltsstoffanalysen ermöglichen würde.

Der Versuch umfasste die beiden Tomatensorten „Kremser Perle“ und „Moneymaker“ sowie zehn Varianten von Wurzelinokulationen mit bodenbürtigen Pilzen. Dabei wurden die Bodenpathogene *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, *Sclerotinia sclerotiorum* und *Thielaviopsis basicola* sowie deren biologische Gegenspieler *Fusarium oxysporum* (Stamm Fo47) und *Trichoderma atroviride* inokuliert. Ab dem Zeitpunkt der Inokulation erfolgte die Probenahme zu drei Terminen im Abstand von jeweils drei Wochen.

Nach Extraktion des Blattmaterials mit 50%-Methanol wurde die antioxidative Aktivität unter Anwendung der Fe<sup>III</sup>-Reduktions-Methode (FRAP) sowie des stabilen freien Radikals 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) quantifiziert. Der Gesamtphenolgehalt wurde mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz ermittelt und der Gesamtflavonoidgehalt mit einer modifizierten Dowd-Methode gemessen. Die Untersuchungen bezüglich pilzspezifischer Veränderungen der Blatinhaltsstoffe erfolgten durch Extraktion des Blattmaterials der Proben mit Dichlormethan und anschließende Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektor (GC-FID) resp. Massenspektrometer (GC-MS).

Nicht alle der getesteten inokulierten Pilze konnten die Pflanzen erfolgreich besiedeln. Besonders starker Befall konnte bei *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* festgestellt werden, geringerer bei *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* und sehr geringer bei *T. basicola*. Gar kein Befall konnte bei *S. sclerotiorum* festgestellt werden. Der unterschiedliche Befall widerspiegelte sich auch bei den Messungen der antioxidativen Aktivität, wobei Proben von Kontrollpflanzen die höchsten Werte aufwiesen. Die Werte der Proben von mit Pilzen inokulierten Pflanzen lagen tendenziell darunter, signifikant tiefere Werte wurden bei *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* festgestellt. Bei der Messung der Gesamtphenole und der Gesamtflavonoide zeigte sich ein sehr ähnliches Bild. Die pflanzenphysiologischen Vorgänge, welche zu den aufgefundenen Ergebnissen geführt haben, sind sehr komplex und teilweise noch unbekannt.

Zur Untersuchung pilzspezifischer Veränderungen der Inhaltsstoffe wurden im Dichlormethan-Extrakt die Alkane Nonacosan, Triacontan und Hentriacontan aufgefunden und identifiziert. Diese dürften – wie vermutlich auch die übrigen 13 nicht identifizierten Substanzen – aus der Cuticula der Tomatenblätter stammen. Obwohl bei den einzelnen Substanzen mittels Varianzanalyse nur relativ geringe Unterschiede zwischen den Varianten festgestellt werden konnten, war mittels Diskriminanzanalyse eine Zuordnung der Proben zu den Varianten ihrer Herkunft in 98,6% (bei Kreuzvalidierung 19,6%) der Fälle möglich. Der Versuch weist somit auf eine pilzspezifische Veränderung der chemischen Zusammensetzung der Cuticula unter dem Einfluss von pilzlichen Bodenpathogenen hin. Über Zusammenhänge dieser Art wurde bislang noch nicht berichtet.

# 1 Einleitung und Problemstellung

In den letzten Jahren wurde der Veränderung von Pflanzeninhaltsstoffen infolge von Interaktionen zwischen Pflanzen und Pilzen resp. Bakterien in verschiedenen wissenschaftlichen Disziplinen vermehrt Beachtung geschenkt. So wurde beispielsweise der Einfluss von Mykorrhizapilzen auf sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe in der Medizinalpflanzenproduktion untersucht (Nell et al. 2008). Andersson et al. (1980) fand im Rahmen der Resistenzzüchtung bei Tomaten durch Analyse flüchtiger Inhaltsstoffe Hinweise auf resistente Genotypen. Vikram et al. (2006) nutzten flüchtige Inhaltsstoffe zur Früherkennung der Ausbreitung von Krankheiten im Karottenlager. Zur Auffindung resistenter Genotypen resp. zur Früherkennung von Lagerkrankheiten stand nicht die Identifizierung der durch die Pilze spezifisch induzierten Pflanzeninhaltsstoffe im Vordergrund, als vielmehr eine detektierbare Veränderung der mengenmässigen Zusammensetzung der untersuchten Pflanzeninhaltsstoffe beim Vorhandensein bestimmter genetischer Merkmale resp. bestimmter Pilzkrankheiten.

Der gegenständliche Versuch beschäftigt sich mit der Frage, ob bodenbürtige Pilze (Pathogene sowie ihre biologischen Gegenspieler) bei Interaktion mit Pflanzen die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe von Blättern verändern und ob diese Veränderungen pilzspezifisch sind. Sofern die Veränderungen der Blatinhaltsstoffe für jeden Pilz spezifisch erfolgen, würde dies die Detektion eines bodenbürtigen Pathogenbefalls mittels Blattanalysen erlauben. Diese spezifischen Veränderungen könnten somit ein relativ zerstörungsfreies breites Screening von nahezu symptomfreien Pflanzen auf Befall durch diverse bodenbürtige Pilzkrankheiten ermöglichen.

Zur Beantwortung der Versuchsfragen dienten Tomaten als Modellpflanzen. Tomaten sind weltweit von grosser Bedeutung (Krug et al. 2002) und werden häufig durch bodenbürtige Pilze geschädigt. Die Pilze können über die Wurzeln in die Tomatenpflanzen einwandern und auf diese Weise die Pflanzen schädigen und die Erträge reduzieren. Massnahmen wie das Einhalten von Fruchtfolgeregeln, chemische und physikalische Bodenentseuchung, Veredelung resistenter Sorten (Krug et al. 2002) sowie der Einsatz von biologischen Gegenspielern wie *Fusarium oxysporum* (Stamm Fo 47) oder *Trichoderma atroviridae* (Fuchs et al. 1997) werden heute zur Bekämpfung der diversen Wurzelpathogene eingesetzt. Zur Vermeidung von Wurzelpathogenen wurde bei der Tomatenproduktion in der Vergangenheit vermehrt auch auf Hydrokulturen gesetzt. Einige bedeutende bodenbürtige Pilzkrankheiten wie z.B. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* können sich allerdings auch in den Bewässerungssystemen von Hydrokulturen leicht ausbreiten (Krug et al. 2002).

Im Versuch wurden zwei Tomatensorten mit insgesamt 10 verschiedenen Varianten von Pilzen oder Pilzkombinationen inokuliert. Die Probenahmen nach der Inokulation erfolgten zu drei verschiedenen Terminen. Zur Untersuchung der Blatinhaltsstoffe wurden sowohl fotometrische Methoden zur Bestimmung von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität als auch gaschromatografische Methoden zur Identifizierung und Quantifizierung weiterer Pflanzeninhaltsstoffe verwendet.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Tomatensorten

Im Versuch wurden die beiden Tomatensorten „Kremser Perle“ und „Moneymaker“ verwendet. „Kremser Perle“ ist eine alte kompakt wachsende Buschtomatensorte aus Österreich (Anonymus 2006), „Moneymaker“ eine alte Gewächshaus-tomatensorte aus England (Anonymus 2005). Es sind keine Resistenzen dieser Sorten gegen die im Versuch verwendeten Pilze bekannt (Anonymus 2005; 2006).

### 2.2 Pilze

Im Versuch wurden sowohl bodenbürtige Pathogene als auch bodenbürtige biologische Gegenspieler aus dem Reich der Pilze eingesetzt. Alle eingesetzten Pathogene (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, *Thielaviopsis basicola* und *Sclerotinia sclerotiorum*) sind in der Tomatenproduktion von wirtschaftlicher Bedeutung. *Fusarium oxysporum* und *Trichoderma atroviride* werden als biologische Gegenspieler – insbesondere von pathogenen Fusarienstämmen – in der Tomatenproduktion eingesetzt. Tabelle 1 listet die in den vorliegenden Untersuchungen eingesetzten Pilze, deren Kurzbezeichnung und Herkunft auf.

**Tabelle 1:** Auflistung der im Versuch verwendeten Pilze, deren Kurzbezeichnung und Herkunft.

Pilz	Kurzbezeichnung	Herkunft
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Fol 007	Fol 007	Institute for Molecular Cell Biology, Amsterdam
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Fol 004	Fol 004	Institute for Molecular Cell Biology, Amsterdam
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i>	Forl 873.95	Fungal Biodiversity Center CBS, Utrecht
<i>Fusarium oxysporum</i>	Fo 47	C. Steinberg, INRA/ Université de Bourgogne, Dijon
<i>Trichoderma atroviride</i> Stamm P1	P1	Technische Universität Wien
<i>Thielaviopsis basicola</i> CBS 150.67	Tb 150.67	Fungal Biodiversity Center CBS, Utrecht
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Scler	Institut für Pflanzenschutz, Universität für Bodenkultur Wien

## **2.3 Versuchsdurchführung**

### **2.3.1 Tomatenanzucht**

#### **Anzuchtsubstrat**

Als Anzuchtsubstrat wurde Perlit (Granuperl S 3-6, Knauf Perlit GmbH, Wien) verwendet. Das Substrat wurde bei 121 °C während 20 Minuten autoklaviert.

#### **Sterilisierung und Vorquellung der Sämereien**

Je 500 Samen der beiden Tomatensorten „MoneyMaker“ und „Kremser Perle“ wurde mittels einer Lösung (50% Danclorix, 50% destilliertes Wasser) oberflächensterilisiert. Nach kurzem Einweichen wurden die Samen fünfmal mit destilliertem Wasser gewaschen. Um eine möglichst hohe Keimungsrate zu erreichen, wurden die Sämereien 3 Stunden in destilliertem Wasser vorgequollen.

#### **Saat und Anzucht der Tomaten**

Das autoklavierte Substrat wurde in Plastiktöpfe (14 cm Durchmesser) eingefüllt und ausgiebig gewässert. Anschließend wurden für jede Tomatensorte 10 Töpfe mit je 50 Samen bestückt. Die Samen wurden jeweils mit einer dünnen Perlitschicht überdeckt. Die Keimung der Tomatensamen erfolgte im Klimaschrank bei 24 °C und 65% relativer Luftfeuchtigkeit.

### **2.3.2 Herstellung der Pilzsporen-Suspensionen**

#### **Kultivierung der Pilze**

Zur Herstellung von Sporensuspensionen wurden die einzelnen Pilze auf festen Nährböden kultiviert. Hierfür wurde das Nährmedium Kartoffel-Dextrose-Agar (Merck, Darmstadt, 39g/l) bei 121 °C für 20 min autoklaviert und anschliessend in Petrischalen gegossen. Die Pilzkulturen wurden auf das Nährmedium überimpft und bei 24 °C im Dunkeln inkubiert.

#### **Herstellung der Sporensuspension**

Nach 18 Tagen Inkubation wurde die sich auf dem Nährmedium ausbreitende Pilzkultur mit sterilem, destilliertem Wasser übergossen und behutsam vom Nährmedium abgeschabt. Die entstandene Suspension wurde durch 3 Schichten Kannenvlies (20-150 µm, Laporte Ges.m.b.H., Wels, Österreich) filtriert, wodurch das Myzel zurückgehalten und eine reine Sporen-Wasser-Suspension gewonnen wurde.

### 2.3.3 Pikieren und Inokulieren der Pflanzen

#### Vorbereitung des Pflanzsubstrates

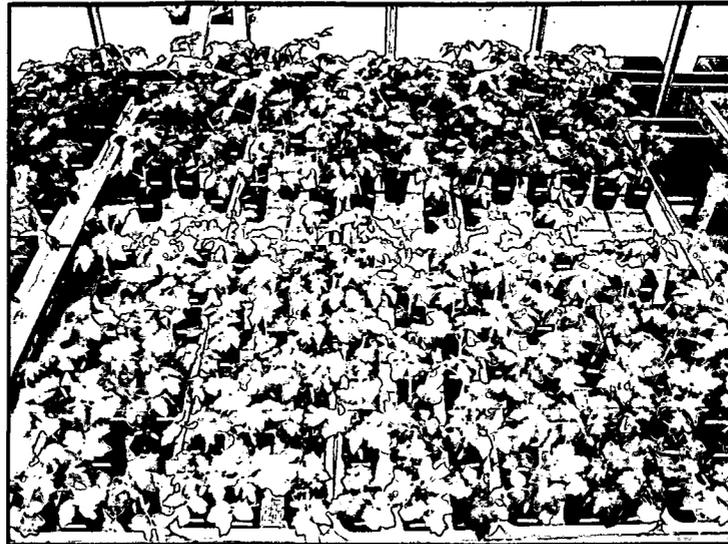
Als Pflanzsubstrat wurde ein Gemisch aus zwei Dritteln Torfkultursubstrat (Gramoflor Profi-Substrat) und einem Drittel Leca (1-4 mm) verwendet. Das Substrat wurde in thermostabilen Kunststoffsäcken bei 121 °C autoklaviert.

#### Pikieren und Inokulieren der Pflanzen

Drei Wochen nach Tomatenaussaat erfolgte das Pikieren und Inokulieren der Tomaten. Dabei wurden die Sämlinge aus dem Perlit gezogen und vorsichtig von diesem gereinigt. Die durch diesen Vorgang verursachten leichten Wurzelverletzungen stellten potenzielle Eintrittspforten für die anschließend applizierten Pilze dar. Der Versuch umfasst folgende Varianten an Inokulationen mit Pilzen:

- a) Kontrolle: 5 Minuten Wurzelbad in destilliertem Wasser
- b) Fol 007: Inokulation durch 5 Minuten Wurzelbad in Sporensuspension ( $1,8 \times 10^4$  Sporen/ml)
- c) Fol 004: Inokulation durch 5 Minuten Wurzelbad in Sporensuspension ( $1,1 \times 10^4$  Sporen/ml)
- d) Forl 873.95: Inokulation durch 5 Minuten Wurzelbad in Sporensuspension ( $1,8 \times 10^4$  Sporen/ml)
- e) Fol 007 + Fo 47: Inokulation durch 5 Minuten Wurzelbad in Fol 007-Sporensuspension ( $81,1 \times 10^4$  Sporen/ml) und Zupipettieren von 5 ml Fo 47 Sporensuspension ( $5,8 \times 10^5$  Sporen/ml)
- f) Fo 47: Inokulation durch 5 Minuten Wurzelbad in Sporensuspension ( $5,8 \times 10^5$  Sporen/ml)
- g) Fol 007 + P1: Inokulation durch 5 Minuten Wurzelbad in Fol 007-Sporensuspension ( $1,1 \times 10^4$  Sporen/ml) und Zupipettieren von 5 ml *T. atroviride*-Sporensuspension ( $7,1 \times 10^5$  Sporen/ml)
- h) Tb 150.67: Inokulation durch 5 Minuten Wurzelbad in Sporensuspension ( $1,1 \times 10^4$  Sporen/ml)
- i) P1: Inokulation durch Zupipettieren von 5 ml Sporensuspension ( $7,1 \times 10^5$  Sporen/ml)
- j) Scler: Inokulation durch aus dem Nährmedium ausgestochene Pilzhyphen sowie ein Sklerotium, beides wurde vor dem Pikieren der Tomatenpflanze in das Pflanzloch eingeführt.

Je Sorte und Variante wurden 45 Tomatenpflänzchen einzeln in Pflanztöpfchen (7 x 7 x 6 cm) mit Kultursubstrat verpflanzt. Um eine Ausbreitung der unterschiedlichen Pilze über das Gießwasser zu vermeiden, wurden die getopften Pflanzen der einzelnen Varianten in separate Anzuchtkeistchen gestellt (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Einzelne Tomatenpflanzen in Pflanztopfchen in Anzucht-kistchen aufgestellt (zur Vermeidung von Kreuzkontamination nach Varianten getrennt).

### 2.3.4 Kulturführung

Die getopften Tomatenpflänzchen wurden nach Bedarf mittels Fertigation mit Wasser und Nährstoffen versorgt. Die Fertigation erfolgte überkopf mittels Handlanze. Die dabei verwendete Nährlösung wies folgende Zusammensetzung, Angaben je Liter, auf (Steineck 1951, modifiziert):

472,30 mg  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , 261,40 mg  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 136,00 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 369,72 mg  $\text{MgSO}_4$ , 8,004 mg  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 50,000 mg  $\text{Fe}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$ , 1,30 mg  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 4\text{H}_2\text{O}$ , 1,500 mg  $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$ , 0,60 mg  $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,450 mg  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ , 0,028 mg  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,028 mg  $\text{TiO}_2$ , 0,014 mg  $\text{LiCl}_2$ , 0,014 mg  $\text{SnCl}_2$ , 0,014 mg KJ, 0,014 mg KBr, 0,070 mg  $\text{MoO}_3$

Die einzigen Pflanzenschutzmassnahmen waren regelmäßige Insektizidspritzungen gegen die Gewächshaus-Mottenschildlaus (*Trialeurodes vaporariorum*) mit unterschiedlichen Insektiziden.

### 2.3.5 Probenahme

Die Probenahmen erfolgten jeweils in den Wochen 3, 6 und 9 nach Inokulation. Bei der ersten Probennahme wurden je Tomatensorte und Versuchsvariante je 5 Proben (5 Wiederholungen) bestehend aus jeweils 5 ganzen Pflanzen entnommen, wobei die jeweils in die Proben eingehenden Pflanzen zufällig ausgewählt wurden. Bei der zweiten und dritten Probennahme wurden je Tomatensorte und Versuchsvariante je 5 Proben (5 Wiederholungen) bestehend aus jeweils 2 ganzen Pflanzen entnommen.

## 2.4 Datenerhebung

### 2.4.1 Wachstumsstadium

Bei den Probenahmen wurde das Wachstumsstadium jeder Pflanze einzeln nach der BBCH-Skala festgehalten (BBA 2001).

### 2.4.2 Bonitur der Befallsstärke

Bei den Probenahmen wurden sowohl Spross als auch Wurzeln auf Krankheitssymptome untersucht. Um im Xylem wachsende Pilzhyphen entdecken zu können, wurde die Hauptwurzel aufgeschnitten.

Für die Varianten mit den Pathogenen *Fusarium oxysporum f. sp. radicum-lycopersici* und *Thielaviopsis basicola*, welche in erster Linie das Wurzelwerk besiedeln, wurde das Boniturschema nach Bolwerk et al. (2005) in modifizierter Form verwendet:

- 0 gesunde Pflanzen ohne sichtbare Symptome
- 4 Pflanzen mit kleinen braunen Pünktchen an der Hauptwurzel oder Sprossbasis
- 8 Pflanzen mit braunen Flecken an der Hauptwurzel oder Sprossbasis
- 12 Pflanzen mit Welkeerscheinungen und ausgedehnter Fäule an Wurzel oder Sprossbasis
- 15 abgestorbene Pflanzen

Für die Varianten mit den übrigen Pilzen wurden nach dem Schema von Wellmann (1939) bonitiert:

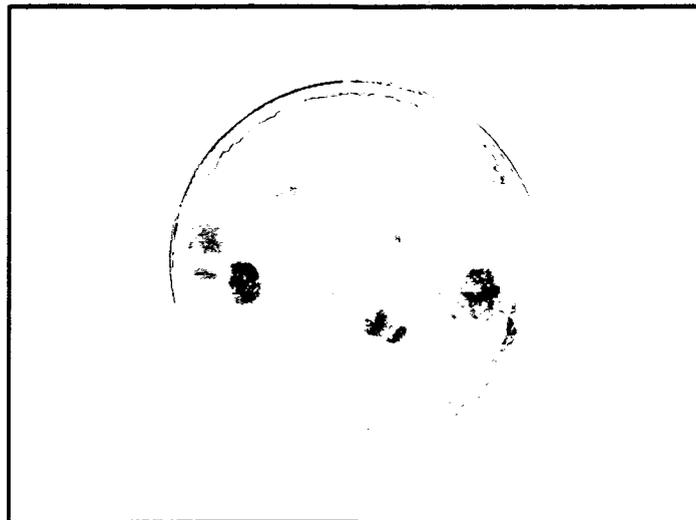
- 0 keine Symptome
- 1 bräunliche Verfärbungen in den Gefäßen der Hauptwurzel, keine Blattsymptome
- 2 bräunliche Verfärbungen der Gefäße im Spross bis zu den Keimblättern, Vergilbung der Keimblätter
- 3 bräunliche Verfärbungen der Gefäße im Spross bis über die Keimblätter hinaus
- 4 bräunliche Verfärbungen der Gefäße bis über die ersten Blättern hinaus
- 5 bräunliche Verfärbungen der Gefäße bis über die ersten Blätter hinaus, Vergilbungen der Blätter der untersten Blattetage
- 6 bräunliche Verfärbungen bis über die Hälfte der Sprosshöhe, die untersten Blätter mit Vergilbungen
- 7 bräunliche Verfärbungen der Gefäße bis über  $\frac{3}{4}$  der Sprosshöhe, ältere Blätter chlorotisch
- 8 alle Blätter außer die obersten mit Vergilbungen oder chlorotisch
- 9 bräunliche Verfärbungen der Gefäße bis knapp unter die Spitze, chlorotische Blätter an der Spitze, vergilbte Blätter darunter
- 10 bräunliche Verfärbungen der Gefäße der ganzen Pflanze, alle Blätter vergilbt, der Stamm aber noch aufrecht stehend
- 15 Absterben der Pflanze, Zusammenbrechen des Stängels

### 2.4.3 Rückisolierung der inokulierten Pilze

Zur Rückisolierung der inokulierten Pilze aus dem pflanzlichen Probenmaterial wurde von jeder Pflanze ein ca. 4 mm langes Stängelstück an der Basis des Hypokotyls mit einem Skalpell abgetrennt, für eine Minute in 70% Alkohol getaucht und anschließend zweimal langsam über die Flamme eines Bunsenbrenners geführt. Nach dieser Oberflächensterilisierung wurden die

Stängelabschnitte in Petrischalen mit Nährmedium ausgelegt. Die Herstellung des Nährmediums erfolgte wie unter Punkt 2.3.2 beschrieben. Dieses Nährmedium wurde jedoch zusätzlich mit 25 mg/l Streptomycinsulfat (Sigma-Aldrich, Österreich) versetzt, um die Unterdrückung des Pilzwachstums durch Bakterien weitgehend zu verhindern.

Die Petrischalen wurden jeweils ca. 1 Woche bei 24 °C und Dunkelheit inkubiert. Anschließend wurden sie auf Pilzwachstum untersucht. Jede Petrischale diente der Rückisolation von Pilzen aus einer einzelnen Probe und wurde bei erfolgreichem Wachstum des inokulierten Pilzes mit „ja“, ansonsten mit „nein“ beurteilt. Bei den Varianten mit Mischinokulationen (Abbildung 2) wurden die beiden inokulierten Pilze bei der Rückisolation nicht getrennt ausgewertet. Wenn einer der beiden Pilze rückisoliert werden konnte, wurde die Rückisolation mit „ja“ beurteilt.



**Abbildung 2:** Rückisolation des Pathogens Fol 007 und des biologischen Gegenspielers P1 aus demselben Pflanzenmaterial (Variante „Fol 007 + P1“, Sorte Moneymaker, Woche 6 nach Inokulation).

#### **2.4.4 Bestimmung des Sprossgewichts**

Das pflanzliche Probenmaterial wurde während ca. 2 Wochen bei knapp unter 30 °C und Luftumwälzung schonend getrocknet. Anschließend wurde die getrocknete Sprossmasse jeder Probe einzeln gewogen.

#### **2.4.5 Bestimmung des Gehaltes an Gesamtphenolen und Gesamtflavonoiden sowie der antioxidativen Aktivität**

##### **2.4.5.1 Probenaufbereitung**

Aus dem Blattmaterial des getrockneten Probenmaterials wurde aus jeder Probe eine repräsentative Blattmenge (sowohl jüngere und ältere als auch vergilbte und grüne Blätter wurden verwendet) im Umfang von ca. 0,2 g Trockenmasse entnommen und in Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt. Anschließend wurden Glasperlen mit einem Durchmesser von 1,7

bis 2,0 mm hinzugegeben (Firma Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland). Die Proben wurden anschließend in einer Retschmühle (Typ MM 301) mit Hilfe dieser Glasperlen vermahlen. Auf Grund der zu geringen Menge an getrocknetem Probenmaterial beim ersten Beprobungstermin (Woche 3 nach Inokulation), wurden die nachfolgenden Untersuchungen zum Gesamtphenolgehalt, dem Gesamtflavonoidgehalt sowie zur antioxidativen Aktivität nur für die Beprobungstermine in Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation durchgeführt.

#### 2.4.5.2 Extraktion

Als Lösungsmittel diente ein Gemisch aus Methanol und destilliertem Wasser in einem Verhältnis von 50:50. Zur Extraktion wurde das vermahlene Pflanzenmaterial jeweils mit 32 ml des Lösungsmittels in Schraubgläsern vermengt. Die Extraktion erfolgte anschließend während einer Stunde im gekühlten Ultraschallbad (Kaltextraktion). Die Extrakte wurden anschließend filtriert, in Eppendorf-Reaktionsgefäße abgefüllt und bei  $-18^{\circ}\text{C}$  gelagert.

#### 2.4.5.3 Messung des Gesamtphenolgehalts

##### Prinzip der Methode

Die Bestimmung des Gesamtphenolgehalts erfolgte mittels „Folin-Ciocalteu-Assay“ (Folin und Ciocalteu 1927) in einer leicht modifizierten Form. In einem basischen Milieu reagieren die phenolischen Inhaltsstoffe mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz (FCR), worauf es zur Ausbildung einer blauen Färbung kommt, welche fotometrisch gemessen werden kann. Die Messresultate werden mit Hilfe einer Kalibrationskurve in Kaffeesäure-Äquivalenten (mg Kaffeesäure / g TS) ausgedrückt (Anonymus 2007a).

##### Erstellung der Kalibrierungskurve

Zur Erstellung der Kalibrierungskurve wurden 10 mg Kaffeesäure in 10 ml dest. Wasser im Wasserbad bei  $70^{\circ}\text{C}$  unter ständigem Rühren gelöst. In weiterer Folge wurde der Nullwert wie auch jede Kaffeesäure-Konzentrationsstufe jeweils viermal in Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert und gemessen. In einem ersten Schritt wurde hierfür folgende Reihe pipettiert:

	Kaffeesäure (0,1 mg/ml) in $\mu\text{l}$	dest. $\text{H}_2\text{O}$ in $\mu\text{l}$
Nullwert	0	110
Konzentrationsstufe 1	2	108
Konzentrationsstufe 2	5	105
Konzentrationsstufe 3	8	102
Konzentrationsstufe 4	10	100
Konzentrationsstufe 5	15	95
Konzentrationsstufe 6	20	90
Konzentrationsstufe 7	25	85

In einem zweiten Schritt wurden jeweils  $5 \mu\text{l}$  des Folin-Ciocalteu-Reagenz (FCR, Merck, Darmstadt, Deutschland) hinzugegeben. Nach 3 Minuten leichtem Schütteln wurden jeweils  $10 \mu\text{l}$  einer  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung (35 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in 100 ml dest. Wasser im Wasserbad bei  $70^{\circ}\text{C}$

gelöst) und 125 µl dest. H<sub>2</sub>O hinzugegeben. Nach einstündiger Inkubation in Dunkelheit wurde die fotometrische Messung durchgeführt. Die Messungen erfolgten mittels „Microplate reader BIO-RAD Model 450“ unter Verwendung des „Microplate Manager 4.0“ mit den Einstellungen „Measurement Filter 725 nm“ und „Initial Wait 10 Sekunden“. Der Durchschnitt aus vier Messwerten jeder Konzentrationsstufe abzüglich des Nullwertes wurde zur Erstellung der Kalibrierungskurve verwendet. Die Kalibrierungskurve diente anschließend der Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes der Proben-Extrakte in Kaffeesäure-Äquivalenten.

### **Fotometrische Messung der Proben-Extrakte**

In einem ersten Schritt wurde in die Wells der Mikrotiterplatte 100 µl H<sub>2</sub>O gefolgt von 10 µl Probenextrakt und 5 µl Folin-Ciocalteu-Reagenz (FCR) pipettiert. Nach 3 Minuten leichtem Schütteln wurden jeweils 10 µl der Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und anschließend 125 µl dest. H<sub>2</sub>O hinzugegeben. Nach einstündiger Inkubation in Dunkelheit erfolgte die fotometrische Messung mit oben genannten Geräteeinstellungen. Zur Messung des Nullwertes wurde anstelle von 10 µl Extrakt 10 µl des Lösungsmittels (je zur Hälfte destilliertes Wasser und Methanol) verwendet.

Je Messdurchgang wurden auf einer Mikrotiterplatte 11 Proben sowie ein Nullwert gemessen, wobei die Proben sowie der Nullwert jeweils viermal gemessen wurden. Der Durchschnitt dieser vier Messungen abzüglich des durchschnittlichen Nullwertes diente als Wert für den Gesamtphenolgehalt der Proben-Extrakte und wurde mittels der Kalibrierungskurve in Kaffeesäure-Äquivalent ausgedrückt.

#### 2.4.5.4 Messung des Gesamtflavonoidgehalts

##### Prinzip der Methode

Die im Extrakt gelösten Flavonoide bilden mit zugeführtem Aluminiumchlorid intensiv gelb gefärbte Chelate. Diese Färbung des Extrakts ermöglicht die fotometrische Messung des Gesamtflavonoidgehaltes (Anonymus 2008).

##### Erstellung der Kalibrierungskurve

Zur Erstellung der Kalibrierungskurve wurden 10 mg Catechin im 20 ml MeOH gelöst. Anschließend wurde der Nullwert wie auch jede Catechin-Konzentrationsstufe jeweils viermal in Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert und gemessen. In einem ersten Schritt wurde hierfür folgende Reihe pipettiert:

	Catechin (0,5 mg/ml) in $\mu\text{l}$	dest. $\text{H}_2\text{O}$ in $\mu\text{l}$
Nullwert	0	140
Konzentrationsstufe 1	2	138
Konzentrationsstufe 2	5	135
Konzentrationsstufe 3	8	132
Konzentrationsstufe 4	10	130
Konzentrationsstufe 5	15	125
Konzentrationsstufe 6	20	120

In einem zweiten Schritt wurden jeweils 15  $\mu\text{l}$  einer  $\text{NaNO}_2$ -Lösung (0,5 g  $\text{NaNO}_2$  in 20 ml dest. Wasser gelöst) und 15  $\mu\text{l}$  einer  $\text{AlCl}_3$ -Lösung (2 g  $\text{AlCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$  in 20 ml dest. Wasser gelöst) zupipettiert. Nach 5 Minuten leichtem Schütteln wurden 50  $\mu\text{l}$  einer  $\text{NaOH}$ -Lösung (2 g  $\text{NaOH}$  in 50 ml dest. Wasser gelöst) hinzugegeben. Nach weiteren 5 Minuten leichtem Schütteln der Mikrotiterplatte erfolgte die fotometrische Messung.

Die Messung wurde mittels dem „Microplate reader BIO-RAD Model 450“ durchgeführt. Verwendet wurde dabei das Programm „Microplate Manager 4.0“ mit den Einstellungen „Measurement Filter 490 nm, Referenzfilter 0“ und „Initial Wait 10 Sekunden“. Der um den Nullwert korrigierte Durchschnitt dieser vier Messwerte je Konzentrationsstufe wurde zur Erstellung der Kalibrierungskurve verwendet. Die Kalibrierungskurve diente anschließend der Messung des Gesamtflavonoidgehalts der Proben-Extrakte in Catechin-Äquivalenten.

##### Fotometrische Messung der Proben-Extrakte

In einem ersten Schritt wurden in die Wells der Mikrotiterplatte 40  $\mu\text{l}$  methanolischer Pflanzenextrakt, 100  $\mu\text{l}$  dest. Wasser., 15  $\mu\text{l}$  der  $\text{NaNO}_2$ -Lösung und 15  $\mu\text{l}$  der  $\text{AlCl}_3$ -Lösung pipettiert. Nach 5 Minuten leichtem Schütteln wurden 50  $\mu\text{l}$  der  $\text{NaOH}$ -Lösung hinzugegeben. Nach weiteren 5 Minuten leichtem Schütteln der Mikrotiterplatte erfolgte die fotometrische Messung (mit obgenannten Einstellungen).

Je Mikrotiterplatte wurden 12 Proben gemessen, wobei jede Probe dreimal pipettiert und gemessen wurde. Für jede Probe wurde separat ein Nullwert pipettiert und gemessen. Hierfür wurden 180 ml dest. Wasser und 40 ml MeOH in jeweils ein Well der Mikrotiterplatte je Probenextrakt pipettiert.

Der Durchschnitt aus den drei Probenextrakt-Messungen abzüglich des Nullwertes wurde für die Bestimmung des Gesamtflavonoidgehalts der Probe verwendet und mittels der Kalibrierungskurve in Catechin-Äquivalent ausgedrückt.

#### 2.4.5.5 Bestimmung der antioxidativen Aktivität mittels DPPH

##### Prinzip der Methode

Zur Bestimmung der antioxidativen Aktivität mit dem stabilen Radikal Diphenyldipycrylhydrazyl (DPPH) wurde eine von Brand-Williams et al. (1995) beschriebene Methode modifiziert. Zur Bestimmung des Gehaltes an Radikalfängern im Pflanzenextrakt wird ein stabiles Radikal verwendet, welches im nicht reduzierten Zustand eine dunkle Violettfärbung aufweist. Die Anwesenheit von antioxidativ aktiven Substanzen (Radikalfängern) führt nach Reduktion des DPPH-Radikals durch Aufnahme von  $H^+$  zu einer Entfärbung desselben. Die antioxidative Aktivität der Proben wird schließlich durch die erfolgte Extinktionsabnahme fotometrisch gemessen und in Trolox-Äquivalent ausgedrückt (Anonymus 2007b).

##### Erstellung der Kalibrierungs-Kurve

Zur Erstellung der Kalibrierungskurve wurden 6,26 g Trolox in 10 ml EtOH gelöst. In der Folge wurden der Nullwert wie auch jede Trolox-Konzentrationsstufe jeweils viermal in Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert und gemessen. In einem ersten Schritt wurde hierfür folgende Reihe pipettiert:

	Trolox-Lösung in $\mu$ l	MeOH in $\mu$ l
Konzentrationsstufe 1	0	100
Konzentrationsstufe 2	1	99
Konzentrationsstufe 3	2	98
Konzentrationsstufe 4	4	96
Konzentrationsstufe 5	6	94
Konzentrationsstufe 6	8	92
Nullwert	50	50

In einem zweiten Schritt wurden jeweils 100  $\mu$ l einer DPPH-Lösung (3,75 mg DPPH in 25 ml MeOH gelöst) zupipettiert, wobei die Lösung mittels Aluminiumfolie vor Fotooxidation geschützt und vor dem Gebrauch jeweils aufgeschüttelt wurde. Anschließend wurde die Mikrotiterplatte mit Parafilm bedeckt und für 30 Minuten in Dunkelheit inkubiert.

Die Messung wurde mittels dem „Microplate reader BIO-RAD Model 450“ unter Verwendung des „Microplate Manager 4.0“ mit den Einstellungen „Measurement Filter 490 nm, Referenzfilter 0“ und „Initial Wait 10 Sekunden“ durchgeführt. Der Durchschnitt dieser vier Messwerte je

Konzentrationsstufe abzüglich des Nullwertes (50 µl Trolox) wurde zur Erstellung der Kalibrierungskurve verwendet. Die Kalibrierungskurve diente anschließend der Messung der antioxidativen Aktivität in Trolox-Äquivalenten.

### Fotometrische Messung der Probenextrakte

In einem ersten Schritt wurde in den Wells der Mikrotiterplatte jeweils 85 µl MeOH mit 15 µl methanolischem Pflanzenextrakt gut vermischt. Anschließend wurde 100 µl der 0,015%-igen DPPH-Lösung hinzu pipettiert, wobei die Lösung vor dem Gebrauch aufgeschüttelt wurde. In weiterer Folge wurde die Mikrotiterplatte mit Parafilm bedeckt und 30 Minuten in Dunkelheit inkubiert. Anschließend erfolgte die fotometrische Messung (gleiches Gerät und gleiche Einstellung wie bei der Erstellung der Kalibrierungskurve).

Je Messdurchgang wurden auf einer Mikrotiterplatte 12 Proben gemessen, wobei jede der Proben viermal pipettiert und gemessen wurde. Der Durchschnitt dieser vier Messungen abzüglich des Nullwertes (aus der Kalibrierungskurve) wurde zur Bestimmung der antioxidativen Aktivität der Probe verwendet und mittels der Kalibrierungskurve in Trolox-Äquivalent ausgedrückt.

### 2.4.5.6 Bestimmung der antioxidativen Aktivität mittels FRAP-Methode

#### Prinzip der Methode

Chemische Stoffe im Extrakt mit im Bezug auf  $\text{Fe}^{\text{III}}$  negativem Redoxpotenzial besitzen die Fähigkeit, zugeführte  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -Ionen zu  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Ionen zu reduzieren. TPTZ (2,4,6(2-Pyridyl)-3-Triazin) reagiert mit den reduzierten  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Ionen, wodurch sich der Extrakt blau verfärbt. Die Intensität der Färbung im Extrakt ist proportional zur Konzentration von Stoffen mit negativem Redoxpotenzial, wodurch diese mittels Photometer quantifiziert werden können (Anonymus 2004).

#### Erstellung der Kalibrierungskurve

Zur Erstellung der Kalibrierungskurve wurden 6,26 mg Trolox in 10 ml MeOH gelöst. In der Folge wurden der Nullwert wie auch jede Trolox-Konzentrationsstufe jeweils viermal in Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert und gemessen. In einem ersten Schritt wurde hierfür folgende Reihe in Eprouvetten pipettiert:

	Trolox-Lösung in µl	MeOH in µl
Nullwert	0	1000
Konzentrationsstufe 1	10	990
Konzentrationsstufe 2	20	980
Konzentrationsstufe 3	40	960
Konzentrationsstufe 4	80	920
Konzentrationsstufe 5	160	840
Konzentrationsstufe 6	320	680
Konzentrationsstufe 7	640	460

In einem zweiten Schritt wurden aus den Epruvetten jeweils 6 µl entnommen und je Konzentrationsstufe in vier Wells der Mikrotiterplatte pipettiert. Anschließend wurden 18 µl dest. Wasser und 180 µl des Arbeits-Reagenz bestehend aus: 25 ml Essigsäurepuffer (1,55 g Na-CH<sub>3</sub>COOH x 3H<sub>2</sub>O in 8 ml CH<sub>3</sub>COOH gelöst und mit dest. Wasser auf 500 ml aufgefüllt), 2,5 ml einer TPTZ-Lösung (0,0312 g TPTZ in 10 ml HCl gelöst) sowie aus 2,5 ml einer FeCl<sub>3</sub>-Lösung (0,032 g FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O in 10 ml dest. Wasser gelöst) hinzugegeben. Nach 5 Minuten Inkubation in Dunkelheit erfolgte die fotometrische Messung.

Die Messung wurde mittels dem „Microplate reader BIO-RAD Model 450“ durchgeführt. Verwendet wurde dabei das Programm „Microplate Manager 4.0“ mit den Einstellungen „Measurement Filter 595 nm, Referenzfilter 0“ und „Initial Wait 10 Sekunden“. Der Durchschnitt dieser vier Messungen abzüglich des Nullwertes wurde zur Erstellung der Kalibrierungskurve verwendet. Die Kalibrierungskurve diente anschließend der Messung der antioxidativen Aktivität in Trolox-Äquivalenten.

#### **Fotometrische Messung der Probenextrakte**

In einem ersten Schritt wurde in die Wells der Mikrotiterplatte 9 µl methanolischer Pflanzenextrakt, 15 µl dest. Wasser sowie 180 µl des Arbeits-Reagenz pipettiert. Nach fünf Minuten Inkubation in Dunkelheit erfolgte die fotometrische Messung (gleiches Gerät und gleiche Einstellung wie bei der Erstellung der Kalibrierungskurve).

Je Messdurchgang wurden auf einer Mikrotiterplatte 12 Proben gemessen, wobei jede der Proben viermal pipettiert und gemessen wurde. Der Durchschnitt dieser vier Messungen abzüglich des Nullwertes (aus der Kalibrierungskurve) wurde zur Bestimmung der antioxidativen Aktivität der Probe verwendet und mittels der Kalibrierungskurve in Trolox-Äquivalent ausgedrückt.

Da das Arbeits-Reagenz im Verlaufe der Zeit seine Reaktivität verliert, wurden die Proben in insgesamt zwei Durchgängen analysiert, wobei für die beiden Analysedurchgänge eine separate Kalibrierungskurve erstellt wurde.

## 2.4.6 Messung und Identifizierung spezifischer Blattinhaltsstoffe

### 2.4.6.1 Aufbereitung des Trockenmaterials

Aus dem getrockneten Pflanzenmaterial der Proben wurde eine repräsentative Blattmenge (sowohl jüngere und ältere als auch vergilbte und grüne Blätter wurden verwendet) im Umfang von 50 mg in Eprouvetten eingewogen.

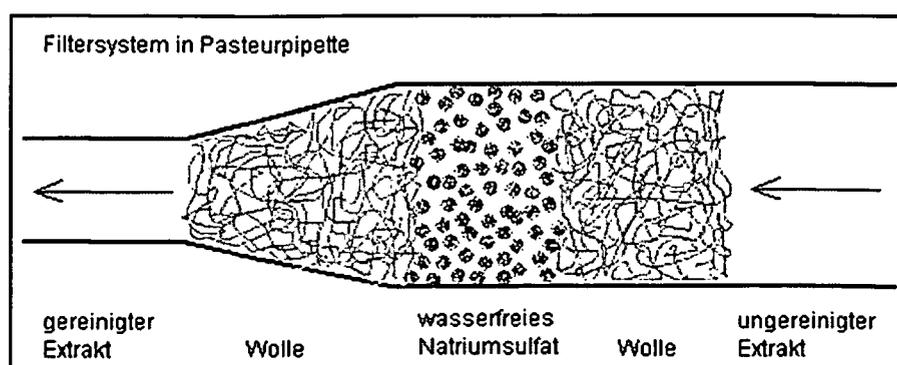
### 2.4.6.2 Herstellung des Extraktes

Zur Herstellung des Lösungsmittels wurden 0,0217 mg Biphenyl in 100 ml Dichlormethan gelöst. Anschließend wurde diese Lösung 1:100 mit Dichlormethan verdünnt.

Die Gehalte der Tomatenblätter an extrahierbaren Substanzen sind sehr gering. Um die Konzentration dieser Stoffe im Extrakt so hoch wie möglich halten zu können, wurde so wenig Lösungsmittel wie möglich verwendet. Damit diese geringe Menge an Lösungsmittel nicht sofort vom getrockneten Pflanzenmaterial aufgesogen wird, wurde das in die Eprouvetten eingewogene getrocknete Probenmaterial vor der Extraktion mit 2 ml destilliertem Wasser versetzt und über Nacht zum Quellen stehen gelassen.

Am nächsten Morgen wurde 0,6 ml des Lösungsmittels hinzugegeben und die Eprouvette während ca. 30 Sekunden geschüttelt. Gleich anschließend wurde der Extrakt (untere flüssige Phase in der Eprouvette) mittels Pipette aufgezogen.

Um den gewonnenen Extrakt zu reinigen, wurde in Pasteurpipetten ein Filtersystem bestehend aus ca. 4 mm synthetischer Wolle, 4 mm wasserfreiem Natrium und 4 mm synthetischer Wolle angefertigt. Die synthetische Wolle diente einerseits zur Filtration von Pflanzenpartikeln und andererseits zur Fixierung des pulverförmigen wasserfreien Natriumsulfats. Das wasserfreie Natrium diente der Bindung von allfällig vorkommendem Wasser im Extrakt (siehe Abbildung 3).



**Abbildung 3:** Filtersystem in Pasteurpipette bestehend aus 3 Schichten: ca. 4 mm Wolle, ca. 4 mm wasserfreies Natriumsulfat, ca. 4 mm synthetische Wolle.

Der ungereinigte Extrakt wurde mittels Pipette von oben in eine Pasteurpipette mit vorbereitetem Filtersystem gefüllt. Mittels der „Saughilfe“ der Pasteurpipette und der Schwerkraft

wurde der Extrakt vorsichtig durch das Filtersystem gedrückt und für die anschließende Gaschromatografie in „Autosampler-Vials“ eingefüllt. Um das Verdampfen des leicht flüchtigen Dichlormethans zu verhindern, wurden im Anschluss an die Filtration die Extrakte in „Autosampler-Vials“ bei - 4 °C gelagert.

#### **2.4.6.3 Messung der Mengenanteile spezifischer Blattinhaltsstoffe im Extrakt**

Zur Auftrennung der Blattinhaltsstoffe in den Extrakten sowie zur Messung ihrer Mengenanteile diente ein Gaschromatograph mit Flammenionisationsdetektor (GC-FID). Das Integral des Peaks einer Substanz, ermöglicht die Berechnung dessen Mengenanteils im Extrakt. In der gegenständlichen Analyse wurde nicht die absolute Menge der Stoffe, sondern deren prozentualer Mengenanteil an der Gesamtmenge der detektierten Stoffe im Extrakt ermittelt. Mittels Kovac-Index wurde durch Vergleich der Retentionszeiten eine grobe Charakterisierung der aufgefundenen Substanzen vorgenommen.

#### **Messgerät und Einstellungen**

Für die Analyse wurde das Gerät Agilent 6890 GC-FID verwendet. Folgende Bedingungen bzw. Einstellungen galten bei der Durchführung der Analyse:

Oven	- Initial temp: 120 °C - Ramps: Rate 20,00 °C/min, Final temp 320 °C
Front Inlet	- Mode: Split - Initial temp: 250 °C - Split ratio: 20:1 - Gas type: Helium
Column 1	- Capillary Column, Model Number: DB DB-5 - Length: 10 m, Diameter: 100 µm, Film thickness: 0,17 µm - Mode: Constant pressure
Front Detector (FID)	- Temperature: 280 °C
Front Injector	- Injection Volume: 0,2 µl

Auf Grund der relativ starken Verschmutzung des Gerätes wurde nach fünf Analysen jeweils ein Reinigungslauf durchgeführt.

#### **2.4.6.4 Identifizierung spezifischer Blattinhaltsstoffe im Extrakt**

Zur Auftrennung und Identifizierung spezifischer Blattinhaltsstoffe in den Extrakten diente ein Gaschromatograph mit Massenspektrometer (GC-MS). Die Identifikation erfolgte sowohl durch Vergleich der Retentionszeiten der einzelnen Substanzen mit denen eines internen Standards (Kovats index) als auch durch Vergleich der Massenspektren mit Datenbanken.

## Messgerät und Einstellungen

Für die Analyse wurde das Gerät HP 6890 gekoppelt mit HP 5972 MSD (Hewlett-Packard, Palo Alto, Ca, USA) verwendet. Folgende Bedingungen galten bei der Durchführung der Analyse:

Oven	- Initial temp: 120°C - Ramps: Rate 5,00°C/min, Final temp 320°C
Front Inlet	- Mode: Split - Initial Temp: 280°C - Split ratio: 100:1 - Gas type: Helium
Column 1	- Capillary Column HP-5MS - Length: 30,0 m, Diameter: 250 µm, Film thickness: 0,25 µm - Mode: constant flow
Front Injector	- Injection Volume: 1,0 µl

## 2.5 Statistische Auswertungen

Das Datenmaterial wurde mit Hilfe des Computerprogrammes „SPSS 15.00 für Windows“ ausgewertet.

Die statistische Auswertung der Bonitur der Befallssymptome erfolgte mittels „Mann-Whitney-Test“ bei einem  $\alpha$ -Fehler von 0,05. Die Mittelwerte wurden graphisch mittels Säulendiagramm dargestellt.

Das Sprossgewicht in g TS der Versuchsvarianten und Tomatensorten wurden mittels Varianzanalyse und Tukey-Test auf signifikante Unterschiede untersucht ( $\alpha$ -Fehler von 0,05). Die Mittelwerte wurden graphisch mittels Säulendiagramm und dem Konfidenzintervall (95%) dargestellt.

Der Kolmogorov-Smirnov-Test ( $\alpha$ -Fehler von 0,05) wurde zum Vergleich der beiden Tomatensorten „Kremser Perle“ und „Moneymaker“ bezüglich der Rückisolierungsrate der in den verschiedenen Varianten inokulierten Pilze verwendet.

Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt und antioxidative Aktivität (DPPH-Reduktion und FRAP-Methode) wurden mittels mehrfaktorieller Varianzanalyse und Tukey-Test ( $\alpha$ -Fehler von 0,05) auf Unterschiede zwischen den Tomatensorten, den Beprobungsterminen und den verschiedenen Varianten untersucht. Zudem wurde der Korrelationskoeffizient zwischen den genannten Parametern nach Pearson berechnet.

Die 16 Substanzen aus den Dichlormethan-Extrakten wurden mittels multivariater mehrfaktorieller Varianzanalyse und Tukey-Test ( $\alpha$ -Fehler von 0,05) auf Unterschiede zwischen den Tomatensorten, den Beprobungsterminen und den verschiedenen Varianten untersucht.

Unter Anwendung der Diskriminanzanalyse wurde mittels 16 spezifischer Blatinhaltsstoffe der Anteil an korrekten Zuordnungen der Proben zu den Varianten ihrer Herkunft berechnet. Zudem wurde der Anteil an korrekten Zuordnungen zu den Beprobungsterminen, zu den Sorten sowie zu den Kontrollpflanzen berechnet. Die Berechnungen wurden jeweils sowohl mit als auch ohne Kreuzvalidierung durchgeführt.

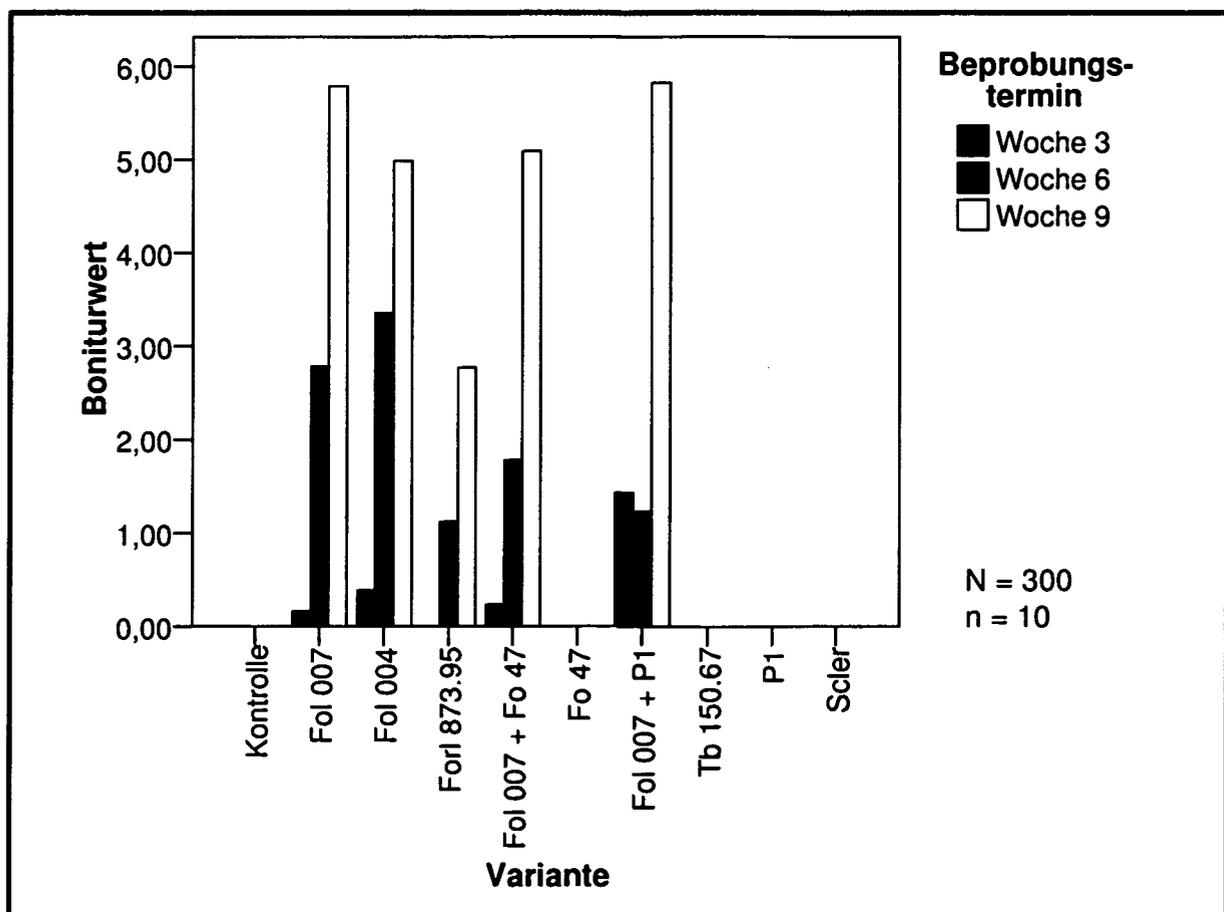
## 3 Ergebnisse

### 3.1 Feststellung des Befalles

Zur Feststellung des Befalles wurden die Befallssymptome visuell bonitiert, das Trockensubstanzgewicht erhoben und die Rate erfolgreicher Rückisolierungen der inokulierten Pilze aus dem Probematerial festgehalten. Die genannten Untersuchungen wurden zu den Beprobungsterminen in Woche 3, Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation durchgeführt.

#### 3.1.1 Bonitierung der Befallssymptome

Die Pflanzen der beiden Tomatensorten „Kremser Perle“ und „Moneymaker“ zeigten bezüglich der Symptomausprägung keine signifikanten Unterschiede (Mann-Whitney-Test,  $p > 0,05$ ).



**Abbildung 4:** Bonitur der Befallssymptome von Tomatenpflanzen aus den verschiedenen Varianten (0 = kein Befall; 15 = abgestorbene Pflanze) zu den Beprobungsterminen in Woche 3, Woche 6 und Woche 9 nach der Inokulation (Mittelwerte aus N = 300, n = 10).

Zwischen den Varianten konnten bezüglich der Befallssymptome deutliche Unterschiede festgestellt werden. Während in den Varianten „Kontrolle“, „Fo 47“, „Tb 150.67“, „P1“ und „Scler“ zu allen drei Beprobungsterminen keine Befallssymptome festgestellt werden konnten, nahmen die Symptome in den übrigen Varianten mit fortschreitender Versuchsdauer tendenziell zu (Abbildung 4).

Die beiden Varianten mit den Mischinokulationen bestehend aus dem Pathogen Fol 007 und den biologischen Gegenspielern Fo 47 resp. P1 („Fol 007 + Fo 47“ und „Fol 007 + P1“) zeigten gegenüber der Variante „Fol 007“ tendenziell keine Reduktion der Befallssymptome. Generell wurde festgestellt, dass innerhalb der Varianten die Symptomausbildung zwischen den einzelnen Pflanzen sehr unterschiedlich stark ausgeprägt war.

### 3.1.2 Sprossgewicht

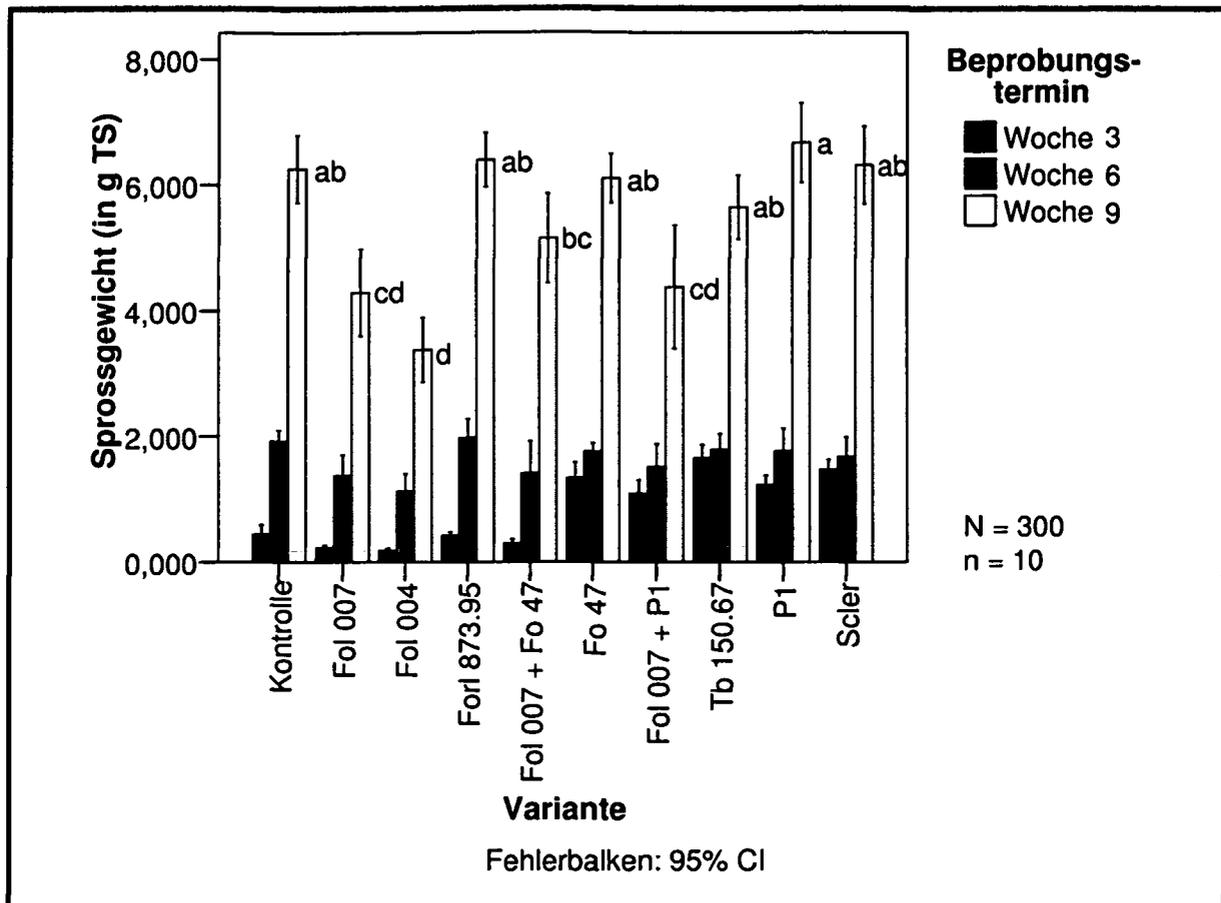
Ein Vergleich des Trockensubstanzgewichts zwischen den beiden Tomatensorten „Kremser Perle“ und „Moneymaker“ ergab keinen signifikanten Unterschied (t-Test;  $p > 0,05$ ). Innerhalb der Varianten waren zum Teil recht grosse Unterschiede in der Entwicklung der einzelnen Pflanzen zu verzeichnen (Abbildung 5).



**Abbildung 5:** Uneinheitliche Entwicklung der mit Forl 873.95 inokulierten Pflanzen (links) im Vergleich zur einheitlichen Entwicklung der Kontrollpflanzen (rechts) (Sorte: Moneymaker, Woche 6 nach Inokulation).



**Abbildung 6:** Die Kontrollpflanzen (rechts) zeigen eine wesentlich bessere Entwicklung als die mit Fol 004 inokulierten Pflanzen (links) (Sorte: Moneymaker, Woche 9 nach Inokulation).

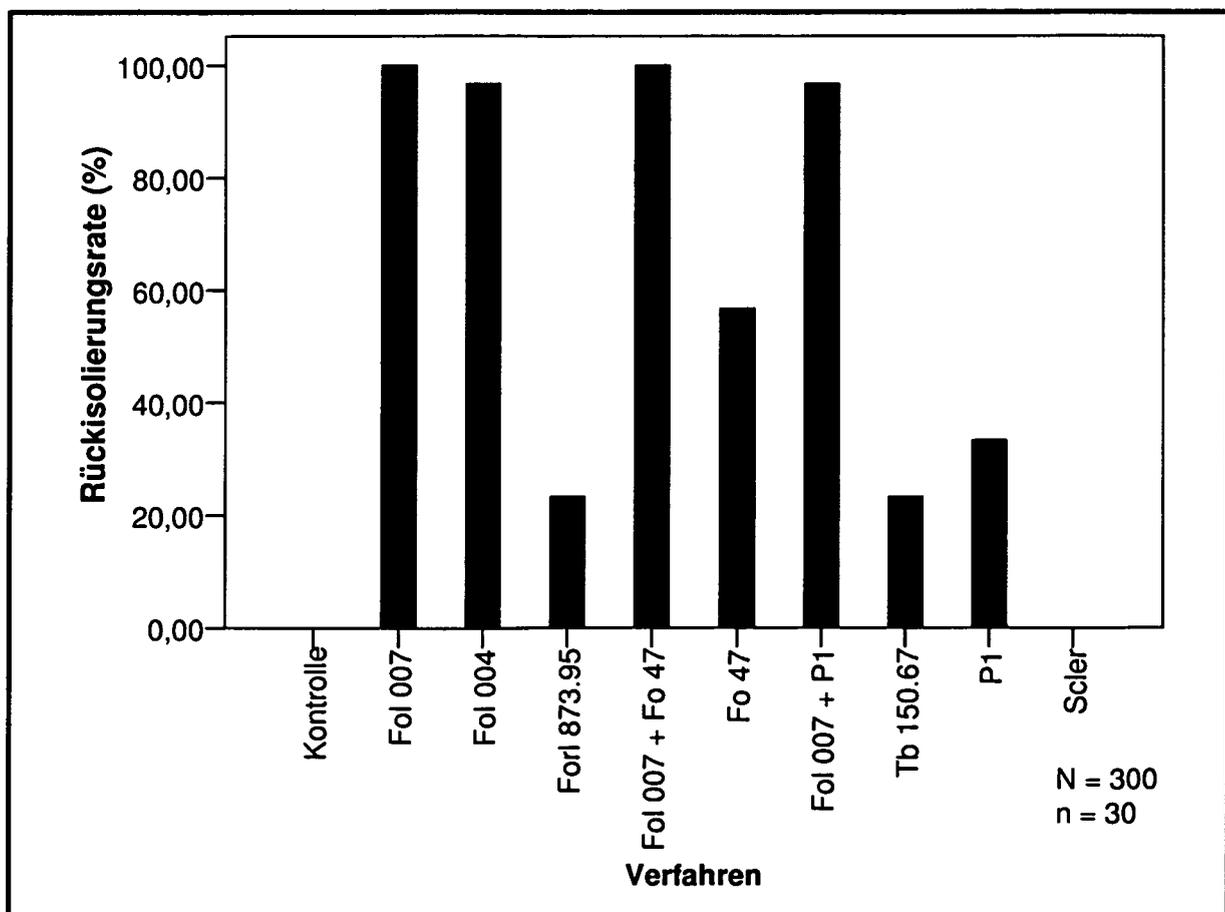


**Abbildung 7:** Mittelwerte des Sprossgewichtes (in g TS) der Tomatenpflanzen aus den verschiedenen Varianten zu den Beprobungsterminen in Woche 3, Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation. Die Gruppierung der Mittelwerte (aus N = 300, n = 10) mittels Tukey-Test ( $p < 0,05$ ) erfolgte zum Kontrolltermin in Woche 9 (Fehlerbalken: 95% CI = Konfidenzintervall).

Abbildung 7 zeigt das Sprossgewicht der Pflanzen der verschiedenen Varianten zu den drei Beprobungsterminen in Woche 3, Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation. Am Ende des Versuches in Woche 9 wiesen diejenigen Pflanzen das deutlich geringste Sprossgewicht auf, welche mit den beiden Fusarienstämmen Fol 004 und Fol 007 inokuliert worden waren (siehe auch Abbildung 6). Die beiden biologischen Gegenspieler P1 und Fo 47 beeinflussten das Sprossgewicht bei Mischinokulation mit dem Pathogen Fol 007 unterschiedlich. Während bei der Variante „Fol 007 + P1“ gegenüber der Variante „Fol 007“ kein wesentlich höheres Sprossgewicht festgestellt werden konnte, wies die Variante „Fol 007 + Fo 47“ im Vergleich zur Variante „Fol 007“ ein tendenziell höheres Sprossgewicht auf. Alle übrigen Varianten wiesen ein mit der „Kontrolle“ vergleichbares Sprossgewicht auf.

### 3.1.3 Rückisolierungsrate der inokulierten Pilze

Die beiden Tomatensorten „Kremser Perle“ und „Moneymaker“ wiesen hinsichtlich der Rückisolierungsrate der inokulierten Pilze keine signifikanten Unterschiede auf (Kolmogorov-Smirnov-Test,  $p > 0,05$ ). Unterschiede konnten jedoch zwischen den Varianten festgestellt werden. Während bei Pflanzen aus den Varianten „Fol 004“ und „Fol 007“ mit 100% resp. 96,7% sehr hohe Rückisolierungsraten erreicht wurden, konnte bei der Variante „Scler“ aus keiner Probe der inokulierte Pilz rückisoliert werden. Bei den beiden Varianten mit Mischinokulationen „Fol 007 + P1“ und „Fol 007 + Fo 47“ wurden die beiden Pilze bei der Rückisolierung nicht unterschieden. Teilweise konnten aus dem Probenmaterial beide Pilze gleichzeitig rückisoliert werden. Auch hier wurden jeweils Rückisolierungsraten von 100% resp. 96,7% erzielt werden. Die übrigen Varianten wiesen deutlich niedrigere Rückisolierungsraten auf (Abbildung 8).



**Abbildung 8:** Vergleich der Rückisolierungsrate der Varianten. Bei Mischinokulationen mit zwei unterschiedlichen Pilzen wurde bei der Rückisolierung nicht zwischen den beiden Pilzen unterschieden.

## 3.2 Veränderungen von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität

Die Messungen von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität wurden zu den beiden Beprobungsterminen in Woche 6 und Woche 9 durch Analyse der methanolischen Pflanzenextrakte durchgeführt. Auf Grund der zu geringen Menge an getrocknetem Pflanzenmaterial je Probe konnten für den Beprobungstermin in Woche 3 keine Daten generiert werden.

### 3.2.1 Gesamtphenolgehalt

Weder zwischen den beiden Beprobungsterminen in Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation noch zwischen den beiden Tomatensorten „Kremser Perle“ und „Moneymaker“ konnten hinsichtlich des Gesamtphenolgehaltes signifikante Unterschiede festgestellt werden (ANOVA;  $p > 0,05$ ). Tendenziell konnten aber beim Beprobungstermin in Woche 9 resp. bei der Tomatensorte „Moneymaker“ höhere Gehalte festgestellt werden. Teilweise signifikante Unterschiede (Tukey-Test;  $p < 0,05$ ) zeigten sich zwischen den Varianten (Tabelle 2). Insgesamt wiesen die Blattproben von mit bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen tendenziell niedrigere Gesamtphenolgehalte auf als diejenigen von Kontrollpflanzen.

**Tabelle 2:** Gesamtphenolgehalt der Blattproben von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen.

Variante	Gesamtphenole <sup>a</sup>		
	Sorte 1 (Kremser Perle) (mg KS / g TS) <sup>bc</sup>	Sorte 2 (Moneymaker) (mg KS / g TS) <sup>bc</sup>	Sorten 1+2 (mg KS / g TS) <sup>dc</sup>
Kontrolle	13,50 b	14,26 b	13,88 b
Fol 007	11,02 a	12,57 ab	11,80 a
Fol 004	11,97 ab	11,38 a	11,68 a
Forl 873.95	12,66 ab	12,76 ab	12,71 ab
Fol 007 + Fo 47	12,35 ab	10,96 ab	11,65 a
Fo 47	11,21 a	12,59 ab	11,90 a
Fol 007 + P1	12,31 ab	11,49 a	11,90 a
Tb 150.67	12,10 ab	12,20 ab	12,15 ab
P1	12,18 ab	12,18 ab	12,18 ab
Scler	11,48 ab	12,68 ab	12,08 a

<sup>a</sup> Die Messwerte der beiden Beprobungstermine in Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation wurden in der Tabelle zusammengefasst. Mehrfaktorielle Varianzanalyse mit den Faktoren Variante ( $p = 0,003$ ), Beprobungstermin ( $p = 0,114$ ) und Sorte ( $p = 0,349$ ).

<sup>b</sup> Werte in Milligramm Kaffeesäure-Äquivalenten je Gramm Trockensubstanz (mg KS / g TS)

<sup>c</sup> Die Werte entsprechen Mittelwerten ( $n = 8$ ). Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede nach Tukey-Test ( $p < 0,05$ )

<sup>d</sup> Die Werte entsprechen den Mittelwerten aus beiden Sorten ( $n = 16$ ). Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede nach Tukey-Test ( $p < 0,05$ )

Pathogene Pilze unterschieden sich in ihrem Einfluss auf den Gesamtphenolgehalt der Tomatenblätter nicht von ihren biologischen Gegenspielern. Beide wirkten sich auf den Gesamtphenolgehalt im Versuch tendenziell (teilweise signifikant) reduzierend aus.

### 3.2.2 Gesamtflavonoidgehalt

Signifikante Unterschiede bezüglich des Gesamtflavonoidgehaltes der Tomatenblätter konnten weder zwischen den beiden Beprobungsterminen in Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation, noch zwischen den beiden Tomatensorten „Kremser Perle“ und „Moneymaker“ festgestellt werden (ANOVA;  $p > 0,05$ ). Tendenzuell wurden jedoch höhere Gehalte beim Beprobungstermin in Woche 9 resp. bei der Sorte „Moneymaker“ gemessen. Zwischen den Varianten zeigten sich teilweise signifikante Unterschiede (Tukey-Test;  $p < 0,05$ ). Insgesamt wiesen die Blattproben von mit bodenbürtigen Pilzen inokulierten Pflanzen tendenziell niedrigere Gehalte auf als die Kontrollpflanzen (Tabelle 3).

**Tabelle 3:** Gesamtflavonoidgehalt der Blattproben von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen.

Variante	Gesamtflavonoide <sup>a</sup>		
	Sorte 1 (Kremser Perle) (mg CA / g TS) <sup>bc</sup>	Sorte 2 (Moneymaker) (mg CA / g TS) <sup>bc</sup>	Sorten 1+2 (mg CA / g TS) <sup>dc</sup>
Kontrolle	1,15 ab	1,40 c	1,27 c
Fol 007	1,06 ab	1,11 abc	1,08 abc
Fol 004	0,95 a	0,88 a	0,92 a
Forl 873.95	0,95 a	1,14 abc	1,04 ab
Fol 007 + Fo 47	1,03 ab	0,93 ab	0,98 ab
Fo 47	1,03 ab	1,16 abc	1,10 abc
Fol 007 + P1	1,06 ab	1,02 ab	1,04 ab
Tb 150.67	1,23 b	1,09 abc	1,16 bc
P1	1,20 ab	1,07 ab	1,14 bc
Scler	1,12 ab	1,22 bc	1,17 bc

<sup>a</sup> Die Messwerte der beiden Beprobungstermine in Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation wurden in der Tabelle zusammengefasst. Mehrfaktorielle Varianzanalyse mit den Faktoren Variante ( $p = 0,000$ ), Beprobungstermin ( $p = 0,064$ ) und Sorte ( $p = 0,430$ ).

<sup>b</sup> Werte in Milligramm Catechin-Äquivalenten je Gramm Trockensubstanz (mg CA / g TS)

<sup>c</sup> Die Werte entsprechen Mittelwerten ( $n = 8$ ). Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede nach Tukey-Test ( $p < 0,05$ )

<sup>d</sup> Die Werte entsprechen den Mittelwerten aus beiden Sorten ( $n = 16$ ). Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede nach Tukey-Test ( $p < 0,05$ )

Bezüglich ihres Einflusses auf den Gesamtflavonoidgehalt von Tomatenblättern konnte zwischen den pathogenen Pilzen und ihren biologischen Gegenspielern (Fo 47 und P1) kein Unterschied festgestellt werden. Beide wirkten sich auf den Gesamtflavonoidgehalt tendenziell (teils signifikant) reduzierend aus.

### 3.2.3 Antioxidative Aktivität: Gehalt an DPPH-reduzierenden Inhaltsstoffen

Eine erste Möglichkeit zur Einschätzung der antioxidativen Aktivität eröffnet das stabile freie Radikal Diphenyldipycrylhydrazyl (DPPH). Mit Hilfe dieses Radikals können Substanzen mit antiradikalen Eigenschaften (Radikalfänger) im Extrakt des jeweiligen Probenmaterials quantifiziert und in Trolox-Äquivalenten (mg Trolox / g TS) ausgedrückt werden.

Zwischen den beiden Beprobungsterminen in Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation wie auch zwischen den beiden Tomatensorten „Kremser Perle“ und „Moneymaker“ konnten hinsichtlich des Gehaltes an DPPH-reduzierenden Inhaltsstoffen der Blattproben keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (ANOVA;  $p > 0,05$ ). Tendenziell höhere Gehalte konnten allerdings beim Beprobungstermin in Woche 9 resp. bei der Tomatensorte „Moneymaker“ beobachtet werden. Teilweise signifikante Unterschiede zeigten sich zwischen den Varianten (Tukey-Test;  $p < 0,05$ ). So wiesen die Blattproben von mit bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen tendenziell niedrigere Gehalte auf als die Kontrollpflanzen (Tabelle 4).

**Tabelle 4:** Antioxidative Aktivität (DPPH-Reduktion) der Blattinhaltsstoffe von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen (inokulierten Tomatenpflanzen).

Variante	Antioxidative Aktivität (DPPH-Reduktion) <sup>a</sup>		
	Sorte 1 (Kremser Perle) (mg Trolox / g TS) <sup>bc</sup>	Sorte 2 (Moneymaker) (mg Trolox / g TS) <sup>bc</sup>	Sorten 1+2 (mg Trolox / g TS) <sup>dc</sup>
Kontrolle	20,75 b	20,19 b	20,47 b
Fol 007	13,89 a	15,48 ab	14,68 a
Fol 004	15,63 a	15,17 ab	15,40 a
Forl 873.95	17,86 ab	17,51 ab	17,68 ab
Fol 007 + Fo 47	16,23 a	14,83 a	15,53 a
Fo 47	14,82 a	17,55 ab	16,18 a
Fol 007 + P1	16,14 a	16,65 ab	16,39 a
Tb 150.67	16,80 ab	17,68 ab	17,24 a
P1	17,46 ab	17,61 ab	17,54 ab
Scler	16,45 a	18,52 ab	17,49 ab

<sup>a</sup> Die Messwerte der beiden Beprobungstermine in Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation wurden in der Tabelle zusammengefasst. Mehrfaktorielle Varianzanalyse mit den Faktoren Variante ( $p = 0,000$ ), Beprobungstermin ( $p = 0,877$ ) und Sorte ( $p = 0,248$ ).

<sup>b</sup> Werte in Milligramm Trolox-Äquivalenten je Gramm Trockensubstanz (mg Trolox / g TS)

<sup>c</sup> Die Werte entsprechen Mittelwerten ( $n = 8$ ). Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede nach Tukey-Test ( $p < 0,05$ )

<sup>d</sup> Die Werte entsprechen den Mittelwerten aus beiden Sorten ( $n = 16$ ). Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede nach Tukey-Test ( $p < 0,05$ )

Keine Unterschiede bezüglich ihres Einflusses auf den Gehalt an DPPH-reduzierenden Inhaltsstoffen zeigten sich zwischen den Varianten mit pathogenen Pilzen und denjenigen mit biologischen Gegenspielern (Fo 47 und P1). Beide wirkten sich auf die antioxidative Aktivität im Vergleich zur Kontrolle tendenziell (teils signifikant) reduzierend aus.

### 3.2.4 Antioxidative Aktivität: Redoxpotenzial (FRAP-Methode)

Eine zweite Möglichkeit zur Einschätzung der antioxidativen Aktivität bietet die FRAP-Methode (ferric reducing ability of plasma). Mit der FRAP-Methode wird das Redoxpotenzial der Extrakte bzw. deren Fähigkeit,  $Fe^{III}$  zu reduzieren, gemessen.

Das Ergebnis der Untersuchung gleicht demjenigen der Messungen mit dem stabilen Radikal DPPH. Zwischen den beiden Beprobungsterminen in Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (ANOVA;  $p > 0,5$ ). Tendenziell höhere Gehalte zeigten sich jedoch für den Beprobungstermin in Woche 9. Die Sorte „Moneymaker“ wies im Vergleich zur Sorte „Kremser Perle“ signifikant höhere Werte auf (ANOVA;  $p < 0,05$ ). Ebenfalls teilweise signifikante Unterschiede zeigten sich zwischen den geprüften Varianten (Tukey-Test;  $p < 0,05$ ). So wiesen die Blätter von mit bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen ein tendenziell niedrigeres Redoxpotenzial auf als die Kontrollpflanzen (Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Antioxidative Aktivität (FRAP-Methode) der Blatthaltsstoffe von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen.

Variante	Antioxidative Aktivität (FRAP-Methode) <sup>a</sup>		
	Sorte 1 (Kremser Perle) (mg Trolox / g TS) <sup>bc</sup>	Sorte 2 (Moneymaker) (mg Trolox / g TS) <sup>bc</sup>	Sorten 1+2 (mg Trolox / g TS) <sup>dc</sup>
Kontrolle	16,73 c	19,51 b	18,12 bc
Fol 007	12,71 a	16,73 ab	14,72 ab
Fol 004	13,13 ab	14,31 a	13,72 a
Forl 873.95	15,61 abc	17,40 ab	16,51 bc
Fol 007 + Fo 47	15,51 abc	13,91 a	14,71 ab
Fo 47	15,74 bc	17,58 ab	16,66 bc
Fol 007 + P1	14,47 abc	16,06 ab	15,26 ab
Tb 150.67	16,82 c	17,16 ab	16,99 bc
P1	15,18 abc	16,36 ab	15,77 abc
Scler	15,25 abc	17,08 ab	16,17 abc

<sup>a</sup> Die Messwerte der beiden Beprobungs-terminen in Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation wurden in der Tabelle zusammengefasst. Mehrfaktorielle Varianzanalyse mit den Faktoren Variante ( $p = 0,000$ ), Beprobungstermin ( $p = 0,471$ ) und Sorte ( $p = 0,000$ ).

<sup>b</sup> Werte in Milligramm Trolox-Äquivalenten je Gramm Trockensubstanz (mg Trolox / g TS)

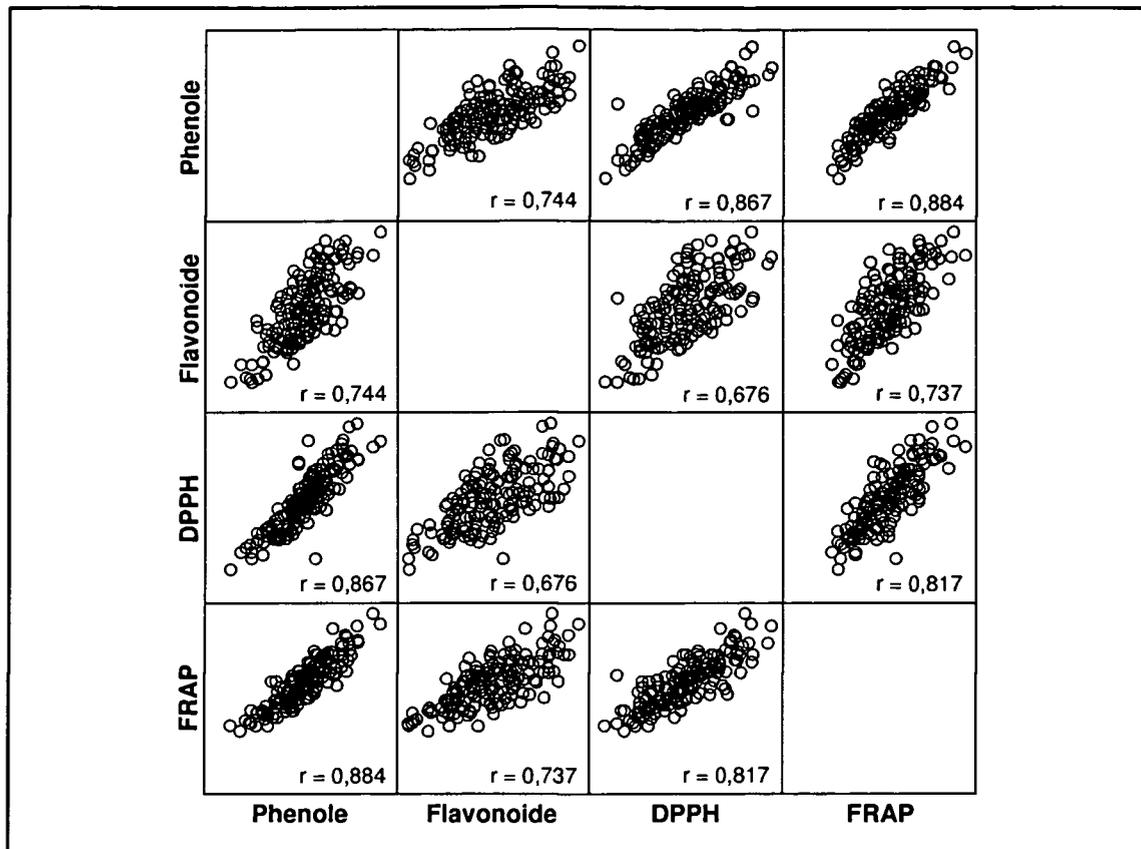
<sup>c</sup> Die Werte entsprechen Mittelwerten ( $n = 8$ ). Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede nach Tukey-Test ( $p < 0,05$ )

<sup>d</sup> Die Werte entsprechen den Mittelwerten aus beiden Sorten ( $n = 16$ ). Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede nach Tukey-Test ( $p < 0,05$ )

Pathogene Pilze unterschieden sich in ihrem Einfluss auf das Redoxpotenzial der Tomatenblätter nicht von ihren biologischen Gegenspielern. Beide wirkten sich auf das Redoxpotenzial im Versuch tendenziell (teilweise sogar signifikant) reduzierend aus.

### 3.2.5 Korrelation von Phenolgehalt, Flavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität

Ein Vergleich von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität (DPPH-Reduktion und FRAP-Methode) jeder Probe machte unterschiedlich stark ausgeprägte Abhängigkeiten zwischen den gemessenen Parametern deutlich (Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Korrelation von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt, Gehalt an Radikalfängern (DPPH) und Redoxstatus (FRAP) der Blattproben von mit unterschiedlichen bodenbürtigen Pilzen inokulierten Tomatenpflanzen (Korrelation nach Pearson,  $N = 160$ )

Es zeigte sich, dass die einzelnen Blattproben bezüglich ihres jeweiligen Gesamtphenolgehalts, Gesamtflavonoidgehalts, Gehalt an DPPH-reduzierenden Stoffen und des Redoxpotentials (FRAP-Methode) sehr stark korrelieren. Die stärkste Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,884$  findet sich zwischen dem Gesamtphenolgehalt und dem Redoxpotential (FRAP-Methode). Die schwächste Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,676$  zeigt sich zwischen dem Gesamtflavonoidgehalt und dem Gehalt an DPPH-reduzierenden Stoffen.

### 3.3 Identifizierung von bodenbürtigen Pilzen mittels spezifischer Blatinhaltsstoffe

#### 3.3.1 Mengenanteile und Identifikation spezifischer Blatinhaltsstoffe

Mittels Gaschromatographen und Flammenionisationsdetektor konnten in den Blattproben der zehn Varianten sechzehn Substanzen aufgefunden werden, die auf Grund ihrer Mengenanteile zur Untersuchung der Versuchsfrage geeignet erschienen. Mittels Gaschromatographen und Massenspektrometer sowie mittels Kovats-Index konnten die Substanzen S7, S9 und S12 als Nonacosan, Triacontan und Hentriacontan identifiziert werden (Tabelle 6). Die restlichen Substanzen konnten nicht einwandfrei identifiziert werden, jedoch dürfte es sich auf Grund der langen C-Ketten bei allen um Wachsbestandteile der Kutikula der Tomatenblätter handeln.

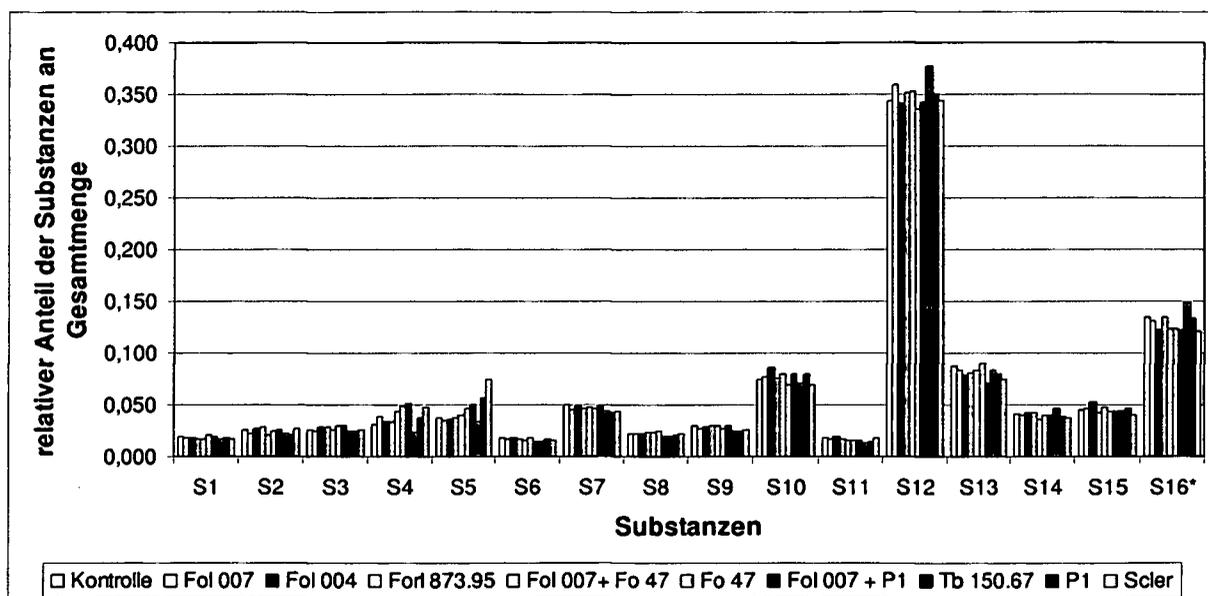
**Tabelle 6:** Sechzehn Substanzen (S1 – S 16) deren Mengenanteile im Versuch zur Zuordnung der einzelnen Proben zu den Varianten ihrer Herkunft verwendet wurden.

Substanz	Retentionszeit	Kovats-Index	Identifikationsmethode	Identifizierung der Substanzen
S1	8,501	2507		nicht identifiziert
S2	8,716	2560		nicht identifiziert
S3	9,310	2709		nicht identifiziert
S4	9,640	2795		nicht identifiziert
S5	9,821	2844		nicht identifiziert
S6	9,912	2869		nicht identifiziert
S7	10,040	2903	- Kovats-Index - Massenspektroskopie	Nonacosan
S8	10,335	2978		nicht identifiziert
S9	10,420	2999	- Kovats-Index	Triacontan*
S10	10,690	3062		nicht identifiziert
S11	10,753	3076		nicht identifiziert
S12	10,840	3096	- Kovats-Index - Massenspektroskopie	Hentriacontan
S13	11,220	3180		nicht identifiziert
S14	11,229	3206		nicht identifiziert
S15	11,644	3270		nicht identifiziert
S16	11,886	3321		nicht identifiziert

### 3.3.2 Überprüfung der Eignung spezifischer Blattinhaltsstoffe zur Identifikation bodenbürtiger Pilze

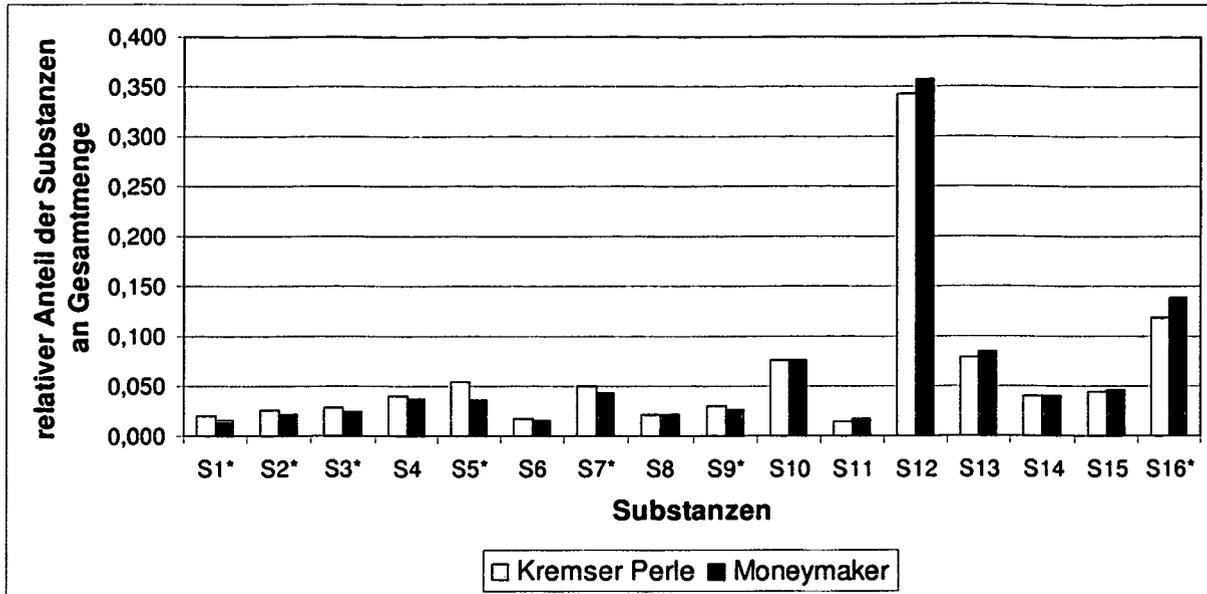
#### 3.3.2.1 Auswertungen mittels Varianzanalyse

Ein Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten (unter Zusammenfassung der Faktoren Tomatensorte und Beprobungstermin) mittels Varianzanalyse zeigte, dass zwischen den Varianten nur relativ geringe Unterschiede bestehen (Abbildung 10). Nur bei der Substanz S16 konnte ein signifikanter Unterschied festgestellt werden (ANOVA;  $p < 0,05$ ). Diese Substanz erlaubte im Versuch jedoch keine eindeutige Identifizierung der einzelnen Varianten (Tukey-Test;  $p > 0,05$ ). Die detaillierten Versuchsergebnisse hierzu können im Anhang (Tabelle 1) eingesehen werden.



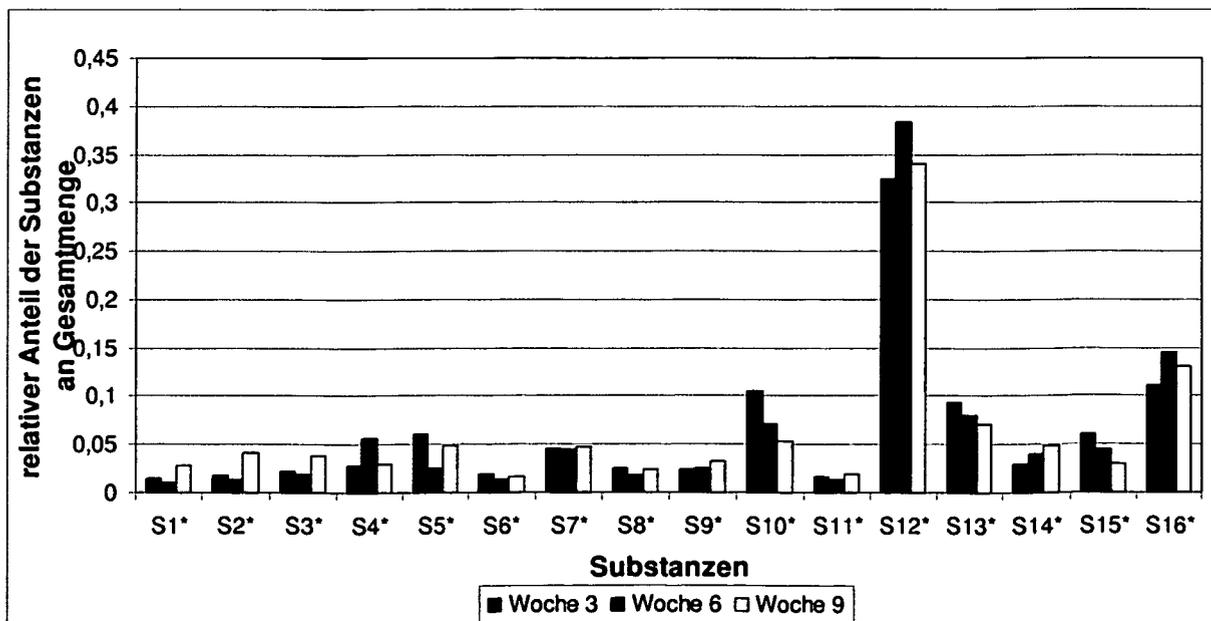
**Abbildung 10:** Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten. Die Werte der Faktoren Tomatensorte und Beprobungstermin wurden zusammengefasst (je Substanz:  $N = 223$ ,  $n = 20-24$ ). Substanzen mit signifikanten Unterschieden zwischen den Varianten (ANOVA;  $p < 0,05$ ) sind mit (\*) markiert.

Ein Vergleich der Tomatensorten „Kremser Perle“ und Moneymaker“ bezüglich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen (unter Zusammenfassung der Faktoren Variante und Beprobungstermin) zeigte deutliche Unterschiede (Abbildung 11). Signifikant unterschieden sich die beiden Tomatensorten bei den Substanzen S1, S2, S3, S5, S7, S9 und S16 signifikant (ANOVA;  $p < 0,05$ ). Die detaillierten Ergebnisse hierzu können im Anhang (Tabelle 2) eingesehen werden.



**Abbildung 11:** Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den beiden Tomatensorten. Die Werte der Faktoren Variante und Beprobungstermin wurden zusammengefasst (je Substanz: N = 223, n = 113 bzw. 110). Substanzen mit signifikanten Unterschieden zwischen den Tomatensorten (ANOVA;  $p < 0,05$ ) sind mit (\*) markiert.

Eine Gegenüberstellung der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen an den drei Beprobungsterminen in Woche 3, Woche 6 und Woche 9 nach Inokulation (unter Zusammenfassung Faktoren Variante und Tomatensorte) ergab deutliche Unterschiede. So konnten bei allen sechzehn Substanzen signifikante Unterschiede zwischen den Beprobungsterminen festgestellt werden (ANOVA;  $p < 0,05$ ). Abbildung 12 zeigt, dass diese Veränderungen oft nicht linear verliefen. Detaillierte Ergebnisse hierzu können im Anhang (Tabelle 3) eingesehen werden.



**Abbildung 12:** Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den drei Beprobungsterminen. Die Werte der Faktoren Variante und Tomatensorte wurden zusammengefasst (je Substanz: N = 223, n = 72, 73 bzw. 78). Substanzen mit signifikanten Unterschieden zwischen den Beprobungsterminen (ANOVA;  $p < 0,05$ ) sind mit (\*) markiert.

Auf Grund des festgestellten starken Einflusses der Faktoren „Tomatensorte“ und „Beprobungs-termin“ auf die relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen wurden die zehn Varianten in weiterer Folge getrennt nach Sorten und Beprobungsterminen mittels Varianzanalyse auf Unterschiede untersucht. Durch die Berücksichtigung dieser Versuchsfaktoren konnten zwar stärkere Unterschiede zwischen den Varianten festgestellt werden, allerdings ermöglichte auch diese Auftrennung kaum eine eindeutige Unterscheidung der einzelnen Varianten an Hand der Blattinhaltsstoffe. Detaillierte Ergebnisse hierzu können im Anhang (Tabellen 4 bis 9) eingesehen werden.

### **3.3.2.2 Auswertungen mittels Diskriminanzanalyse**

Im Gegensatz zur Varianzanalyse, welche nur eine getrennte Betrachtung der einzelnen Substanzen erlaubt, gestattet die Diskriminanzanalyse unter gleichzeitiger Einbindung aller 16 berücksichtigten Substanzen die Prüfung der Möglichkeit einer Zuordnung der untersuchten Blattproben zu den Varianten ihrer Herkunft.

Die Durchführung der Diskriminanzanalysen erfolgte jeweils in folgenden Versionen:

- a) mit und ohne Kreuzvalidierung
- b) mit allen Proben und mit nur denjenigen Proben, bei welchen der jeweils inokulierte Pilz rückisoliert werden konnte.

Die Diskriminanzanalyse wurde in einem ersten Schritt mit unterschiedlicher Berücksichtigung der Versuchsfaktoren „Tomatensorte“ und „Beprobungstermin“ durchgeführt (Tabelle 7). Die Berücksichtigung dieser Faktoren führte zu einer wesentlichen Verbesserung der Resultate bezüglich der korrekten Zuordnung der Proben zu den Varianten ihrer Herkunft, wobei der Faktor „Beprobungstermin“ stärker zur Verbesserung beitrug als der Faktor „Tomatensorte“. Ein Vergleich der Resultate zwischen den drei Beprobungsterminen und zwischen den beiden Tomatensorten zeigte keine wesentlichen Unterschiede.

**Tabelle 7:** Anteil positiver Zuordnungen der Proben zu den Varianten ihrer Herkunft anhand 16 spezifischer Blattinhaltsstoffe unter Anwendung der Diskriminanzanalyse.

Berücksichtigte Faktoren und Faktorstufen	Versuchsumfang N		Korrekte Zuordnung (ohne Kreuzvalidierung <sup>c</sup> )		Korrekte Zuordnung (mit Kreuzvalidierung <sup>c</sup> )	
	alle Proben <sup>a</sup>	Proben mit RI <sup>b</sup>	alle Proben <sup>a</sup>	Proben mit RI <sup>b</sup>	alle Proben <sup>a</sup>	Proben mit RI <sup>b</sup>
<b>ohne Berücksichtigung der Faktoren „Sorte“ und „Beprobungstermin“</b>						
---	223	138	33,2%	40,6%	15,7%	16,7%
<b>bei Berücksichtigung des Faktors „Sorte“</b>						
Kremser Perle (KP)	113	69	44,2%	60,9%	15,0%	23,2%
Moneymaker (MM)	110	69	50,0%	63,8%	20,0%	13,0%
<b>Total</b>	<b>223</b>	<b>138</b>	<b>47,1%</b>	<b>62,3%</b>	<b>17,5%</b>	<b>18,1%</b>
<b>bei Berücksichtigung des Faktors „Beprobungstermin“</b>						
Woche 3 (W3)	72	51	65,3%	80,4%	12,5%	19,6%
Woche 6 (W6)	73	45	57,5%	71,1%	12,3%	8,9%
Woche 9 (W9)	78	42	48,7%	73,8%	19,2%	9,5%
<b>Total</b>	<b>223</b>	<b>138</b>	<b>57,8%</b>	<b>75,4%</b>	<b>14,8%</b>	<b>13,0%</b>
<b>bei Berücksichtigung der Faktoren „Sorte“ und „Beprobungstermin“</b>						
KP / W3	39	28	92,3%	100%	20,5%	32,1%
KP / W6	35	19	100%	100%	22,9%	5,3%
KP / W9	39	22	79,5%	100%	7,7%	18,2%
MM / W3	33	23	100%	100%	15,2%	17,4%
MM / W6	38	26	89,5%	92,3%	26,3%	15,4%
MM / W9	39	20	87,2%	100%	20,5%	25,0%
<b>Total</b>	<b>223</b>	<b>138</b>	<b>91,0%</b>	<b>98,6%</b>	<b>18,8%</b>	<b>19,6%</b>

<sup>a</sup>Alle untersuchten Proben gingen in die Auswertung ein.

<sup>b</sup>Nur Proben mit positiver Rückisolierung (RI) des inokulierten Pilzes gingen in die Auswertung ein.

<sup>c</sup>In der Kreuzvalidierung wird jeder Fall durch die Funktionen klassifiziert, die von allen Fällen mit Ausnahme des jeweils zuzuordnenden Falls abgeleitet wurden.

In einem zweiten Schritt wurde untersucht, inwiefern die sechzehn Substanzen eine generelle Unterscheidung von mit Pilzen inokulierten Pflanzen und Kontrollpflanzen erlauben. In diese Analyse gingen einerseits alle Kontrollpflanzen sowie andererseits alle Pflanzen mit positiver Rückisolierung der jeweils inokulierten Pilze ein (Tabelle 8).

**Tabelle 8:** Zuordnung der Blattproben von Kontrollpflanzen und von Pflanzen mit positiver Rückisolierung des inokulierten Pilzes mittels 16 spezifischer Blattinhaltsstoffe unter Anwendung der Diskriminanzanalyse. Die Tabelle zeigt die Prozentanteile der Proben von Kontrollpflanzen, welche korrekt den Kontrollpflanzen zugeteilt wurden sowie die Prozentanteile der Proben von infizierten Pflanzen, welche irrtümlich den Kontrollpflanzen zugeteilt wurden.

Berücksichtigte Faktoren und Faktorstufen	Umfang N		Den Kontrollpflanzen zugeordnete Proben (ohne Kreuzvalidierung <sup>c</sup> )		Den Kontrollpflanzen zugeordnete Proben (mit Kreuzvalidierung <sup>c</sup> )	
	Kontrollpflanzen <sup>a</sup>	Pflanzen mit RI <sup>b</sup>	% der Kontrollpflanzen <sup>a</sup>	% der Pflanzen mit RI <sup>b</sup>	% der Kontrollpflanzen <sup>a</sup>	% der Pflanzen mit RI <sup>b</sup>
<b>ohne Berücksichtigung der Faktoren „Sorte“ und „Beprobungstermin“</b>						
---	23	115	69,6%	12,2%	39,1%	17,4%
<b>bei Berücksichtigung des Faktors „Sorte“</b>						
Kremser Perle (KP)	11	58	81,8%	8,0%	63,6%	18,0%
Moneymaker (MM)	12	57	50,0%	15,8%	25,0%	26,3%
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>115</b>	<b>65,2%</b>	<b>12,2%</b>	<b>43,5%</b>	<b>22,1%</b>
<b>bei Berücksichtigung des Faktors „Beprobungstermin“</b>						
Woche 3 (W3)	9	42	77,8%	4,8%	33,3%	19,0%
Woche 6 (W6)	6	39	83,3%	5,1%	16,7%	17,9%
Woche 9 (W9)	8	34	87,5%	5,9%	25,0%	17,6%
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>115</b>	<b>82,6%</b>	<b>5,2%</b>	<b>26,1%</b>	<b>18,3%</b>
<b>bei Berücksichtigung der Faktoren „Sorte“ und „Beprobungstermin“</b>						
KP / W1	5	23	100,0%	0,0%	17,4%	13,0%
KP / W2	2	17	100,0%	0,0%	34,6%	0,0%
KP / W3	4	18	100,0%	0,0%	25,0%	5,6%
MM / W1	4	19	100,0%	0,0%	0,0%	26,3%
MM / W2	4	22	75,0%	0,0%	0,0%	18,2%
MM / W3	4	16	100,0%	0,0%	25,0%	6,3%
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>115</b>	<b>95,8%</b>	<b>0,0%</b>	<b>19,1%</b>	<b>12,2%</b>

<sup>a</sup>Kontrollpflanzen: Pflanzen die nicht mit einem Pilz inokuliert wurden

<sup>b</sup>Pflanzen die gemäß der Versuchsvarianten mit Pilzen inokuliert wurden und deren jeweils inokulierter Pilz später auch rückisoliert (RI) werden konnte

<sup>c</sup>In der Kreuzvalidierung wird jeder Fall durch die Funktionen klassifiziert, die von allen Fällen mit Ausnahme des jeweils zuzuordnenden Falls abgeleitet wurden.

Im Allgemeinen konnte beobachtet werden, dass sich mit Zunahme des jeweils in die Analyse einfließenden Probenumfanges (N) die korrekte Zuordnung der Proben verbesserte. Die Berücksichtigung der Faktoren „Sorte“ und „Beprobungstermin“ führte jedoch trotz der damit verbundenen Reduktion des Probenumfanges (N), insbesondere bei Analyse ohne Kreuzvalidierung, zu einer Verbesserung der Resultate. Bei zufälliger Zuordnung würde die mathematische Wahrscheinlichkeit einer korrekten Zuteilung bei ca. 10% liegen. Die Analyseresultate lagen bei der korrekten Zuordnung der Kontrollpflanzen deutlich über 10%

respektive unter 10% bei der fälschlichen Zuordnung der Blattproben von inokuliertem Pflanzenmaterial zu den Kontrollpflanzen.

Um weitere Anhaltspunkte dafür zu gewinnen, wie stark der Einfluss der Faktoren „Sorte“ und „Beprobungstermin“ auf die relativen Anteile der sechzehn untersuchten Substanzen ist, wurde mittels Diskriminanzanalyse eine Zuordnung der Proben zu den Tomatensorten, denen sie entnommen wurden (Tabelle 9), sowie zu den drei Beprobungsterminen, an denen die Entnahmen stattfanden (Tabelle 10), durchgeführt. Hierfür flossen in einer ersten Analyse jeweils alle Proben in die Analyse ein, während in einer zweiten Analyse nur die Proben von Kontrollpflanzen verwendet wurden.

**Tabelle 9:** Zuordnung der einzelnen Proben zu den Tomatensorten, denen sie entnommen wurden, mittels 16 spezifischer Blattinhaltsstoffe unter Anwendung der Diskriminanzanalyse. Die Tabelle zeigt die Prozentanteile korrekter Zuordnungen.

Berücksichtigte Faktoren und Faktorstufen	Versuchsumfang N		Prozentsatz korrekter Zuordnung (ohne Kreuzvalidierung) <sup>c</sup>		Prozentsatz korrekter Zuordnung (mit Kreuzvalidierung) <sup>c</sup>	
	alle Proben <sup>a</sup>	nur Kontrolle <sup>b</sup>	alle Proben <sup>a</sup>	nur Kontrolle <sup>b</sup>	alle Proben <sup>a</sup>	nur Kontrolle <sup>b</sup>
<b>ohne Berücksichtigung des Faktors „Beprobungstermin“</b>						
---	223	23	77,1%	91,3%	78,1%	56,5%
<b>bei Berücksichtigung des Faktors „Beprobungstermin“</b>						
Woche 3	72	9	95,8%	100%	87,5%	67%
Woche 6	73	6	84,9%	100%	80,8%	16,7%
Woche 9	78	8	75,6%	100%	62,8%	37,5%
<b>Total</b>	<b>223</b>	<b>23</b>	<b>85,2%</b>	<b>100%</b>	<b>76,7%</b>	<b>43,5%</b>

<sup>a</sup>Proben aller Varianten des Versuches gingen in die Analyse ein (mit Pilzen inokulierte Pflanzen und Pflanzen ohne Inokulation)

<sup>b</sup>Nur Proben aus der Kontroll-Variante (ohne Inokulation mit Pilzen) gingen in die Analyse ein.

<sup>c</sup>Bei Kreuzvalidierung ist jeder Fall durch die Funktionen klassifiziert, die von allen anderen Fällen außer diesem Fall abgeleitet werden.

Der Prozentanteil korrekter Zuordnungen der Proben zu den Tomatensorten, denen sie entnommen wurden, lag deutlich über 50%. Insbesondere durch Berücksichtigung des Versuchsfaktors „Beprobungstermin“ konnten hohe Zuordnungsraten erreicht werden. Die alleinige Berücksichtigung der Kontrollpflanzen brachte lediglich bei der Analyse ohne Kreuzvalidierung bessere Resultate, während mit Kreuzvalidierung deutlich schlechtere Resultate erreicht wurden.

**Tabelle 10:** Zuordnung zu den Beprobungsterminen, an denen die Entnahmen stattfanden, mittels 16 spezifischer Blatinhaltsstoffe unter Anwendung der Diskriminanzanalyse. Die Analyse wurde sowohl unter Einbezug aller Proben als auch unter alleinigem Einbezug von Proben aus Kontrollpflanzen durchgeführt. Die Tabelle zeigt die Prozentanteile korrekter Zuordnungen.

Berücksichtigte Faktoren und Faktorstufen	Versuchsumfang N		ohne Kreuzvalidierung <sup>c</sup>		mit Kreuzvalidierung <sup>c</sup>	
	alle Proben <sup>a</sup>	Kontrollproben <sup>b</sup>	alle Proben <sup>a</sup>	Kontrollproben <sup>b</sup>	alle Proben <sup>a</sup>	Kontrollproben <sup>b</sup>
<b>ohne Berücksichtigung der Sorten</b>						
---	223	23	92,8%	100%	90,1	69,0
<b>bei Berücksichtigung der Sorten</b>						
Kremser Perle	113	11	97,3%	100%	92,0	54,5
Moneymaker	110	12	93,6%	100%	89,1	0,0
<b>Total</b>	<b>223</b>	<b>23</b>	<b>95,5%</b>	<b>100%</b>	<b>90,6%</b>	<b>26,1%</b>

<sup>a</sup>Proben aller Varianten des Versuches gingen in die Analyse ein (mit Pilzen inokulierte Pflanzen und Pflanzen ohne Inokulation)

<sup>b</sup>Nur Proben aus der Kontroll-Variante (ohne Inokulation mit Pilzen) gingen in die Analyse ein.

<sup>c</sup>Bei Kreuzvalidierung ist jeder Fall durch die Funktionen klassifiziert, die von allen anderen Fällen außer diesem Fall abgeleitet werden.

Die korrekte Zuordnung des Probenmaterials zu den verschiedenen Beprobungsterminen erreichte sehr hohe Prozentanteile. Durch Berücksichtigung des Versuchsfaktors „Tomatensorte“ konnte kaum eine weitere Verbesserung erreicht werden. Wie schon in Abbildung 12 wird auch in Tabelle 10 der hohe Einfluss des Faktors Zeit auf die Zusammensetzung der analysierten Substanzen ersichtlich.

## 4. Diskussion

### 4.1 Befall der Tomatenpflanzen durch die inokulierten Pilze

Im Versuch wurden zwischen den inokulierten Bodenpilzen Unterschiede bezüglich des Befalls der Pflanzen festgestellt. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Versuchsbedingungen eher diejenigen Pilze förderten, welche auch bei höheren Temperaturen und sporadisch geringerer Bodenfeuchtigkeit gut überlebensfähig sind. So dürften die Stämme von *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* Fol 004 und Fol 007 durch die Versuchsbedingungen eher gefördert worden sein. Im Gegensatz dazu sind die Pilze *T. basicola* und *S. sclerotiorum* auf eine relativ hohe Bodenfeuchtigkeit angewiesen. Die Pilze *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* und *T. basicola* weisen vergleichsweise tiefe Temperaturoptima auf. Diese Pilze könnten somit durch die im Versuch herrschenden Umweltbedingungen eher gehemmt worden sein (Bateman 1961; Abawi, Grogan 1979, Crüger et al. 2002). Da die Zusammensetzung von Pflanzeninhaltsstoffen auch durch abiotische Faktoren beeinflusst werden kann, wäre die pilzspezifische Schaffung optimaler Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse in den Varianten des Versuches für das Versuchsziel nicht zielführend gewesen. Neben den unterschiedlichen Umweltansprüchen der im Versuch verwendeten Pilze scheint im Falle des Pilzes *S. sclerotiorum* auch eine durch Lagerung verminderte Virulenz für den ausbleibenden Befall verantwortlich zu sein. So wurde eine mangelhafte Virulenz dieses Isolates auch in parallel laufenden Versuchen festgestellt (Steinkellner, persönliche Mitteilung).

Auch innerhalb der einzelnen Varianten wurde zwischen den Pflanzen teilweise ein sehr heterogener Befall festgestellt. Der Grund hierfür dürfte in der Natur der sehr komplexen Pflanzen-Pathogen Interaktionen zu suchen sein. Zudem dürften diese individuellen Interaktionen auch bei den standardisierten Versuchsbedingungen unter geringfügig unterschiedlichen abiotischen und biotischen Einflussfaktoren gestanden sein, was sich auf die Besiedelung der Wirtspflanzen ausgewirkt haben könnte.

Zur Erklärung der im Versuch beobachteten unterschiedlichen Rückisolierungsraten können dieselben Argumente herangezogen werden, wie sie schon zur Erklärung der unterschiedlichen Symptombildung aufgeführt wurden. Hinzu kommt aber, dass sich die Pilze sowohl in ihrer Tendenz, von der Wurzel in den Spross einzuwandern, als auch im dazu benötigten Zeitraum unterscheiden. So können Pilze, die sich vor allem im Wurzelbereich ausbreiten, wie z.B. *T. basicola* und *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Crüger 2002), vermutlich später an der Basis des Hypokotyls nachgewiesen werden als Pilze, die sich bevorzugt im Sprossbereich ausbreiten, wie es bei *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* der Fall ist (Crüger 2002). Neben den genannten Faktoren beeinflusste vermutlich auch ein nicht identifizierter Endophyt die Rückisolierungsraten, indem er durch seine hohe Konkurrenzkraft beim Wachstum in den

Petrischalen möglicherweise die Rückisolierung von inokulierten Pilzen aus dem Probenmaterial in einigen Fällen verhinderte.

## **4.2 Veränderungen von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität**

Vergleicht man die in den verschiedenen Varianten festgestellte Befallsstärke mit den jeweils dazugehörigen Gehalten an Gesamtphenolen bzw. Gesamtflavonoiden sowie der antioxidativen Aktivität, so zeigt sich, dass Varianten mit starkem Befall durchwegs tiefere Gehalte an Gesamtphenolen und Gesamtflavonoiden resp. geringere antioxidative Aktivität aufwiesen. Ein Indiz für die Abhängigkeit der am Probenmaterial gemessenen Werte von Gesamtphenolgehalt, Gesamtflavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität liefern die ausgeprägten Korrelationen zwischen diesen Werten. Grund für diese Ergebnisse dürfte der Umstand sein, dass Stoffe aus der Gruppe der Polyphenole, insbesondere auch bestimmte Flavonoide, einen wesentlichen Teil zur antioxidativen Aktivität beitragen (Pourcel et al. 2006). Zudem darf aber auch nicht außer Acht gelassen werden, dass die Untersuchungen mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz, der FRAP-Methode sowie der DPPH-Reduktion alle in ähnlicher Weise auf Redox-Reaktionen beruhen (Huang et al. 2005). Dies gilt jedoch nicht für die Untersuchungen zum Flavonoidgehalt, denen die Chelatisierungsreaktion anstelle der Redoxreaktion als Grundlage für die Gehaltsanalyse dient. Dieser Umstand könnte auch zur geringeren Korrelation zwischen dem Gesamtflavonoidgehalt und den übrigen Messwerten beigetragen haben.

Grundsätzlich kann auf Grund der Komplexität der Pflanzenphysiologie über die Ursachen der aufgefundenen Ergebnisse nur spekuliert werden. Erscheinungen von lokaler und systemischer Resistenz, induziert durch Pathogene, sind weit verbreitete Abwehrmechanismen im Reich der Pflanzen. Es kann vermutet werden, dass die im gegenständlichen Versuch gemessenen Veränderungen bezüglich Phenolgehalt, Flavonoidgehalt und antioxidativer Aktivität der Tomatenblätter vor allem auf systemisch induzierten Abwehrreaktionen, ausgelöst durch die inokulierten Bodenpilze, zurückzuführen sind. Bei vielen Pflanzen-Pathogen Interaktionen konnte nachgewiesen werden, dass Salicylsäure, Jasmonsäure oder Ethylen auf unterschiedlichen Signalwegen an der Auslösung einer Kaskade von Reaktionen beteiligt sind, welche zur Produktion abwehrspezifischer Metaboliten auch in befallsfernen Pflanzenteilen führen (Corné et al. 1999). Bei den im Versuch verwendeten Pilzarten *Fusarium oxysporum* und *Trichoderma atroviride* konnte die Fähigkeit zur Induktion der systemisch akquirierten Resistenz (SAR), bei welcher Salicylsäure eine wesentliche Rolle spielt, bereits nachgewiesen werden (Fuchs et al. 1997; Harman et al. 2004). Eine systemisch induzierte Resistenz könnte auch dafür verantwortlich sein, dass in der Variante „Scler“ trotz vermutlich fehlender Virulenz

des Pathogens geringere Gesamtphenol- und Gesamtflavonoidgehalte wie auch eine geringere antioxidative Aktivität in den Blättern festgestellt wurden als bei den Kontrollpflanzen.

Die Bildung und Anreicherung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) in Pflanzen kann oft bereits früh nach erfolgreicher Erkennung eines angreifenden Pathogens beobachtet werden. Die oxidativ wirksamen ROS entstehen bei Stoffwechselprozessen in den Pflanzenzellen, insbesondere bei der Photosynthese. Zur Aufrechterhaltung lebensnotwendiger Funktionen in den Zellen verfügen Pflanzen über mehrere Mechanismen, um die Konzentration an ROS zu regulieren. Hierzu gehören vor allem Peroxidase (POX), Superoxiddismutase (SOD), Ascorbatperoxidase (APX) sowie Katalase (CAT) (Torres et al. 2006). Die mit systemisch akquirierter Resistenz (SAR) in Zusammenhang gebrachte Salicylsäure besitzt die Fähigkeit, die Aktivität des antioxidativen Systems zu reduzieren und beispielsweise Katalase zu inhibieren, was einen Anstieg von Wasserstoffperoxid zu Folge hat. Die erhöhte Konzentration an Wasserstoffperoxid kann entweder selber oder auch über die Bildung anderer ROS die Expression protektiver Gene im pflanzlichen Genom induzieren (Dzhavakhiya et al. 2007).

Die Redox-Homöostase im pflanzlichen Gewebe wird auch abseits der SAR in zunehmendem Maße als Bindeglied zwischen Signalen aus der biotischen oder abiotischen Umwelt und Anpassungsreaktionen der Pflanzen gesehen. Veränderungen in der Interaktion zwischen ROS und Antioxidantien scheinen dabei von entscheidender Bedeutung zu sein, wobei auch andere Mechanismen neben der Inhibierung von Katalase durch Salicylsäure diskutiert werden (Foyer and Noctor 2005). So kann nach Bath et al. (2004) beispielsweise auch eine reduzierte Ausbildung des antioxidativ wirksamen Ascorbats als Auslöser für Abwehrmechanismen der Pflanzen gegen Pathogene in Frage kommen.

Trotz ihrer Funktion in der Abwehr von Phytopathogenen können ROS bei zu hoher Konzentration auch zur Schwächung und schließlich zum Absterben von pflanzlichem Gewebe führen. Diese Eigenschaft der ROS scheinen sich einige Pilze zur erfolgreichen Besiedelung von Pflanzen zu Nutze gemacht zu haben. Verschiedene Stämme von *Fusarium oxysporum* sind beispielsweise befähigt, Fusarinsäure in die Wirtspflanze abzugeben. Untersuchungen zeigten, dass Fusarinsäure im Blattgewebe von Tomaten die Aktivität der SOD steigert und gleichzeitig die Aktivität von CAT und APX reduziert, was zu einer starken Erhöhung der Konzentration an Wasserstoffperoxid führt. Diese hohen Konzentrationen können zu Chlorosen und Nekrosen im Pflanzengewebe führen, wie es auch an mit Fusarinsäuren behandelten Tomatenblättern in Versuchen beobachtet werden konnte (Kuzniak et al. 1998). Die im gegenständlichen Versuch in Varianten mit hohem Befallsgrad gemessene vergleichsweise niedrigere antioxidative Aktivität könnte somit auf diese oben dargelegten Mechanismen zur Erhöhung der reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) zurückzuführen sein.

Die im Versuch gemessenen niedrigen Phenolgehalte in den Varianten mit hohem Befallsgrad widersprechen teilweise den in der Literatur beschriebenen Vorgängen. El-Khallal (2007) stellte nach Inokulation von Tomatenpflanzen mit *F. oxysporum* einen markanten Anstieg des Gesamtphenolgehaltes in den Tomatenblättern fest. Zudem konnte sie einen Anstieg im Gehalt an Zimtsäure sowie unterschiedliche Veränderungen im Gehalt anderer phenolischer Säuren feststellen. Ähnliche systemisch induzierte Veränderungen von Phenolsäuren in Tomatenblättern nach Wurzelinokulation von *F. oxysporum* konnten auch durch Pannina et al. (2007) nachgewiesen werden. Ähnlich wie im vorliegenden Versuch beobachteten Toussaint et al. (2008) hingegen bei Basilikum (*Ocimum basilicum*) nach Inokulation mit *Fusarium oxysporum* f.sp. *basilici* eine signifikante Reduktion des Gesamtphenolgehaltes in den Blättern.

Ein wichtiges Enzym in der Biosynthese von Phenylpropanoiden und somit von Phenolen ist die Phenylalaninammonium-Lyase (PAL). Sie katalysiert die Desaminierung von Phenylalanin zu Zimtsäure. Dieser Vorgang ist der erste Schritt im Phenylpropanoid-Biosyntheseweg, welcher Vorläufersubstanzen unter anderem für Phenole wie Kaffeesäure (ein vorherrschendes Phenol in Tomatenblättern), Salicylsäure und Flavonoide bereitstellt (Thipyagpong, Steffens 1997; Dixon Pava 1995). Eine Aktivitätssteigerung der PAL konnte sowohl lokal am Infektionsherd als auch durch SAR induziert an den dem Infektionsherd entfernten Pflanzenteilen bei Tomaten festgestellt werden (Mandal et al. 2009). Stadnik und Buchenauer (2000) beobachteten nach Induktion von SAR eine erhöhte Synthesekapazität von Phenylpropanoiden, welche sie mit einer zunehmenden Veresterung von Phenolsäuren an Zellwänden, insbesondere an Infektionsstellen, in Zusammenhang bringen. Die beschriebenen Beobachtungen würden somit für eine Zunahme des Phenolgehaltes nach Induktion systemischer Abwehrmechanismen sprechen.

Als ein möglicher den Phenolgehalt reduzierender Prozess kann die systemische Aktivierung der Polyphenoloxidase (PPO) in Betracht gezogen werden. Eine Aktivitätssteigerung der PPO in Tomatenblättern nach Wurzelinokulation von *F. oxysporum* wurde zwar beobachtet (El-Khallal 2007), inwiefern die PPO aber zur Reduktion des Gesamtphenolgehaltes in Tomatenblättern beitragen könnte, ist jedoch unklar. Bisherige Beobachtungen weisen insbesondere auf die Bedeutung der PPO-Aktivität am Eindringungsort von Pilzen hin. Die PPO scheint besonders durch die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies sowie durch die Oxidation von Phenolen zu Chinonen an der Abwehr von Pilzkrankheiten beteiligt zu sein (Mayer 2006). So konnte bei hypersensitivem Zelltod eine rasche Abnahme an Phenolen am Infektionsort beobachtet werden (Hammerschmidt 2005). Sollte jedoch eine induzierte erhöhte PPO-Aktivität vorwiegend auf den Eindringungsort von Pilzen beschränkt sein, kann dieser Vorgang für die im Versuch gemessene Verringerung des Gesamtphenolgehaltes nicht mitverantwortlich gemacht werden. Dies deshalb, da eine Reduktion des Gesamtphenolgehaltes in den Tomatenblättern

bereits zu einem Zeitpunkt festgestellt wurde, zu welchem der an den Wurzeln inokulierte Pilz noch kaum in den untersten Sprossbereich der Pflanzen eingedrungen war.

Neben den vielen noch unbekanntenen Prozessen in der Pflanze zur Abwehr von Pathogenen kann aber auch die Messmethode zur Erklärung der beobachteten Verringerung des Phenolgehaltes nach Inokulation mit unterschiedlichen Pilzen herangezogen werden. Nach Huang et al. (2005) kann das in der Untersuchung verwendete Folin-Ciocalteu-Reagenz (FCR) zum einen nicht nur von Phenolen, sondern auch von nicht phenolischen Stoffen reduziert werden. Zum anderen könnte eventuell auch die gestiegene Konzentration an reaktiven Sauerstoffspezies FCR-reduzierende Stoffe (inklusive Phenole) oxidiert haben, wodurch diese ihre Fähigkeit zur Reduktion des Folin-Ciocalteu-Reagenz verloren haben.

Flavonoide sind Polyphenole, welche bei der Messung des Gesamtphenolgehaltes miterfasst werden. Im Versuch wurden wie beim Gesamtphenolgehalt auch beim Gesamtflavonoidgehalt in den Varianten mit starkem Befall durchschnittlich niedrigere Werte festgestellt. Im Gegensatz zur Methode zur Messung des Gesamtphenolgehaltes basierte der Nachweis der Flavonoide nicht auf Redoxreaktionen, sondern auf einem Chelatisierungsprozess nach Zugabe von Aluminiumchlorid. Flavonoide sind konstitutiv im Gewebe vorhanden, insbesondere Isoflavonoide, die als effiziente Phytoalexine wirksam werden können, oder werden nach Verwundung bzw. biotischem Stress im Pflanzengewebe gebildet. Vertreter von Isoflavonoiden können sich gegenüber Pilzen als äußerst toxisch erweisen, indem sie Sporenkeimung, Kleimschlauchbildung oder Hyphenwachstum durch Schädigung von Biomembranen verursachen können (Skipp und Bailey 1977).

Viele Stoffwechselprozesse, wie sie für Phenole im Allgemeinen bekannt sind, gelten auch für die Flavonoide im Speziellen. Deshalb können die Prozesse im Phenolstoffwechsel teilweise auch zur Erklärung von Veränderungen im Flavonoidgehalt der Tomatenblätter angeführt werden, insbesondere die Regulierung der Aktivität von PAL und PPO (Pourcel et al. 2006). Zusätzlich zu diesen Prozessen beschreiben Curir et al. (2005) eine Anreicherung von fungitoxischem Flavonol nach Inokulation von Nelken mit dem Welkeerreger *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* im Pflanzengewebe. Ähnliche Prozesse könnten auch bei der Tomate zu einer Anhebung des Flavonoidgehaltes führen. Eine endgültige Erklärung für die niedrigen Flavonoidgehalte im Pflanzengewebe der mit Pilzen inokulierten Varianten im vorliegenden Versuch kann daher nicht abgegeben werden. Ob der Eingang von vergilbtem Blattmaterial in die Proben von Varianten mit hohem Befallsgrad einen Einfluss auf die gemessenen Phenol- resp. Flavonoidgehalte haben könnte, wurde im Versuch nicht untersucht.

### 4.3 Identifizierung von bodenbürtigen Pilzen mittels spezifischer Blatinhaltsstoffe

Bei der Untersuchung spezifischer Blatinhaltsstoffe zur Identifizierung von bodenbürtigen Pilzen zeigte sich, dass sich die meisten der mit der angewendeten Methode detektierten Substanzen nahe der Nachweisgrenze bewegten. Dieser Umstand erhöhte die Gefahr von Messungenauigkeiten, was sich negativ auf die nachfolgenden statistischen Auswertungen ausgewirkt haben könnte.

Sowohl Auswertungen mit der Varianzanalyse als auch diejenigen mit der Diskriminanzanalyse zeigten, dass Tomatensorten und Beprobungstermine sehr starken Einfluss auf die relativen Mengenanteile der untersuchten Substanzen haben. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass für die Zuordnung der einzelnen Proben zu den zwei Tomatensorten resp. zu den drei Beprobungsterminen jeweils eine größere Anzahl an Messwerten je Faktorstufe in die Analyse einfließen als bei der Zuordnung zu den zehn Varianten, was die jeweilige Aussagekraft der Ergebnisse beeinflusst haben könnte. Gleiches gilt für die Ergebnisse der Diskriminanzanalyse mit Kreuzvalidierung. Hier steht die zuzuordnende Probe jeweils nicht als Messwert für die Funktionsberechnung zur Verfügung, was sich auf Grund der relativ geringen Anzahl von Messwerten je Variante negativ auf das Ergebnis ausgewirkt haben könnte. Auch die Aussagekraft der Ergebnisse bei ausschließlicher Berücksichtigung von Proben mit positiver Rückisolierung wird durch die geringere Anzahl von Messwerten, die in die Analyse eingehen, gemindert. Dies machte sich insbesondere bei den Berechnungen mit Kreuzvalidierung bemerkbar. Bei Berechnung ohne Kreuzvalidierung hingegen konnten trotz der reduzierten Anzahl an Messwerten noch sehr gute Resultate erzielt werden. Dies unterstreicht den Einfluss eines Pilzbefalles auf die Zusammensetzung der Blatinhaltsstoffe. Zu beachten gilt es aber, dass bei ausschließlicher Berücksichtigung von Proben mit positiver Rückisolierung (RI) die Variante „Scler“ wegfällt, wodurch die mathematische Wahrscheinlichkeit einer korrekten Zuordnung ansteigt.

Die Befallsstärke der inokulierten Bodenpilze wirkte sich nicht auf den Anteil der auf Basis der 16 Substanzen korrekt zugeordneten Proben aus. So zeigte auch die Variante „Scler“, bei welcher weder Befallssymptome festgestellt wurden noch eine Rückisolierung gelang, ein mit anderen Varianten vergleichbares Ergebnis an korrekten Zuordnungen mittels Diskriminanzanalyse.

Es wird angenommen, dass die Cuticula der Pflanzen dieselben gegen viele oberflächenbesiedelnde Phytopathogene schützen kann und sie auf diese Weise auch als passiver Abwehrmechanismus verstanden werden kann (Reina-Pinto/Yephremov 2009). So wurden die Eigenschaften der Cuticula bislang vor allem im Zusammenhang mit Resistenzerscheinungen

untersucht. Mehrere Studien zeigen, dass Cuticula-Lipide als Botenstoffe bei Pflanzen-Pathogen Interaktionen agieren und die Eigenschaften der Cuticula wesentlichen Einfluss auf die Penetrationsprozesse von Pathogenen haben (Kolattukudy et al. 1995). Untersuchungen von Gniwotta et al. (2005) an Erbsen (*Pisum sativum*) zeigten auf, dass insbesondere die chemische Zusammensetzung der Epicuticula die Penetrationsprozesse von Erbsenmehltau (*Erysiphe pisi*) signifikant beeinflussen kann. Bezüglich einer aktiven Veränderung der chemischen Zusammensetzung der Cuticula zur Abwehr von Phytopathogenen ist derzeit noch wenig bekannt. Chassot et al. (2006) fanden bei der Untersuchung von Interaktionen zwischen *Botrytis cinerea* und *Arabidopsis thaliana* erste konkrete Hinweise auf die Existenz eines solchen Abwehrmechanismus, bei welchem vermutet werden kann, dass antimikrobiell wirkende Substanzen von der Zellwand zur Blattoberfläche diffundieren. Obwohl bis heute keine konkreten Hinweise diesbezüglich publiziert wurden, kann nicht ausgeschlossen werden, dass Mechanismen der systemisch induzierten Resistenz auch Auswirkungen auf die chemische Zusammensetzung der Cuticula haben. Vorliegender Versuch weist auf einen spezifischen Einfluss von bodenbürtigen Pilzen auf die Zusammensetzung der epicuticularen Wachse hin.

Der Einfluss von bodenbürtigen Pilzen auf die Zusammensetzung der Cuticula scheint bislang noch nicht spezifisch untersucht worden zu sein. Es kann aber vermutet werden, dass neben spezifischen Prozessen auch allgemeine Prozesse zur Veränderung in der Zusammensetzung der Cuticula befallener Pflanzen führen. So kann davon ausgegangen werden, dass bereits eine durch Bodenpathogene verursachte Beeinträchtigung des Wurzelwerkes zu Wasserstress führt und somit auf diese Weise eine unspezifische Veränderung der Cuticula verursacht. Untersuchungen an Sesam (*Sesamum indicum*) zeigten, dass Wasserstress neben einer allgemein verstärkten Bildung von cuticularen Wachsen besonders eine verstärkte Bildung von unterschiedlichen Alkanen zur Folge hat (Kim et al. 2006). Dass auch die Intensität der UV-B Strahlung einen signifikanten Einfluss auf die Gesamtmenge und die Zusammensetzung des Cuticulawaxes hat, zeigten Barnes et al. (1995) bei ihren Studien an Tabak (*Nicotiana tabacum*). Bei starkem Pathogenbefall kann das Sprosswachstum stark reduziert werden, was den Prozentsatz der direktem Sonnenlicht ausgesetzten Blattfläche ansteigen lässt und auf diese Weise zu einer unspezifischen Veränderung der Cuticula führen kann.

Der grosse Einfluss der Tomatensorten sowie der Beprobungstermine auf die Zusammensetzung der Wachsschicht und somit auf die korrekte Zuordnung der Proben zu den Versuchsvarianten mittels Diskriminanzanalyse ist für eine mögliche breitflächige Anwendung der hier untersuchten Methode zur frühzeitigen Detektion von bodenbürtigen Pflanzenkrankheiten denkbar ungünstig. Neben Pathogenen, Tomatensorten, Zeitpunkt der Infektion, Pflanzenalter sowie Wasserstress und UV-Einstrahlung können auch weitere Faktoren die

stoffliche Zusammensetzung der Cuticula beeinflussen. So wiesen Koch et al. (2004) einen Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf Menge und Zusammensetzung der Cuticula an mehreren Pflanzenspezies nach. Die Luftfeuchtigkeit beeinflusste die Ergebnisse im vorliegenden Versuch zwar nicht, könnte aber bei breitflächiger Anwendung der hier untersuchten Methode zur Detektion von Pathogenen an Pflanzen, die unter unterschiedlichen Umwelteinflüssen angebaut wurden, zu einer Verschlechterung dieser Ergebnisse führen.

## 5 Schlussfolgerungen

Die Versuchsergebnisse weisen darauf hin, dass Interaktionen von Tomatenpflanzen mit bodenbürtige Pilzen einen Einfluss auf die Zusammensetzung der Blatthaltstoffe haben. Allerdings stehen die im Versuch gemessenen Veränderungen teilweise im Widerspruch mit anderen Versuchsergebnissen. Zudem liefert der Versuch auch Hinweise darauf, dass die veränderte Zusammensetzung der Blatthaltstoffe für die inokulierten bodenbürtigen Pilze jeweils spezifisch ist. Im Versuch war zwar an Hand der sechzehn untersuchten Blatthaltstoffe eine Identifizierung des jeweils inokulierten Pilzes teilweise möglich, für den Einsatz dieser Methode als Diagnosewerkzeug in der Praxis zur Früherkennung von Krankheiten bedarf es jedoch noch weiterer Abklärungen. Insbesondere der Einfluss unterschiedlicher Standortbedingungen (Strahlung, Wasserversorgung, Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Schädlinge usw.) auf die Identifizierbarkeit der Krankheiten mittels Blatthaltstoffen sollte überprüft werden. Zudem sollten weiterführende Versuche auch eine Optimierung der Untersuchungsmethode zum Ziel haben. So könnten eventuell spezifische Aspekte der Probenahme an den zu untersuchenden Pflanzen die Ergebnisse wesentlich verbessern (z.B. nur unvergilbte Blätter in einem bestimmten Alter). Auch eine Extraktion von ungetrocknetem Blattmaterial (frisch oder tiefgekühlt) könnte gegenüber der Extraktion von getrocknetem Blattmaterial eine Verbesserung der Ergebnisse bewirken.

Mit einem überschlagsmäßig berechneten Analysepreis von ca. € 40.- (bei guter Auslastung der Geräte) wäre die im Versuch getestete Methode mit anderen derzeit angebotenen Methoden zur Detektion und Identifizierung von Krankheitserregern durchaus konkurrenzfähig. Auch die Aussendung der Analyseergebnisse innert 24 Stunden nach Probeneingang wäre problemlos möglich. Zudem weist die Methode gegenüber anderen (wie z.B. ELISA oder PCR) den Vorteil auf, dass der Untersuchung des pflanzlichen Materials bezüglich des Pathogens kein Verdachtsmoment vorausgehen muss, sondern ein breites Screening möglich ist. Insbesondere bezüglich der generellen Unterscheidung zwischen gesunden und befallenen Pflanzen scheint die Methode über Potenzial zu verfügen. Ein weiterer Vorteil der Methode ist darin zu sehen, dass durch die Untersuchung der Blätter die Pflanzen selbst nahezu unbeschädigt bleiben, was bei Untersuchungen von Wurzeln auf Pathogenbefall nicht ohne weiteres möglich ist.

## 6 Literaturverzeichnis

**Abawi G. S. und Grogan R. G. (1979):** Epidemiology of diseases caused by Sclerotinia Species. Symposium of Sclerotinia. Phytopathology Vol. 69 No. 8 (1979), S. 899-904

**Andersson B. A., Holmann R. H., Lundtren L., Stenhagen G. (1980):** Capillary gas chromatograms of leaf volatiles. A possible aid to breeders for pest and disease resistance. Journal of Agricultural and Food Chemistry (1980), 28 (5), S. 985-989

**Anonymus (2004):** SOP: Antioxidative Aktivität (Fe<sup>+++</sup>-Reduktionsmethode), 01.03.2004. Institut für angewandte Botanik, Veterinärmedizinische Universität Wien (VedMed), Österreich.

**Anonymus (2005):** HILD samen Katalog 2005. HILD samen GmbH in Marbach am Neckar, Deutschland

**Anonymus (2006):** Austro Saat Katalog 2006. Austro Saat AG in Wien, Österreich

**Anonymus (2007a):** SOP: Total Phenolic Content, 17.07.2007. Institut für Angewandte Botanik, Veterinärmedizinische Universität Wien (VedMed), Österreich

**Anonymus (2007b):** SOP: Antioxidative Aktivität mit DPPH, 17.07.2007. Institut für Angewandte Botanik, Veterinärmedizinische Universität Wien (VedMed), Österreich

**Anonymus (2008):** SOP: Gesamtflavonoidbestimmung mittels Mikrotiterplatten, 2008. Institut für angewandte Botanik, Veterinärmedizinische Universität Wien (VedMed), Österreich

**Bauer S., Schulte E., Thier H. P. (2004):** Composition of the surface wax from tomato: II. Quantification of the components at the ripe red stage and during ripening. Eur Food Res Technol 219, S. 487-491

**Barnes J. D., Percy K. E., Paul N. D., Jones P., McLaughlin C. K., Mullineaux P. M., Creissen G., Wellburn A. R. (1995):** The influence of UV-B radiation on the physicochemical nature of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaf surfaces. Journal of Experimental Botany, Vol. 47, No. 294, January 1996, S. 99-109,

**Bateman D. F. (1961):** The effect of soil moisture upon development of poinsettia root rots. Phytopathology 51, S. 445-451

**Bath C., Moeder W., Klessig D. F., Conklin P. L. (2004):** The timing of senescence and response to pathogens is altered in the ascorbate-deficient mutant vitamin C-1. Plant Physiology 134, S. 1784-1792

**Bolwerk A., Lagopodi A. L., Lugtenberg B. J. J., Bloemberg G. V. (2005):** Visualization of interactions between a pathogenic and a beneficial fusarium strain during biocontrol of tomato foot and root rot. The american phytopathological society. Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol. 18. No. 7, 2005, S. 710-721

**Brand-Williams W., Cuvelier, M. E., Berset C. (1995):** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Technol. 28 (1995), S. 25-30

**Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA) (2001):** Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen. BBCH Monografie. 2. Auflage, 2001. Internet: <http://www.bba.de/veroeff/bbch/bbchdeu.pdf>

**Chassot C., Nawrath C., Métraux J. P. (2006):** Cuticular defects lead to full immunity to a major plant pathogen. The Plant Journal 49 (2007), S. 972-980

- Corné M. J., van Loon P., van Loon L. C. (1999):** Salicylic acid-independent plant defence pathways. *Trends in Plant Science*, February 1999, Vol. 4 No. 2, S. 52-58
- Crüger G., Backhaus G. F., Homme M., Smolka S., Vetten H-J. (2002):** Pflanzenschutz im Gemüsebau. Verlag Eugen Ulmer, D-70599 Stuttgart, S. 210-212
- Curir P., Dolci M., Galeotti F. (2005):** A phytoalexin-like flavonol involved in the carnation (*Dianthus caryophyllus*)-*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* pathosystem. *Journal of Phytopathology*. Vol. 153/2, S. 65-67
- Dixon R. A., Paiva N. L. (1995):** Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell*, Vol. 7, S. 1085-1097
- Dzhavakhiya V. G., Ozeretskoykaya O. L., Zinovyeva S. V. (2007):** Comprehensive and Molecular Phytopathology. Chapter 10: Immune response. Elsevier 2007, Amsterdam (NL), S. 302-305
- EI-Khallal S. (2007):** Induction and modulation of resistance in tomato plants against *Fusarium* wilt disease by bioagent fungi (arbuscular mycorrhiza) and/or hormonal elicitors (Jasmonic Acid & Salicylic Acid): 2-Changes in the Antioxidant Enzymes, Phenolic Compounds and Pathogen Related-Proteins. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 2007 1(4), S. 717-732
- Folin O., Ciocalteu V. (1927):** On tyrosine and tryptophane determinations in proteins, *Journal of Biological Chemistry* 73 (1927), S. 627–650.
- Foyer C. H., Noctor G. (2005):** Redox homeostasis and antioxidant signalling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *American Society of Plant Biologists. The Plant Cell*, Vol. 17, S. 1866-1875
- Fuchs J-G., Moenne-Loccoz Y., Défago G. (1997):** Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 induces resistance to *Fusarium* wilt in tomato. *Institute for Plant Sciences/Phytopathology, Swiss Federal Institute of Technology, Zürich, Switzerland. Plant Disease*, May 1997, S. 492-496
- Gniwotta F., Vogg G., Gartmann V., Carver T. L. W., Riederer M., Jetter R. (2005):** What do microbes encounter at the plant surface? Chemical composition of pea leaf cuticular waxes. *Plant Physiology* 139, S. 519–531
- Hammerschmidt R (2005):** Phenols and plant-pathogen interactions: The saga continues. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 66 (2005), S. 77-78
- Harman G. E., Howell C. R., Biterbo A., Chet I., Lorito M. (2004):** *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Review, Microbiology*. Vol. 2, January 2004, S. 43 - 56
- Huang D., Ou B., Prior R. L. (2005):** The Chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (2005), S. 1841-1856
- Kim K. S., Park S. H., Jenks M. A. (2006):** Changes in leaf cuticular waxes of sesame (*Sesamum indicum* L.) plants exposed to water deficit. *Journal of Plant Physiology* 164, S.1134-1143
- Koch K., Hartmann K. D., Schreiber L., Barthlott W., Neinhuis C. (2004):** Influences of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability. *Environmental and Experimental Botany* 2006, Vol. 56, No. 1, S. 1-9

- Kolattukudy P. E., Rogers L. M., Li D., Hwang C. S., Flaishman M. A. (1995):** Surface signalling in pathogenesis. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*. Vol. 92 (May 1995), S. 4080-4087
- Krug H., Liebig H-P., Stützel H. (2002):** Gemüseproduktion. Eugen Ulmer GmbH & Co, D-70599 Stuttgart, S. 363-378
- Kuzniak E., Patykoński J., Urbanek H. (1998):** Involvement of the antioxidative system in tomato response to fusaric acid treatment. *Journal of Phytopathology* 147 (1999), S. 385-390
- Mandal S., Mallick N., Mitra A. (2009):** Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry* Vol. 47. Issue 7 (2009), S. 642-649
- Mayer A. M. (2006):** Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry* 67 (2006), S. 2318-2331
- Nell M., Steinkellner S., Vierheilig H., Zitterl-Eglseer K. (2008):** Poster: The effect of mycorrhization on pharmacological active compounds of medicinal and aromatic plants. *Plant-Microbial Interactions 2008*, 2-6. July 2008, Krakau/Polen
- Panina Y., Fravel D. R., Baker C. J., Shcherbakova L. A. (2007):** Biocontrol and plant pathogenic *Fusarium oxysporum*-induced changes in phenolic compounds in tomato leaves and roots. *Journal of Phytopathology* 2007, Vol. 155, No. 7-8, S. 475-481
- Pourcel L., Routaboul J. M., Cheynier V., Lepiniec L., Debeaujon I. (2006):** Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological function. *Trends in Plant Science*. Vol. 12, Issue 1 (January 2007), S. 29-36
- Reina-Pinto J. J., Yephremov A. (2009):** Surface lipids and plant defenses. *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 47, Issue 6 (June 2009), S. 540-549
- Skipp R. A., Bailey J. A. (1977):** The fungitoxicity of isoflavonoid phytoalexins measured using different types of bioassay. *Physiological Plant Pathology* 11 (1977), S. 101
- Steineck O. (1951):** Nährlösungen der Pflanzenkultur. Universität für Bodenkultur Wien, *Bodenkultur* 5 (1951), S. 313-321
- Thipyapong P., Steffens J. C. (1997):** Tomato polyphenol oxidase. Differential response of the polyphenoloxidase F promoter to injuries and wound signals. *Plant Physiology* (1997) 115, S. 409-418
- Torres M. A., Jones J. D. G., Dangl J. (2006):** Reactive Oxygen Species Signalling in Response to Pathogens. *Plant Physiology*, Vol. 141 (June 2006), S. 373-378
- Toussaint J.-P., Kraml M., Nell M., Smith S. E., Smith F. A., Steinkellner S., Schmiderer C., Vierheilig H., Novak J. (2008):** Effect of *Glomus mossaeae* on concentrations of rosmarinic and caffeic acids and essential oil compounds in basil inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *basilica*. *Plant Pathology* 57 (2008). S. 1109-1116
- Vikram A., Lui L. H., Hoxsain A., Kushalappa A. C. (2006):** Metabolic fingerprinting to discriminant diseases of stored carrots. *Annals of Applied Biology* 148 (2006), S. 17-26
- Wellman F. L. (1939):** A technique for studying host resistance and pathogenicity in tomato *Fusarium* wilt. *Phytopathology* 29 (1939), S. 945-956

## 7 Dank

Durch die Mithilfe vieler Personen wurde es mir möglich, meine Masterarbeit in der vorliegenden Form zu verfassen. Ihnen allen gilt mein aufrichtiger Dank.

Ich bedanke mich ganz herzlich bei meiner Betreuerin, Frau Professor Dr. Steinkellner, und meinem Betreuer, Herrn Professor Dr. Novak, sowohl für die äußerst interessante Wahl der Aufgabenstellung als auch für die umfassende beratende und begleitende Unterstützung bei der Erarbeitung des Themas.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Pflanzenschutz an der Universität für Bodenkultur in Wien sowie bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Angewandte Botanik und Pharmakognosie der Veterinärmedizinischen Universität in Wien, welche mir stets freundlich und geduldig mit Rat und Tat zur Seite gestanden sind. Mein besonderer Dank gilt hier Herrn Hans Jung, der mich bei der praktischen Versuchsdurchführung tatkräftig unterstützt hat, sowie Frau Dr. Aline Lamien-Meda, Frau Hanneliese Michitsch und Herrn Patrick Zwickel, die mich im Labor in die Praxis der verschiedenen Analysemethoden eingeführt haben.

# Anhang

**Tabelle 1:** Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten (Werte der beiden Tomatensorten sowie der drei Beprobungstermine zusammengefasst).

Vergleich der Varianten																
	S1 <sup>bc</sup>	S2 <sup>bc</sup>	S3 <sup>bc</sup>	S4 <sup>bc</sup>	S5 <sup>bc</sup>	S6 <sup>bc</sup>	S7 <sup>bc</sup>	S8 <sup>bc</sup>	S9 <sup>bc</sup>	S10 <sup>bc</sup>	S11 <sup>bc</sup>	S12 <sup>bc</sup>	S13 <sup>bc</sup>	S14 <sup>bc</sup>	S15 <sup>bc</sup>	S16 <sup>bc</sup>
<i>ANOVA<sup>a</sup>; p =...</i>	0,971	0,931	0,952	0,534	0,140	0,931	0,389	0,841	0,356	0,327	0,642	0,731	0,391	0,169	0,189	0,031
Kontrolle	0,020 a	0,025 a	0,025 a	0,031 a	0,037 a	0,018 a	0,050 a	0,021 a	0,029 a	0,074 a	0,018 a	0,343 a	0,087 a	0,041 a	0,045 a	0,134 ab
Fol 007	0,018 a	0,022 a	0,025 a	0,038 a	0,035 a	0,017 a	0,045 a	0,022 a	0,027 a	0,077 a	0,016 a	0,359 a	0,083 a	0,040 a	0,046 a	0,130 ab
Fol 004	0,018 a	0,027 a	0,028 a	0,033 a	0,036 a	0,018 a	0,049 a	0,022 a	0,028 a	0,086 a	0,020 a	0,341 a	0,079 a	0,042 a	0,052 a	0,121 a
Forl 873.95	0,016 a	0,028 a	0,028 a	0,033 a	0,037 a	0,017 a	0,047 a	0,023 a	0,029 a	0,076 a	0,016 a	0,351 a	0,080 a	0,043 a	0,042 a	0,134 ab
Fol 007 + Fo 47	0,017 a	0,020 a	0,026 a	0,043 a	0,040 a	0,015 a	0,048 a	0,024 a	0,029 a	0,079 a	0,016 a	0,353 a	0,084 a	0,036 a	0,048 a	0,123 ab
Fo 47	0,020 a	0,025 a	0,029 a	0,049 a	0,046 a	0,019 a	0,046 a	0,024 a	0,027 a	0,069 a	0,015 a	0,336 a	0,089 a	0,039 a	0,044 a	0,122 ab
Fol 007 + P1	0,019 a	0,026 a	0,029 a	0,052 a	0,050 a	0,014 a	0,048 a	0,020 a	0,030 a	0,079 a	0,016 a	0,342 a	0,070 a	0,040 a	0,044 a	0,122 ab
Tb 150.67	0,017 a	0,021 a	0,024 a	0,023 a	0,033 a	0,015 a	0,044 a	0,019 a	0,024 a	0,070 a	0,013 a	0,377 a	0,083 a	0,046 a	0,043 a	0,148 b
P1	0,018 a	0,021 a	0,025 a	0,038 a	0,057 a	0,016 a	0,042 a	0,020 a	0,024 a	0,079 a	0,014 a	0,350 a	0,080 a	0,038 a	0,046 a	0,133 ab
Scler	0,017 a	0,027 a	0,026 a	0,047 a	0,074 a	0,016 a	0,043 a	0,022 a	0,026 a	0,069 a	0,018 a	0,343 a	0,075 a	0,037 a	0,039 a	0,121 a

<sup>a</sup>Einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Faktor Variante

<sup>b</sup>Die Werte entsprechen den Mittelwerten der relativen Anteile der Substanzen an der Gesamtmenge (je Substanz: N = 223, n = 20–24).

<sup>c</sup>Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten (Tukey-Test; p<0,05)

**Tabelle 2:** Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Tomatensorten (Werte der zehn Varianten sowie der drei Beprobungstermine zusammengefasst).

Vergleich der Tomatensorten																
	S1 <sup>bc</sup>	S2 <sup>bc</sup>	S3 <sup>bc</sup>	S4 <sup>bc</sup>	S5 <sup>bc</sup>	S6 <sup>bc</sup>	S7 <sup>bc</sup>	S8 <sup>bc</sup>	S9 <sup>bc</sup>	S10 <sup>bc</sup>	S11 <sup>bc</sup>	S12 <sup>bc</sup>	S13 <sup>bc</sup>	S14 <sup>bc</sup>	S15 <sup>bc</sup>	S16 <sup>bc</sup>
ANOVA <sup>a</sup> ; p =...	0,020	0,025	0,018	0,908	0,013	0,146	0,000	0,821	0,000	0,866	0,137	0,183	0,090	0,991	0,359	0,000
Kremser Perle	0,020	0,026	0,028	0,039	0,054	0,017	0,050	0,022	0,029	0,076	0,015	0,343	0,078	0,040	0,044	0,118
Moneymaker	0,016	0,022	0,025	0,038	0,035	0,016	0,043	0,022	0,025	0,076	0,017	0,356	0,084	0,040	0,045	0,139

<sup>a</sup>Einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Faktor Tomatensorte

<sup>b</sup>Die Werte entsprechen den Mittelwerten der relativen Anteile der Substanzen an der Gesamtmenge (je Substanz: N = 223, n = 113 bzw. 110).

<sup>c</sup>Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Tomatensorten (Tukey-Test; p<0,05)

**Tabelle 3:** Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den drei Beprobungsterminen (Werte der zehn Varianten sowie der beiden Tomatensorten zusammengefasst).

Vergleich der Beprobungszeitpunkte																
	S1 <sup>bc</sup>	S2 <sup>bc</sup>	S3 <sup>bc</sup>	S4 <sup>bc</sup>	S5 <sup>bc</sup>	S6 <sup>bc</sup>	S7 <sup>bc</sup>	S8 <sup>bc</sup>	S9 <sup>bc</sup>	S10 <sup>bc</sup>	S11 <sup>bc</sup>	S12 <sup>bc</sup>	S13 <sup>bc</sup>	S14 <sup>bc</sup>	S15 <sup>bc</sup>	S16 <sup>bc</sup>
ANOVA <sup>a</sup> ; p =...	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,027	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Woche 3	0,015 a	0,018 a	0,022 a	0,028 a	0,061 a	0,020 a	0,047 a	0,025 a	0,024 a	0,105 a	0,016 a	0,324 a	0,094 a	0,030 a	0,061 a	0,111 a
Woche 6	0,011 b	0,013 b	0,019 b	0,057 a	0,025 b	0,013 b	0,044 ab	0,017 b	0,025 a	0,071 b	0,013 a	0,383 a	0,079 a	0,040 b	0,044 b	0,144 b
Woche 9	0,028 c	0,041 c	0,038 c	0,030 b	0,049 b	0,017 b	0,048 b	0,023 b	0,032 b	0,053 c	0,020 b	0,341 b	0,071 b	0,049 c	0,030 c	0,131 c

<sup>a</sup>Einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Faktor Beprobungstermin

<sup>b</sup>Die Werte entsprechen den Mittelwerten der relativen Anteile der Substanzen an der Gesamtmenge (je Substanz: N = 223, n = 72, 73 bzw. 78).

<sup>c</sup>Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Beprobungsterminen (Tukey-Test; p<0,05)

**Tabelle 4:** Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten bei der Sorte „Kremser Perle“ zum Beprobungstermin 1.

Vergleich der Varianten: Kremser Perle, Beprobungstermin 1																
	S1 <sup>bc</sup>	S2 <sup>bc</sup>	S3 <sup>bc</sup>	S4 <sup>bc</sup>	S5 <sup>bc</sup>	S6 <sup>bc</sup>	S7 <sup>bc</sup>	S8 <sup>bc</sup>	S9 <sup>bc</sup>	S10 <sup>bc</sup>	S11 <sup>bc</sup>	S12 <sup>bc</sup>	S13 <sup>bc</sup>	S14 <sup>bc</sup>	S15 <sup>bc</sup>	S16 <sup>bc</sup>
ANOVA <sup>a</sup> ; p =...	0,029	0,014	0,007	0,267	0,002	0,121	0,186	0,027	0,048	0,050	0,658	0,377	0,005	0,302	0,007	0,136
Kontrolle	,01820 a	,02140 a	,02120 ab	,01220 a	,04840 a	,01860 a	,05200 b	,02440 a	,02260 a	,10720 a	,01500 a	,34620 a	,10380 bc	,02700 a	,05520 a	,10580 a
Fol 007	,01200 a	,01600 a	,02250 ab	,02225 a	,05750 a	,01700 a	,04400 ab	,01975 a	,02375 a	,11200 a	,01050 a	,33825 a	,09400 abc	,02850 a	,07075 a	,11175 a
Fol 004	,01650 a	,02050 a	,02325 ab	,03250 a	,06825 a	,01875 a	,04850 ab	,02325 a	,02200 a	,11375 a	,01350 a	,29850 a	,11025 c	,02625 a	,06850 a	,09500 a
Forl 873.95	,02325 a	,02925 a	,03150 b	,02800 a	,09650 a	,02300 a	,04875 ab	,03050 a	,03225 a	,09800 a	,01000 a	,30500 a	,06475 a	,02925 a	,05525 a	,09575 a
Fol 007 + Fo 47	,01775 a	,02700 a	,02875 ab	,04875 a	,05875 a	,02700 a	,04625 ab	,03250 a	,03350 a	,10325 a	,01225 a	,28925 a	,07075 ab	,03450 a	,06475 a	,10425 a
Fo 47	,02050 a	,02375 a	,03050 ab	,04125 a	,09275 a	,02775 a	,04850 ab	,03275 a	,02775 a	,09550 a	,01100 a	,28225 a	,09325 abc	,02875 a	,05375 a	,09075 a
Fol 007 + P1	,01000 a	,01225 a	,01900 ab	,03200 a	,11125 ab	,02275 a	,05075 ab	,02325 a	,02825 a	,10050 a	,01400 a	,31500 a	,09150 abc	,02600 a	,05250 a	,09150 a
Tb 150.67	,01200 a	,01600 a	,01875 ab	,02550 a	,08175 a	,02175 a	,05075 ab	,02300 a	,02675 a	,08025 a	,02125 a	,33125 a	,09000 abc	,03600 a	,05225 a	,11375 a
P1	,00900 a	,01250 a	,01550 a	,02700 a	,19450 b	,01800 a	,03750 a	,01900 a	,02000 a	,10400 a	,00750 a	,26950 a	,09650 abc	,02600 a	,05750 a	,08700 a
Scler	,00900 a	,01350 a	,01625 a	,02600 a	,14425 ab	,01775 a	,04625 ab	,01900 a	,02200 a	,09025 a	,01475 a	,31125 a	,09650 abc	,02700 a	,05225 a	,09475 a

<sup>a</sup>Einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Faktor Variante

<sup>b</sup>Die Werte entsprechen den Mittelwerten der relativen Anteile der Substanzen an der Gesamtmenge (je Substanz: N = 39, n = 2–5).

<sup>c</sup>Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Beprobungsterminen (Tukey-Test; p<0,05)

**Tabelle 5:** Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten bei der Sorte „Kremser Perle“ zum Beprobungstermin 2.

Vergleich der Varianten: Kremser Perle, Beprobungstermin 2																
	S1 <sup>bc</sup>	S2 <sup>bc</sup>	S3 <sup>bc</sup>	S4 <sup>bc</sup>	S5 <sup>bc</sup>	S6 <sup>bc</sup>	S7 <sup>bc</sup>	S8 <sup>bc</sup>	S9 <sup>bc</sup>	S10 <sup>bc</sup>	S11 <sup>bc</sup>	S12 <sup>bc</sup>	S13 <sup>bc</sup>	S14 <sup>bc</sup>	S15 <sup>bc</sup>	S16 <sup>bc</sup>
ANOVA <sup>a</sup> ; p =...	0,001	0,000	0,003	0,255	0,306	0,019	0,002	0,005	0,075	0,036	0,001	0,024	0,637	0,059	0,415	0,005
Kontrolle	,02250 abc	,02700 abc	,02950 abc	,04000 a	,04200 a	,02350 ab	,05900 ab	,02000 a	,03750 ab	,06050 a	,02600 bc	,31400 a	,08000 a	,04400 a	,04350 a	,13100 ab
Fol 007	,02075 abc	,02125 abc	,02600 abc	,02350 a	,03775 a	,02025 ab	,05875 ab	,02625 a	,02850 ab	,06650 ab	,01850 abc	,38850 a	,06675 a	,03850 a	,03075 a	,12700 ab
Fol 004	,03100 c	,05000 c	,03800 c	,03850 a	,02650 a	,03150 b	,06300 c	,02650 a	,04350 b	,07550 ab	,03400 c	,29800 a	,03700 a	,04600 a	,04700 a	,11350 a
Forl 873.95	,02833 bc	,03733 bc	,03167 bc	,03467 a	,03433 a	,02233 ab	,05700 ab	,02467 a	,02733 ab	,06800 ab	,02067 abc	,33633 a	,08067 a	,04133 a	,03767 a	,11767 a
Fol 007 + Fo 47	,01500 abc	,01975 ab	,02875 abc	,04275 a	,04650 a	,01875 ab	,05850 ab	,03075 a	,03325 ab	,06700 ab	,01475 abc	,36400 a	,07125 a	,04300 a	,03925 a	,10675 a
Fo 47	,00700 ab	,00750 a	,01700 ab	,07050 a	,01300 a	,00475 ab	,04050 a	,00675 a	,02175 ab	,07225 ab	,00375 a	,43075 a	,07425 a	,03950 a	,04525 a	,14550 ab
Fol 007 + P1	,00925 abc	,00875 ab	,01975 abc	,09925 a	,03850 a	,00425 a	,04425 ab	,00650 a	,02050 a	,09200 b	,00350 a	,36450 a	,08025 a	,03425 a	,04825 a	,12575 ab
Tb 150.67	,00000 abc	,00000 a	,01125 a	,01450 a	,01550 a	,00350 a	,03925 a	,00775 a	,02375 ab	,07900 ab	,00250 a	,43200 a	,09425 a	,05025 a	,05100 a	,17525 b
P1	,00475 a	,00575 a	,01650 ab	,07450 a	,03600 a	,00900 ab	,04325 ab	,01450 a	,02550 ab	,06825 ab	,00250 a	,40825 a	,07325 a	,03800 a	,04350 a	,13625 ab
Scler	,01600	,01750 ab	,02100 abc	,17275 a	,02850 a	,01375 ab	,04475 ab	,02200 a	,02825 ab	,06650 ab	,00875 ab	,30150 a	,06850 a	,03600 a	,04325 a	,10975 a

<sup>a</sup>Einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Faktor Variante

<sup>b</sup>Die Werte entsprechen den Mittelwerten der relativen Anteile der Substanzen an der Gesamtmenge (je Substanz: N = 35, n = 2–4).

<sup>c</sup>Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Beprobungsterminen (Tukey-Test; p<0,05)

**Tabelle 6:** Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten bei der Sorte „Kremser Perle“ zum Beprobungstermin 3.

Vergleich der Varianten: Kremser Perle, Beprobungstermin 3																
	S1 <sup>bc</sup>	S2 <sup>bc</sup>	S3 <sup>bc</sup>	S4 <sup>bc</sup>	S5 <sup>bc</sup>	S6 <sup>bc</sup>	S7 <sup>bc</sup>	S8 <sup>bc</sup>	S9 <sup>bc</sup>	S10 <sup>bc</sup>	S11 <sup>bc</sup>	S12 <sup>bc</sup>	S13 <sup>bc</sup>	S14 <sup>bc</sup>	S15 <sup>bc</sup>	S16 <sup>bc</sup>
ANOVA <sup>a</sup> ; p =...	0,986	0,926	0,883	0,705	0,818	0,586	0,068	0,749	0,521	0,698	0,526	0,874	0,674	0,787	0,240	0,445
Kontrolle	,03075 a	,04000 a	,03550 a	,01275 a	,02875 a	,01775 a	,05825 ab	,02300 a	,03875 a	,04875 a	,01250 a	,36850 a	,06925 a	,05225 a	,02950 a	,13350 a
Fol 007	,03000 a	,03900 a	,03675 a	,05675 a	,03925 a	,02325 a	,05225 ab	,02650 a	,03925 a	,05000 a	,02600 a	,30550 a	,07625 a	,05125 a	,03300 a	,11600 a
Fol 004	,03025 a	,04175 a	,04125 a	,02325 a	,04225 a	,01175 a	,05075 ab	,02650 a	,02750 a	,05750 a	,01875 a	,37000 a	,07175 a	,04900 a	,03550 a	,10275 a
Forl 873.95	,02425 a	,03525 a	,03300 a	,01325 a	,01900 a	,01375 a	,04550 ab	,01975 a	,03600 a	,05825 a	,02350 a	,35325 a	,07775 a	,06100 a	,03350 a	,15325 a
Fol 007 + Fo 47	,02500 a	,03567 a	,03167 a	,01900 a	,04867 a	,01100 a	,05000 ab	,01200 a	,03533 a	,04600 a	,02000 a	,40033 a	,07100 a	,04900 a	,02367 a	,12167 a
Fo 47	,03325 a	,04875 a	,04400 a	,03325 a	,05325 a	,01575 a	,04700 ab	,02425 a	,03275 a	,05725 a	,01350 a	,32750 a	,06675 a	,04975 a	,02800 a	,12425 a
Fol 007 + P1	,03350 a	,05325 a	,05000 a	,01575 a	,00550 a	,01200 a	,06000 ab	,02200 a	,04175 a	,05575 a	,02150 a	,37500 a	,05500 a	,04525 a	,02700 a	,12725 a
Tb 150.67	,03250 a	,04375 a	,03975 a	,03375 a	,02900 a	,01275 a	,04225 b	,01775 a	,02425 a	,05275 a	,01050 a	,36100 a	,07775 a	,05200 a	,02850 a	,14150 a
P1	,03600 a	,03975 a	,04175 a	,03050 a	,02850 a	,02150 a	,04875 ab	,02350 a	,03100 a	,05600 a	,01825 a	,35325 a	,05825 a	,04425 a	,03150 a	,13750 a
Scler	,02825 a	,05200 a	,03825 a	,02600 a	,04175 a	,02175 a	,03300 a	,02725 a	,03275 a	,05425 a	,02850 a	,32850 a	,07675 a	,05125 a	,03150 a	,12750 a

<sup>a</sup>Einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Faktor Variante

<sup>b</sup>Die Werte entsprechen den Mittelwerten der relativen Anteile der Substanzen an der Gesamtmenge (je Substanz: N = 39, n = 3–4).

<sup>c</sup>Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Beprobungsterminen (Tukey-Test; p<0,05)

**Tabelle 7:** Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten bei der Sorte „Moneymaker“ zum Beprobungstermin 1.

Vergleich der Varianten: Moneymaker, Beprobungstermin 1																
	S1 <sup>bc</sup>	S2 <sup>bc</sup>	S3 <sup>bc</sup>	S4 <sup>bc</sup>	S5 <sup>bc</sup>	S6 <sup>bc</sup>	S7 <sup>bc</sup>	S8 <sup>bc</sup>	S9 <sup>bc</sup>	S10 <sup>bc</sup>	S11 <sup>bc</sup>	S12 <sup>bc</sup>	S13 <sup>bc</sup>	S14 <sup>bc</sup>	S15 <sup>bc</sup>	S16 <sup>bc</sup>
ANOVA <sup>a</sup> ; p =...	0,000	0,000	0,003	0,260	0,444	0,005	0,000	0,102	0,403	0,327	0,002	0,020	0,016	0,763	0,002	0,013
Kontrolle	,00925 abcd	,01000 ab	,01725 ab	,03300 a	,02450 a	,01700 ab	,04200 a	,02375 ab	,02175 a	,12000 a	,01475 a	,33700 ab	,10250 ab	,02900 a	,06875 abc	,13000 ab
Fol 007	,01067 abcd	,01300 abc	,01800 ab	,02867 a	,02367 a	,01667 ab	,04667 ab	,02300 ab	,02100 a	,11233 a	,01500 a	,34567 ab	,10300 ab	,03100 a	,06667 abc	,12467 ab
Fol 004	,00875 abc	,01000 ab	,01525 ab	,03075 a	,03325 a	,01925 ab	,04050 a	,02650 ab	,02225 a	,11450 a	,01925 ab	,32250 ab	,10350 ab	,03475 a	,07175 c	,12725 ab
Fo1 873.95	,00450 a	,00350 a	,01200 a	,02350 a	,01600 a	,00925 a	,03975 a	,01825 a	,01875 a	,12025 a	,00650 a	,40800 b	,08625 a	,02800 a	,06225 abc	,14350 b
Fol 007 + Fo 47	,00850 ab	,00250 a	,01500 ab	,01500 a	,02225 a	,00900 a	,03825 a	,01900 ab	,01900 a	,11525 a	,01325 a	,38275 ab	,09475 ab	,02950 a	,07075 bc	,14550 b
Fo 47	,02467 d	,03133 a	,03333 b	,02267 a	,02867 a	,02933 b	,05967 c	,04033 b	,02533 a	,08467 a	,03467 b	,27367 a	,13800 b	,03067 a	,06533 abc	,07767 a
Fol 007 + P1 <sup>d</sup>																
Tb 150.67	,02425 bcd	,03000 abc	,03100 ab	,03500 a	,02775 a	,02450 ab	,04300 bc	,02575 ab	,02450 a	,12575 a	,02150 ab	,29525 ab	,08875 a	,03250 a	,06775 ab	,10275 b
P1	,02475 cd	,02725 a	,02800 b	,02825 a	,02125 a	,01425 ab	,04750 a	,02550 ab	,02375 a	,09575 a	,02025 ab	,36050 ab	,06800 ab	,03200 a	,05050 abc	,13225 ab
Scler	,00925 d	,01000 bc	,01725 ab	,03300 a	,02450 a	,01700 ab	,04200 ab	,02375 ab	,02175 a	,12000 a	,01475 ab	,33700 ab	,10250 a	,02900 a	,06875 a	,13000 ab

<sup>a</sup>Einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Faktor Variante

<sup>b</sup>Die Werte entsprechen den Mittelwerten der relativen Anteile der Substanzen an der Gesamtmenge (je Substanz: N = 33, n = 3–4).

<sup>c</sup>Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Beprobungsterminen (Tukey-Test; p<0,05)

<sup>d</sup>Fehlende Werte

**Tabelle 8:** Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten bei der Sorte „Moneymaker“ zum Beprobungstermin 2.

Vergleich der Varianten: Moneymaker, Beprobungstermin 2																
	S1 <sup>bc</sup>	S2 <sup>bc</sup>	S3 <sup>bc</sup>	S4 <sup>bc</sup>	S5 <sup>bc</sup>	S6 <sup>bc</sup>	S7 <sup>bc</sup>	S8 <sup>bc</sup>	S9 <sup>bc</sup>	S10 <sup>bc</sup>	S11 <sup>bc</sup>	S12 <sup>bc</sup>	S13 <sup>bc</sup>	S14 <sup>bc</sup>	S15 <sup>bc</sup>	S16 <sup>bc</sup>
ANOVA <sup>a</sup> ; p =...	0,024	0,073	0,092	0,535	0,187	0,575	0,083	0,417	0,017	0,004	0,777	0,019	0,501	0,054	0,005	0,194
Kontrolle	,00825 ab	,01075 a	,01625 a	,04550 a	,02625 a	,01650 a	,04425 ab	,01650 a	,02375 ab	,06175 ab	,00975 a	,39175 a	,08875 a	,03950 a	,04200 ab	,15875 a
Fol 007	,00875 ab	,00900 a	,01500 a	,06850 a	,02200 a	,01450 a	,02150 a	,01875 a	,02475 ab	,06700 ab	,01375 a	,38675 a	,08700 a	,04100 a	,04525 ab	,15650 a
Fol 004	,00575 ab	,00575 a	,01625 a	,04625 a	,02025 a	,00950 a	,03500 ab	,00800 a	,02425 ab	,09375 ab	,00975 a	,38600 a	,08275 a	,04400 a	,06150 b	,15075 a
Forl 873.95	,00650 ab	,00700 a	,01500 a	,07125 a	,03350 a	,01450 a	,03750 ab	,01925 a	,02750 b	,06050 ab	,01250 a	,35600 a	,09800 a	,04500 a	,03975 ab	,15675 a
Fol 007 + Fo 47	,00125 a	,00200 a	,01000 a	,07550 a	,01075 a	,01075 a	,04100 ab	,02075 a	,02025 ab	,08850 ab	,01475 a	,35550 a	,12575 a	,03250 a	,05325 ab	,13725 a
Fo 47	,00400 ab	,00450 a	,01050 a	,08900 a	,01650 a	,01050 a	,04050 ab	,01550 a	,02100 ab	,05575 a	,01400 a	,39675 a	,08825 a	,03625 a	,03800 ab	,15900 a
Fol 007 + P1	,00750 ab	,00700 a	,01475 a	,06950 a	,01725 a	,01350 a	,03950 ab	,02150 a	,02400 ab	,09450 b	,02075 a	,35475 a	,06200 a	,04350 a	,06150 b	,14925 a
Tb 150.67	,00350 ab	,00425 a	,00975 a	,01125 a	,01000 a	,00650 a	,03475 ab	,01100 a	,01375 a	,06625 ab	,00775 a	,46350 a	,08100 a	,04650 a	,04400 ab	,18650 a
P1	,00000 a	,00150 a	,00600 a	,03650 a	,00350 a	,00350 a	,03600 ab	,01050 a	,01400 a	,06150 ab	,01300 a	,46450 a	,08050 a	,03450 a	,04050 ab	,19300 a
Scler	,01700 b	,01900 a	,01875 a	,01150 a	,01400 a	,01200 a	,04700 b	,01650 a	,01975 ab	,06350 ab	,01325 a	,46175 a	,06750 a	,03400 a	,03375 a	,15175 a

<sup>a</sup>Einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Faktor Variante

<sup>b</sup>Die Werte entsprechen den Mittelwerten der relativen Anteile der Substanzen an der Gesamtmenge (je Substanz: N = 38, n = 2–4).

<sup>c</sup>Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Beprobungsterminen (Tukey-Test; p<0,05)

**Tabelle 9:** Vergleich der Mittelwerte der relativen Mengenanteile der einzelnen Substanzen zwischen den Varianten bei der Sorte „Moneymaker“ zum Beprobungstermin 3.

Vergleich der Varianten: Moneymaker, Beprobungstermin 3																
	S1 <sup>bc</sup>	S2 <sup>bc</sup>	S3 <sup>bc</sup>	S4 <sup>bc</sup>	S5 <sup>bc</sup>	S6 <sup>bc</sup>	S7 <sup>bc</sup>	S8 <sup>bc</sup>	S9 <sup>bc</sup>	S10 <sup>bc</sup>	S11 <sup>bc</sup>	S12 <sup>bc</sup>	S13 <sup>bc</sup>	S14 <sup>bc</sup>	S15 <sup>bc</sup>	S16 <sup>bc</sup>
ANOVA <sup>a</sup> ; p =...	0,001	0,242	0,511	0,723	0,018	0,188	0,046	0,840	0,228	0,063	0,054	0,357	0,597	0,015	0,264	0,023
Kontrolle	,03000 abc	,04325 a	,03275 a	,04175 a	,05300 ab	,01325 a	,04475 a	,02100 a	,03125 a	,04525 a	,03275 b	,30350 a	,07900 a	,05125 b	,03050 a	,14625 a
Fol 007	,02300 abc	,03150 a	,02950 a	,03100 a	,02850 a	,00825 a	,04975 a	,01850 a	,02450 a	,05625 a	,01325 ab	,38875 a	,07250 a	,04825 ab	,03200 a	,14500 a
Fol 004	,01867 abc	,03300 a	,03500 a	,02900 a	,02500 a	,01900 a	,05400 a	,01833 a	,02900 a	,05933 a	,02267 ab	,37200 a	,06767 a	,05133 b	,02767 a	,13867 a
Forl 873.95	,01150 ab	,05400 a	,04525 a	,02900 a	,02400 a	,01825 a	,05150 a	,02675 a	,03300 a	,04950 a	,02350 ab	,34650 a	,07375 a	,05100 b	,02400 a	,13725 a
Fol 007 + Fo 47	,03275 bc	,03450 a	,03975 a	,05725 a	,05425 ab	,01450 a	,05300 a	,02725 a	,03550 a	,05600 a	,01900 ab	,32325 a	,06925 a	,02800 a	,03475 a	,12125 a
Fo 47	,03275 bc	,03225 a	,03825 a	,03825 a	,07375 ab	,02325 a	,04125 a	,02575 a	,03050 a	,05025 a	,01325 ab	,30600 a	,07575 a	,05050 b	,03100 a	,13750 a
Fol 007 + P1	,03500 c	,04825 a	,04075 a	,04200 a	,07700 ab	,01975 a	,04750 a	,02600 a	,03375 a	,05200 a	,01850 ab	,30225 a	,06300 a	,04850 ab	,02975 a	,11625 a
Tb 150.67	,03425 c	,04350 a	,03900 a	,03250 a	,05200 ab	,02250 a	,04250 a	,02800 a	,02850 a	,04975 a	,01050 a	,32700 a	,07300 a	,05000 b	,02900 a	,13850 a
P1	,03200 bc	,03725 a	,03825 a	,02325 a	,05150 ab	,02100 a	,04350 a	,02725 a	,02900 a	,05825 a	,01925 ab	,31000 a	,08175 a	,05175 b	,03350 a	,14250 a
Scler	,00850 a	,03375 a	,03325 a	,01700 a	,19600 b	,01425 a	,04050 a	,01975 a	,02750 a	,04175 a	,02450 ab	,29425 a	,07150 a	,04175 ab	,02400 a	,11075 a

<sup>a</sup>Einfaktorielle Varianzanalyse mit dem Faktor Variante

<sup>b</sup>Die Werte entsprechen den Mittelwerten der relativen Anteile der Substanzen an der Gesamtmenge (je Substanz: N = 39, n = 3–4).

<sup>c</sup>Die Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Beprobungsterminen (Tukey-Test; p<0,05)